



Estudio cinético de la interconversión de Astilbina mediante espectroscopia de ^1H -rmn

Omar Estrada¹, Lorenzo Echevarria*², Ligia Llovera¹

1) Universidad Central de Venezuela, Caracas–Venezuela, Centro de Medicina Experimental, Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC), Apartado 21827, Caracas 1020-A, Venezuela.

2) Departamento de Química, Universidad Simón Bolívar (USB). Valle de Sartenejas, Baruta, Caracas 1080A, Venezuela, apartado 89000.

(*) lorenzoer@usb.ve

Recibido: 26/03/2012

Revisado: 01/10/2012

Aceptado: 04/10/2012

Resumen

La cinética de interconversión de astilbina a una mezcla de sus respectivos diastereoisómeros fue estudiada por espectroscopia de resonancia magnética nuclear empleando experimentos de irradiación selectiva (TOCSY) en dimetilsulfóxido. Se planteó un modelo que permitió establecer una tendencia al equilibrio para H-3 (interconversión de astilbina a neoastilbina)

Palabras clave: Astilbina; reacciones reversibles; ^1H -rmn.

Abstract

The interconversion kinetics of astilbin to a mixture of their respective diastereoisomers was studied by nuclear magnetic resonance spectroscopy using selective irradiation experiments (TOCSY) in dimethylsulfoxide. It is proposed a model which allowed establishing a trend to equilibrium for H-3 (astilbin interconversion to neoastilbin)

Keywords: Astilbin; reversible reactions; ^1H NMR.

Introducción

La astilbina (**1**) ha sido aislada de las hojas de *Licania pittieri*¹ así como de otras plantas^{2,3}. En la literatura, se ha encontrado que la astilbina exhibe una gran diversidad de actividades biológicas^{4,5} tales como: efecto antiplaquetario, reducción total de la concentración del colesterol en el hígado, inhibición de la aldosa reductasa y actividad inmunosupresora hacia los linfocitos T. La configuración absoluta de los C-2 y C-3 establece una serie de diferentes configuraciones, establecidas por los centros quirales presentes en la molécula, que permite identificar cuatro diastereoisómeros: astilbina, isoastilbina, neoastilbina y neoisoastilbina (figura 1), mediante espectroscopia de ^1H -rmn.

En experiencias previas llevadas a cabo por los autores, se pudo identificar estos cuatro diastereoisómeros mediante experimentos de irradiación selectiva (TOCSY) y se observó la interconversión del compuesto puro (astilbina), hacia la mezcla de los diastereoisómeros en dimetilsulfóxido.

Parte experimental

Reactivos y equipos:

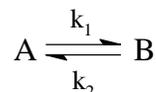
La astilbina se aisló a partir del extracto metanólico de las

hojas de *L. pittieri* (ver referencia 1). El solvente deuterado, DMSO- d_6 , fue obtenido comercialmente de Merck y se empleó sin previa purificación. Los espectros de ^1H -rmn fueron medidos en DMSO- d_6 , en un espectrómetro Bruker DRX-500, con un número de barridos de 128, a 296,2K, y una ganancia de 90,5.

Resultados y discusión

Estudio de la cinética de interconversión

Para realizar el estudio cinético de interconversión de astilbina, se tomaron experimentos de H-1 consecutivos por un intervalo de tiempo de 7000 minutos, donde se mantuvo constante el número de barridos ($n=128$), la temperatura (296,2 K) y la ganancia (90,5; este último parámetro da información relativa de la concentración de la muestra). Considerando que la interconversión de astilbina viene dada por una reacción reversible de primer orden:



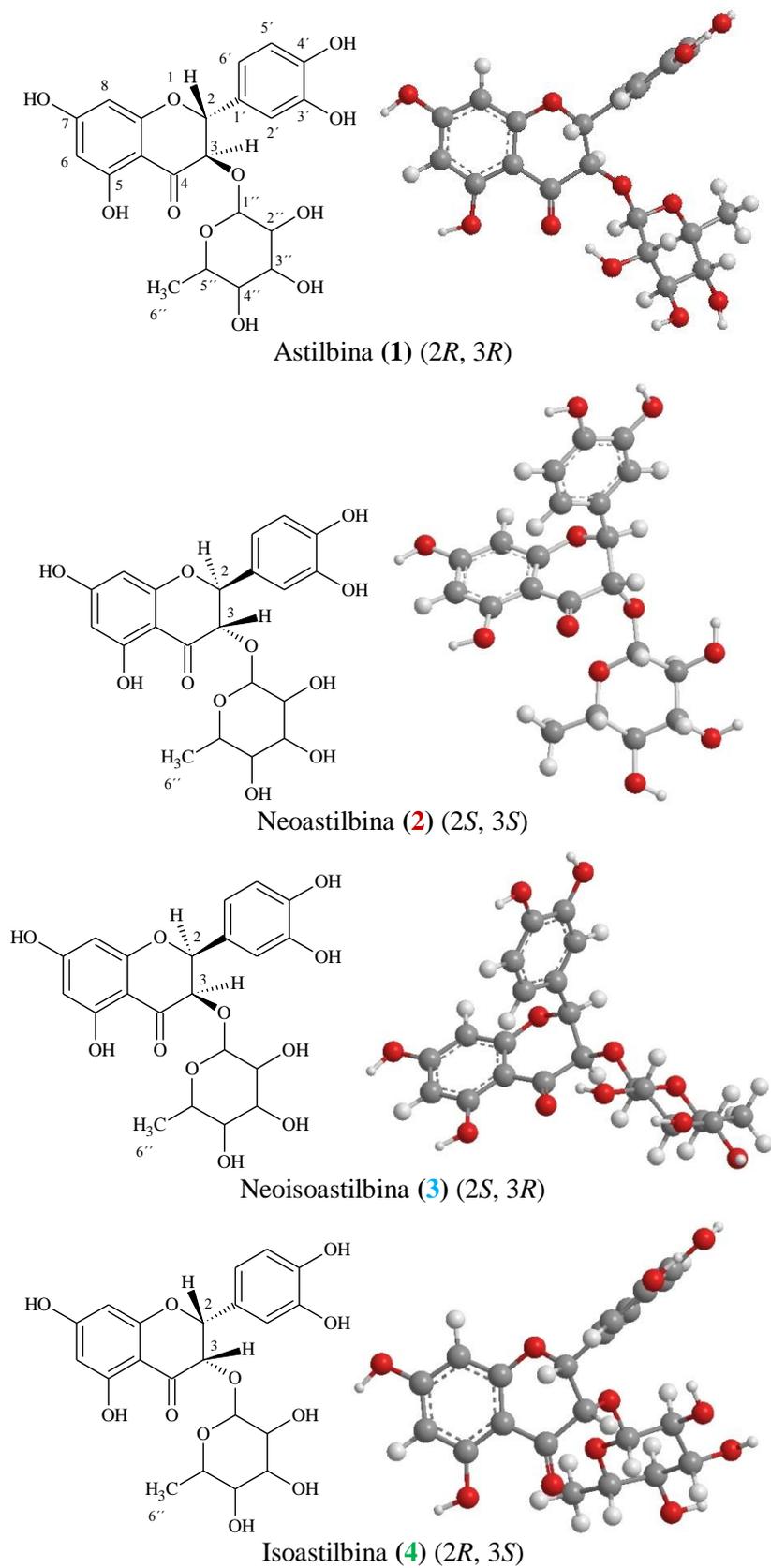


Fig. 1: Representación conformacional de los diastereoisómeros de astilbina (**1**)

Se propone el siguiente modelo cinético, donde se considera la solución del equilibrio anteriormente planteado⁶:

$$I = (k_2 + k_1 \text{Exp} [-(k_1 + k_2) t]) / (k_1 + k_2) \quad (1)$$

donde I es una cantidad proporcional al cociente entre la concentración de la especie y su concentración inicial, k_1 es la constante de velocidad para la reacción directa y k_2 es la constante de velocidad para la reacción inversa. Para el ajuste de los datos espectroscópicos con el modelo, se tomaron tres regiones del espectro donde se puede apreciar la disminución de la intensidad de una serie de señales y la aparición de un nuevo conjunto. Las señales monitoreadas corresponden al grupo hidroxilo $-OH$ unido al C-5 y los centros quirales de la molécula (H-2 y H-3) como se resume en la tabla 1. La selección de este grupo de señales se basa en las dos propuestas mecanísticas que se presentan a continuación.

Como podemos observar en la figura 2, el grupo hidroxilo puede favorecer la extracción del protón H-3 mediante la formación de un puente de hidrógeno que genera un ciclo de seis miembros, lo cual promueve un equilibrio ceto-enólico.

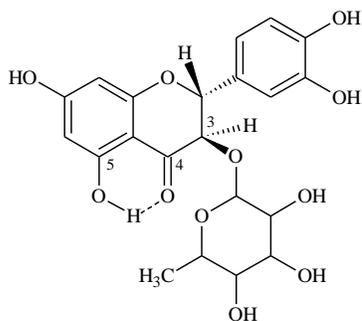


Fig. 2: Formación del puente de hidrógeno entre el grupo $-OH$ del C-5 y el grupo carbonilo en astilbina (**1**)

Adicionalmente, se puede apreciar (figura 3) que el Mecanismo 1 forma parte del Mecanismo 2, el cual involucra la formación de los cuatro diastereoisómeros, por lo tanto, esta isomerización de (**1**) debe producir un equilibrio entre la mezcla de los isómeros pasando a través de un intermediario común, la chalcona (**5**), siendo de vital

importancia identificar las señales que corresponden a los protones H-2 y H-3.

Señal $-OH$ (11 ppm)

Se observa una disminución de la intensidad relativa del singlete alrededor de 11,79 ppm correspondiente al grupo hidroxilo de astilbina (**1**) y el incremento de la intensidad de tres grupos de señales alrededor de 11,70; 11,74 y 11,80 ppm, las cuales corresponden a la aparición de los diastereoisómeros neoastilbina (**2**), isoastilbina (**4**) y neoisoastilbina (**3**) respectivamente.

En la figura 4 se muestra el seguimiento de la interconversión de astilbina (**1**) a sus respectivos diastereoisómeros, considerando los tiempos de 5, 840, 2250, 3570, 4770 y 6930 minutos, de la serie de mediciones realizadas y ajustando el solvente a la escala de 1,00.

Al generar la gráfica de la intensidad relativa de los picos en función del tiempo con toda la data y ajustar al modelo, se observa una buena tendencia al equilibrio para la isomerización de astilbina (**1**) a neoisoastilbina (**3**) como puede apreciarse en las figuras 5 y 6. Las constantes de velocidad que ajustan al modelo propuesto se resumen en la tabla 2.

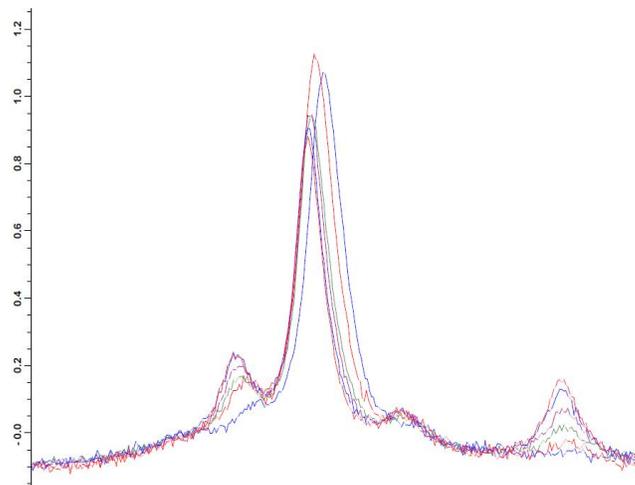


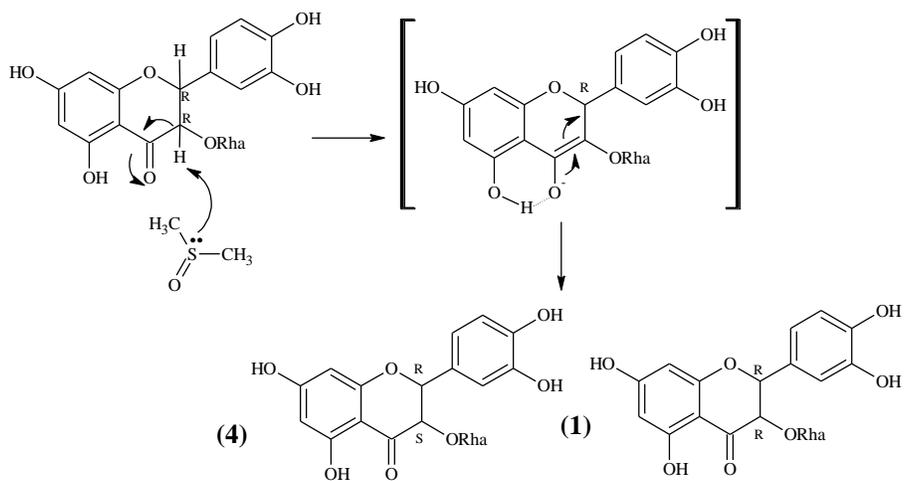
Fig. 4: Interconversión alrededor de 11 ppm en 1H -rnm.

Tabla 1: Desplazamientos químicos (δ , ppm) en 1H -rnm de los diastereoisómeros

Asignación	Astilbina (1) (2 <i>R</i> , 3 <i>R</i>)	Neoastilbina (2) (2 <i>S</i> , 3 <i>S</i>)	Neoisoastilbina (3) (2 <i>S</i> , 3 <i>R</i>)	Isoastilbina (4) (2 <i>R</i> , 3 <i>S</i>)
H-2	5,21 (d, 10,0)	5,07 (d, 11,0)	5,42 (d, 2,0)	5,50 (d, 2,5)
H-3	4,61 (d, 10,0)	4,75 (d, 11,0)	4,06 (d, 2,0)	4,16 (d, 2,5)
$-OH$	11,79 (s)	11,70 (s)	11,80 (s)	11,74 (s)

(multiplicidad, $J = \text{Hz}$)

Mecanismo 1



Mecanismo 2

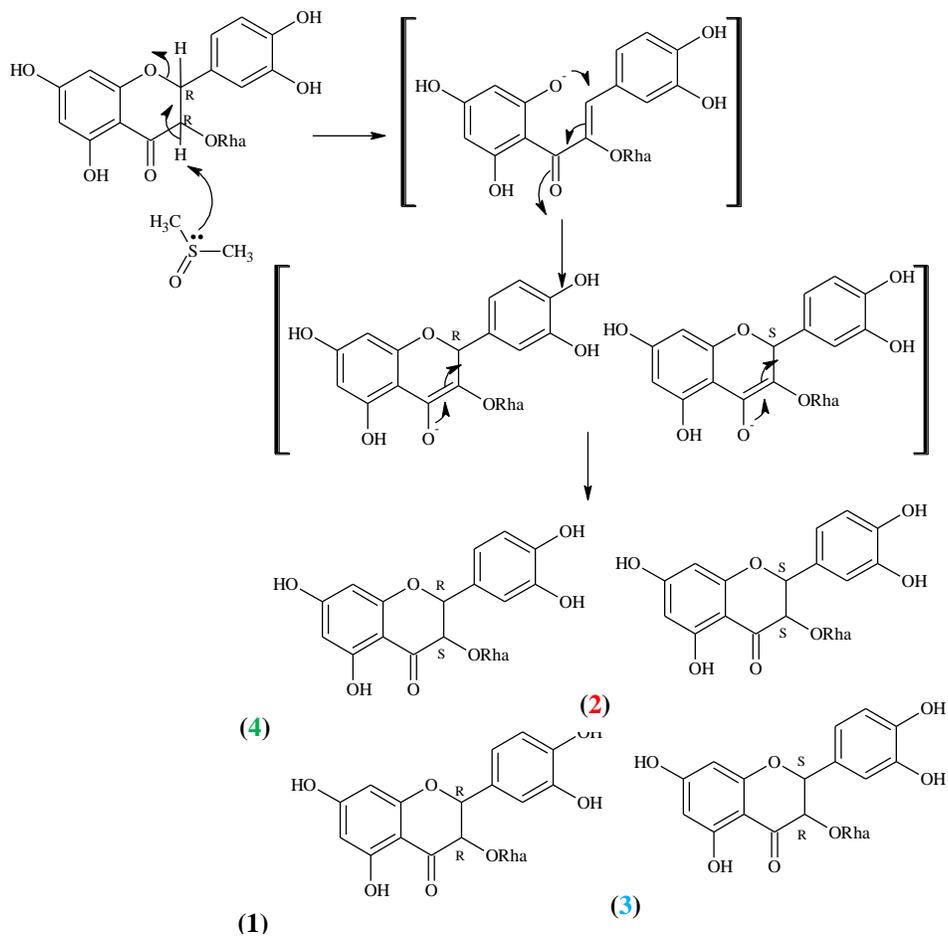


Fig. 3. Mecanismos propuestos para las reacciones de interconversión de la Astilbina.

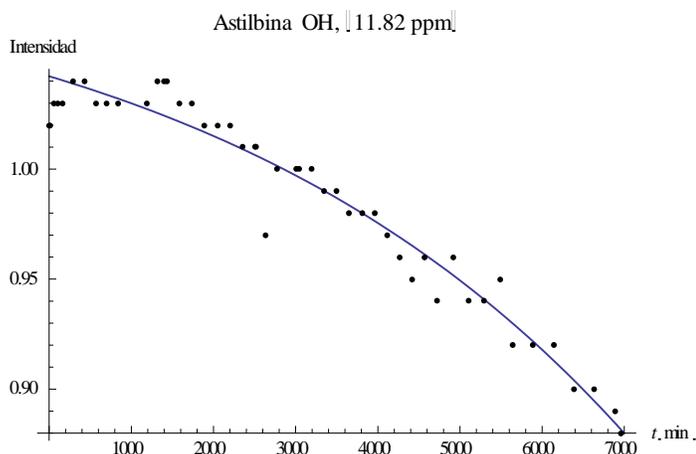


Fig. 5. Intensidad relativa de los picos en función del tiempo de la Astilbina –OH

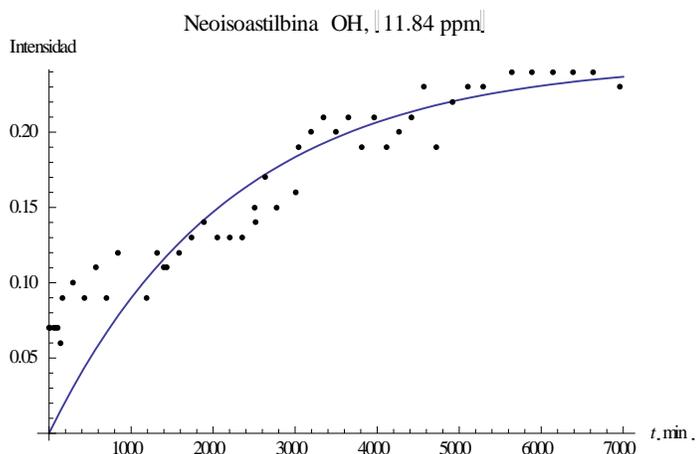


Fig. 6. Intensidad relativa de los picos en función del tiempo de la Neoisoastilbina –OH

Tabla 2. Ajuste del modelo cinético para –OH

k_1 (min^{-1})	k_2 (min^{-1})
$1,1 \times 10^{-5}$	$5,7 \times 10^{-4}$

donde k_1 corresponde a la constante de velocidad de desaparición de astilbina (1) y k_2 corresponde a la constante de velocidad de aparición de neoisoastilbina (3). A partir de estas constantes, se puede estimar la constante de equilibrio mediante el cociente de las velocidades de reacción. Encontrándose para el caso de la interconversión de astilbina (1) a neoisoastilbina (3) un valor de la constante de equilibrio $K = k_1/k_2 = 1,9 \times 10^{-2}$.

Señal H-3 (4 ppm)

Se observa una disminución en la intensidad relativa del pico alrededor de 4,61ppm y el incremento de la intensidad de las señales ubicadas en 4,75; 4,06 y 4,16ppm que corresponden a los diastereoisómeros neoastilbina (2), neoisoastilbina (3) e isoastilbina (4) respectivamente (figura 7).

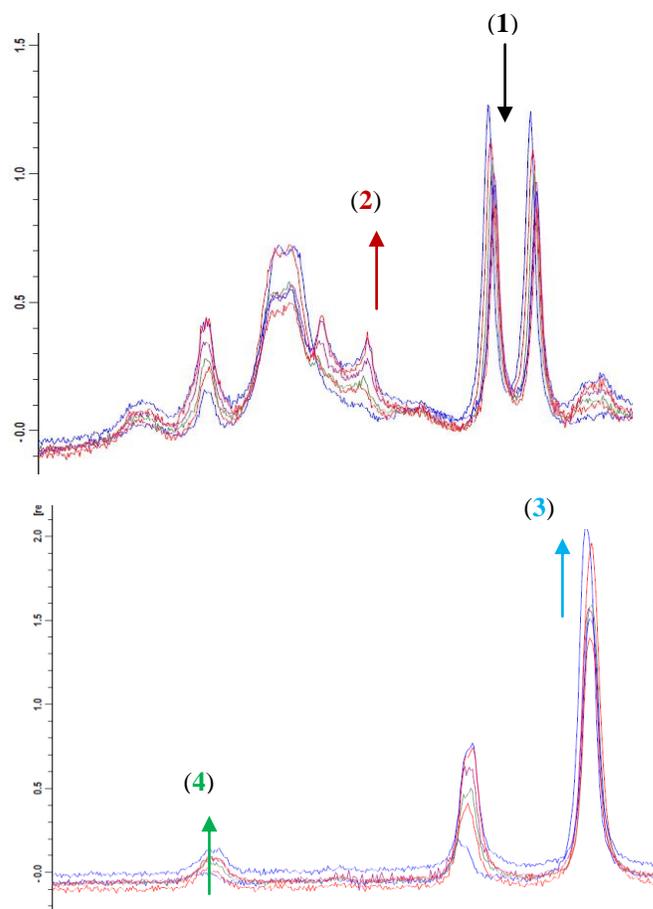


Fig. 7. Señales características para la interconversión alrededor de 4 ppm en RMN H-1.

Al realizar el ajuste de los datos espectroscópicos con el modelo, se observa que hay una tendencia al equilibrio (Figuras 8 y 9) y se resumen en la Tabla 3. Análogamente, el seguimiento de la interconversión de astilbina (1) a sus respectivos diastereoisómeros, se presenta considerando los tiempos de 5, 840, 2250, 3570, 4770 y 6930 minutos y realizando el ajuste del solvente a la escala de 1,00.

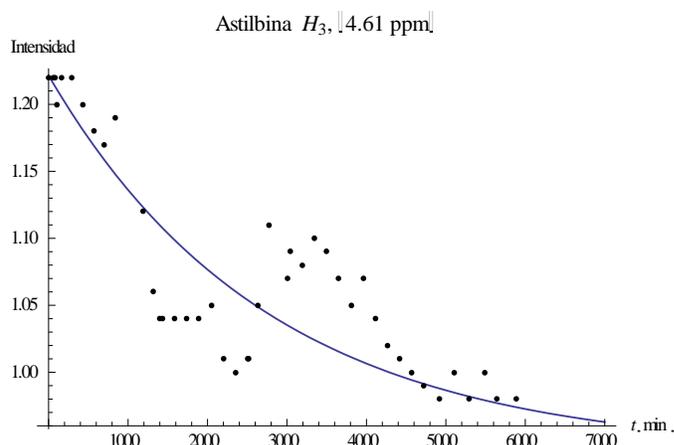


Fig. 8: Intensidad relativa de los picos en función del tiempo de la Astilbina H-3

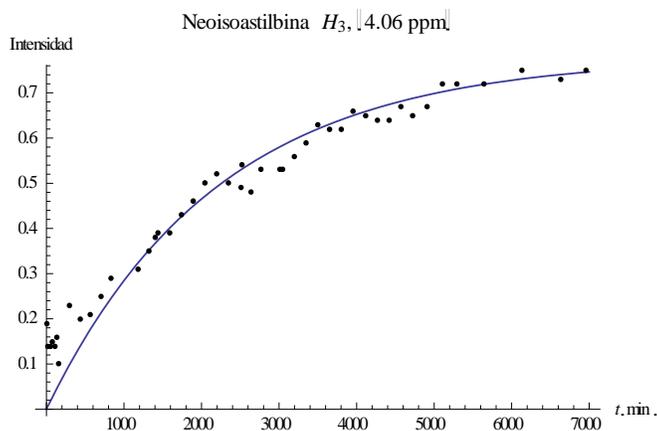


Fig. 9. Intensidad relativa de los picos en función del tiempo de la Neoisoastilbina H-3

Tabla 3: Ajuste del modelo cinético para H-3

k_1 (min^{-1})	k_2 (min^{-1})
$8,6 \times 10^{-5}$	$3,3 \times 10^{-3}$

También, puede estimarse el valor de la constante de equilibrio mediante el cociente de las velocidades de reacción. Haciendo esta consideración se tiene una constante de equilibrio $K = k_1/k_2 = 2,6 \times 10^{-2}$.

A partir del ajuste realizado para la interconversión de astilbina (**1**) a neoisoastilbina (**3**) se observa, que único mecanismo de reacción donde se favorece la formación de los cuatro diastereoisómeros es el Mecanismo 2. Asimismo, la constante de equilibrio obtenida con un orden de magnitud de 10^{-2} , nos muestra que el ajuste propuesto corresponde a este sistema, dado que al emplear dos regiones del espectro que se encuentran involucradas en el mecanismo propuesto y esté es corroborado por este medio, se presenta un nuevo modelo de estudio para la cinética de astilbina.

Conclusiones

En el presente trabajo de investigación se determinaron las constantes de velocidad para la interconversión de la astilbina por resonancia magnética nuclear. Las constantes fueron determinadas para dos rangos diferentes del desplazamiento de los espectros RMN-H-1, encontrando que la constante de equilibrio para la reacción de interconversión de astilbina (**1**) a neoisoastilbina (**3**) a partir del grupo hidroxilo, tiene un valor promedio de $K = 2,3 \times 10^{-2}$.

Referencias

1. O Estrada, C Alvarado-Castillo, A Fernández, M López, E Romero-Vecchione, J Vázquez, J Méndez, D Conde, A Cardozo. Pomolic Acid Isolated from the leaves of *Licania pittieri* inhibits ADP and epinephrine-Induced platelet

aggregation and has hypotensive effect on rats. **Curr. Bioact. Com.**, **5**, 219-225 (2009).

2. J Guo, F Qian, J Li, Q Xu, T Chen. Identification of a New Metabolite of Astilbin, 3'-O-Methylastilbin, and Its Immunosuppressive Activity against Contact Dermatitis. **Clinical Chemistry**, **53**, 465-471 (2007).
3. L Batista-Pereira, F Petacci, J Fernandes, A Correa, P Vieira, M Da Silva, O Malaspina. Biological activity of astilbin from *Dimorphandra mollis* against *Anticarsia gemmatalis* and *Spodoptera frugiperda*. **Pest. Management Science**, **58**, 503-507 (2002).
4. L Han, H Ninomiya, M Taniguchi, K Baba, Y Kimura, H Okuda. Norepinephrine-Augmenting Lipolytic Effectors from *Astilbe thunbergii* Rhizomes. **J. Nat. Prod.**, **61**, 1006-1011 (1998).
5. M Ishibashi, H Oda, M Mitamura, E Okuyama, K Komiyama, K Kawaguchi, T Watanabe, S De Mello, T Maekawa, K Ohtsuki. Casein kinase II inhibitors isolated from two Brazilian plants *Hymenaea parvifolia* and *Wulffia baccata*. **Bioorg. Med. Chem. Lett.**, **9**, 2157-2160 (1999).
6. P Atkins, J de Paula. Química Física, 8va. Edición. Editorial Médica Panamericana, Buenos Aires, pag. 804 (2008).