

Síntesis de chalconas preniladas potencialmente bioactivas mediante reacciones consecutivas de reordenamiento y condensación de Claisen

Synthesis of prenylated chalcones potentially bioactives through consecutive reactions of Claisen's rearrangement and condensation

Lic. Ariamna Dip^I, Dr C. Eugenio Torres^I, Lic. Marian Blanco^I, Dr. C. Quirino Arias^I, Dr. C. Dirk Michalik^{II}, Prof. Dr. Christian Vogel^{II}.

adipg@udg.co.cu

^I Centro de Estudios de Química Aplicada, Universidad de Granma, Cuba; ^{II} Universidad de Rostock, Alemania.

Recibido: 4 de marzo de 2016

Aprobado: 19 de junio de 2016

Resumen

La introducción de grupos prenilo e hidroxilo en la estructura de las chalconas pudiera conducir a la obtención de nuevos análogos estructurales con potencial actividad biológica. La síntesis de estos compuestos constituye una vía interesante para la obtención de nuevos agentes terapéuticos. Mediante reacciones de reordenamiento y condensación de Claisen asistida por microondas se obtuvieron dos chalconas preniladas con rendimientos moderados (47-52 %) y un alto grado de pureza. Los compuestos sintetizados fueron caracterizados estructuralmente mediante resonancia magnética nuclear, espectroscopía infrarrojo, espectrometría de masa de alta resolución y análisis elemental.

Palabras clave: chalconas preniladas, reordenamiento de Claisen, condensación de Claisen.

Abstract

The introduction of prenyl and hydroxyl groups in the structure of chalcones could produce new structural analogs with potential biological activity. The synthesis of these compounds is an interesting way for obtaining new therapeutic agents. Using Claisen's rearrangement and condensation reactions assisted by microwaves two prenylated chalcones were obtained with moderate yields (47-52%) and a high degree of purity. The synthesized compounds were structurally characterized by nuclear resonance spectroscopy, infrared spectroscopy, high resolution mass spectrometry and elementary analysis.

Keywords: prenylated chalcones, Claisen's rearrangement, Claisen's condensation.

Introducción

Entre los metabolitos secundarios aislados de plantas con mayor analogía estructural a la curcumina se encuentran las chalconas, por lo que muchos autores las incluyen entre los curcuminoides [1]. La relación estructura-actividad en estos compuestos ha sido estudiada y se considera que el grupo carbonilo α,β -insaturado unido a un anillo bencénico hidroxilado en determinadas posiciones, son factores claves responsables de la bioactividad de la molécula [2-3] y la introducción de diferentes sustituyentes en el anillo aromático pudiese potenciar la actividad biológica de las chalconas [4].

Muchos productos naturales prenilados han sido aislados tiempo atrás, pero fue en la pasada década que esta clase de compuestos recibió particular atención en diversas investigaciones, relacionadas con su evaluación de actividad farmacológica. Muchos artículos centraron su área temática de publicación en el aislamiento, clasificación y farmacología general de productos naturales prenilados [5]. La adición de grupos prenilo a un metabolito secundario aromático frecuentemente resulta en un derivado con potencial actividad farmacológica. Estos productos naturales híbridos representan actualmente una nueva frontera para el desarrollo de nuevos fármacos, en particular como agentes antimicrobianos, antioxidantes, antiinflamatorios y anticancerígenos [6].

Dada la importancia y amplio espectro de aplicación de este tipo de moléculas, en el presente trabajo se reporta la síntesis y caracterización estructural de una serie de compuestos prenilados análogos a chalconas con potencial actividad biológica. Todos los compuestos fueron caracterizados por resonancia magnética nuclear (RMN), espectroscopía infrarrojo (IR), espectrometría de masa de alta resolución (EM) y análisis elemental.

Materiales y métodos

El trabajo experimental se desarrolló en el Laboratorio de Síntesis Orgánica del Centro de Estudio de Química Aplicada de la Universidad de Granma, Cuba y del Instituto de Química de la Universidad de Rostock, Alemania.

Los reactivos y disolventes empleados en los análisis fueron de calidad “puros” o “analíticos” provenientes de las firmas Merck y Sigma-Aldrich. Los disolventes utilizados fueron previamente destilados y absolutizados.

Los espectros ^1H -RMN (300 MHz) y ^{13}C -RMN (75,46 MHz) fueron obtenidos en equipos AC 250 y ARX 30 a 20 °C. Los espectros IR se registraron en

espectrofotómetros FTIR Phillips PU-9624 y FTIR Nicolet 205. Los espectros de masas de alta resolución se registraron en un espectrómetro INTECTRA GmbH, modelo AMD-402/3, mediante las técnicas de ionización por electrospray (ESI).

Las reacciones se desarrollaron haciendo uso de los métodos modernos de síntesis que utilizan radiaciones ultrasónicas y de microondas. Las reacciones bajo la acción de ondas ultrasónicas se desarrollaron en un baño ultrasónico Bandelin electronic RK 52 a frecuencia fija de 35 kHz; mientras que las realizadas bajo la acción de microondas, emplearon un horno microondas CEM, modelo MDS-81D, equipado con control de presión y temperatura. El curso de las reacciones se monitoreó por cromatografía de capa delgada en cromatofolios de gel de sílice 60 F 254 con espesor de capa 0,2 mm (Merck).

Síntesis de 2-(3-metilbut-2-eniloxi) benzaldehído

13,01 mmol, (1,5 mL) de bromuro de prenilo fueron añadidos bajo atmósfera de argón a una disolución de salicilaldehído 5 mmol, (0,53 mL) y Cs_2CO_3 (7,57 mmol, 1,05 g) en acetona anhidra (20 mL). La mezcla de reacción fue agitada a temperatura ambiente durante 4 h. Luego fueron añadidos 50 mL de agua y la mezcla fue extraída con CHCl_3 (3 x 50 mL). Los extractos orgánicos fueron lavados con disolución diluida de NaHSO_4 y luego con agua (3 x 50 mL). Después de secar con Na_2SO_4 anhidro se concentró hasta obtener, un residuo, que fue purificado por cromatografía de columna empleando gel de sílice como fase estacionaria y como fase móvil (Éter de petróleo-Acetato de Etilo 30:1)

Síntesis de 2-hidroxi-5-(3-metilbutil-2-enil) benzaldehído

En un tubo de presión fueron disueltos 10 mmol (1,90 g) de 2-(3-metilbut-2-eniloxi) benzaldehído en DMF (30 mL). La mezcla fue irradiada con microondas a 150 W y 250 °C durante 40 minutos. Luego fueron añadidos 50 mL de CHCl_3 ; la mezcla fue lavada con agua (5 x 20 mL) y posteriormente la fase orgánica secada con Na_2SO_4 y concentrada. El residuo resultante fue purificado por columna cromatográfica empleando gel de sílice como fase estacionaria y como fase móvil (Éter de petróleo-Acetato de Etilo 40:1)

Síntesis de 5-hidroxi-1,7-bis[2-hidroxi-5-(3-metilbut-2-enil)fenil]hept-1,4,6-trien-3-ona

5,0 mmol (0,51 mL) de acetyl acetona fueron mezclados con 5,0 mmol (0,35 g) de óxido de boro. Posteriormente fueron añadidos 10 mmol de 2-hidroxi-5-(3-metilbutil-2-enil) benzaldehído, 0,1 mL de ácido acético y 0,1 mL de morfolina. La mezcla de reacción

fue irradiada con microondas a 900 W y 200 °C por 1 min. Luego de enfriar fueron añadidos 30 mL de metanol. La mezcla fue sometida a ultrasonido hasta la formación de un sólido anaranjado. Después de filtrar, los compuestos fueron purificados mediante cromatografía de columna (Eter de Petróleo-Acetato de Etilo y Tolueno-Acetato de Etilo).

Síntesis de 1,5-bis (2-hidroxi-5-(3-metilbut-2-enil)fenil)pent-1,4-dien-3-ona.

Fueron mezclados 10 mmol de 2-hidroxi-5-(3-metilbutil-2-enil) benzaldehído y 10 mL de etanol (65 %), la mezcla fue enfriada en baño de hielo a 0 °C y 5 mL de NaOH (50 %) fueron añadidos bajo agitación. Luego se gotearon 0,18 mL de acetona (5 mmol), la mezcla fue agitada durante 1 h a la misma temperatura y posteriormente por 2 h a temperatura ambiente. Cuando la cromatografía de capa delgada (CCD) indicó el fin de la reacción se añadió agua (50 mL), la disolución roja fue neutralizada con 50 mL de HCl (10 %) y el sólido formado fue filtrado, lavado con agua y recristalizado.

Resultados y discusión

Teniendo en cuenta las potencialidades bioactivas que el grupo prenilo pudiera conferir a este tipo de compuestos, se diseñó una estrategia de síntesis mostrada en la figura 1, la cual consta de tres etapas: prenilación del aldehído aromático de partida, reordenamiento de Claisen y condensación aldólica.

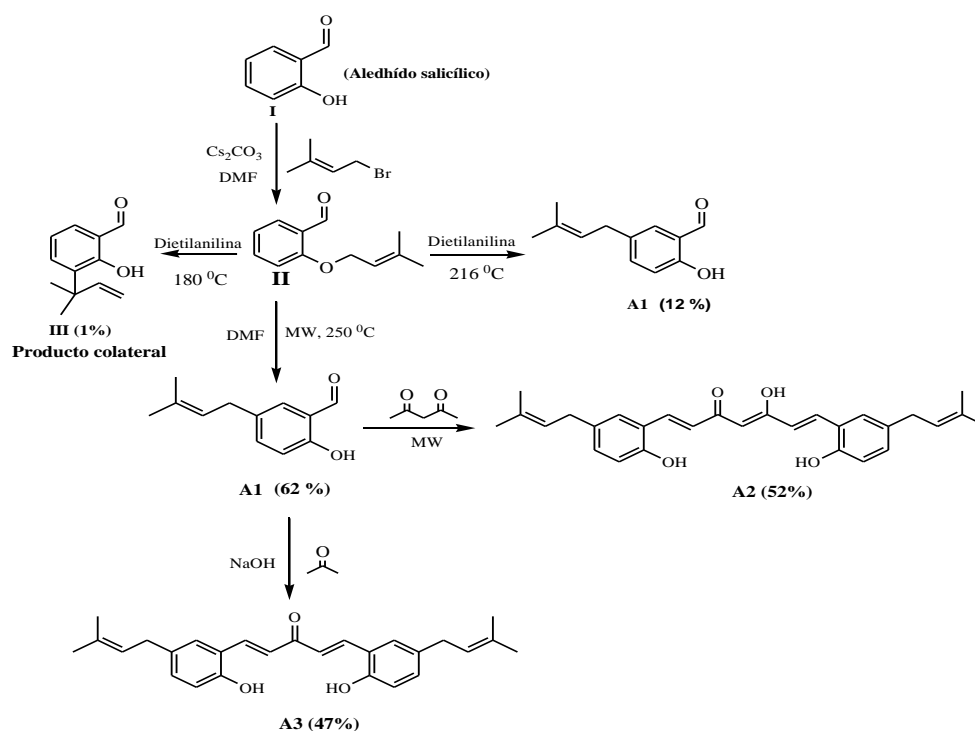


Fig. 1. Estrategia de síntesis de chalconas preniladas mediante reordenamiento y condensación de Claisen

Datos de caracterización estructural

2-(3-metilbut-2-eniloxi)benzaldehído (II)

Sirope incoloro, (0,91 g, 96 %; fracción 9-16); $R_f = 0,27$ (EP- AcOEt 30:1)

IR (KBr): 1640,34 (CO)

RMN-¹H (CDCl₃, 300 MHz): $\delta = 1,77$ (s, 3H, H-12); 1,82 (s, 3H, H-11); 4,64 (d, 2H, H-8, ³ $J_{8,9} = 6,61$ Hz); 5,52 (m, 1H, H-9); 7,0 (d, 1H, H-4, ³ $J_{4,5} = 8,12$ Hz); 6,98-7,05 (m, 1H, H-6); 7,50-7,57 (m, 1H, H-5); 7,84 (dd, 1H, H-7, ⁴ $J_{5,7} = 1,70$, ⁴ $J_{6,7} = 8,12$ Hz); 10,52 (s, 1H, H-1).

RMN-¹³C (CDCl₃, 75,46 MHz): $\delta = 18,28$ (C-12); 25,76 (C-11); 65,48 (C-8); 112,08 (C-4); 119,01 (C-6); 120,54 (C-9); 125,15 (C-2); 128,25 (C-7); 135,80 (C-10); 138,87 (C-5); 161,36 (C-3); 189,95 (C-1).

Análisis Elemental: Calculado (%C: 75,75; %H: 7,42) y Experimental (%C: 75,89; %H: 7,62)

2-hidroxi-5-(3-metilbutil-2-enil) benzaldehído (A1)

Sirope incoloro (1,17 g, 62 %; fracción 6-15), $R_f = 0,62$ (EP- AcOEt 40:1)

IR (KBr): 1643,4 (CO); 3001,8 (OH)

RMN-¹H (CDCl₃, 300 MHz): $\delta = 1,75$ (s, 3H, H-6); 1,80 (s, 3H, H-5); 4,63 (d, 2H, H-2, ³ $J_{2,3} = 7,18$ Hz); 5,52 (m, 1H, H-3); 6,94 (d, 1H, H-3', ³ $J_{3',4'} = 8,12$ Hz); 7,29 (d, 1H, H-6', ⁴ $J_{4',6'} = 2,27$ Hz); 7,37 (m, 1H, H-4') 9,89 (s, 1H, OH); 10,89 (s, 1H, H-1).

RMN-¹³C (CDCl₃, 75,46 MHz): $\delta = 17,85$ (C-6); 25,75 (C-5); 33,06 (C-2); 117,52 (C-3'); 120,43 (C-1'); 122,48 (C-3); 132,65 (C-6'); 133,26 (C-5'); 133,42 (C-4); 137,38 (C-4'); 159,85 (C-2'); 196,63 (C-1).

EMAR: M (C₁₂H₁₄O₂) calculada: 190,1; experimental (M⁺): 190,0

Análisis Elemental: Calculado (%C: 75,76; %H: 7,42) y Experimental (%C: 75,91; %H: 7,83)

5-hidroxi-1,7-bis[2-hidroxi-5-(3-metilbut-2-enil)fenil]hept-1,4,6-trien-3-ona (A2)

Sirope anaranjado (1,14g, 52 %; fracción 11-19), $R_f = 0,32$ (EP-AcOEt 5:1)

RMN-¹H (CDCl₃, 300 MHz): $\delta = 1,74$ (s, 3H, H-10'); 1,78 (s, 6H, H-11'); 3,30 (d, 4H, H-7', ³ $J_{7',8'} = 7,36$ Hz); 5,31 (m, 2H, H-8'); 6,85 (d, 2H, H-3', ³ $J_{3',4'} = 8,31$ Hz); 7,0 (d, 2H, H-2, H-6, ³ $J_{1,2} = 16,43$ Hz); 7,09 (dd, 2H, H-4', ³ $J_{3',4'} = 8,31$, ⁴ $J_{4',6'} = 2,27$ Hz); 7,29

(d, 2H, H-6', $^4J_{4',6'} = 2,27$ Hz); 7,86 (d, 2H, H-1, H-7, $^3J_{6,7} = 16,43$ Hz); 9,90 (s, 2H, OH x 2); 15,97 (s, 1H, OH).

RMN- ^{13}C (CDCl_3 , 75,46 MHz): $\delta = 17,84$ (C-11'); 25,77 (C-10'); 33,35 (C-7'); 116,51 (C-3'); 121,29 (C-1'); 123,03 (C-8'); 126,63 (C-2, C-6); 127,65 (C-5'); 128,96 (C-4'); 131,93 (C-6'); 132,80 (C-5'); 134,05 (C-9'); 140,59 (C-1, C-7); 153,94 (C-2'); 200,79 (C-3, C-5).

EMAR: M ($\text{C}_{29}\text{H}_{32}\text{O}_4$) calculada: 444,23; experimental ($\text{M}+\text{Na}$) $^+$: 467,17

Análisis Elemental: Calculado (%C: 78,35; %H: 7,26) y Experimental (%C: 78,36; %H: 7,28)

1,5-bis(2-hidroxi-5-(3-metilbut-2-enil)fenil)pent-1,4-dien-3-ona (A3)

Sólido amarillo (1,88 g, 47 %; fracción 9-17, método A); Tf: 44-45 $^{\circ}\text{C}$; Rf = 0,35 (EP-AcOEt 3:1)

RMN- ^1H (CDCl_3 , 300 MHz): $\delta = 1,64$ (s, 6H, H-10) 1,68 (s, 6H, H-9); 3,20 (d, 4H, H-6, $^3J_{6,7} = 7,36$ Hz); 5,21 (m, 2H, H-7); 6,73 (d, 2H, H-3', $^3J_{3',4'} = 8,31$ Hz); 6,89 (d, 2H, H-2, H-4, $^3J_{1,2} = 16,43$ Hz); 6,99 (dd, 2H, H-4', $^3J_{3',4'} = 8,31$ Hz, $^4J_{4',6'} = 2,27$ Hz); 7,20 (d, 2H, H-6', $^4J_{4',6'} = 2,27$ Hz); 7,75 (d, 2H, H-1, H-5, $^3J_{4,5} = 16,43$ Hz); 10,11 (s, 2H, OH x 2).

RMN- ^{13}C (CDCl_3 , 75,46 MHz): $\delta = 25,78$ (C-10); 26,87 (C-9); 33,25 (C-6); 116,49 (C-3'); 121,38 (C-1'); 123,0 (C-7); 127,72 (C-2, C-4); 128,94 (C-6'); 131,88 (C-4'); 132,83 (C-5'); 134,17 (C-8); 140,31 (C-1,C-5), 153,76 (C-2'); 200,56 (C-3).

EMAR: M ($\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_3$) calculada: 402,22; experimental ($\text{M}+\text{H}$) $^+$: 403,22; ($\text{M}+\text{Na}$) $^+$: 425,20

Análisis Elemental: Calculado (%C: 80,56; %H: 7,51) y Experimental (%C: 80,61; %H: 7,60)

En el espectro IR del compuesto II se registra la señal carbonílica en 1640,3 cm^{-1} , no se observa la banda de absorción típica del grupo OH fenólico, El RMN- ^1H muestra los corrimientos químicos de los protones existentes en el grupo prenilo (dos singuletos en 1,77 y 1,82 ppm pertenecientes a los grupos metilos geminales, un multiplete en 5,52 ppm del grupo CH= y el duplete típico del grupo metileno sobre 4,64 ppm) lo que confirma que se produjo la prenilación.

Teniendo en cuenta que varios compuestos con propiedades antioxidantes son fenoles [7], para mantener el grupo OH en el anillo aromático, para la síntesis del compuesto **A1** se emplearon las condiciones reportadas por Pisco y colaboradores [8], obteniéndose una mezcla de dos productos (**III** y **A1**), el rendimiento alcanzado para el producto deseado **A1** fue 12 %.

Este resultado puede deberse a que se partió de un aldehído, que es más reactivo que la acetofenona y se oxida con más facilidad bajo estas condiciones y, por otra parte, la mezcla de reacción adquiere primeramente 180 °C, condición en la que se favorece la formación del producto colateral. Para resolver esta dificultad se ensayó una modificación del método, reportado por Torres y colaboradores [9], quienes realizaron el reordenamiento de Claisen con el empleo de microondas en otros sustratos.

En la reacción se sustituyó la dietilanilina por DMF, la mezcla se irradió en un horno microondas durante 40 minutos. Este procedimiento presenta ventajas, pues se alcanza la temperatura óptima (216 °C) en 2 segundos, se reduce el tiempo de reacción y disminuye la formación de productos colaterales, lográndose elevar los rendimientos del producto C-prenilado hasta un 62 %.

Por otra parte, la dietilanilina es un solvente que por su elevada temperatura de ebullición y poca solubilidad en agua resulta difícil separar de la mezcla de reacción. El empleo de un tubo de presión como recipiente de reacción permitió usar DMF como disolvente, el que es menos tóxico, su temperatura de ebullición es menor y mediante lavados con agua y posterior roto-evaporación puede separarse más fácilmente. En el espectro IR del compuesto **A1** se observa la señal carbonílica en 1 643,4 cm⁻¹ y una banda de absorción en 3 001,8 cm⁻¹ correspondiente a la vibración de valencia de un grupo OH.

En el RMN-¹H aparece la señal de los protones metilénicos del grupo prenilo, ahora a campos más altos debido a que están menos desapantallados debido a la inexistencia de un átomo de oxígeno entre el grupo prenilo y el anillo aromático. Además, la aparición en la región de los aromáticos de tres señales correspondiente a tres protones, evidencia que se produjo el reordenamiento. Los valores $^3J_{3',4'} = 8,31$ Hz y $^4J_{4',6'} = 2,27$ Hz demuestran el acoplamiento *orto* entre los protones aromáticos H-3'/ H-4' y acoplamiento *para* entre los protones H-4'/ H-6' como debía de esperarse para un anillo bencénico sustituido en las posiciones 1, 2 y 5.

Partiendo del compuesto **A1** se realizó la condensación con acetilacetona y acetona. Para la síntesis de **A2** fue necesario proteger el grupo metileno de la dicetona mediante la formación de un complejo con boro, la inestabilidad del producto esperado en medio básico impide el empleo de bases inorgánicas como NaOH y KOH, por lo que fue necesario el uso de morfolina como catalizador básico, fue necesario calentar la mezcla de reacción a 200 °C, el empleo de ácido acético facilita la ruptura del complejo formado una vez que se produce la condensación. Las condiciones de reacción empleadas permitieron obtener el compuesto **A2** con un 52 % de rendimiento, esta estructura presenta interés farmacológico por la presencia en ella de grupos farmacóforos como: OH, carbonilo conjugado y prenilo.

En el RMN-¹H del compuesto **A2** se observan las señales características de las heptatrienonas, la aparición de dos singuletos en 1,74 y 1,78 ppm, correspondientes a los grupos metilos geminales, un duplete en 3,30 ppm correspondiente a dos protones metilénicos y un multiplete en 5,31 ppm asignado al CH, lo que demuestra la presencia del grupo prenilo en la estructura. En 9,90 ppm aparece un singuleto asignado a los dos grupos OH presentes en la estructura. En el espectro de masas (EMAR) se observa un pico con valor (M+Na)= 467,17 que se corresponde con la adición de un átomo de sodio.

La síntesis de **A3** se realizó por una condensación clásica a partir de **A1** y acetona, la mayor estabilidad en medio básico, de la estructura esperada permitió emplear NaOH como catalizador, en estas condiciones la reacción se desarrolló a temperatura ambiente durante 2 horas. El producto precipitó la acidificar la mezcla de reacción. Se logró un rendimiento de 47 %.

En el RMN-¹H del compuesto **A3** se observa las señales correspondientes al grupo prenilo: singuletos en 1,64 y 1,68 ppm de los metilos geminales, un duplete en 3,20 ppm perteneciente a los hidrógenos del grupo metileno y el multiplete típico del grupo CH. Los datos de RMN -¹³C se corresponden con la estructura de las chalconas. En el EMAR se observan los picos (M+H)⁺ = 403,22 y (M+Na)⁺ = 425,20 correspondientes a la adición de hidrógeno y sodio respectivamente.

La combinación de los datos espectroscópicos y los resultados de la espectrometría de masas corrobora la identidad de las estructuras propuestas para **A1**, **A2** y **A3**.

Conclusiones

El desarrollo de las reacciones reordenamiento de Claisen bajo la acción de microondas permitió disminuir los tiempos de reacción y elevar los rendimientos en la reacción de A1. El empleo de un aldehído (I) en reacciones de condensación permite incorporar en la estructura de chalconas el grupo OH y prenilo. A pesar de los rendimientos moderados alcanzados la síntesis de ambas chalconas, este resultado constituye el primer reporte de estos compuestos. Por sus características estructurales, los compuestos sintetizados en este estudio pudieran constituir la base para la posterior evaluación de su actividad biológica con potencial aplicación en el desarrollo de nuevos fármacos.

Referencias bibliográficas

1. YOUSSEF, K. M.; *et al.*, "Synthesis of Curcumin Analogues as Potential Antioxidant, Cancer Chemopreventive Agents". *Archive der Pharmazie*. 2004, 337(1), 42–54. DOI: 10.1002/ardp.200300763.
2. DHAR, D. *The Chemistry of Chalcones and Related Compounds*. New York: Wiley. 1981.
3. DIMMOCK J. R.; *et al.*, "Bioactivities of chalcones". *Current Medicinal Chemistry*. 1999, 6, 1125–1150.
4. KHADAR-YAZDAN S; VIDYA-SAGAR, D; BASHA-SHAIK, A. "Chemical and Biological Potentials of Chalcones: A Review". *Organic & Medicinal Chemistry International Journal*, 2015, 1(1) 1-8.
5. ALHASSAN, A.M.; *et al.*, "Prenylation of Aromatic Secondary Metabolites: A New Frontier for Development of Novel Drugs". *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 2014. 13 (2). 307-314.
6. EPIFANO, F.; *et al.*, "Chemistry and pharmacology of oxyprenylated secondary plant metabolites". *Phytochemistry*. 2007, 68, 939-953.
7. KIMURA, Y.; BABA, K. "Antitumor and antimetastatic activities of Angelica keiskei roots, part 1: Isolation of an active substance, xanthoangelol". *International Journal of Cancer*. 2003, 106 (3), 429–437.
8. PISCO, L.; *et al.*, "Synthesis of compounds with antiproliferative activity as analogues of prenylated natural products existing in Brazilian propolis". *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2006, 41(3), 401–407.
9. TORRES, E.; *et al.*, "Síntesis y evaluación de la actividad antitumoral in vitro de un éster prenilado análogo a productos naturales". *Química Viva*, 2015, 14 (1), 111-119. ISSN 1666-7948