



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE
SAN NICOLÁS DE HIDALGO**
FACULTAD DE QUÍMICO FARMACOBIOLOGÍA



**“PREPARACIÓN ESTEREOESPECÍFICA DE LA *E*-
ETANOLIMINA DEL ACETATO DE MATURINA”**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO FARMACOBIOLOGO**

PRESENTA

LUIS DONALDO SILVA CASTILLO

DIRECTORES

D.Q. GABRIELA RODRÍGUEZ GARCÍA

M.C. JESSICA ESTEFANIA VIDAL AYALA

MORELIA, MICHOACÁN

AGOSTO DE 2018

“La derrota, es realmente una derrota, cuando no la utilizamos para aprender y mejorar, si la utilizamos para uno de esos dos fines, es una victoria más”

Andoni Bombin

DEDICATORIA

A Dios por haberme permitido concluir satisfactoriamente este que es mi primer libro.

A mis tíos Ma. del Carmen Silva Santana y Modesto Vega Guevara, que han sido mi pilar, mi fuerza, mi motor de vida y mi motivación en todo mi trayecto de vida académica y que si no fuera por ellos este logro no hubiera sido posible. Les agradezco cada gota de sudor y todo el esfuerzo que hicieron para que no me faltara nada en este largo camino.

A mi madre Minerva Castillo Salazar porque cada vez que necesité de su ayuda siempre la tuve incondicionalmente, gracias mamá.

A mi padre Juan Silva Santana, porque, aunque no estuvo conmigo, su ausencia me hizo valorar más las cosas y siempre ver el lado positivo de la vida, gracias papá.

A mis hermanos, Juan Antonio, Ma. Esther, Eduardo, Romario, Osvaldo, Estrella y Marisol por todo su apoyo y porque sé que siempre podré contar con ellos cuando los necesite.

AGRADECIMIENTOS

A Dios.

A mi familia, ya que considero que la familia es un pilar muy importante para el desarrollo profesional de cualquier persona y en mi caso no es la excepción.

A mi Directora de tesis la Doctora Gabriela Rodríguez García por haberme invitado a conocer el laboratorio y que gracias a ello me pude integrar a su equipo de trabajo, estoy muy agradecido por cada consejo y cada aprendizaje adquirido y por la paciencia y dedicación que tuvo para asesorarme. Gracias por todo Doctora.

Al Doctor Mario Armando Gómez Hurtado por la dedicación y la accesibilidad que tuvo conmigo para aconsejarme y ayudarme a resolver las dudas que me surgieron en el proceso. Gracias por todo Doctor.

A mi Co-directora la M.C. Jessica Estefania Vidal Ayala por haberme enseñado la parte práctica del laboratorio, por haberme brindado su amistad. Coa gracias por toda la paciencia que tuviste para enseñarme.

A José Antonio Ferreira Sereno, Paps la verdad es que estuve tratando de pensar en algo que superara tu agradecimiento hacia mi persona que me dedicaste en tu tesis, pero la verdad no se me ocurrió nada más que decirte que eres una de las mejores personas que he conocido en mi vida y que tu amistad es algo que quiero conservar toda la vida. Te considero como un hermano para mí, gracias por todos los consejos recibidos.

A Karina Zamudio Jaime, por todos los consejos que me diste y por escucharme cuando necesitaba contarle mis problemas a alguien. Gracias por estar siempre conmigo cuando lo necesité.

A Jorge Luis Ramírez Cervantes (George), mi hermano, mi amigo y confidente gracias por todo, por tus palabras de ánimo, porque siempre que necesite un consejo o contarte algo que me pasaba, siempre estabas ahí para escucharme.

A Deysi Magali y Yesenia (Chiquilus), a ustedes les guardo un gran cariño a pesar del poco tiempo que convivimos, gracias por todos los momentos divertidos que pasamos durante el año que fuimos compañeros de la facultad, gracias por las risas, pero sobre todo gracias por su amistad.

A mi grupo de amigos de la licenciatura (Jessi, Adilene, Ilse, Erendira, Iraí, George, Santana, Punchis, Shadany, Brendita), a ustedes los considero mis amigos más cercanos y aquellos que siempre estuvieron para mí en los momentos que más los necesitaba. Gracias por todos los momentos que compartimos juntos.

A mis compañeros y amigos de la mesa de trabajo, Lirenny, Héctor, Karen, Mayra, Toñito (Paps), Kary, Chava y Dani, ya que fueron una pieza importante en este proyecto porque siempre que necesite de su ayuda ahí estuvieron para escucharme, orientarme y ayudarme.

A mis compas de las retas de fut, Alan, Alonsito, George y Oskey, gracias por invitarme a las retas, ya que un rato de entretenimiento y descanso siempre fue necesario para despejar la mente.

A Doña Mari, Nancy, Doña Cuquis, Don Migue, Tere, Cristhian, Miguelito, Doña Lidia, Sofi, Itzel, a todos ustedes les guardo un cariño especial. Gracias por todas sus palabras de apoyo.

A todas esas personas que se han cruzado en mi camino y me han dicho alguna palabra de ánimo y que tal vez por falta de memoria no he mencionado, les agradezco mucho.

ÍNDICE

SÍMBOLOS, ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS.....	7
RESUMEN.....	9
ABSTRACT.....	10
1. INTRODUCCIÓN.....	11
2. ANTECEDENTES.....	12
3. JUSTIFICACIÓN.....	19
4. OBJETIVOS.....	19
4.1. Objetivo general.....	19
4.2. Objetivos específicos.....	19
5. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	20
6. CONCLUSIÓN.....	35
7. PARTE EXPERIMENTAL.....	36
7.1. Métodos instrumentales.....	36
7.2. Reactivos.....	36
7.3. Material vegetal.....	36
7.4. Obtención de extractos.....	36
7.5. Aislamiento y purificación de acetato de maturina (1) de <i>Psacalium peltatum</i>	37
7.6. Formación de la E-etanolimina del acetato de maturina (2).....	37
8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	39

SÍMBOLOS, ACRÓNIMOS Y ABREVIATURAS

°C	Grados Celsius.
μL	Microlitros.
AcOEt	Acetato de etilo.
B3LYP	Becke three-parameter Lee-Yang-Parr.
CCF	Cromatografía en Capa Fina
DFT	Density Functional Theory.
DSD	Dímero simétrico de la dihidroartemisinina.
DND	Dímero No simétrico de la dihidroartemisinina.
<i>E</i>	Entgegen.
EAT	Células tumorales ascíticas de Erlich.
GDP	Guanosín difostato.
HETCOR	HETeronuclear CORrelation.
km	Kilómetro.
MeOH	Metanol.
Mg	Miligramo.
MHz	Mega Hertz.
mL	Mililitro.
MMFF	Mechanic Molecular Force Field.
No.	Número.
NOESY	Nuclear Overhauser Effect SpectroscopY.
pH	Potencial de Hidrógeno.
ppm	Partes por millón.
PLD	Fosfato de Piridoxal.
R	Reflujo constante.
RMN de 1D	Resonancia Magnética de una dimensión.
RMN de 2D	Resonancia Magnética Nuclear de dos dimensiones.
RMN de ¹ H	Resonancia Magnética Nuclear de hidrógeno.
RMN de ¹³ C	Resonancia Magnética Nuclear de carbono-13.

SIDA

Síndrome de Inmuno Deficiencia Adquirida.

T A

Temperatura Ambiente.

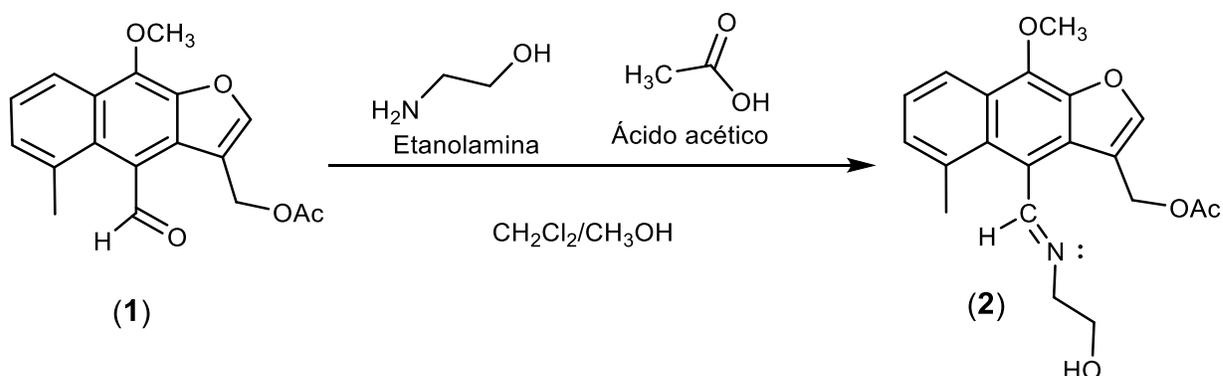
TMS

Tetrametilsilano.

RESUMEN

El Acetato de maturina (**1**) es una molécula plana perteneciente al grupo de los eremofilanos (sesquiterpenoide), presenta en su esqueleto una decalina fusionada con un anillo de furano, de ahí que también se le conozca como furanoeremofilano. En el anillo central presenta un grupo aldehído, el cual es susceptible a derivatizar mediante reacciones de sustitución.

En el presente trabajo se describe un estudio sistemático sobre la reactividad del aldehído del acetato de maturina (**1**) frente a etanolamina, que mediante la variación de las condiciones de reacción permitió la obtención estereoespecífica de *E*-etanolimina del acetato de maturina (**2**) (Esquema 1). La caracterización del producto de reacción se llevó a cabo mediante técnicas físicas y espectroscópicas, que incluyeron punto de fusión y RMN de 1D y 2D.



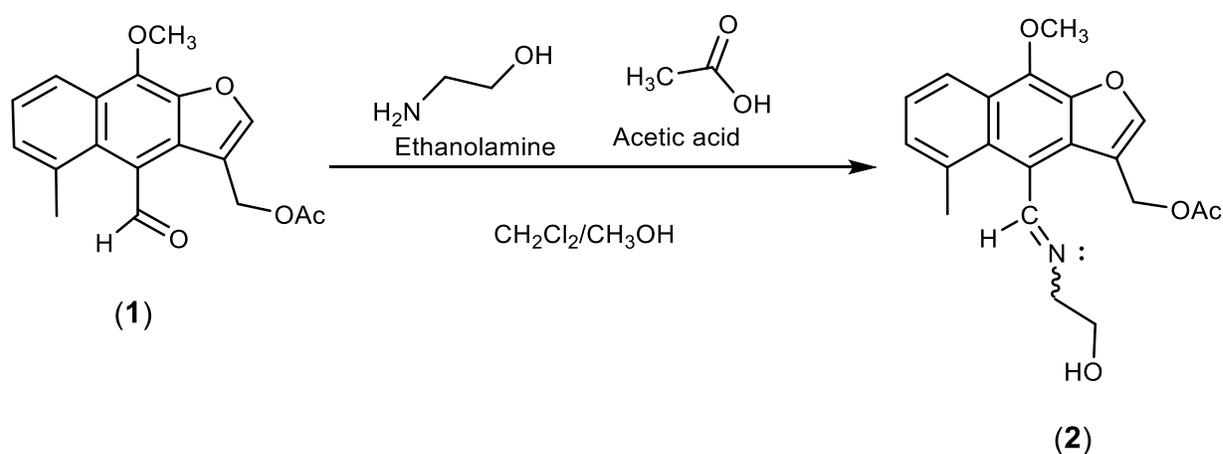
Esquema 1. Reacción de obtención de *E*-etanolimina del acetato de maturina (**2**).

Palabras clave: Terpeno, acetato de maturina, etanolamina, sustitución nucleofílica, base de Schiff, furanoeremofilano.

ABSTRACT

Maturin acetate (**1**) is a flat molecule including in the eremophillane group (sesquiterpenoid), whose molecular skeleton contains a decalin fused with a furan; by this, furan-eremophillane compounds also are known. An aldehyde moiety in maturin acetate is included, of which is susceptible to nucleophilic substitution reactions.

In the present work, a systematic reactivity study of maturin acetate (**1**) with ethanolamine is described, providing the stereospecific preparation of maturin acetate, *E*-ethanolimine (**2**) (Scheme 1). The reaction product characterization by physic and spectroscopic data, including melting point and 1D and 2D NMR, was done.



Scheme 1: Chemical reaction for the preparation of maturin acetate, *E*-ethanolimine (**2**).

Keywords: Terpene, maturin acetate, ethanol amine, nucleophilic substitution, Schiff base, furan-eremophillane.

1. INTRODUCCIÓN

Las plantas han sido utilizadas durante siglos por la humanidad, para tratar diversos padecimientos; estas representan una fuente importante de productos naturales o metabolitos secundarios, como también se les conoce. De estos metabolitos se derivan numerosos medicamentos, para uso humano o veterinario (Villaseñor *et al.*, 2004).

El acetato de maturina (**1**) es un metabolito secundario que se obtiene de *Psacalium peltatum*, dicha especie forma parte de un complejo de plantas medicinales conocido como matarique. Este es utilizado tradicionalmente para el tratamiento del dolor, reumatismo, úlceras, fiebre, infecciones de la piel, y enfermedades renales. También existen reportes de su uso como agente anticanceroso y antitumoral. Otra utilidad descrita en la medicina tradicional está dirigida al control de la diabetes (Bello, 1993; Argueta *et al.*, 1994).

En nuestro grupo de trabajo se llevan a cabo estudios de reactividad sobre el aldehído del acetato de maturina (**1**), con la finalidad de generar derivados de interés químico y farmacológico. La susceptibilidad de **1** para generar bases de Schiff ha sido demostrada con la obtención de la semicarbazona y la tiosemicarbazona del acetato de maturina (Figura 1). Dichos compuestos fueron evaluados en estudios de reactividad coordinante frente a PdCl₂, permitiendo la obtención de novedosos complejos neutros (Vidal, 2017).

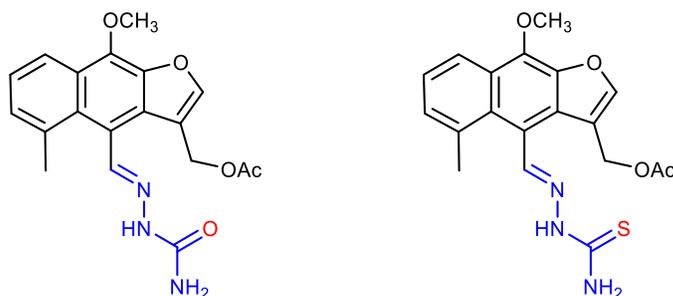


Figura 1. Semicarbazona y tiosemicarbazona del acetato de maturina.

En el presente trabajo se continúan las investigaciones sobre la reactividad del aldehído del acetato de maturina (**1**) para la obtención estereoespecífica de la base de Schiff correspondiente, empleando etanolamina.

2. ANTECEDENTES

En las plantas se encuentra una amplia gama de sustancias químicas, de donde se derivan los principios activos que las hacen útiles como medicamentos. Estos principios activos pueden encontrarse en toda la planta o solo en algunas de sus estructuras. Su concentración y calidad dependen de diversos factores. En las últimas décadas existe un interés creciente por el uso de las plantas medicinales o de sus principios activos, en gran medida, por el cambio de perfil del consumidor, principalmente en países desarrollados, ya que, se está prefiriendo los productos naturales sobre los sintéticos; esto, en todos los segmentos del mercado, incluyendo los de salud, alimentación, e higiene. (Sharapin, 2000).

Entre los principios activos naturales se encuentran los terpenos o terpenoides, que constituyen el grupo más numeroso de metabolitos secundarios (más de 40,000 moléculas diferentes); se caracterizan por estar formados por bloques de construcción de cinco átomos de carbono relacionados con el 2-metil-1,3-butadieno o isopreno (Figura 2) (Bruneton, 2001).

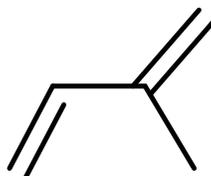


Figura 2. Fórmula estructural del 2-Metil-1,3-butadieno (isopreno).

De acuerdo al número de unidades de isopreno, este tipo de compuestos se clasifican monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos, triterpenos, tetraterpenos y politerpenos, como se aprecia en la Tabla 1 (Ávalos, Pérez-Urria, 2009).

Tabla 1. Clasificación de terpenos de acuerdo al número de unidades de isopreno.

Clasificación	Unidades de isopreno	Número de carbonos
Monoterpenos	2	10
Sesquiterpenos	3	15
Diterpenos	4	20
Triterpenos	6	30
Tetraterpenos	8	40
Politerpenos	>8	>40

Entre los terpenoides de importancia, se encuentran aquellos obtenidos del género *Taxus* (Paclitaxel o Taxol®) (Figura 3), los cuales son utilizados como agentes anticancerosos (Centelles, 2010; Bruneton, 2001^b; Wagner y Elmadfa, 2003).

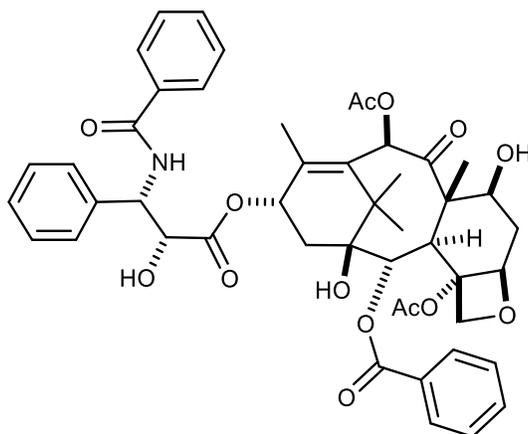
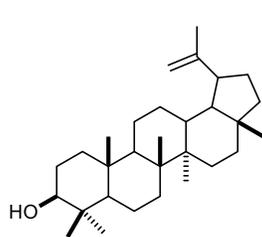
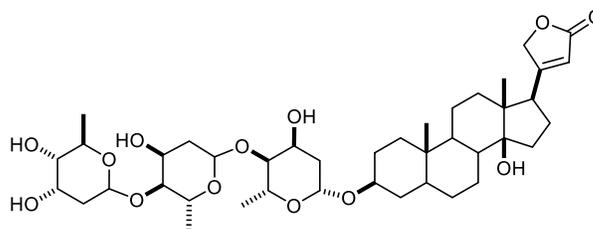


Figura 3. Estructura química de Taxol® (paclitaxel).

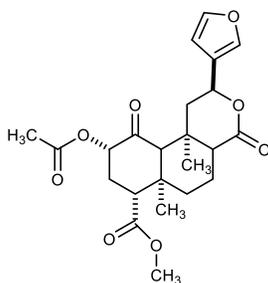
Otras moléculas terpénicas como las que se muestran en la figura 4, han mostrado actividad antiinflamatoria, antimicrobiana, efectos sobre el sistema nervioso central, cardiovascular, así como su potencial alergénico. Su amplia diversidad estructural y su potencial actividad biológica han hecho que los científicos se interesen por estas moléculas (Ruíz *et al.*, 2015).



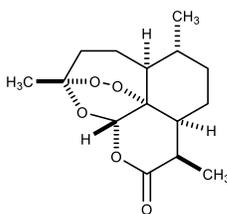
Lupeol (antiinflamatorio)



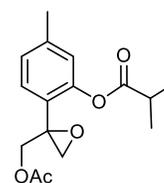
Digitoxina (Cardiovascular)



Salvinorina-A (Estimulante del SNC)



Artemisinina (antimicrobiano)



Acetato de epoxitímol isobutirato (alergeno)

Figura 4. Moléculas terpénicas con actividad biológica.

Las transformaciones de terpenos son muy estudiadas, porque permiten la producción de compuestos enantioméricamente puros bajo condiciones suaves de reacción, que pueden ser utilizados en la industria farmacéutica como productos con actividad biológica potenciada, mejorada o nueva. Como ejemplo destacable sobre modificaciones estructurales se encuentra el cabazitaxel (Figura 5), un quimioterápico introducido al mercado en 2010, para su uso en terapia contra el cáncer de próstata (Newman y Cragg, 2016).

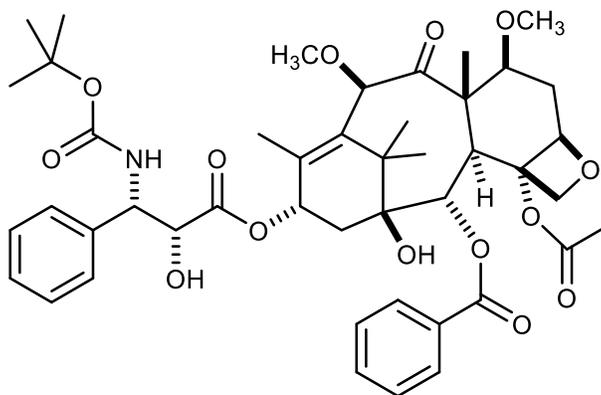


Figura 5. Estructura química del cabazitaxel.

Dentro de los terpenos de interés en nuestro grupo de trabajo, se encuentran aquellos con esqueleto de eremofilano, los cuales son sesquiterpenos que derivan biogénicamente de los eudesmanos por migración del grupo metilo en C-10 al carbono C-5 (Figura 6) (Pinder, 1977).

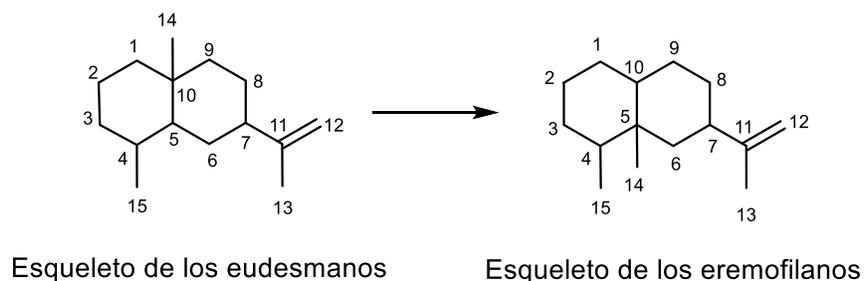


Figura 6. Estructura base de eudesmanos y eremofilanos.

Una de las especies vegetales más utilizadas en la medicina tradicional mexicana es *Psacalium peltatum* (Figura 7). Esta especie vegetal forma parte de un complejo de plantas denominado Matarique que incluye a *Psacalium decompositum* (Gray), *Psacalium sinuatum* (Cerv), *Psacalium palmeri* y *Acourtia thurberi* (Gray). De los cuales se han identificado moléculas con esqueleto de eremofilanos que contienen un anillo de furano, por lo que se denominan furanoeremofilanos (Romo de vivar *et al.*, 2007).

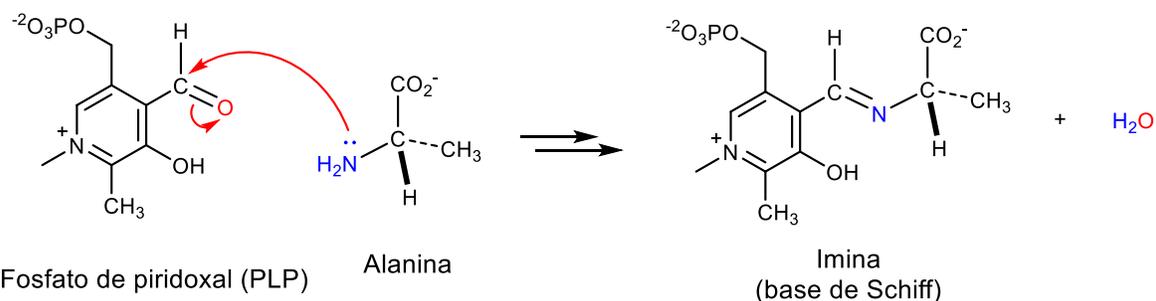


Figura 7. *Psacalium peltatum*, componente de matarique.

El acetato de maturina (**1**) es uno de estos furanoeremofilanos que se obtiene de la raíz de la especie de *Psacalium peltatum*. Este compuesto fue aislado por primera vez de la especie africana *Senecio pterophorus* (Bohlmann *et al.*, 1977), también existen reportes en *Psacalium beamanii*, *Roldana angulifolia* y *Trichilia cuneata* (Pérez *et al.*, 2004). De este compuesto se han realizado estudios en modelos *in vivo* e *in vitro* para observar su actividad antiinflamatoria, así como la inducción de efectos inmuno estimulantes, y en ambos casos demostró ejercer un importante efecto (Rojano *et al.*, 2013; Juárez *et al.*, 2013).

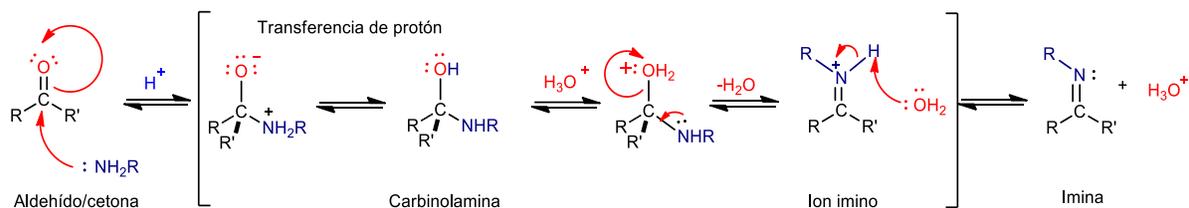
El acetato de maturina (**1**), además de contener un anillo de furano, contiene un metoxilo en la posición C-9, un acetato en C-13 y un aldehído en la posición C-6. Aprovechando esta última función, en nuestro grupo de trabajo se ha derivatizado exitosamente a **1** para formar bases de Schiff, entre ellas, las respectivas semicarbazona y tiosemicarbazona, lo que abre el panorama para realizar nuevas derivatizaciones de esta clase.

Las bases de Schiff se han distinguido por presentar una interesante gama de actividades biológicas, que incluyen la antifúngica, antibacteriana, antipalúdicas, antiproliferativa, antiinflamatoria, antiviral, antipiréticas, entre otras (Perentena *et al.*, 2015). La actividad biológica de esta variedad de compuestos puede advertirse tras observar su participación como intermediarios en diversas rutas biológicas. Por ejemplo, el aminoácido alanina, se metaboliza en el organismo por la reacción con el fosfato de piridoxal (PLP), un derivado de la vitamina B6, para producir una base de Schiff, que se degrada posteriormente (Esquema 2) (McMurry, 2008).



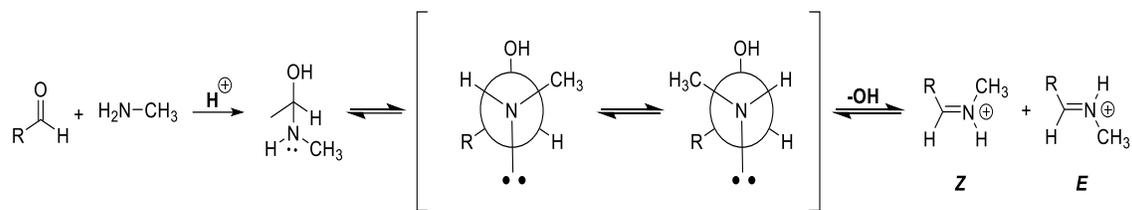
Esquema 2. Reacción de formación de una imina a partir de Alanina y fosfato de piridoxal.

Como puede observarse, estos compuestos pueden generarse a partir de aminas primarias, y aldehídos o cetonas, para producir las respectivas iminas ($R_2C=NR$) (Esquema 3).



Esquema 3. Mecanismo general de la formación de iminas a partir de aldehídos o cetonas.

En esta reacción puede advertirse la formación de los estereoisómeros *E* y *Z* en el grupo imina (Esquema 4). En este caso, dicha isomerización puede ocurrir durante el proceso de reacción, o posterior a la formación del producto, por lo que la obtención estereoespecífica de cualquiera de los posibles productos requiere de ajustes minuciosos y sistemáticos de las condiciones de reacción, lo que en muchas ocasiones se vuelve complicado.



Esquema 4. Esquema general de los procesos de isomerización del grupo imina.

Entre las aminas de interés para la exploración de su reactividad para la formación de bases de Schiff se encuentra la etanolamina, que es un aminoalcohol, que contiene una amina primaria. Este compuesto corresponde al derivado reducido de la glicina, un aminoácido no esencial empleado como coadyuvante y potencializador de principios activos en medicamentos. La etanolamina es un líquido incoloro y espeso o un sólido a temperaturas inferiores a 10.5 °C, con un ligero olor a amoníaco. La etanolamina se utiliza frecuentemente en la industria, incluyendo sectores tales como la fabricación de detergentes y jabones, síntesis de tintes y pinturas, vulcanizado del caucho, eliminación de gases ácidos del ambiente, por ejemplo, el dióxido de carbono en submarinos, y como agente dispersante en agricultura. Se absorbe a través de la piel, los pulmones y el tracto gastrointestinal (Klain *et al.*, 1985; Weeks *et al.*, 1960; Weissbach y Sprinson, 1953). Es un constituyente normal del organismo, y tras su condensación en fosfatidil etanolamina o transformación en fosfatidil colina se puede incorporar a las membranas celulares. Se puede transformar en aminoácidos o desaminarse, para su uso como fuente de energía.

Con base en lo anterior, surge el interés de continuar con las investigaciones sobre la reactividad del acetato de matorina (1), para la formación de bases de Schiff con potencial aplicación en la química y farmacología.

3. JUSTIFICACIÓN

La familia de los compuestos terpenoides comprende una interesante variedad estructural, dentro de la que se encuentra el acetato de maturina (1), un sesquiterpeno con un grupo funcional aldehído, donde la electronegatividad del oxígeno contribuye a la polarización del grupo carbonilo, haciéndolo susceptible a una sustitución nucleofílica que favorezca la formación de una base de Schiff o iminas, para dar origen a compuestos con posible actividad biológica.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo general

- ✚ Preparar una base de Schiff a partir del acetato de maturina (1) y un aminoalcohol.

4.2. Objetivos específicos

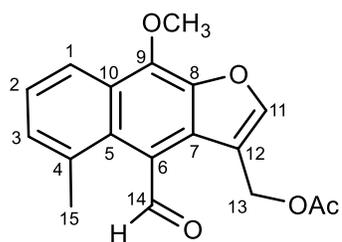
- ✚ Obtener el acetato de maturina (1) a partir de la especie vegetal *Psacalium peltatum*.
- ✚ Explorar condiciones de reacción para la obtención de la etanolimina del acetato de maturina (1).
- ✚ Caracterizar por métodos físicos y espectroscópicos el producto de reacción.

5. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La obtención del acetato de maturina (**1**) se llevó a cabo sometiendo un lote de raíces secas a reflujo en hexanos; posteriormente, del extracto crudo se obtuvo un precipitado amarillo, el cual se sometió a purificación por el método de precipitación con hexanos, permitiendo la obtención de cristales amarillos en forma de aguja con punto de fusión de 76-78 °C, que se analizaron por RMN de ^1H y ^{13}C en CDCl_3 . En el espectro de RMN de ^1H a 400 MHz en CDCl_3 de **1**, (Figura 8), se observó una señal simple en 11.02 ppm que integró para un protón correspondiente al aldehído de la molécula, en 8.32 ppm se observó la señal que integró para el protón asignado al hidrógeno aromático H-1, en 7.84 ppm se observó una señal simple que integró para un protón asignado al hidrógeno H-11 del anillo de furano, en 7.43 ppm se observó la señal múltiple que integró para dos hidrógenos asignados para los protones aromáticos H-2 y H-3, en 5.34 ppm se observó la señal simple que integró para dos protones asignados al metileno base de acetato H-13, en 4.45 ppm se encontró la señal simple asignada a los protones del metoxilo (OMe), en 2.80 ppm se observó la señal simple que integró para los protones asignados para el CH_3 -15 y finalmente en 2.09 ppm se observó la señal simple asignada a los protones del metilo del acetato. En el espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3), (Figura 9) se observaron 18 señales, en 193.5 ppm y 170.6 ppm se observaron las señales de los carbonilos de aldehído C-14 y acetato C-1', respectivamente, entre 148.9 y 116.4 ppm se encontraron las 12 señales que corresponden a los carbonos aromáticos de la molécula, en 61.1 ppm se encontró la señal asignada al carbono del metoxilo C-16, en 58.5 ppm se observó la señal asignada al carbono del metileno C-13 y finalmente en 26.6 y 21.0 ppm se encontraron las señales asignadas para el carbono C-15 y el carbono del grupo acetato, respectivamente. Cuyos datos fueron comparados con los de la literatura (tabla 2) (Bohlmann *et al.*, 1977, Vilchis *et al.*, 2013).

Tabla 2. Datos de RMN de ^1H y ^{13}C del acetato de maturina (**1**) en CDCl_3 .

	^1H δ (ppm)			^{13}C δ (ppm)	
	Ref.	Exp.		Ref.	Exp.
H-1	8.30	8.32	C-1	121.0	121.0
H-2	7.41	7.43	C-2	130.2	130.2
H-3	7.41	7.43	C-3	124.8	124.8
H-11	7.83	7.84	C-4	130.3	130.4
H-13	5.33	5.34	C-5	133.4	133.5
H-14	11.01	11.02	C-6	122.0	122.0
H-15	2.79	2.80	C-7	129.4	129.4
OMe	4.45	4.45	C-8	142.4	142.4
OAc	2.09	2.09	C-9	141.8	141.8
			C-10	125.4	125.4
			C-11	116.4	116.4
			C-12	148.9	148.9
			C-13	58.5	58.5
			C-14	193.4	193.5
			C-15	26.6	26.6
			C-16	61.1	61.1
			C-1'	170.6	170.6
			C-2'	21.0	21.0



(1)

Ref= Referencia. Exp= Experimental.

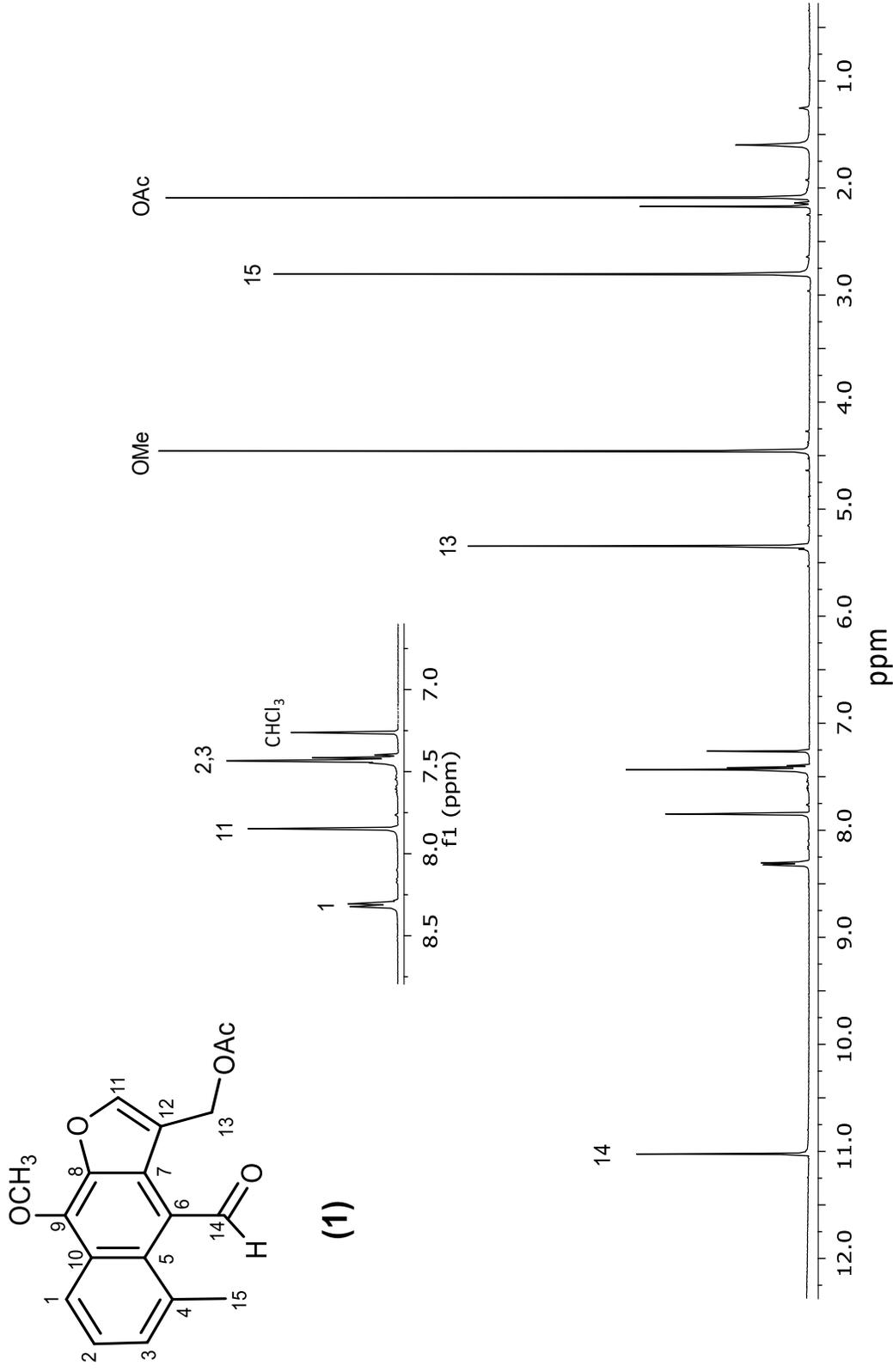


Figura 8. Espectro de RMN de ¹H a 400 MHz en CDCl₃ del acetato de matorina (1).

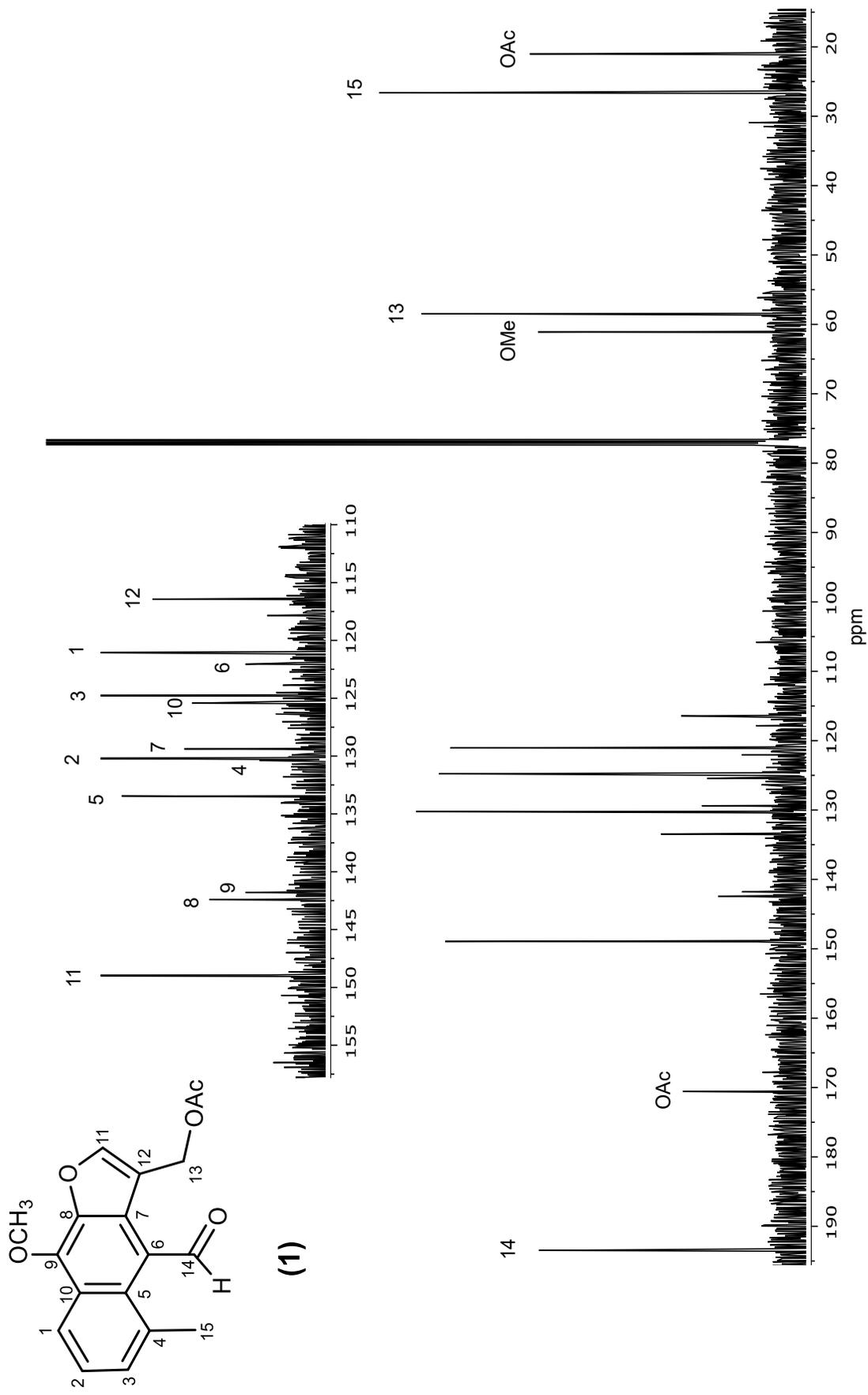
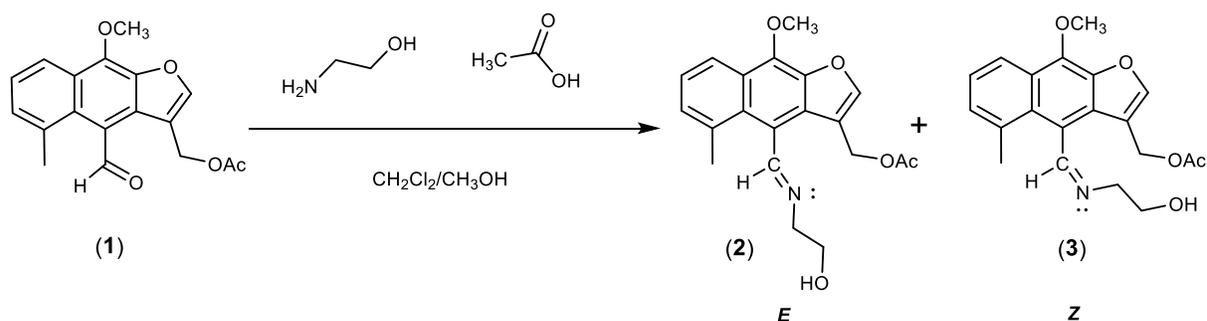


Figura 9. Espectro de RMN de ¹³C a 100 MHz en CDCl₃ del acetato de matorina (1).

Una vez que se obtuvo **1**, se ensayaron condiciones de reacción (Tabla 3) para derivatizar **1** con etanolamina. Cabe resaltar que la formación de la correspondiente base de Schiff posibilita la generación de los isómeros *Z*-**3** y *E*-**2** (Esquema 5); no obstante, es deseable favorecer la formación estereoespecífica de uno de ellos, dadas las aplicaciones en investigaciones futuras por nuestro grupo de trabajo.



Esquema 5. Reacción general para la obtención de la etanolimina del acetato de matorina (**2** y **3**).

Tabla 3. Variaciones de las condiciones de reacción para la formación de la *E*-etanolimina de acetato de maturina (2).

Entrada	a*	b**	c:d	Vol. de Reacción**	Temp.	t	Producto	Rendimiento***
1	98	0.3	0:1	5	R	5.0	m.c.	n.d.
2	98	0.3	0:1	10	R	5.0	m.c.	n.d.
3	20	0.3	1:0	10	T.A.	3.5	-	-
4	20	0.3	1:0	10	R	5.5	-	-
5	60	0.3	1:0	10	R	3.0	2	13
6	98	0.4	2:1	10	R	6.0	2 3	77 23
7	98	0.4	1:0	10	T.A.	72.0	2	42
8	98	0.5	2:1	10	R	2.5	2	72
9	98	0.5	4:1	10	R	5.0	2	5
10	50	0.3	2:1	5	R	2.5	-	-
11	98	0.5	2:1	5	R	2.5	2	42
12	98	0.3	2:1	5	R	3.0	2	10

* μL ; **mL; Temp= Temperatura; t= tiempo en horas; ***en porcentaje (%); n.d.=no determinado; m.c.= mezcla compleja y -= sin reacción.

La reacción de formación de la respectiva base de Schiff, se llevó a cabo de acuerdo a las condiciones empleadas en nuestro grupo de trabajo (Vidal, 2017), con 100 mg de **1** y 98 μL de etanolamina, en MeOH acidificado como medio de reacción (entrada 1). De este proceso se generó una mezcla compleja de productos, lo cual motivó a la búsqueda de condiciones adecuadas para la obtención de un solo compuesto. Se incrementó el volumen del medio de reacción al doble (entrada 2), lo que limita las interacciones intermoleculares que pudiesen influir negativamente en la reacción, y a su vez, incrementa el pH; sin embargo, estas modificaciones derivaron en el mismo resultado.

Considerando la probabilidad de que la baja selectividad en productos de reacción se debía a la elevada energía de reacción, se decidió llevarla a temperatura ambiente; adicionalmente, se redujo el exceso de etanolamina a 20 μL (entrada 3). En este ensayo, la reacción no procedió, lo que se atribuyó a la baja energía de activación, por lo que se mantuvieron las condiciones de reacción, pero la reacción se sometió a reflujo (entrada 4); cuyo seguimiento mediante CCF sugirió incrementar el tiempo de reacción, sin embargo, la ausencia de reacción persistió.

Las modificaciones de las anteriores entradas sugirieron que un exceso de etanolamina y temperatura son necesarias, por lo que se incrementó la concentración de etanolamina a 60 μL y se disminuyó el tiempo de reacción a 3 h (entrada 5). El crudo de reacción se sometió a cromatografía en columna. En las fracciones eluidas con hexanos-AcOEt (4:1) se obtuvo un sólido rojo con p.f. 95-105 $^{\circ}\text{C}$, en un 14% de rendimiento. En su espectro de RMN de ^1H (Figura 10), se observaron las señales correspondientes al acetato de maturina (**1**); aunque se apreció un desplazamiento hacia frecuencias menores del protón H-14 (9.37 ppm); adicionalmente, se observaron dos nuevas señales en 4.07 y 3.89 ppm correspondientes a la fracción $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ del aminoalcohol. En el espectro de RMN de ^{13}C a 100 MHz en CDCl_3 (Figura 11) se observaron las 20 señales esperadas en el producto de reacción, destacando en 63.4 y 62.2 ppm las señales asignadas a los C-2' y C-1', respectivamente. La asignación del espectro de RMN de ^{13}C se llevó a cabo con ayuda del experimento de correlación heteronuclear HETCOR. Estos datos permitieron establecer la obtención de la *E*-etanolimina del acetato de maturina (**2**).

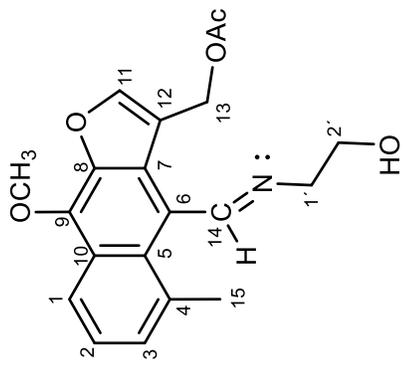
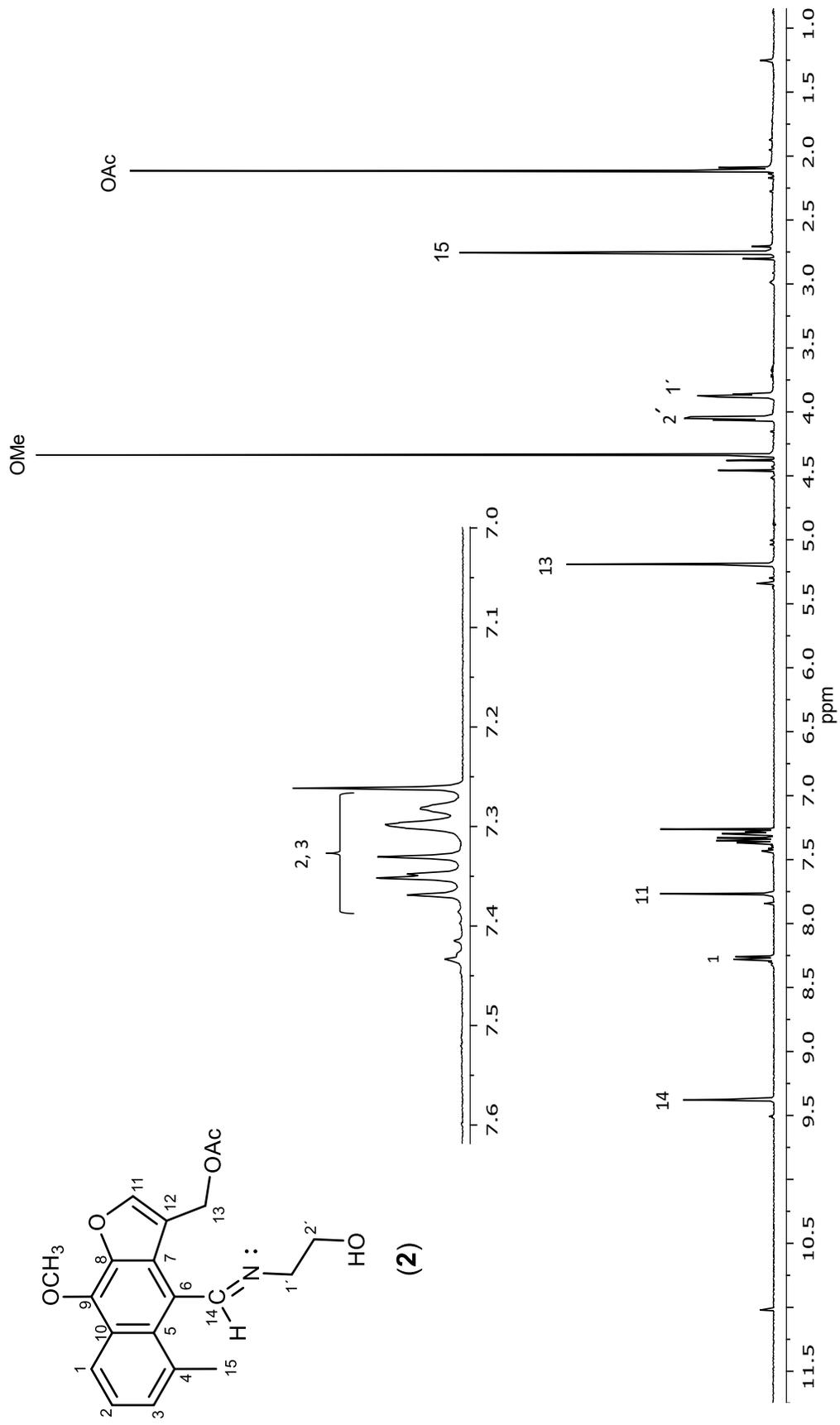


Figura 10. Espectro de RMN de ¹H a 400 MHz en CDCl₃ de E-etanolimina del acetato de maturina (2).

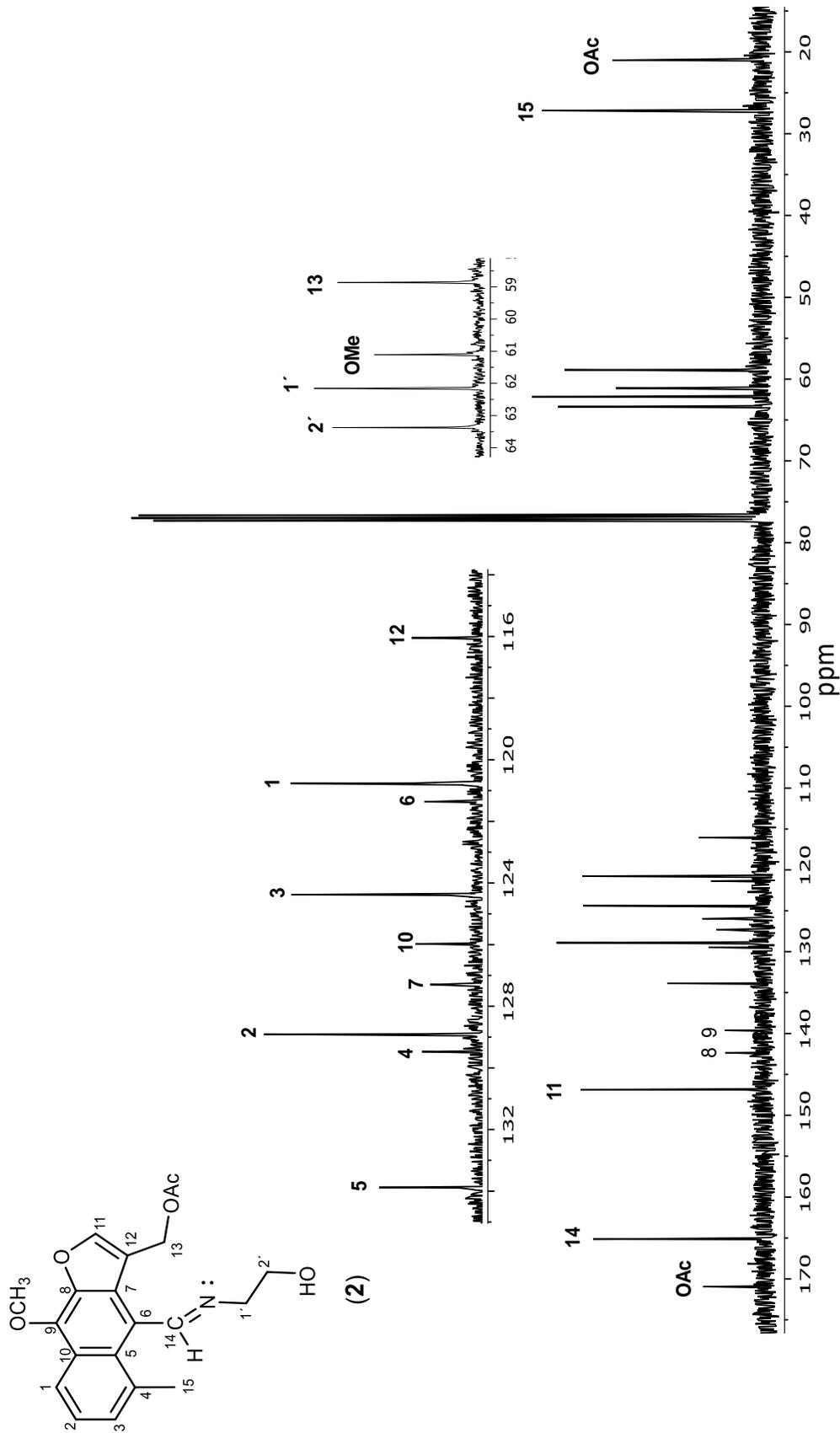


Figura 11. Espectro de RMN de ¹³C a 100 MHz en CDCl₃ de E-tanolimina del acetato de maturina (2).

Considerando la posibilidad de la configuración *Z* o *E* en la porción imínica, se decidió llevar a cabo el análisis del espectro NOESY (Figura 12), donde se pudo apreciar las correlaciones entre los protones del CH₂-1' de la fracción del aminoalcohol con los protones del CH₂-13 base de acetato, así como con los protones del CH₃-15 y con el protón imínico H-14; con estas correlaciones se estableció la conformación *E* del compuesto **2**.

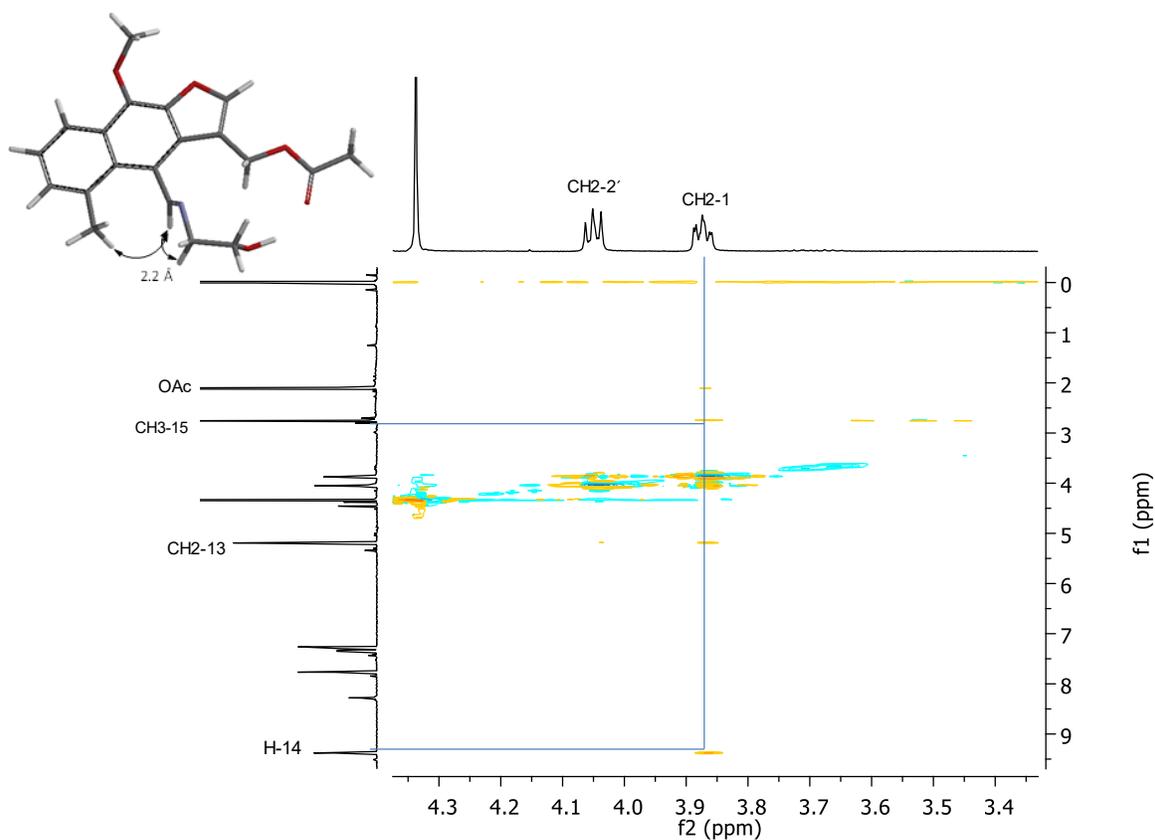
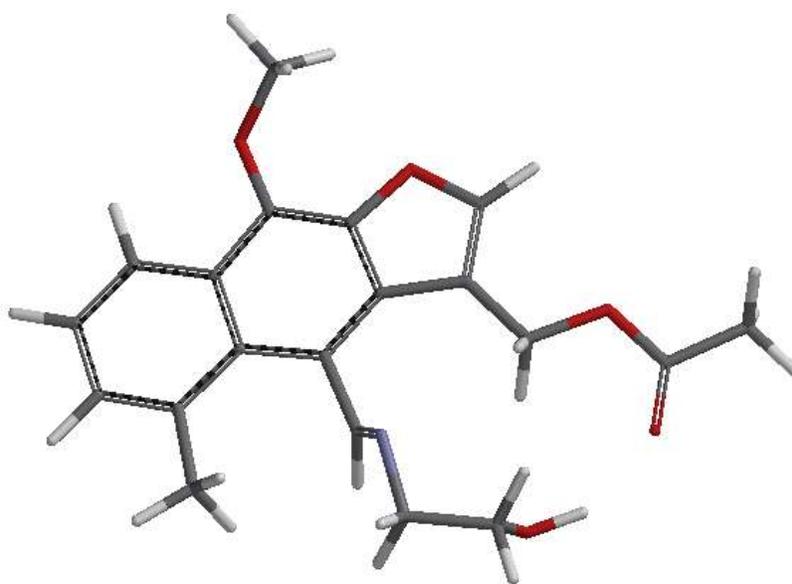


Figura 12. Expansión de espectro NOESY de *E*-Etanolimina del acetato de maturina (**2**).

Con la finalidad de apoyar la configuración de la etanolimina del acetato de matorina (**2**), se realizó un análisis computacional, en el que un modelo de **2** generado programa Spartan´04 fue sometido a una búsqueda conformacional con mecánica molecular por el método MMFF (Protocolo Monte Carlo), obteniendo 81 conformeros. Posteriormente, fue optimizada la energía de los 81 conformeros, usando teoría de funcionales de la densidad (DFT), con el método B3LYP, y un nivel de teoría 6-31G**. En la Figura 13, se muestra el conformero más estable (mínimo global), así como su distribución de Boltzmann ($P=66\%$).



($P= 66\%$)

Figura 13. Conformero poblacional de la *E*-etanolimina del acetato de matorina.

El mínimo global permitió comprender las correlaciones observadas en el NOESY, destacando que la distancia estimada entre el H-14 y los hidrógenos del CH₂-2' es de 2.2 Å, lo que permite una interacción a través del espacio, favorecida por la configuración *E* en **2**.

Debido al bajo rendimiento en el producto de reacción, se continuó con la optimización del rendimiento. Para ello, se incrementó el exceso de etanolamina a 98 μL , se duplicó el tiempo de reacción 6 h, y se incrementó la cantidad de ácido acético; adicionalmente, la temperatura de ebullición se disminuyó al emplear una mezcla de CH_2Cl_2 -MeOH (entrada 6). En este caso, se asumió que las características del medio de reacción (sistema prótico) no fueron alteradas, ya que el medio acidificado las mantiene. De esta reacción se midió su espectro de RMN de ^1H , donde se apreció la completa transformación de la materia de partida, pero la formación de dos productos, evidenciado principalmente tras observar dos señales de protones imínicos (9.37 y 9.27 ppm). El sistema de señales del compuesto mayoritario correspondió al derivado **2**; el otro, mostró el patrón de señales con ligeros cambios de desplazamiento (Figura 14), lo que sugirió la formación del isómero *Z* (**3**). Con base en el análisis de la integral de las señales se pudo establecer una proporción 3:1, de productos *E-Z*, respectivamente. Como pudo observarse, estas condiciones mejoraron en buena medida el rendimiento de la reacción. De acuerdo con la literatura, fue la variación de pH que la formación de la imina se favoreció, pues a un pH débilmente ácido, de alrededor de 4 a 5, este tipo de reacciones alcanzan sus mejores rendimientos (McMurry, 2008).

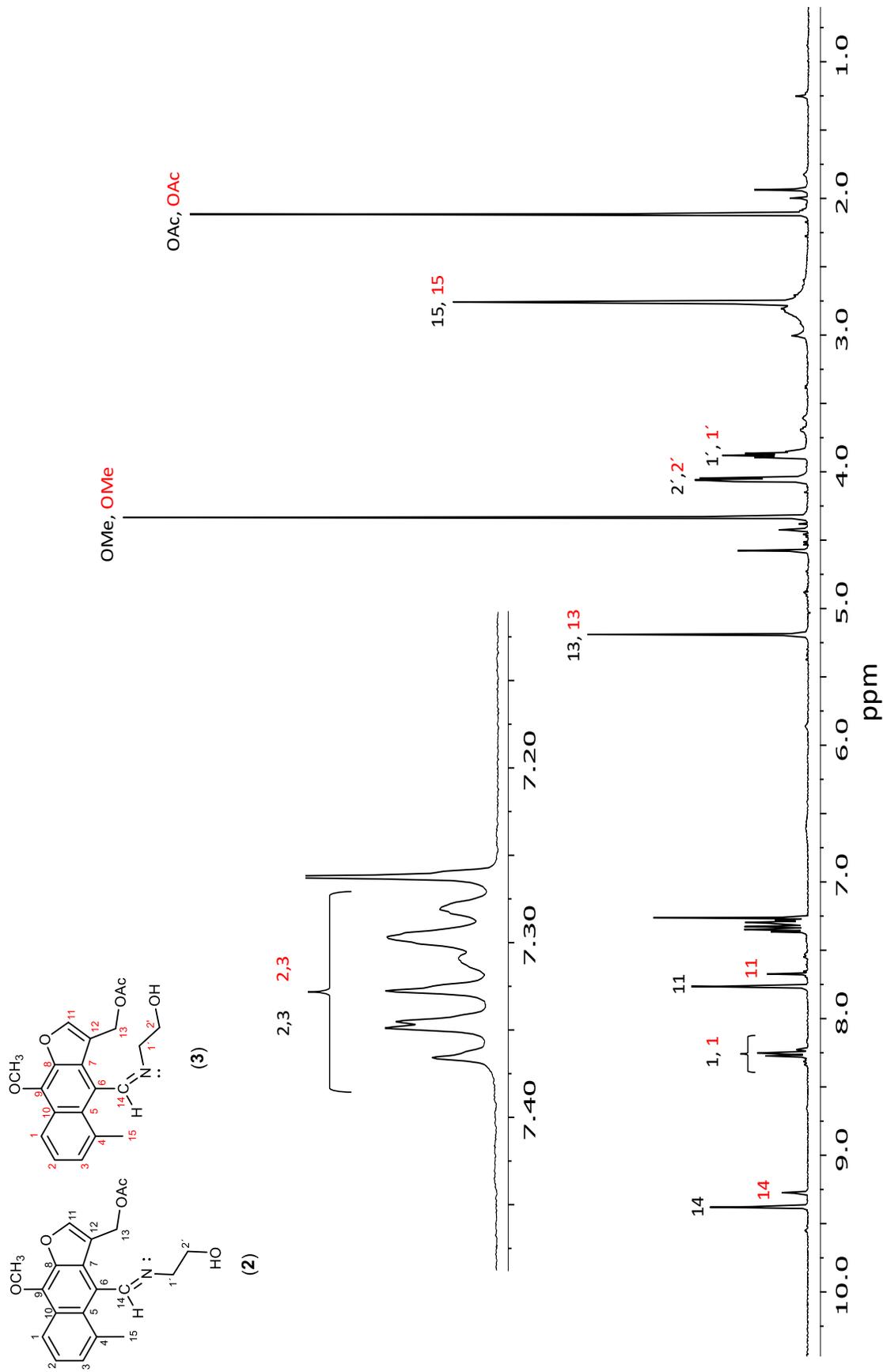


Figura 14. Espectro de RMN de ¹H a 400 MHz en CDCl₃ de mezcla *E* (2), *Z* (3) de la etanolimina del acetato de maturina.

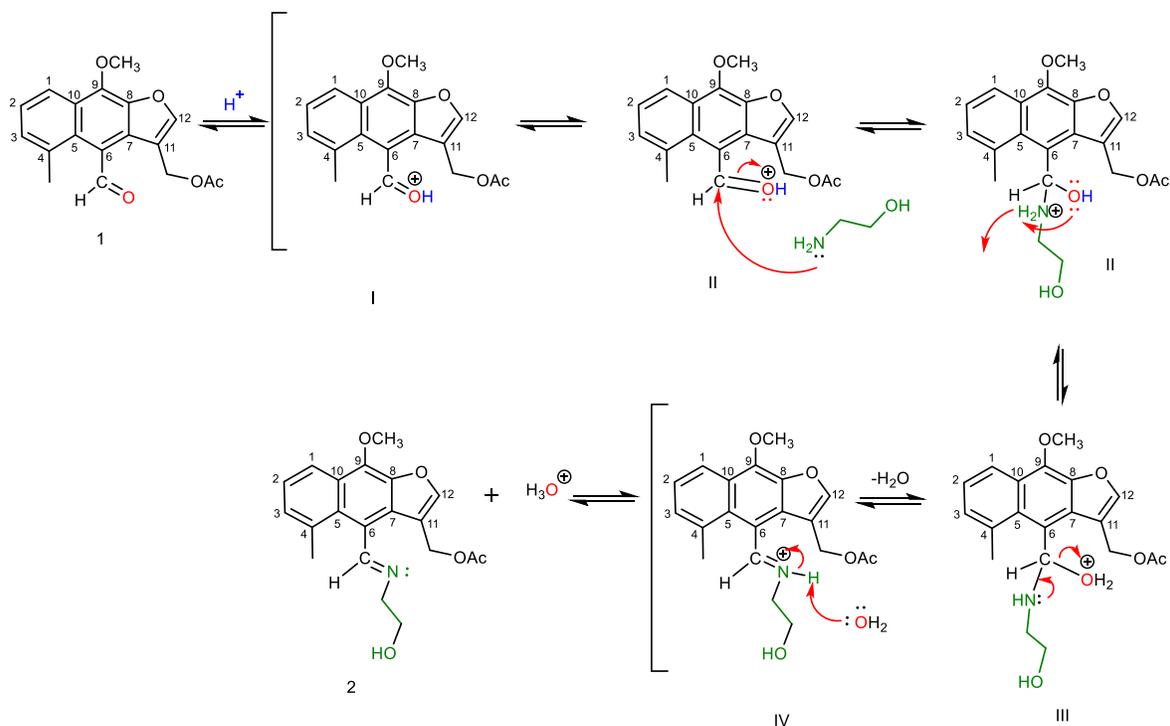
Al determinar que las condiciones de reacción mejoraron el rendimiento, pero la selectividad desapareció, se decidió disminuir la temperatura de activación de la reacción a temperatura ambiente (entrada 7), aunque esto conllevara tiempos de reacción prolongados. En este caso, el producto de reacción correspondió al derivado **2** en un 42% de rendimiento. Este resultado indicó que es factible obtener un solo producto de reacción con mejores rendimientos.

Un posterior ensayo se llevó a cabo a reflujo con una mezcla de CH_2Cl_2 -MeOH (2:1) durante 2.5 h. De este procedimiento, se obtuvo al isómero **2** en un 72% de rendimiento (entrada 8). Cabe destacar que este rendimiento se encuentra dentro de los descritos para este tipo de reacciones. Las condiciones requeridas para la obtención estereoespecífica de **2** en buenos rendimientos fueron comprendidas mediante variaciones, partiendo de estas condiciones de reacción.

Es indispensable una temperatura adecuada de reacción, ya que al incrementar la proporción de CH_2Cl_2 al medio, los rendimientos se abaten drásticamente (entrada 9), aunque se mantenga la concentración de ácido. De igual manera, es indispensable el exceso de etanolamina, ya que, sin este, la reacción no procede (entrada 10). Asimismo, disminuir el volumen de reacción afecta negativamente el rendimiento (entradas 11 y 12), lo que puede ser atribuido a la dificultad en la trayectoria de los pasos de reacción, ya que interacciones intermoleculares, como puentes de hidrógeno e interacciones de Van der Waals las afectan.

Se propone el siguiente mecanismo de reacción para la formación de la base de Schiff (Esquema 6), el cual se describe en las siguientes etapas:

- I. Protonación del grupo carbonilo, que aumenta la polaridad positiva sobre el carbono y favorece el ataque nucleofílico.
- II. Ataque nucleofílico de la etanolamina al carbono del carbonilo y protonación del grupo hidroxilo para convertirlo en buen grupo saliente.
- III. Los electrones del par no enlazados del nitrógeno expulsan el agua y forman a la imina protonada.
- IV. La pérdida de H^+ del nitrógeno da la imina neutra como producto.

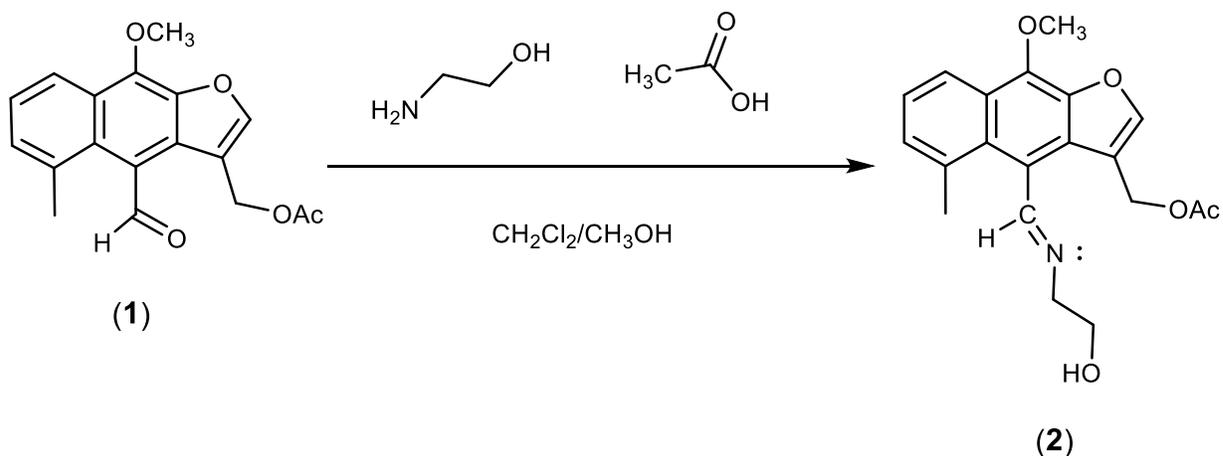


Esquema 6. Mecanismo de reacción propuesto para la formación de la *E*-Etanolimina de acetato de matorina (**2**).

6. CONCLUSIÓN

Se logró aislar y caracterizar al acetato de maturina (**1**) a partir de los extractos hexánicos de raíz de *Psacalium peltatum*.

A partir de **1** se preparó la correspondiente etanolimina **2** utilizando el aminoalcohol etanolamina como reactivo. Se propuso el mecanismo de reacción para la formación de la imina.



Las variaciones realizadas a las condiciones de reacción permitieron la optimización de las mismas para obtener la *E*-etanolimina de acetato de maturina (**2**). Destacando que:

- 1.- Es necesario un exceso de etanolamina para que la reacción se lleve a cabo.
- 2.- El pH influye directamente en la formación de la base de Schiff, ya que si aumenta (como en este caso), no se lleva a cabo la reacción.
- 3.- Al disminuir el volumen del disolvente aumenta el número de interacciones y por lo tanto disminuye la posibilidad de que solo se presente una interacción química entre los centros reactivos de las moléculas.

La configuración de *E*- etanolimina del acetato de maturina (**2**) es propuesta a partir de las correlaciones observadas en NOESY, las cuales son apoyadas con cálculos computacionales.

7. PARTE EXPERIMENTAL

7.1. Métodos instrumentales

Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear de 1D (^1H a 400 MHz y ^{13}C a 100 MHz) y 2D se determinaron en un espectrómetro Varian Mercury Plus-400, utilizando como disolvente cloroformo deuterado (CDCl_3) y tetrametilsilano (TMS) como referencia interna. Los espectros fueron procesados mediante el programa MestRenova.

Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Fisher-Scientific y no están corregidos.

Todos los disolventes utilizados durante el proceso fueron destilados en el laboratorio.

7.2. Reactivos

La Etanolamina ($\text{C}_2\text{H}_7\text{NO}$) se adquirió de manera comercial de la marca Aldrich®, peso molecular: 61.08 g/mol, punto de fusión: 10-11 °C, aspecto: líquido, incoloro, olor: amoniacal.

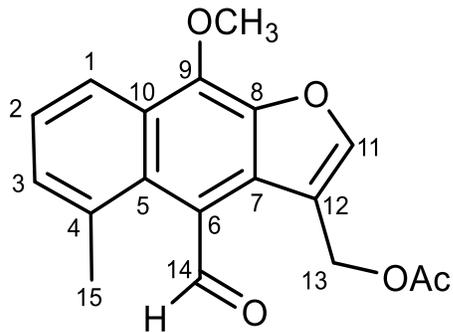
7.3. Material vegetal

Para la obtención del Acetato de maturina (**1**) se colectaron especímenes de *Psacalium peltatum* el 15 de agosto de 2015 en el km 207 de la carretera federal No.15 México-Morelia. La planta se separó en sus distintas partes (raíz, tallos y hojas) y se secó a la sombra.

7.4. Obtención de extractos

La raíz seca y molida (1,125 gramos) se colocó a reflujo en 3 L de hexanos por 6 horas, este proceso se realizó tres veces, posteriormente se llevó a evaporación del disolvente por presión reducida en rotavapor obteniéndose 31.4 gramos de extracto.

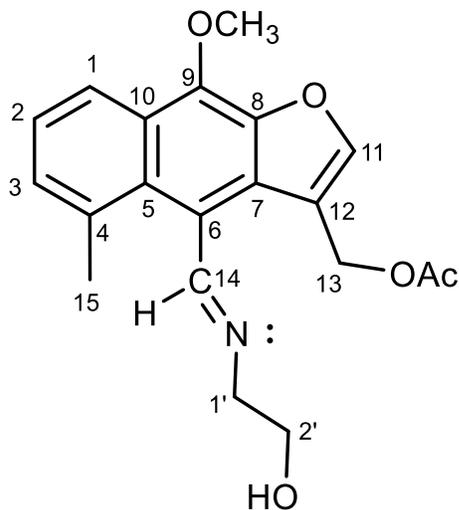
7.5 Aislamiento y purificación de acetato de maturina (1) de *Psacalium peltatum*



(1)

El extracto hexánico de raíz (31.4 gramos) se sometió a purificación por medio de precipitación disolviendo el extracto en una mínima cantidad de diclorometano (CH_2Cl_2) y posteriormente se adicionó hexanos obteniendo así cristales amarillos en forma de aguja, EMIE $[\text{M}]^+$ 312 g/mol; punto de fusión: 76-78 °C. RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ ppm: ver tabla 2.

7.6 Formación de la *E*-etanolimina del acetato de maturina (2).



(2)

Una mezcla de 0.1 g de acetato de maturina (1) y 98 μL de etanolamina se disolvieron en 10 mL de una mezcla CH_2Cl_2 - CH_3OH (2:1), posteriormente se adicionaron 0.5 mL de ácido acético.

La reacción se llevó a cabo a reflujo y agitación constante por 2 horas y 30 minutos. Transcurrido este tiempo se atemperó la reacción observándose la formación de un sólido amarillo, el cual fue analizado por RMN resultando una mezcla de productos (1 y 2). El

crudo de reacción se sometió a separación en columna cromatográfica, utilizando una columna de cristal de 1 cm de diámetro y 30 cm de altura empacada con gel de sílice 230-400 mallas y como fase móvil mezcla de disolventes Hexanos-AcOEt-MeOH en proporción 6:3:1 respectivamente, colectando 20 fracciones de 1 mL cada una. De la fracción 10 se obtuvo un sólido color rojizo, punto de fusión: 95-105 °C.

RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ ppm: 9.37 (s, 1H, H-14), 8.27 (m, 1H, H-1), 7.77 (s, 1H, H-12), 7.36 (m, 1H, H-2), 7.36 (m, 1H, H-3), 5.20 (s, 2H, H-13), 4.33 (s, 3H, OMe), 4.07 (t, 2H, H-2', $J = 4$ Hz), 3.89 (t, 2H, H-1', $J = 4$ Hz), 2.76 (s, 3H, H-15), 2.11 (s, 3H, OAc), RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ ppm: 171.0 (C=O del OAc), 165.1 (CH-14), 146.9 (CH-12), 142.4 (C-8), 139.6 (C-9), 133.9 (C-5), 129.5 (C-4), 128.9 (CH-2), 127.3 (C-7), 125.3 (C-10), 124.4 (CH-3), 121.4 (C-6), 120.8 (CH-1), 116.1 (C-11), 63.4 (CH_2 -1''), 62.2 (CH_2 -2''), 61.1 (OMe), 58.9 (CH_2 -13), 27.2 (CH_3 -15), 21.0 (CH_3 de OAc).

8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Argueta A., Martínez L., Cano A., Rodarte M. Atlas de las plantas de la medicina tradicional mexicana. Instituto Nacional Indigenista. México D.F. 2: 985-990. (1994).
- Ávalos A., Pérez-Urria E. Metabolismo secundario de plantas. Reduca, serie fisiología vegetal. 2: 119-145. (2009).
- Bello G., M. A. Plantas útiles no maderables de la sierra purépecha. Folleto técnico No. 10. Universidad de Michoacán, "San Nicolás Hidalgo". Michoacán, México. (1993).
- Bohlmann F., Zdero C., Grenz M.; Weitere Inhaltsstoffe aus südafrikanischen Senecio-Arten, Natürlich vorkommende Terpen-Derivate, Chemische Berichte Journals. 110: 474-486. (1977).
- Bruneton J.; Farmacognosia. Fitoquímica Plantas Medicinales. 2ª Edición Zaragoza. Ed. Acribia S. A. 1: 455-628. (2001).
- Centelles J. J., Imperial S; Paclitaxel, descubrimiento, propiedades y uso clínico. Fitoterapia. 29: 69-75. (2010).
- David J. Newman., Gordon M. Cragg, Natural Products as Sources of New Drugs from 1981 to 2014. Journal of Natural Products., 79: 629-661. (2016).
- Juárez V. M., Alonso C. A. J., Rojano V. N., Jiménez E. M., García C. A.; Maturin acetate from *Psacalium peltatum* (Kunth) Cass. (Asteraceae) induces immunostimulatory effects *in vitro* and *in vivo*, Toxicology in vitro. 27: 1001-1006. (2013).
- Klain G., Reifenrath E. and Blacj K. Distribution and metabolism of topically applied ethanolamine. Toxicological Sciences. 5: 127-133. (1985).
- McMurry J. Química orgánica, 7ª. edición., Cengage Learning., México D.F., (2008).

- Perentena L., González C., Celis B., Valbuena A., Colina M.; Síntesis de bases de Schiff derivadas del Quitosano por reacción con *p*-dimetilaminobenzaldehído y 4-hidroxi-3-metoxibenzaldehído. *Revista iberoamericana de polímeros*. 16: 1-27. (2015).
- Pérez C. A. L., Arciniegas R. C., Villaseñor J. L., Romo de Vivar A.; Furanoeremophilane derivatives from *Psacalium beamanii*, *Journal of the Mexican Chemical Society*, 48: 21-23. (2004).
- Pinder A. R., *Progress in the chemistry of organic natural products*. 34: 81-186. (1977).
- Rojano V. N., Hernández O. S., Jiménez E. M., Torres A. A.; Crystal structure of maturin acetate from *Psacalium peltatum* (Kunth), *The Japan Society for Analytical Chemistry*. 28: 75-76. (2012)
- Rojano V. N. A., Jiménez E. M., Nieto C. A., Torres A. A., Bye A. R., Chávez A. M. V., Canales M. M., Martínez E. K. S., Rodríguez M. M. A.; Isolation and anti-inflammatory effects of maturin acetate from the roots of *Psacalium peltatum* (Asteraceae), *Journal of Medicinal Plants Research*. 7: 1600-1607. (2013).
- Romo de Vivar A., Pérez C. A., Arciniegas A., Villaseñor J; Secondary Metabolites from Mexican Species of the Tribe Senecioneae (Asteraceae), *Journal of Mexican Chemical Society*. 51: 160-172. (2007).
- Ruiz-Reyes E., Suarez M.; Lactonas sesquiterpénicas. Diversidad estructural y sus actividades Biológicas, *Revista Cenic. Ciencias biológicas*, 46: 0253-5688. (2015).
- Sharapin N.; *Fundamentos de Tecnología de productos Fitoterapéuticos*; primera edición. Ed. Roberto Pinzón S; Santafé de Bogotá, D.C., Colombia. (2000).
- Vidal A. J., Síntesis de complejos de coordinación a partir de derivados de eremofilanos, Tesis. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, (2017).

Wagner K. H., Elmadfa I.; Biological Relevance of Terpenoids, *Annals of Nutrition & Metabolism*. 47: 95-106. **(2003)**.

Weeks, M. H., Downing T., Musselman, N. P., Carson T., and Groff W. The effect of continuous exposure of animals to ethanolamine vapour. *American Industrial Hygiene Association Journal*. 21: 374-381. **(1960)**.

Weissbach A. Sprinson D. The metabolism of 2-carbon compounds related to glycine. II. Ethanolamine. *Journal of Biological Chemistry*. 203: 1031-1037. **(1953)**.