

SINTESIS DE O-GLICOSIDOS A PARTIR DE CAPSAICINA

ZULLY ADRIANA HURTADO ORDOÑEZ

UNIVERSIDAD DEL CAUCA

FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y DE LA EDUCACION

DEPARTAMENTO DE QUIMICA

POPAYAN

2007

SINTESIS DE O-GLICOSIDOS A PARTIR DE CAPSAICINA

ZULLY ADRIANA HURTADO ORDOÑEZ

Trabajo de grado presentado como requisito parcial para optar por el título de
Química.

DIRECTOR:

JAIME MARTIN FRANCO, Ph.D.

UNIVERSIDAD DEL CAUCA

FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y DE LA EDUCACIÓN

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

POPAYÁN

2007

TABLA DE CONTENIDO

1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	7
2. OBJETIVOS	8
2.1. Objetivo general	8
2.2. Objetivos específicos	8
3. MARCO TEÓRICO	9
4. SECCIÓN EXPERIMENTAL	22
4.1. GENERALIDADES	22
4.1.1. Síntesis de Bromuros de Glicopiranosilos	23
4.1.2. Síntesis de O-Glicósidos por Catálisis con Transferencia de ase	25
4.1.3. Desacetilación de los O-Glicósidos	29
5. RESULTADOS Y DISCUSION	33
5.1. Síntesis de Bromuros de glicopiranósidos peracetilados	33
5.2. O-glicosidación por catálisis con transferencia de fase	38
5.3. Desprotección de los compuestos peracetilados.	48
6. CONCLUSIONES	56
7. BIBLIOGRAFÍA	57

RESUMEN

La capsaicina y la vainillinonanamida fueron convertidas en sus correspondientes O-glicósidos, empleando bromuro de 2,3,4,6-tetra-O-acetil α -D-Glucopiranosilo y bromuro de 2,3,4,6-tetra-O-acetil α -D-Galactopiranosilo, mediante catálisis por transferencia de fase (PTC), en presencia de Bromuro de tetrabutil amonio (TBAB) como agente de transferencia, en diclorometano e hidróxido de sodio acuoso. La pureza de los O-glicosidos obtenidos fue determinada mediante espectroscopía de resonancia magnética nuclear protónica y cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). Sus estructuras químicas fueron elucidadas por espectroscopia infrarroja (IR) y de resonancia magnética nuclear de ^1H y ^{13}C . También se investigó las solubilidades de los O-glicósidos obtenidos, encontrando que son insolubles en agua y solubles en acetona, etanol y metanol.

INTRODUCCIÓN

La capsaicina hace parte de un conjunto de capsaicinoides responsables de la pungencia del fruto del ají. Esta sustancia es un pseudoalcaloide, con un espectro terapéutico muy amplio, pero de elevada citotoxicidad, lo cual ha limitado su uso en grandes cantidades, estimulando el desarrollo de investigaciones en la síntesis de análogos y de nuevos materiales no pungentes, solubles en agua y biodegradables, simultáneamente con la evaluación de las propiedades farmacológicas de los productos obtenidos, especialmente en la relación actividad – toxicidad.

A nivel bioquímico esta sustancia provoca excitación de las neuronas y permite a los iones sodio y calcio entrar a la célula nerviosa y liberar neurotransmisores que generan la señal del dolor. La exposición prolongada a la capsaicina insensibiliza los nociceptores terminales, disminuyendo la actividad de las fibras sensoriales tipo C, para las cuales es específica esta sustancia; afectando la síntesis, depósito y transporte de la sustancia P, principal neurotransmisor del dolor desde la periferia hasta el sistema nervioso central.

Hasta el momento los investigadores han logrado la síntesis de compuestos derivados de sustancias con actividad farmacológica que enmascaran la acción tóxica de un compuesto natural, llamados PRO-FÁRMACOS. Algunos de estos derivados implican una transformación química en la que se ha logrado el acople de la molécula con actividad a carbohidratos, para formar glicósidos los cuales han sido de gran ayuda en el transporte y reconocimiento de sustancias bioactivas.

Entre las metodologías utilizadas en la síntesis de análogos glicosídicos se encuentran principalmente la síntesis quimio–enzimática¹,

la reacción clásica de Koenigs Knorr,² y la catálisis por transferencia de fase (PTC), la cual es empleada en el presente trabajo por las ventajas señaladas en la literatura con este tipo de protocolos, en cuanto a condiciones, tiempos de reacción y rendimientos.³

En esta investigación se desarrolló la síntesis de pro-fármacos O-glicosídicos por transferencia de fase a partir de Vainillilnonanamida, capsaicina con D-glucosa y D-galactosa, y la caracterización respectiva. Los productos finales se obtuvieron diastereoselectivamente en buenos rendimientos.

1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La capsaicina es un alcaloide de amplio espectro biológico, de acción analgésica y antiinflamatoria; no obstante, es extremadamente tóxica incluso en dosis terapéuticas.⁴⁻⁹ Aunque su solubilidad en etanol es buena, es completamente insoluble en agua y la modificación de este comportamiento podría significar nuevas aplicaciones de esta sustancia.

Estos argumentos han originado diversas investigaciones sobre la modificación de la estructura capsaicinoide y el estudio de la actividad de los análogos, obteniéndose una gran variedad de productos menos tóxicos, pero con menor actividad terapéutica que la capsaicina.^{5,10-14}

Considerando lo anterior y las diversas aplicaciones de la capsaicina, en este trabajo se ha investigado la síntesis de análogos que tengan mejor solubilidad en solventes polares, planteándose la obtención de derivados O-glicósidos de Vainillilnonanamida y de Capsaicina con D-glucosa y D-galactosa.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo general

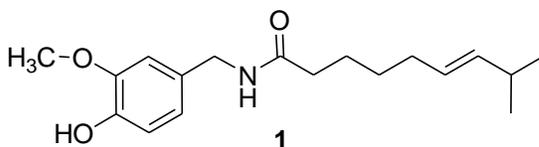
Sintetizar O-glicósidos mediante catálisis por transferencia de fase en medio básico.

2.2. Objetivos específicos

- Sintetizar O-glicósidos de vainillilnonanamida y capsaicina con D-glucosa y D-galactosa, mediante catálisis por transferencia de fase, con bromuro de tetrabutilamonio.
- Caracterizar los derivados obtenidos por técnicas espectroscópicas de Infrarrojo y Resonancia Magnética Nuclear (^1H y ^{13}C).
- Evaluar la solubilidad en agua, etanol y acetona de los O-glicósidos obtenidos.

3. MARCO TEÓRICO

La capsaicina es el principio activo en el ají, fue aislado por Tresh (1846) hace más de un siglo. Tresh llamó a este compuesto capsaicina y predijo que la estructura de la capsaicina y la vainillilnonanamida estaban estrechamente relacionadas. A pesar de este temprano descubrimiento, no fue sino hasta 1919 cuando se determinó la estructura química exacta de la capsaicina (**1**). Una década más tarde en 1930 Spath y Darling lograron su síntesis completa⁴.



Su nombre IUPAC es N-(4-hidroxi-3-metoxibencil)-8-metil-6-nonenamida. Este alcaloide derivado de la vainillilamina y del ácido E-8-metilnon-6-enoico tiene un peso molecular de 305.42, es insoluble en agua y soluble en aceite mineral, vegetal, y etanol. En estado sólido forma cristales monocíclicos translucidos que funden a 65 °C. Su punto de ebullición es 210 – 220 °C.

La cadena hidrocarbonada de la capsaicina contiene un grupo amido que no es suficiente para mejorar la baja solubilidad en agua. Esta cadena es responsable del fuerte enlazamiento con la lipoproteína receptor, la cual tiene una cadena hidrocarbonada similar, produciéndose el intenso sabor y la persistente sensación de ardor, característica de la capsaicina. Esta cadena permite a la molécula el desplazamiento por membranas celulares ricas en lípidos, ocasionando un ardor más penetrante y persistente.

La capsaicina es una sustancia con propiedades anti-inflamatorias y analgésicas, efectiva para el manejo de condiciones dolorosas como artritis reumatoidea y la osteoartritis, neuropatía diabética, neuralgia postherpética, síndrome del dolor post – mastectomía y síndrome de la distrofia simpática refleja. La acción anti-inflamatoria y analgésica se debe a que la capsaicina es un agente neuropéptido activo que produce un dolor ardiente inicialmente, al estimular las nociceptores polimodales, receptores predominantes del dolor que se encuentran en la piel y en las membranas mucosas.⁴

En el mecanismo de acción de la capsaicina, la activación de los nociceptores se puede hacer directamente o por medio de sustancias que al actuar, ya sea de forma excitatoria o inhibitoria, en las terminaciones nerviosas aferentes, actuando sobre receptores específicos como el receptor vainilloide VR1 o en los canales iónicos de la membrana, causando modificación en la permeabilidad iónica de dicha membrana y genera el impulso nervioso por el sistema nervioso central (SNC), debido a que después de la activación del receptor vainilloide, la capsaicina y otros compuestos vainilloides desensibilizan las neuronas sensoriales, volviéndolas refractarias a estímulos subsiguientes que causan dolor.

Sin embargo, la irritación inicial debida a la excitación que la capsaicina produce en las neuronas sensoriales ocasiona efectos secundarios. Además de desensibilizar las neuronas aferentes de tipo C, la capsaicina también altera la liberación, desde los terminales periféricos, del principal neurotransmisor del dolor conocido como la sustancia P, y otros neurotransmisores / neuropéptidos que actúan en las respuestas de inflamación.

La desensibilización de las fibras C inducida por la capsaicina es consecuencia de la depleción de estos neuropéptidos. Este fenómeno es el fundamento del uso de la capsaicina como analgésico ⁴⁻⁶.

La sustancia P es un biopéptido de 11 aminoácidos, que se considera un neurotransmisor y se libera por los axones de las neuronas sensitivas a nivel medular.

La capsaicina también ha sido sugerida para controlar el dolor de la mucositis bucal. En este nivel, se ha demostrado experimentalmente que después de ingerir alimentos que contienen capsaicina o después de la aplicación de capsaicina en la mucosa oral inflamada el dolor disminuye al menguar la sensación ardiente causada por ésta.⁷⁻⁹.

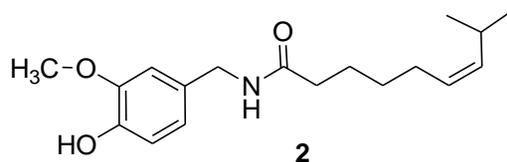
Otra aplicación importante de la capsaicina se refiere a su uso como insecticida y repelente contra perros, pájaros, venados, conejos, osos y ardillas; aplicación que le ha otorgado la clasificación de pesticida bioquímico por la EPA en 1991.

A pesar de los grandes beneficios que se pueden obtener de la capsaicina, esta sustancia en altas concentraciones llega a ser tóxica, hasta el punto de causar la muerte de los nociceptores o la destrucción de sus terminales periféricos produciendo insensibilización permanente lo que pone en tela de juicio si su uso es un tratamiento indicado contra el dolor de ciertas enfermedades.

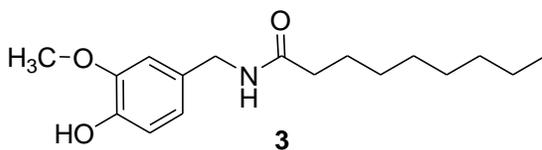
Dentro de las aplicaciones generales, la capsaicina debe usarse en neuropatías que presentan los signos y síntomas de hiperalgesia al pinchazo, hiperalgesia mecánica y térmica, así como el dolor continuo. Se obtienen muy buenos resultados si se aplica en la neuralgia post-herpética y en la neuropatía diabética. También se han obtenido buenos resultados contra el dolor neuropático de etiología oncológica.

La Civamida (**2**) es su isómero configuracional, un análogo nuevo de capsaicina denominado Z-capsaicina, con efectos antinociceptivos por su

tendencia persistente e independiente sobre el receptor cuando se expone al fármaco.³



VAINILLILNONANAMIDA (**3**). También llamada nonivamida, es un capsaicinoide encontrado en la naturaleza, aproximadamente entre el 0.35 al 1.80 % del contenido total de capsaicinoides en la oleoresina. Es análogo a la capsaicina y nombrado según la IUPAC como N-(4-hidroxi-3-metoxibencil) nonanamida. Difiere de la capsaicina por la ausencia de un grupo metilo en el carbono C-8 de la cadena alifática y la ausencia del doble enlace entre los carbonos C-6 y C-7 de la misma cadena carbonada.



Este compuesto es usado en la industria farmacéutica y en productos alimenticios derivados del ají por el grado de pungencia similar al de la capsaicina.

Se ha demostrado que la vainillilnonanamida tiene una actividad de desensibilización similar a la capsaicina, sin embargo la efectividad de la capsaicina es mayor para la disminución de la respuesta del dolor.⁴

Los O-glicosidos son una gran variedad de carbohidratos, los cuales según la IUPAC, es cualquier molécula en la cual un azúcar se enlaza a través de su carbono anomérico a otro compuesto de diferente naturaleza química, mediante un enlace O-glicosídico, el azúcar del glicósido se conoce como glicona y el grupo ajeno al azúcar, aglicona o genina del glucósido, la glicona puede consistir en un solo azúcar (monosacárido) o varios azúcares unidos entre si (oligosacárido); estos se encuentran en abundancia en los seres vivos, asociados a numerosos procesos bioquímicos.

Pocas sustancias se encuentran mas ampliamente distribuidas en la naturaleza que los glicósidos. De una manera simple, los glicósidos podrían ser definidos como carbohidratos derivatizados. Cuando se combinan con las bases púricas o pirimídicas (timina, citosina, adenina, etc.) a través de un enlace C-N forman los N-glicósidos, mejor conocidos como nucleótidos, que son componentes clave de los ácidos nucleicos (ARN, ADN). Cuando la conjugación se realiza a través de un enlace C-O se conocen con el término genérico de O-glicósidos los cuales se encuentran en gran cantidad en el reino vegetal y escasamente en el reino animal.

Los O-glicósidos han sido históricamente ignorados por razones que a primera vista parecen obvias, porque son carbohidratos, es decir son azúcares por lo tanto son energía. Así, debido a una analogía generalizada, el potencial de los O-glicósidos como fármacos y sistemas de liberación ha pasado desapercibida.

Entre los O-glicósidos de origen natural y de importancia médica figuran, los de la cáscara sagrada, aceite de wintergreen y particularmente, los glicósidos cardiotónicos de la digitalis, convalaria, etc.

En todos los casos, el aporte del azúcar en el cuadro general de acción clínica de los O-glicósidos ha sido relegado a un plano secundario referido exclusivamente a su solubilidad. Sin embargo, una revisión a la literatura demuestra que estos grupos carbohidratos tienen mucho que ver en la discriminación celular y en la selectividad de transporte. Por ejemplo azúcares como la D-glucosa y la D-galactosa compiten en absorción cuando se les administra simultáneamente.

Por otra parte la L-glucosa y la L-galactosa no son transportadas desde el lumen al torrente sanguíneo, lo cual pone de manifiesto que el transporte activo es estereoespecífico. El hecho de que muchos azúcares son transportados activamente dentro de la célula sugiere la presencia de receptores específicos que bien podrían usarse como marcadores de selectividad.

Estas sustancias son de interés en síntesis, medicina y especialmente en investigación farmacéutica. La O-glicosidación es un método útil para mejorar algunas propiedades de compuestos con actividad biológica, particularmente permite convertir los compuestos hidrofóbicos en solubles, mejorando sus propiedades farmacológicas y reduciendo la toxicidad. Muchas drogas que son aplicadas cutáneamente han sido modificadas para incrementar su efecto en el sitio de acción de la piel. En la década de los 80 se prepararon numerosos O-glicósidos de un gran número de agentes anti-inflamatorios, los cuales convertidos en moléculas hidrofílicas presentaron mayor especificidad que los compuestos madre ⁹⁻¹⁰.

Como respuesta al desarrollo de la investigación sobre métodos para aumentar la eficacia de las drogas y reducir la toxicidad y efectos indeseables surgió el concepto de profármaco, una sustancia química derivada de un fármaco madre, biológicamente activo, obtenido mediante transformaciones químicas y / o enzimáticas. Una vez dentro del cuerpo son

liberadas y actúan en el sitio de interés. Los pro-fármacos han sido ampliamente estudiados como sustitutos de una gran variedad de drogas con el fin de eliminar sus efectos colaterales⁹⁻¹⁴.

El grado de toxicidad que en especial presenta la capsaicina y su amplio espectro biológico han estimulado muchas investigaciones sobre la variación de la estructura química de la molécula para estudiar las características biológicas y la toxicidad de los análogos obtenidos.

En esta ruta Walpole, y colaboradores han profundizado en el estudio de la citotoxicidad de capsaicinoides análogos, encontrando en algunos una actividad biológica semejante a la capsaicina, para esto se evaluó en cada uno la relación insensibilización- irritación.⁵ En la década pasada este grupo reportó diferentes actividades de análogos sintéticos, con variaciones modulares en la estructura de la capsaicina. En los productos evaluados se observó una respuesta positiva, mayoritariamente cuando estaba presente el extremo vainilloide.

Con respecto a las O-glicosidaciones, se han desarrollado diferentes procedimientos entre ellos el realizado por Mihara y colaboradores con vainillilnonanamida. Este artículo describe la aplicación del producto obtenido como aditivo en alimentos y bebidas, mediante la reducción de la propiedad pungente, la capacidad de su liberación en el cuerpo por la acción de la glucosidasa y el incremento de solubilidad en agua.¹⁵

Otro procedimiento que involucra la O-glicosidación fue el acople de compuestos de platino con ADN, Wang y colaboradores sintetizaron y evaluaron la actividad biológica de un O-glicósido con una unidad de glucosa unida al *cis*-platino. Se demostró que esta molécula es tan activa como el *cis*-platino pero menos tóxico y más soluble en agua.¹⁶

Kometani y su grupo de investigación ha contribuido al estudio de compuestos con mejores características biológicas, mediante la biosíntesis de capsaicina- β -D-glucopiranosido, el cual fue obtenido cuando se administró capsaicina en un cultivo de células en suspensión de *Coffea arabica*. Este estudio mostro la disminución de la pungencia y un incremento en la solubilidad en agua, marcando un posible uso de la capsaicina glicosilada como único ingrediente con actividad biológica en alimentos.¹⁷

CATÁLISIS POR TRANSFERENCIA DE FASE. La catálisis es una disciplina que ha sido fundamental para el desarrollo de la industria química ya que más del 80% de los productos químicos manufacturados se obtienen mediante procesos que requieren el empleo de un catalizador al menos en una de las etapas.

Los fundamentos de la catálisis por transferencia de fase (Phase Transfer Catalysis: PTC) fueron reportados esencialmente en la década del 70 independientemente por Mieczyslaw Makosza,¹⁸ Starks¹⁹ y Brandstrom.²⁰ Starks acuñó la frase catálisis por transferencia de fase, a pesar que algunos investigadores discrepaban llamándola el ciclo de transferencia de fase, como proceso en la verdadera esencia de la palabra catálisis. No obstante, la terminología inicial fue bien establecida y aun permanece, especialmente porque solo cantidades catalíticas del agente transferidor de fase son requeridas para una acción efectiva de transferencia de fase.

La catálisis PTC surgió hace varios años como una metodología extremadamente útil para la síntesis de varias clases de compuestos incrementando los rendimientos de reacción, condiciones suaves de reacción, fácil manejo de la reacción, seguridad, economía en solventes y reactivos, y la viabilidad de llevar estas reacciones a escala comercial son algunas de las ventajas que esta técnica ofrece. Muchos productos industriales importantes tales como polímeros, fármacos, química agrícola y

química orgánica fina son manufacturados empleando catálisis por transferencia de fase.

Los principios de la PTC fueron propuestos de manera clara por Reuben y Sjoberg (1981) quienes escribieron que todos los límites son difíciles de atravesar: límites políticos, legales y geográficos y también los límites en los sistemas químicos. Muchas reacciones deseables no pueden ser limitadas porque los reactantes son inaccesibles el uno al otro.¹⁶

Un reactivo nucleofílico soluble en agua y un reactivo electrofílico insoluble en un solvente que es miscible tanto en agua como en solvente orgánico podrían reaccionar. No obstante la velocidad de reacción es mínima debida a la solvatación excesiva del nucleófilo. Alternativamente se han usado solventes polares apróticos como la dimetilformamida o dimetilsulfóxido, pero poseen la desventaja de su elevado costo y la dificultad en la eliminación de la mezcla de reacción por roto-evaporación.

Debido a que la industria química procura suministrar eficiencia en los procesos, seguridad y reducir el impacto ambiental, la PTC ha sido reconocida como una herramienta útil para alcanzar estas metas.

La metodología de la PTC implica un sustrato que sea soluble en la capa orgánica y un reactivo aniónico a menudo un nucleófilo, que se disuelve en la capa acuosa. El sustrato y el anión entonces son reunidos por un catalizador, que transporta el anión en la fase orgánica donde la reacción puede ocurrir con el sustrato.

Las sales cuaternarias de amonio y fosfonio con su capacidad para disolverse en líquidos orgánicos y acuosos son los catalizadores de transferencia para la mayoría de las aplicaciones por transferencia de fase.

Los derivados de amonio son los más comúnmente usados, entre los cuales esta el *Bromuro de tetrabutilamonio*, empleado en el presente trabajo.

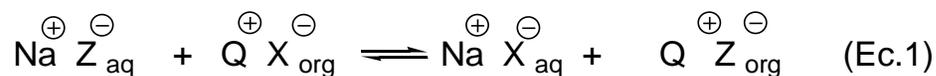
Los agentes de transferencia de fase basados en fosfonio ofrecen otras propiedades interesantes, como una estabilidad térmica más alta. Otros catalizadores de transferencia de fase incluyen los éteres corona y polietilenglicoles (PEG).

Algunos ejemplos bien conocidos de reacciones en las que se incluyen catalizadores con transferencia de fase son: halogenaciones, cianuraciones, reacciones de alquilación y condensación, oxidaciones y reducciones, reacciones de eliminación y reacciones de Wittig y de Wittig-Horner

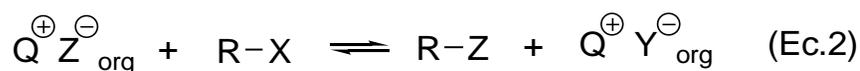
Existen varias ventajas de los sistemas de transferencia de fase en relación a sistemas monofásicos, tales como: incremento en la velocidad de reacción, bajas temperaturas de reacción, evita la necesidad de solventes anhidros o apróticos costosos.

Las reacciones para las cuales la catálisis por transferencia de fase es aplicable se pueden dividir en dos categorías: a) reacciones de aniones que están disponibles como sales, por ejemplo: cianuro de sodio, azida de sodio y acetato de sodio; b) reacciones de aniones que podrían ser generados *in situ*, tales como alcóxidos, fenolatos, N-aniones de amidas o heterociclos, etc..

En el caso anterior las sales son usadas como soluciones acuosas o como sólidos pulverizados. En tanto que la fase orgánica contiene reactantes orgánicos puros o en solventes apropiados. Cuando las fases son inmiscibles la reacción se lleva a cabo con catalizador, el cual transfiere continuamente aniones reactivos en forma de pares iónicos lipofílicos al interior de la fase orgánica, producidos por el equilibrio de intercambio iónico, el subíndice org expresa fase orgánica. (Ec. 1)



Los aniones generados reaccionan por ejemplo, con haluros de alquilo en mecanismos de sustitución nucleofílica (Ec.2)



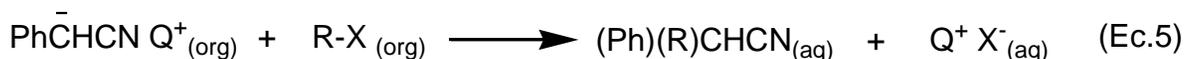
Una variedad de reacciones de adición, reducción y oxidación con participación de aniones inorgánicos, son llevadas a cabo eficientemente usando esta metodología.

Las reacciones catalizadas por transferencia de fase de aniones inorgánicos son mecanísticamente más complicadas. En estos casos la fase inorgánica contiene bases tales como KOH o NaOH acuosas concentradas o sólidas o K₂CO₃ sólido, mientras la fase orgánica contiene el precursor aniónico, un reactante electrofílico y eventualmente un solvente.

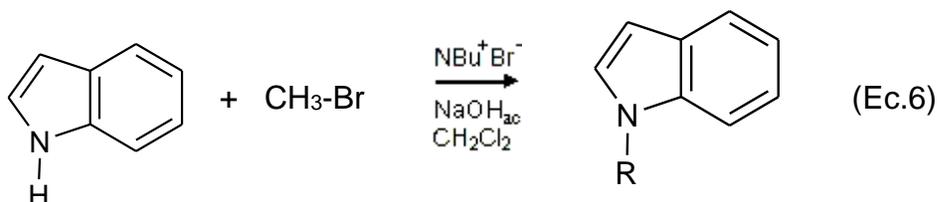
En la alquilación de fenilacetnitrilo vía reacción de su carbanión con haluro de alquilo ejemplifica la aplicación de esta metodología y ayuda a describir como opera el sistema.

La reacción no ocurre cuando una mezcla de fenilacetnitrilo, un haluro de alquilo y NaOH acuoso al 50% es agitado vigorosamente. Por adición de haluro de tetraalquilamonio en cantidad catalítica, usualmente 1% molar, la

reacción es exotérmica y produce fenilalquilacetonitrilo (Ec. 3, Ec.4 y Ec.5),²¹ los subíndices int y ac expresan región interfacial y fase acuosa.



Los compuestos con hidrógenos ácidos C-H, O-H, S-H o N-H son alquilados eficientemente de manera similar como se ejemplifica a continuación en la N-alkilación de indol (Ec.6).



La glicosidación por metodología de transferencia de fase, catalizada por haluros de amonio cuaternario ha tenido una atención especial debido a sus buenos rendimientos y alta estereoselectividad, constituyéndose en una elección ideal en la síntesis de complejos glicósidos, biológicamente activos.²²

Las primeras investigaciones con respecto a las glicosidaciones por transferencia de fase fueron realizadas en 1978 y 1979 en la síntesis de aril

β -D- acetilglucopiranosidos y ácidos aril β -D-glucopiranosidurónicos donde la formación del glicósido mostró alta estereoselectividad.²³ En 1987 se reportó la síntesis de aril β -D-glucopiranosidos benzoilados y cinamatos β -D-glucopiranosil substituidos con el fin de extender esta metodología a la síntesis de ésteres glicosídicos.²⁴

En la década siguiente Roy y Tropper reportaron la síntesis eficiente de aril- β -D-N-acetilglucopiranosidos a partir de cloruro de 2-acetamido-3,4,6-tri-O-acetil-2-deoxi- α -D-glucopiranosido y una serie de fenóxidos, en presencia de bromuro de tetrabutilamonio.²⁵

Venkateshwar y más recientemente Wang y colaboradores reportaron aplicaciones de la catálisis con transferencia de fase en diversas transformaciones orgánicas, dando lugar a nuevos estudios de O-glicosidación, para mejorar las propiedades físico-químicas de diversos compuestos naturales y otras sustancias de interés particular. ²⁵⁻²⁹

En el grupo de investigación Química de Productos Naturales se ha investigado con éxito la O-glucosidación de la vainillilnonanamida por catálisis con transferencia de fase, utilizando bromuro de cetil trimetil amonio.³

4. SECCIÓN EXPERIMENTAL

4.1. GENERALIDADES

Los reactivos y equipos empleados en esta investigación se describen a continuación.

Reactivos y Materiales: Capsaicina, (Sigma, 95%); Vainillilnonanamida (Sigma, 98%); Bromuro de tetrabutilamonio; D-glucosa pentaacetato, (Sigma, 99%); D-galactosa pentaacetato, (Sigma 98%); HBr/Acido acético, (Sigma, 30%); Metanol, ACS, (Merck, 99.8%); Eter de petróleo (Mallinckrodt AR, fracción superior a 50°C); Etanol Comercial; Acetato de Etilo; (Merck, EM Science, Pureza 99.8%); Alcohol butílico 99.9%; Cloroformo, (ACS, EM Science, 99.8%); Diclorometano, (Merck GR ACS, 99.8%); Benceno ACS (Fisher Scientific, 99%); Cloruro de sodio (Fisher Scientific, 99.5%) Bicarbonato de sodio (Fisher Scientific, 99.5%); Sulfato de sodio anhidro (Fisher Scientific, 99.8%); *p*-anisaldehído (Merck, 99.9%); Acido sulfúrico GR ACS, (Merck, 99.8%); Acido acético glacial, (Merck, 99.8%) y Placas cromatográficas de silica gel de 20 x 20 cm

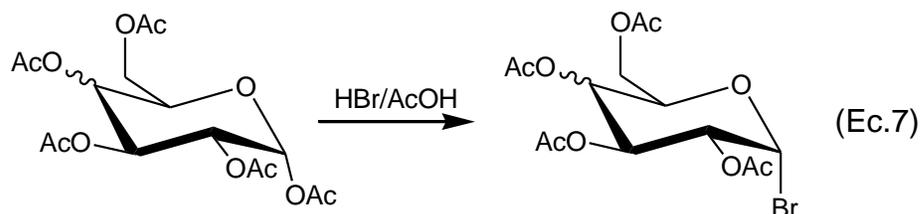
Solventes grado HPLC: Acetonitrilo HPLC (Mallinckrodt, 99.9%); Acetato de Etilo (Merck, EM Science, 99.8%); Metanol, (Fisher Scientific, 99.9%); Etanol (Fisher Scientific, 99.8%)

Equipos: Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiencia (CLAE), Hewlett Packard 1100 Series Hewlett Packard 1100, (Desgasificador G1322A, Bomba Cuaternaria G1311A, Detector UV G1314A, Puerto de Inyección G1328-95001, Software: Instrument Online). Espectrofotómetro infrarrojo, Thermo Nicolet IR 200, Secador Manual, Black & Decker, 9756, Type 2, 260°C /

550°C, Horno Isotemp Oven, Modelo 737G, Fisher Scientific, Rotaevaporador Lavorota 4001 Heidolph, Espectrómetro Bruker AMX-400 MHz.

METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

4.1.1. Síntesis de Bromuros de Glicopiranosilos



Procedimiento General. En un balón de fondo redondo de una boca, provisto de rubber septum se mezcló bajo agitación magnética a temperatura ambiente 1.00 mmol del glicopiranosido peracetilado con 2.34 mL de solución al 30 % de bromuro de hidrógeno en ácido acético. La mezcla continuó agitándose hasta cuando se observó la desaparición del glicopiranosido de partida por cromatografía de capa delgada (CCD), utilizando la mezcla acetato de etilo / éter de petróleo al 40 % como eluente.

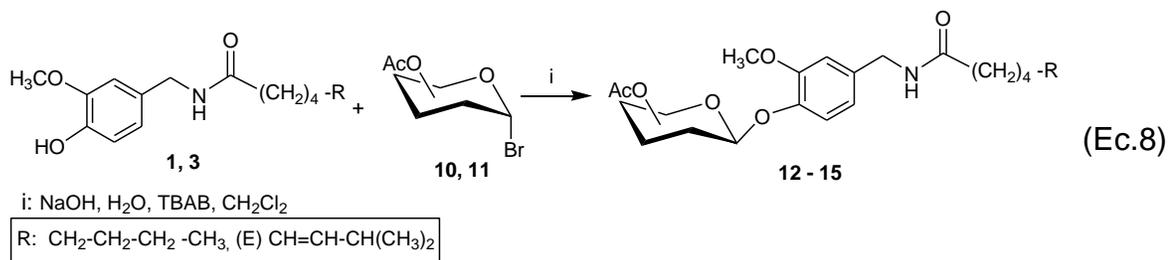
La reacción se terminó mediante adición de 6.0 mL de cloroformo frío por mmol de sustrato y suficiente solución saturada y fría de bicarbonato de sodio hasta conseguir la neutralización de la fase acuosa, observándose evolución de dióxido de carbono. Una vez separada la fase orgánica más densa que la acuosa, se extrajo los componentes orgánicos de la capa acuosa con 2 x 6.0 mL de cloroformo. Posteriormente se juntaron los extractos, se secaron con sulfato de sodio anhidro y se filtraron. El solvente del filtrado se eliminó por roto-evaporación y el crudo se purificó por cromatografía de columna relámpago (CCR) con gradiente, utilizando acetato de etilo / éter de petróleo en las siguientes concentraciones: 10, 15, 20 25, 30, 35 y 40%.

Las fracciones de interés fueron colectadas y rotoevaporadas, obteniéndose el bromuro de glucopiranosilo después de evaporar el solvente.

Bromuro de 2,3,4,6-tetra-O-acetil- α -D-glucopiranosilo 10 RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 6.59 (d, 1H, $J = 4.0$ Hz, **H-C1**), 5.54 (dd, 1H, $J = 9.6$ Hz, 10.0 Hz, **H-C3**), 5.14 (dd, 1H, $J = 9.2$ Hz, 10.8 Hz, **H-C4**), 4.82 (dd, 1H, $J = 4.0$ Hz, 10.0 Hz, **H-C2**), 4.32-4.25 (m, 2H, **H-C4**), 4.10 (d, 1H, $J = 10.8$ Hz, **H₂-C6**), 2.07 (s, **CH₃**), 2.06 (s, **CH₃**), 2.02 (s, **CH₃**), 2.00 (s, **CH₃**). RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 170.0 (**CO**), 87.0 (**C1**), 73.0, 71.5, 70.5, 66.0, 62.0, 20.5. Tiempo de reacción 1.5 h. Rendimiento 89.7%, aislado por CCR como un sólido blanco. $R_f = 0.50$ (eluyente acetato de etilo / éter de petróleo 40%).

Bromuro de 2,3,4,6-tetra-O-acetil- α -D-galactopiranosilo 11. RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 6.68 (d, 1H, $J = 3.9$ Hz, **H-C1**), 5.50 (dd, 1H, $J = 1.2$ Hz, 3.3 Hz, **H-C4**), 5.39 (dd, 1H, $J = 3.3$ Hz, 10.5 Hz, **H-C3**), 5.04 (dd, 1H, $J = 3.9$ Hz, 10.5 Hz, **H-C2**), 4.47 (ddd, 1H, $J = 1.2$ Hz, 6.3 Hz, 7.2 Hz, **H-C5**), 4.16 (dd, 1H, $J = 6.3$ Hz, 11.2 Hz, **H-C6**), 4.08 (dd, 1H, $J = 7.2$ Hz, 11.2 Hz, **H'-C6**), 2.14 (s, **CH₃**), 2.10 (s, **CH₃**), 2.05 (s, **CH₃**), 2.00 (s, **CH₃**). RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 170.00 (**CO**), 88.07 (**H-C1**), 71.01, 67.94, 67.72, 66.92, 60.78, 20.52 (Me). Tiempo de reacción 1.0 h. Rendimiento 71.3 %, purificado por CCR, $R_f = 0.57$ (acetato de etilo / éter de petróleo 40%).

4.1.2. Síntesis de O-Glicósidos por Catálisis con Transferencia de ase



Procedimiento General. En un balón de dos bocas equipado con barra magnética y conectado a un condensador recto con trampa de cloruro de calcio, se mezcló 1.0 mmol de bromuro de glicopiranosilo peracetilado, 1.0 mmol de la amida y 1.0 mmol de bromuro de tetrabutilamonio, en 3.65 mL de diclorometano. Después de homogenizar la mezcla mediante agitación magnética, se adicionó 3.65 mL de solución de hidróxido de sodio 1.0 M y continuó agitándose a temperatura ambiente hasta que desapareció el bromuro de glicopiranosilo de partida. La reacción se monitoreó por cromatografía de capa delgada, usando como eluyente acetato de etilo / éter de petróleo al 40%. Una vez finalizada la reacción, se extrajo el material orgánico con acetato de etilo y el extracto se lavó con solución de hidróxido de sodio 2 x 15 mL, agua destilada 2 x 15 mL y salmuera 1 x 10 mL. Finalmente, la fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro y se rotoevaporó hasta la eliminación total del solvente. El crudo resultante se purificó por CCR utilizando acetato de etilo / éter de petróleo con gradiente 10, 15, 20, 25, 30, 35 y 40%.

Análisis por HPLC. Una solución diluida en acetonitrilo HPLC (~1µg/1mL), de cada glicósido peracetilado purificado por cromatografía de columna relámpago (CCR), se inyectó en el cromatógrafo líquido de alta resolución para verificar la ausencia de impurezas. Las condiciones empleadas a

excepción del flujo del eluyente, se tomaron de trabajos previos realizados en el grupo.³ Los valores correspondientes se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Condiciones empleadas para el análisis por cromatografía líquida de alta resolución.

Condición	Valores
Columna	ODS
Flujo	0.8 mL/min.
Fase móvil	Acetonitrilo / Agua 30 %
Detector	UV (280 nm)
Presión	90 bar
Tiempo de corrida	20 min

Los cromatogramas correspondientes son exhibidos en el anexo (ver Figuras 1 – 4).

N-[3-metoxi-4-(tetra-O-acetil-β-D-glucopiranosiloxi) bencil] nonanamida

12. IR λ^{-1} (cm⁻¹): 3286 (**N-H**), 2926 -2856 (**C-H**), 1746 (CH₃-**C=O**), 1640 (NH-**C=O**), 1225 (**C(Ar)-O-C1'**), 1037 (Ar**C-O-CH**₃), 1081 - 825 (**C5'-O-C1'**).
 RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃), δ(ppm): 7.06 (d, 1H, J = 8.08 Hz, Ar-**H**), 6.83 (s, 1H, Ar-**H**), 6.76 (d, 1H, J = 8.04 Hz, Ar-**H**), 5.78 (sa, 1H, -**NH**), 5.28 (m, 2H, **H-C2'** y **H-C3'**), 5.18 (m, 1H, **H-C4'**), 4.92 (d, 1H, J = 6.89 Hz, **H-C1'**), 4.37 (d, 2H, J = 5.49 Hz, Ar-**CH**₂), 4.15 (d, 2H, J = 10.95 Hz, **H**₂-**C6'**), 3.80 (s, 3H, OCH₃), 3.72 (m, 1H, **H-C5'**), 2.21 (t, 2H, J = 7.50 Hz, **H**₂-**C2**), 2.08 (s, 6H, C(O)-**CH**₃), 2.04 (s, 6H, C(O)-**CH**₃), 1.65 (m, 2H, **H**₂-**C3**), 1.20-1.37 (m, 10 H,

C3-(CH₂)₅, 0.87 (t, 3H, J = 6.45 Hz, H₃-C₉). RMN ¹³C (100 MHz), δ(ppm): 172.92, 170.52, 170.19, 169.32, 150.68, 145.20, 135.13, 120.17, 119.78, 112.14, 100.75, 72.44, 71.82, 71.03, 68.24, 61.78, 55.88, 43.17, 36.71, 31.69, 29.21, 29.04, 25.67, 20.63, 20.55. El producto aislado por CCR como un sólido de color amarillo claro, se obtuvo en un rendimiento del 49.0%. Tiempo de reacción 1.0 h. R_f = 0.05. (Acetato de etilo / éter de petróleo 40%).

N-[3-metoxi-4-(tetra-O-acetil-β-D-galactopiranosiloxi) bencil] nonan amida 13. IR λ⁻¹ (cm⁻¹): 3301 (N-H), 2857-2928 (C-H), 1748 (C=O), 1656 (N-C=O), 1237 (C-O), 1073 - 803 (AcOCH₂-HC-O-C(anom)). RMN ¹H δ (400 MHz, CDCl₃), δ(ppm): 7.07 (d, 1H, J = 8.0 Hz, Ar-H), 6.84 (d, 1H, J = 2.0 Hz, Ar-H), 6.77 (dd, 1H, J = 2.0 Hz, 8.0 Hz, Ar-H), 5.83 (t, 1H, -NH), 5.49 (dd, 1H, J = 8.0 Hz, 10.4 Hz, H-C2'), 5.43 (d, 1H, J = 2.4 Hz, H-C4'), 5.09 (dd, 1H, J = 3.4 Hz, 10.8 Hz, H-C3'), 4.87 (d, 1H, J = 8.0 Hz, H-C1'), 4.38 (d, 2H, J = 5.6 Hz, Ar-CH₂), 4.22 (dd, 1H, J = 6.8 Hz, 11.2 Hz, H-C6'), 4.15 (dd, 1H, J = 6.6 Hz, 11.4 Hz, H-C6'), 3.96 (dd, 1H, J = 7.2 Hz, 6.4 Hz H-C5'), 3.81 (s, 3H, OCH₃), 2.21 (t, 2H, J = 7.6 Hz, C1-CH₂), 2.18 (s, 3H, CH₃), 2.09 (s, 3H, CH₃), 2.04 (s, 3H, CH₃), 2.01 (s, 3H, CH₃), 1.67- 1.61 (m, 2H, J = 7.2 Hz, H₂-C₃), 1.37 – 1.22 (m, 10H, C3-(CH₂)₅), 0.89 (t, 3H, J = 6.8 Hz, H₃-C₉). Después de purificar por CCR se obtuvo un sólido de color amarillo claro en un rendimiento del 50.2 %. Tiempo de reacción 0.9 h. R_f = 0.05 (acetato de etilo / éter de petróleo 40%).

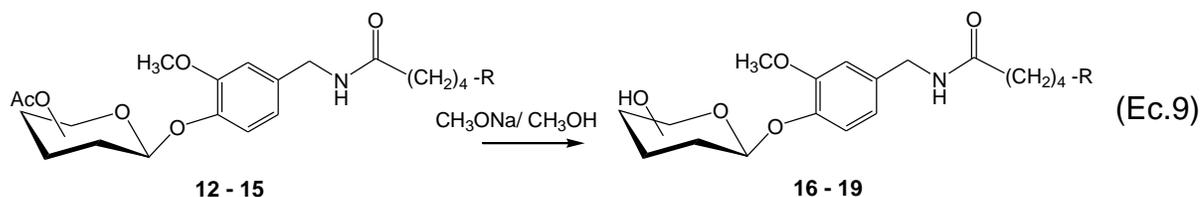
N-[3-metoxi-4-(tetra-O-acetil-β-D-glucopiranosiloxi) bencil] -6-nonen amida 14. IR λ⁻¹ (cm⁻¹): 3300 (N-H), 2924 -2856 (C-H), 1745 (C=O), 1640 (N-C=O), 1225, 971 (C-O), 1165 -1124 (-CH(CH₃)₂), 1124 - 805 (AcOCH₂-HC-O-C(anom)), 1037 (arC-O-C-al), 971 (C=C). RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 7.07 (d, 1H, J = 8 Hz, Ar-H), 6.84 (s, 1H, Ar-H), 6.78 (dd, 1H, J = 8 Hz, 4 Hz, Ar-H), 5.69 (t, J = 6 Hz, 1H, -NH), 5.34-5.41 (m, 2H, CH=CH), 5.27-5.31 (m, 2H, H-C2'- H-C3'), 5.17 (m, 1H, H-C4'), 4.94 (d, 1H, J = 8 Hz, H-C1'),

4.39 (d, 2H, J = 8Hz, Ar-CH₂), 4.22 (ddd, 2H, J = 12 Hz, 4 Hz, H₂-C6'), 3.81 (s, 3H, OCH₃), 3.76 (m, 1H, H-C5'), 2.21 (t, 2H, J = 8 Hz, H₂-C2), 2.18 (s, 1H, CH(CH₃)₂), 2.08 (s, 6H, CH₃), 2.04 (s, 6H, CH₃), 2.0 (m, 2H, H₂-C5), 1.67 (m, 2H, H₂-C3), 1.40 (m, 2H, H₂-C4) 0.96 (d, 6H, J = 8.00 Hz, C8-(CH₃)₂). RMN ¹³C (100 MHz), δ (ppm): 172.79, 170.57, 170.27, 169.31, 150.79, 145.5, 138.15, 135.06, 126.28, 120.86, 119.75, 112.24, 100.80, 72.55, 71.98, 71.16, 68.38, 61.97, 56.05, 43.27, 36.32, 32.16, 30.85, 25.21, 22.61, 20.66, 20.60. Después de purificar por CCR se obtuvo un sólido de color amarillo claro en un rendimiento del 50.8 % . Tiempo de reacción 1.0 h. R_f = 0.05 (acetato de etilo / éter de petróleo 40%).

N-[3-metoxi-4-(tetra-O-acetil-β-D-galactopiranosiloxi) bencil] -6-nonen amida 15. IR λ⁻¹ (cm-1): 3402 (N-H), 2961-2870 (C-H), 1749 (C=O), 1649 (N-C=O), 1229, (C-O), 1156 (-CH(CH₃)₂), 1125-800 (AcOCH₂-HC-O-C(anom)), 1074 (arC-O-C-al), 970 (C=C). RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃), δ(ppm): 7.05 (d, 1H, J = 9.1 Hz, Ar-H), 6.81 (s, 1H, Ar-H), 6.75(d, 1H, J = 8.2 Hz, Ar-H), 5.8 (t, 1H, J = 5.1 Hz, -NH), 5.50-5.44 (m, 2H, CH=CH), 5.40 (m, 1H, H-C4'), 5.38-5.24 (m, 2H, H-C2'- H-C3'), 5.08 (ddd, 1H, J = 10.5 Hz, 2.7 Hz H-C5'), 4.84 (d, 1H, J = 7.98 Hz, H-C1'), 4.24-4.10 (m, 2H, H-C6'), 3.79 (s, 3H, OCH₃), 2.21 (m, 1H, CH(CH₃)₂), , 2.17 (m, 2H, H₂-C2), 2.16, 2.07, 2.02, 1.99 (s, 12H, CH₃), 1.96 (m, 2H, H-C5), 1.64 (m, 2H, H₂-C3), 1.37 (m, 2H, H₂-C4), 0.94 (d, J = 1.23 Hz, H₃-C9), 0.92 (d, J = 1.23 Hz, H₃-C10). RMN ¹³C (100 MHz), δ (ppm): 173.14, 170.57, 170.48, 170.39, 150.98, 145.76, 138.07, 135.34, 126.64, 120.30, 120.12, 112.53, 101.65, 71.12, 70.93, 68.90, 67.10, 61.43, 56.24, 45.30, 36.85, 32.42, 31.17, 29.67, 25.46, 22.86, 20.95, 20.87. Se obtuvo un líquido viscoso incoloro. Tiempo de reacción 0.75 hora. Rendimientos: 47.2 % . R_f = 0.05 (acetato de etilo / éter de petróleo 40%).

Los espectros de RMN ¹H y RMN ¹³C de **12 - 15** se muestran en el anexo, Figuras 5 - 11.

4.1.3. Desacetilación de los O-Glicósidos



Procedimiento General. Se mezcló bajo agitación constante 1 mmol del O-glicósido peracetilado y 18.6 mL de la mezcla metanol / benceno (1:1) en un balón de fondo redondo provisto de una boca. La mezcla resultante se agitó hasta su homogenización y se adicionó 0.45 mL de metóxido de sodio en metanol 1.0 M y continuó agitándose hasta la desaparición del material de partida. El seguimiento se realizó por cromatografía de capa delgada, usando la mezcla eluente acetato de etilo / éter de petróleo al 40%. Finalizada la reacción se adicionó 20 mL de hexano y la mezcla de reacción se llevó al congelador, formándose un precipitado que correspondió al producto, el cual se purificó por recristalización de éter etílico.

Análisis por HPLC. Los productos aislados por CCR, fueron analizados mediante cromatografía líquida de alta resolución para determinar su pureza. Las condiciones empleadas se muestran a continuación.

Tabla 2. Condiciones empleadas para el análisis por cromatografía líquida de alta resolución de O-glicosidos.

Condición	Valores
Columna	ODS
Flujo	0.8 mL/min.
Fase móvil	Acetonitrilo/Etanol 30 %
Detector	UV (280 nm)
Presión	47 bar
Tiempo de corrida	8 min.

Los cromatogramas correspondientes a los productos de O-glicosidación aislados son exhibidos en el anexo, Figuras 12 - 15.

N-[4-(β-D-glucopiranosiloxi)-3-metoxibencil] nonanamida 16 IR: $\lambda^{-1}(\text{cm}^{-1})$ 3569-3377 ($\nu\text{-O-H}$), 3286 ($\nu\text{-N-H}$), 2923-2856 (C-H), 1649 (N-C=O), 1221 (ArC-O-C1'), 1054 (ArC-O-CH_3), 1110 (C5'-O-C1'). RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD), $\delta(\text{ppm})$: 8.28 (t, 1H, NH), 7.04 (d, 1H, $J = 8.4$ Hz, Ar-H), 6.89 (d, 1H, $J = 2.0$ Hz, Ar-H), 6.76 (dd, 1H, $J = 1.8$ Hz, 8.2 Hz, Ar-H), 4.89 (d, 1H, $J = 7.2$, H-C1'), 4.22 (d, 2H, $J = 5.6$ Hz, Ar-CH_2), 3.77 (s, 3H, OCH_3), 3.69 (d, 1H, $J = 10.4$ Hz, H-C4'), 3.50 – 3.45 (m, H-C5' - H-C6'), 3.30 (m, 1H, H-C2'), 3.20 (m, 1H, H-C3'), 2.15 (t, 2H, $J = 7.4$ Hz, $\text{H}_2\text{-C2}$), 1.56 – 1.53 (m, 2H, $J = 6.8$ Hz, $\text{H}_2\text{-C3}$), 1.31- 1.28 (m, 10H, $\text{C3-(CH}_2)_5$), 0.89 (t, 3H, $J = 6.8$ Hz, $\text{H}_3\text{-C9}$). El producto se obtuvo como un sólido blanco con rendimiento del 60.0 %. Tiempo de reacción 3 horas. $R_f = 0.56$ (eluente metanol / cloroformo 20%).

N-[4-(β-D-galactopiranosiloxi)-3-metoxibencil] nonanamida 17. IR: $\lambda^{-1}(\text{cm}^{-1})$: 3498 (-OH), 3282 (N-H), 2921-2852 (C-H), 1643 (N-C=O), 1234

(Ar-O-C1'), 1047 (Ar-O-CH₃), 1082 (C5'-O-C1'). RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD): δ(ppm) 6.90 (d, 1H, J = 8.3 Hz, Ar-H), 6.80 (s, 1H, Ar-H), 6.6 (d, 1H, J = 8.2 Hz, Ar-H), 4.80 (s, 1H, NH), 4.60 (d, 1H, J = 7.71 Hz, H-C1'), 4.20 (s, 2H, Ar-CH₂), 3.68 (m, 2H, H-C6'), 3.61-3.55 (m, 2H, H-C5'), 3.60 (s, 3H, OCH₃), 3.50-3.40 (m, 3H, H-C2'-H-C3'-H-C4'), 2.21 (t, 2H, J = 7.41 Hz, H₂-C2), 1.4 (m, 2H, H₂-C3), 1.25 – 1.00 (m, 10H, C3-(CH₂)₅), 0.89 (t, 3H, J = 5.33 Hz, H₃-C9). RMN ¹³C (100 MHz), δ(ppm): 176.06, 150.99, 146.94, 134.96, 121.32, 118.05, 112.93, 103.49, 76.92, 74.69, 72.24, 70.10, 62.27, 56.62, 43.72, 36.93, 32.95, 30.28, 27.08, 23.98, 14.41. Rendimiento 95.00 %. Tiempo de reacción 1 hora. El producto se obtuvo como un sólido blanco. R_f = 0.56 (eluyente metanol / cloroformo 20%).

N-[4-(β-D-glucopiranosiloxi)-3-metoxibencil] -6-nonenamida 18. IR: λ⁻¹ (cm⁻¹): 3570-3376 (-OH), 3289 (N-H), 2962-2854 (C-H), 1648 (N-C=O), 1221 (ArC-O-C (Glc)), 1054 (ArC-O-CH₃), 1111 (AcOCH₂-HC-O-C(anom)), 975 (C=C). RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD): δ(ppm) 8.3 (s, 1H, -NH), 6.90 (d, 1H, J = 8.15 Hz, Ar-H), 6.73 (s, 1H, Ar-H), 6.76 (d, 1H, J = 8.24 Hz, Ar-H), 5.16 (m, 2H, CH₂CH=CHCH), 4.70 (m, 1H, H-C1'), 4.10 (s, 3H, Ar-CH₂), 3.64 (s, 3H, OCH₃), 3.55 (dd, 2H, J = 9.7 Hz, 10.07 H₂-C6'), 3.10-3.25 (m, 1H, H-C2'-H-C3'-H-C4'-H-C5'), 2.02 (t, 2H, J = 7.16, 7.20 Hz, H₂-C2), 1.78 (m, 1H, CH(CH₃)₂), 1.39 (m, 2H, H₂-C5), 1.17 (m, 2H, H₂-C3), 1.08 (m, 2H, H₂-C4), 0.76 (d, 6H, J = 6.68 Hz, CH(CH₃)₂). RMN ¹³C (100 MHz), δ(ppm): 174.74, 149.50, 145.50, 137.87, 133.46, 126.30, 119.74, 116.58, 111.57, 101.32, 76.85, 76.09, 73.45, 69.76, 60.82, 55.32, 42.14, 35.28, 31.64, 28.73, 25.02, 21.86. Rendimiento 54.8 %. Tiempo de reacción 3 horas. R_f = 0.56 (eluyente metanol / cloroformo 20%).

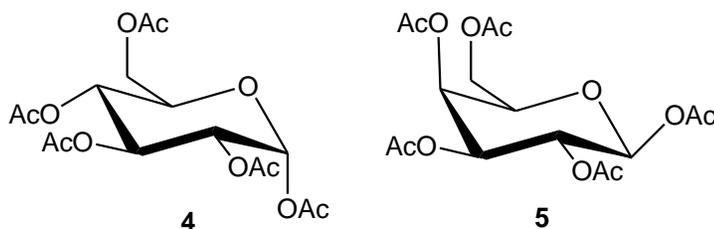
N-[4-(β-D-galactopiranosiloxi)-3-metoxibencil] -6-nonenamida 19. IR λ⁻¹ (cm⁻¹): 3424 (-OH), 2930.58 (C-H), 1638 (N-C=O), 1267 (ArC-O-C (Glc)), 1085 (ArC-O-CH₃), 920 (C=C). RMN ¹³C (100 MHz), δ(ppm): 179.01,

149.17, 145.95, 137.81, 133.58, 126.27, 120.0, 116.65, 111.55, 102.01, 75.50, 73.25, 68.65, 60.91, 55.30, 42.41, 35.38, 31.86, 30.87, 28.53, 25.01, 22.76. Rendimiento 56.4 %. Tiempo de reacción 1 hora. El producto se obtuvo como un sólido blanco. $R_f = 0.56$ (eluyente metanol / cloroformo 20%)

Los espectros de RMN ^1H y RMN ^{13}C de **16-19** se muestran en el , Figuras 16 - 21.

5. RESULTADOS Y DISCUSION

En este trabajo de investigación se partió de los azúcares peracetilados comerciales α -D-glucosa **4** y β -D-galactosa **5**, cuyas estructuras de silla se muestran a continuación.



Estos monosacáridos se diferencian en la configuración del carbono anomérico C-1 y del carbono C-4. De acuerdo a la nomenclatura del gliceraldehido, ambos azúcares se clasifican como D, atendiendo la configuración del centro quiral mas alejado del carbono de mayor grado de oxidación, en este caso es el carbono C-5.

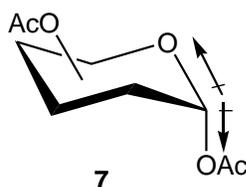
Los azúcares desprotegidos contienen varios grupos hidroxilos, los cuales les confieren hidrofiliidad e insolubilidad en solventes orgánicos; la protección o acetilación de estos grupos los convierte en ésteres de acetato, insolubles en agua y muy empleados como materiales de partida en diversas síntesis que involucran la transformación específica del carbono acetal anomérico, más reactivo que los otros carbonos, con actividad química similar en ambos compuestos.

5.1. Síntesis de Bromuros de glicopiranósidos peracetilados

Los monosacáridos peracetilados comerciales 1,2,3,4,6-penta-O-acetato de α -D-glucosa **4** y 1,2,3,4,6-penta-O-acetato de β -D-galactosa **5**, se

transformaron en los respectivos bromuros de glicopiranosilo como se muestra en la Ec. 7. Estas sustancias son importantes y versátiles intermediarios sintéticos, muy usados como electrófilos en la formación de enlaces glicosídicos en reacciones de sustitución nucleofílica en la química de carbohidratos².

En esta etapa se utilizó una solución de bromuro de hidrógeno en ácido acético al 30 %, efectuándose la bromación en el C-1 por su electrofilicidad, como consecuencia del efecto dipolar asociado a los oxígenos vecinos, como se observa en el glicósido **7**.



El efecto estabilizante del par electrónico no enlazado del oxígeno anular, vecino al carbono anomérico influye en el comportamiento del grupo oxiacetilo convirtiéndolo en medio ácido en buen grupo saliente, generando ácido acético.

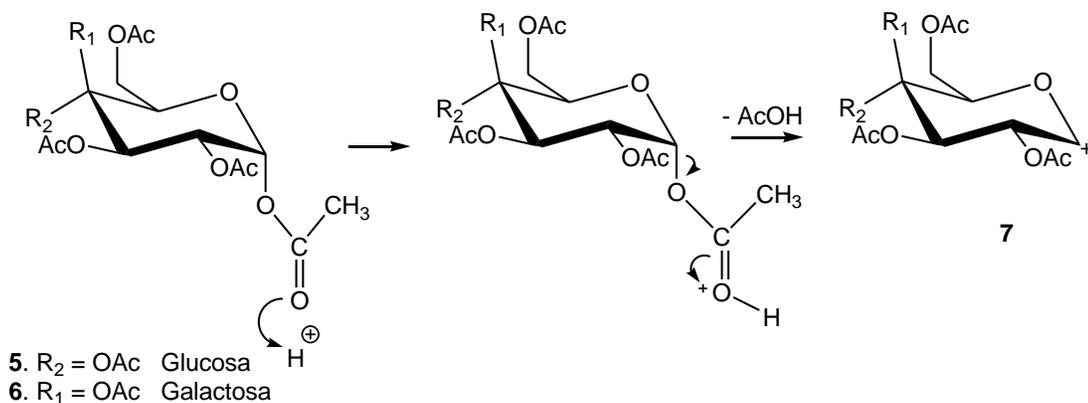
La metodología usada en la bromación anomérica resultó muy exitosa con rendimientos comprendidos entre el 66 y 90% y tiempos de reacción de 1.0 -1.5 horas, mientras que los reportes en la literatura presentan el doble de este tiempo^{3,34}. En la Tabla 3 se muestran los resultados de la bromación de la glucosa y galactosa peracetiladas, en la obtención de los bromuros de tetra-O-acetil- α -D-glucopiranosilo **10** y de tetra-O-acetil- α -D-galactopiranosilo **11** respectivamente.

Tabla 3. Datos experimentales en la síntesis de bromuros

Producto	Tiempo Reacción (h)	Rf	Rendimiento (%)	Característica
10	1.5	0.5	90	Sólido blanco
11	1	0.57	66	Aceite viscoso amarillo claro

Como se muestra en el Esquema 1, la reacción de bromación de los glicopiranosidos peracetilados **5** y **6** procede por un mecanismo de sustitución nucleofílica unimolecular S_N^1 , involucrando la participación de un carbocatión anomérico estabilizado por resonancia. El primer paso conduce a la formación del carbocatión por eliminación de ácido acético y es el determinante de la velocidad de reacción.

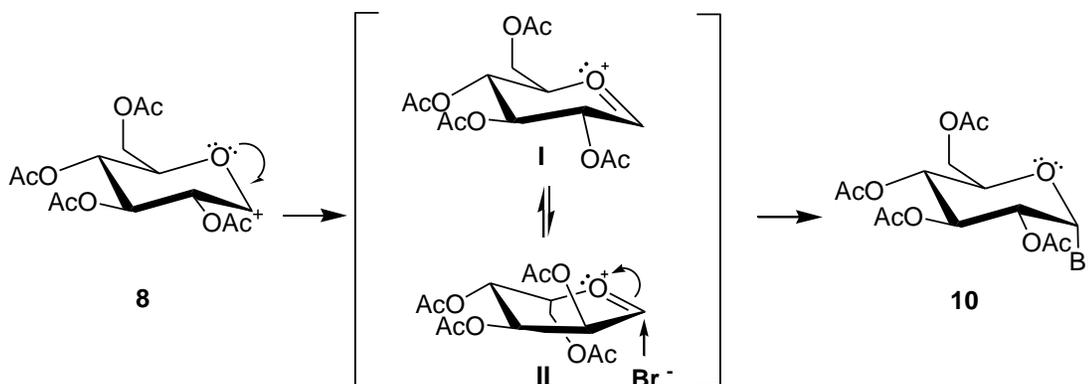
Esquema 1



Se observa en dicho Esquema que el hidrógeno proveniente del HBr es atrapado por el oxígeno del carbonilo formando el enlace O-H con el par

electrónico no enlazado, quedando este oxígeno cargado positivamente al formar tres enlaces. La recuperación del par electrónico conduce al rompimiento del enlace O-C1 y en consecuencia a la generación del carbocatión anomérico, el cual se estabiliza por resonancia, mediante la deslocalización del par electrónico del oxígeno del anillo piranósido, que forma un doble enlace con el carbono anomérico (C1), como se muestra en el Esquema 2.

Esquema 2



La influencia del carbocatión genera dos conformaciones anulares, la silla **I** y semisilla **II**. La última es la menos estable y la de mayor predisposición al ataque del bromuro en dirección axial, *trans* al grupo acetiloxi del carbono C2, produciéndose el epímero α , independientemente de la configuración α o β del material de partida.³¹

El ataque del ión bromuro sobre el conformero **II**, permite formar el enlace C-Br, recuperando el oxígeno piranósido su par electrónico y el producto la conformación de silla del precursor. El mecanismo de la bromación de la galactosa se analiza de manera semejante.

El seguimiento de la reacción por cromatografía de capa delgada (CCD) reveló que el R_f del producto es mayor que el del material de partida, lo cual es consistente con una disminución de la polaridad de la molécula sintetizada.

Los bromuros obtenidos se emplearon rápidamente debido a la inestabilidad de estas sustancias que se hidrolizan con facilidad. La identificación se hizo por comparación de los R_f experimentales con los valores reportados por grupo de investigación Química de Productos Naturales (QPN).³¹

El análisis espectroscópico de los productos obtenidos es consistente con los reportes de la literatura para dichas sustancias.³¹⁻³² En la Tabla 4 se presentan los desplazamientos químicos de las señales protónicas más importantes de los bromuros **10** y **11**. Se observa una estrecha similitud de los desplazamientos químicos de las señales de los hidrógenos anoméricos en ambos compuestos, los cuales generan señales a 6.59 y 6.68 ppm, igualmente se aprecia la proximidad de las constantes de acoplamiento *cis* de los protones H-1 ecuatorial y H-2 axial. Es notable la gran diferencia en las constantes de acoplamiento de los protones H-4 axial y H-4 ecuatorial de la glucosa y la galactosa, en el primero muy grandes porque corresponden a acoplos de mayor valor, tipo axial-axial.

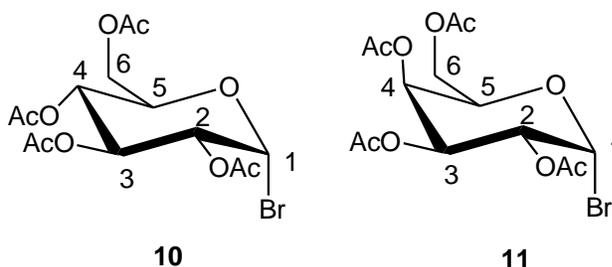


Tabla 4. Características de las señales espectroscópicas de los protones en los bromuros de glicopiranosilo peracetilados **10** y **11**

	δ (ppm), multiplicidad y constantes de acoplamiento J-3 (Hz)				
	H-1	H-2	H-3	H-4	H-5
10	6.59, (d)	4.82, (dd)	5.54, (dd)	5.14, (dd)	~4.28, (m)
	4.0	4.0, 10	9.6, 10	9.2, 10.8	
11	6.68, (d)	5.04, (dd)	5.39, (dd)	5.50, (dd)	4.47, (ddd)
	3.9	3.9, 10.5	3.3, 10.5	1.2, 3.3	1.2, 6.2, 7.3

Los desplazamientos químicos de los carbonos anoméricos también presentan una buena correlación, con desplazamientos de 89.0 y 87.0 ppm

5.2. O-glicosidación por catálisis con transferencia de fase

La reacción de O-glicosidación se efectuó con los bromuros **10** y **11** y los pseudoalcaloides **1** y **3**, generando los compuestos glicopiranosidos **12**, **13**, **14** y **15**, como se muestra en la Ecuación 8.

En la reacción se usó el agente de transferencia de fase bromuro de tetrabutil amonio (TBAB), hidróxido de sodio y los solventes inmiscibles diclorometano y agua. La reacción duró aproximadamente 1 hora con rendimiento aproximado de 50 %; finalizó cuando el bromuro se consumió totalmente.

Los primeros intentos de síntesis de O-glicósidos se hicieron con el bromuro de glucopiranosilo peracetilado y Vainillilnonanamida, empleando una relación de equivalentes 1:2 respectivamente, de acuerdo al protocolo reportado por el grupo QPN.³ *No obstante, en atención al elevado costo de la capsaicina se hicieron nuevos ensayos con otras proporciones del bromuro*

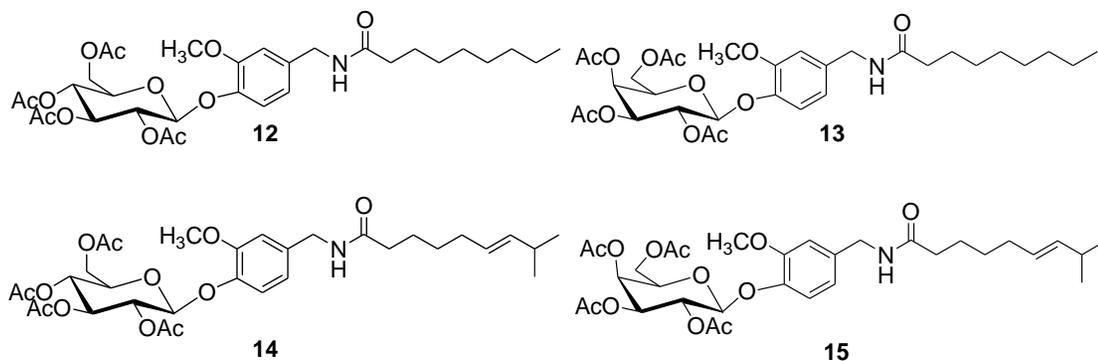
y Vainillilnonanamida, encontrándose como se muestra en la Tabla 5, que el rendimiento era prácticamente el mismo cuando se usaba una relación de equivalentes de 1:1 que cuando se duplicaba.

Tabla 5. Proporciones empleadas para la síntesis de O-glicósidos

Sustancia	Ensayo equivalentes		
	I	II	III
Bromuro de glicósido peracetilado	1	1	1
Vainillilnonanamida	2	1.5	1
Bromuro de tetrabutilamonio	1	1	1
Rendimiento	49	48	46

Como se puede observar en la tabla anterior los porcentajes de rendimiento obtenidos no muestran diferencias significativas, por lo cual se decidió la proporción de bromuro, vainillilnonanamida y TBAB de 1:1:1 para realizar la síntesis de los otros compuestos, exhibidos en el Esquema 5, cuyos nombres se dan a continuación: N-[3-metoxi-4-(tetra-O-acetil- β -D-glucopiranosiloxi) bencil] nonanamida **12**, N-[3-metoxi-4-(tetra-O-acetil- β -D-galactopiranosiloxi) bencil] nonanamida **13**, N-[3-metoxi-4-(tetra-O-acetil- β -D-glucopiranosiloxi) bencil] -6-nonenamida **14** y N-[3-metoxi-4-(tetra-O-acetil- β -D-galactopiranosiloxi) bencil] -6-nonenamida **15**.

Esquema 5



En la Tabla 6 se muestran los resultados de cada reacción. El seguimiento de cada una se hizo por CCD, monitoreando cada 15 minutos, desde 0.5 h hasta que el bromuro se agotó, el tiempo mas corto, 0.75 h se obtuvo con el bromuro de glucopiranosilo.

Tabla 6. Resumen de datos para la síntesis de los O-Glicosidos peracetilados.

Producto	Rf	Tiempo (h)	Aspecto físico	Rendimiento
12	0.05	1.00	Sólido blanco	49.00
13	0.05	0.83	Líquido viscoso incoloro	50.17
14	0.05	1.00	Sólido blanco	50.78
15	0.05	0.75	Sólido blanco	47.2

Los Rf de los compuestos obtenidos indican que los O-glicósidos son de mayor polaridad que los bromuros de partida (Fig. 22).

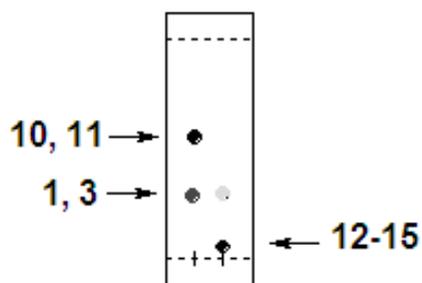
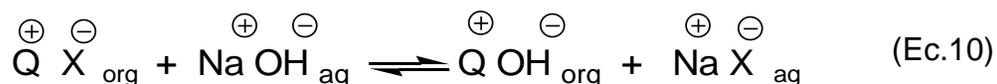


Figura 22. Materiales de partida y producto de la reacción de O-glicosidación, observados por CCD.

Durante el seguimiento se observó también que muchas veces se agotaba el bromuro y que aún se encontraba sin reaccionar la vainillilnonanamida o la capsaicina, esto pudo ser debido a que el bromuro sufrió hidrólisis antes de reaccionar con el precursor fenólico. Considerando lo anterior para trabajos futuros, se recomienda aumentar la proporción de bromuro hasta asegurar que una cantidad de esta sustancia sea suficiente para agotar el otro material de partida.

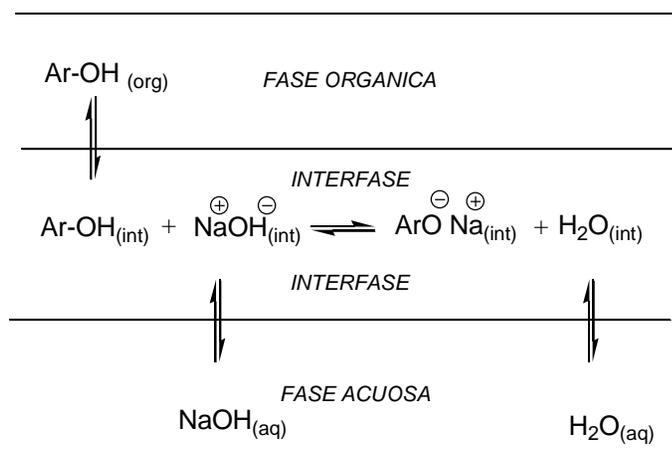
Con relación al mecanismo de la reacción, Makosza ha demostrado que la catálisis por transferencia de fase (CTF) opera por diversas vías en la presencia de diferentes bases.¹⁵ Algunos reportes proponen la transferencia de iones hidroxilo (OH^-) entre las fases, como se muestra en la Ec. 10, lo cual no es válido, debido a que el compuesto Q^+OH^- es altamente hidrofílico y su solubilidad en la fase orgánica es muy limitada, con poca probabilidad de ocurrir la desprotonación del sustrato orgánico.



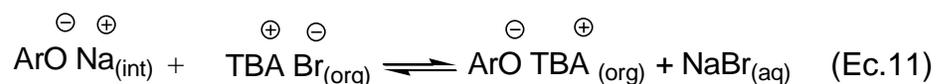
El mecanismo propuesto en este documento se acerca mas al formulado por Starks con base en el modelo de extracción que lleva su mismo nombre.¹⁶ En el Esquema 6 se muestra dicho mecanismo para la reacción de O-glicosidación, en un sistema compuesto por dos fases y una interfase donde ocurren las transformaciones químicas. La fase orgánica esta constituida por diclorometano y la fase acuosa por una solución de hidróxido de sodio 1M. El ArOH representa la capsaicina **3** y la vainillilnonanamida **1** y esta en equilibrio entre la fase orgánica y la interfase, mientras que el NaOH y el agua difunden en equilibrio entre la interfase y la fase acuosa.

En primera instancia el anión reactivo se produce en la interfase en una reacción ácido - básica por extracción del hidrogeno ácido del grupo hidroxilo aromático de cualquiera de los sustratos **1** o **3**.

Esquema 6



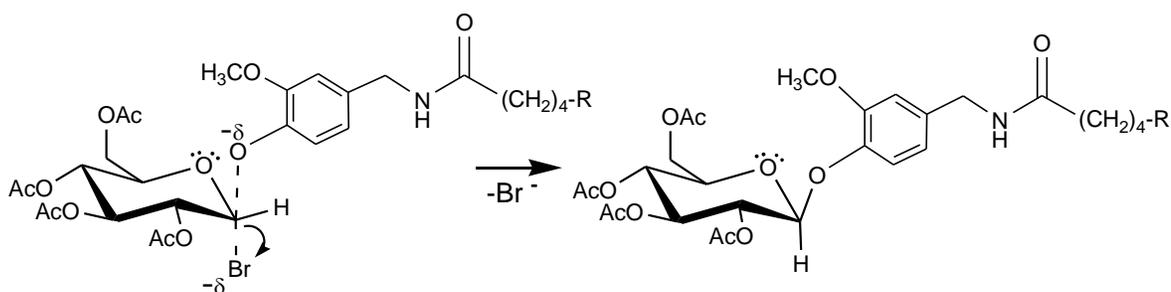
El par iónico $\text{ArO}^- \text{Na}^+$ interactúa en la interfase con el catalizador bromuro de tetrabutilamonio (TBAB), el cual se encuentra en equilibrio entre la fase orgánica y la interfase, y está representado en el Esquema como TBA^+Br^- . Se forma entonces el fenóxido de tetrabutil amonio, el cual tiene mayor afinidad por la fase orgánica (Ec. 11).²⁶⁻³⁰



la interacción entre el anión ArO^- y el TBA^+ no es demasiado fuerte debido a que los sustituyentes n-butilos son voluminosos y producen impedimento estérico, reduciendo la interacción del par iónico $\text{ArO}^- \text{TBA}^+$. La menor intensidad en la cohesión promueve la disponibilidad del anión en la reacción, esta es una de las ventajas de los catalizadores de amonio o de fosfonio cuaternarios. Por otra parte, el solvente orgánico al ser aprótico evita la solvatación del anión, ya que esto reduciría su carácter nucleofílico. No obstante, los solventes apróticos también pueden solvatar aniones por su polaridad mediante interacciones ión dipolo, por esta razón se empleó diclorometano ya que además de ser aprótico posee una polaridad muy baja.

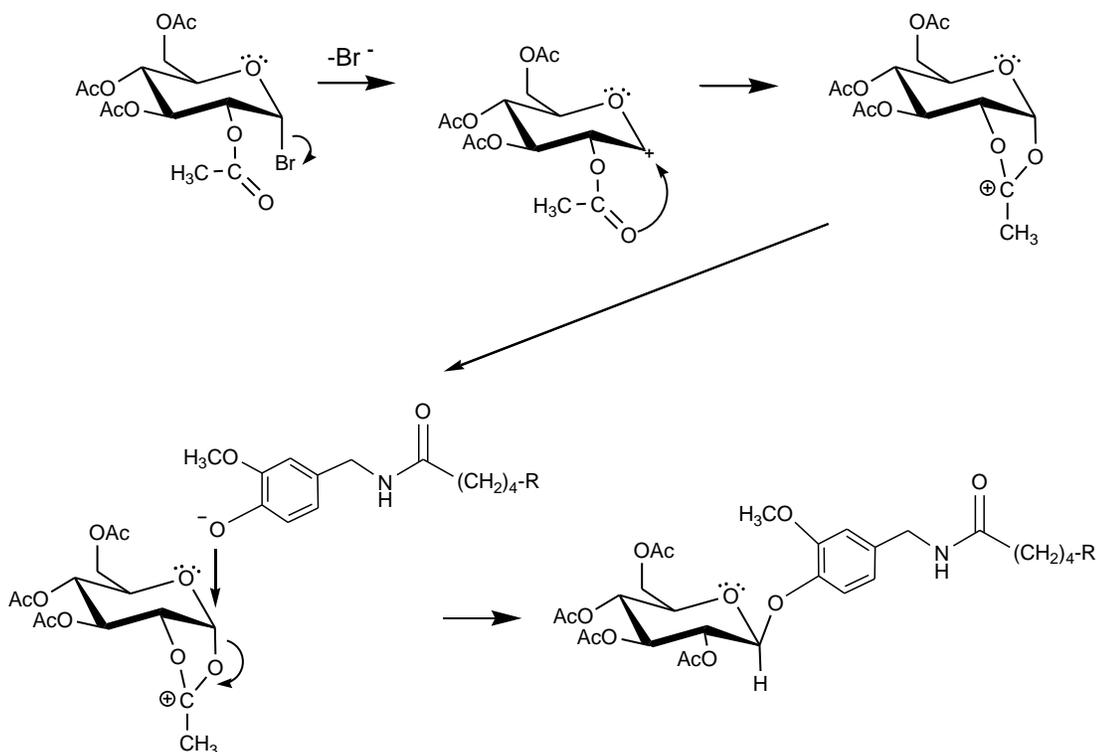
En la fase orgánica el anión ataca al bromuro de glicopiranosilo peracetilado mayoritariamente vía sustitución nucleofílica bimolecular (S_{N}^2) con inversión de configuración del carbono anomérico, porque el anión ataca la molécula de azúcar por el lado ecuatorial, produciendo únicamente el derivado β (Esquema 7).

Esquema 7



Se podría considerar la posibilidad de la eliminación del Bromuro, formando un carbocatión que es atacado intramolecularmente por el grupo carbonilo del acetiloxi vecino formando el carbocatión dioxolano, como se muestra en el Esquema 8. Enseguida este anillo se abre por el ataque vía S_N2 del ión fenóxido.

Esquema 8



Por cromatografía de capa delgada y de HPLC, lo mismo que por espectroscopía de RMN 1H , se evidenció la presencia de un solo epímero, en este caso el anómero β , concluyéndose que la reacción es altamente estereoselectiva.

Análisis HPLC. Después de realizar varias inyecciones con largos tiempos de corrida para todos los productos protegidos y diferentes flujos, no se observaron impurezas ni presencia de más de un epímero. Esto confirma

que la reacción procedió estereoselectivamente conduciendo solamente al derivado β . Este resultado confirma que la separación del crudo fue adecuada.

En la Tabla 7 se muestran las absorciones en IR mas significativas de los O-glicósidos **12** – **15**, observándose que todos los compuestos obtenidos exhiben la señal del éter puente del glicósido con el aglicon a $\sim 1220 \text{ cm}^{-1}$. Esta señal se diferencia de las bandas del enlace C-O-C del anillo piranósido que aparece a ~ 1100 y $\sim 800 \text{ cm}^{-1}$. Aunque no es posible determinar diferencias significativas entre los derivados, si es muy evidente la formación de compuestos nuevos a partir de los materiales de partida usados, por la desaparición de la banda O-H del compuesto fenólico de partida y la aparición de la banda a $\sim 1220 \text{ cm}^{-1}$.

Tabla 7. Absorciones IR (λ^{-1}) más significativas de los O-glicósidos **12** - **15**

	12	13	14	15
N-H	3286	3301	3300	3402
C-H	2926 –2856	2857-2928	2924 -2856	2961-2870
C=O	1746	1748	1745	1749
N-C=O	1640	1656	1640	1649
ArC-O-C1'	1225	1237	1225, 971	1229
-CH(CH₃)₂	-	-	1165 -1124	1156
ArC-O-CH₃	1037	-	1037	1074
C5'-O-C1'	1081 – 825	1073 - 803	1124 - 805	1125-800
C=C	-	-	971	970

Los espectros de RMN ^1H y ^{13}C en cloroformo deuterado del O-glicósido **12** y **13** son mostrados en el anexo. Figuras 16 – 19.

En la Tabla 8 se destacan las señales protónicas más importantes de los O-glicósidos **12** y **13**. Se distinguen las absorciones del protón del carbono anomérico, los metilos correspondientes a los grupos acetilos del monosacárido y las señales características para los desplazamientos químicos de los protones representativos de la vainillilnonanamida, como el grupo amido y los protones aromáticos, los cuales no se incluyeron.

Tabla 8. Datos de RMN ^1H , δ (ppm), señal, J (Hz) para **12**.y **13**

Asignación de grupo	12	13
-NH	5.78, m	5.83, t
H-C1'	4.92, d, 6.89	4.87, d, 8
Ar-CH₂	4.37, d, 5.49	4.38, d, 5.6
OCH₃	3.80, s	3.81, s
C(O)-CH₃	2.08 -2.04, s	2.09-2.01, s

El valor de la constante de acoplamiento J-3 del protón del carbono anomérico y el protón del carbono C2 axial-axial o ecuatorial-axial permite determinar su configuración en ambos compuestos. En el O-glicósido **12** la constante de acoplamiento de 6.89 Hz está en el rango de un acople axial – axial, lo cual demuestra una estereoquímica β , confirmando lo que se esperaba en una reacción de O-glicosidación vía sustitución S_{N}^2 con inversión de configuración. De igual manera, en el O-glicósido **13**, el valor de la constante J-3 = 8.00 Hz indica un acople axial – axial consistente con una estereoquímica β del carbono anomérico.

Por otra parte, el espectro de RMN ^{13}C del producto **12**, muestra un número de señales equivalentes a la cantidad de carbonos. Se observan, seis señales con desplazamientos entre 61.78 y 100.75 ppm que corresponden a las absorciones de los carbonos de la glucosa. Los cuatro carbonos de los metilos correspondientes a los grupos acetilos producen señales alrededor de 20 ppm, mientras que los carbonilos correspondientes absorben a ~170 ppm y el carbonilo amida a ~173 ppm.

Los datos espectroscópicos de RMN ^1H y ^{13}C para los compuestos **14** y **15**, se exhiben en la Tabla 9.

Tabla 9. Datos de RMN ^1H , δ (ppm), señal, J (Hz) para **14** y **15**

Asignación de grupo	14	15
-NH	5.69, t, 6.00	5.80, t, 5.1
CH=CH	5.41-5.34, m	5.50-5.44, m
H-C1'	4.94, d, 8.00	4.84, d, 7.89
OCH ₃	3.81, s	3.79, s
H ₂ -C2	2.21, t, 8.00	2.17, m
CH(CH ₃) ₂	2.18, s	2.21, m
CH(CH ₃) ₂	0.96, d, 8.00	0.94-0.92, d, 1.23

El análisis de los espectros RMN ^1H (anexo, Figuras 8 - 11) para los compuestos **14** y **15** revelan la presencia de tres señales a campo bajo entre δ 7.07 y 6.75 correspondientes a la presencia de un anillo aromático con protones cuyas constantes de acoplamiento son típicas para estos sistemas.

La presencia de varias señales entre δ 5.40 y 3.76, que integran para siete protones sugieren la presencia del anillo glicopiranósido, por su parte, los

metilos de los grupos acetilos del monosacárido se encuentran en una región entre δ 2.16 y 1.99. La configuración anomérica β para los compuestos **14** y **15** fue establecida a partir de las constantes de acoplamiento de 8.00 Hz y 7.89 Hz obtenidas para los dobletes con desplazamientos de $\delta = 4.94$ ppm y $\delta = 4.84$ ppm, del derivado de la glucosa y de la galactosa respectivamente.

El desplazamiento químico para la señal **NH** se encuentra para el compuesto **14** como un triplete a δ 5.69 con una constante de acoplamiento de 6.00 Hz y para **15**, de igual manera como un triplete a δ 5.80 con una constante de acoplamiento de 5.1 Hz. La presencia de un multiplete entre δ 5.50 y 5.34, a campo bajo, que integra para dos protones, sugiere el doble enlace presente en la cadena carbonada de la capsaicina.

El espectro de RMN ^{13}C muestra seis señales para glucosa desde δ 61.43-101.65 y cuatro carbonos de acetilos alrededor de δ 20 y δ 170. De igual manera dos señales a δ 126.28 y 138.07 para **14** y δ 126.64 y 138.07 para **15** confirman la presencia de carbonos olefínicos.

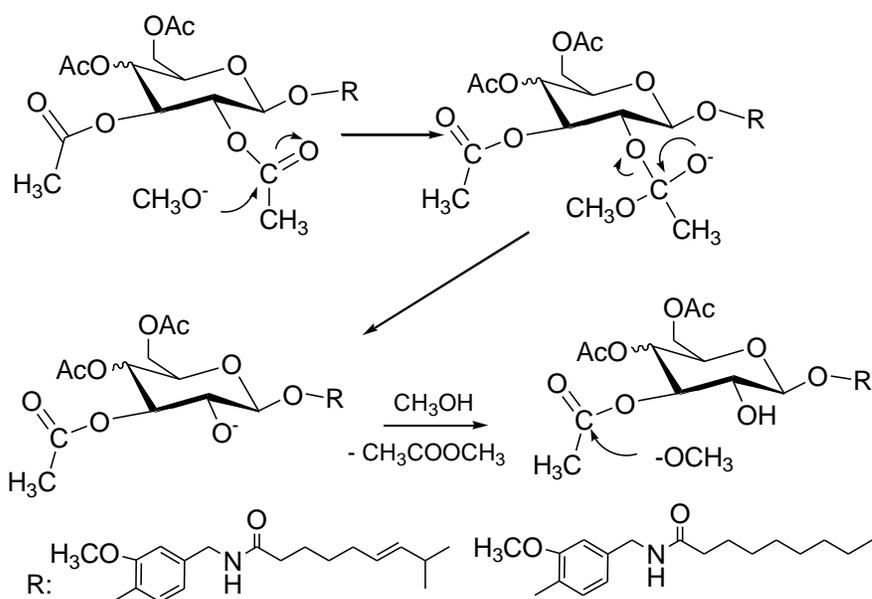
Las señales anteriores en los espectros de los productos **14** y **15** y otras que no se discuten en esta sección, contribuyeron a confirmar la presencia del compuesto esperado.

5.3. Desprotección de los compuestos peracetilados.

La desacetilación de los O-glicósidos peracetilados se realizó a temperatura ambiente, bajo las condiciones de reacción de Zemplén,²⁴ empleando una mezcla de metanol y benceno. Esta mezcla heterogénea posee una polaridad adecuada tanto para el sustrato como para el metóxido de sodio, la reacción ocurre en la interfase. El mecanismo de la desacetilación se muestra en el Esquema 9, observándose que el ión metóxido ataca al grupo

carbonilo de cualquiera de los grupos acetilo, en este análisis se escogió el grupo unido al C2'. Producto de este ataque se forma acetato de metilo.

Esquema 9



En esta metodología se usa una cantidad catalítica de metóxido de sodio, debido a que después de la eliminación de acetato de metilo hay formación de un alcóxido secundario más básico que desprotona al metanol, para producir nuevamente el ión metóxido, el cual continúa con el proceso de desacetilación de los demás grupos hidroxilos protegidos del anillo piranósido.

El proceso se monitoreó por CCD (Figura 23), empleando doble elución con acetato de etilo/éter de petróleo (I) en el cual el producto tuvo un R_f de 0.05 indicando de acuerdo a las condiciones de la cromatografía aumento en la

polaridad del compuesto sintetizado, y de igual manera se puede observar el comportamiento polar del compuesto, con la fase móvil de la mezcla polar metanol/cloroformo (II),

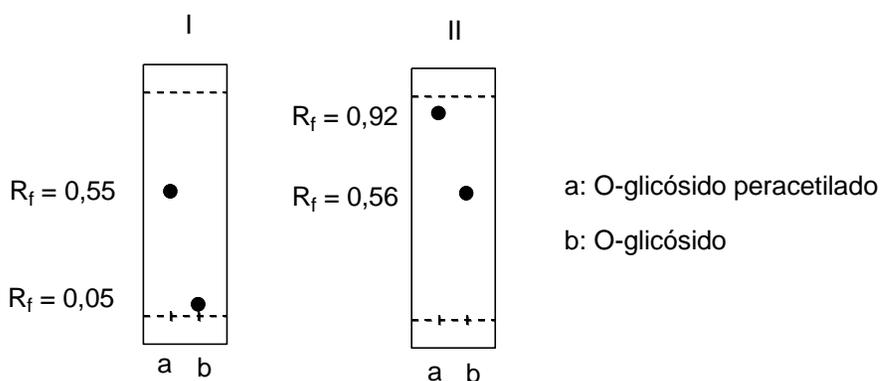


Figura 23. CCD de O-glicósidos

Además de determinar el fin de la reacción por CCD, se observa la aparición de un sólido blanco, correspondiente al producto, la precipitación se logra totalmente al adicionar hexano a la mezcla de reacción, debido a la insolubilidad del compuesto obtenido en solventes apolares. La purificación del glicósido se realiza por la filtración del compuesto y lavados del precipitado con éter etílico.

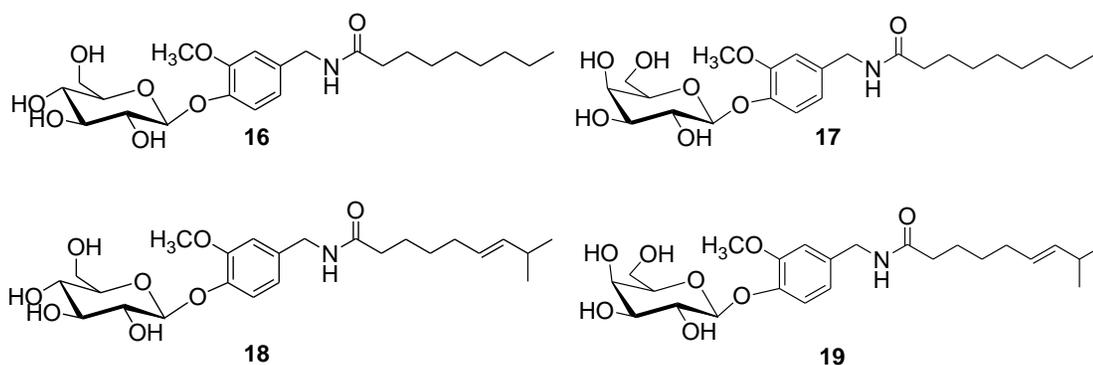
Como se puede observar en la siguiente tabla los porcentajes de rendimiento obtenidos en la desprotección oscilaron entre 55 y 95%. El rendimiento obtenido de 54.8 % relativamente bajo, probablemente se debió a errores humanos, ya que la reacción se trabajó con 20 a 25 mg de material de partida.

Tabla 10. Datos experimentales de la reacción de desacetilación

Producto	R _f	Tiempo (h)	Aspecto físico	Rendimiento
16	0.56	3	Sólido blanco	60.00
17	0.56	1	Sólido blanco	95.00
18	0.56	3	Sólido blanco	54.80
19	0.56	1	Sólido blanco	56.40

Los compuestos exhibidos en el Esquema 10 se obtuvieron mediante la desprotección de los acetilos, cuyos nombres se dan a continuación: N-[3-metoxi-4-(β-D-glucopiranosiloxi) bencil] nonanamida **16**, N-[3-metoxi-4-(β-D-galactopiranosiloxi) bencil] nonanamida **17**, N-[3-metoxi-4-(β-D-glucopiranosiloxi) bencil]-6-nonenamida **18** y N-[3-metoxi-4-(β-D-galactopiranosiloxi) bencil]-6-nonenamida **19**.

Esquema 10



Análisis HPLC. Después de determinar la pureza de los compuestos obtenidos la desprotección de los hidroxilos, se confirma por espectroscopia infrarroja y de resonancia magnética nuclear.

En el análisis por IR, se apreciaron las señales más representativas para los compuestos en estudio (Tabla 11), este análisis demuestra la desaparición del carbonilo (~1700), correspondiente a los grupos acetoxi en el carbohidrato y la absorción para los grupos hidroxilo (~3450), confirmando la desprotección de los glicósidos peracetilados, en el caso de **19** la absorción correspondiente al grupo NH esta solapada por el ancho de la señal para los OH, la absorción que confirma la formación del éter se encuentra en todos los compuestos a aproximadamente ~1220 cm⁻¹, que se diferencia de la señal del enlace C-O-C del anillo piranósido que aparece a ~ 1100 y ~ 800 cm⁻¹.

Tabla 11. Absorciones (λ^{-1}) más significativas de los O-glicósidos **16-19**

	16	17	18	19
OH	3569-3377	3498	3570-3376	3424
N-H	3286	3282	3289	*
N-C=O	1649	1643	1648	1638
ArC-O-C1'	1221	1234	1221	1267
ArC-O-CH₃	1054	-	1054	1085
C5'-O-C1'	1110	1111	*	*
C=C	-	-	975	920

* No se observa por el ancho de las señales presentes

Esta técnica permite hacer un análisis aproximado de los grupos funcionales presentes en las sustancias en estudio, sin embargo la información que brinda, no es suficiente para confirmar la estructura del compuesto obtenido, por esta razón es necesario el análisis empleando Resonancia magnética nuclear de ^1H y de ^{13}C .

En la Tabla 12 se destacan las señales protónicas más importantes de los O-glicósidos **16**, **17** y **18**.

Tabla 12. Datos de RMN ^1H , δ (ppm), señal, J (Hz), para **16-18**.

Asignación de grupo	16	17	18
-NH	8.28, t, 1H	4.80, s	8.30, s
H-C1'	4.89, d, 7.2	4.60, d, 7.71	4.70, m
H-C2'	3.30, m		
H-C3'	3.30, m	3.50-3.45, m	3.10-3.25, m
H-C4'	3.69, d, 10.4		
H-C5'	3.50-3.45, m	3.61-3.55, m	
H-C6'		3.68, m	3.55, dd, 9.7, 10.07

Según la tabla anterior y los espectros de RMN ^1H para los compuestos **16-18** (Ver anexo, Figuras 16 - 20), se observan las absorciones del carbono anomérico, que una vez mas demuestran la configuración β , ya analizada en la sección anterior, no se presentan los desplazamientos químicos característicos para los acetilos, como era de esperarse, corroborando así, además de la formación del O-glicósido, la desprotección de los hidroxilos,

en consecuencia los siete protones correspondientes al anillo piranósido aparecen a desplazamientos menores en comparación con los O-glicósidos acetilados.

Con respecto a las demás señales correspondientes a la vainillinonamida y a la capsaicina no se encuentran diferencias significativas en comparación con los espectros para los O-glicósidos acetilados, excepto por el grupo NH, el cual varía su desplazamiento químico debido al efecto del solvente.

Debido a que no se cuenta con el espectro de RMN ^1H de **19** (Ver anexo, Figura 21), el espectro de RMN ^{13}C indica la desaparición de las señales características para los acetilos a ~ 170 y ~ 20 ppm. De igual manera los espectros de RMN ^{13}C para **16**, **17** y **18**.

Con respecto a la solubilidad del compuesto se realizaron ensayos con agua, metanol, etanol y acetona, los resultados obtenidos se presentan en la siguiente tabla.

Tabla 13. Pruebas de solubilidad de los O-glicósidos

Compuesto	Agua	Metanol	Etanol	Acetona
16	Insoluble	Soluble	Soluble	Soluble
17	Insoluble	Soluble	Soluble	Soluble
18	Insoluble	Soluble	Soluble	Soluble
19	Insoluble	Soluble	Soluble	Soluble

Las pruebas de solubilidad mostraron que el compuesto es soluble en solventes orgánicos polares, pero insoluble en agua, probablemente, debido a que la cadena carbonada de los capsaicinoides tiene un alto grado de lipofilidad, por esta razón se sugiere la síntesis del compuesto O-glicósido empleando un disacárido, o polisacárido para determinar nuevamente su solubilidad en agua.

6. CONCLUSIONES

Se sintetizaron O-glicósidos de glucosa y galactosa con capsaicina mediante catálisis por transferencia de fase, usando bromuro de tetrabutil amonio como intercambiador de fase, consiguiendo buenos rendimientos en la etapa de glicosidación.

Se adecuaron las condiciones para el análisis por HPLC de los productos obtenidos en la O-glicosidación y en la desprotección, confirmándose la pureza de los compuestos aislados a través de los cromatogramas obtenidos y los espectros de infrarrojo, y de RMN ^1H y ^{13}C . Los datos espectroscópicos fueron consistentes con las estructuras de los compuestos esperados.

Se estableció la estereoquímica de los O-glicósidos obtenidos con base en la señal del protón anomérico, determinándose claramente la obtención estereoselectiva del anómero β , mediante un mecanismo S_{N}^2 , o también con posibilidad de un mecanismo $\text{S}_{\text{N}}^1 - \text{S}_{\text{N}}^2$, en ambos casos con inversión de configuración.

Se optimizaron las condiciones de reacción de la O-glicosidación con respecto al tiempo y a la cantidad de aglicona empleada, especialmente por los elevados costos de la capsaicina.

Los O-glicósidos desprotegidos demostraron buena solubilidad en etanol, metanol y en acetona, esto demuestra el aumento en la polaridad de la molécula respecto a la capsaicina misma. No obstante, el cambio no fue suficiente como para lograr su solubilidad en agua, por lo cual podría intentarse la síntesis de O-glicósidos con disacáridos o polisacáridos.

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Sultana S., Shinamoto M., Obata R., Nishiyama S., Sugai T., An expeditious chemo-enzymatic synthesis of dihydronorcapsaicin β -D-glucopyranoside. *Science and technology of advanced Materials* 7, 197-201. (2006)
2. Binkley R., Modern carbohydrate chemistry. Marcell Dekker inc., p. 45,307-309, (1988).
3. Carmen Eugenia Solarte, Tesis de Pregrado de Química. Extracción y cuantificación de capsaicina del fruto del ají (*Capsicum frutescences*) por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) y síntesis de análogos O-glicósidos. Universidad del Cauca (2004).
4. Szallasi A., Blumberg P., Vanilloid (Capsaicin) Receptors and Mechanisms *Pharmacological Reviews* Vol 51 No. 2 (1999).
5. a) Walpole, C., Wrigglesworth R., Bevan S., Campbell E., Dray A., James I., Perkins M., Reid D., Winter J. Analogues of Capsaicin with Agonist Activity as Novel Analgesic Agents; Structure – Activity Studies. 1. The Aromatic “A – Region”. *Journal of Medical Chemistry*. Vol.36, No. 16.; p. 2352 – 2372 (1993). b) Walpole, C, Wrigglesworth R., Bevan S., Campbell E., Dray A., James I., Perkins M., Reid D., Winter J.. Analogues of Capsaicin with Agonist Activity as Novel Analgesic Agents; Structure – Activity Studies. 2. The Amide Bond “B – Region”. *Journal of Medical Chemistry*. Vol.36. p. 2373 – 2380 (1993) c) Walpole, C, Wrigglesworth R., Bevan S., Campbell E., Dray A., James I., Perkins M., Reid D., Winter J.. Analogues of Capsaicin with Agonist Activity as Novel Analgesic Agents; Structure – Activity Studies. 3. The Hydrophobic Side – Chain “C – Region”. *Journal of Medical Chemistry*. Vol.36. p. 2381.– 2389 (1993). d) Walpole, C, Wrigglesworth R., Bevan S., Campbell E., Dray A., James I., Perkins M., Reid D., Winter J. Analogues of Capsaicin with Agonist Activity as Novel Analgesic Agents; Structure

- Activity Studies. 4. Potent, Orally Active Analgesics. *Journal of Medical Chemistry*. Vol.39. p. 4942 – 4951. (1996)
6. Mas, P.; Ordovás, J. P. Capsaicina: Informe para la Comisión de farmacia y terapéutica Española, (2006)
 7. García, M. E., Futuro del Empleo de La Ketamina, Capsaicina, Mexiletina y Adenosina en Dolor Neuropático. Servicio de Anestesia, Reanimación y Terapéutica del Dolor. Hospital General Universitario de Alicante. V REUNIÓN CIENTÍFICA DE LA SED Y JORNADA DE ACTUALIZACIÓN EN DOLOR (2005).
 8. Nelson, E. K. The Constitution of Capsaicin: the pungent principle of capsicum. *Journal of the American Chemical Society*. Vol. 41.; p 1115 – 1472 (1919)
 9. Caterina, Michael. et al. The Capsaicin Receptor: a heat – activated ion channel in the pain pathway. *Nature*. Vol. 389 ; p. 816 – 817 (1997)
 10. Hoessini M., Maddalena D. J., Spence I., Using artificial neural networks to classify the activity of capsaicin and its analogues. *J. Chem. Comput. Sci.* 37, 1129-1137 (1997).
 11. Palomino E. *Revista colombiana de ciencias químico-farmacéuticas*. No. 20 Diciembre p. 5-8. (1992)
 12. Sultana S., Shinamoto M., Obata R., Nishiyama S., Sugai T., An expeditious chemo-enzymatic synthesis of dihydronorcapsaicin β -D-glucopyranoside. *Science and technology of advanced Materials* 7, 197-201. (2006)
 13. Hamada H., Nishida K., Furuya T., Ishiara K., Nakajima M. Preparation a new pepper: chemoenzymatic synthesis of capsaicin oligosaccharide and 8-Norhydrocapsaicin oligosaccharide. Junio (2001).
 14. Takaishi Y., Kogure K., Yamauti I., Antioxidant activity of a new capsaicin derivate from capsicum annum. *J. N. Prod*, 66, 1094-1096 (2003).

15. Mihara, S., Hiraoka K., Kameda W. Synthesis of N-[4-(α -D-Glucopyranosyloxy)-3-methoxybenzyl] nonanamide and its β -Anomer. *J. Agric. Food Chem.* Vol. 40. p. 2057 – 2059 (1992).
16. Wang, P. Lee G., Suzuki K. A Carbohydrate-Linked cis-platin Analog Having Antitumor Activity. En: *Angew. Chem. Int. Rd.* Vol 38, No 12; p. 1768-1769 (1999)
17. Kometani, T. Glucosylation of Capsaicin by Cell Suspension cultures of *Coffe arabica*. En: *Note Biosci. Biotech. Biochem.* Vol 57. No 12. p. 2192-2193 (1993).
18. Makosza, M., "Two phase reactions in the chemistry of carbanions and halocarbenes: a usefull tool in organic synthesis" *Pure Appl. Chem.*, 43, 439 (1975)
19. Starks C. M., "Phase transfer catalysis: I. Heterogeneous reactions involving anion transfer by quaternary ammonium and phosphonium salts" *J. Amer. Chem. Soc.*, 93, 195 (1971)
20. Brandstrom A., "Principles of phase transfer catalysis by quaternary ammonium salts" *Adv. Phys. Org. Chem.*, 15, 267 (1977)
21. Naik S., doraiswamy L. K., Phase transfer catalysis: chemistry and engineering. *AIChE Journal*, vol. 44, No. 3 (1998)
22. Makosza, M. Phase-transfer catalysis. A general green methodology in organic synthesis. *Pure Appl. Chem.* Vol 72. No 7. p. 1403-2000. (2000)
23. Brewster, K. Synthesis of aryl β -D-Glucopyranosides and aryl β -D-Glucopyranosiduronic acids. *Tetrahedron Letters.* Vol 52. p. 5051-5054 (1979)
24. Roy. R y Tropper, F. Stereospecific Synthesis of Aryl β -D-N-acetylglucopyranosides by phase transfer catalysis. Departament of Chemistry.University of Ottawa. (1990)

25. Loganathan D y Girish, T. Phase-Transfer-catalyzed D-Glucosylation: síntesis of benzoylated aryl β -D-glucopyranosides and β -D-glucopyranosyl-substituted cinnamates. En: *Carbohydrate Research*. p. 117-125 (1987).
26. Venkateshwar Ch., Mahesh M., Raju P. V., Narayana V., A new phase transfer catalyst and its applications in organic transformations, *Synthetic communications*. Vol 32, No. 18, 2797-2802 (2002)
27. Ling Wang M., Lee Z., Kinetic study of synthesizing Bisphenol A Diallyl ether in a phase-transfer catalytic reaction. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 79, 1. 80-87 (2006)
28. Shabestary N., Khazaeli S., Hickman R., Phase transfer catalytic reactions. *Journal of chemical education*. 75 No. 11 p. 1470-1472 (1998)
29. Ho-Shing Wu, Bang Liu. Kinetics and extraction of phenol in transfer catalyzed reaction. *The Canadian Journal of Chemical Engineering*, Vol.76 p. 771 (1998)
30. Afon' kin A., Shumeyko A., Kostrikin M., Popov A. Phase transfer catalysis and stereoselectivity in phenolysis of cyclic phosphazenes. *Organic chemistry in Ukraine*. ISSN 1424-6376. *Arkivoc* 2005(viii) 47-59, (2005).
31. Somsak L., Carbanionic reactivity of the anomeric center in carbohydrates. *Chem. Rev.* 101 p.81-135 (2001).
32. Jaime Martin Franco, Estudio de: a) Ciclaciones de sistemas eninos (1,6 y 1,7), carbonil-doble-enlace, carbonil-nitrilo y alquinil-nitrilo a través de radicales silvinílicos y siloxialquilos. b) Cianación del carbono anomérico de glicopiranosidos via radicales sililo. (1998), Universidad del Valle, Departamento de Química, postgrado en Ciencias – Química