



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS
DE HIDALGO**

FACULTAD DE QUÍMICO FARMACOBIOLOGÍA



**PREPARACIÓN DE DERIVADOS DE BORNEOL AISLADO DEL EXTRACTO
DE CLORURO DE METILENO DE LA RAÍZ DE *Eupatorium aff cardiophyllum***

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICO FARMACOBIOLOGO

PRESENTA:

ESAÚ NEFTALÍ HERNÁNDEZ REYNOSO

DIRECTORA:

D. C. ROSA ELVA NORMA DEL RIO TORRES

CODIRECTOR:

D.C. ERNESTO RAMÍREZ BRIONES

ÍNDICE

ÍNDICE.....	I
ÍNDICE DE FIGURAS	III
ÍNDICE DE ESQUEMAS.....	IV
RESUMEN	V
ABSTRACT	VI
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Terpenos	1
1.1.1. Funciones y utilidades de los terpenos	1
1.1.2. Origen de los terpenos	2
1.1.3. Clasificación de los terpenos	3
1.2. Monoterpenos, funciones y usos	3
1.2.1. Tipos de monoterpenos.....	4
1.2.1.1. Monoterpenos acíclicos	4
1.2.1.2. Monoterpenos cíclicos.....	4
1.2.1.2.1. Monoterpenos monocíclicos	4
1.2.1.2.2. Monoterpenos bicíclicos	6
2. ANTECEDENTES	8
3. JUSTIFICACIÓN.....	15
4. OBJETIVOS.....	16
4.1. Objetivo general	16
4.2. Objetivos específicos.....	16
5. PARTE EXPERIMENTAL.....	17
5.1. Generalidades	17
5.2. Materia vegetal	17
5.3. Obtención del extracto CH ₂ Cl ₂ de raíz.....	17
5.4. Obtención del <i>p</i> -cumarato de bornilo (1)	17
5.5. Obtención del borneol (5).....	18
5.6. Preparación de derivados de borneol (5).....	19
5.6.1. Alcanfor (6)	19
5.6.2. Acetato de bornilo (33).....	20
6. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	21
6.1. Tratamiento del material vegetal	21

6.2.	Extracto de cloruro de metileno de raíz.....	21
6.3.	Purificación del <i>p</i> -cumarato de bornilo (1).....	23
6.4.	Hidrólisis del <i>p</i> -cumarato de bornilo (1)	27
6.5.	Oxidación del borneol (5).....	30
6.6.	Acetilación del borneol (5).....	33
7.	CONCLUSIONES.....	35
8.	REFERENCIAS	36

ÍNDICE DE FIGURAS

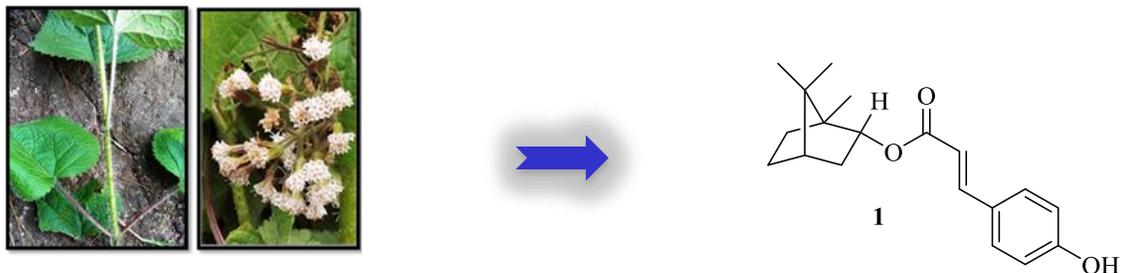
Figura 1. Precursores de los terpenos.....	2
Figura 2. Monoterpenos acíclicos.	4
Figura 3. Monoterpenos monocíclicos hidrocarbonados.....	5
Figura 4. Estereoisómeros del <i>p</i> -mentan-3-ol.	5
Figura 5. Cetonas de monoterpenos monocíclicos.....	6
Figura 6. Monoterpenos monocíclicos aromáticos.....	6
Figura 7. Ejemplos de monoterpenos bicíclicos.....	7
Figura 8. Compuestos aislados de <i>Eupatorium aff cardiophyllum</i>	9
Figura 9. Compuestos con actividad antiinflamatoria.....	9
Figura 10. Monoterpenos con actividad insecticida contra mosca común.....	14
Figura 11. Espectro de RMN de ¹ H a 400 MHz del extracto de CH ₂ Cl ₂ de raíz.	22
Figura 12. Espectro de RMN de ¹ H a 400 MHz del <i>p</i> -cumarato de bornilo (1).....	25
Figura 13. Espectro de RMN de ¹³ C a 100 MHz del <i>p</i> -cumarato de bornilo (1).	26
Figura 14. Espectro de RMN de ¹ H a 400 MHz del borneol (5).	28
Figura 15. Espectro de RMN de ¹³ C a 100 MHz del borneol (5).....	29
Figura 16. Espectro de RMN de ¹ H a 400 MHz del alcanfor (6).....	31
Figura 17. Espectro de RMN de ¹³ C a 100 MHz del alcanfor (6).....	32
Figura 18. Espectro de RMN de ¹ H a 400 MHz del acetato de bornilo (33).....	34

ÍNDICE DE ESQUEMAS

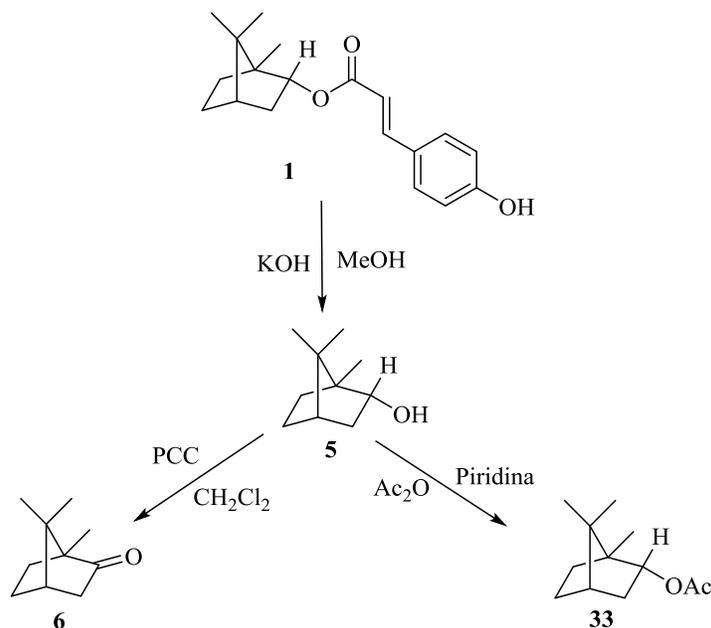
Esquema 1. Formación de mirceno a partir de unidades de isopreno.	2
Esquema 2. Síntesis clásica del alcanfor.	10
Esquema 3. Síntesis de derivados heterocíclicos de (-)-borneol.	10
Esquema 4. Síntesis de derivados heterocíclicos de (-)-isoborneol.	11
Esquema 5. Síntesis de ésteres de (-)-borneol.	11
Esquema 6. Síntesis de amidas de (+)-alcanfor.	12
Esquema 7. Oxidación de borneol (5) usando Oxone®.	12
Esquema 8. Posible mecanismo de oxidación con Oxone®.	13
Esquema 9. Hidrolisis básica del <i>p</i> -cumarato de bornilo (1).	27
Esquema 10. Oxidación del borneol (5).	30
Esquema 11. Acetilación del borneol (5).	33

RESUMEN

El presente trabajo describe el aislamiento del *p*-cumarato de borneol (**1**) de la raíz de *Eupatorium aff cardiophyllum*.



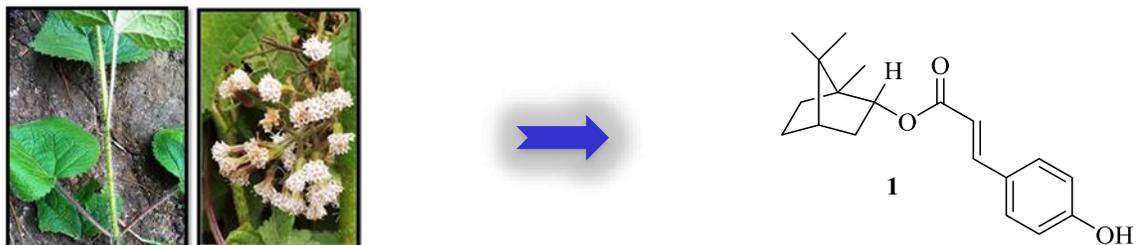
La obtención en buenos rendimientos del extracto de cloruro de metileno facilitó la preparación del compuesto **5** a partir de la hidrólisis básica del derivado **1**; la reactividad química de **5** se exploró frente a condiciones de oxidación con PCC y acetilación, logrando obtener el alcanfor (**6**) y acetato de borneol (**33**). La caracterización estructural de estos compuestos se realizó en base al análisis de sus datos espectroscópicos.



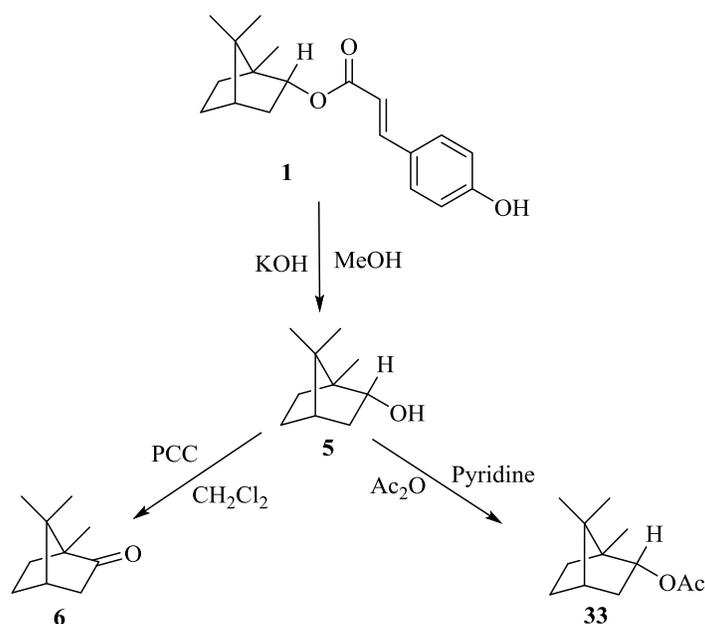
Palabras clave: *Eupatorium*, monoterpenos, borneol, alcanfor.

ABSTRACT

This work describes the isolation of the bornyl *p*-cumarate (**1**) from the root of *Eupatorium aff cardiophyllum*.



Obtaining in good yields of the methylene chloride extract, allowed the easy access to the compound **5** from the basic hydrolysis of derivative **1**. The chemical reactivity of **5** was explored against oxidation conditions with PCC and acetylation, thus achieving the obtention of the camphor (**6**) and bornyl acetate (**33**). The structural characterization of these compounds was carried out based on the analysis of their spectroscopic data.



Key words: *Eupatorium*, monoterpenes, borneol, camphor.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Terpenos

1.1.1. Funciones y utilidades de los terpenos

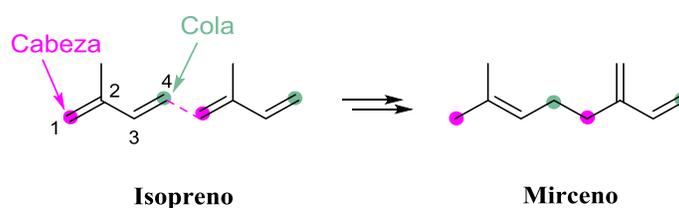
Los terpenos son una familia de moléculas orgánicas muy amplia y químicamente diversa que generalmente se encuentran formando parte de los aceites aromáticos que se obtienen por arrastre de vapor de las plantas, llamados aceites esenciales. Muchos de estos compuestos son volátiles y pueden encontrarse también en resinas, látex y ceras. A pesar de que los terpenos están presentes en todos los seres vivos alcanzan su mayor diversidad estructural y funcional en las plantas.¹

Los terpenos son el grupo más grande de productos naturales con más de 25000 compuestos identificados hasta 2014. Algunos de estos se encuentran involucrados directamente en el crecimiento y desarrollo de la planta como pigmentos y fitohormonas;² sin embargo, la mayoría se consideran metabolitos secundarios ya que su función está relacionada con las interacciones entre la planta y su ambiente. Aunque aún no se entienden por completo todas las funciones de los terpenos, se sabe que tienen una gran variedad de funciones para la salud y nutrición humana.³

Además de sus funciones en las plantas, los terpenos tienen un gran valor para la sociedad humana ya que se utilizan en distintas industrias como la cosmética, alimenticia, farmacéutica y muchos otros productos que se utilizan en la vida cotidiana. Algunos terpenos juegan papeles muy importantes como materiales industriales, como es el caso de las resinas y el caucho, los pigmentos y algunos otros son valorados por su demostrada toxicidad contra diversas plagas de insectos, haciéndolos excelentes candidatos para la formulación de insecticidas amigables con el ambiente.⁴ Otros tienen importancia en la industria alimentaria ya sea como agentes saborizantes por la amplia variedad de aromas y sabores, o como agentes nutracéuticos para el caso de las vitaminas A, D, E y K.⁵ En la industria farmacéutica, el Taxol®, se ha convertido en un importante medicamento en el tratamiento de pacientes con cáncer.⁶

1.1.2. Origen de los terpenos

A pesar de su gran diversidad estructural, los terpenos tienen un origen biosintético común, se derivan de la unión de unidades de isopentano (**Esquema 1**), también llamadas unidades de isopreno debido a que, a altas temperaturas, algunos terpenos se descomponen para liberar el gas isopreno. Los primeros investigadores reconocieron que muchos de los terpenos podrían construirse uniendo unidades de isopreno de cabeza a cola repetidamente, a este formalismo se le llama regla del isopreno. El término terpeno proviene de las palabras turpentine y terpentin, agarrás en inglés y alemán, respectivamente.⁷



Esquema 1. Formación de mirceno a partir de unidades de isopreno.

El isopreno no es realmente el precursor biológico de los terpenos. En la naturaleza, la biosíntesis de estas moléculas se lleva a cabo mediante dos rutas metabólicas distintas dependiendo del tipo de terpeno formado, la ruta del mevalonato que se lleva a cabo en el citosol y da origen a sesquiterpenos y triterpenos, y la ruta del 5-fosfato de 1-desoxixilulosa que tiene lugar en los cloroplastos y genera monoterpenos, diterpenos y tetraterpenos, a partir de dos estructuras equivalentes al isopreno, el difosfato de isopentilo y difosfato de dimetilalilo (**Figura 1**).⁸

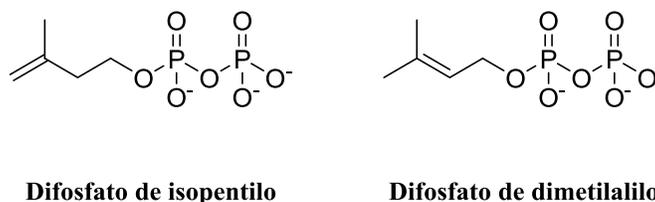


Figura 1. Precursores de los terpenos.

1.1.3. Clasificación de los terpenos

Los terpenos se clasifican según la cantidad de carbonos que contienen, los terpenos de 10 carbonos se consideraban los más pequeños de su clase y se les denominó monoterpenos, que significa un terpeno, lo que hizo necesario llamar a los terpenos formados únicamente por cinco carbonos como hemiterpenos, que significa medio terpeno; los terpenos de 15 carbonos se llaman sesquiterpenos, uno y medio terpeno; los de 20, diterpenos; los de 30, triterpenos, etc.⁹

1.2. Monoterpenos, funciones y usos

Los monoterpenos están formados por dos unidades de isopreno, son sustancias volátiles frecuentemente encontradas en los aceites esenciales de hierbas y especias aromáticas como albahaca (*Ocimum basilicum*), orégano (*Origanum vulgare*), menta (*Mentha spicata*), laurel (*Laurus nobilis*), eneldo (*Anethum graveolens*) y perejil (*Petroselinum crispum*), entre muchas otras, por lo que suelen tener un amplio uso como especias y en perfumes.¹⁰

Algunos de estos compuestos funcionan como sistemas de defensa de las plantas, a menudo se encuentran formando mezclas oleosas, adherentes o irritantes que evitan que los herbívoros se alimenten y que los patógenos las invadan. Se almacenan en las hojas y frutos y se volatilizan al triturar el tejido, por ejemplo, al ser masticado por los insectos. Algunas plantas como el maíz y el algodón responden al daño causado por los herbívoros liberando mezclas de monoterpenos y sesquiterpenos. Además de repeler a los insectos herbívoros, también son capaces de atraer depredadores naturales que controlen la plaga. Cuando las coníferas resultan dañadas secretan a través de sus ductos una resina constituida principalmente de monoterpenos y diterpenos, los primeros son malolientes y se evaporan rápidamente dejando atrás a los diterpenos adherentes.¹¹

El isopreno y muchos monoterpenos, en las plantas, parecen tener un efecto protector contra el estrés térmico y el estrés oxidativo. Además, son emitidos por muchas especies de plantas, en importantes cantidades y tienen un impacto significativo en los niveles de monóxido de carbono, ozono y otros gases en la atmósfera.¹²

1.2.1. Tipos de monoterpenos

Se conocen más de 1500 monoterpenos de estructuras variadas, acíclicas, monocíclicas y bicíclicas, en la naturaleza pueden encontrarse en forma de hidrocarburos, alcoholes, cetonas, aldehídos, ácidos carboxílicos y sus respectivos ésteres¹³.

1.2.1.1. Monoterpenos acíclicos

Entre los monoterpenos acíclicos conocidos se encuentran β -mirceno y *trans*- β -ocimeno que son constituyentes de varios aceites esenciales. Los alcoholes acíclicos monoterpénicos insaturados y sus aldehídos tienen un papel muy importante en la industria del perfume. Algunos de estos alcoholes y aldehídos más comunes son geraniol, citronelol, geranial y citronelal (**Figura 2**).

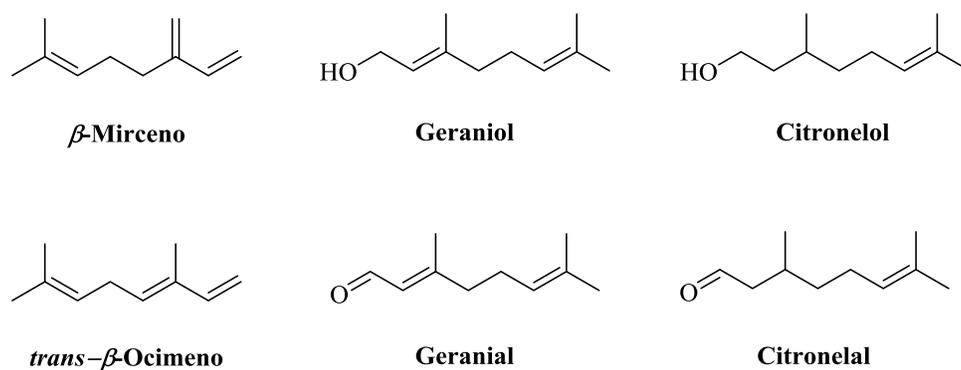


Figura 2. Monoterpenos acíclicos.

1.2.1.2. Monoterpenos cíclicos

Es probable que estas estructuras surjan de las reacciones de ciclización de los monoterpenos acíclicos seguidas de una serie de reordenamientos, estas reacciones dan origen a diversos monoterpenos monocíclicos y bicíclicos.¹⁴

1.2.1.2.1. Monoterpenos monocíclicos

Los monoterpenos de ciclohexano son un grupo químicamente muy diverso y se producen en las plantas como hidrocarburos, alcoholes, cetonas, hidrocarburos aromáticos y fenoles.¹⁵ Algunos ejemplos de estos compuestos son *trans*-*p*-menteno, un hidrocarburo

saturado constituyente del aguarrás y la resina de los pinos, (*R*)-(+)-limoneno (**Figura 3**), es un análogo insaturado del *p*-menteno, que se encuentra en los aceites de algunos cítricos.¹⁶

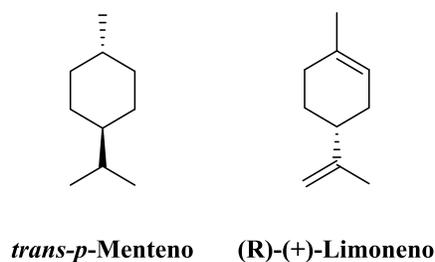


Figura 3. Monoterpenos monocíclicos hidrocarbonados.

Los alcoholes de monoterpeno de ciclohexano son de los más diversos ya que en la naturaleza se pueden encontrar cuatro pares de enantiómeros del *p*-mentan-3-ol (**Figura 4**) de los cuales el (-)-mentol es el más abundante.¹⁷

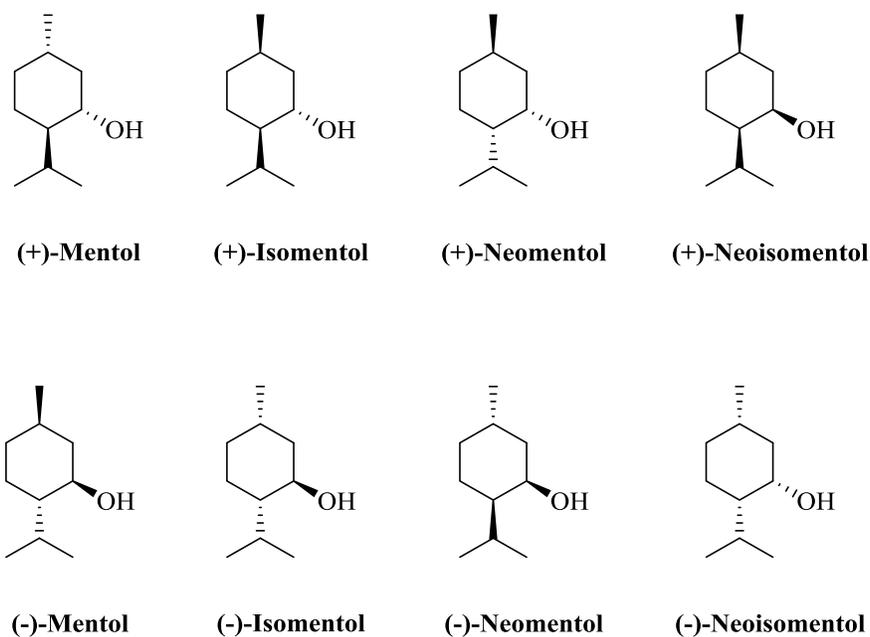


Figura 4. Estereoisómeros del *p*-mentan-3-ol.

Los productos de oxidación de estos alcoholes también se encuentran en la naturaleza, siendo el más abundante en el reino vegetal la (-)-mentona que se encuentra en los aceites de trementina y de algunas especies de *Mentha*. También se ha reportado la presencia de (-)-pulegona y (-)-piperitona en la resina de algunas plantas del género *Shorea* y en el aceite de eucalipto (*Eucalyptus globulus*), y (-)-carvona (**Figura 5**) se encuentra presente en el duramen del palo santo (*Bursera graveolens*).¹⁸

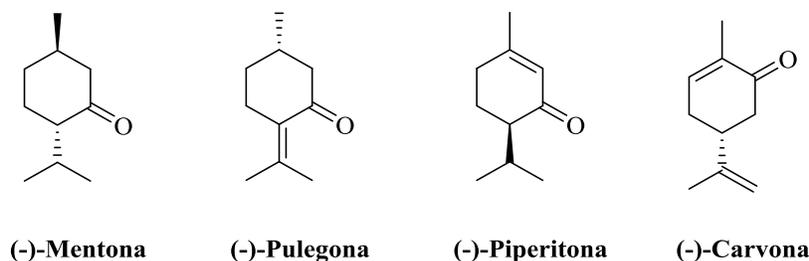


Figura 5. Cetonas de monoterpenos monocíclicos.

Los monoterpenos de benceno, conocidos como cimenos, son encontrados como constituyentes de plantas utilizadas como especias aromáticas, ejemplos de estos son el *p*-cimeno que se encuentra en los aceites de canela (*Cinnamomum verum*), eucalipto (*E. globulus*) y tomillo (*Thymus serpyllum*), el *m*-cimeno que se encuentra en el aceite de grosella negra (*Ribes nigrum*), el timol y carvacrol (**Figura 6**) que se han encontrado en los aceites de muchas plantas, como tomillo (*Thymus serpyllum*) y mejorana (*Origanum majorana*).³

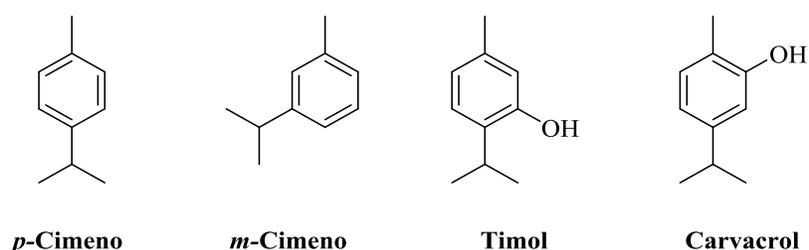


Figura 6. Monoterpenos monocíclicos aromáticos.

1.2.1.2.2. Monoterpenos bicíclicos

Se pueden encontrar en la naturaleza análogos bicíclicos de estos monoterpenos, con ciclopropano, ciclobutano y ciclopentano en su estructura. Los monoterpenos bicíclicos que contienen ciclopropano se dividen en dos tipos, carano y tujano, que están representados por

(+)-3-careno y (-)-3-tujeno, respectivamente. Los que contienen ciclobutano son del tipo pinano, estos se encuentran en las maderas de los pinos y los más abundantes son α -pineno y β -pineno. Dentro de los monoterpenos bicíclicos con ciclopentano se encuentran los de tipo canfano o bornano, como (+)-borneol, (-)-isoborneol y (+)-alcanfor, los de tipo isocanfano como canfeno y los de tipo fenchano, como (-)-fenchona y (+)-fenchona (**Figura 7**).¹⁹

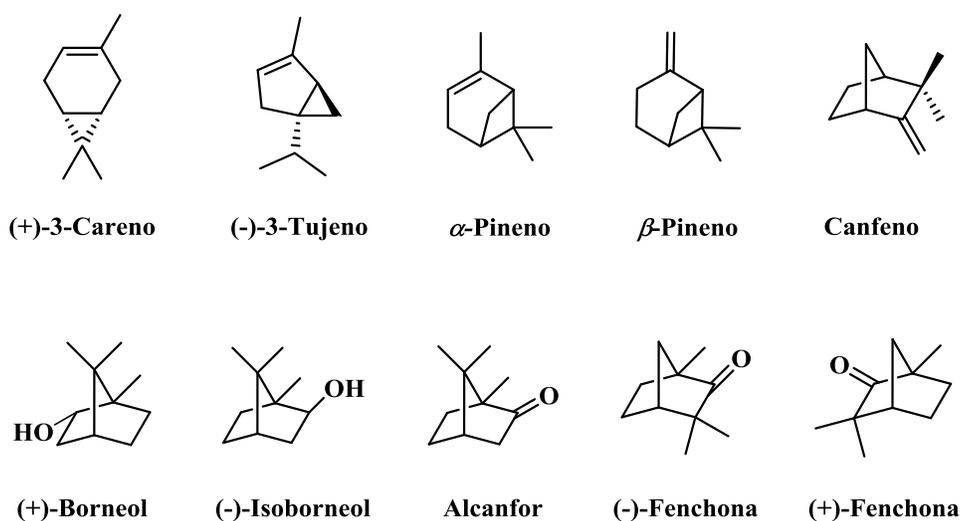


Figura 7. Ejemplos de monoterpenos bicíclicos.

2. ANTECEDENTES

Eupatorium es un género cosmopolita de la familia Asteraceae, comprende casi 1200 especies que se distribuyen principalmente en América tropical, Europa, África y Asia.²⁰

Existen reportes de especies que presentan cierta toxicidad para los animales de pastoreo, observándose que la ingesta de leche de animales criados en pastizales dominados por *E. rugosum* pueden causar enfermedades en los seres humanos. Sin embargo, el género *Eupatorium* se ha usado durante décadas por sus propiedades medicinales, existiendo reportes de una serie de productos naturales bioactivos en los extractos del género, lo que indica que es un recurso biológico prometedor para la preparación de medicamentos y productos de valor agregado.²¹

En el género *Eupatorium* se han identificado más de 300 compuestos siendo característico la presencia de flavonoides, alcaloides de pirrolizidina, lactonas sesquiterpénicas, fenilpropanoides, quininoïdes, aceites esenciales entre otros, los cuales son interesantes por su uso en la medicina tradicional debido a sus propiedades toxicológicas y farmacológicas, como la actividad antioxidante, antigonorreica, citostática, citotóxica, antimicótica, insecticida, antibacteriana, antiinflamatoria y anticonceptivas.^{20, 22}

Varias especies de *Eupatorium* parecen tener un gran potencial para una investigación profunda de las actividades antimicrobiana y antifúngica. Muchas especies tienen un amplio uso popular, con la confirmación científica de sus propiedades antimicrobianas, lo que hace que estas plantas sean fuentes potenciales de tratamientos más seguros y efectivos.²³

Se identificaron 69 especies de *Eupatorium* que se distribuyen en el 69% del territorio del estado de Michoacán; del total de estas especies, diez son utilizadas en la medicina tradicional mexicana. Un análisis preliminar de los extractos hexánicos de las flores de nueve especies de *Eupatorium* determinó la presencia de terpenos y crómenos como las familias químicas principales.²⁴ Mientras que el primer estudio fitoquímico realizado a *Eupatorium aff cardiophyllum*, a partir de un extracto hexánico de tallo, mostró como resultados el aislamiento e identificación del *p*-cumarato de bornilo (**1**) como compuesto mayoritario y como compuestos minoritarios al ácido *ent*-kaur-16-en-19-oico (**2**) y el 3 β -friedelinol (**3**) (**Figura 8**), que se caracterizaron por RMN.²⁵

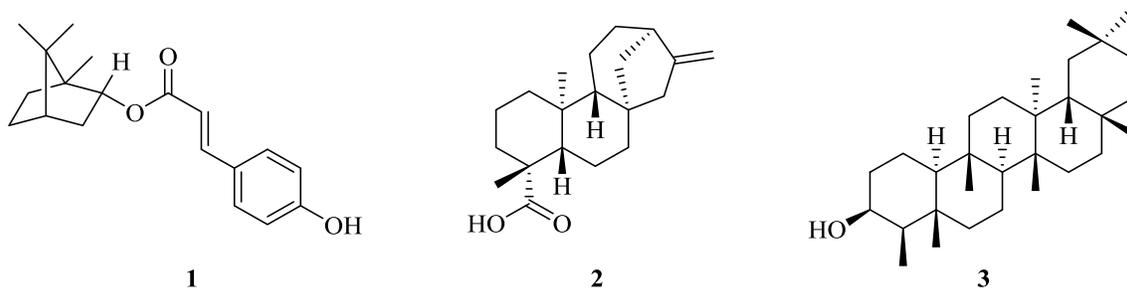


Figura 8. Compuestos aislados de *Eupatorium aff cardiophyllum*.

Los compuestos volátiles 1,8-cineol (4), borneol (5), alcanfor (6) y β -tujona (7) (Figura 9) identificados en la infusión de las hojas de *Salvia officinalis* demostraron actividad antiinflamatoria en problemas bucales y garganta, en particular cuando es aplicada localmente.²⁶

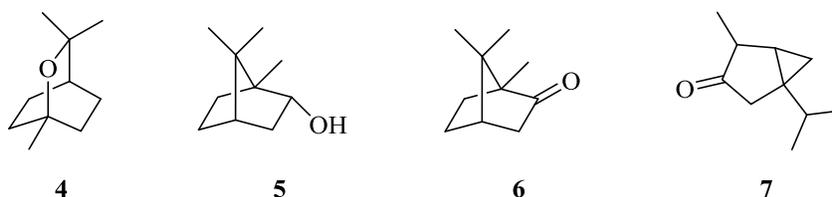
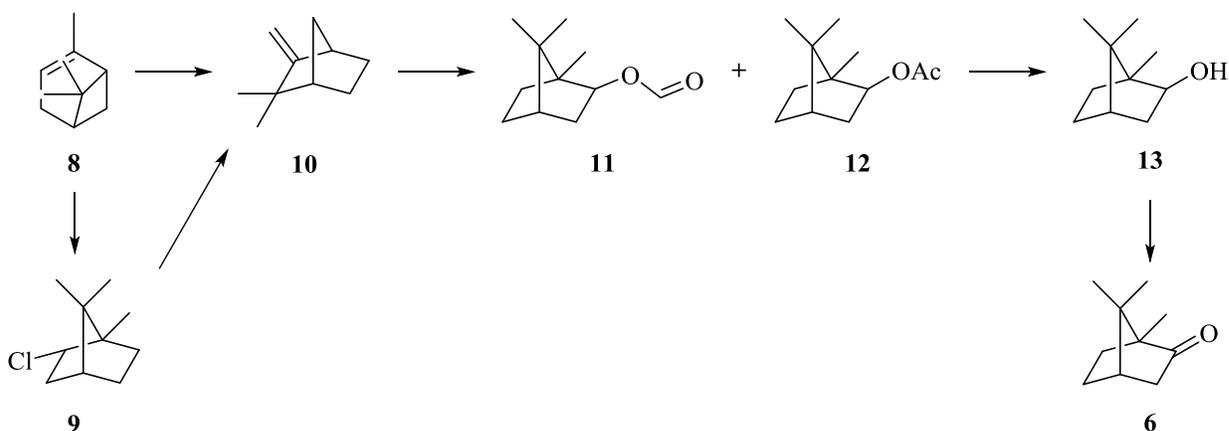


Figura 9. Compuestos con actividad antiinflamatoria.

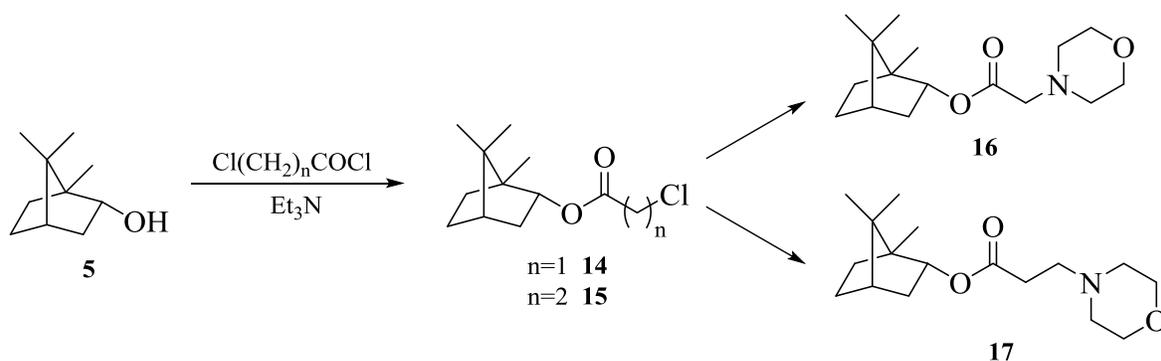
El alcanfor (6) es usado en la medicina tradicional, como condimento y en ceremonias religiosas. Presenta propiedades características de las cetonas, puede ser reducido y generar dos alcoholes estereoisoméricos el borneol (5) y el isoborneol (13). El mismo alcanfor posee dos carbonos asimétricos y debido a esta quiralidad se conocen (-)-alcanfor y (+)-alcanfor. Diferentes síntesis del alcanfor (Esquema 2) se han reportado dada su importancia industrial.²⁷



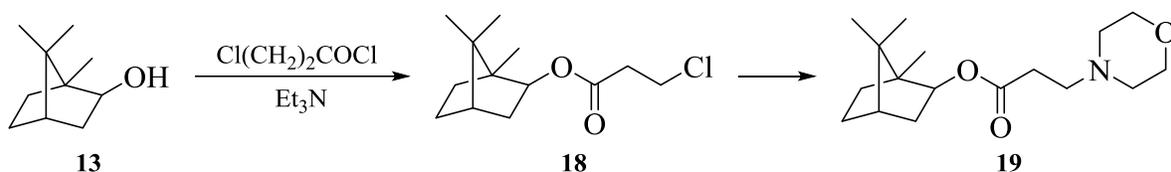
Esquema 2. Síntesis clásica del alcanfor.

La preparación de alcanfor (**6**) mediante la oxidación de isoborneol (**13**) y borneol (**5**) usando como agente oxidante el reactivo de Jones ofrece buenos rendimientos y el producto no está contaminado con las materias primas; y la reducción del alcanfor (**6**) con borohidruro de sodio proporciona un isómero cuya estereoquímica puede ser establecida por correlación química.²⁸

Sokolova y colaboradores diseñaron y sintetizaron una serie de nuevos derivados heterocíclicos nitrogenados de (-)-borneol (**5**) (**Esquema 3**) y (-)-isoborneol (**13**) (**Esquema 4**) como potentes inhibidores del virus de la influenza A. Analizaron la toxicidad de los compuestos contra las células MDCK y la actividad inhibidora contra el virus de la influenza A/Puerto Rico/8/34 (H1N1). Los compuestos **16**, **17** y **19** que contenían el grupo morfolina exhibieron la mayor efectividad contra el virus de la influenza A (H1N1) con los índices de selectividad de 82, 45 y 65, respectivamente.²⁹

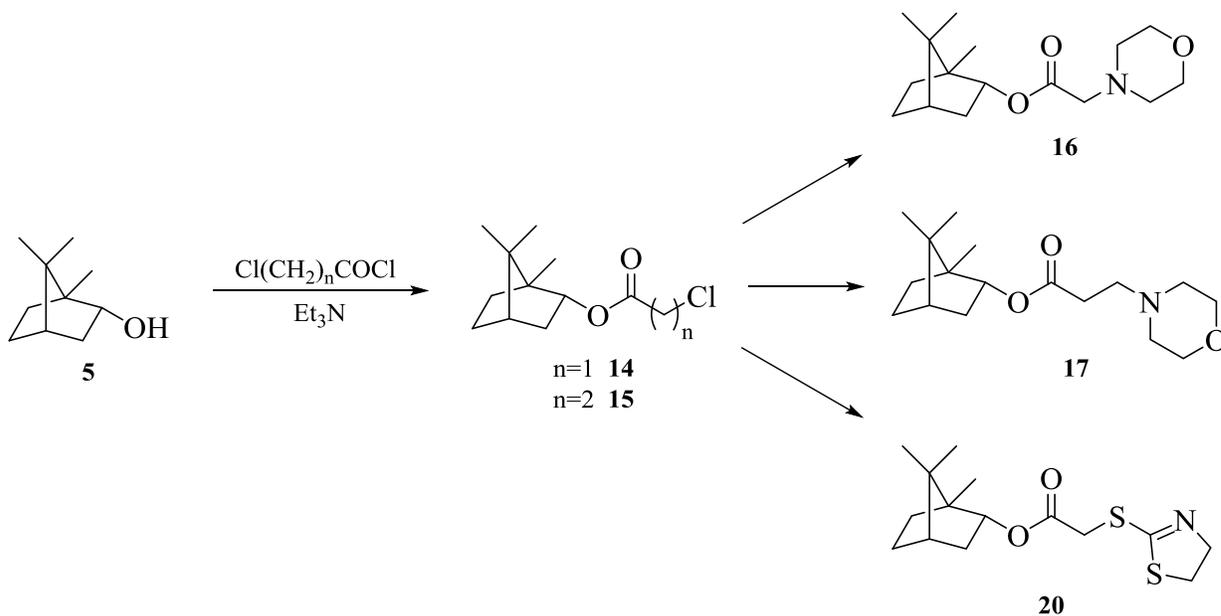


Esquema 3. Síntesis de derivados heterocíclicos de (-)-borneol.

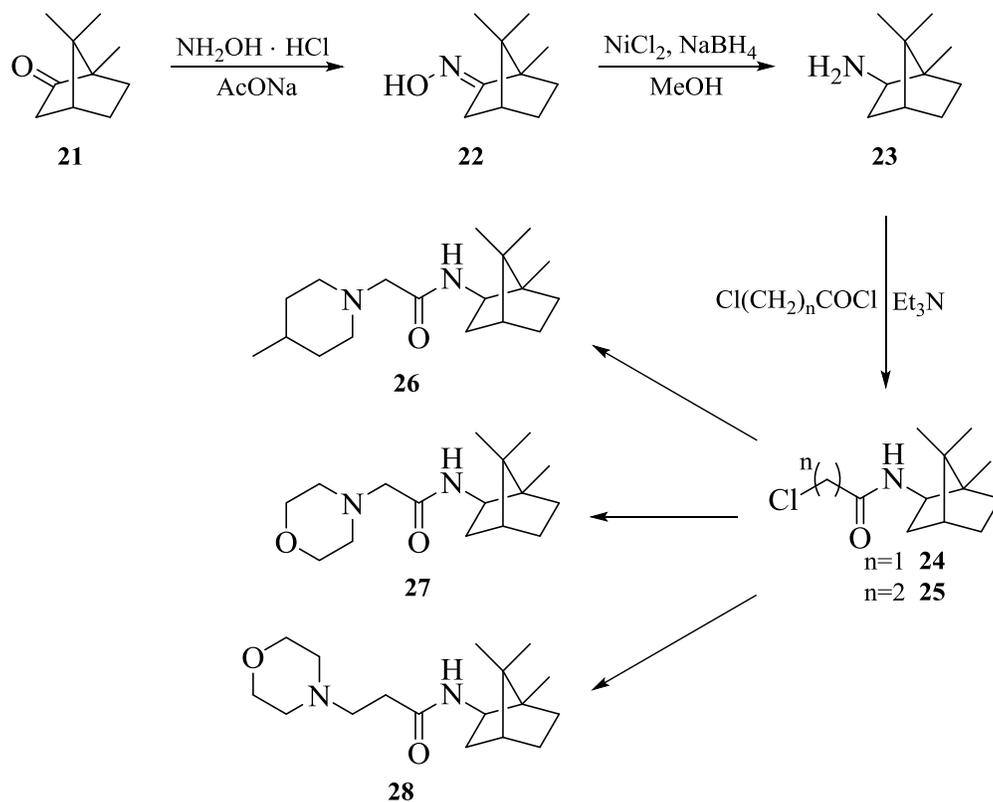


Esquema 4. Síntesis de derivados heterocíclicos de (-)-isoborneol.

También Sokolova y colaboradores diseñaron y sintetizaron una serie de ésteres derivados del (-)-borneol (**Esquema 5**) y amidas de (+)-alcanfor (**Esquema 6**), con heterociclos de N. El ensayo biológico mostro que los compuestos **16**, **17**, **20**, **26**, **27** y **28** contienen la mayor actividad inhibitoria contra el virus vaccinia con índices de selectividad de 36, 56, 48, 34, 40 y 63, respectivamente. El estudio de relación estructura-actividad sugiere que la combinación de un N-heterociclo como la morfolina o la 4-metilpiperidina y un esqueleto de 1,7,7-trimetilbiciclo [2.2.1] heptano favorece la actividad antiviral.³⁰

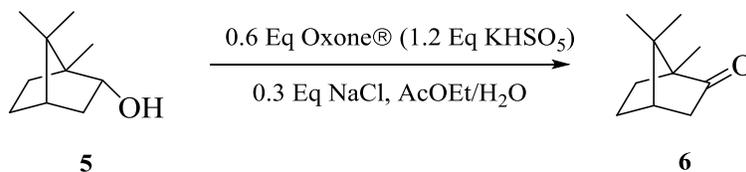


Esquema 5. Síntesis de ésteres de (-)-borneol.

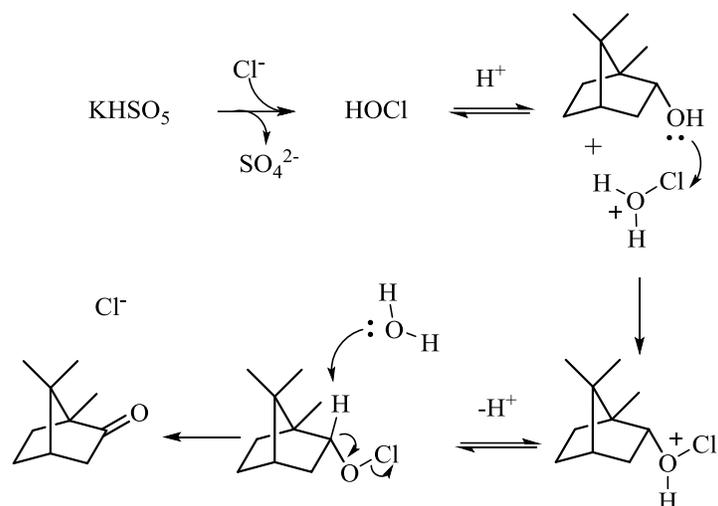


Esquema 6. Síntesis de amidas de (+)-alcanfor.

Un nuevo procedimiento de oxidación verde fue desarrollado para laboratorios de enseñanza en química orgánica de pregrado utilizando Oxone® y una cantidad catalítica de cloruro de sodio para la conversión de borneol (**5**) a alcanfor (**6**) (**Esquema 7**). Esta simple reacción a temperatura ambiente durante 1 h proporcionó un alto rendimiento del producto, cuidando el medio ambiente y produciendo cantidades insignificantes de residuos peligrosos. Incluyendo el uso de reactivos no tóxicos y una materia prima de una fuente renovable, disolventes amigables con el medio ambiente, cantidades catalíticas de reactivos y un requerimiento mínimo de energía.³¹



Esquema 7. Oxidación de borneol (**5**) usando Oxone®.



Esquema 8. Posible mecanismo de oxidación con Oxone®.

Wang y colaboradores utilizaron látex para atrapar aceite de alcanfor mediante el método de polimerización en miniemulsión y lograron preparar una dispersión del aceite en látex con un tamaño de partícula de 89.4 nm, con una gran estabilidad que evita la volatilidad del compuesto y con un excelente control de liberación del alcanfor.³²

La actividad insecticida de 42 monoterpenos puros, borneol (**5**) y alcanfor (**6**) entre otros, fue evaluada contra adultos de mosca común (*Musca domestica*). Las pruebas de fumigación revelaron que *p*-cimeno (**32**), terpinoleno, (±)-mentol, timol, carvacrol, (-)-carvona, (+)-alcanfor, (+)-pulegona (**29**), (-)-mentona, citral (**31**), (±)-citronelal, cuminaldehído y acetato de citronelilo mostraron una fuerte actividad insecticida; sin embargo, las toxicidades más altas contra las moscas las tienen los compuestos (+)-pulegona (**29**), cuminaldehído (**30**), citral (**31**), y *p*-cimeno (**32**) con valores de CL₅₀ de 0.26, 0.60, 0.74, y 0.77 μL/L, respectivamente, por lo que estos compuestos son potencialmente nuevos insecticidas naturales (**Figura 10**).³³

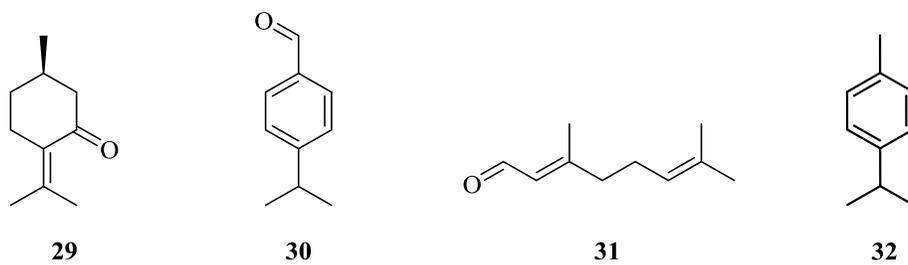


Figura 10. Monoterpenos con actividad insecticida contra mosca común.

3. JUSTIFICACIÓN

Los monoterpenos son una clase de compuestos que poseen interesantes actividades biológicas. Al ser las especies del género *Eupatorium* una fuente de este tipo de metabolitos resulta interesante explorar la reactividad del *p*-cumarato de bornilo (**1**) aislado de *Eupatorium aff cardiophyllum* y preparar derivados del borneol (**5**).

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo general

Aislar el *p*-cumarato de bornilo (**1**) de la raíz de *Eupatorium aff cardiophyllum* y ensayar su reactividad química.

4.2. Objetivos específicos

- Obtener el extracto de cloruro de metileno de la raíz de *Eupatorium aff cardiophyllum*.
- Aislar el *p*-cumarato de bornilo (**1**) mediante cromatografía en columna.
- Obtener el borneol (**5**) mediante la hidrólisis del *p*-cumarato de bornilo (**1**).
- Explorar las reacciones de oxidación y esterificación del borneol (**5**), para la preparación de sus derivados respectivos.
- Caracterizar los productos por RMN.

5. PARTE EXPERIMENTAL

5.1. Generalidades

La purificación de los compuestos se realizó por medio de columnas cromatográficas usando gel de sílice de la marca MERCK con tamaño de poro 230-400 como fase estacionaria y mezclas de hexanos:AcOEt como fase móvil.

Los puntos de fusión fueron determinados con el equipo Fisher Scientific y no están corregidos.

El análisis espectroscópico de resonancia magnética nuclear de ^1H a 400 MHz y de ^{13}C a 100 MHz se realizó en un espectrómetro Varian Mercury Plus 400. Se utilizó CDCl_3 como disolvente y como referencia interna TMS. Los espectros obtenidos se procesaron mediante el programa MestReNova 12.

5.2. Materia vegetal

La planta *Eupatorium aff cardiophyllum* se colectó a la orilla de la carretera Tiripetío-Villa Madero en el km 21, en el estado de Michoacán, a $19^\circ 23,965'$ latitud y $101^\circ 17,911'$ longitud y una altitud de 2,124 metros sobre el nivel del mar, en octubre del 2015. Fue identificada taxonómicamente por el D.C. Jerzy Rzedowski del Herbario del Instituto de Ecología A.C. en Pátzcuaro, Michoacán, México.

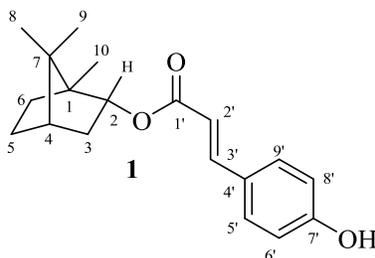
5.3. Obtención del extracto CH_2Cl_2 de raíz

La planta se secó a la sombra a temperatura ambiente, se separó en sus órganos, las raíces se molieron y se colocaron en maceración con cloruro de metileno durante tres días y se evaporó el disolvente en rotavapor. El proceso se realizó tres veces para obtener el extracto total.

5.4. Obtención del *p*-cumarato de bornilo (1)

El extracto de cloruro de metileno de raíz (4 g) se fraccionó en columna cromatográfica de 2 cm de diámetro, usando como fase estacionaria 12 cm de gel de sílice y como fase móvil mezclas de hexanos:AcOEt en polaridades ascendentes, la cromatografía

en columna se monitoreó mediante cromatografía en placa fina utilizando el mismo sistema de disolventes. De las fracciones 48-50 obtenidas con la polaridad 4:1 se obtuvo un sólido amarillo correspondiente al *p*-cumarato de bornilo (**1**) con un punto de fusión de 150-152 °C.

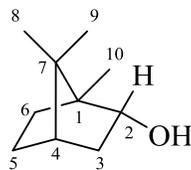


RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 7.63 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-3'), 7.43 (2H, d, $J = 8.6$ Hz, H-5' y H-9'), 7.15 (1H, s, OH), 6.88 (2H, d, $J = 8.6$ Hz, H-6' y H-8'), 6.33 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-2'), 5.01 (1H, ddd, $J = 9.9, 3.3, 2.1$ Hz, H-2), 2.42 (1H, m, H-3_{endo}), 2.04 (1H, m, H-6_{exo}), 1.77 (1H, m, H-5_{exo}), 1.71 (1H, t, $J = 4.4$ Hz, H-4), 1.32 (2H, m, H-5_{endo}, H-6_{endo}), 1.06 (1H, dd, $J = 13.7, 3.3$ Hz, H-3_{exo}), 0.93 (3H, s, CH_3 -8), 0.89 (3H, s, CH_3 -9), 0.88 (3H, s, CH_3 -10).

RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ ppm 168.6 (C, C-1'), 158.4 (C, C-7'), 144.7 (CH, C-3'), 130.0 (2 CH, C-5' y C-9'), 126.7 (C, C-4'), 115.9 (2 CH, C-6' y C-8'), 115.5 (CH, C-2'), 80.3 (CH, C-2), 48.9 (C, C-7), 47.8 (C, C-1), 44.9 (CH, C-4), 36.8 (CH_2 , C-3), 28.0 (CH_2 , C-5), 27.2 (CH_2 , C-6), 19.7 (CH_3 , C-9), 18.8 (CH_3 , C-8), 13.5 (CH_3 , C-10).

5.5. Obtención del borneol (**5**)

A una solución de 93 mg del *p*-cumarato de bornilo (**1**) en 1.5 mL de metanol se le adicionaron 120 mg de KOH disueltos en 2 mL de agua, la mezcla de reacción se mantuvo en agitación por 2 h a temperatura ambiente. Pasado este tiempo la reacción se extrajo con AcOEt, se lavó con agua y se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, el disolvente se evaporó en rotavapor, obteniendo un sólido blanco correspondiente al borneol (**5**) con un punto de fusión de 205-207 °C.



5

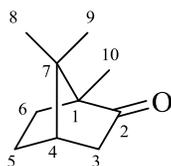
RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 4.01 (1H, dd, $J = 10.0, 3.4$, Hz, H-2), 2.28 (1H, dddd, $J = 13.4, 10.0, 4.6, 3.4$ Hz, H-4), 1.89 (1H, m, H-3 $_{endo}$), 1.71 (1H, m, H-3 $_{exo}$), 1.63 (1H, t, $J = 4.6$ Hz, H-5 $_{endo}$), 1.45 (1H, s, OH), 1.25 (2H, m, H-5 $_{exo}$ y H-6 $_{endo}$), 0.94 (1H, dd, $J = 13.4, 3.4$ Hz, H-6 $_{exo}$), 0.87 (3H, s, CH_3 -8), 0.86 (3H, s, CH_3 -9), 0.85 (3H, s, CH_3 -10).

RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ ppm 77.4 (CH, C-2), 49.5 (C, C-1), 48.0 (C, C-7) 45.0 (CH, C-4), 39.0 (CH_2 , C-3) 28.2 (CH_2 , C-5), 25.9 (CH_2 , C-6), 20.2 (CH_3 , C-9), 18.7 (CH_3 , C-8), 13.3 (CH_3 , C-10).

5.6. Preparación de derivados de borneol (5)

5.6.1. Alcanfor (6)

A una suspensión de 1.746 g (2.5 Eq) de PCC en 5 mL de CH_2Cl_2 , se adicionaron 500 mg de borneol (5) disueltos en 0.5 mL de CH_2Cl_2 , la mezcla se dejó reaccionar a temperatura ambiente durante 2 h con agitación constante, el crudo de reacción se impregnó directamente en gel de sílice y se sometió a purificación mediante cromatografía en columna utilizando hexanos como fase móvil, obteniendo un sólido blanco con punto de fusión de 177-179 °C, correspondiente al alcanfor (6).



6

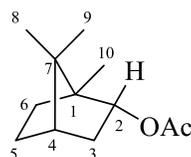
RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 2.36 (1H, dt, $J = 18.2, 4.3$ Hz, H-3 $_{exo}$), 2.10 (1H, t, $J = 4.3$ Hz, H-4), 1.96 (1H, m, H-5 $_{exo}$), 1.85 (1H, d, $J = 18.2$ Hz, H-3 $_{endo}$), 1.68 (1H,

m, H-6*exo*), 1.39 (2H, m, H-5*endo* y H-6*endo*), 0.96 (3H, s, CH₃-9), 0.91 (3H, s, CH₃-10), 0.84 (3H, s, CH₃-8).

RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ ppm 219.6 (C, C-2), 57.6 (C, C-7), 46.7 (C, C-1), 43.2 (CH₂, C-3), 42.9 (CH, C-4), 29.8 (CH₂, C-6), 26.9 (CH₂, C-5), 19.7 (CH₃, C-9), 19.0 (CH₃, C-10), 9.1 (CH₃, C-8).

5.6.2. Acetato de bornilo (33)

A una solución de 100 mg de borneol (5) en 0.5 mL de piridina, se adicionó 1 mL de anhídrido acético, la mezcla se dejó reaccionar en agitación a temperatura ambiente por 3 h después de este tiempo la reacción se extrajo con AcOEt, se realizaron tres lavados con una solución de HCl al 10%, tres con agua, tres con solución saturada de NaHCO₃ y nuevamente tres lavados con agua, se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró en rotavapor obteniendo un sólido blanco correspondiente al acetato de bornilo (33).



33

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 4.88 (1H, d, $J = 9.5$ Hz, H-2), 2.35 (1H, m, H-4), 2.06 (3H, s, CH₃-OAc), 1.94 (1H, m, H-3*endo*), 1.74 (1H, m, H-3*exo*), 1.68 (1H, m, H-5*endo*) 1.26 (2H, m, H-5*exo* y H-6*endo*), 0.97 (1H, dd, $J = 13.5, 3.6$ Hz, H-6*exo*), 0.90 (3H, s, CH₃-8), 0.87 (3H, s, CH₃-9), 0.83 (3H, s, CH₃-10).

6. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

6.1. Tratamiento del material vegetal

La planta *Eupatorium* aff *cardiophyllum* se colectó a las orillas de la carretera Tiripetío-Villa Madero en el km 21, en el Estado de Michoacán. Se separó en sus órganos y se dejó secar a la sombra, se molieron las raíces y se maceraron con cloruro de metileno durante tres días, se filtró y se evaporó el disolvente en rotavapor para obtener el extracto total, como una miel café oscura. El mismo material vegetal se sometió a este proceso en tres ocasiones.

6.2. Extracto de cloruro de metileno de raíz

Una muestra del extracto total de cloruro de metileno de raíz, se analizó por RMN de ^1H (**Figura 11**) y el espectro mostró señales abundantes en la región de los hidrógenos aromáticos, así como en la zona de los metilos alifáticos, lo que permite inferir que el compuesto mayoritario, corresponde al *p*-cumarato de bornilo (**1**), previamente reportado en esta especie, del extracto hexánico de tallos.²⁵

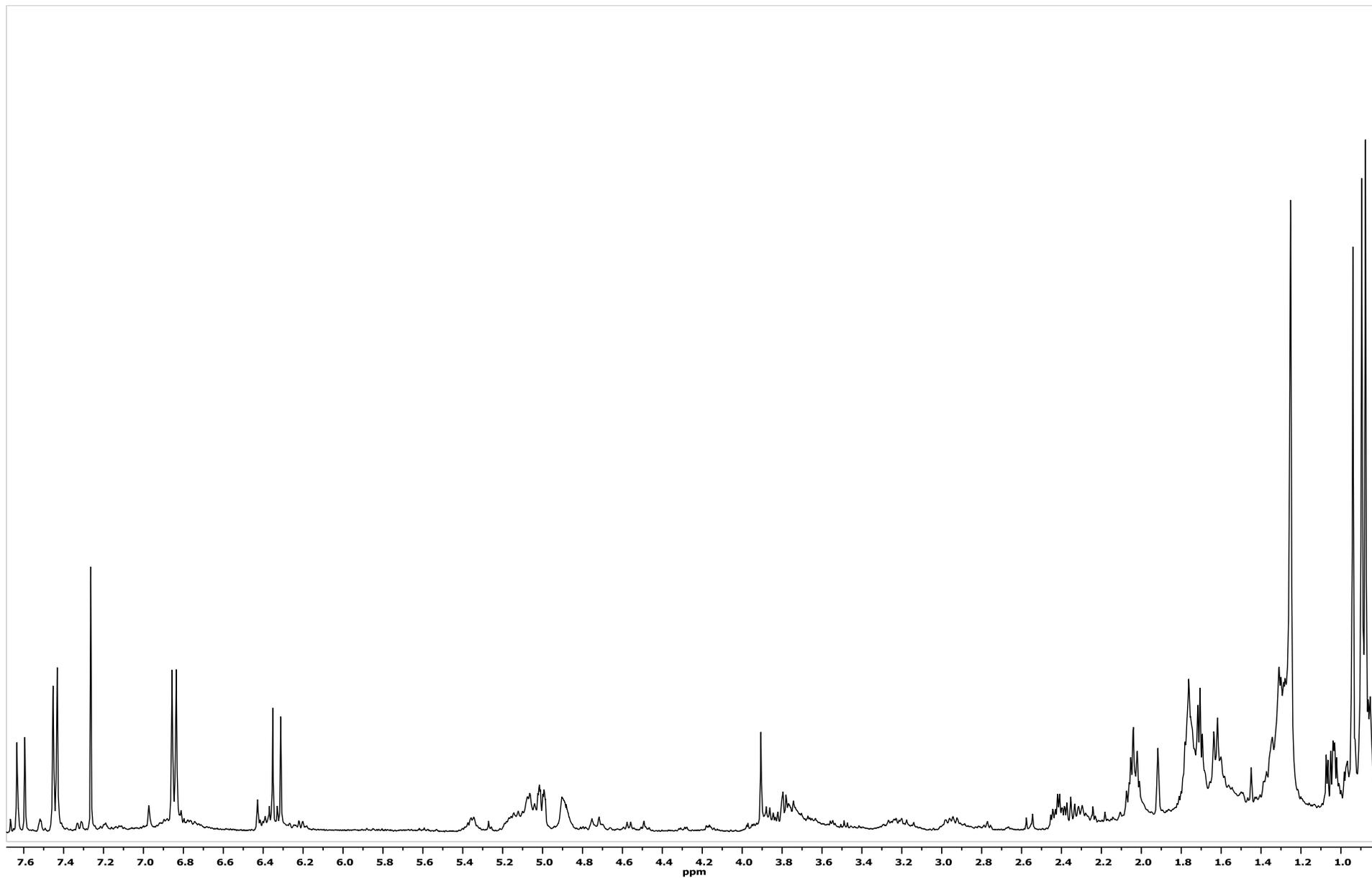


Figura 11. Espectro de RMN de ^1H a 400 MHz del extracto de CH_2Cl_2 de raíz.

6.3. Purificación del *p*-cumarato de bornilo (1)

En una columna de vidrio de 2 cm de diámetro empacada con gel de sílice de malla 230-400 hasta una altura de 12 cm se colocaron 4 g de extracto de cloruro de metileno de raíz, previamente impregnados en el mismo tipo de soporte y se eluyó con mezclas de hexanos:AcOEt en polaridades ascendentes, obteniéndose un total de 74 fracciones que fueron monitoreadas mediante cromatografía en placa fina utilizando el mismo sistema de disolventes.

Polaridad	Volumen (mL)	Fracciones
95:5	300	1 - 18
9:1	300	19 - 38
4:1	300	39 - 56
7:3	300	57 - 74

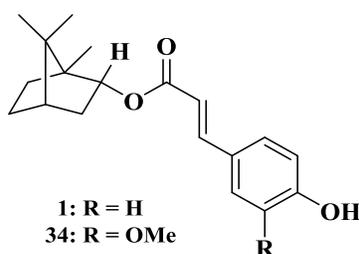
En las fracciones 48-50 obtenidas con la polaridad 4:1 hexanos:AcOEt se obtuvo un sólido amarillo con un pf. de 150-152 °C que se analizó por RMN de ^1H y ^{13}C .

En el espectro de RMN de ^1H (**Figura 12**) se observa en 7.43 y 6.88 ppm las señales dobles características de un sistema de benceno *p*-sustituido con $J = 8.6$ Hz, correspondientes a los protones bencílicos H-5', H-9' y H-6', H-8', respectivamente. En 7.63 y 6.33 ppm se encuentran las señales dobles con $J = 15.9$ Hz características de los hidrógenos vinílicos H-3' y H-2', indicando la presencia de un doble enlace con configuración *trans*. En 7.15 ppm se localiza la señal correspondiente al hidroxilo fenólico y en 5.01 ppm se puede ver la señal doble de dobles de dobles con $J = 9.9, 3.3, 2.1$ Hz característica del protón base de éster correspondiente al H-2. En 2.42 ppm se encuentra la señal del H-3*endo*, mientras que desplazada en 2.04 ppm se encuentra una señal múltiple que corresponde al H-6*exo*. La señal del H-5*exo* se observa en 1.77 ppm, en 1.71 ppm; se encuentra la señal triple con $J = 4.4$ Hz, correspondiente al H-4. Con un desplazamiento de 1.32 ppm se aprecia una señal múltiple correspondiente a los hidrógenos H-5*endo* y H-6*endo*, la señal doble de dobles que se

encuentra en 1.06 ppm con $J = 13.7, 3.3$ Hz corresponde al H-3 $_{exo}$. Por último, se encuentran señales en 0.92, 0.89 y 0.88 ppm correspondientes a los metilos terciarios CH₃-8, CH₃-9 y CH₃-10, respectivamente.

En el espectro de RMN de ¹³C (**Figura 13**) se observa un desplazamiento en 168.6 ppm de una señal correspondiente al carbonilo del éster C-1', en 158.4 ppm la señal del carbono base de fenol C-7'. Las señales de los carbonos vinílicos C-3' y C-2' se observan en 144.7 y 115.5 ppm, respectivamente. Las señales para los carbonos correspondientes al anillo de benceno se ubican en 130.0 ppm para C-5' y C-9'. En 115.9 ppm se aprecian las señales asignadas para C-6' y C-8', y en 126.7 ppm para C-4'. En 80.3 ppm se encuentra la señal del C-2 del esqueleto de bornilo, el resto de señales que se encuentran entre 48.9 y 13.5 ppm corresponden al resto de este esqueleto.

Hernández y colaboradores, en 1986 aislaron por primera vez al *p*-cumarato de bornilo (**1**) del extracto de acetato de etilo de las raíces de *Eupatorium deltoideum*, siendo elucidada su estructura por comparación de los espectros de RMN de ¹³C del acetato de bornilo y del ácido *p*-cumárico, adicionalmente aislaron el ferulato de bornilo (**34**).³⁴ De *Heliopsis longipes* fue aislado el decatrienato de bornilo por Molina-Torres y colaboradores en 1995.³⁵



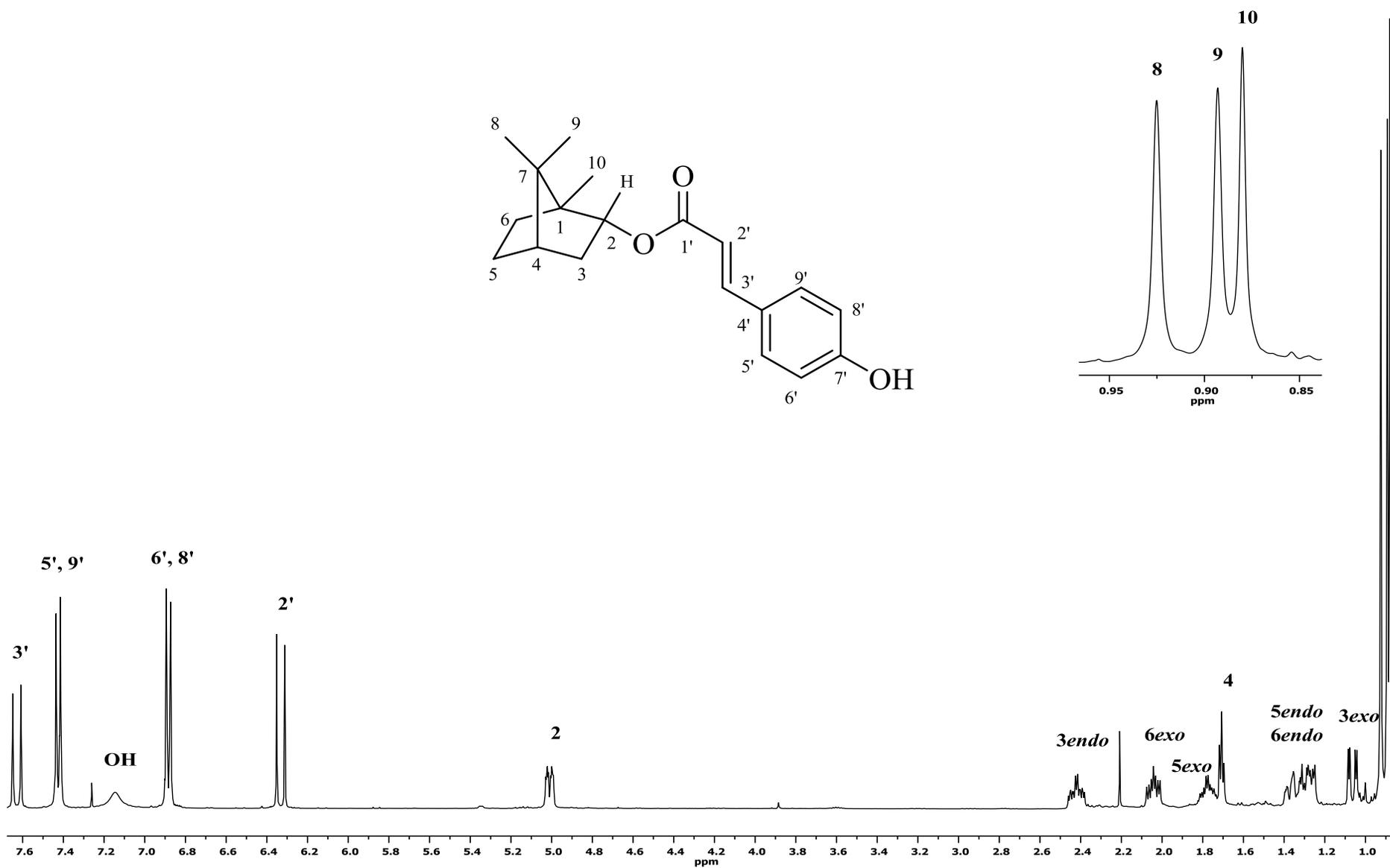


Figura 12. Espectro de RMN de ¹H a 400 MHz del *p*-cumarato de bornilo (1).

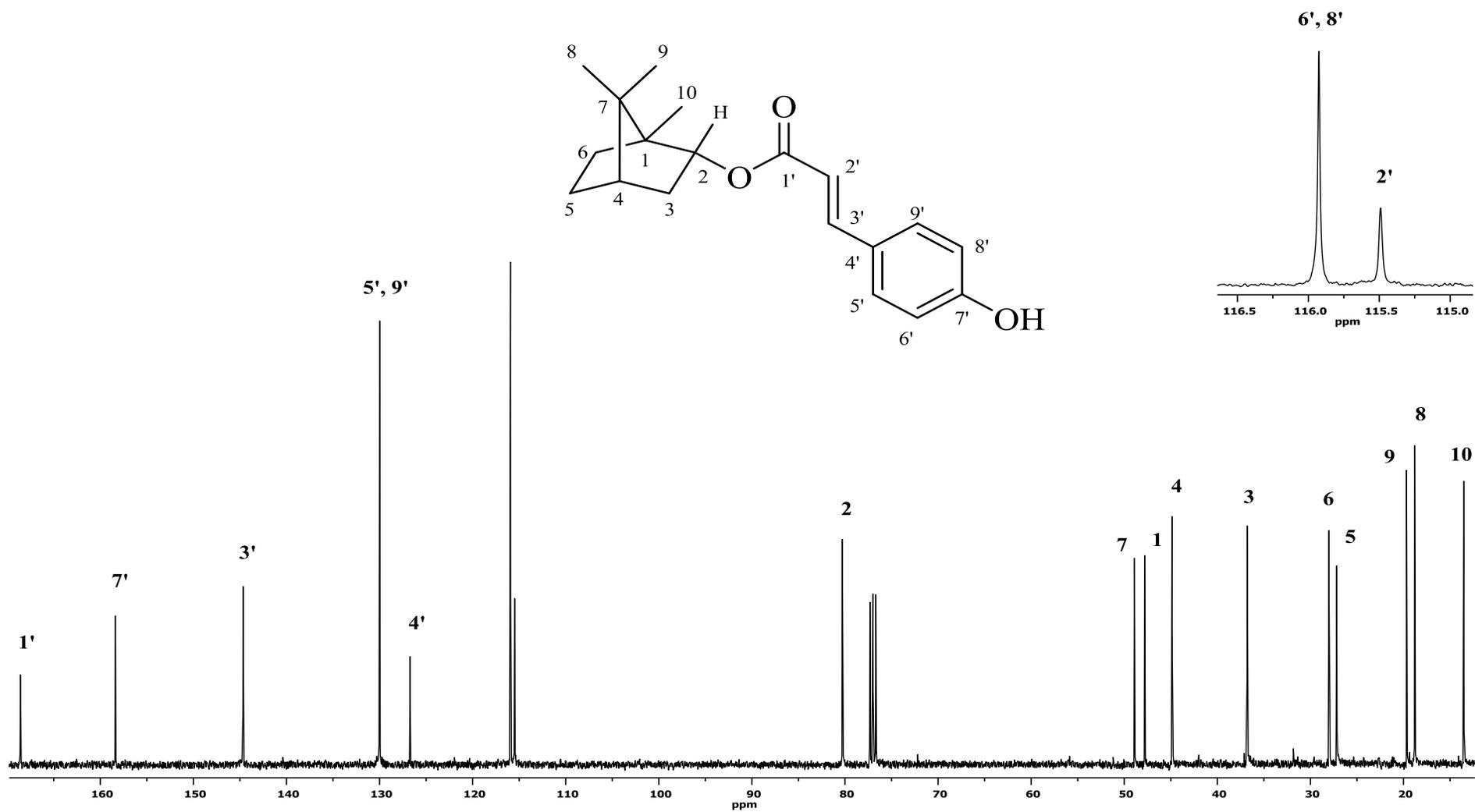
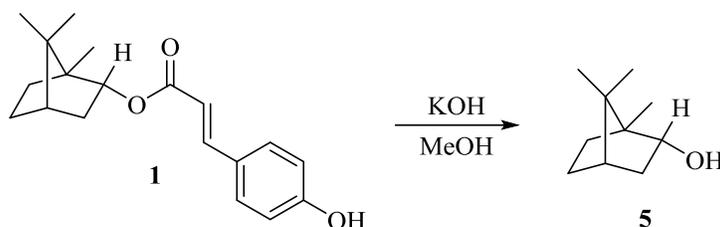


Figura 13. Espectro de RMN de ¹³C a 100 MHz del *p*-cumarato de bornilo (1).

6.4. Hidrólisis del *p*-cumarato de bornilo (1)

El *p*-cumarato de bornilo (1), se sometió a condiciones de hidrólisis básica durante 2 h usando KOH y metanol con la finalidad de remover el grupo cumarato. El producto de esta reacción se obtuvo un sólido blanco con un punto de fusión de 205-207 °C, el cual se analizó mediante RMN de ¹H.



Esquema 9. Hidrólisis básica del *p*-cumarato de bornilo (1).

En el espectro de RMN de ¹H (**Figura 14**) se observa una señal doble de dobles en 4.01 ppm con $J = 10.0, 3.4$ Hz correspondiente al H-2 base de alcohol, en 2.28 ppm se encuentra una señal dddd con $J = 13.4, 10.0, 4.6, 3.4$ Hz que pertenece al H-4, también se muestra la señal del H-3_{endo} en 1.89 ppm; en 1.71 ppm se observa la señal múltiple del H-3_{exo}, se observa una señal triple en 1.63 ppm con $J = 4.6$ Hz correspondiente al H-5_{endo}, la señal simple que corresponde al OH se encuentra en 1.45 ppm, la señal múltiple perteneciente a los hidrógenos H-5_{exo} y H-6_{endo} se puede observar en 1.25 ppm, en 0.94 ppm se encuentra una señal doble de dobles asignada al H-6_{exo} con una $J = 13.4, 3.4$ Hz, por último se observan las señales correspondientes a los hidrógenos de los metilos CH₃-8, CH₃-9 y CH₃-10 en 0.87, 0.86 y 0.85 ppm, respectivamente.

En el espectro de RMN de ¹³C (**Figura 15**) se puede observar una señal con un desplazamiento de 77.4 ppm que corresponde al C-2 base del alcohol, en 49.5 y 48.0 ppm se encuentran las señales asignadas a los carbonos cuaternarios C-1 y C-7 respectivamente, desplazada en 45.0 ppm se puede ver la señal del carbono terciario C-4, las señales correspondientes a los carbonos secundarios C-3, C-5 y C-6 están localizadas en 39.0, 28.2 y 25.9 ppm, respectivamente; finalmente, las señales de los metilos se pueden observar en 20.2 ppm para C-9, 18.7 ppm para C-8 y 13.3 ppm para C-10. Los datos espectroscópicos fueron comparados con los reportados por Wang y colaboradores en 2014.³⁶

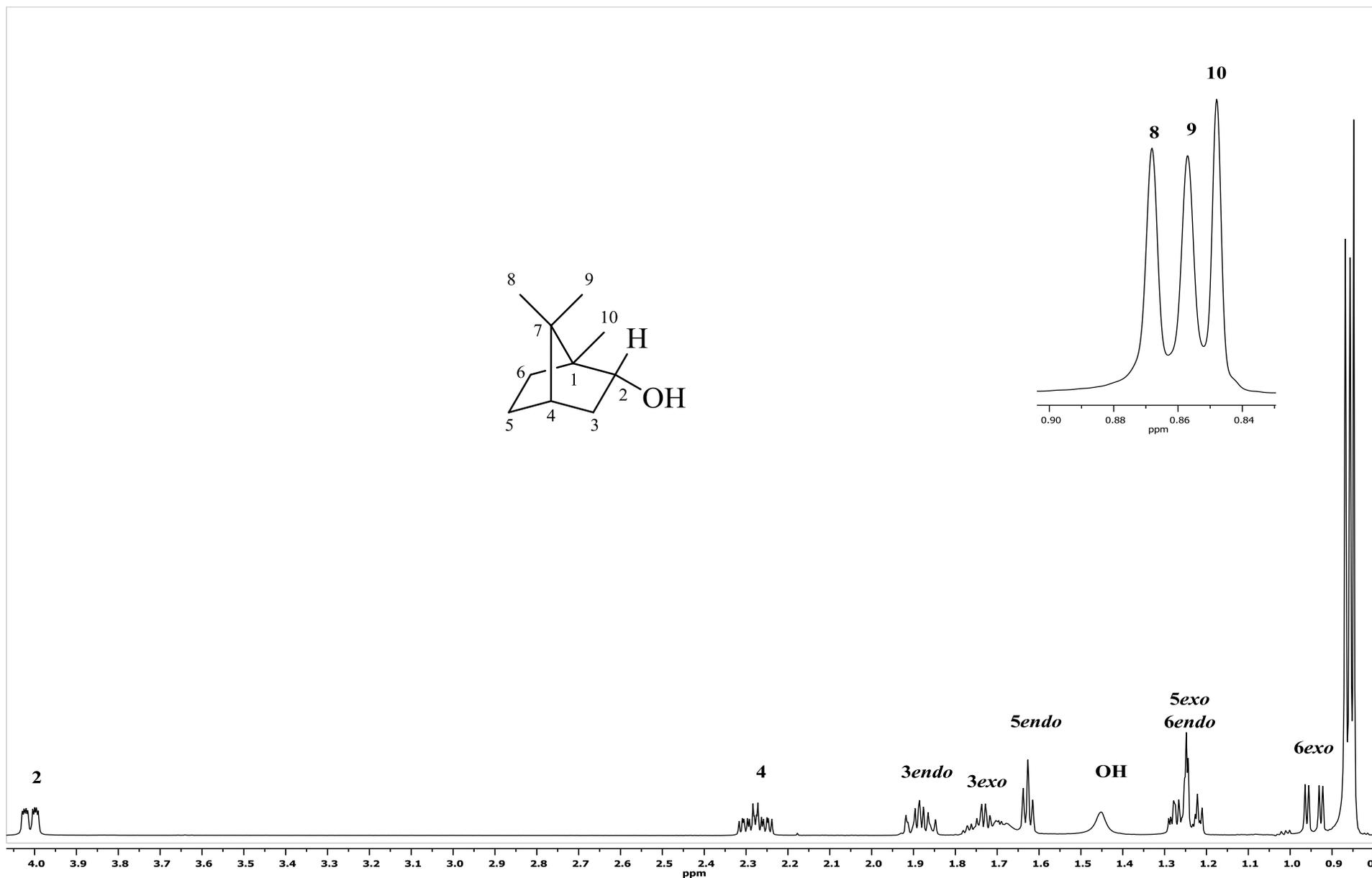


Figura 14. Espectro de RMN de ¹H a 400 MHz del borneol (5).

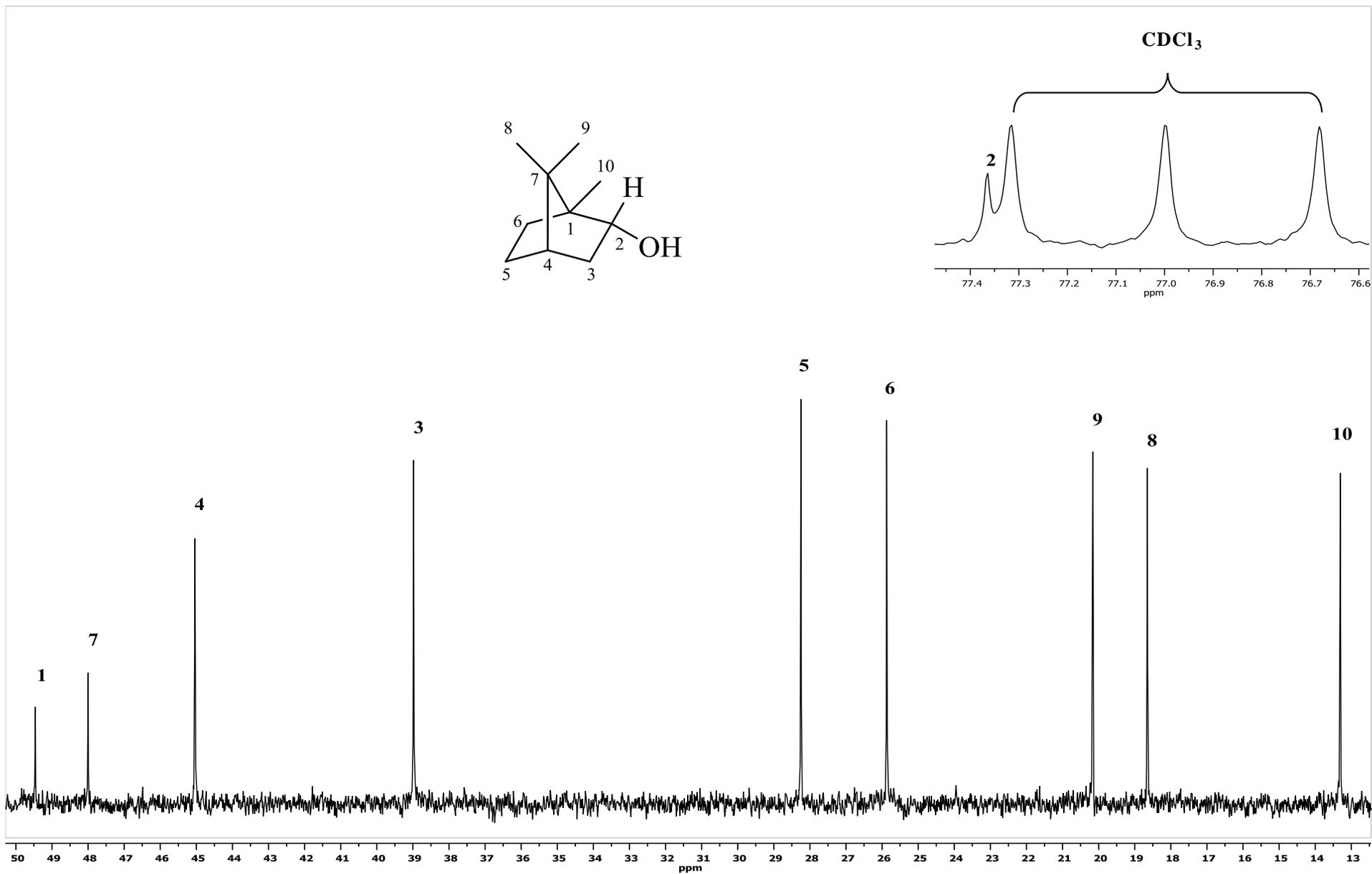
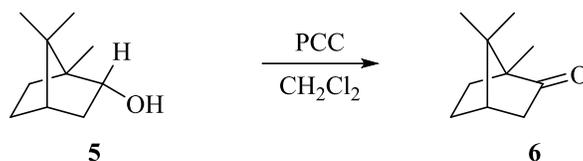


Figura 15. Espectro de RMN de ^{13}C a 100 MHz del borneol (5).

6.5. Oxidación del borneol (5)

El borneol (5) obtenido se sometió a una reacción de oxidación usando como agente oxidante PCC y CH_2Cl_2 como medio de reacción (**Esquema 10**).



Esquema 10. Oxidación del borneol (5).

En el espectro de RMN de ^1H (**Figura 16**) se observa en 2.36 ppm una señal doble de triples con $J = 18.2, 4.3$ Hz que corresponde al H-3 $_{exo}$, en 2.10 ppm se encuentra la señal triple del H-4 cabeza de puente con $J = 4.3$, en 1.96 ppm se aprecia la señal asignada al H-5 $_{exo}$, en 1.85 ppm aparece la señal producida por el H-3 $_{endo}$ con $J = 18.2$ Hz, la señal que representa al H-6 $_{exo}$ se encuentra en 1.68 ppm, en 1.39 ppm aparece una señal múltiple que corresponde a H-5 $_{endo}$ y H-6 $_{endo}$, por último, aparecen tres señales en 0.96, 0.91 y 0.84 ppm que corresponden a los hidrógenos de los metilos CH_3 -9, CH_3 -10 y CH_3 -8, respectivamente. Los datos de este espectro fueron comparados por los reportados por Abraham y Ainger en 1999.³⁷

En el espectro de RMN de ^{13}C (**Figura 17**) se puede observar una señal con un desplazamiento de 219.6 ppm que corresponde al C-2 de la cetona, en 57.6 y 46.7 ppm se encuentran las señales asignadas a los carbonos cuaternarios C-7 y C-1 respectivamente, en 43.2 ppm se puede ver la señal de C-3, la señal correspondiente al carbono terciario C-4 se puede ver en 42.9 ppm, C-6 y C-5 están representados por las señales que aparecen en 29.8, y 26.9 ppm respectivamente, finalmente las señales que corresponden a los metilos se pueden observar en 19.7 ppm para C-9, 19.0 ppm para C-10 y 9.1 ppm para C-8. El desplazamiento significativo de la señal del C-2 con respecto al espectro de RMN de ^{13}C de borneol (5) permite corroborar que ocurrió la reacción de oxidación del alcohol secundario.

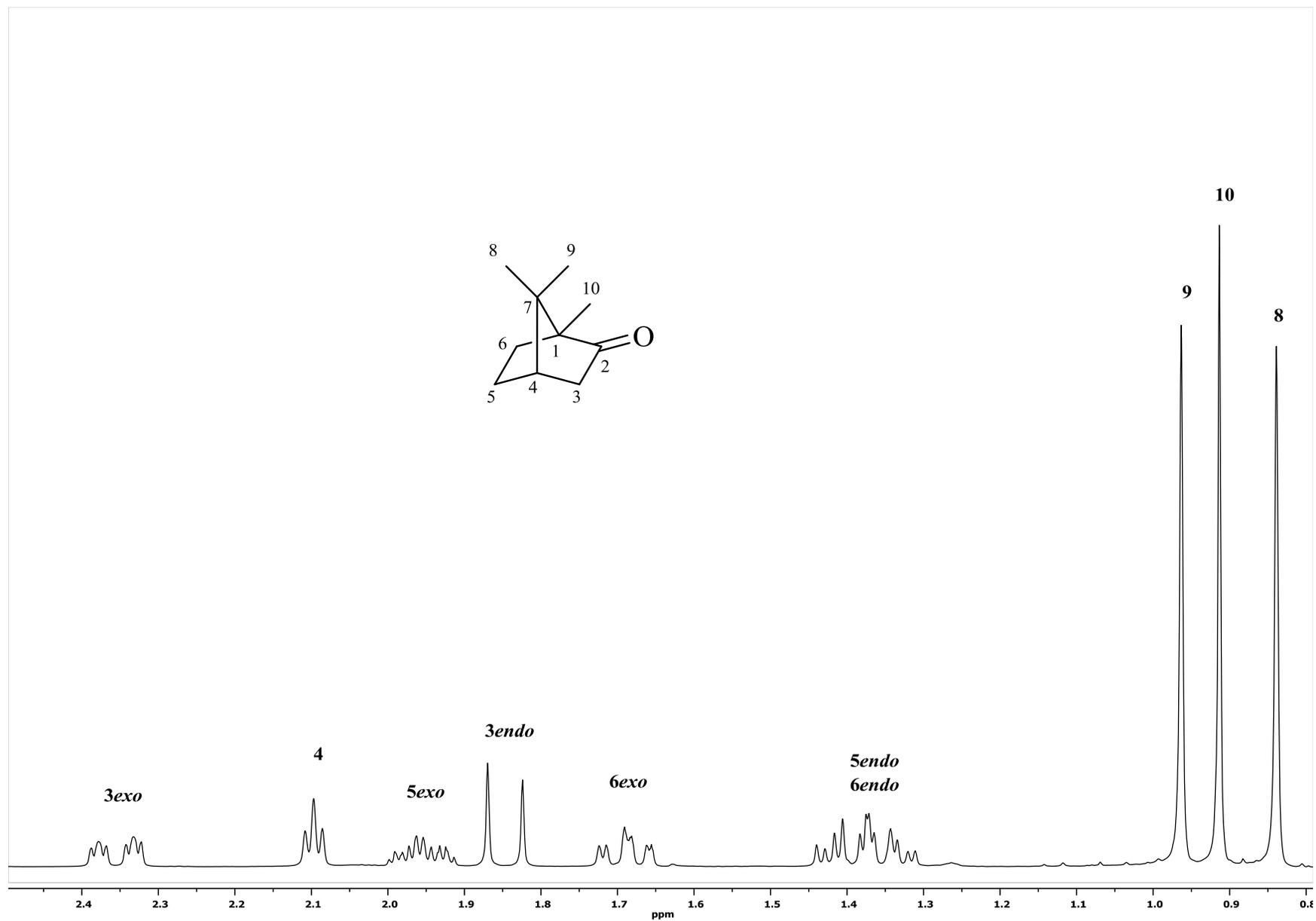


Figura 16. Espectro de RMN de ¹H a 400 MHz del alcanfor (**6**).

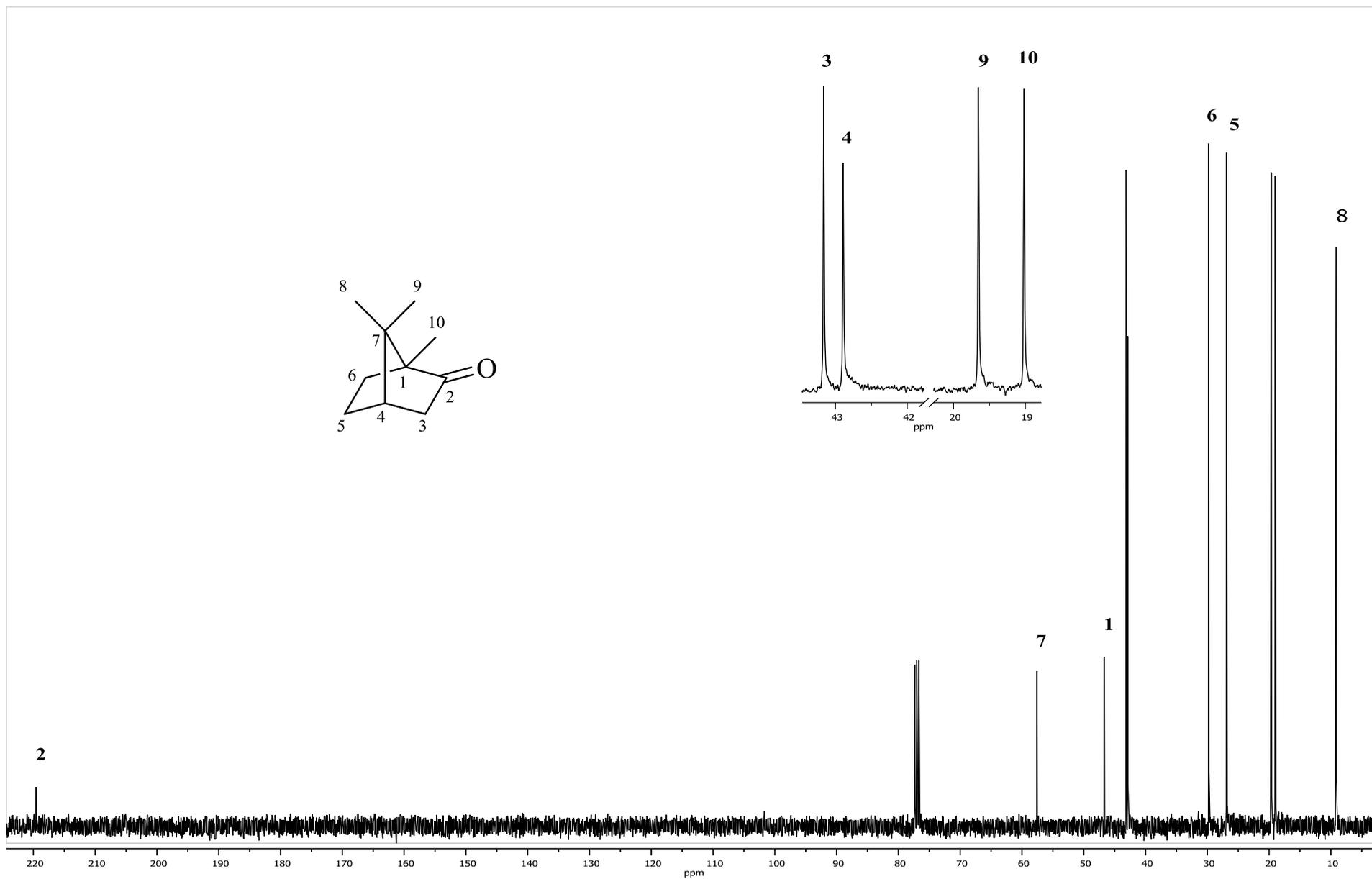
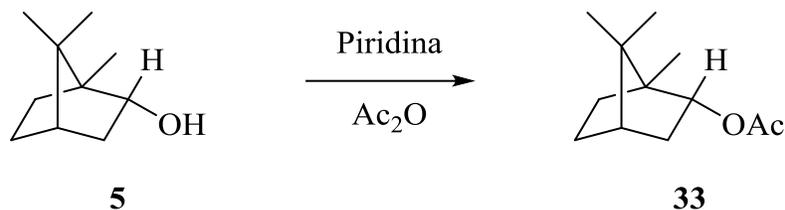


Figura 17. Espectro de RMN de ^{13}C a 100 MHz del alcanfor (6).

6.6. Acetilación del borneol (5)

La reacción de acetilación del borneol (5) se llevó a cabo utilizando anhídrido acético y piridina a temperatura ambiente con agitación constante durante 3 h (Esquema 11).



Esquema 11. Acetilación del borneol (5).

En el espectro de RMN de ^1H (Figura 18) se observa una señal doble ancha en 4.88 ppm con una $J = 9.5$ Hz correspondiente al H-2 base de acetato, en 2.35 ppm se encuentra la señal múltiple que pertenece al H-4, también se muestra la señal simple del metilo del acetilo en 2.06 ppm, en 1.94 ppm se observa la señal múltiple del H-3 $endo$, en 1.74 ppm se ve una señal múltiple que corresponde a los hidrógenos H-3 exo , se observa una señal múltiple en 1.68 ppm correspondiente a H-5 $endo$, también se puede apreciar una señal múltiple en 1.26 ppm perteneciente a los hidrógenos H-5 exo y H-6 $endo$, la señal doble de dobles del H-6 exo se puede observar en 0.97 ppm con $J = 13.5, 3.6$ Hz. Por último, en 0.90, 0.87 y 0.83 ppm se encuentran las señales correspondientes a los hidrógenos de los metilos terciarios CH₃-8, CH₃-9 y CH₃-10, respectivamente. La presencia de una señal simple en 2.06 ppm característica de un grupo acetilo permite corroborar que la acetilación se llevó a cabo.

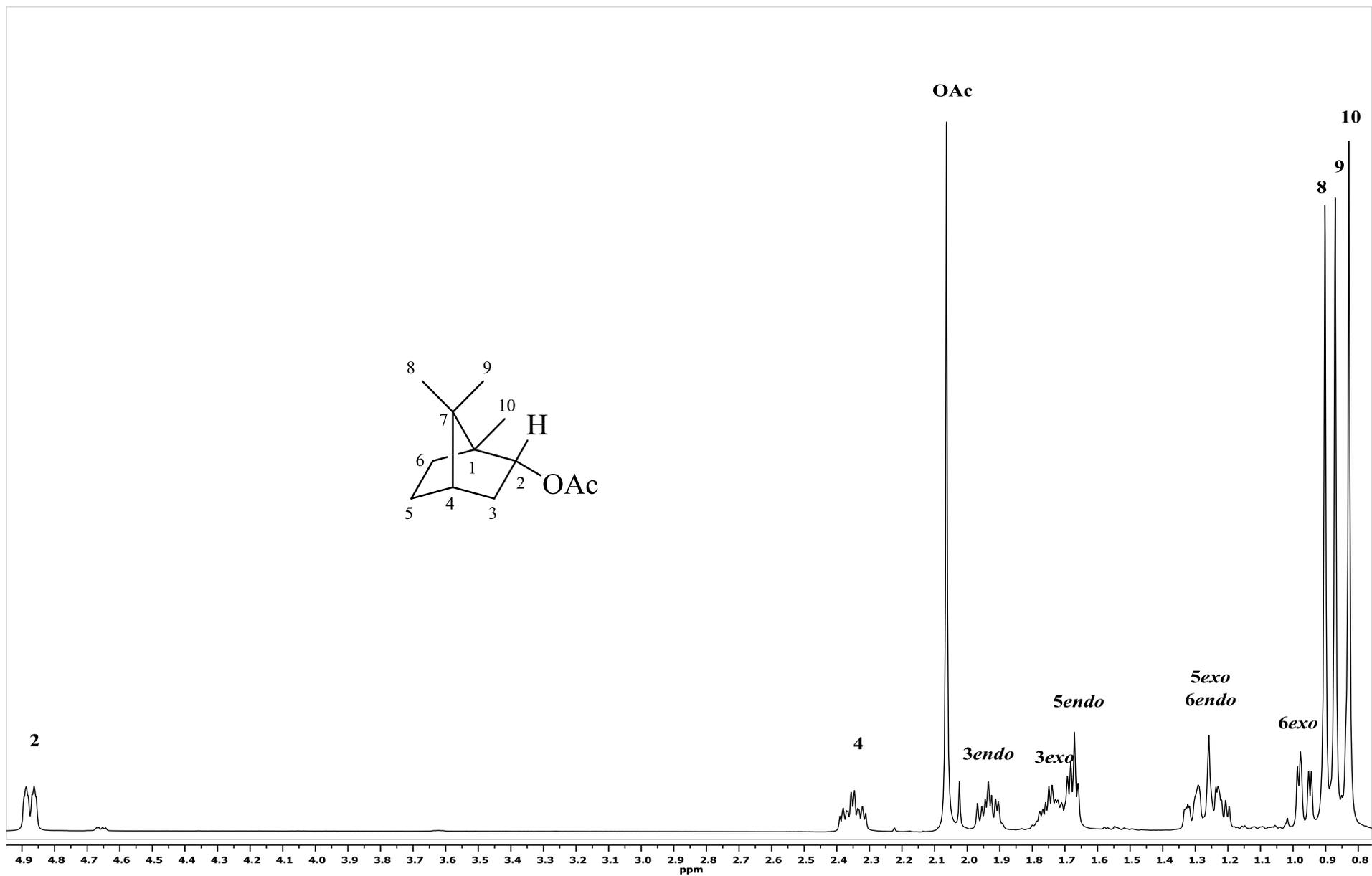


Figura 18. Espectro de RMN de ¹H a 400 MHz del acetato de bornilo (33).

7. CONCLUSIONES

La hidrólisis del *p*-cumarato de bornilo (**1**), obtenido de *Eupatorium aff cardiophyllum*, generó el borneol (**5**) a partir del cual, se prepararon los derivados alcanfor (**6**) y acetato de bornilo (**33**), todos los compuestos fueron caracterizados por sus datos espectroscópicos. La obtención de los derivados permitió confirmar la reactividad del alcohol secundario del borneol (**5**).

8. REFERENCIAS

- 1 Wade, L. *Química orgánica. Volumen 2 (7a. ed.)*; Pearson Educación, Distrito Federal, 2011.
- 2 Tissier, A.; Ziegler, J.; Vogt, T. In *Specialized plant metabolites: diversity and biosynthesis*, 2014. pp 14.
- 3 Civjan, N. *Natural products in chemical biology*; John Wiley & Sons, Hoboken, N.J, 2012.
- 4 Scalerandi, E.; Flores, G. A.; Palacio, M.; Defagó, M. T.; Carpinella, M. C.; Valladares, G.; Bertoni, A.; Palacios, S. M. *Frontiers in Plant Science* **2018**, 9.
- 5 Caputi, L.; Aprea, E. *Recent patents on food, nutrition & agriculture* **2011**, 3, 9.
- 6 Buchanan, B. B.; Grissem, W.; Jones, R. L. *Biochemistry & molecular biology of plants*; John Wiley & Sons, Chichester, 2015.
- 7 McMurry, J. *Química orgánica*; Cengage Learning Editores, S.A. De C.V., Mexico City, 2008.
- 8 Dewick, P. M. *Medicinal natural products: a biosynthetic approach*; John Wiley and Sons, Chichester, U. K., 2010.
- 9 Eggersdorfer, M. *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry* **2000**.
- 10 Krauss, G.-J.; Nies, D. H. *Ecological biochemistry: environmental and interspecies interactions*; John Wiley & Sons, 2015.
- 11 Marín-Loaiza, J. C.; Céspedes, C. L. *Revista Fitotecnia Mexicana* **2007**, 30, 327.
- 12 Peñuelas, J.; Llusià, J.; Asensio, D.; Munné-Bosch, S. *Plant, Cell & Environment* **2005**, 28, 278.
- 13 Breitmaier, E. *Terpenes: flavors, fragrances, pharmaca, pheromones*; John Wiley & Sons, 2006.
- 14 Buckingham, J. In *Dictionary of natural products on CD-ROM*; Chapman & Hall, London, **2005**.
- 15 Pardo-Novoa, J. C.; Arreaga-González, H. M.; Galván-Gómez, S.; Rodríguez-García, G.; del Río, R. E.; Cerda-García-Rojas, C. M.; Joseph-Nathan, P.; Gómez-Hurtado, M. A. *Journal of Natural Products* **2019**, 82, 485.
- 16 Kirk, R. E.; Othmer, D. F. *Encyclopedia of chemical technology*; Wiley, . New York; Chichester, 2005.
- 17 Guimarães, A. G.; Quintans, J. S. S.; Quintans-Júnior, L. J. *Phytotherapy Research* **2013**, 27, 1.
- 18 W. Rowe, J. *Natural Products of Woody Plants I. Chemicals Extraneous to the Lignocellulosic Cell Wall*; Springer, Berlin, Heidelberg, 1989; Vol. 1.
- 19 Sell, C. S. *A Fragrant Introduction to Terpenoid Chemistry*, 2007.
- 20 Liu, P.-Y.; Liu, D.; Li, W.-H.; Zhao, T.; Sauriol, F.; Gu, Y.-C.; Shi, Q.-W.; Zhang, M.-L. *Chemistry & Biodiversity* **2015**, 12, 1481.
- 21 Sharma, O. P.; Dawra, R. K.; Kurade, N. P.; Sharma, P. D. *Natural Toxins* **1998**, 6, 1.
- 22 Morteza-Semnani, K.; Akbarzadeh, M.; Moshiri, K. *Flavour and Fragrance Journal* **2006**, 21, 521.
- 23 Sobrinho, A. C. N.; de Moraes, S. M.; de Souza, E. B.; dos Santos Fontenelle, R. O. *Journal of Medicinal Plants Research* **2017**, 11, 43.

- 24 Garcia-Sanchez, E.; Ramirez-Lopez, C. B.; del Rio, R. E.; Martinez-Pacheco, M. M. *Phyton* **2011**, *80*, 139.
- 25 Soto-Guzmán, E. E. In *Estudio Químico del Tallo de Eupatorium aff cardiophyllum*; Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Morelia, Michoacán, México, 2017.
- 26 Ehrnhöfer-Ressler, M. M.; Fricke, K.; Pignitter, M.; Walker, J. M.; Walker, J.; Rychlik, M.; Somoza, V. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2013**, *61*, 3451.
- 27 Ponomarev, D.; Mettee, H. *Chemical Education Journal* **2016**, *18*, 1.
- 28 Markgraf, J. H. *Journal of Chemical Education* **1967**, *44*, 36.
- 29 Sokolova, A.; Yarovaya, O.; Semenova, M.; Shtro, A.; Orshanskaya, I.; Zarubaev, V.; Salakhutdinov, N. *Med. Chem. Commun* **2017**, *8*, 960.
- 30 Sokolova, A. S.; Yarovaya, O. I.; Bormotov, N. I.; Shishkina, L. N.; Salakhutdinov, N. F. *Chemistry & Biodiversity* **2018**, *15*, e1800153.
- 31 Lang, P. T.; Harned, A. M.; Wissinger, J. E. *Journal of Chemical Education* **2011**, *88*, 652.
- 32 Wang, C.; Tian, A.; Wang, C.; Fu, S. *Polymer Bulletin* **2016**, *73*, 1267.
- 33 Zhang, Z.; Xie, Y.; Wang, Y.; Lin, Z.; Wang, L.; Li, G. *Environmental Science Pollution Research* **2017**, *24*, 24708.
- 34 Hernández, V. M.; Miranda, R.; Martínez, M.; Joseph-Nathan, P. *Journal of Natural Products* **1986**, *49*, 1173.
- 35 Molina-Torres, J.; Salgado-Garciglia, R.; Ramirez-Chavez, E.; del Rio, R. E. *Journal of Natural Products* **1995**, *58*, 1590.
- 36 Wang, Y.-H.; Tian, H.-Y.; Wang, A.-M.; Wang, H.-X.; Zou, C.-L. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* **2014**, *13*, 41.
- 37 Abraham, R. J.; Ainger, N. J. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2* **1999**, 441.