



UNIVERSIDAD MICHUACANA DE
SAN NICOLÁS DE HIDALGO



FACULTAD DE QUÍMICO
FARMACOBIOLOGÍA

Preparación de ésteres aromáticos y derivados
imidazólicos a partir del ácido 2 α -hidroxieperuico

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA FARMACOBIOLOGA

PRESENTA
MARILI MARTINEZ CABELLO

ASESOR
D. C. HUGO ALEJANDRO GARCÍA GUTIÉRREZ

Morelia, Michoacán, octubre de 2019.

EL PRESENTE TRABAJO SE LLEVÓ A CABO EN EL LABORATORIO DE QUÍMICA MEDICINAL DEL INSTITUTO DE INVESTIGACIONES QUÍMICO BIOLÓGICAS DE LA UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO, BAJO LA DIRECCIÓN DEL D. C. HUGO ALEJANDRO GARCÍA GUTIÉRREZ. PROYECTO REALIZADO CON APOYO ECONÓMICO OTORGADO POR CIC-UMSNH Y CONACYT CIENCIA BÁSICA (A1-S-47325).

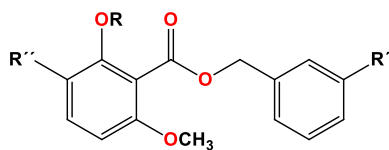
ÍNDICE

I.	ÍNDICE DE ESTRUCTURAS	vi
II.	ÍNDICE DE FIGURAS	ix
III.	SÍMBOLOS, ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS	xii
IV.	RESUMEN	xiv
V.	ABSTRACT	xv
1.	INTRODUCCIÓN	1
2.	ANTECEDENTES	3
2.1	Terpenos	5
2.2	Monoterpenos	6
2.3	Diterpenos	6
2.3.1	Actividad biológica de diterpenos	8
2.4	Familia Asteraceae	9
2.4.1	Género <i>Ageratina</i>	10
2.4.2	<i>Ageratina petiolaris</i>	10
2.4.3	Ácido 2 α -hidroxieperuico	13
2.5	Activadores del grupo carboxilo	16
2.5.1	Formación de amidas y ésteres	17
2.6	Métodos de Química Computacional	18
2.6.1	Modelado molecular	18
2.6.2	Protocolo Monte Carlo	18
2.6.3	Mecánica molecular	18
2.6.4	Teoría de Funcionales de la Densidad	18
3.	JUSTIFICACIÓN	20
4.	OBJETIVOS	20

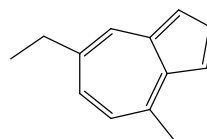
4.1	Objetivo general	20
4.2	Objetivos específicos	20
5.	DISCUSIÓN DE RESULTADOS	21
5.1	Obtención del ácido 2 α -hidroxieperuico (7)	21
5.2	Esterificación del ácido 2 α -hidroxieperuico	25
5.3	Preparación del éster metílico 5b del ácido 2 α -hidroxieperuico	28
5.4	Preparación de la amida 2 α -hidroxi- <i>N</i> -fenileperuamida (26)	31
5.5	Preparación del éster 2 α -hidroxi-(4-metoxifenil)eperuato (28)	34
5.6	Preparación del compuesto acetilado del 2 α -acetoxi-(4-metoxifenil)eperuato (29)	37
5.7	Preparación del éster 2 α -hidroxi-(4-fluorofenil)eperuato (30)	41
5.8	Preparación del éster 2 α -acetoxi-(4-fluorofenil)eperuato (31)	45
5.9	Obtención de los compuestos 32 , 33 y 34	49
6.	CONCLUSIONES	57
7.	PARTE EXPERIMENTAL	58
7.1	Generalidades	58
7.2	Colecta de la especie vegetal	58
7.3	Obtención del extracto hexánico de flores de <i>Ageratina petiolaris</i>	58
7.4	Obtención del ácido 2 α -hidroxieperuico (7)	58
7.5	Obtención del ácido 2 α -acetoxieperuico (9)	59
7.6	Obtención del éster metílico (5b)	60
7.6.1	Obtención del éster metílico del ácido 2 α -hidroxieperuico con activador del grupo carboxilo	60
7.6.2	Obtención del éster 2 α -hidroxieperuico con diazometano	61
7.7	Obtención de la 2 α -hidroxi- <i>N</i> -fenileperuamida (26)	62
7.8	Preparación del éster 2 α -hidroxi-(4-metoxifenil)eperuato (28)	64

7.9	Preparación del éster 2 α -hidroxi-(4-metoxifenil)eperuato acetilado (29)	66
7.10	Preparación del éster-2 α -hidroxi-(4-fluorofenil)eperuato (30)	67
7.11	Preparación del éster-2 α -acetoxi-(4-fluorofenil)eperuato (31)	68
8.	BIBLIOGRAFÍA	69
9.	ANEXO	72

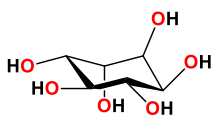
I. ÍNDICE DE ESTRUCTURAS



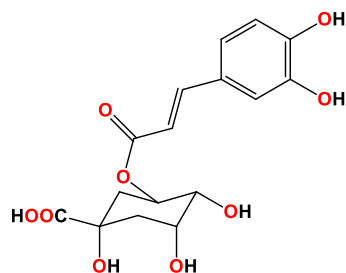
- 1a** R=H R'=H R''=H
1b R=CH₃ R'=H R''=H
1c R=CH₃ R'=OCH₃ R''=H
1d R=CH₃ R'=H R''=OCH₃



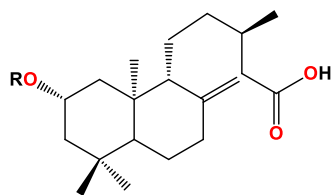
2



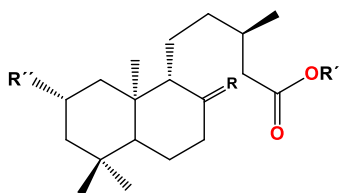
3



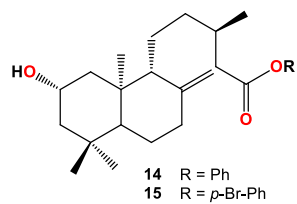
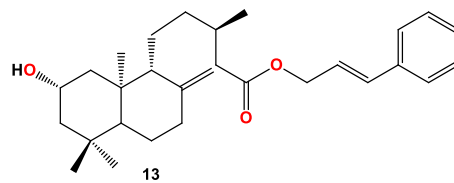
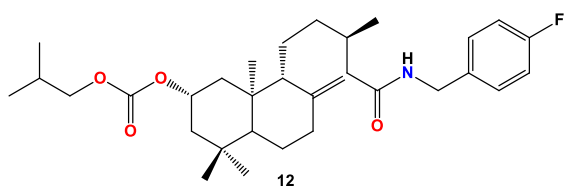
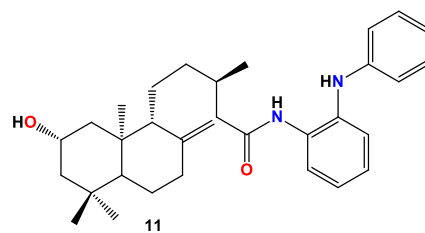
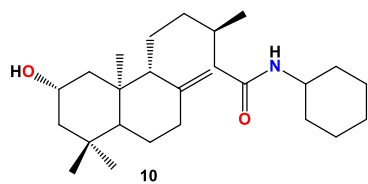
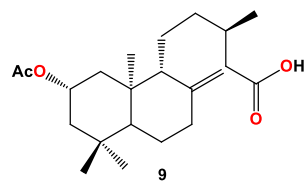
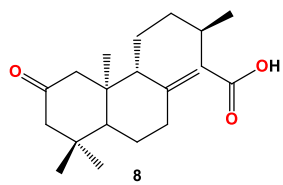
4



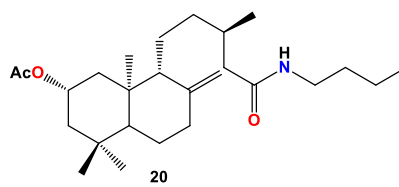
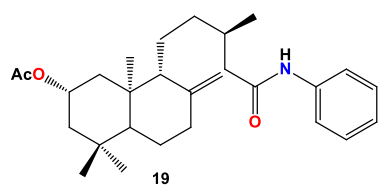
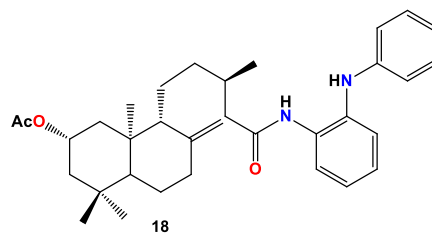
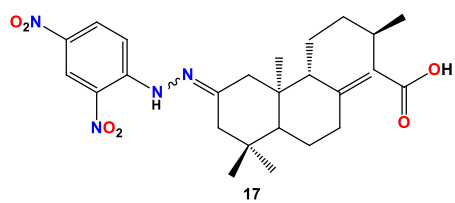
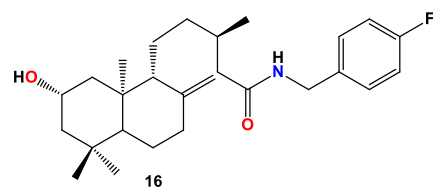
- 5** R= -iso-valeroil
6 R= -tigloil

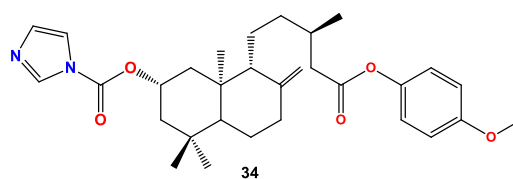
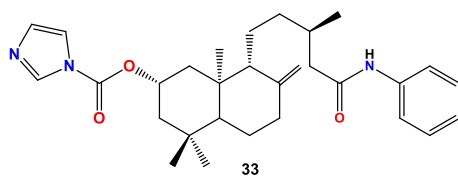
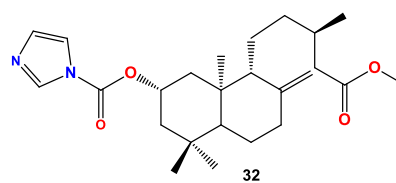
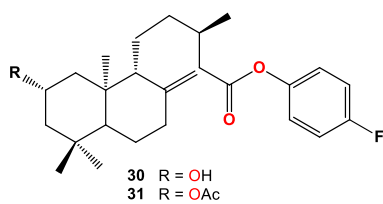
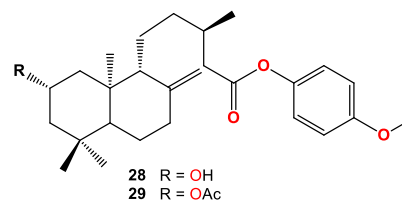
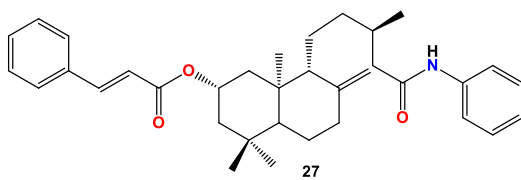
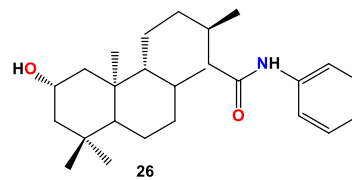
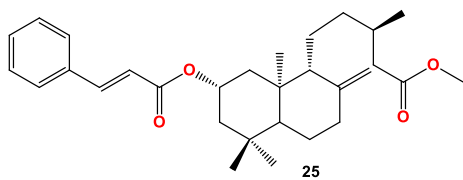
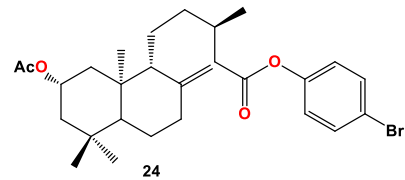
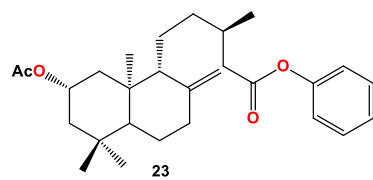
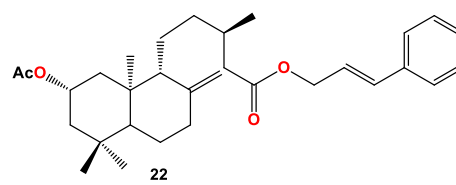
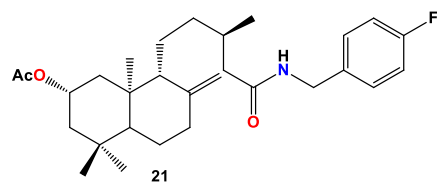


- 5** R=CH₂ R'=H R''=O-iso-valeroil
5a R=CH₂ R'=CH₃ R''=O-iso-valeroil
5b R=CH₂ R'=CH₃ R''=OH
5c R=CH₂ R'=CH₃ R''=OAc
5d R=CH₂ R'=CH₃ R''=O
5e R=CH₂ R'=CH₃ R''=H
5f R=O R'=CH₃ R''=OAc
5g R=O R'=CH₃ R''=H
7 R=CH₂ R'=H R''=OH



15 R = *p*-Br-Ph





II. ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Grupo de filósofos, entre los que se encuentra Aristóteles, Mosaico de Pompeya.	1
Figura 2.	Fármacos obtenidos de productos naturales.	2
Figura 3.	Rutas metabólicas de las plantas.	4
Figura 4.	Estructura de monoterpenos comunes.	6
Figura 5.	Tipo de diterpenos en las plantas, de acuerdo a los ciclos que presentan.	7
Figura 6.	Esqueleto carbonado biciclo del tipo <i>trans</i> -decalina.	7
Figura 7.	Paclitaxel, comercialmente denominado Taxol®.	8
Figura 8.	Diterpenos aislados de <i>E. singularis</i> .	9
Figura 9.	Mapa de México, estados con mayor número de especies de la familia Asteraceae.	10
Figura 10.	<i>Ageratina petiolaris</i> .	11
Figura 11.	Composición fitoquímica obtenida de <i>A. petiolaris</i> .	12
Figura 12.	Derivados del ácido 2 α -iso-valeroxieperuico (5).	12
Figura 13.	Ácido 2 α -hidroxieperuico (7).	13
Figura 14.	Derivados del ácido 2 α -hidroxieperuico (7) en la posición C-2.	13
Figura 15.	Derivados de grupo carboxílico C-15 del ácido 2 α -hidroxieperuico (7).	14
Figura 16.	2,4-dinitrofenilhidrazona 17.	14
Figura 17.	Derivados obtenidos a partir del ácido 2 α -acetoxieperuico (9).	15
Figura 18.	Derivados 25, 26 y 27.	16
Figura 19.	Activadores del grupo carboxilo.	17
Figura 20.	Obtención del ácido 2 α -hidroxieperuico (7). A) <i>Ageratina petiolaris</i> en su habitat; B) Flores secas; C) Maceración en hexano; D) Concentración de extracto; E) Hidrólisis alcalina; F) Cromatografía en columna; G) Formación de cristales del ácido 2 α -hidroxieperuico (7).	21

Figura 21.	Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) del ácido 2 α -hidroxieperuico (7) en CDCl_3 .	23
Figura 22.	Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) del ácido 2 α -hidroxieperuico (7) en CDCl_3 .	24
Figura 23.	Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) del ácido 2 α -acetoxieperuico (9) en CDCl_3 .	26
Figura 24.	Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) del ácido 2 α -acetoxieperuico (9) en CDCl_3 .	27
Figura 25.	Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) del éster metílico 5b en CDCl_3 .	29
Figura 26.	Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) del éster metílico 5b en CDCl_3 .	30
Figura 27.	Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) de 2 α -hidroxi- <i>N</i> -fenileperuamida (26) en CDCl_3 .	32
Figura 28.	Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) de 2 α -hidroxi- <i>N</i> -fenileperuamida (26) CDCl_3 .	33
Figura 29.	Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) del éster 2 α -hidroxi-(4-metoxifenil)eperuato (28) en CDCl_3 .	35
Figura 30.	Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) del éster 2 α -hidroxi-(4-metoxifenil)eperuato (28) en CDCl_3 .	36
Figura 31.	Mínimo global del compuesto 28 .	37
Figura 32.	Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) del éster 2 α -acetoxi-(4-metoxifenil)eperuato (29) en CDCl_3 .	39
Figura 33.	Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) del éster 2 α -acetoxi-(4-metoxifenil)eperuato (29) en CDCl_3 .	40
Figura 34.	Mínimo global del compuesto acetilado 29 .	41
Figura 35.	Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) del éster 2 α -hidroxi-(4-fluorofenil)eperuato (30) en CDCl_3 .	43
Figura 36.	Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) del éster 2 α -hidroxi-(4-fluorofenil)eperuato (30) en CDCl_3 .	44
Figura 37.	Mínimo global del éster 30 .	45
Figura 38.	Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) del éster 2 α -acetoxi-(4-fluorofenil)eperuato (31) en CDCl_3 .	47
Figura 39.	Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) del éster 2 α -acetoxi-(4-fluorofenil)eperuato (31) en CDCl_3 .	48
Figura 40.	Mínimo global del éster 31 .	49
Figura 41.	Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) del intermediario imidazol 32 en CDCl_3 .	52
Figura 42.	Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) de la amida 2 α -imidazolil- <i>N</i> -fenileperuamida (33) en CDCl_3 .	53
Figura 43.	Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) del éster 2 α -imidazolil-(4-metoxifenil)eperuato (34) en CDCl_3 .	54

Figura 44.	Mínimo global del intermediario imidazol 32 .	55
Figura 45.	Mínimo global del intermediario imidazol 33 .	55
Figura 46.	Mínimo global del intermediario imidazol 34 .	56

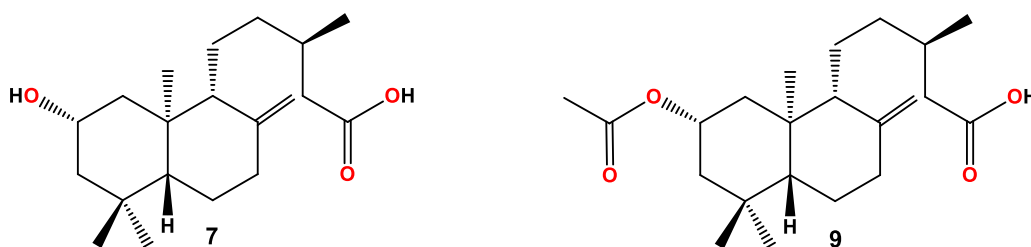
III. SÍMBOLOS, ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

AcOEt	Acetato de etilo
Ac	Ácido
aa	Aminoácidos
CDI	<i>N,N'</i> -carbonildiimidazol
°C	Grados Celsius
CDCl ₃	Cloroformo deuterado
DMAPP	Dimetilalil difosfato
FPP	Farnesil difosfato
CH ₂ Cl ₂	Cloruro de metileno
CHCl ₃	Cloroformo
cm	Centímetros
COSY	Resonancia magnética de correlación homonuclear
DEPT	Resonancia magnética nuclear de carbono trece con mejora sin distorsión de polarización
DFT	Teoría de Funcionales de la Densidad
FDA	Administración de Alimentos y Medicamentos
g	Gramo
GGPP	Geranil geranil difosfato
GPP	Geranil difosfato
HETCOR	Resonancia magnética nuclear de correlación heteronuclear
Hex	Hexano
HMBC	Resonancia magnética nuclear de coherencia heteronuclear a múltiples enlaces
Hz	Hertz
<i>i</i> -BCF	Cloroformiato de isobutilo
IR	Infrarrojo

IPP	Isopentil difosfato
<i>J</i>	Constante de acoplamiento
kcal	Kilocaloría
kg	Kilogramo
L	Litro
MeOH	Metanol
mg	Miligramo
MEP	Metileritritol fosfato
MHz	Megahertz
mL	Mililitro
MMFF	Campo de fuerza molecular Merck
msnm	Metros sobre el nivel del mar
NCI	Instituto Nacional del Cáncer
NMM	<i>N</i> -Metilmorfolina
NOESY	Espectroscopía de efecto nuclear Overhauser
OMS	Organización Mundial de la Salud
p. f.	Punto de fusión
ppm	Partes por millón
RMN	Resonancia magnética nuclear
THF	Tetrahidrofurano
UV	Ultravioleta
$V_{\max}$	Frecuencia Máxima
δ	Desplazamiento químico

IV. RESUMEN

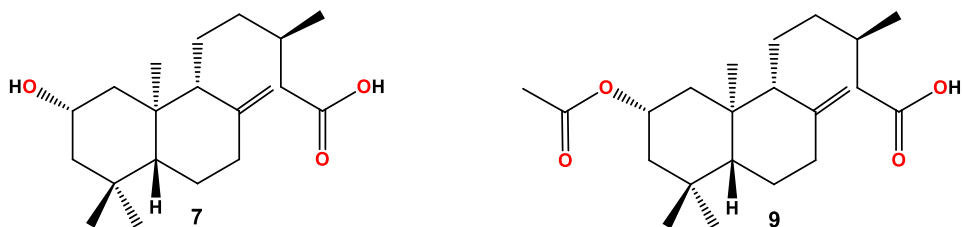
De la planta de *Ageratina petiolaris* se obtuvo el extracto hexánico de las flores, el cual se sometió a hidrólisis básica para obtener el ácido 2 α -hidroxieperuico (**7**). Una vez obtenido el diterpeno se acetiló con anhídrido acético en C-2 obteniendo el derivado acetilado **9**. Posteriormente los compuestos **7** y **9** se trataron con *N,N'*-carbonildiimidazol (**CDI**) en el grupo carboxilo C-15 por 1 hora; después se adicionó un alcohol o una amina, dejando reaccionar 1 hora más, generando los derivados tipo éster y amidas correspondientes (**5b**, **26**, **28**, **30**, **31**), aislándose de algunos de ellos su derivado imidazólico (**32-34**). De igual manera se llevó a cabo la construcción de los modelos moleculares y la búsqueda de las estructuras de mínima energía mediante Mecánica Molecular aplicando el método de Monte Carlo y la optimización mediante Teoría de Funcionales de la Densidad a nivel de cálculo B3LYP/DGDZVP de cada compuesto obtenido.



Palabras clave: ácido 2 α -hidroxieperuico, CDI, imidazol, ésteres, amidas.

V. ABSTRACT

From the plant of *Ageratina petiolaris* was obtained the hexanic extract of the flowers, which was subjected to basic hydrolysis to obtain the 2 α -hydroxyeperuic acid (**7**). The diterpene **7** was acetylated at C-2 with acetic anhydride in pyridine to produce **9**. Subsequently, the carboxyl group C-15 of **7** and **9** were treated with *N,N'*-carbonildiimidazole (**CDI**) for 1 hour; then an alcohol or amine was added, one more hour was allowed to react, affording the corresponding ester or amide derivatives (**5b**, **26**, **28**, **30**, **31**) and in some it was possible to isolate its imidazole intermediary (**32**, **33**, **34**). Also molecular models were built and conformational searches for all molecules were carried out with the Monte Carlo protocol using the MMFF94 force field. Minimum energy structures were subjected to geometry optimization by Density Functional Theory calculations using the B3LYP/DGDZVP level of theory.



Keywords: 2 α -hydroxyeperuic acid, CDI, imidazole, esters, amides.

1. INTRODUCCIÓN

Desde los tiempos remotos, las plantas medicinales han jugado un papel crucial en la salud y bienestar de la humanidad. Dados sus beneficios, no sorprende que la mayoría de las culturas le atribuyen propiedades mágicas además de curativas. Era razonable suponer que durante decenas de miles de años las plantas se habrían utilizado por sus poderes mágicos, rituales tanto como por sus cualidades medicinales. Algunas culturas consideraban que las plantas tenían alma, incluso Aristóteles, filósofo griego del siglo IV a. C., pensaba que las plantas tenían Psique, aunque de un orden inferior que el alma humana¹.



Figura 1. Grupo de filósofos, entre los que se encuentra Aristóteles, Mosaico de Pompeya.

Utilizando herramientas como la etnobotánica, que estudia cómo las personas de una región y cultura en particular utilizan plantas nativas; los químicos medicinales han podido identificar una gran diversidad de compuestos los cuales han tenido una extensiva y efectiva aplicación en el tratamiento y cura de un amplio espectro de padecimientos. Lo que ha logrado impactar en la misma mortalidad del ser humano, aumentando su expectativa de vida desde menos de 25 años en el imperio Romano hasta de 80 años en ciertos países hoy en día².

El reino de las plantas ha sido una de las fuentes más antiguas de fármacos útiles para el hombre. Más del 40% de los fármacos actuales, y aún más de los agentes contra el cáncer, pueden rastrear sus orígenes o principios de diseño sintético en

el descubrimiento de un producto natural. El desarrollo de la química orgánica, la maduración de los campos científicos afines, algunos premios Nobel, fueron posibles gracias a los productos naturales³.

Un ejemplo de estos fármacos (Figura 2), aspirina (analgésico y antiinflamatorio), la quinina (antimalárico), la codeína (analgésico y antitusivo), la efedrina (broncodilatador) y la atropina (dilatador de pupila), entre otros, son ejemplos clásicos que se obtuvieron inicialmente de plantas.

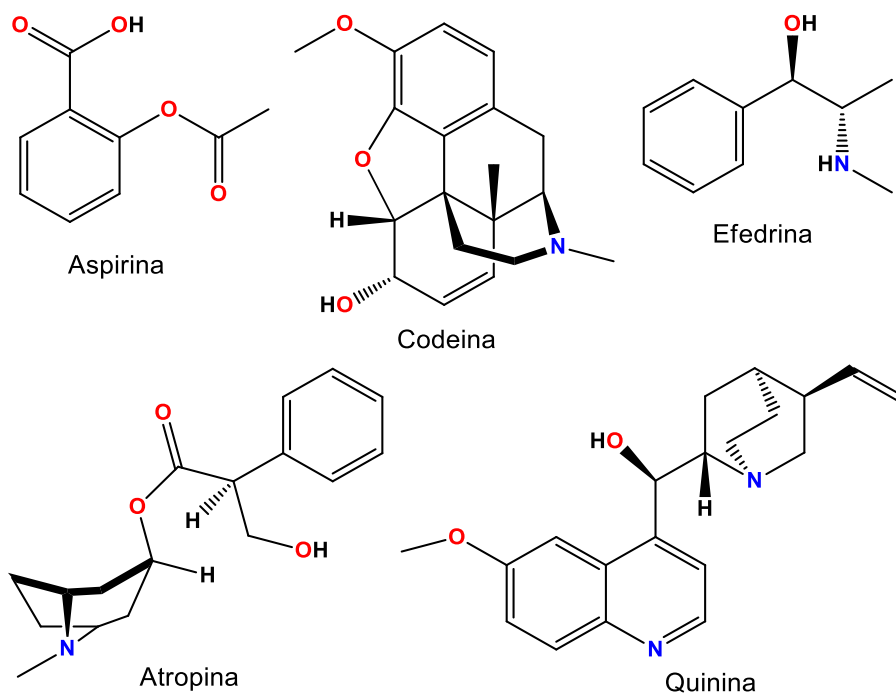


Figura 2. Fármacos obtenidos de productos naturales.

2. ANTECEDENTES

Existe una infinita variedad de compuestos químicos en la naturaleza, no todos poseen la misma función ni importancia en los organismos vivos. Las plantas, hongos, bacterias y organismos marinos, producen productos naturales, mediante metabolismo primario y metabolismo secundario. El metabolismo primario (figura 3) es en el cual todos los organismos sintetizan aminoácidos, lípidos, nucleótidos, y azúcares, a partir de CO_2 , H_2O y algunos metales; los cuales son esenciales para el desenvolvimiento de procesos bioquímicos de organismos funcionales⁴.

A diferencia de otros organismos, las plantas destinan una cantidad significativa de carbono y energía (metabolismo secundario) (Figura 3), para sintetizar moléculas orgánicas las cuales tienen funciones específicas como atrayentes o repelentes de animales, algunos son pigmentos que proporcionan color a flores y frutos, otros dan sabor amargo. Estos metabolitos también se pueden encontrar en animales, pero el 80% de todos los metabolitos conocidos son de origen vegetal^{5,6}. Los metabolitos secundarios se clasifican en tres grupos: terpenos, formados por la vía del mevalonato; fenoles, formados por la vía del shikimato y/o vía de los acetatos y compuestos que contienen nitrógeno (alcaloides), formados por la vía de los aminoácidos⁶.

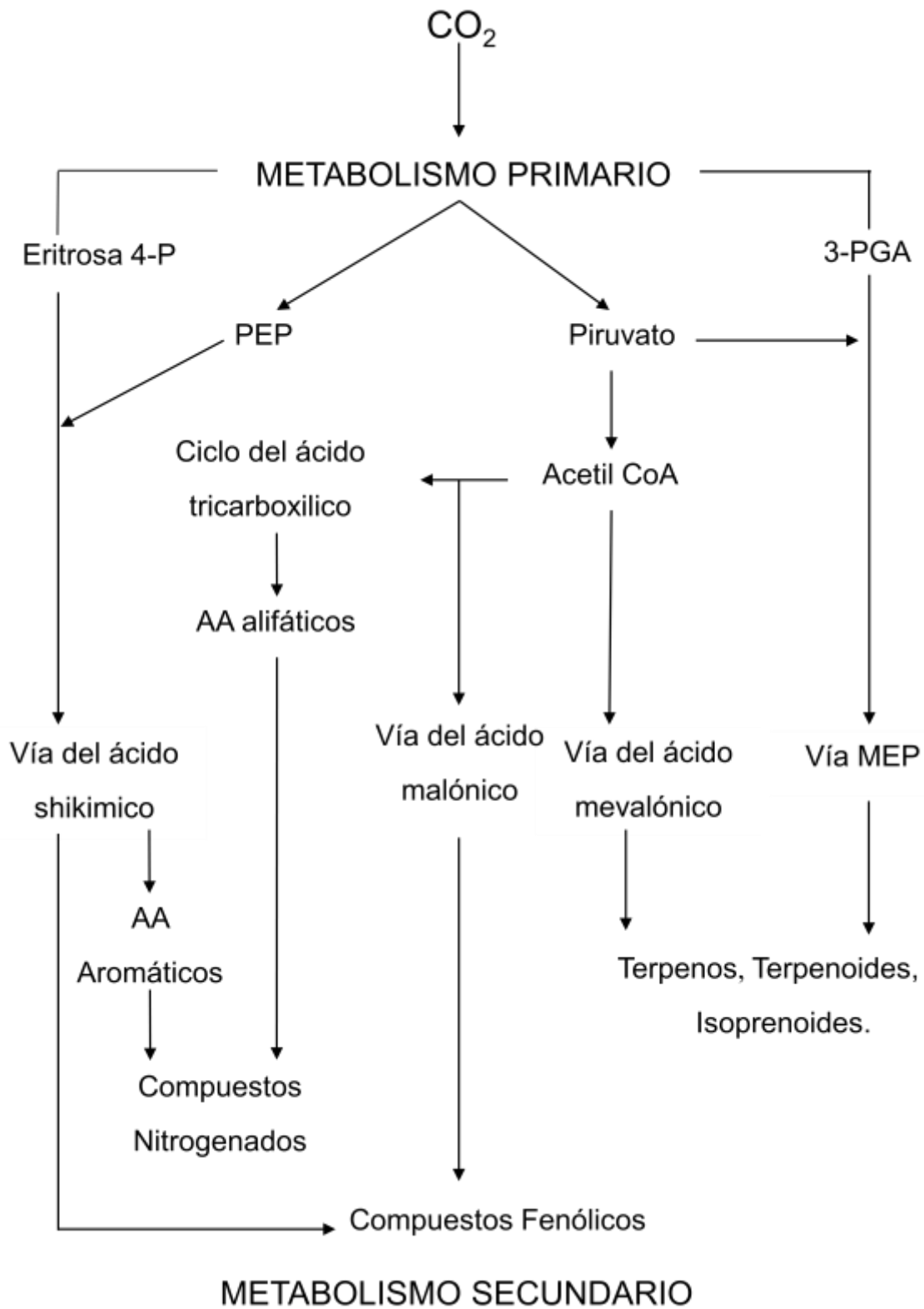
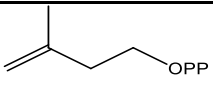
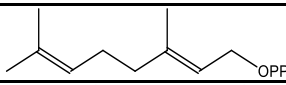
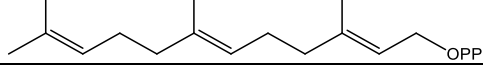
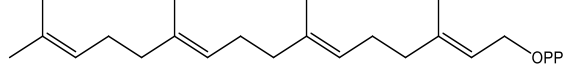
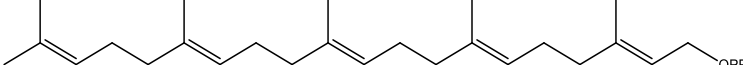
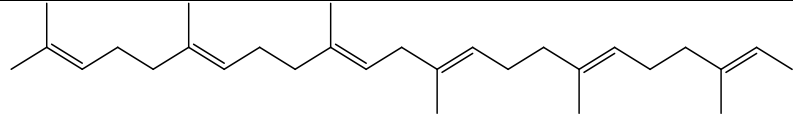
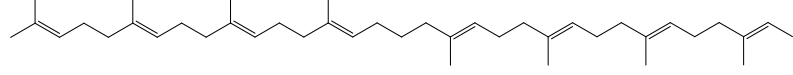
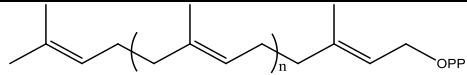


Figura 3. Rutas metabólicas de las plantas.

2.1. Terpenos

Son compuestos orgánicos aromáticos y volátiles, en su mayoría pigmentos, aceites esenciales y vitaminas, se originan por polimerización enzimática de dos o más unidades de isopreno (hidrocarburo de 5 átomos de carbono que proceden del ácido mevalónico). La mayoría de los terpenos tienen estructuras multicíclicas, las cuales difieren entre sí, no sólo en grupo funcional sino también en su esqueleto básico de carbono^{7,8}.

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

Hemiterpenos	C ₅	
Monoterpenos	C ₁₀	
Sesquiterpenos	C ₁₅	
Diterpenos	C ₂₀	
Sésterpenos	C ₂₅	
Triterpenos	C ₃₀	
Tetraterpenos	C ₄₀	
Politerpenos	>C ₄₀	

La mayoría de los terpenos son específicos del reino vegetal, en los organismos animales son más raros, actúan fundamentalmente como precursores en la síntesis de esteroides. Entre los productos naturales, los terpenos son uno de los grupos más numerosos y estructuralmente diversos, muestran un gran número de actividades funcionales. Actualmente, se conocen decenas de miles de compuestos, han demostrado ser buenos agentes antifúngicos, antimicrobianos, antioxidantes e insecticidas⁷.

2.2. Monoterpenos

Representan un grupo de compuestos orgánicos de origen natural cuya estructura básica consiste en dos unidades de isopreno enlazadas. Los aceites esenciales son las moléculas más representativas, constituyen el 90% de las esencias⁹.

Hay esencias volátiles de múltiples vegetales como: limoneno (limón), mentol (menta), geraniol (geranio) y alcanfor (algunos árboles de la familia de las lauráceas) (Figura 4).

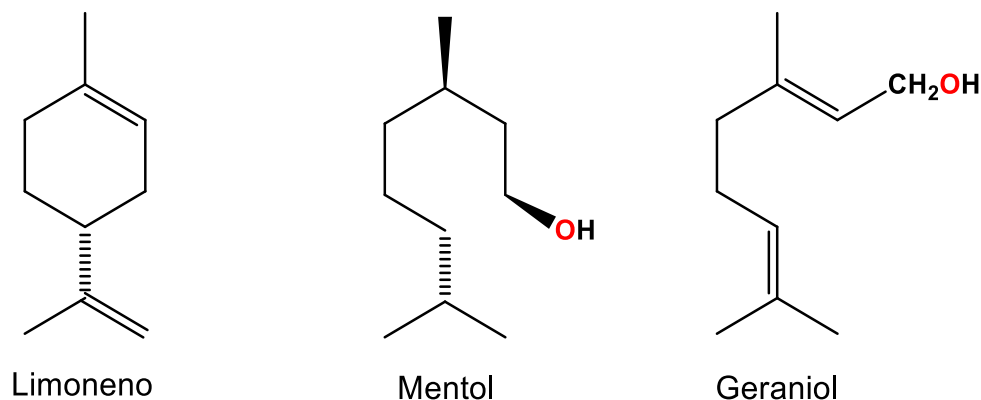


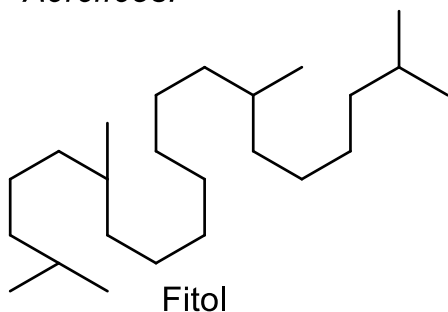
Figura 4. Estructura de monoterpenos comunes.

2.3. Diterpenos

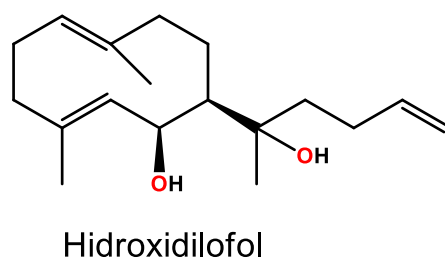
Los diterpenos son un amplio grupo de compuestos con veinte átomos de carbono, derivan del precursor de isopreno geranilgeranil pirofosfato (GGPP), con la ayuda de las diterpeno sintetasas las cuales ciclan GGPP, la estructura de estos es muy variable dependiendo principalmente de su biogénesis. Dentro de los terpenos, los diterpenos son una de las familias más grandes de moléculas naturales, con más de 18 000 compuestos derivados de GGPP¹⁰.

Se clasifican dependiendo de la cantidad de ciclos que presentan en su estructura. Así se tienen diterpenos acíclicos, monocíclicos, bicíclicos, tricíclicos, macrocíclicos, etc. (Figura 5). Y a la vez, dependiendo de la distribución del esqueleto carbonado, pueden conformarse familias dentro de estas subdivisiones, las cuales son nombradas de acuerdo de los primeros compuestos descubiertos para cada una de ellas, por ejemplo, cembranos, labdanos, kauranos, etcétera¹¹. Este tipo de terpenos se encuentran en plantas, hongos, insectos y organismos marinos, pero son los metabolitos más importantes dentro de las plantas.

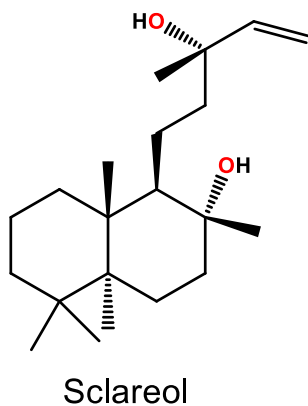
**Acíclicos:*



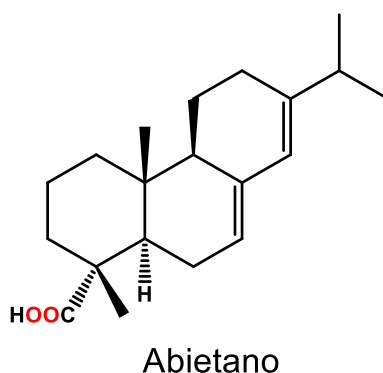
**Monocíclicos:*



**Bicíclicos:*



**Tricíclicos:*



**Tetracíclicos:*

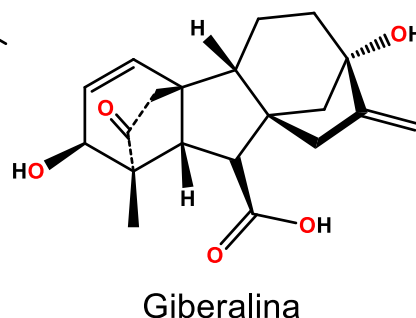


Figura 5. Tipo de diterpenos en las plantas, de acuerdo al número de ciclos que presentan.

Los diterpenos tipo labdano han sido encontrados ampliamente en la naturaleza, aislados principalmente de plantas terrestres y esponjas marinas. Su estructura se basa en un esqueleto carbonado biciclo del tipo *trans*-decalina (Figura 6).

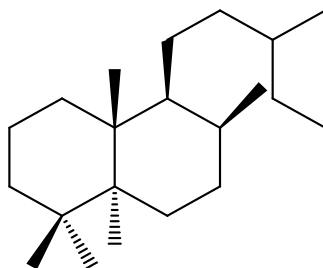


Figura 6. Esqueleto carbonado biciclo del tipo *trans*-decalina.

Se ha demostrado que el compuesto de partida para la síntesis a nivel natural de este tipo de moléculas es el geranilgeranilpirofosfato (GGPP). Este tipo de estructuras se pueden emplear como agentes anticancerosos potenciales⁷.

2.3.1. Actividad biológica de diterpenos

En la actualidad se conoce una amplia gama de actividades farmacológicas de los terpenos, como antimicrobiana, antifúngica, antiparasitaria, antiviral, antialérgicas, cardiotónico, antiespasmódico, antidiabético, antiinflamatorio, antioxidante, quimioterapéutico, anticancerosos, antihiper glucémicas, e inmunomoduladoras.

Los diterpenos son un grupo del cual se han obtenido compuestos con alta actividad biológica. Dentro de las familias más estudiadas se encuentran la Asteraceae y Labiatae, así como las coníferas, que son las principales fuentes de diterpenos.

Fue aprobado por la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) que los diterpenos derivados de plantas son los agentes anticancerosos más eficaces. Uno de los más importantes es el Taxol® (Figura 7) diterpenoide complejo obtenido por primera vez de la corteza del tejo (*Taxus brevifolia*), es un agente antimitótico potente con una excelente actividad contra el cáncer de mama, pulmón y de ovario. Hoy en día el Taxol® ha sido producido semisintéticamente a partir de cultivos de células en suspensión y de precursores como: baccatina III y 10-deacetil-baccatina III aislados de otras especies de *Taxus*^{12,13}.

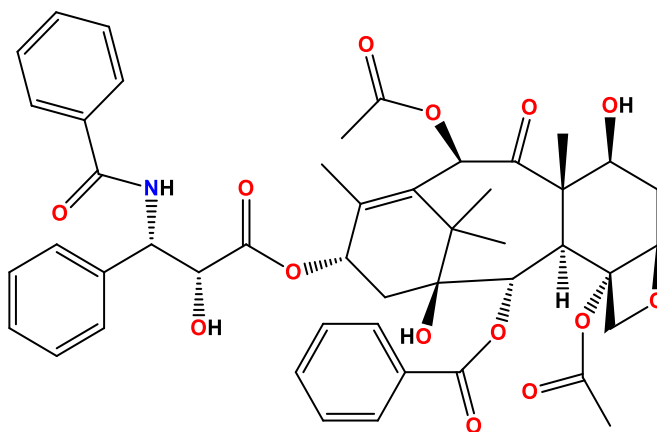


Figura 7. Paclitaxel, comercialmente denominado Taxol®.

Recientes estudios sobre actividad anticancerosa, dieron como resultado que los diterpenos palmonina D y la palmonina F (Figura 8), aislados de *Eunicella singularis*, presentaron una potente actividad apoptótica, además previeron el crecimiento de esferoides incluso después de diez días de incubación. Por lo que podrían usarse como anticancerosos contra el cáncer de mama, ambos compuestos son candidatos para su posterior desarrollo como fármacos¹⁴.

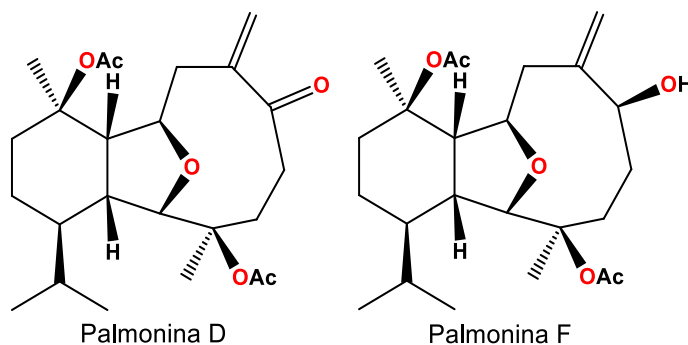


Figura 8. Diterpenos aislados de *E. singularis*.

2.4. Familia Asteraceae

México registra 26 tribus, 417 géneros y 3113 especies de asteráceas, de las cuales 3050 son especies nativas y 1988 son endémicas del territorio nacional. La Asteraceae es la familia más grande de la flora de México por su número de géneros y especie. Los géneros más relevantes por el número de especies y por su componente endémico son: *Ageratina* (164 y 135), *Verbesina* (164, 138) y *Stevia* (116, 95)^{15,16}.

Los estados con mayor número (Figura 9) de especies son: Oaxaca (1040), Jalisco (956), Durango (909), Guerrero (855) y Michoacán (837)¹⁷.



Figura 9. Mapa de México, estados con mayor número de especies de la familia Asteraceae.

2.4.1. Género *Ageratina*

El género *Ageratina* pertenece a la tribu Eupatorie, familia Asteraceae, subfamilia Asteroideae, es el género con más especies de la familia Asteraceae en México, encontrándose alrededor de 153 especies distribuidas en todo el territorio nacional¹⁸.

Las plantas pertenecientes al género *Ageratina* poseen una riqueza importante en compuestos labdanólicos dentro de los que destacan los ácidos catívico, labdadiénoico y 13-*epi*-labdanólico aislados de *A. jocotepecana* y el ácido 2 α -isovaleroxieperuico, un *ent*-labdano aislado de *A. petiolaris*^{19,20}.

2.4.2. *Ageratina petiolaris*

Es un arbusto que puede llegar a 2 m de altura; tallos leñosos, cilíndricos, de 2 a 5 mm de diámetro, estriados, blanco-amarillentos, puberulentos; hojas opuestas, peciolo de 1.5 a 8 cm de largo, pubescente, lámina ovada, de 3.5 a 10 cm de largo

por 2.5 a 10 cm de ancho, ápice agudo u obtuso, borde crenado-dentado, base cordada, haz puberulento, envés pubescente, con abundantes glóbulos resinosos, tri a pentanervada desde la base, membranácea; numerosos capítulos de 7 a 8 mm de largo dispuestos en corimbos, compuestos terminales, pedicelos pubescentes; involucreo turbinado, de 5 a 7 mm de largo por ± 5 mm de ancho, cubre la mitad basal o más de las corolas, sus brácteas discretas en 3 series de la misma longitud, lineal-lanceoladas, agudas, verdes, pubescentes; flores 35 a 40; corola de 4 a 5 mm de largo, blanca, glabra, con glóbulos resinosos en los lóbulos; aquenio de 2 a 3 mm de largo, muy pubescente, vilano casi del largo de la corola, cerdas blanco-rosadas (Figura 10).



Figura 10. *Ageratina petiolaris*.

Ageratina petiolaris conocida comúnmente como “Hierba del ángel” o “Yolochíchitl”. Se ha colectado de Huehuetoca a Milpa Alta y de Pachuca y Real del Monte a Amecameca, entre 2350 y 3000 m de altitud, en sitios con pastizal, matorral xerófilo y bosque de pino, encino y *Juniperus*; crece frecuentemente en ambientes de disturbio, especialmente a lo largo de caminos y carreteras²¹.

Existen varios reportes sobre la composición fitoquímica de *A. petiolaris* (Figura 11) identificando al 2-hidroxi-6-metoxibenzoato de bencilo (**1a**), 2,6-dimetoxibenzoato de bencilo (**1b**), 2,6-dimetoxibenzoato de 3-metoxibencilo (**1c**), 2-hidroxi-3,6-dimetoxibenzoato de bencilo (**1d**), chamazuleno (**2**), *L*-quiro-inositol (**3**), ácido clorogénico (**4**), ácido 2 α -iso-valeroxieperuico (**5**) y ácido 2 α -tigloiloxieperuico (**6**)²².

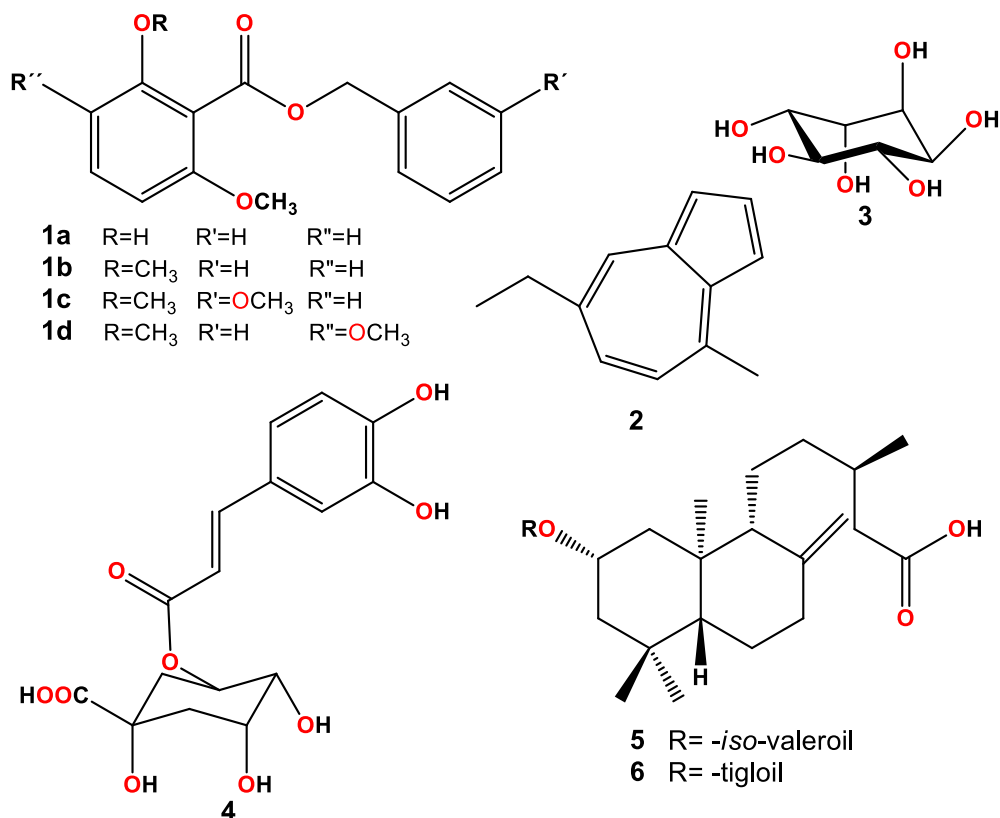


Figura 11. Composición fitoquímica obtenida de *A. petiolaris*.

El ácido 2 α -iso-valeroxieperuico (**5**), diterpeno tipo *ent*-labdano al cual se le realizaron diferentes reacciones químicas obteniéndose diferentes derivados (Figura 12)²⁰.

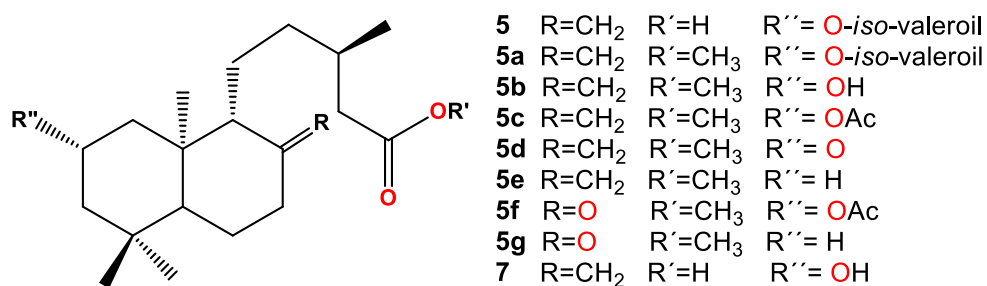


Figura 12. Derivados del ácido 2 α -iso-valeroxieperuico (**5**).

A partir de una hidrólisis básica sobre el enlace tipo éster del ácido 2 α -iso-valeroxieperuico (**5**), se obtiene el ácido 2 α -hidroxieperuico (**7**) en forma de cristales (Figura 13).

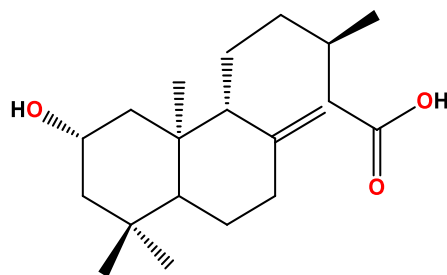


Figura 13. Ácido 2α-hidroxiéperuico (7).

2.4.3. Ácido 2α-hidroxiéperuico

En trabajos recientes se ha estudiado la transformación química del ácido 2α-hidroxiéperuico (7) preparándose nuevos derivados²¹⁻²⁵.

Los derivados **8** y **9** se obtuvieron mediante la modificación del grupo hidroxilo en la posición C-2 (Figura 14) y los derivados **10-16** mediante la transformación del grupo carboxilo en la posición C-15 (Figura 15), por un activador del grupo carboxilo (CDI) y anhídridos mixtos.

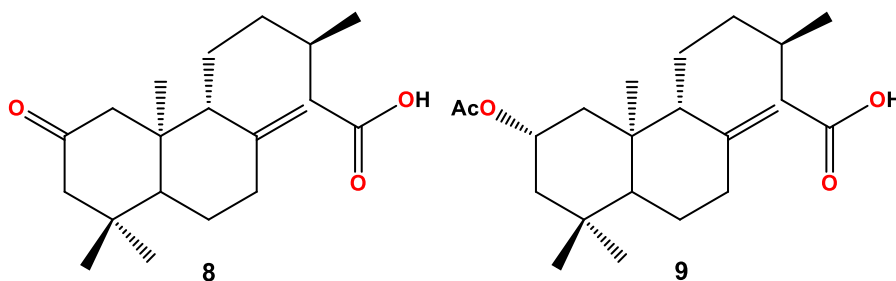


Figura 14. Derivados del ácido 2α-hidroxiéperuico (7) en la posición C-2.

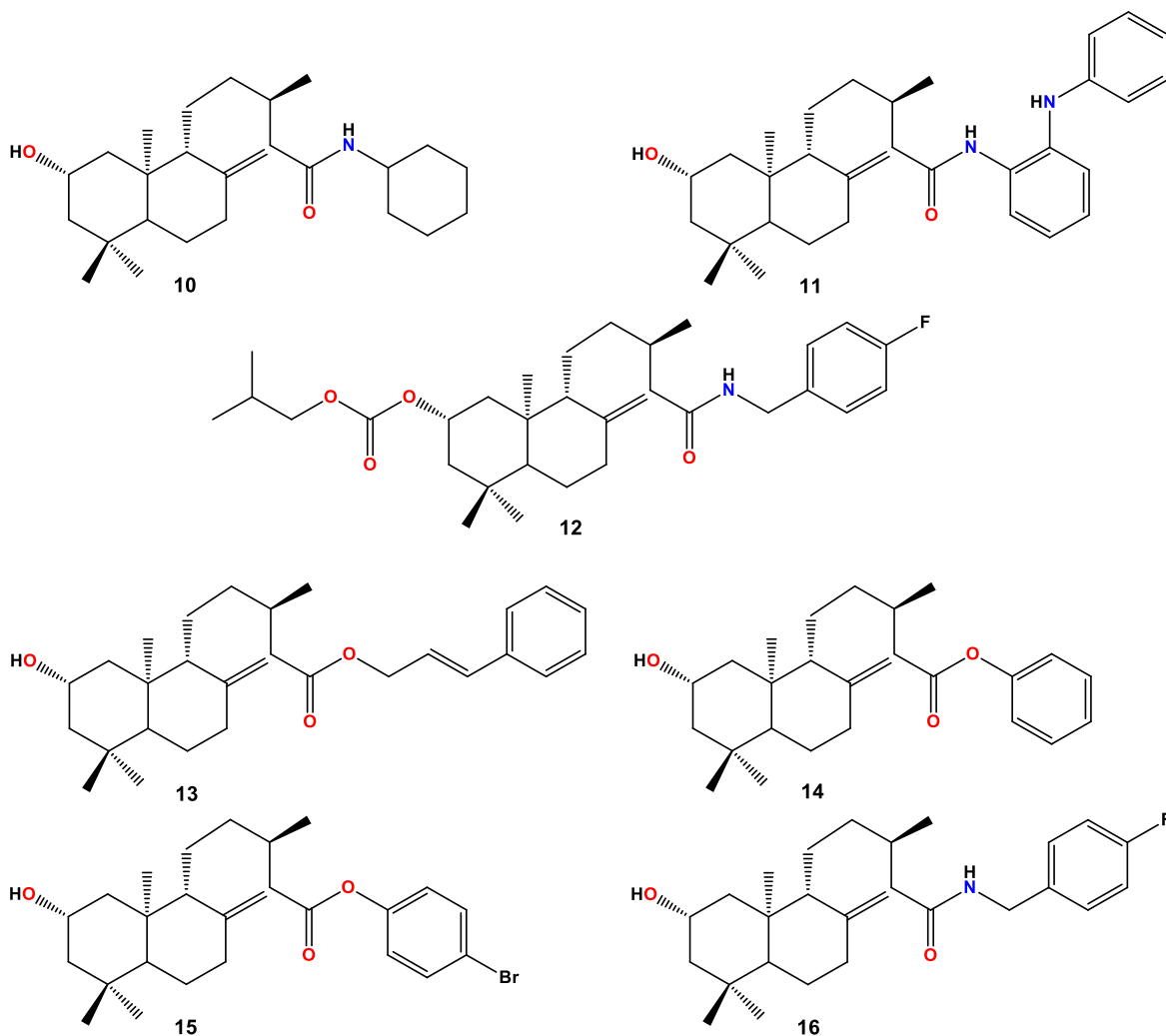


Figura 15. Derivados de grupo carboxilo C-15 del ácido 2α-hidroxiieperuico (7).

A partir del derivado oxidado **8** se obtuvo la 2,4-dinitrofenilhidrazona (**17**) (Figura 16).

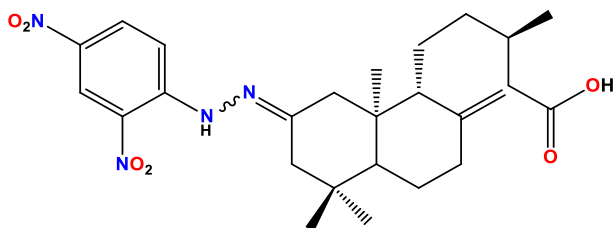


Figura 16. 2,4-dinitrofenilhidrazona (**17**).

Así mismo, a partir del derivado acetilado **9** se realizó la preparación de las amidas **18-21** y los ésteres **22-24** (Figura 17).

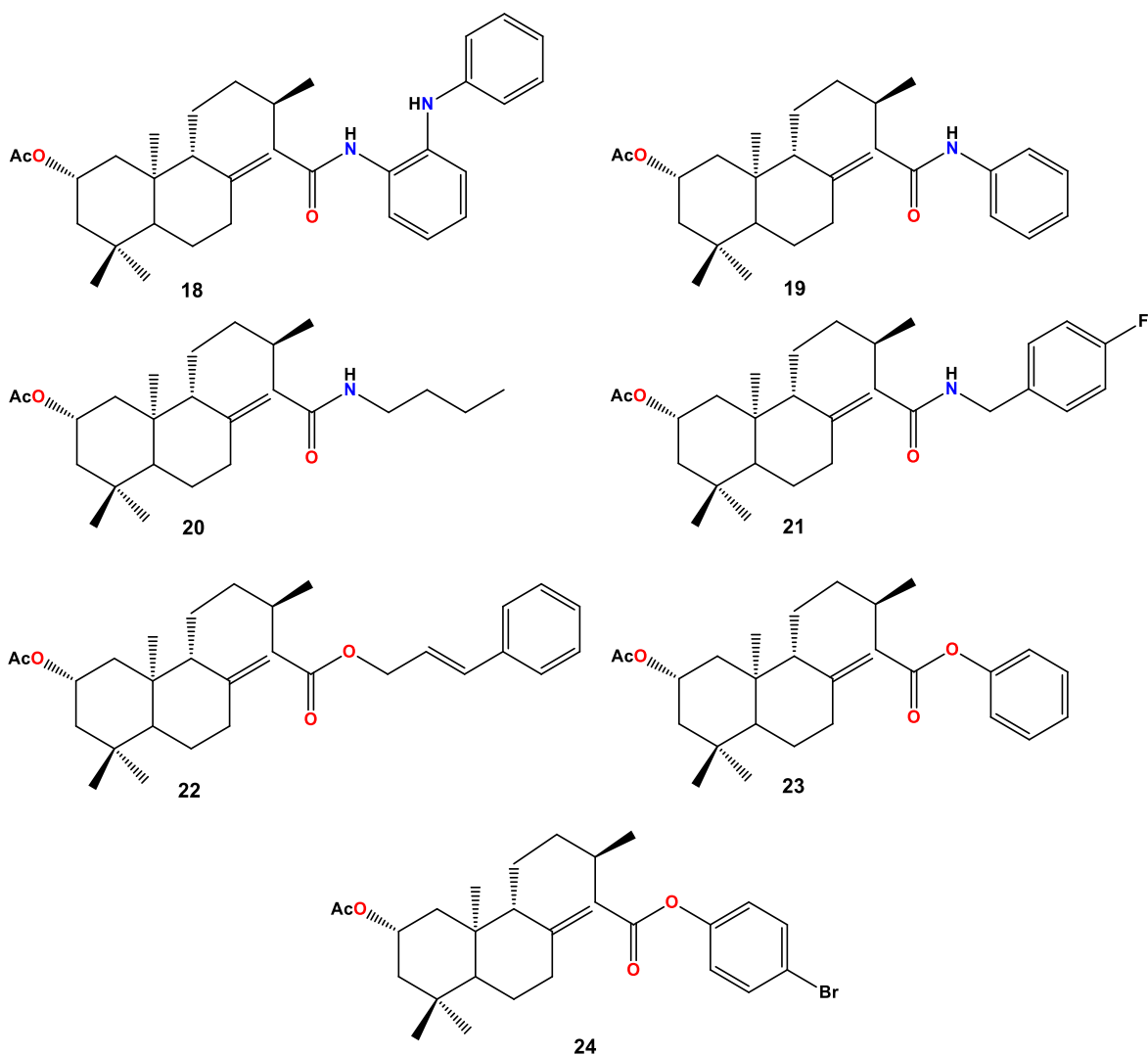


Figura 17. Derivados obtenidos a partir del ácido 2α-acetoxieperuico (**9**).

Mientras que a partir de **5b** se preparó el derivado cinamoilado **25**, y de la amida **19** se preparó el derivado **26**, a su vez de **26** se preparó el derivado **27** (Figura 18).

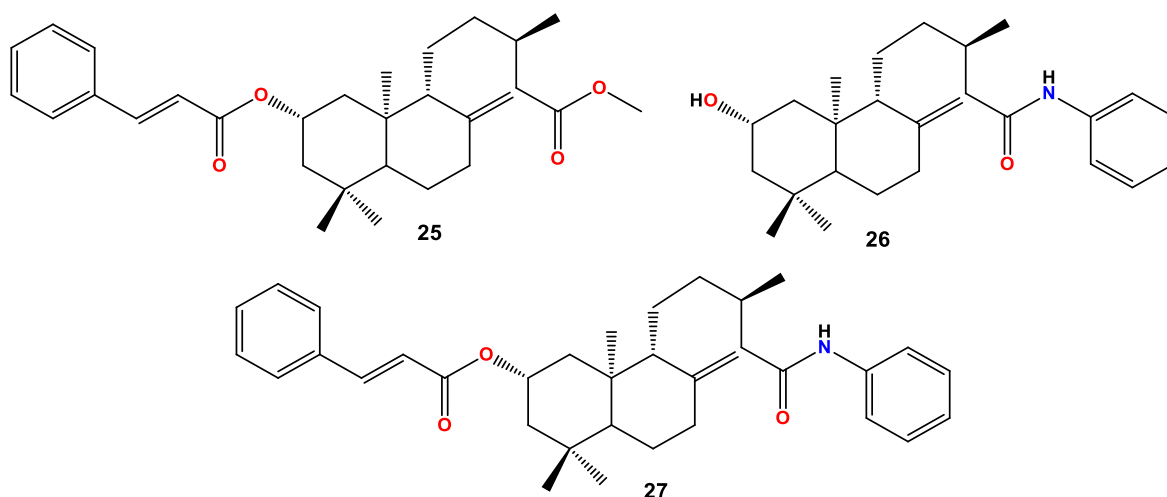


Figura 18. Derivados **25**, **26** y **27**.

En estudios recientes de anclaje molecular los derivados **11** y **27** mostraron que son los ligandos con mayor afinidad a la tubulina²³, además el sitio de unión es el mismo que ocupa el paclitaxel en la proteína. También se ha demostrado en estudios de equilibrio dinámico de la tubulina frente a derivados diterpénicos ensayados *in vitro* que el derivado **27** muestra mayor actividad como estabilizador de microtúbulos, seguido del derivado **19**, pero el caso más notable fue **27**, el cual mostró actividad tanto en los estudios *in vitro* como *in silico*.

Se ha confirmado que el diterpeno *ent*-labdano (**7**) es un precursor potencial para la preparación de estructuras con interés farmacológico, especialmente para generar fármacos con actividad anticancerosa²³.

2.5. Activadores del grupo carboxilo

Los derivados de los ácidos carboxílicos son difíciles de preparar mediante reacciones directas con aminas y alcoholes debido a su complejidad, por lo que se ha llegado a la necesidad de utilizar activadores del grupo carboxilo. La activación del ácido carboxílico se puede lograr por conversión en grupos funcionales más reactivos como el haluro de acilo, anhídrido, azida de acilo o por activación *in situ* mediante reactivos de acoplamiento tales como: El *N,N'*-carbonildiimidazol (CDI), *N,N'*-diciclohexilcarbodiimida (DCC) (Figura 19) entre otros^{24,25}.

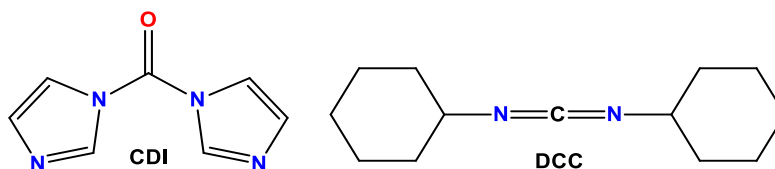


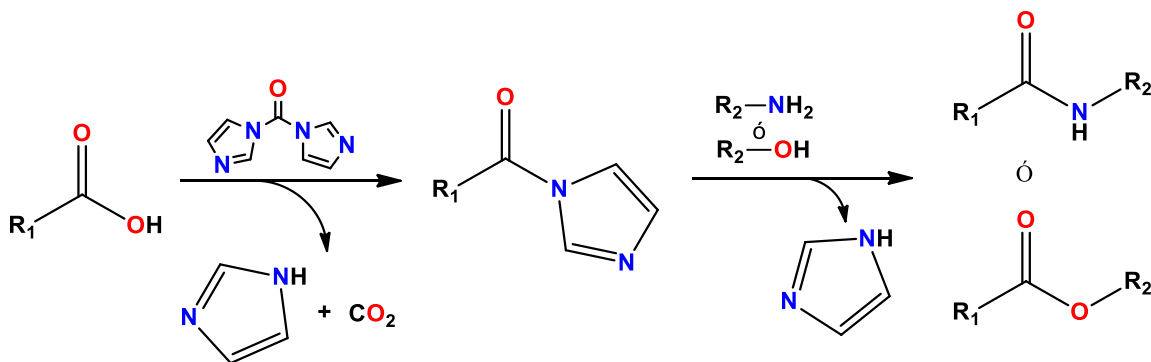
Figura 19. Activadores del grupo carboxilo.

2.5.1. Formación de amidas y ésteres

Las amidas abundan en todos los organismos vivos; las proteínas, ácidos nucleicos y muchos de los productos farmacéuticos tienen grupos funcionales amidas, estas son más estables a condiciones acuosas que se encuentran en los organismos vivos^{26,27}.

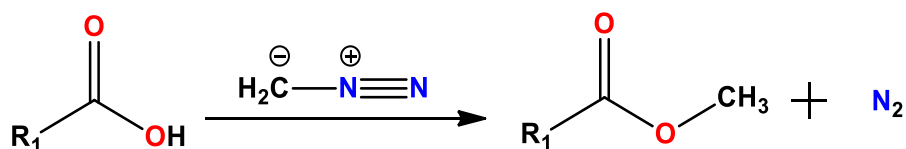
Los ésteres al igual que las amidas se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza. En general tienen olores agradables y están presentes en frutas, flores y aceites esenciales. En la industria se utilizan como aditivos para mejorar el aroma y el sabor en alimentos y en la industria farmacéutica se usan frecuentemente para la fabricación de analgésicos²⁸.

Algunas de las metodologías (Esquema 1) descritas para la obtención de amidas y/o ésteres utilizan el CDI en atmósfera de nitrógeno, el cual mediante el intermediario acil-imidazol, por ser una especie más reactiva favorece el ataque nucleofílico sobre el grupo carboxilo por parte de una amina o un alcohol obteniendo así las amidas y ésteres correspondientes²⁹.



Esquema 1. Mecanismo de reacción del *N,N'*-carbonildiimidazol (CDI).

La reacción de ácidos carboxílicos con diazometano (Esquema 2) permite obtener ésteres metílicos en buenos rendimientos. Cabe mencionar que es poco utilizada debido a la elevada toxicidad del diazometano.



Esquema 2. Reacción para la obtención del éster metílico con diazometano.

2.6. Métodos de Química Computacional

2.6.1. Modelado molecular

Es una técnica computacional que permite estudiar la interacción que existe entre moléculas químicas, mediante el empleo de programas informáticos que representen las estructuras y comportamiento de las moléculas³⁰.

2.6.2. Protocolo Monte Carlo

Protocolo de Monte Carlo es una combinación de muestreo aleatorio y el empleo de la distribución de Boltzmann. Es una manera de seleccionar estructuras tridimensionales arbitrarias, no relacionadas entre sí. Las configuraciones secuenciales de este tipo de muestreo son instantáneas, al azar del movimiento total de la molécula y por tanto no ofrece ninguna pista sobre la ruta traslacional que las une³¹.

2.6.3. Mecánica molecular

Es un método de cálculo diseñado para obtener energías y estructuras de moléculas. Los cálculos de mecánica molecular o campo de fuerza están basados sobre modelos simples de mecánica clásica de estructura molecular.

El método surge de las nociones simples de enlaces, ángulos diedros. La idea básica es que estos poseen valores naturales a los cuales las moléculas ajustan sus geometrías en los casos simples. Para moléculas complejas, el efecto de las interacciones de no enlace provoca una deformación de las mismas con respecto a los valores de equilibrio normales, pero de manera predecible³⁰.

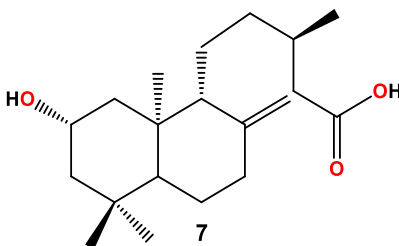
2.6.4. Teoría de Funcionales de la Densidad

Es un proceso variacional alternativo a la solución de la ecuación de Schrödinger, donde el funcional de la energía electrónica es minimizado con respecto a la

densidad electrónica. Es uno de los métodos más utilizados en los cálculos cuánticos de la estructura electrónica de la materia, tanto en la física de la materia condensada como en la química cuántica³⁰.

3. JUSTIFICACIÓN

Debido a que se ha confirmado que el diterpeno *ent*-labdano [ácido 2 α -hidroxieperuico (7)] es un precursor potencial para la preparación de moléculas con interés farmacológico, especialmente para generar fármacos con actividad anticancerosa ya que posee dentro de su estructura grupos funcionales, de los cuales destacan el hidroxilo y el carboxilo en las posiciones C-2 y C-15 respectivamente, que nos permiten la obtención de nuevos derivados.



4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo general

Preparar nuevos derivados con la transformación química de los grupos funcionales del ácido 2 α -hidroxieperuico (7) obtenido por hidrólisis básica del extracto hexánico de flores de *Ageratina petiolaris*.

4.2. Objetivos específicos

- Colectar y separar las partes de *Ageratina petiolaris* y obtener el extracto hexánico de flores.
- Obtener el ácido 2 α -hidroxieperuico por hidrólisis alcalina con KOH en metanol del extracto hexánico.
- Realizar las reacciones correspondientes para llevar a cabo la transformación química del ácido 2 α -hidroxieperuico (7).
- Caracterizar los productos obtenidos, mediante sus datos físicos y de Resonancia Magnética Nuclear de ^1H y ^{13}C .
- Obtener el mínimo global de los productos obtenidos empleando la Teoría de Funcionales de la Densidad.

5. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Se colectó *Ageratina petiolaris* al oriente del estado de Michoacán cerca de San Joaquín Morelos, Municipio de Tlalpujahua a 2592 msnm; utilizando para este estudio únicamente las flores, ya que en esta parte se encontraba el ácido 2 α -isovaleroxieperuico (**5**) en abundancia, en comparación con hoja, tallo y raíz, de acuerdo a los estudios realizados previamente dentro de nuestro grupo de trabajo²¹.

5.1 Obtención del ácido 2 α -hidroxieperuico (**7**)

Se obtuvo el extracto hexánico de las flores de *Ageratina petiolaris* el cual se sometió a una hidrólisis alcalina para obtener el ácido 2 α -hidroxieperuico (**7**), como cristales incoloros en forma de aguja, con un punto de fusión de 127-128 °C (127-128 °C²⁰), el cual se identificó por medio de sus espectros de RMN.

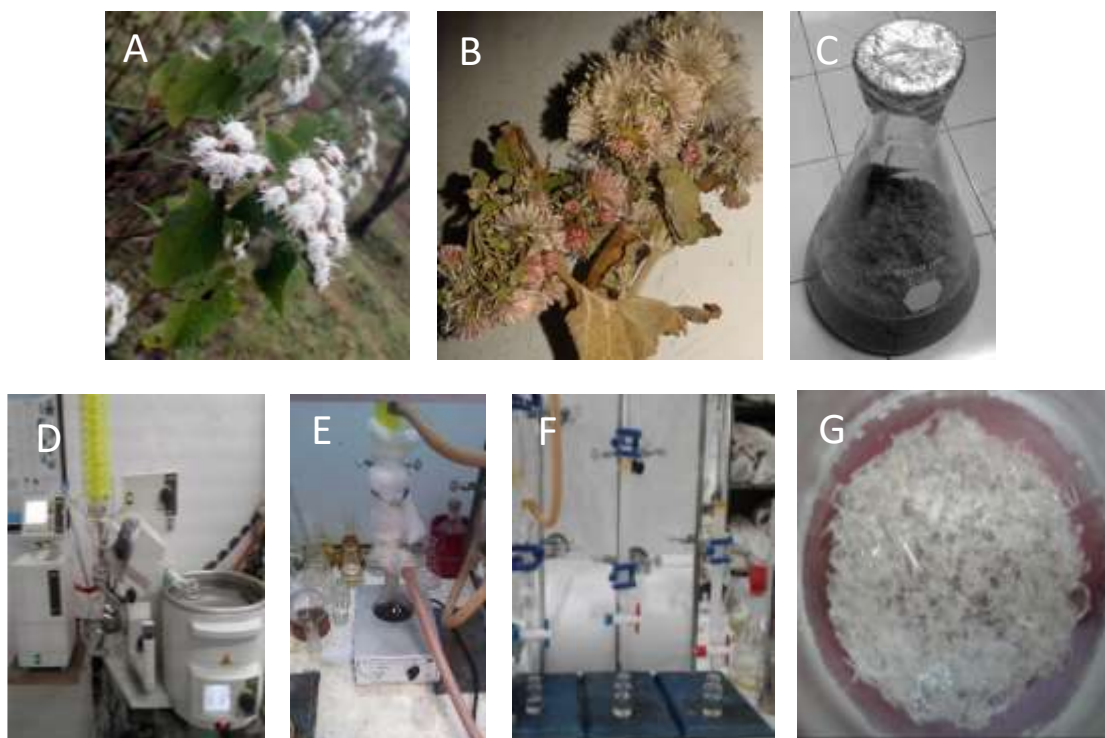


Figura 20. Obtención del ácido 2 α -hidroxieperuico (**7**). A) *Ageratina petiolaris* en su habitat; B) Flores secas; C) Maceración en hexano; D) Concentración de extracto; E) Hidrólisis alcalina; F) Cromatografía en columna; G) Formación de cristales del ácido 2 α -hidroxieperuico (**7**).

En el espectro de RMN de ^1H (Figura 21), se observaron dos señales simples en 4.86 y 4.51 ppm correspondientes a los hidrógenos del metileno exocíclico H-17 y H-17' respectivamente, en 4.17 ppm una señal quíntuple ($J = 5.4 \text{ Hz}$) correspondiente al hidrógeno base de hidroxilo H-2, en 1.15 ppm se observó una señal doble de dobles ($J = 12.4, 2.8 \text{ Hz}$) identificada como H-5, en 0.99 ppm se encontró una señal simple que integra para tres hidrógenos H-18, así mismo en 0.98 ppm se observó una señal doble ($J = 6.9 \text{ Hz}$) correspondiente al metilo secundario H-16, en 0.92 y 0.91 ppm se observaron dos señales simples correspondientes a los metilos H-19 y H-20 respectivamente.

En el espectro de RMN de ^{13}C (Figura 22) se observaron 20 señales las cuales corresponden al diterpeno, en 178.9 ppm se observa la señal correspondiente al carbonilo C-15, en 148.0 ppm se observó la señal del C-8 base de metileno exocíclico, en 107.0 ppm se encuentra la señal del carbono del metileno exocíclico C-17, en 67.8 ppm se observó la señal del carbono base de hidroxilo C-2.

Una vez identificado el *ent*-labdano, se continuó con la preparación de nuevos derivados a partir de las funcionalizaciones contenidas en la estructura.

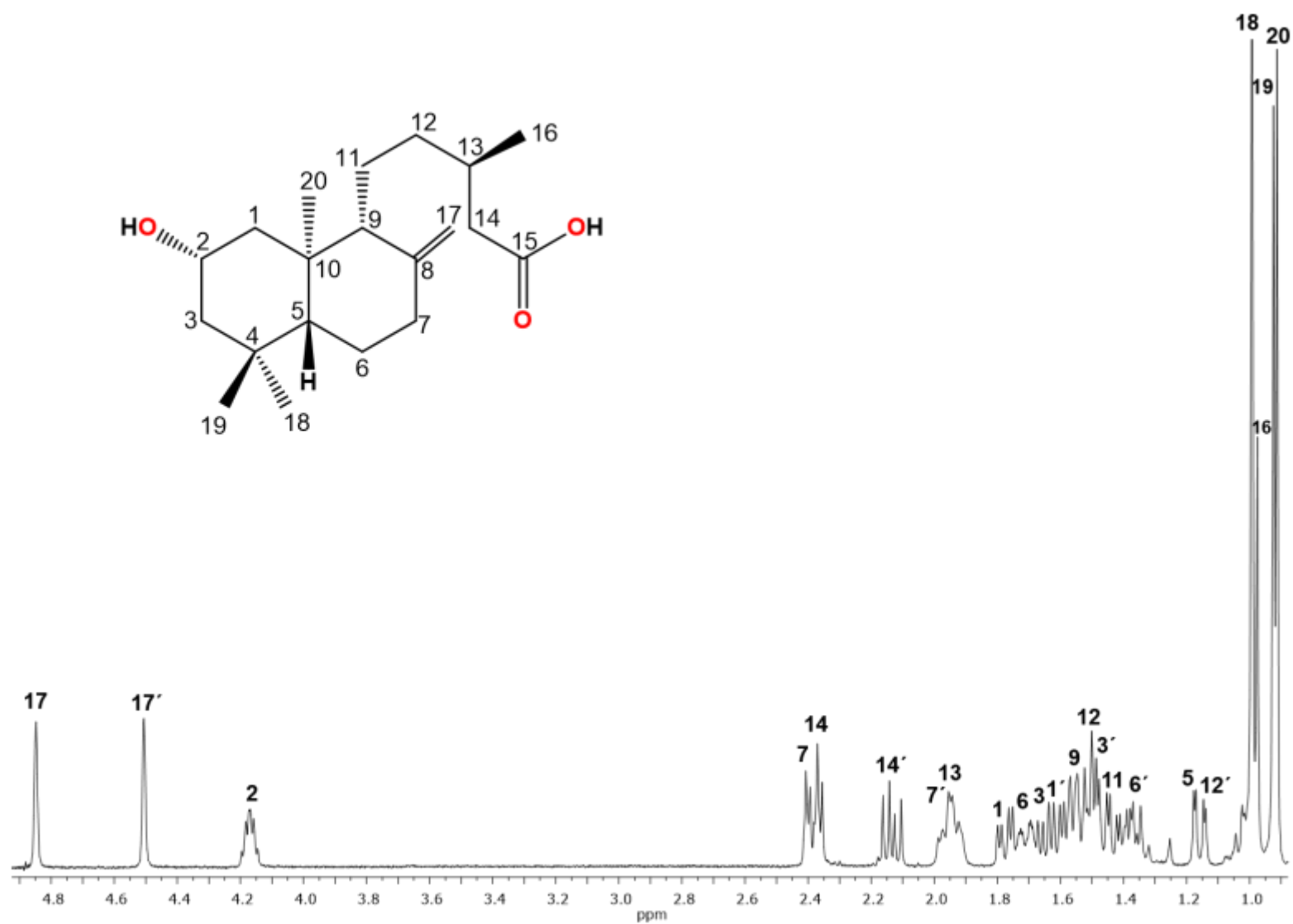


Figura 21. Espectro de RMN de ¹H (400 MHz) del ácido 2α-hidroxi-peruico (7) en CDCl₃.

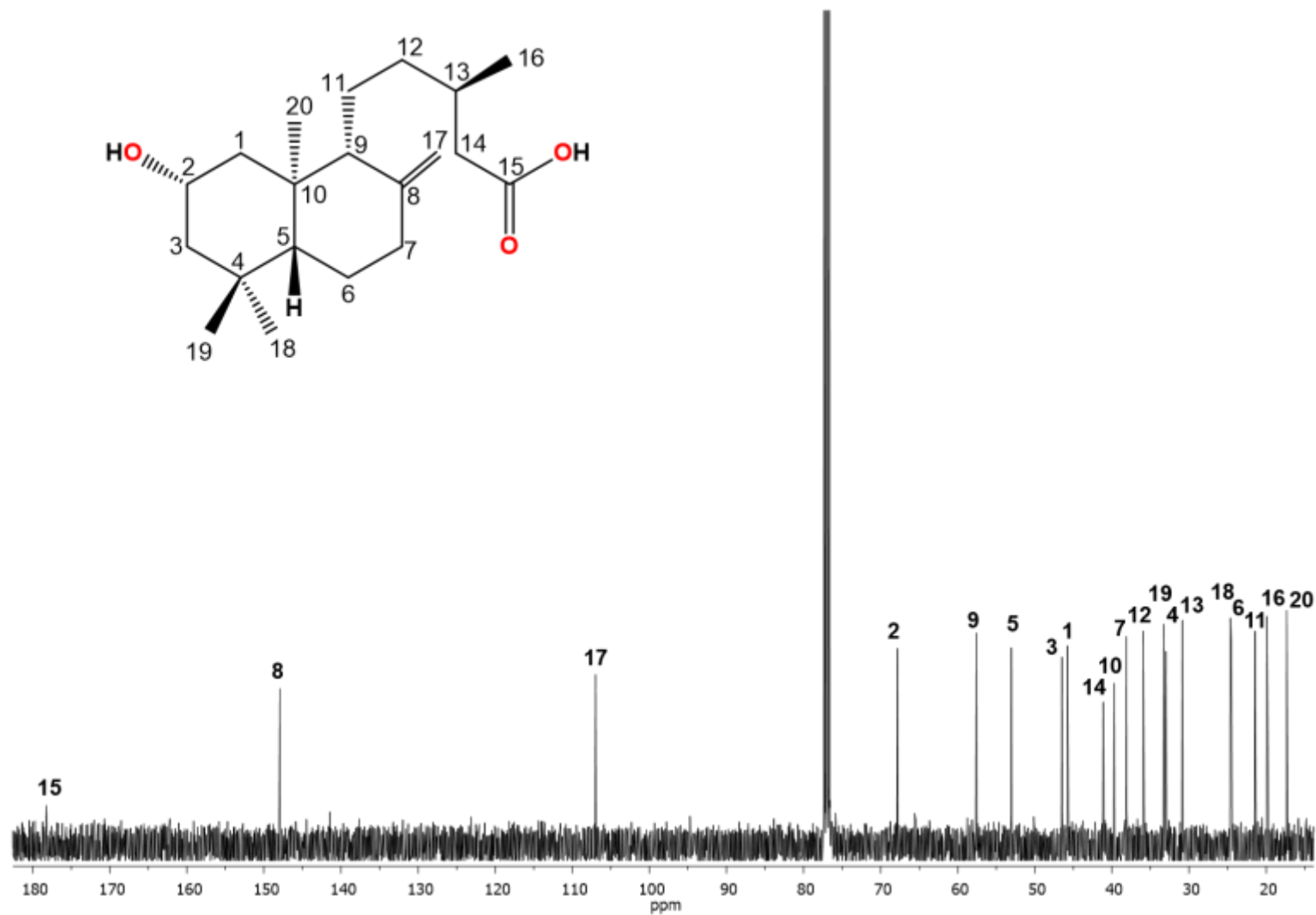
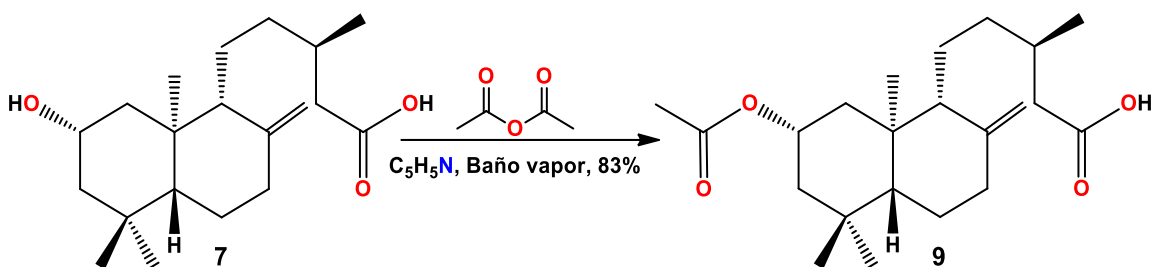


Figura 22. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) del ácido 2α-hidroxi-peruico (7) en CDCl_3 .

5.2. Esterificación del ácido 2 α -hidroxieperuico

El compuesto **9** se obtuvo con la acetilación del grupo hidroxilo en C-2 del ácido **7**, se colocó la materia prima en un vial, posterior se le adiciono piridina para disolver el ácido **7** y finalmente se agregó anhídrido acético, dejando reaccionar en baño de vapor por 24 horas, el derivado acetilado se identificó por medio de sus espectros de RMN.



Esquema 3. Obtención del compuesto acetilado **9**.

El espectro de RMN de 1H de **9** (Figura 23) mostró una señal quíntuple en 5.15 ppm ($J = 3.9$ Hz), correspondiente al hidrógeno base de éster H-2, y en 2.03 ppm una señal simple que integra para tres protones H-22.

El espectro de RMN de ^{13}C de **9** (Figura 24) mostró dos señales de carbonilo, una en 179.3 ppm correspondiente al ácido carboxílico y otra en 170.6 ppm asignada al carbonilo de éster del acetilo, también resultan importantes las señales en 70.6 ppm del carbono base de éster y en 21.6 ppm la señal que se asignó al metilo del acetilo. Lo que concuerda con el reporte previo.

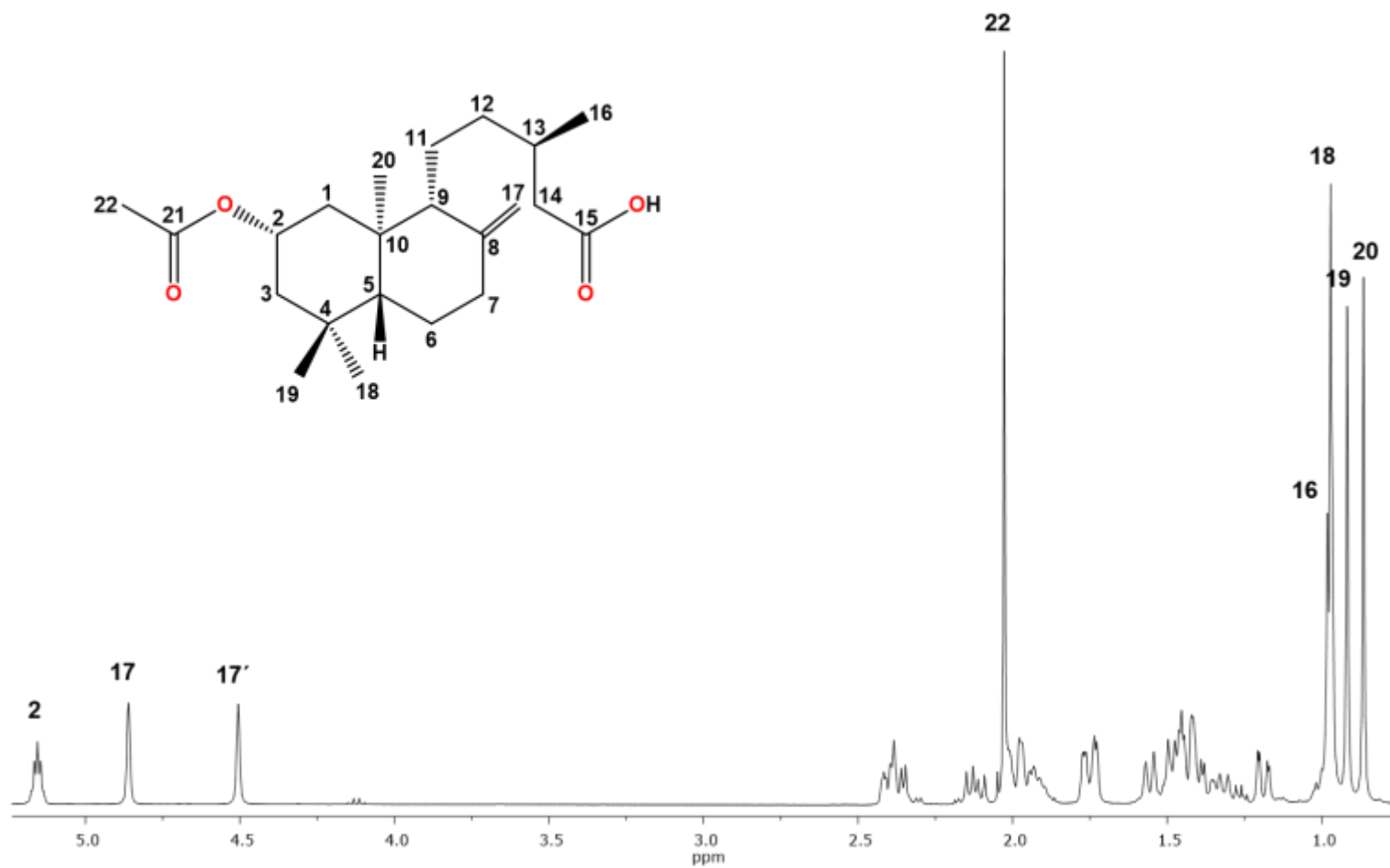


Figura 23. Espectro de RMN de ¹H (400 MHz) del ácido 2α-acetoxieperuico (**9**) en CDCl₃.

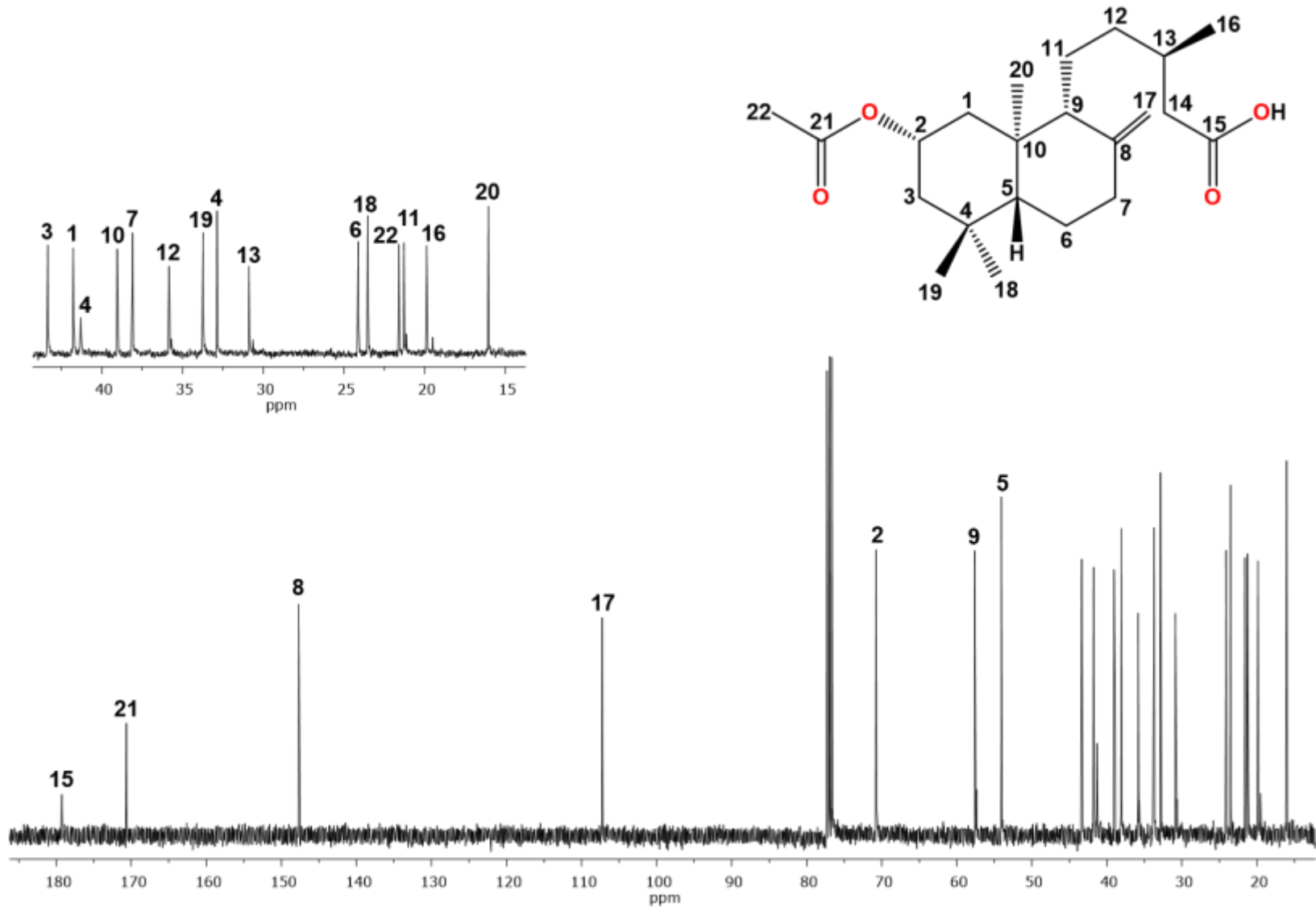
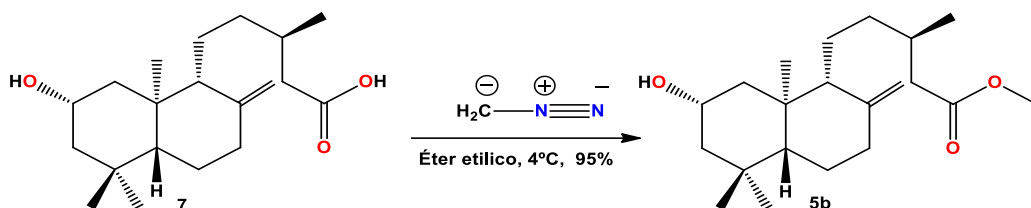


Figura 24. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) del ácido 2α-acetoxieperuico (9) en CDCl_3 .

5.3. Preparación del éster metílico **5b** del ácido 2 α -hidroxieperuico

La metilación del ácido 2 α -hidroxieperuico (**7**) en el grupo carboxilo se llevó a cabo con diazometano, la reacción fue *in situ*, quedando como producto el éster metílico del ácido 2 α -hidroxieperuico (**7**), y también se preparó mediante un activador del grupo carbonilo (CDI) y metanol (21%), obteniendo una miel incolora.



Esquema 4. Obtención del éster **5b** con diazometano.

El espectro de RMN de ^1H de **5b** (Figura 25) mostró una señal quintuple ($J = 4.5$ Hz) en 4.15 partes por millón, correspondiente al hidrógeno base hidroxilo H-2, y una señal en 3.66 ppm correspondiente al metilo de éster que integra para tres protones.

El espectro de RMN de ^{13}C de **5b** (Figura 26) mostró una señal en 173.3 ppm correspondiente al carbonilo de éster C-15, en 67.5 ppm mostró una señal del carbono base de hidroxilo C-2 y en 51.2 ppm la señal que se asignó al metilo de éster C-21, lo que concuerda con el reporte previo.

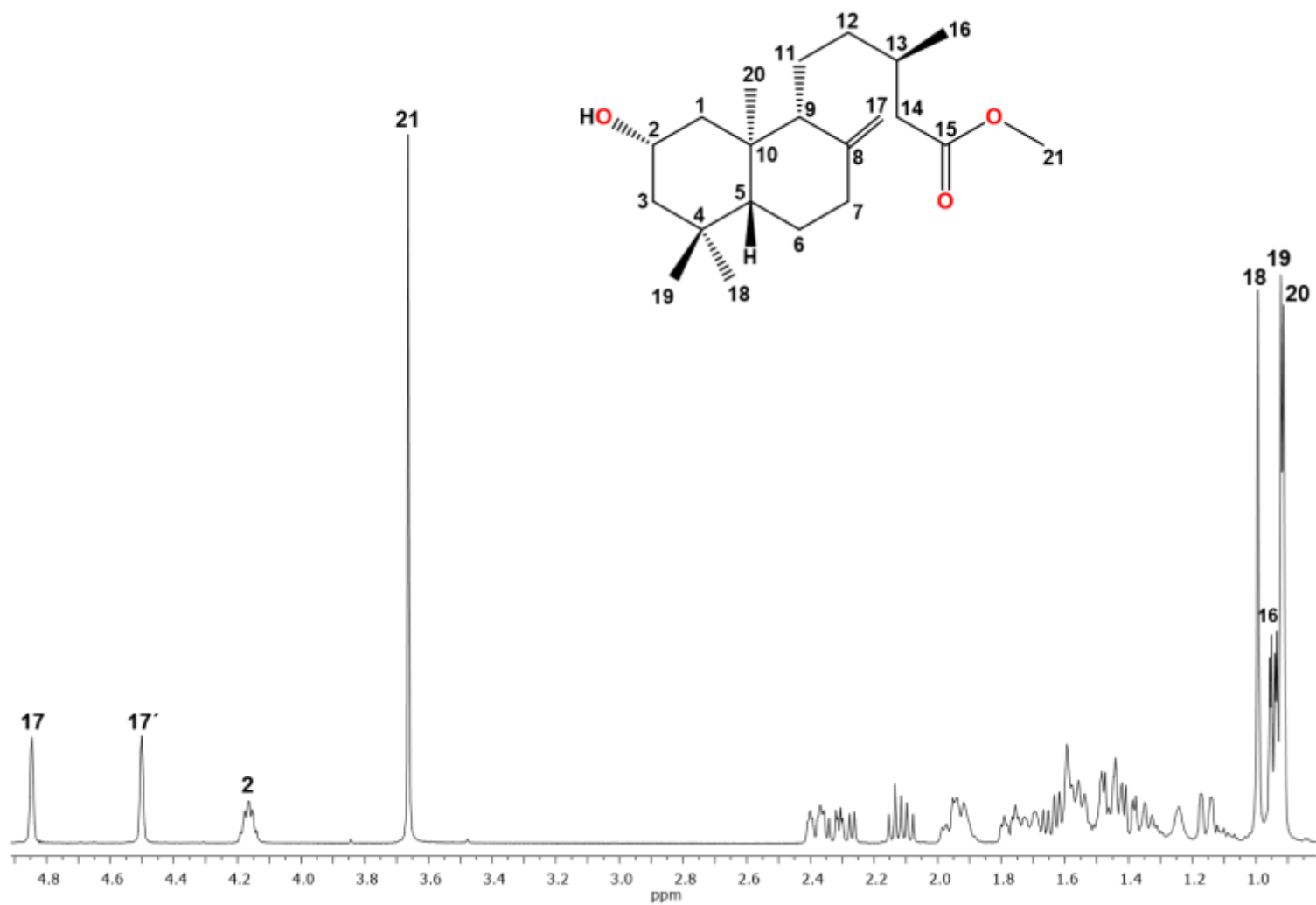


Figura 25. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) del éster metílico **5b** en CDCl_3 .

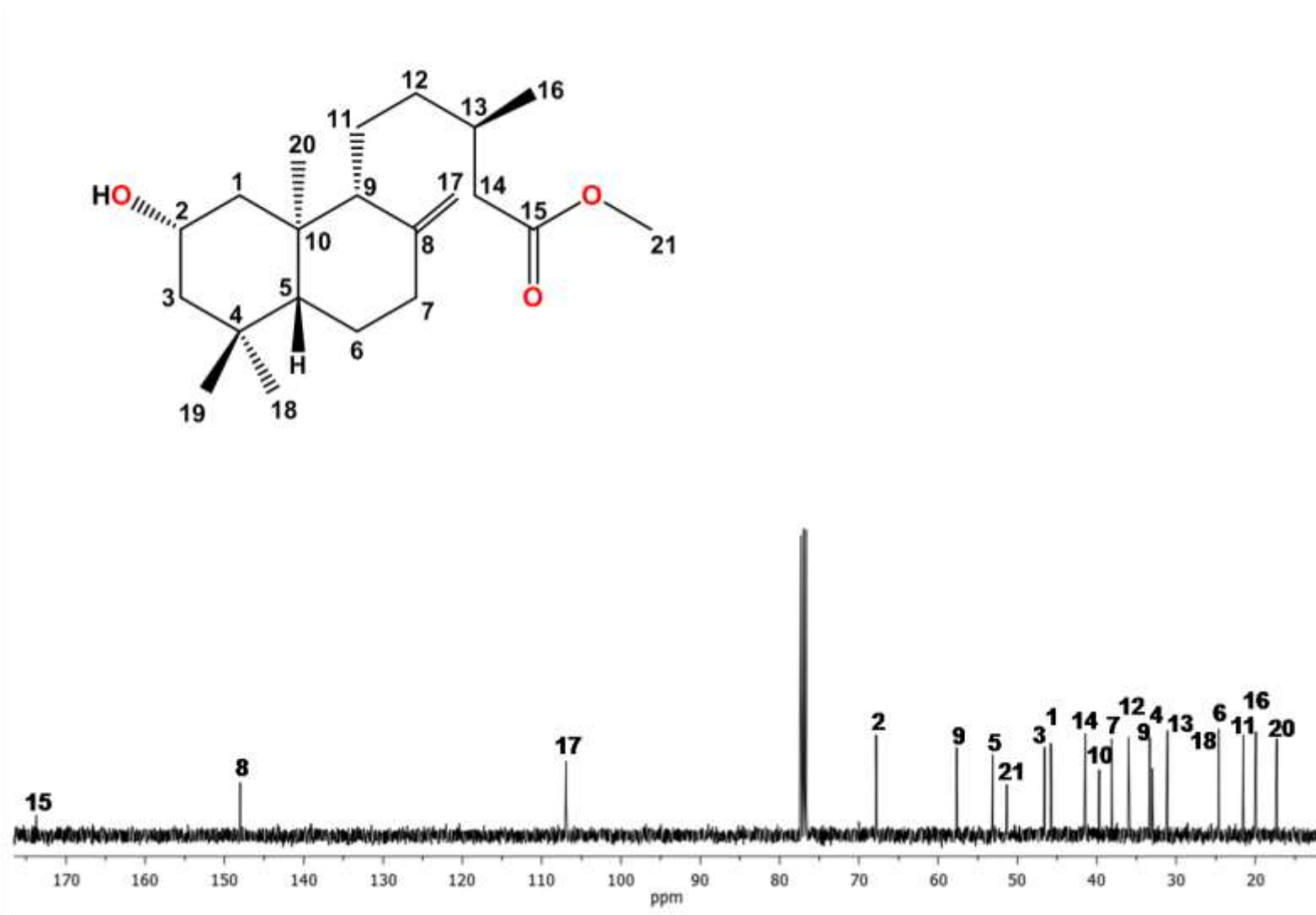
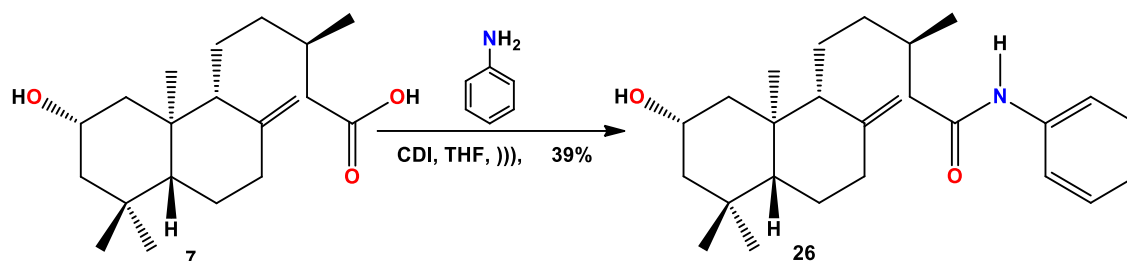


Figura 26. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) del éster metílico **5b** en CDCl_3 .

5.4. Preparación de 2 α -hidroxi-N-fenileperuamida (**26**)

La amida **26** se preparó partiendo del ácido 2 α -hidroxieperuico (**7**) empleando CDI como agente activador acompañado de anilina mediante la técnica de ondas ultrasónicas a temperatura ambiente.



Esquema 5. Obtención de la amida **26**.

El espectro de RMN de ^1H de **26** (Figura 27) mostró en 7.52 ppm una señal doble ($J = 7.6$ Hz) para H-22 y 26, en 7.32 ppm se apreció una señal triple ($J = 7.6$ Hz) para H-23 y 25, en 7.11 ppm una señal triple ($J = 7.6$ Hz) asignada a H-24, señales para los hidrógenos del anillo aromático, así mismo se mostraron dos señales simples en 4.84 y 4.50 ppm correspondientes a los hidrógenos del metileno exocíclico H-17 y H-17' respectivamente, en 4.17 ppm se observó una señal quíntuple ($J = 5.3$ Hz) correspondiente al hidrógeno base de hidroxilo H-2, así como el resto de las señales características del sistema.

El espectro de RMN de ^{13}C de **26** (Figura 38), mostró entre 139.0 y 118.0 ppm las señales correspondientes a los carbonos del anillo aromático presente en la estructura, así como el desplazamiento de C-15 a 170.7 ppm, en 67.8 ppm se apreció la señal característica para el carbono C-2 base de hidroxilo. Lo que concuerda con lo descrito previamente en nuestro grupo de trabajo²³.

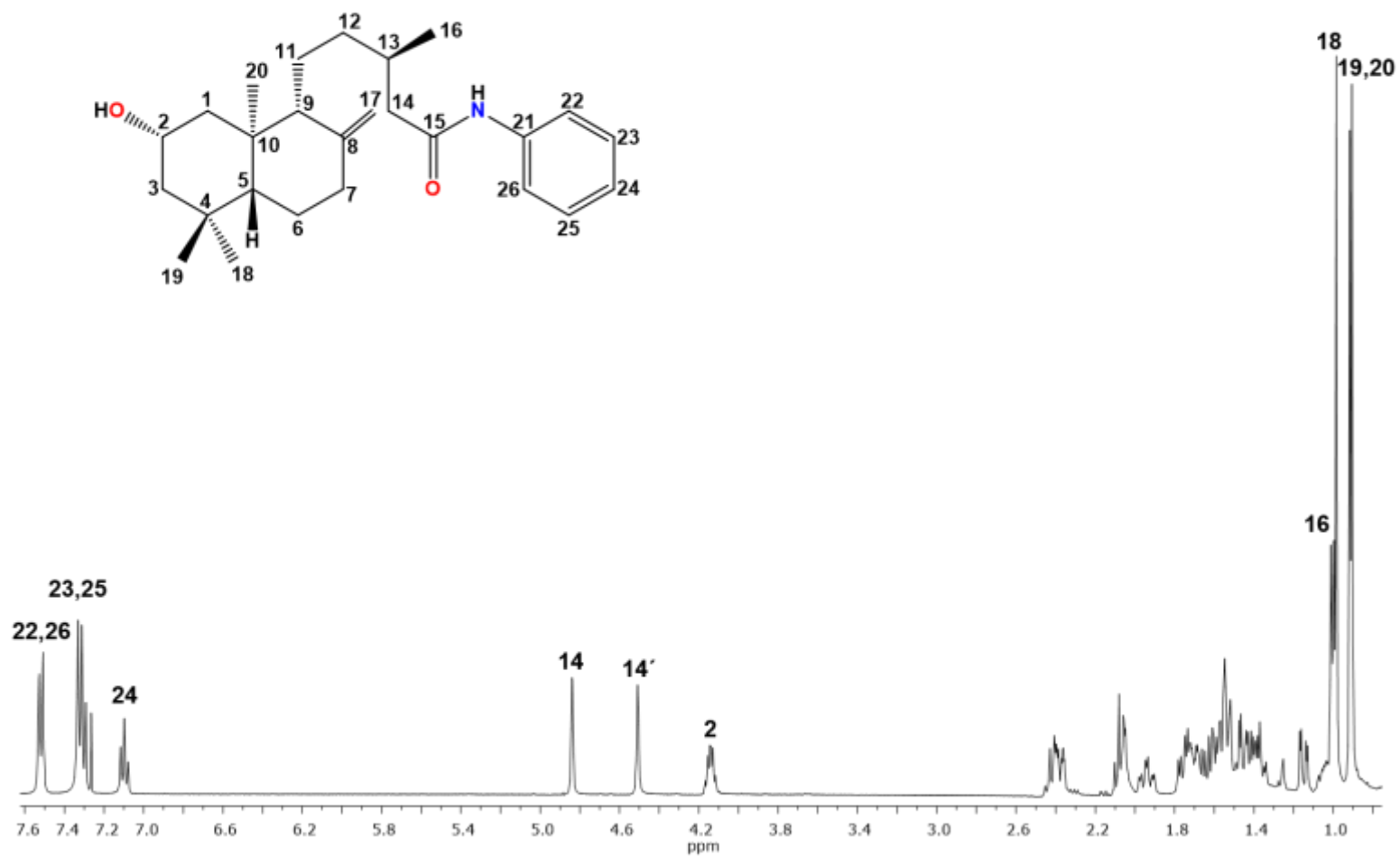


Figura 27. Espectro de RMN de ¹H (400 MHz) de 2α-hidroxi-N-fenileperuamida (26) en CDCl₃.

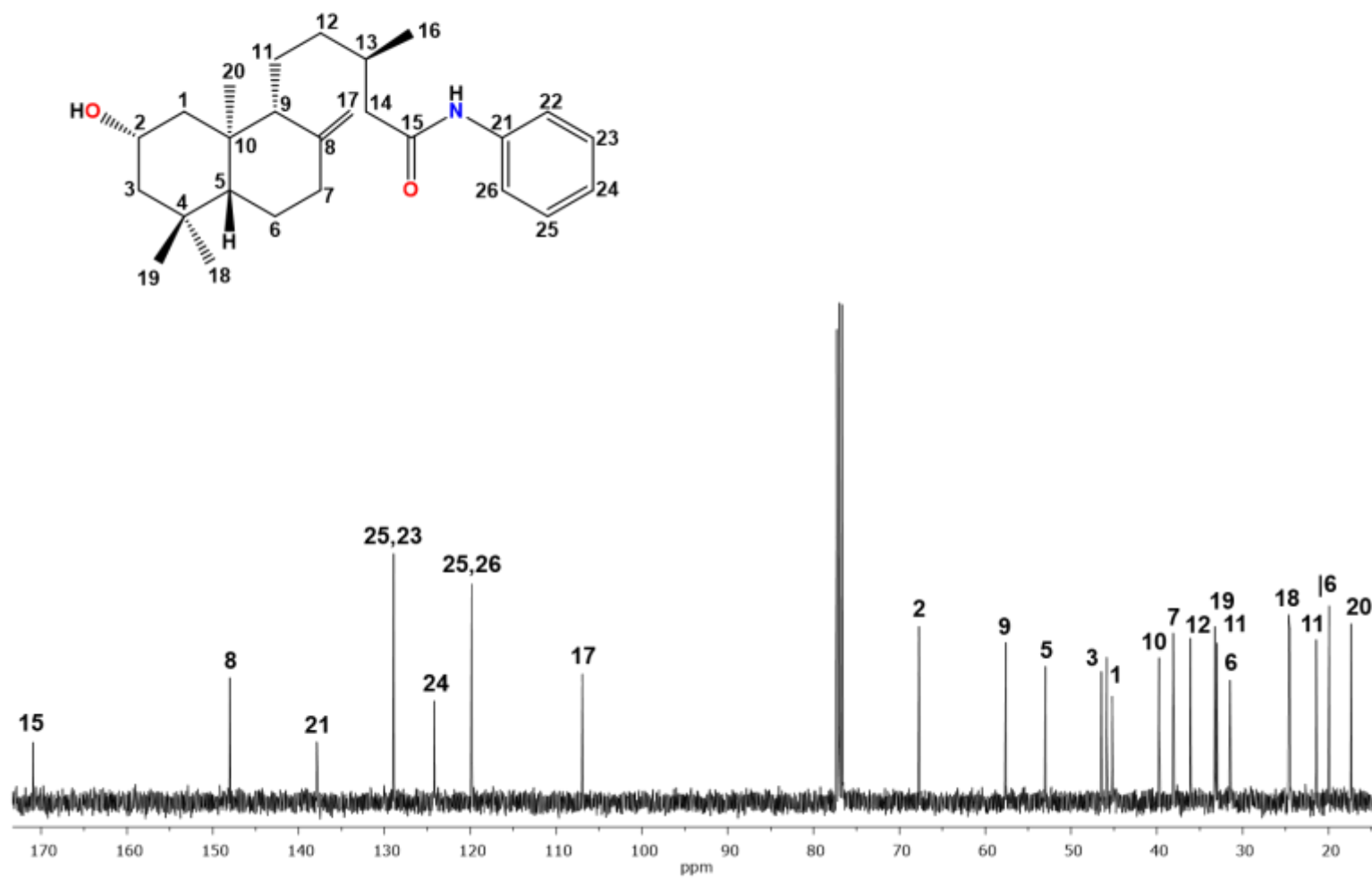
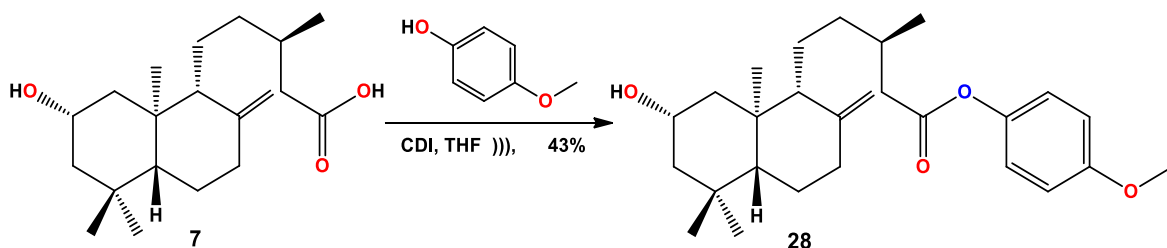


Figura 28. Espectro de RMN de ¹³C (100 MHz) de 2α-hidroxi-N-fenileperuamida (**26**) CDCl₃.

5.5. Preparación del éster 2 α -hidroxi-(4-metoxifenil) eperuato (**28**)

El éster **28** se preparó partiendo del ácido 2 α -hidroxieperuico (**7**), empleando CDI como activador del grupo carboxilo en THF y *p*-metoxifenol en atmósfera inerte y aplicando ondas ultrasónicas a temperatura ambiente para promover la reacción.



Esquema 6. Obtención del éster **28**.

El espectro de RMN de ^1H del compuesto **28** (Figura 29) mostró dos señales dobles ($J = 9.0$ y 8.9 Hz) en 6.98 y 6.88 ppm correspondientes a los hidrógenos del anillo aromático. En 4.87 y 4.54 ppm se observan dos señales simples correspondientes a los hidrógenos H-14 y H-14' del doble enlace exocíclico. En 4.17 ppm se observa una señal quintuple ($J = 4.2$ Hz) perteneciente al hidrógeno base hidroxilo H-2. En 3.79 ppm se observa una señal simple correspondiente al metoxilo H-27. En 1.49 ppm se observa una señal doble ($J = 6.5$ Hz) correspondiente a H-16. En 1.00 ppm se observa una señal simple perteneciente a H-18 y en 0.93 ppm se observa una señal simple que integra para seis hidrógenos correspondientes a H-19 y H-20.

El espectro de RMN de ^{13}C de **28** (Figura 30) mostró una señal en 172.1 ppm correspondiente al carbonilo de éster C-15. En 157.2 (C-24), 144.2 (C-21), 122.4 (C-22 y C-26) y 114.4 ppm (C-23 y C-25) se observan las señales correspondientes del anillo aromático. En 148.0 y 107.0 ppm se observan las señales correspondientes a C-8 y C-17 respectivamente. En 67.9 ppm se observa la señal del carbono base de hidroxilo C-2, y en 55.6 ppm se encuentra la señal correspondiente del metoxilo C-27.

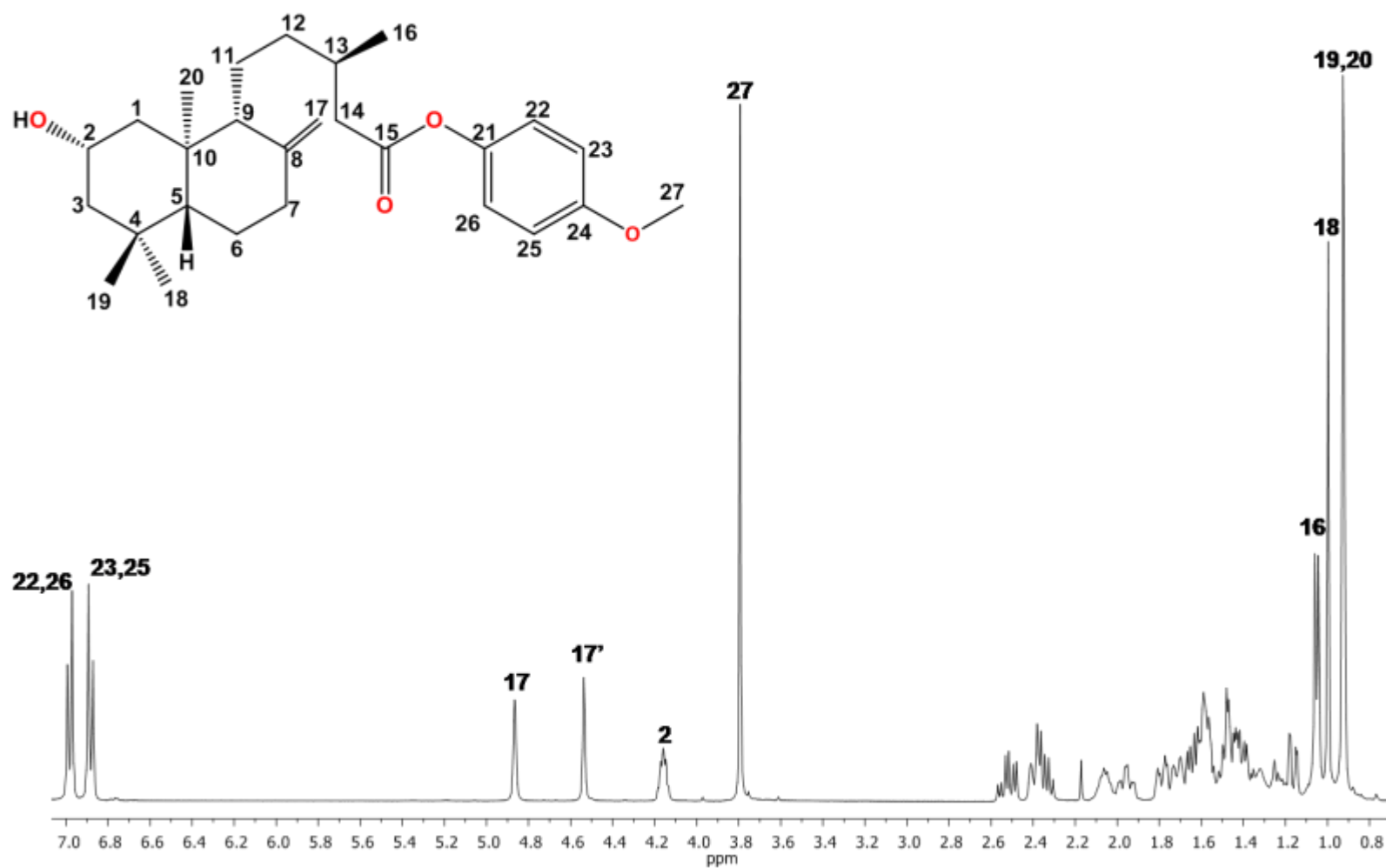


Figura 29. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) del éster 2 α -hidroxi-(4-metoxifenil)eperuato (**28**) en CDCl_3 .

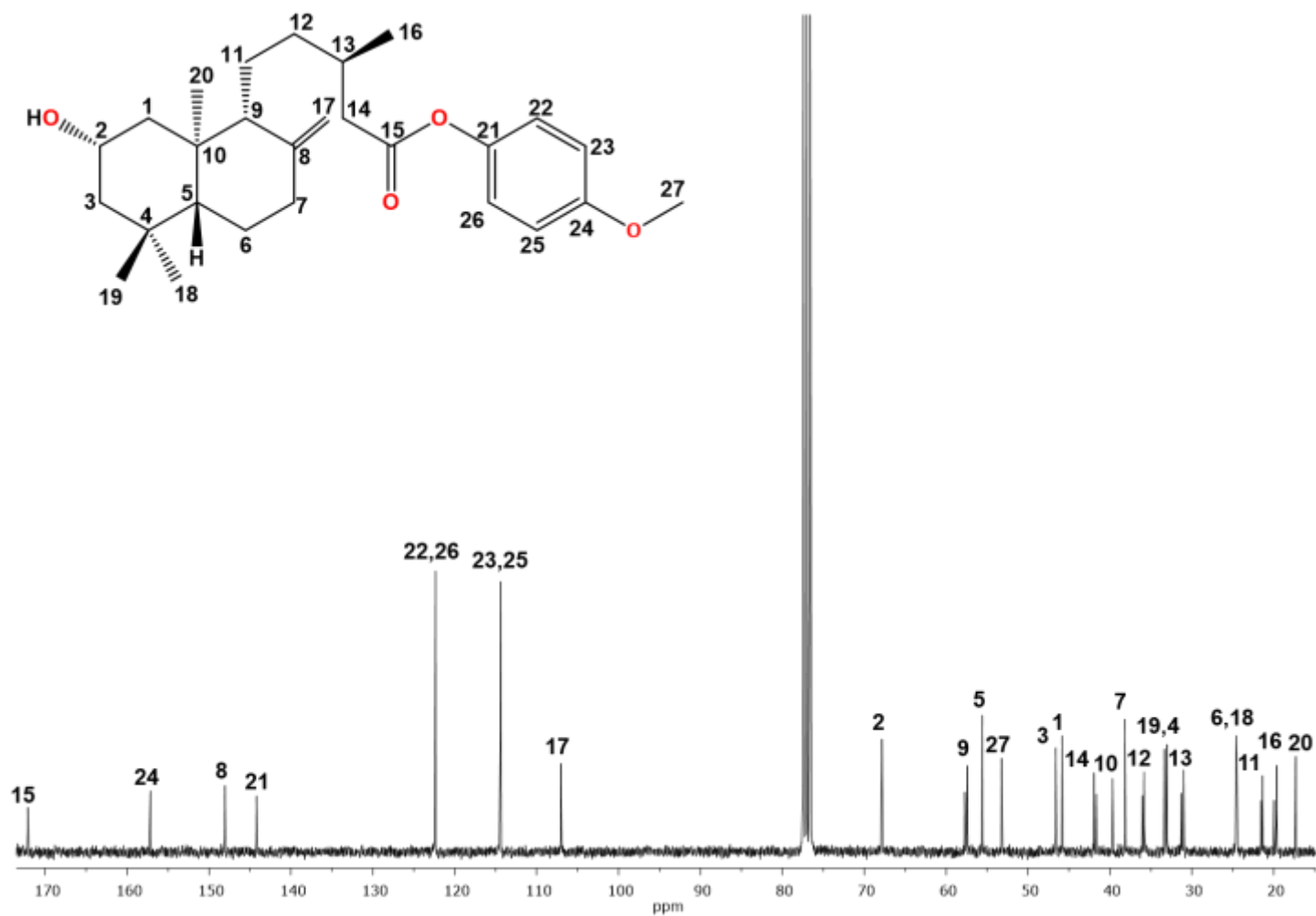


Figura 30. Espectro de RMN de ¹³C (100 MHz) del éster 2α-hidroxi-(4-metoxifenil)eperuato (**28**) en CDCl₃.

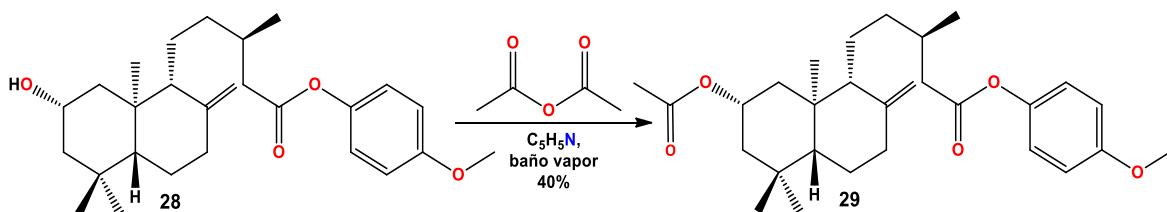
De los cálculos computacionales obtenidos para el compuesto **28**, se obtuvo que el mínimo global que se muestra en la Figura 31, debido a que presenta una energía de $E_{\text{DFT}} = -1353.98$ hartrees. Todos los conformeros obtenidos presentan la misma disposición conformacional en el sistema base diterpénico, pero con variantes en las cadenas laterales de C-2 y C-15.



Figura 31. Mínimo global del compuesto **28**.

5.6. Preparación del compuesto acetilado del éster 2 α -acetoxi-(4-metoxifenil)eperuato (**29**)

El compuesto **29** se preparó a partir del derivado **28** mediante la acetilación del grupo hidroxilo en C-2 del éster con anhídrido acético en piridina a baño vapor por 24 horas.



Esquema 7. Obtención del éster acetilado **29**.

El espectro de RMN de ^1H del compuesto **29** (Figura 32) mostró en 6.98 y 6.88 ppm dos señales múltiples correspondientes a los protones del anillo aromático. En 5.16 ppm se ve una señal quintuple ($J = 3.9$ Hz) del protón base acetato H-2. En 4.87 y 4.54 ppm se observan dos señales simples de los protones del doble enlace exocíclico H-17 y H-17' respectivamente. En 3.80 ppm se observa una

señal simple del metoxilo H-27. En 2.03 ppm se ve una señal simple del metilo de acetato H-29. En 1.00 ppm una señal simple correspondiente al metilo H-18 y en 0.93 ppm una señal simple que integra para seis protones correspondientes a los metilos H-19 y H-20 respectivamente. Así como el resto de las señales características del esqueleto hidrocarbonado.

El espectro de RMN de ^{13}C de **29** (Figura 33) mostró una señal en 172.1 ppm correspondiente al carbonilo de éster C-15, en 70.6 ppm mostró una señal del carbono base de acetato C-2, así como en 55.6 ppm la señal correspondiente del metoxilo C-27 y en 170.5 ppm la señal perteneciente al carbonilo C-28.

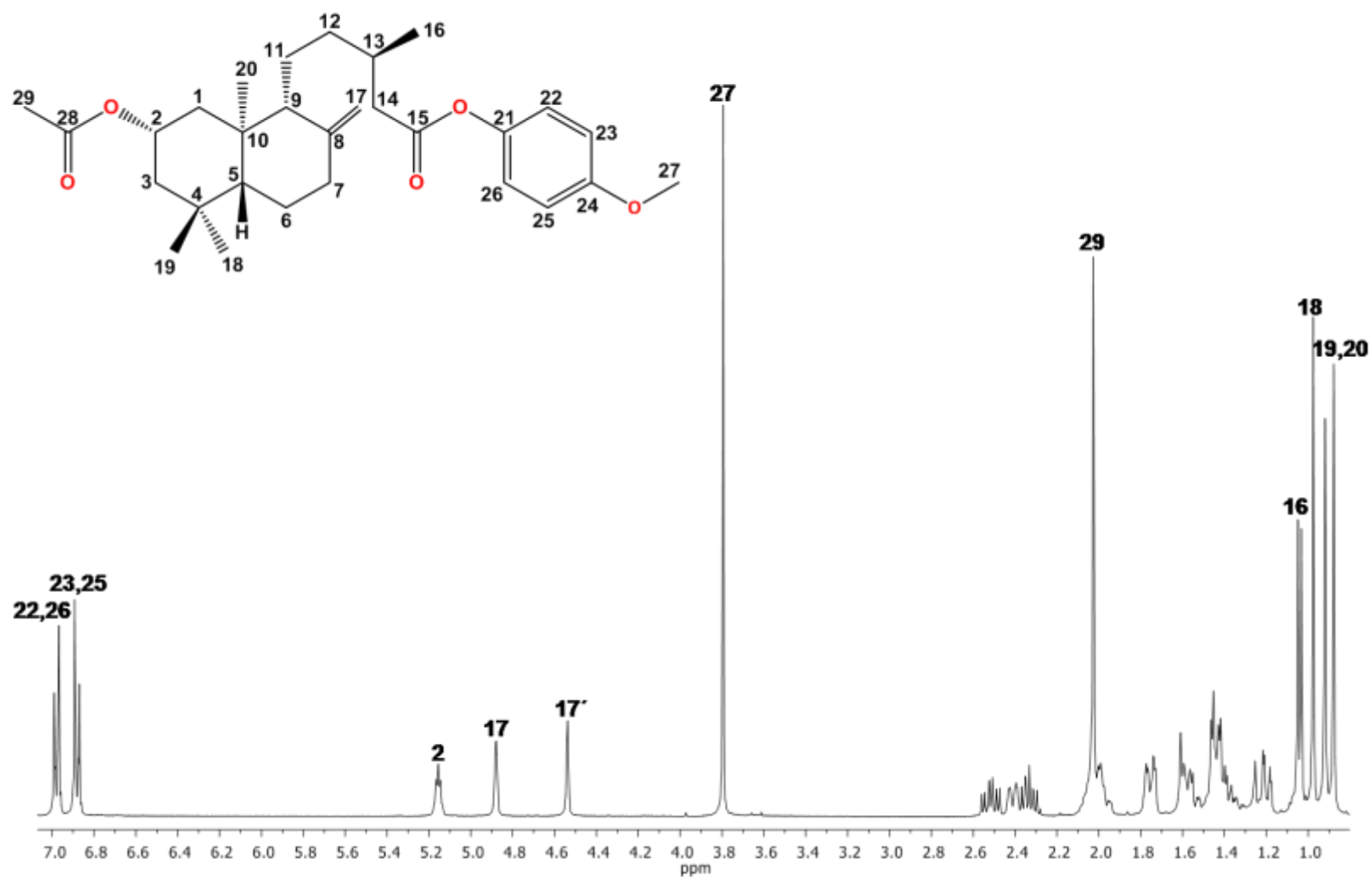


Figura 32. Espectro de RMN de ¹H (400 MHz) del éster 2α-acetoxi-(4-metoxifenil)eperuato (**29**) en CDCl₃.

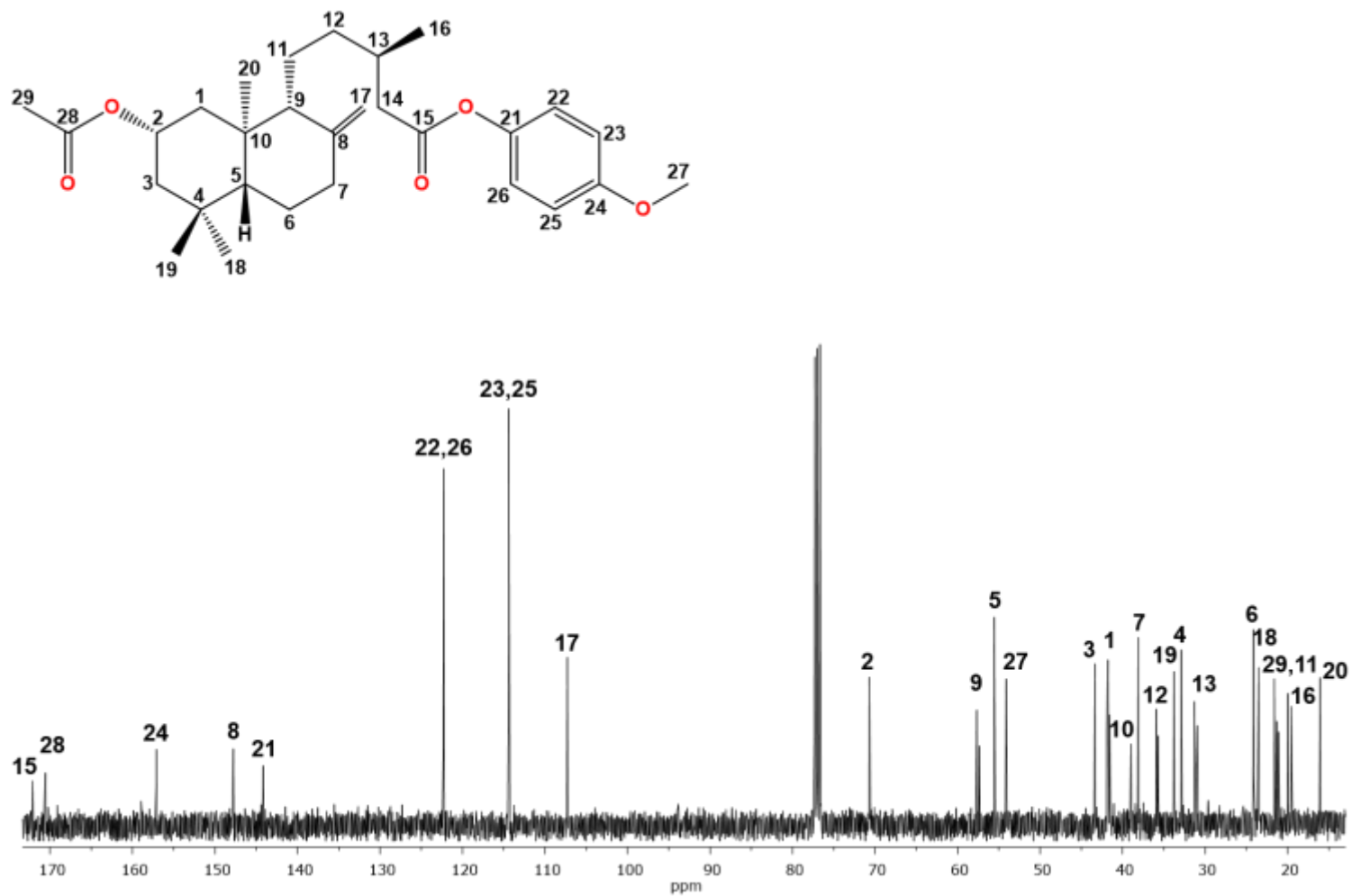


Figura 33. Espectro de RMN de ¹³C (100 MHz) del éster 2α-acetoxy-(4-metoxifenil)eperuato (29) en CDCl₃.

De los conformeros obtenidos mediante los cálculos computacionales para el compuesto **29**, se obtuvo el mínimo global que se muestra en la Figura 34, debido a que presenta una energía de $E_{\text{DFT}} = -1506.67$ hartrees. Todos los conformeros obtenidos presentan la misma disposición en el sistema base diterpénico, pero con variantes en las cadenas laterales de C-2 y C-15.

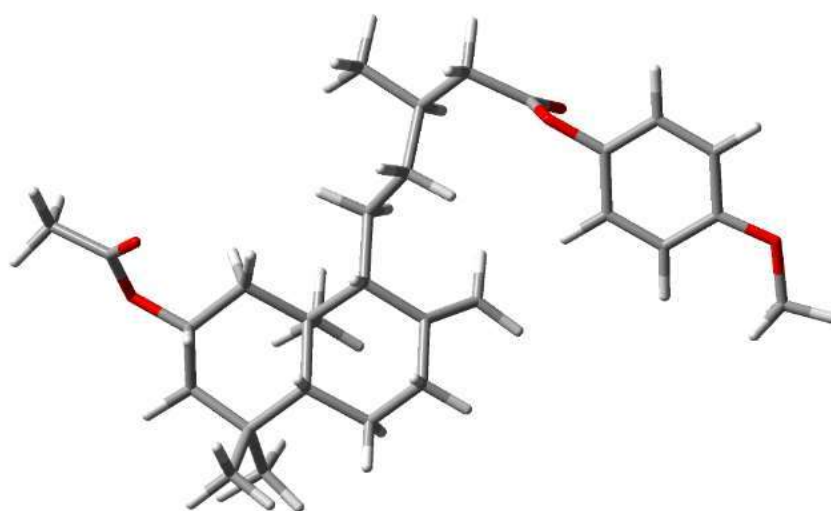
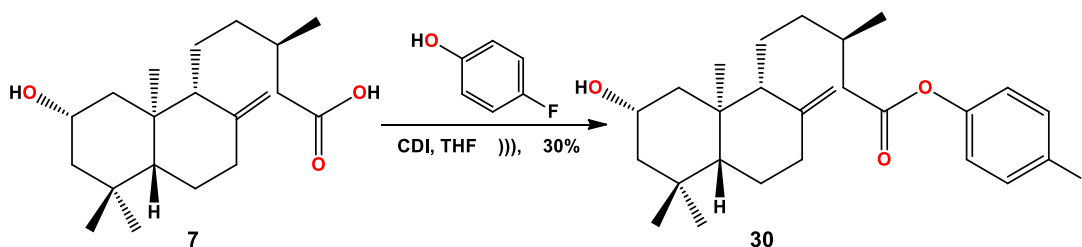


Figura 34. Mínimo global del compuesto acetilado **29**.

5.7. Preparación del éster 2 α -hidroxi-(4-fluorofenil) eperuato (**30**)

A partir del derivado **7** se preparó el éster **30**, empleando CDI como activador del grupo carboxilo en THF y 4-fluorofenol, en atmósfera inerte y aplicando ondas ultrasónicas a temperatura ambiente.



Esquema 8. Obtención del éster 2 α -hidroxi-(4-fluorofenil)eperuato (**30**).

El espectro de RMN de ^1H de **30** (Figura 35), se observó en 7.04 ppm una señal múltiple correspondiente los protones del anillo aromático. En 4.86 y 4.51 ppm se observan dos señales simples pertenecientes a los protones del metileno exocíclico H-17 y H-17' respectivamente. En 4.86 ppm se observa una señal

quíntuple ($J = 4.7$ Hz) correspondiente para H-2 base de hidroxilo, así como el resto de las señales características para el sistema.

El espectro de RMN de ^{13}C de **30** (Figura 36) se observaron 26 señales las cuales corresponden al derivado del diterpeno, en 171.6 ppm se observa la señal correspondiente al carbonilo C-15. En 161.4, 158.9, 123.0 y 116.1 ppm se observan las señales de los carbonos pertenecientes al anillo aromático. En 148.0 ppm se ve la señal correspondiente a C-8 base de metileno exocíclico. En 107.0 ppm se observa la señal del carbono del metileno exocíclico C-17. En 67.8 ppm se observó la señal del carbono base de hidroxilo C-2.

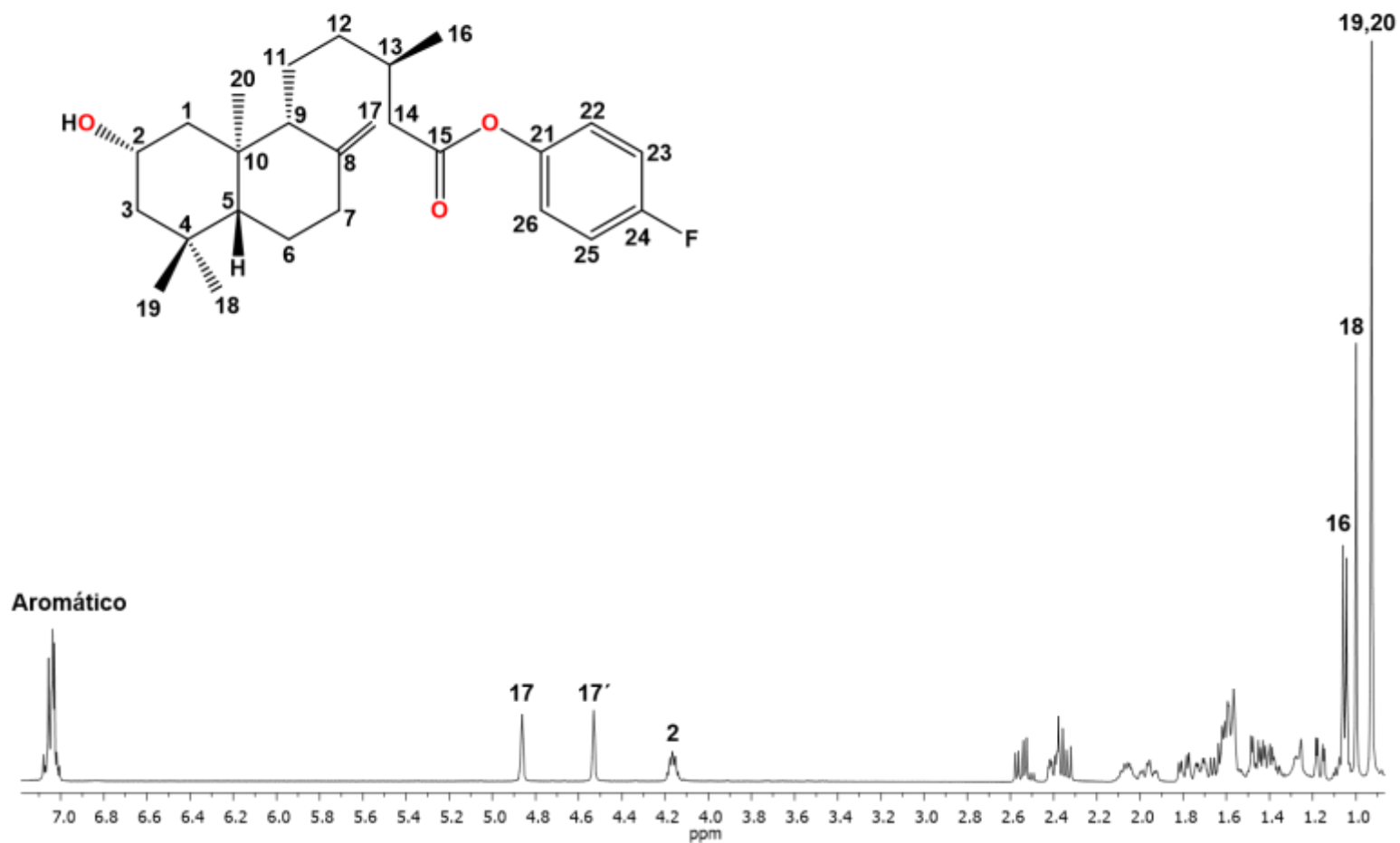


Figura 35. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) del éster 2 α -hidroxi-(4-fluorofenil)eperuato (**30**) en CDCl_3 .

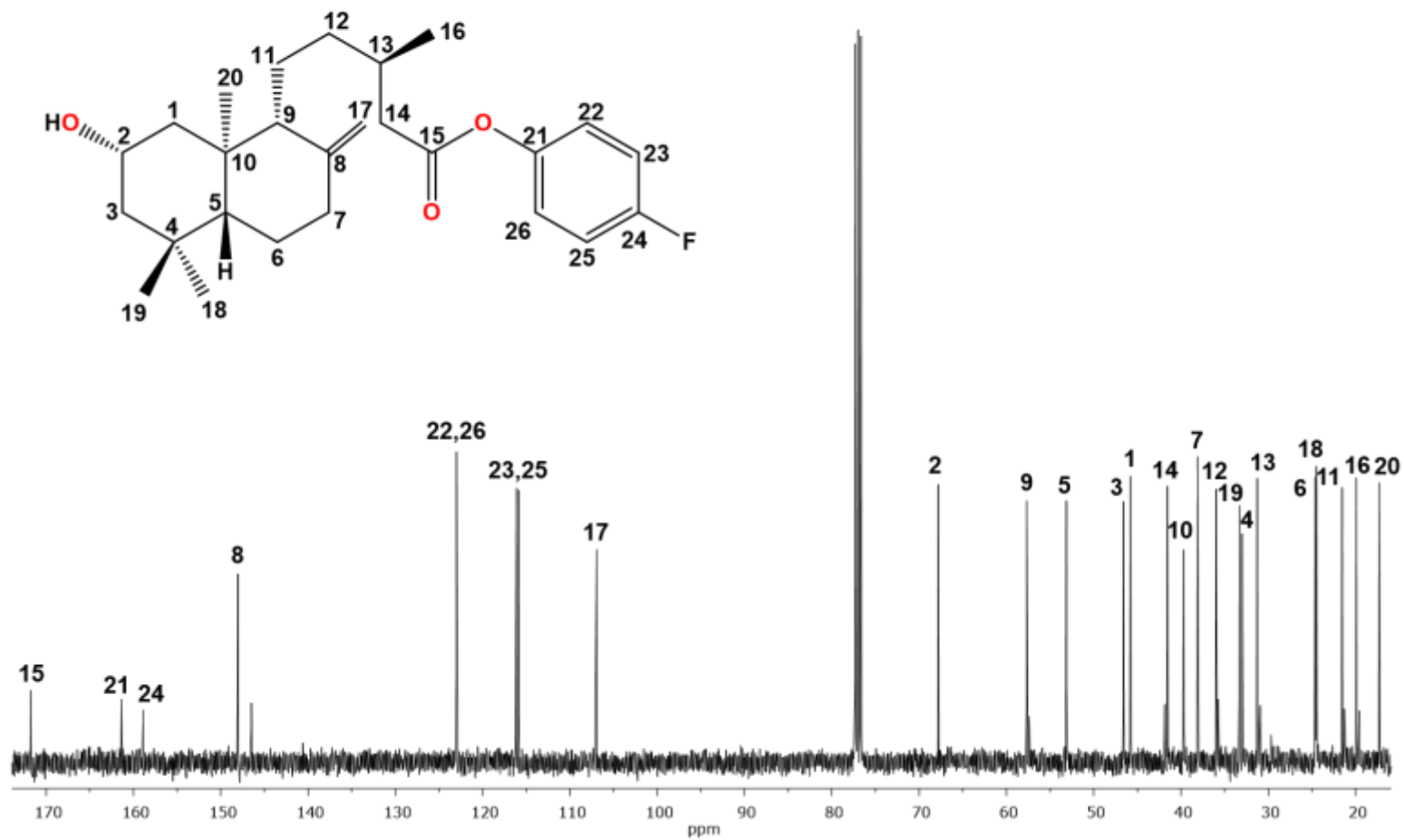


Figura 36. Espectro de RMN de ¹³C (100 MHz) del éster 2α-hidroxi-(4-fluorofenil)eperuato (**30**) en CDCl₃.

En la Figura 37 se muestra el mínimo global del compuesto **30**, debido a que presenta una energía de $E_{\text{DFT}} = -4351.31$ hartrees. Todos los conformeros obtenidos mediante los cálculos computacionales, presentan la misma disposición conformacional en el sistema diterpénico, pero variantes en las cadenas laterales de C-2 y C-15.

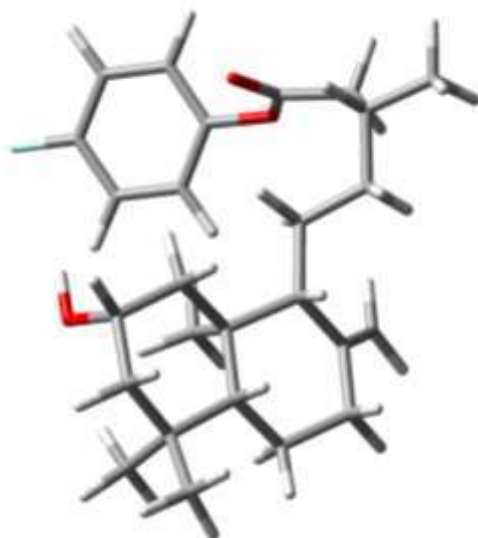
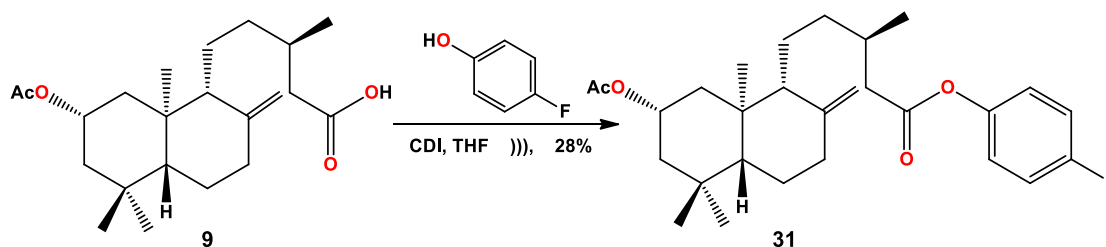


Figura 37. Mínimo global del éster **30**.

5.8. Preparación del éster 2*α*-acetoxi-(4-fluorofenil) eperuato (**31**)

A partir del derivado acetilado **9** se preparó el éster **31**, empleando CDI como activador del grupo carboxilo en THF y 4-fluorofenol, en atmósfera inerte con N₂ y aplicando ondas ultrasónicas a temperatura ambiente.



Esquema 9. Obtención del éster **31**.

En el espectro de RMN de ¹H de **31** (Figura 38), se observó en 7.04 ppm una señal múltiple correspondiente los protones del anillo aromático. En 5.16 ppm se observa una señal quintuple ($J = 4.9$ Hz) correspondiente a H-2 base de hidroxilo, En 4.88 y 4.53 ppm se observan dos señales simples pertenecientes a los

protones del metileno exocíclico H-17 y H-17' respectivamente. En 2.01 ppm se observa una señal simple correspondiente al metilo 28, así como el resto de las señales características para el sistema.

En el espectro de RMN de ^{13}C de **31** (Figura 39) se observaron en 171.7 ppm se observa la señal correspondiente al carbonilo C-15. En 170.6 ppm se observa la señal del carbonilo C-27. En 161.3, 158.9, 123.0 y 116.1 ppm se observan las señales de los carbonos pertenecientes al anillo aromático. En 147.7 ppm se ve la señal correspondiente a C-8 base de metileno exocíclico. En 107.3 ppm se observa la señal del carbono del metileno exocíclico C-17. En 70.7 ppm se observó la señal del carbono base de hidroxilo C-2. Así como en 21.6 ppm se observa la señal del C-28 correspondiente a un metilo.

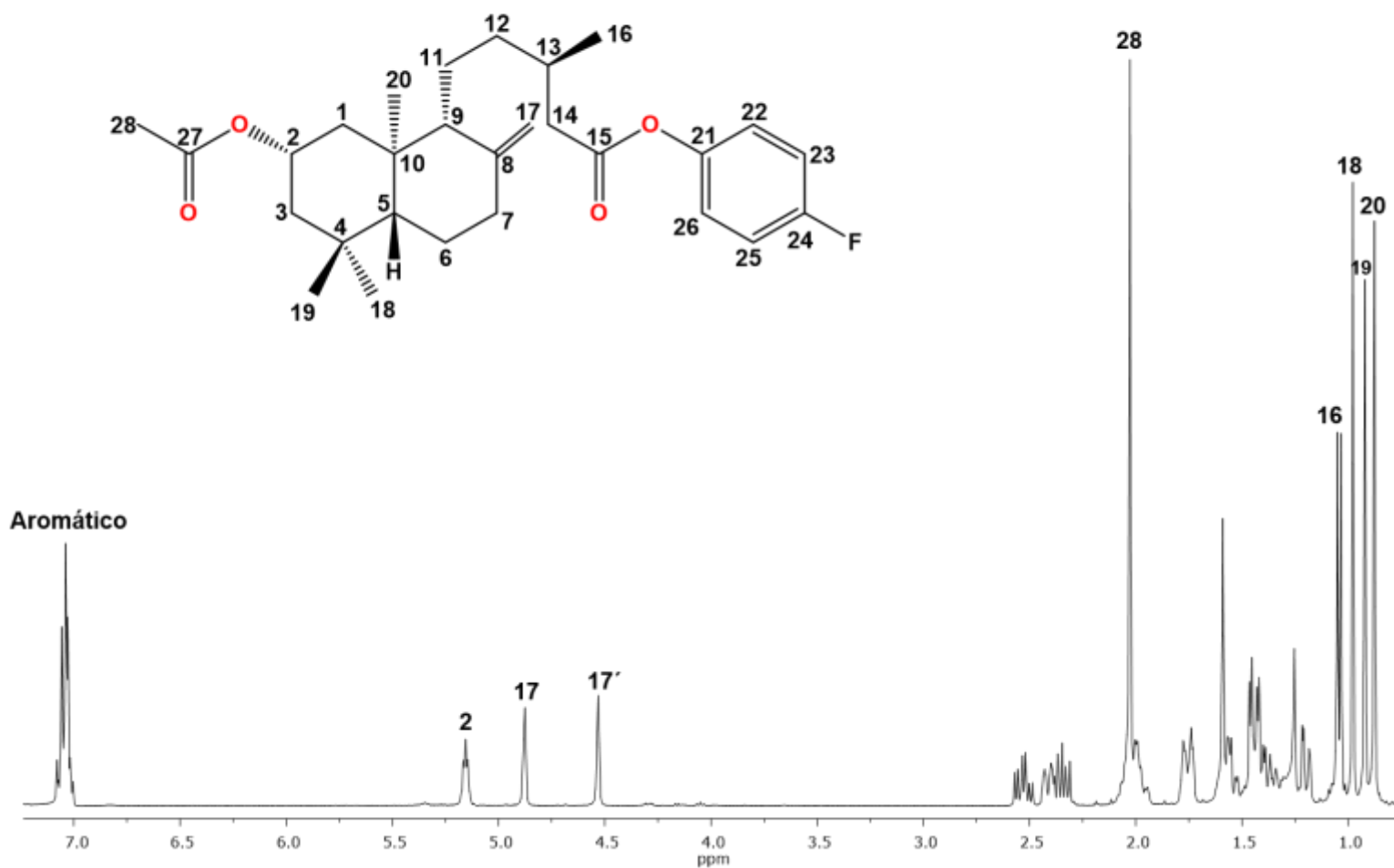


Figura 38. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) del éster 2 α -acetoxi-(4-fluorofenil)eperuato (**31**) en CDCl_3 .

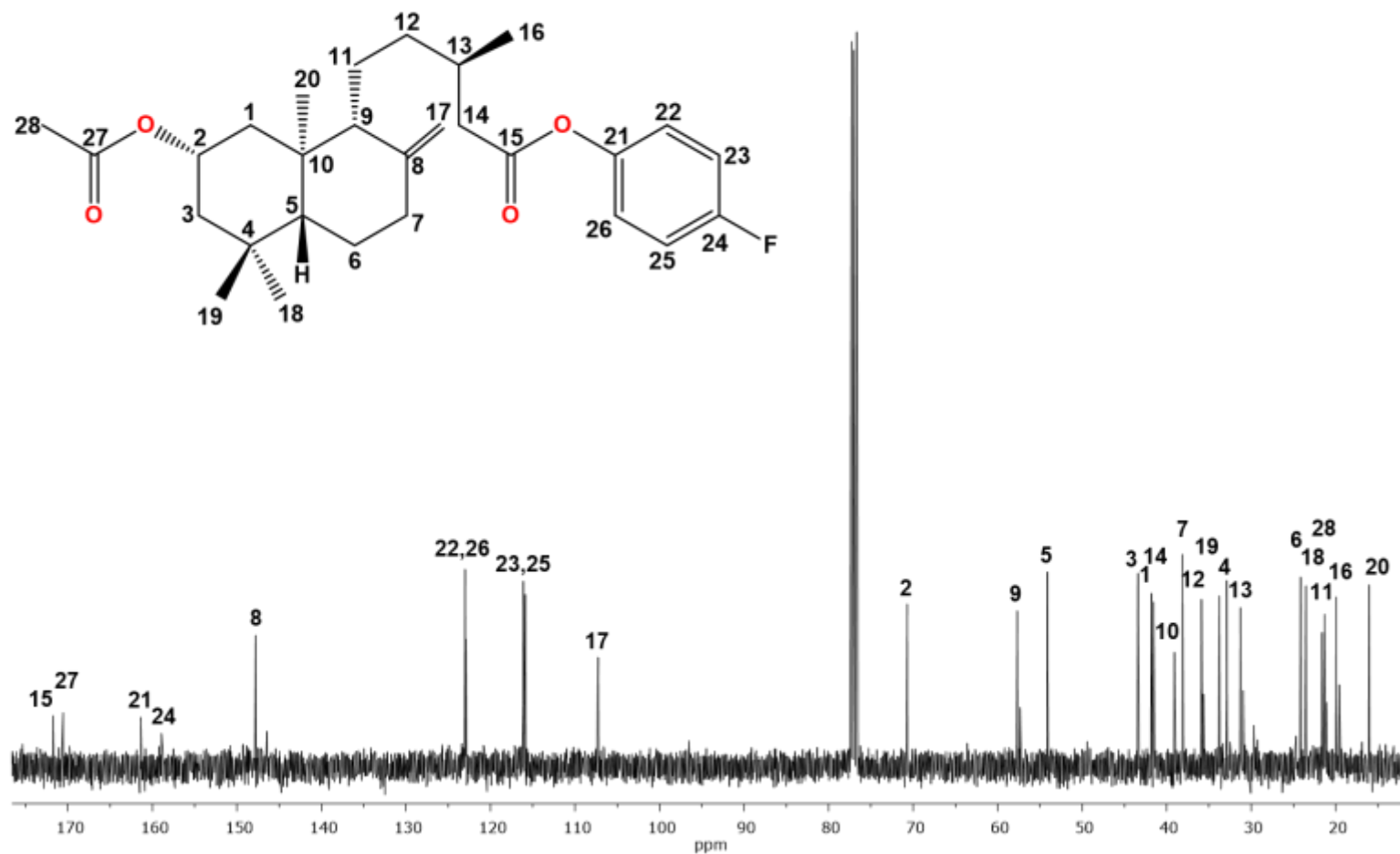


Figura 39. Espectro de RMN de ¹³C (100 MHz) del éster 2α-acetoxi-(4-fluorofenil)eperuato (**31**) en CDCl₃.

En la Figura 40 se muestra el mínimo global del éster **31**, el cual presenta una energía de $E_{\text{DFT}} = -1491.39$ hartrees, respecto a todos los confórmeros obtenidos mediante los cálculos computacionales.

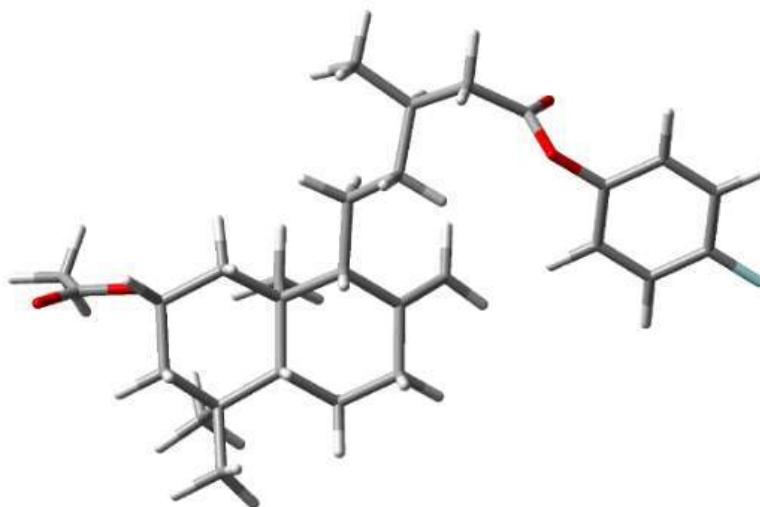
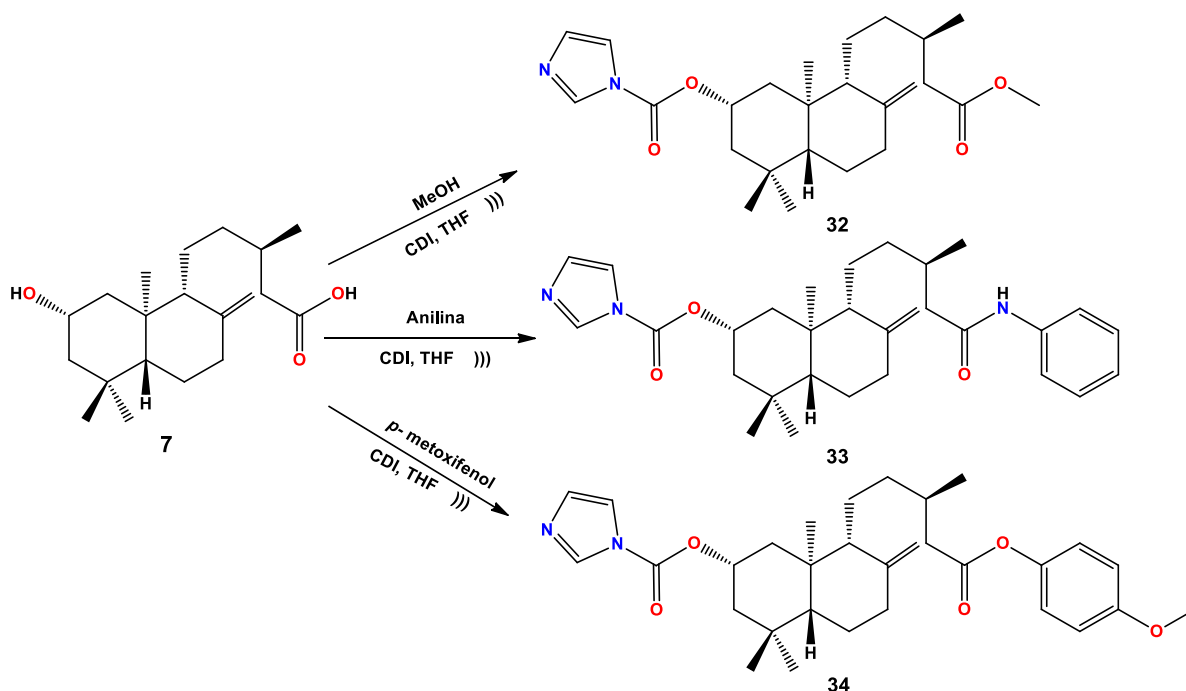


Figura 40. Mínimo global del éster **31**.

5.9. Obtención de los compuestos 32, 33 y 34

En la preparación de los compuestos **5b**, **9** y **28**, con el activador de grupo carboxilo en ondas ultrasónicas, se obtuvo un segundo producto de reacción **32**, **33** y **34** respectivamente, en el cual el grupo hidroxilo en la posición C-2 se vio comprometido, resultando los intermediarios acil-imidazol, dichos productos fueron identificados y caracterizados mediante RMN.



Esquema 10. Obtención de los carbamatos **32**, **33** y **34**.

El espectro de RMN de ^1H de **32** (Figura 41) se observó en 8.13, 7.41 y 7.07 ppm se observan tres señales simples correspondientes a los protones H-23, H-24 y H-25 respectivamente. En 5.41 ppm se mostró una señal quintuple ($J = 3.9$ Hz) correspondiente al hidrógeno base carbamato H-2, en 4.90 ppm y en 4.53 se observan dos señales simples las cuales corresponden a los hidrógenos del doble enlace exocíclico H-17 y H-17' respectivamente. En 3.66 ppm se observa una señal simple correspondiente a los hidrógenos del metilo H-21. En 1.49 ppm se observa una señal doble ($J = 6.0$ Hz) la cual corresponde a los hidrógenos del metilo H-16, así como también en 1.02, 0.97, 0.91 ppm se observan tres señales simples pertenecientes a los hidrógenos de los metilos H-18, H-19 y H-20 respectivamente.

El espectro de RMN de ^1H para **33** (Figura 42) se muestran dos señales simples en 8.12 y 7.40 ppm correspondientes a los protones H-28 y H-29 respectivamente. Entre 7.09 y 7.50 ppm se observan las señales correspondientes al anillo aromático. En 5.38 ppm se mostró una señal quintuple ($J = 3.9$ Hz) correspondiente al hidrógeno base carbamato H-2, en 4.88 y 4.55 ppm se observan dos señales simples las cuales corresponden a los hidrógenos del doble

enlace exocíclico H-17 y H-17' respectivamente, así como también se observan las demás señales características del sistema diterpénico.

El espectro de RMN de ^1H de **34** (Figura 43) se observó en 8.13, 7.41 y 7.07 ppm tres señales simples correspondientes al imidazol. En 6.98 y 6.88 ppm se observan dos señales múltiples pertenecientes al anillo aromático. En 5.40 ppm se mostró una señal quintuple ($J = 3.9$ Hz) correspondiente al hidrógeno base carbamato H-2. En 4.87 y 4.54 ppm se observan dos señales simples de los hidrógenos del doble enlace exocíclico H-17 y H-17' respectivamente. En 3.80 ppm se observa una señal simple perteneciente a los hidrógenos del metoxilo H-27. En 1.49 ppm se observa una señal doble ($J = 6.0$ Hz) del metilo H-16, así como también en 1.00 una señal simple correspondiente a los protones del metilo H-18 y 0.93 ppm se ven una señal simple que integra para seis protones correspondientes a los metilos H-19 y H-20 respectivamente.

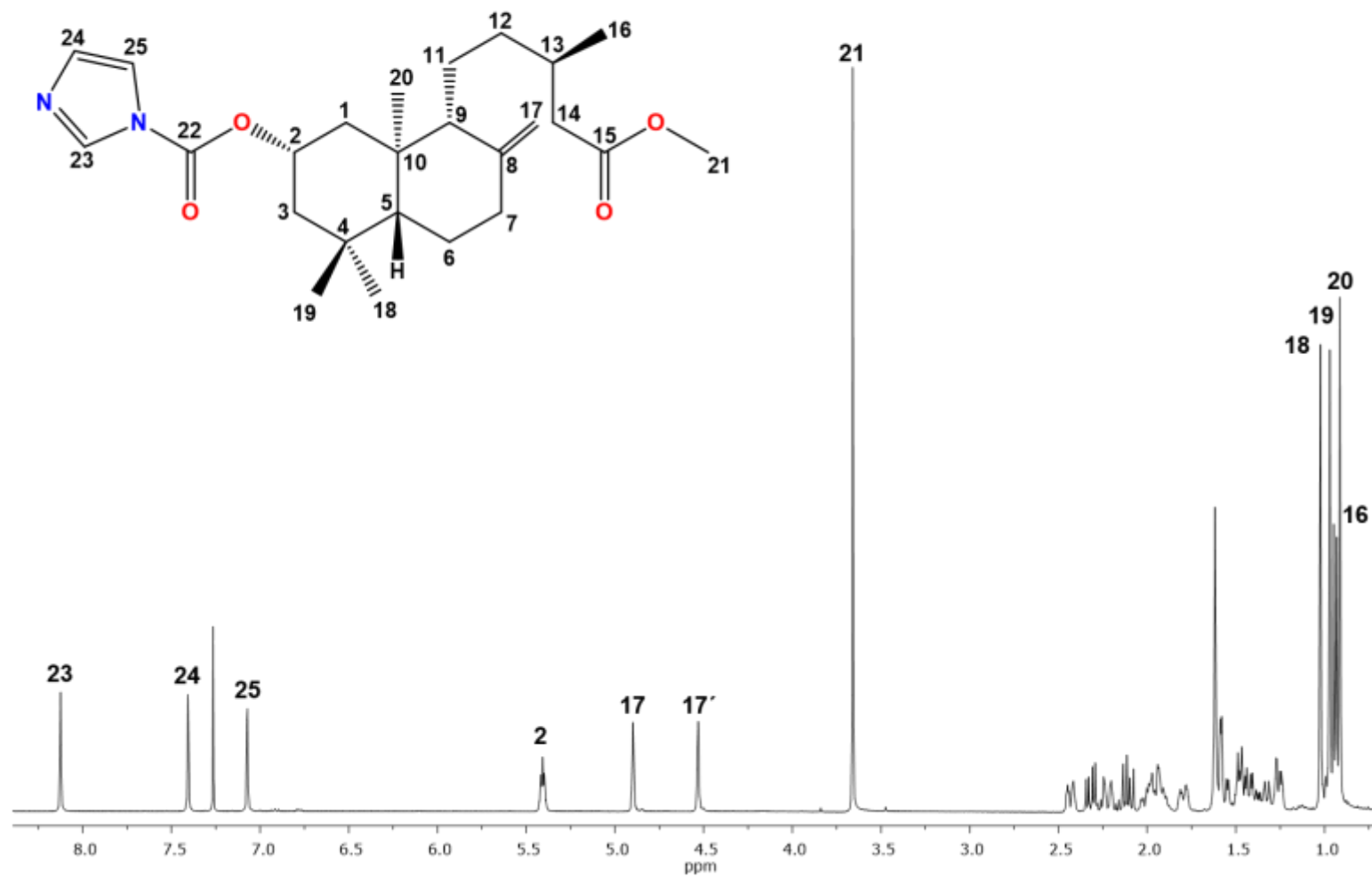


Figura 41. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) del intermediario imidazol **32** en CDCl_3 .

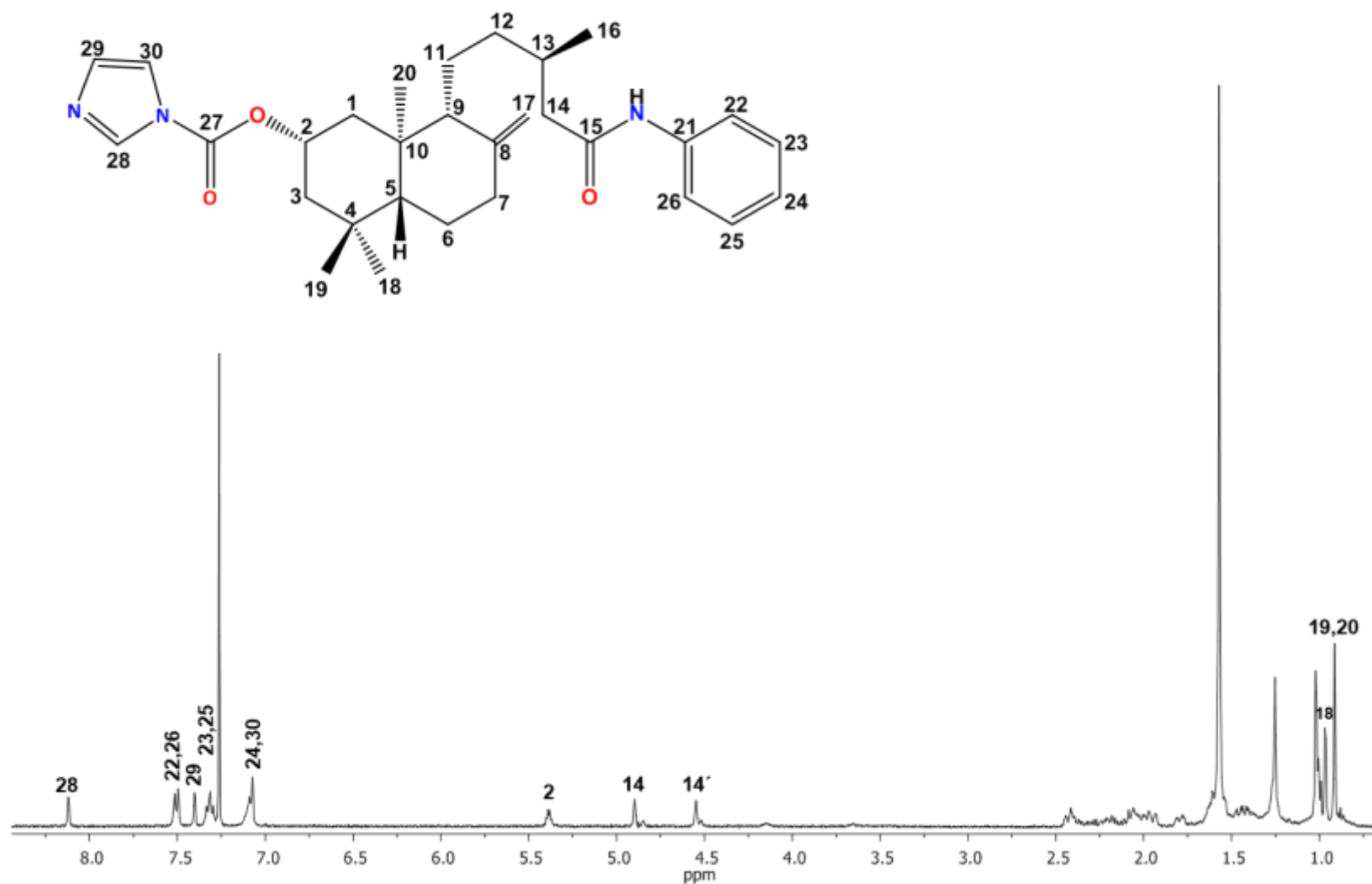


Figura 42. Espectro de RMN de ¹H (400 MHz) de la amida 2α-imidazolil-N-fenileperuamida (**33**) en CDCl₃.

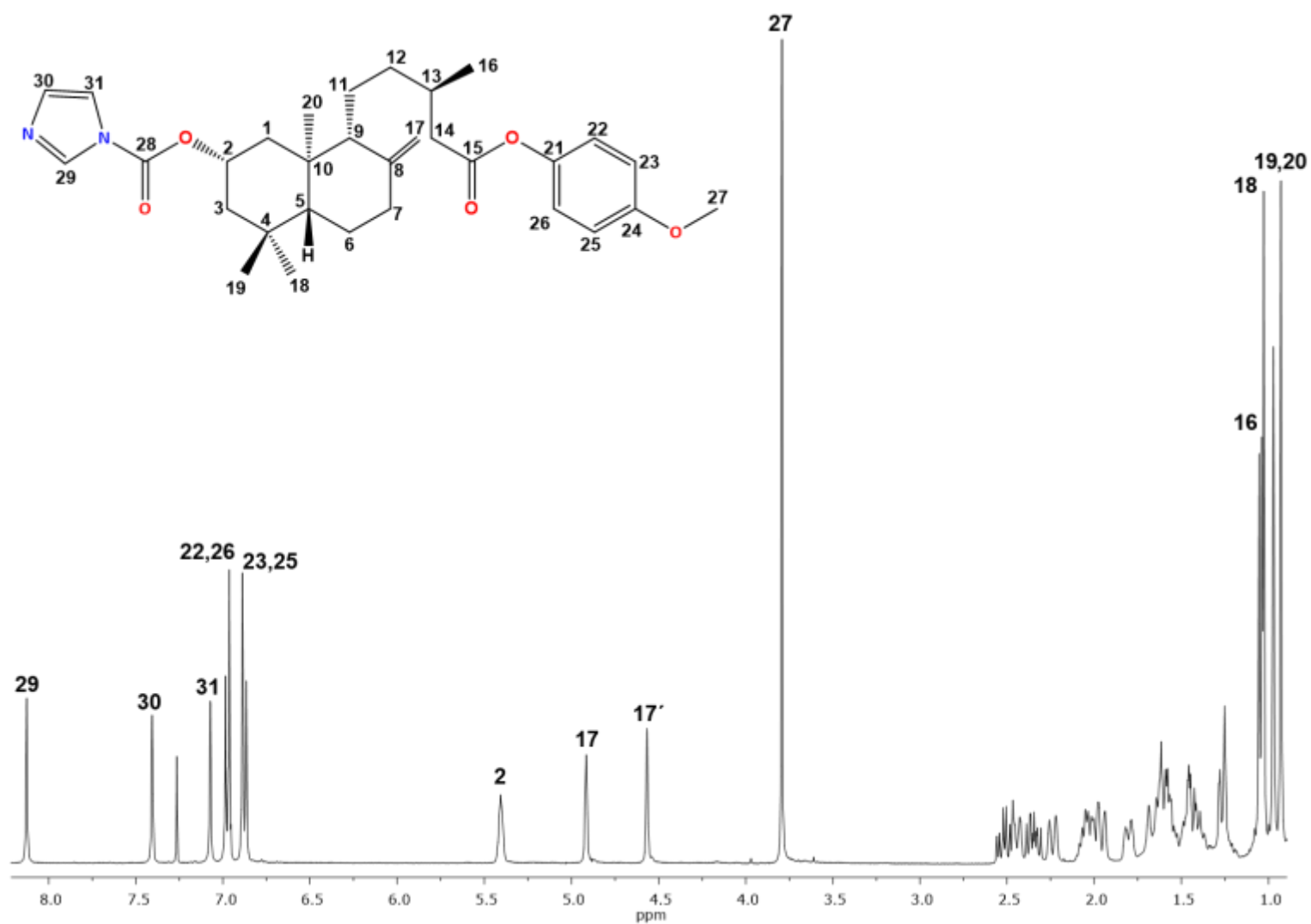


Figura 43. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) del éster 2 α -imidazolil-(4-metoxifenil)eperuato (**34**) en CDCl_3 .

El mínimo global de **32** se muestra en la Figura 44, debido a que presenta una energía de $E_{\text{DFT}} = -1386.11$ hartrees, respecto a los otro conformeros obtenidos.

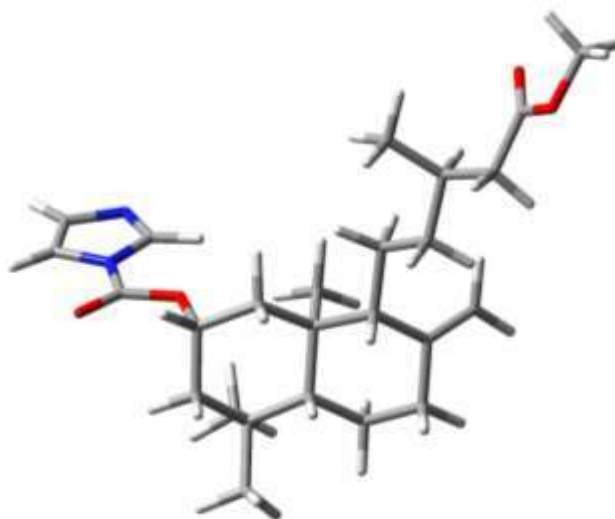


Figura 44. Mínimo global del intermediario imidazol **32**.

En la Figura 45 se muestra el mínimo global del compuesto **33**, el cual presenta una energía de $E_{\text{DFT}} = -1557.99$ hartrees, respecto a todos los conformeros obtenidos mediante los cálculos computacionales.

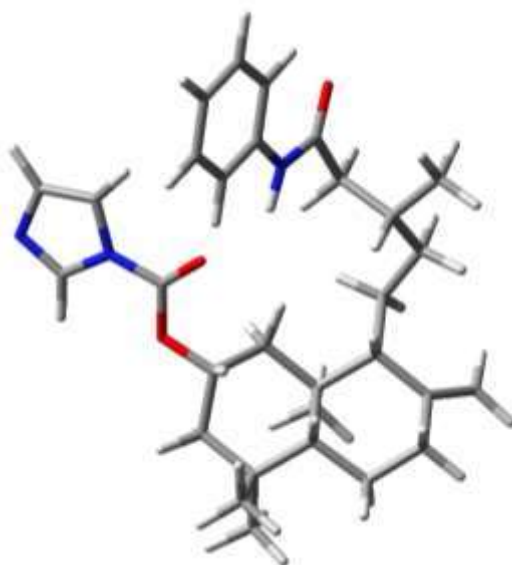


Figura 45. Mínimo global del intermediario imidazol **33**.

En la Figura 46 se muestra la disposición espacial del mínimo global del compuesto **34**, ya que presenta una energía de $E_{\text{DFT}} = -1692.39$ hartrees, respecto a los obtenidos mediante los cálculos computacionales.

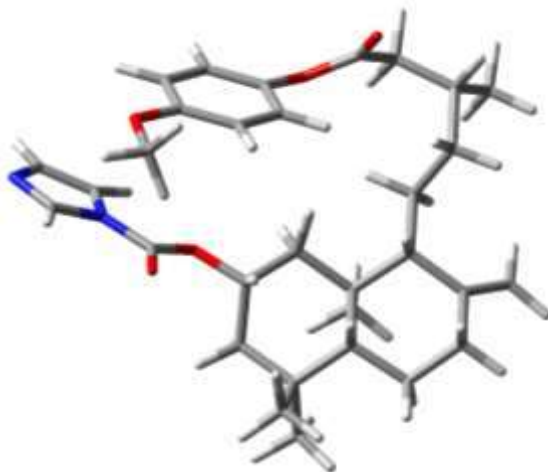


Figura 46. Mínimo global del intermediario imidazol **34**.

6. CONCLUSIONES

La obtención de los nuevos derivados del diterpeno tipo *ent*-labdano **7**, involucró la activación del grupo carboxilo empleando **CDI** para generar el intermediario acilimidazol que por tratamiento con aminas o alcoholes generó las amidas y ésteres (**28**, **30**) correspondientes.

A partir del derivado **28** se obtuvo el compuesto acetilado **29**, mediante una acetilación con anhídrido acético y piridina.

En la formación de la amida y ésteres, también se vio comprometido el grupo hidroxilo en la posición C-2, obteniéndose los carbamatos **32**, **33** y **34**, los cuales abren nuevas posibilidades de modificaciones químicas y de actividades biológicas debidas al heterociclo. Cabe destacar que es importante profundizar con la exploración química de estos compuestos para encontrar las condiciones óptimas de reacción y aumentar su rendimiento.

A si mismo se realizó la preparación del éster **31** a partir del derivado acetilado **9**, empleando un activador del grupo carboxílico.

Se preparó el éster metílico **5b**, por dos métodos diferentes, con un activador del grupo carboxilo y con diazometano. Comparando el rendimiento obtenido de ambas reacciones, es mucho mayor el rendimiento de la reacción con diazometano que con el activador del grupo carboxilo.

Finalmente se llevó a cabo la construcción de los modelos computacionales, lo que nos permitió tener una mejor representación tridimensional de los grupos funcionales en las posiciones C-2 y C-15 del ácido 2 α -hidroxieperuico (**7**), ya que nos ayuda a predecir la orientación de los grupos funcionales de los derivados obtenidos.

7. PARTE EXPERIMENTAL

7.1. Generalidades

Para las separaciones cromatografías en columna abierta se utilizó como fase estacionaria gel de sílice 60, de 230-400 mallas, y como fase móvil mezclas de disolventes orgánicos en orden ascendente de polaridad.

La cromatografía en columna abierta se monitoreó por cromatografía en placa fina, observándose en luz UV y reveladas con sulfato sérico amoniacal.

Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear de ^1H a 300 MHz y de ^{13}C a 100 MHz, empleando como disolvente CDCl_3 y como referencia interna TMS se adquirieron en CINVESTAV-IPN dentro de los trabajos en colaboración. La multiplicidad de las señales se indica de acuerdo a las siguientes abreviaturas: s (simple), d (doble), t (triple), q (cuádruple), quint (quíntuple) y m (múltiple).

7.2. Colecta de la especie vegetal

Ageratina petiolaris fue colectada el 18 de febrero de 2018 en San Joaquín Morelos, Municipio de Tlalpujahua, Michoacán a 2592 msnm (19°44'48.99" Norte, 100°14'45.37" Oeste), cuando se encontraba en floración.

La planta se separó en sus distintas partes (flor, hoja, tallo y raíz), secándose a la sombra para su posterior procesamiento.

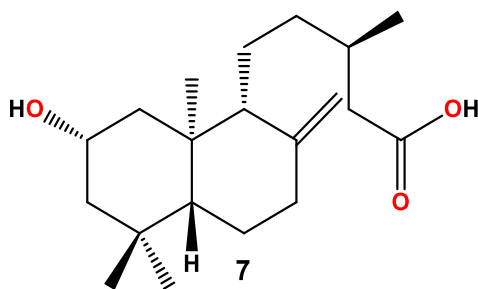
7.3. Obtención del extracto hexánico de flores de *Ageratina petiolaris*

380 g de flores secas, se sometieron a maceración con 3 L de hexano durante 7 días. Se filtró y se concentró en rotavapor, este procedimiento se repitió 4 veces para el mismo lote obteniéndose 21.31 g de una miel color verde oscuro (6% de rendimiento).

7.4. Obtención del ácido 2 α -hidroxieperuico (7)

En un matraz balón se disolvieron 5 g de extracto hexánico de flor de *Ageratina petiolaris* en 50 mL de metanol, 5 g de hidróxido de potasio y 0.5 mL de agua. El preparado se llevó a reflujo durante 4 horas, posteriormente se agregaron 100 mL de ácido clorhídrico al 10% hasta llegar a un pH de 3. Se vertió sobre hielo y se extrajo con acetato de etilo en un embudo de separación. Se lavó 3 veces con

agua destilada agitando ligeramente y se secó con sulfato de sodio anhidro. Se concentró en rotavapor hasta sequedad y se obtuvo un producto color verde. El producto de reacción se sometió a purificación mediante cromatografía en columna abierta, de las fracciones eluídas con hexano: acetato de etilo (7:3) se obtuvieron 950 mg del ácido 2 α -hidroxieperuico en forma de agujas con un rendimiento del 19%.



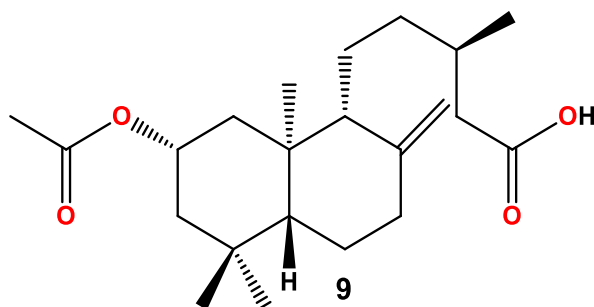
Agujas incoloras, p.f. 127-128 °C; RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 4.86 (1H, s, H-17), 4.51 (1H, s, H-17'), 4.17 (1H, quint, $J = 5.4$ Hz, H-2), 2.39 (1H, m, H-7) 2.39 (1H, dd, $J = 14.2, 5.4$ Hz, H-14), 2.13 (1H, dd, $J = 14.2, 8.4$ Hz, H-14'), 1.97 (1H, m, H-7'), 1.94 (1H, m, H-13), 1.78 (1H, m, H-1), 1.73 (1H, m, H-6), 1.62 (1H, m, H-3), 1.61 (1H, m, H-1'), 1.57 (1H, m, H-9), 1.51 (1H, m, H-12), 1.49 (1H, m, H-3'), 1.48 (1H, m, H-11), 1.42 (1H, m, H-6'), 1.17 (2H, dd, $J = 12.4, 2.8$ Hz, H-5), 1.14 (1H, m, H-12'), 0.99 (3H, s, H-18), 0.98 (3H, d, $J = 6.9$ Hz, H-16), 0.92 (3H, s, H-19), 0.91 (3H, s, H-20).

RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ 178.9 (C=O, C-15), 148.0 (C, C-8) 107.0 (CH_2 , C-17), 67.8 (CH, C-2), 57.6 (CH, C-9), 53.1 (CH, C-5), 46.4 (CH_2 , C-3), 45.7 (CH_2 , C-1), 41.3 (CH_2 , C-14), 39.7 (C, C-10), 38.1 (CH_2 , C-7), 36.0 (CH_2 , C-12), 33.3 (CH_3 , C-19), 33.0 (C, C-4), 30.9 (CH, C-13), 24.6 (CH_3 , C-18), 24.5 (CH_2 , C-6), 21.5 (CH_2 , C-11), 19.9 (CH_3 , C-16), 17.3 (CH_3 , C-20).

7.5. Obtención del ácido 2 α -acetoxieperuico (**9**)

Para la obtención del compuesto **9**, se llevó a cabo la acetilación en el grupo hidroxilo C-2. En un vial de 15 mL se agregaron 518 mg (1.6063×10^{-3} mol) de ácido 2 α -hidroxieperuico (**7**), disolviendo con piridina y posteriormente se agregaron 3 equivalentes (4.8189×10^{-3} mol) de anhídrido acético. Se dejó reaccionar por 24 horas en baño vapor, transcurrido el tiempo de reacción se

colocó sobre hielo y se extrajo con acetato de etilo, se lavó de 2 a 3 veces con ácido clorhídrico al 10%, posterior se lavó de 2 a 3 veces con agua destilada, la fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro, se concentró en rotavapor y se purifico por cromatografía en columna abierta. Obteniendo 492 mg una miel amarilla con un rendimiento de 83%.



RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 5.16 (1H, quint, *J* = 3.9 Hz, H-2), 4.86 (1H, s, H-17), 4.51 (1H, s, H-17'), 2.39 (1H, m, H-7) 2.39 (1H, dd, *J* = 14.2, 5.4 Hz, H-14), 2.13 (1H, dd, *J* = 14.2, 8.4 Hz, H-14'), 2.02 (3H, s, H-22), 1.97 (1H, m, H-7'), 1.94 (1H, m, H-13), 1.78 (1H, m, H-1), 1.73 (1H, m, H-6), 1.62 (1H, m, H-3), 1.61 (1H, m, H-1'), 1.57 (1H, m, H-9), 1.51 (1H, m, H-12), 1.49 (1H, m, H-3'), 1.48 (1H, m, H-11), 1.42 (1H, m, H-6'), 1.17 (2H, dd, *J* = 12.4, 2.8 Hz, H-5), 1.14 (1H, m, H-12'), 0.99 (3H, s, H-18), 0.98 (3H, d, *J* = 6.9 Hz, H-16), 0.92 (3H, s, H-19), 0.91 (3H, s, H-20).

RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ 179.2 (C=O, C-15), 170.6 (C=O, C-21), 147.7 (C, C-8) 107.2 (CH₂, C-17), 70.7 (CH, C-2), 57.6 (CH, C-9), 54.0 (CH, C-5), 43.3 (CH₂, C-3), 41.8 (CH₂, C-1), 41.3 (CH₂, C-14), 39.0 (C, C-10), 38.1 (CH₂, C-7), 35.8 (CH₂, C-12), 33.7 (CH₃, C-19), 32.8 (C, C-4), 30.7 (CH, C-13), 24.1 (CH₂, C-6), 23.5 (CH₃, C-18), 21.5 (CH₃, C-22), 21.1 (CH₂, C-11), 19.5 (CH₃, C-16), 16.0 (CH₃, C-20).

7.6. Obtención del éster metílico (**5b**)

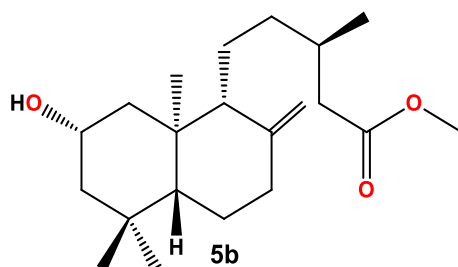
7.6.1. Obtención del éster metílico del ácido 2α-hidroxieperuico con activador del grupo carboxilo

Se colocaron en un matraz balón de 5 mL 33 mg (1.0233×10^{-4} mol) de ácido 2α-hidroxieperuico (**7**), 1.5 equivalentes (1.5349×10^{-4} mol) de CDI y 3 mL de THF, se

llevó a reaccionar en baño ultrasónico durante 60 min, posteriormente se adicionaron 3 equivalentes (3.0699×10^{-4} mol) de metanol y se dejó reaccionar en baño ultrasónico durante otros 60 min. Transcurrido el tiempo de reacción se colocó sobre hielo y se extrajo con acetato de etilo, se lavó 2 a 3 veces con agua destilada, la fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro, se concentró en rotavapor y se purificó por cromatografía en columna abierta. Obteniéndose 7.2 mg del éster **5b** con un rendimiento de 21%. También se logró aislar el intermediario acil-imidazol **32** (5 mg) del éster como subproducto de la reacción.

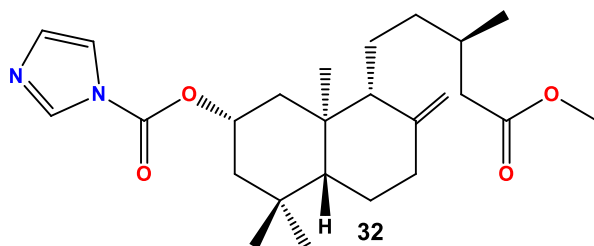
7.6.2. Obtención del éster metílico del ácido 2 α -hidroxieperuico con diazometano

En un matraz de 50 mL se colocaron 204.8 mg (6.3507×10^{-4} mol) del ácido 2 α -hidroxieperuico (**7**), se disolvieron en 2 mL de éter etílico, el matraz se tapó y se llevó a 4 °C. Posteriormente se preparó el diazometano con *N*-nitroso-metil-urea. Para su elaboración, en un segundo matraz de 50 mL sobre un baño de hielo se colocaron 3 mL de éter etílico y se adicionaron 2 mL de KOH al 40%, a continuación, se añadieron 5 equivalentes (3.1753×10^{-3} mol) de la *N*-nitroso-metil-urea (5:1) en pequeñas porciones durante medio a un minuto, siempre manteniendo una suave agitación, una vez formado el diazometano la fase etérea se separó de la fase acuosa por medio de un embudo de separación. El diazometano se agregó a la materia prima, dejando reaccionar 24 horas a 4 °C. Pasadas las 24 horas la reacción se monitorio por medio de cromatografía en capa fina. Una vez consumida la materia prima, se dejó evaporar y se purificó por cromatografía en columna, obteniéndose 203.8 mg del éster metílico **5b** con un rendimiento 95%.



Miel incolora: RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 4.85 (1H, s, H-17), 4.50 (1H, s, H-17'), 4.17 (1H, quint, $J = 4.5$ Hz, H-2), 3.66 (3H, s, H-21), 2.38 (3H, m, H-7), 2.34 (1H dd, $J = 14.6, 5.9$ Hz, H-14), 2.12 (1H, dd, $J = 14.7, 8.2$ Hz, H-14'), 1.77 (1H, m, H-1), 1.70 (1H, m, H-6), 1.60 (1H, m, H-3), 1.59 (1H, m, H-1'), 1.55 (1H, m, H-9), 1.48 (1H, m, H-12), 1.46 (1H, m, H-3'), 1.38 (1H, m, H-6'), 1.15 (1H, dd, $J = 9.9, 2.9$ Hz, H-5), 1.0 (1H, m, H-12'), 0.99 (3H, s, H-18), 0.95 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H-16), 0.92 (3H, s, H-19), 0.91 (3H, s, H-20).

RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ 174.0 (C=O, C-15), 148.2 (C, C-8), 106.8 (CH_2 , C-17), 67.6 (CH, C-2), 57.5 (CH, C-9), 53.0 (CH, C-5), 51.1 (CH_3 , C-21), 46.6 (CH_2 , C-3), 45.8 (CH_2 , C-1), 41.3 (CH_2 , C-14), 39.7 (C, C-10), 38.5 (CH_2 , C-7), 35.9 (CH_2 , C-12), 33.2 (CH_3 , C-19), 33.0 (C, C-4), 31.2 (CH, C-13), 24.6 (CH_3 , C-18), 24.4 (CH_2 , C-6), 21.4 (CH_2 , C-11), 19.8 (CH_3 , C-16), 17.3 (CH_3 , C-20).

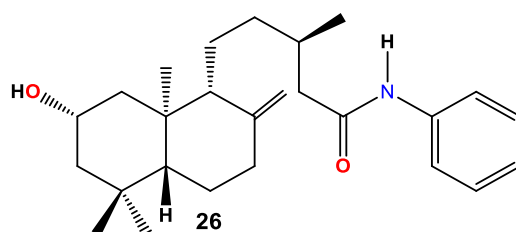


RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) δ 8.13 (1H, s, H-23), 7.41 (1H, s, H-25), 7.07 (1H, s, H-26), 4.87 (1H, s, H-17), 4.54 (1H, s, H-17'), 5.40 (1H, quint, $J = 3.9$ Hz, H-2), 2.51 (1H, dd, $J = 14.6, 4.1$ Hz, H-14), 2.40 (1H, m, H-7), 2.36 (1H, m, H-14'), 2.06 (1H, m, H-13), 1.96 (1H, m, H-7'), 1.79 (1H, m, H-1), 1.72 (1H, m, H-6), 1.64 (1H, dd, $J = 7.6, 1.2$ Hz, H-3), 1.58 (1H, m, H-1'), 1.60 (1H, m, H-9), 1.49 (1H, m, H-11), 1.45 (1H, m, H-12), 1.47 (1H, dd, $J = 13.4, 4.1$ Hz, H-3'), 1.49 (1H, m, H-11'), 1.41 (1H, m, H-6'), 1.18 (1H, dd, $J = 9.9, 2.9$ Hz, H-5), 1.24 (1H, m, H-12'), 1.49 (3H, d, $J = 6.0$ Hz, H-16), 1.00 (3H, s, H-18), 0.93 (3H, s, H-19), 0.93 (3H, s, H-20).

7.7. Obtención de la amida 2 α -hidroxi-N-fenileperuamida (26)

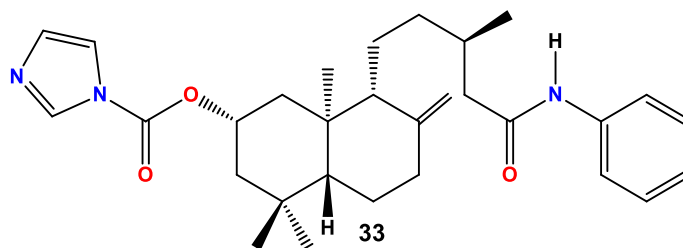
Se colocaron en un matraz balón de 5 mL 110 mg (3.4110×10^{-4} mol) de ácido 2 α -hidroxieperuico (7), 1.5 equivalentes (5.1165×10^{-4} mol) de CDI y 3 mL de THF, se llevó a reaccionar en baño ultrasónico durante 60 min, posteriormente se

adicionaron 3.0 equivalentes (1.0233×10^{-3} mol) de la anilina y se deja reaccionar en baño ultrasónico durante otros 60 min, transcurrido el tiempo de reacción se colocó sobre hielo y se extrajo con acetato de etilo, se lavó 2 veces con agua, la fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro, se concentró en rotavapor y se purificó por cromatografía en columna, obteniéndose 53.1 mg de la 2 α -hidroxi-N-fenileperuamida (**26**) con un rendimiento 39%. También se logró aislar el intermediario acil-imidazol **33** (3 mg) de la amida como subproducto de la reacción.



RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) δ 7.52 (2H, d, $J = 7.6$ Hz, H-22 y H-26), 7.32 (2H, t, $J = 7.6$ Hz, H-23 y H-25), 7.11 (1H, t, $J = 7.6$ Hz, H-24), 4.84 (1H, s, H-17), 4.50 (1H, s, H-17'), 4.15 (1H, quint, $J = 5.3$ Hz, H-2), 2.41 (1H, dd, $J = 15.2, 4.1$ Hz, H-14), 2.38 (1H, m, H-7), 2.07 (1H, m, H-14'), 2.06 (1H, m, H-13), 1.94 (1H, m, H-7'), 1.77 (1H, m, H-1), 1.70 (1H, m, H-6), 1.63 (1H, dd, $J = 7.6, 1.2$ Hz, H-3), 1.58 (1H, m, H-1'), 1.57 (1H, m, H-9), 1.54 (1H, m, H-11), 1.54 (1H, m, H-12), 1.45 (1H, dd, $J = 13.4, 4.1$ Hz, H-3'), 1.39 (1H, m, H-11'), 1.38 (1H, m, H-6'), 1.16 (1H, dd, $J = 12.3, 2.9$ Hz, H-5), 1.05 (1H, m, H-12'), 1.01 (3H, d, $J = 5.9$ Hz, H-16), 0.99 (3H, s, H-18), 0.92 (3H, s, H-19), 0.91 (3H, s, H-20);

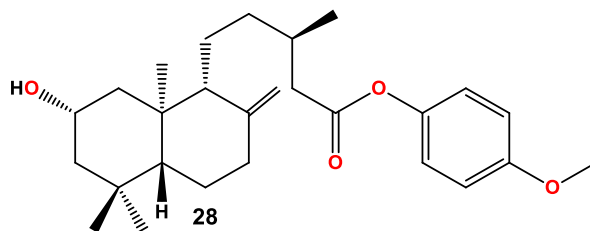
RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz) δ 170.7 (C-15), 148.0 (C-8), 137.8 (C-21), 128.9 (C-23 y C-25), 124.2 (C-24), 119.8 (C-22 y C-26), 106.9 (C-17), 67.8 (C-2), 57.6 (C-9), 53.1 (C-5), 46.5 (C-3), 45.8 (C-1), 45.3 (C-14), 39.7 (C-10), 38.1 (C-7), 36.1 (C-12), 33.2 (C-19), 33.0 (C-4), 31.5 (C-13), 24.6 (C-6), 24.5 (C-18), 21.5 (C-11), 19.9 (C-16), 17.3 (C-20).



RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) δ 8.12 (1H, s, H-28), 7.40 (1H, s, H-29), 7.09 (1H, s, H-30), 7.50 (2H, d, $J = 7.6$ Hz, H-22 y H-26), 7.31 (2H, t, $J = 7.6$ Hz, H-23 y H-25), 7.11 (1H, t, $J = 7.09$ Hz, H-24), 4.88 (1H, s, H-17), 4.55 (1H, s, H-17'), 5.38 (1H, quint, $J = 5.3$ Hz, H-2), 2.41 (1H, dd, $J = 15.2, 4.1$ Hz, H-14), 2.38 (1H, m, H-7), 2.07 (1H, m, H-14'), 2.06 (1H, m, H-13), 1.94 (1H, m, H-7'), 1.77 (1H, m, H-1), 1.70 (1H, m, H-6), 1.63 (1H, dd, $J = 7.6, 1.2$ Hz, H-3), 1.58 (1H, m, H-1'), 1.57 (1H, m, H-9), 1.54 (1H, m, H-11), 1.54 (1H, m, H-12), 1.45 (1H, dd, $J = 13.4, 4.1$ Hz, H-3'), 1.39 (1H, m, H-11'), 1.38 (1H, m, H-6'), 1.16 (1H, dd, $J = 12.3, 2.9$ Hz, H-5), 1.05 (1H, m, H-12'), 1.01 (3H, d, $J = 5.9$ Hz, H-16), 0.99 (3H, s, H-18), 0.92 (3H, s, H-19), 0.91 (3H, s, H-20).

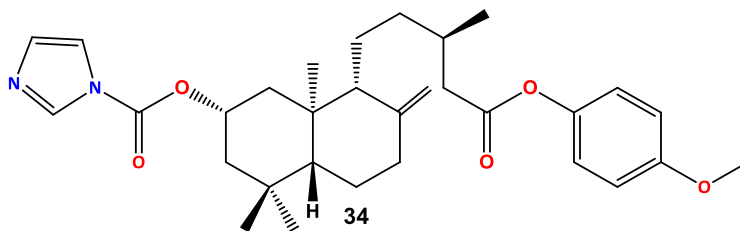
7.8. Preparación del éster 2 α -hidroxi-(4-metoxifenil)eperuato (28)

Se colocaron en un matraz balón de 50 mL 228.7 mg (7.0919×10^{-4} mol) de ácido 2 α -hidroxieperuico (**7**), 1.5 equivalentes (1.0637×10^{-3} mol) de CDI y 3 mL de THF, se llevó a reaccionar en baño ultrasónico durante 60 min, posteriormente se adicionaron 3 equivalentes (2.1275×10^{-3} mol) de *p*-metoxifenol y se dejó reaccionar en baño ultrasónico durante otros 60 min. Transcurrido el tiempo de reacción se colocó sobre hielo y se extrajo con acetato de etilo, se lava 2 a 3 veces con agua, la fase orgánica se seca con sulfato de sodio anhidro, se concentró en rotavapor y se purificó por cromatografía en columna abierta. Obteniéndose 130.6 mg del éster con un rendimiento 43% de **28**. También se obtuvo como subproducto el intermediario acil-imidazol obteniéndose 9 mg del compuesto **34**.



RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) δ 6.98 (2H, d, $J = 9.03$ Hz, H-22 y H-26), 6.88 (2H, d, $J = 8.91$ Hz, H-23 y H-25), 3.80 (1H, t, $J = 7.6$ Hz, H-27), 4.87 (1H, s, H-17), 4.54 (1H, s, H-17'), 4.16 (1H, quint, $J = 4.2$ Hz, H-2), 2.51 (1H, dd, $J = 14.6$, 4.1 Hz, H-14), 2.40 (1H, m, H-7), 2.36 (1H, m, H-14'), 2.06 (1H, m, H-13), 1.96 (1H, m, H-7'), 1.79 (1H, m, H-1), 1.72 (1H, m, H-6), 1.64 (1H, dd, $J = 7.6$, 1.2 Hz, H-3), 1.58 (1H, m, H-1'), 1.60 (1H, m, H-9), 1.49 (1H, m, H-11), 1.45 (1H, m, H-12), 1.47 (1H, dd, $J = 13.4$, 4.1 Hz, H-3'), 1.49 (1H, m, H-11'), 1.41 (1H, m, H-6'), 1.18 (1H, dd, $J = 9.9$, 2.9 Hz, H-5), 1.24 (1H, m, H-12'), 1.49 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-16), 1.00 (3H, s, H-18), 0.93 (3H, s, H-19), 0.93 (3H, s, H-20).

RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz) δ 172.1 (C-15), 148.1 (C-8), 144.2 (C-21), 122.4 (C-22 y C-26), 157.2 (C-24), 114.4 (C-23 y C-25), 107.0 (C-17), 67.9 (C-2), 57.4 (C-9), 53.2 (C-5), 46.6 (C-3), 45.9 (C-1), 42.0 (C-14), 39.8 (C-10), 38.2 (C-7), 35.8 (C-12), 33.4 (C-19), 33.0 (C-4), 31.0 (C-13), 24.6 (C-6), 24.6 (C-18), 21.4 (C-11), 19.7 (C-16), 17.3 (C-20).

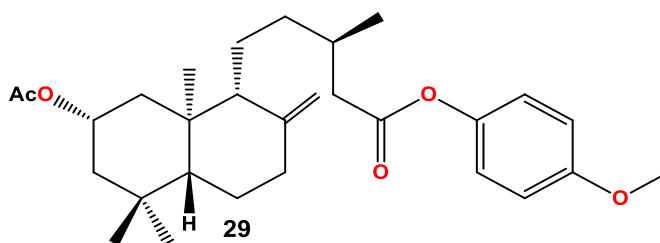


RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) δ 8.13 (1H, s, H-29), 7.41 (1H, s, H-30), 7.07 (1H, s, H-31), 6.98 (2H, d, $J = 9.03$ Hz, H-22 y H-26), 6.88 (2H, d, $J = 8.91$ Hz, H-23 y H-25), 3.80 (1H, t, $J = 7.6$ Hz, H-27), 4.87 (1H, s, H-17), 4.54 (1H, s, H-17'), 5.40 (1H, quint, $J = 3.9$ Hz, H-2), 2.51 (1H, dd, $J = 14.6$, 4.1 Hz, H-14), 2.40 (1H, m, H-7), 2.36 (1H, m, H-14'), 2.06 (1H, m, H-13), 1.96 (1H, m, H-7'), 1.79 (1H, m, H-1), 1.72 (1H, m, H-6), 1.64 (1H, dd, $J = 7.6$, 1.2 Hz, H-3), 1.58 (1H, m, H-1'), 1.60 (1H, m, H-9), 1.49 (1H, m, H-11), 1.45 (1H, m, H-12), 1.47 (1H, dd, $J = 13.4$, 4.1 Hz, H-

3'), 1.49 (1H, m, H-11'), 1.41 (1H, m, H-6'), 1.18 (1H, dd, $J = 9.9, 2.9$ Hz, H-5), 1.24 (1H, m, H-12'), 1.49 (3H, d, $J = 6.0$ Hz, H-16), 1.00 (3H, s, H-18), 0.93 (3H, s, H-19), 0.93 (3H, s, H-20).

7.9. Preparación del éster 2 α -hidroxi-(4-metoxifenil)eperuato acetilado (29)

Se colocaron en un vial de 15 mL 34.8 mg (8.4212×10^{-5} mol) de éster **28**, 3 mL de piridina y 3 equivalentes (2.5263×10^{-4} mol) de anhídrido acético, se llevó a reaccionar en baño vapor durante 24 horas. Transcurrido el tiempo de reacción, se colocó sobre hielo, se extrajo con acetato de etilo, se lavó 2 a 3 veces con ácido clorhídrico al 10%, después se lavó 2 a 3 veces con agua, las aguas madres se neutralizan con una solución de bicarbonato de sodio saturada. Finalmente la fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro, se concentró en rotavapor y se purificó por cromatografía en columna abierta, obteniéndose 15.1 mg del éster **29** con un rendimiento 40%.



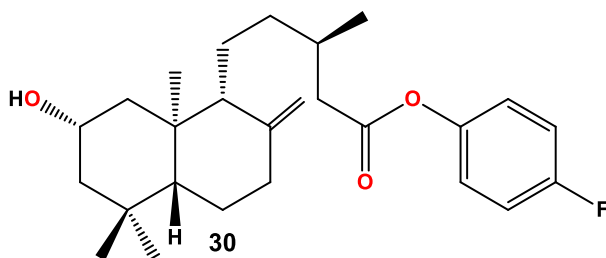
RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) δ 2.03 (3H, s, H-29), 6.98 (2H, d, $J = 9.03$ Hz, H-22 y H-26), 6.88 (2H, d, $J = 8.91$ Hz, H-23 y H-25), 3.80 (1H, t, $J = 7.6$ Hz, H-27), 4.87 (1H, s, H-17), 4.54 (1H, s, H-17'), 5.1 (1H, quint, $J = 3.9$ Hz, H-2), 2.51 (1H, dd, $J = 14.6, 4.1$ Hz, H-14), 2.40 (1H, m, H-7), 2.36 (1H, m, H-14'), 2.06 (1H, m, H-13), 1.96 (1H, m, H-7'), 1.79 (1H, m, H-1), 1.72 (1H, m, H-6), 1.64 (1H, dd, $J = 7.6, 1.2$ Hz, H-3), 1.58 (1H, m, H-1'), 1.60 (1H, m, H-9), 1.49 (1H, m, H-11), 1.45 (1H, m, H-12), 1.47 (1H, dd, $J = 13.4, 4.1$ Hz, H-3'), 1.49 (1H, m, H-11'), 1.41 (1H, m, H-6'), 1.18 (1H, dd, $J = 9.9, 2.9$ Hz, H-5), 1.24 (1H, m, H-12'), 1.49 (3H, d, $J = 6.0$ Hz, H-16), 1.00 (3H, s, H-18), 0.93 (3H, s, H-19), 0.93 (3H, s, H-20).

RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz) δ 172.0 (C-15), 170.5 (C-28), 147.7 (C-8), 144.1 (C-21), 122.3 (C-22 y C-26), 157.1 (C-24), 114.3 (C-23 y C-25), 107.3 (C-17), 70.6 (C-2), 57.4 (C-9), 55.5 (C-5), 54.1 (C-27), 43.3 (C-3), 41.9 (C-1), 41.5 (C-14), 39.0

(C-10), 38.1 (C-7), 35.6 (C-12), 33.7 (C-19), 32.8 (C-4), 31.2 (C-13), 24.1 (C-6), 23.5 (C-18), 21.4 (C-29), 21.1 (C-11), 19.7 (C-16), 16.0 (C-20).

7.10. Preparación del éster-2 α -hidroxi-(4-fluorofenil)eperuato (**30**)

Se colocaron en un matraz balón de 5 mL 51.5 mg (1.5969×10^{-4} mol) de ácido 2 α -hidroxieperuico (**7**), 1.5 equivalentes (2.3954×10^{-4} mol) de CDI y 3 mL de THF, se llevó a reaccionar en baño ultrasónico durante 90 min, posteriormente se adicionaron 3 equivalentes (4.7909×10^{-4} mol) de 4-fluorofenol y se dejó reaccionar en baño ultrasónico durante otros 90 min. Transcurrido el tiempo de reacción se colocó sobre hielo y se extrajo con acetato de etilo, se lavó 2 a 3 veces con agua, la fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro, se concentró en rotavapor y se purificó por cromatografía en columna abierta, obteniéndose 20.3 mg del éster **30** con un rendimiento 30%.

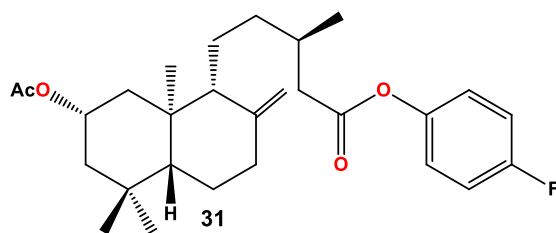


RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) δ 7.04 (4H, m, H-22, H-23, H-25, H-26), 4.87 (1H, s, H-17), 4.54 (1H, s, H-17'), 4.1 (1H, quint, $J = 4.7$ Hz, H-2), 2.51 (1H, dd, $J = 14.6$, 4.1 Hz, H-14), 2.40 (1H, m, H-7), 2.36 (1H, m, H-14'), 2.06 (1H, m, H-13), 1.96 (1H, m, H-7'), 1.79 (1H, m, H-1), 1.72 (1H, m, H-6), 1.64 (1H, dd, $J = 7.6$, 1.2 Hz, H-3), 1.58 (1H, m, H-1'), 1.60 (1H, m, H-9), 1.49 (1H, m, H-11), 1.45 (1H, m, H-12), 1.47 (1H, dd, $J = 13.4$, 4.1 Hz, H-3'), 1.49 (1H, m, H-11'), 1.41 (1H, m, H-6'), 1.18 (1H, dd, $J = 9.9$, 2.9 Hz, H-5), 1.24 (1H, m, H-12'), 1.49 (3H, d, $J = 6.0$ Hz, H-16), 1.00 (3H, s, H-18), 0.93 (3H, s, H-19), 0.93 (3H, s, H-20).

RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz) δ 171.7 (C-15), 148.0 (C-8), 161.3 (C-21), 122.9 (C-22 y C-26), 158.9 (C-24), 115.9 (C-23 y C-25), 106.9 (C-17), 67.8 (C-2), 57.6 (C-9), 53.1 (C-5), 46.6 (C-3), 45.7 (C-1), 41.6 (C-14), 39.7 (C-10), 38.1 (C-7), 35.8 (C-12), 33.3 (C-19), 31.2 (C-4), 24.5 (C-13), 21.5 (C-6), 21.3 (C-18), 19.9 (C-11), 19.5 (C-16), 17.3 (C-20).

7.11. Preparación del éster-2 α -acetoxi-(4-fluorofenil)eperuato (**31**)

Obtenido el compuesto acetilado (**9**) se colocaron en un matraz balón de 5 mL 62.9 mg (1.7023×10^{-4} mol), 1.5 equivalentes (2.5535×10^{-4} mol) de CDI y 3 mL de THF, se llevó a reaccionar en baño ultrasónico durante 90 min, posteriormente se adicionaron 3 equivalentes (7.6607×10^{-4} mol) de 4-fluorofenol y se dejó reaccionar en baño ultrasónico durante otros 90 min. Transcurrido el tiempo de reacción se colocó sobre hielo y se extrajo con acetato de etilo, se lavó 2 a 3 veces con agua, la fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro, se concentró en rotavapor y se purificó por cromatografía en columna abierta, obteniéndose 25.4 mg del éster **31** con un rendimiento 28%.



RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) δ 7.04 (4H, m, H-22, H-23, H-25, H-26), 5.16 (1H, quint, $J = 4.9$ Hz, H-2), 4.87 (1H, s, H-17), 4.54 (1H, s, H-17'), 2.40 (1H, m, H-7), 2.51 (1H, dd, $J = 14.6, 4.1$ Hz, H-14), 2.36 (1H, m, H-14'), 2.01 (3H, s, H-28), 2.06 (1H, m, H-13), 1.96 (1H, m, H-7'), 1.79 (1H, m, H-1), 1.72 (1H, m, H-6), 1.64 (1H, dd, $J = 7.6, 1.2$ Hz, H-3), 1.58 (1H, m, H-1'), 1.60 (1H, m, H-9), 1.49 (1H, m, H-11), 1.45 (1H, m, H-12), 1.47 (1H, dd, $J = 13.4, 4.1$ Hz, H-3'), 1.49 (1H, m, H-11'), 1.41 (1H, m, H-6'), 1.18 (1H, dd, $J = 9.9, 2.9$ Hz, H-5), 1.24 (1H, m, H-12'), 1.04 (3H, d, $J = 6.0$ Hz, H-16), 0.98 (3H, s, H-18), 0.92 (3H, s, H-19), 0.88 (3H, s, H-20).

RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz) δ 171.7 (C-15), 170.5 (C-27), 161.3 (C-21), 158.9 (C-24), 147.7 (C-8), 122.9 (C-22 y C-26), 116.0 (C-23 y C-25), 107.3 (C-17), 70.6 (C-2), 57.5 (C-9), 54.1 (C-5), 43.3 (C-3), 41.8 (C-1), 41.5 (C-14), 39.0 (C-10), 38.1 (C-7), 35.8 (C-12), 33.7 (C-19), 32.8 (C-4), 31.2 (C-13), 24.1 (C-6), 23.5 (C-18), 21.4 (C-29), 21.4 (C-28), 21.1 (C-11), 19.7 (C-16), 16.0 (C-20).

8. BIBLIOGRAFÍA

1. Ody, P. Las plantas medicinales: guía práctica con remedios eficaces para los trastornos más comunes, a Dorling Kindersley Book, Buenos Aires Argentina, **1993**.
2. Chevallier, A. Enciclopedia de plantas medicinales. Un libro de Dorling Kindersley, Gran Bretaña, **1996**.
3. Villareal, M.L.; Cardoso, T.A.; Ortíz, A.; Sharma, A. Biotecnología para producir medicinas de plantas mexicanas, Universidad Nacional Autónoma de México, **2014**, vol 15, 8.
4. Aharoni, A.; Galili, G. Metabolic engineering of the plant primary-secondary metabolism interface. *Current Opinion in Biotechnology*. **2011**, 22, 239–244.
5. Ávalos, G. A.L; Pérez, U. C. E. Metabolismo secundario de plantas, *Reduca (biología vegetal)*. **2009**, 2, 119-145.
6. Sepúlveda Jiménez, G, Porta Ducoing, H, Rocha Sosa, M. La participación de los metabolitos secundarios en la defensa de las plantas. *Revista Mexicana de Fitopatología*. **2003**; 21, 355-363.
7. Juncosa-Tejero, J. I.; Síntesis del diterpeno tipo labdano 12S-zerumin B, Universidad Simon Bolivar, **2005**.
8. Carey, F. A.; Giuliano, R. M. Química Orgánica, Novena edición. Mc Graw Hill Education: México; **2014**.
9. Seigler, D. S. Plant Secondary Metabolis. Springer science: Nueva York; **1998**, pp 398.
10. Dewick, P. M. Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach. Third edition. Wiley: Inglaterra; **2009**, pp 223.
11. Lanzotti, V. Diterpenes for Therapeutic Use. Natural Products. Springer, Berlin, Heidelberg; **2013**, 3174-3189.
12. Kumaran A. P.; Tyo, K.; Carlsen, S.; Mucha, O.; Heng, P. T.; Stephanopoulos, G. Terpenoids: Opportunities for Biosynthesis of Natural Products Drugs Using Engineered Microorganisms. *Molecular pharmaceutics*. **2008**, 5, 167–190.

13. Barrales-Cureño, H.J.; Ramírez-Sepúlveda, M.F. Una revisión sobre la producción de taxoides anticancerígenos en cultivos in vitro de callos y células de *Taxus* spp. *Rev. Colomb. Biotecnol.* **2013**, *15*, 167-177.
14. Lajili, S.; Deghrigue, M.; Abdelhamid, A.; Bjelogrić, S.; Muller, C.D.; D'auria, M.; Bouraoui, A. Anticancer activity of diterpenes and steroids from *Eunicella singularis* against two- and threedimensional breast cancer cell models. *Journal of Coastal Life Medicine.* **2017**; *5*, 531-539.
15. Villaseñor, J. L. Diversidad y distribución de la familia Asteraceae en México. *Botanical Sciences.* **2018**, *96*, 332-358.
16. Barkley T.M, Janovec J.P. Robinsonecio (Asteraceae-Senecioneae) a new genus from Mexico and Guatemala. *Contributions to Botany.* **1996**, *17*, 77-81.
17. Bartoli A, Tortosa R.D. Revision of the North American species of *Grindelia* (Asteraceae). *Annals of the Missouri Botanical Garden.* **2012**, *98*, 447-513.
18. Beaman J.H. Revision of *Hieracium* (Asteraceae) in Mexico and Central America. *Systematic Botany Monographs.* **1990**, *29*, 1-77.
19. García-Sánchez, E. Ramírez-López, C. B.; Talavera-Alemán, A.; León-Hernández, A.; Martínez-Muñoz, R. E.; Martínez-Pacheco, M. M.; Gómez-Hurtado, M. A.; Cerda-García Rojas, C. M.; Joseph-Nathan, P.; del Río, R. E. Absolute configuration of (13*R*)- and (13*S*) labdane diterpenes coexisting in *Ageratina jocotepecana*. *Journal of Natural Products*, **2014**, *77*, 1005-1012.
20. Calderón, J. S.; Quijano, L.; Garduño, M.; Gómez, F.; Ríos, T. 2 α -iso-Valeroyloxyeperuic acid, a diterpene from *Eupatorium petiolare*. *Phytochemistry.* **1983**, *22*, 2617-2619.
21. Luna-Vázquez, M. "Transformación química del ácido 2 α -hidroxieperuico aislado de *Ageratina petiolaris*". Tesis de Licenciatura presentada en la Facultad de Químico Farmacobiología de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, **2015**.
22. Bustos-Brito, C.; Andrade-Cetto, A.; Giraldo-Aguirre, J.D.; Moreno-Vargas, A. D.; Quijano, L. Acute hypoglycemic effect and phytochemical composition of *Ageratina petiolaris*. *J. Ethnopharmacol.* **2016**, *185*, 341–346.
23. Luna-Vázquez, M. "Preparación de diterpenos aromáticos a partir del producto natural de *Ageratina petiolaris*". Tesis de Maestría en Ciencias Químicas presentada en el Instituto de Investigaciones de Químico Biológicas de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, **2018**.

24. Trott, O; Olson, A. J. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization and multithreading. *J. Comput. Chem.* **2010**, 31, 455-461.
25. García-Gutiérrez, H. A.; Carranza-Calvillo, L. J., Luna-Vázquez, M.; del Río, R. E.; Cerda-García-Rojas, C. M.; Joseph-Nathan, P. Modificación química, modelado y anclaje molecular de diterpenos tipo *ent-labdano* de *Ageratina petiolaris*. *Rev. Latinoamer. Quim.* **2016**, 44 (Suplemento Especial), 194.
26. Jaramillo, L. M. Curso de Química Orgánica General. Universidad del Valle Vicerrectora Académica. Santiago de Cali, **2002**.
27. Zambron, B. K.; Dubbaka, S. R.; Markovic, D.; Moreno-Clavijo, E.; Vorgel, P. Amide Formation in One Pot from Carboxylic Acids and Amines via Carboxyl and Sulfinyl Mixed Anhydrides. *Org. Lett.* **2013**, 15, 2550-2553.
28. https://portalacademico.cch.unammx/materiales/prof/matdidac/sitpro/exp/quim/quim2/quimical/L_GruposF.pdf.
29. Verma, S. K.; Ghorpade, R.; Pratap, A.; Kaushik, M. P. Solvent Free, *N,N'*-carbonyldiimidazole (CDI) Mediated Amidation. *Tetrahedron Letters*, **2012**, 53, 2373-2376.
30. Font-Maté, C.; Modelado molecular como herramienta para el descubrimiento de nuevos fármacos que interaccionan con proteínas. Trabajo fin de grado en Farmacia. Facultad de farmacia de Universidad Complutense. **2017**.
31. Sánchez-Montero, J.M. Molecular modeling methodologies in the design, synthesis and rational explanation of results. *Anales de la Real Academia Nacional de Farmacia*. **2016**, 82, 168-184.
32. Contreras, J.; Delgado, G. E.; Barrios, S. E.; López, C. F. Síntesis y caracterización estructural de *N*-acilimidazoles con cadenas de 12 a 22 átomos de carbono. *Avances en Química*. **2015**, 10, 139-142.

9. ANEXO

Tabla 2. Parámetros termoquímicos de los confórmers de **28**.

Confórmero	$\Delta E_{\text{MMFF}}^{\text{a}}$	%MMFF ^b	$\Delta E_{\text{DFT}}^{\text{c}}$	%DFT ^d	$\Delta G_{\text{OPT}}^{\text{e}}$	%OPT ^f
28-1	1.87	1.41	0.33	9.95	0.00	50.65
28-2	1.66	1.99	0.00	17.25	0.72	15.11
28-3	1.96	1.21	0.52	7.14	1.03	8.94
28-4	1.79	1.60	0.54	6.99	1.06	8.46
28-5	1.44	2.87	0.37	9.29	1.37	5.02
28-6	1.83	1.49	0.64	5.84	1.43	4.51
28-7	1.51	2.57	0.41	8.68	1.93	1.95
28-8	1.74	1.75	1.06	2.90	2.15	1.34
28-9	0.00	32.88	0.21	12.20	2.35	0.96
28-10	1.98	1.17	1.30	1.92	2.37	0.92
28-11	0.72	9.72	0.96	3.44	2.57	0.66
28-12	0.14	25.79	0.36	9.41	2.65	0.58
28-13	1.26	3.92	0.97	3.37	2.80	0.45
28-14	1.22	4.17	1.46	1.47	2.84	0.42
28-15	0.88	7.46	2.80	0.15	4.44	0.03

^a Energía relativa a partir de mecánica molecular de **28-9** $E_{\text{MMFF}} = 102.0511$ kcal/mol.

^b Población en % calculada a partir de mecánica molecular, $\Delta E_{\text{MMFF}} = -RT \ln K$.

^c Energía relativa a partir de DFT a nivel B3LYP/DGDZVP de **28-2** $E_{\text{DGDZVP}} = -849637.41523$ kcal/mol.

^d Población en % calculada a partir de DFT a nivel B3LYP/DGDZVP, $\Delta E_{\text{DGDZVP}} = -RT \ln K$.

^e Energía libre de Gibbs relativa a partir de DFT a nivel B3LYP/DGDZVP de **28-1** $G_{\text{DGDZVP}} = -849285.0768$ kcal/mol.

^f Población en % calculada a partir de $\Delta G = -RT \ln K$, a nivel B3LYP/DGDZVP.

Tabla 3. Parámetros termoquímicos de los conformeros de **29**.

Conformero	ΔE_{MMFF}^a	%MMFF ^b	ΔE_{DFT}^c	%DFT ^d	ΔG_{OPT}^e	%OPT ^f
29-1	2.31	1.39	0.00	30.33	0.00	77.41
29-2	0.00	68.69	1.13	4.54	1.34	8.06
29-3	1.31	7.59	0.10	25.61	1.73	4.20
29-4	1.22	8.72	0.20	21.69	1.91	3.07
29-5	2.11	1.96	1.61	1.99	1.96	2.82
29-6	2.13	1.89	1.23	3.81	2.00	2.66
29-7	2.27	1.50	0.58	11.46	2.37	1.42
29-8	1.78	3.39	2.49	0.45	3.22	0.34
29-9	2.42	1.16	3.53	0.08	5.40	0.01
29-10	1.73	3.71	3.91	0.04	5.85	0.01

^a Energía relativa a partir de mecánica molecular de **29-2** $E_{\text{MMFF}} = 91.7768$ kcal/mol.

^b Población en % calculada a partir de mecánica molecular, $\Delta E_{\text{MMFF}} = -RT \ln K$.

^c Energía relativa a partir de DFT a nivel B3LYP/DGDZVP de **29-1** $E_{\text{DGDZVP}} = -945451.6282$ kcal/mol.

^d Población en % calculada a partir de DFT a nivel B3LYP/DGDZVP, $\Delta E_{\text{DGDZVP}} = -RT \ln K$.

^e Energía libre de Gibbs relativa a partir de DFT a nivel B3LYP/DGDZVP de **29-1** $G_{\text{DGDZVP}} = -945078.9424$ kcal/mol.

^f Población en % calculada a partir de $\Delta G = -RT \ln K$, a nivel B3LYP/DGDZVP.

Tabla 4. Parámetros termoquímicos de los conformeros de **30**.

Conformero	ΔE_{MMFF}^a	%MMFF ^b	ΔE_{DFT}^c	%DFT ^d	ΔG_{OPT}^e	%OPT ^f
30-1	1.79	2.20	0.18	20.48	0.00	19.77
30-2	1.03	7.92	0.23	19.00	0.04	18.36
30-3	0.45	21.21	0.00	27.97	0.08	17.30
30-4	1.08	7.36	0.53	11.38	0.17	14.90
30-5	1.98	1.59	0.82	7.02	0.22	13.70
30-6	0.00	45.22	1.05	4.73	0.58	7.48
30-7	0.96	8.97	0.92	5.91	0.76	5.44
30-8	1.25	5.53	1.23	3.51	1.11	3.05

^a Energía relativa a partir de mecánica molecular de **30-6** $E_{\text{MMFF}} = 96.3101$ kcal/mol.

^b Población en % calculada a partir de mecánica molecular, $\Delta E_{\text{MMFF}} = -RT \ln K$.

^c Energía relativa a partir de DFT a nivel B3LYP/DGDZVP de **30-3** $E_{\text{DGDZVP}} = -2730495.9251$ kcal/mol.

^d Población en % calculada a partir de DFT a nivel B3LYP/DGDZVP, $\Delta E_{\text{DGDZVP}} = -RT \ln K$.

^e Energía libre de Gibbs relativa a partir de DFT a nivel B3LYP/DGDZVP de **30-1** $G_{\text{DGDZVP}} = -2730043.7403$ kcal/mol.

^f Población en % calculada a partir de $\Delta G = -RT \ln K$, a nivel B3LYP/DGDZVP.

Tabla 5. Parámetros termoquímicos de los confórmers de **31**.

Confórmero	ΔE_{MMFF}^a	%MMFF ^b	ΔE_{DFT}^c	%DFT ^d	ΔG_{OPT}^e	%OPT ^f
31-1	1.13	6.46	0.59	9.22	0.00	33.12
31-2	1.17	6.06	0.00	25.03	0.13	26.69
31-3	1.32	4.71	0.31	14.79	0.15	25.61
31-4	1.63	2.76	1.14	3.66	0.75	9.36
31-5	1.80	2.07	0.93	5.23	1.66	2.01
31-6	0.00	43.57	0.26	16.15	2.03	1.07
31-7	0.52	18.22	0.69	7.84	2.09	0.97
31-8	1.76	2.24	2.08	0.75	2.53	0.47
31-9	1.61	2.89	0.23	17.01	2.57	0.44
31-10	1.96	1.59	2.95	0.17	3.14	0.16
31-11	0.91	9.43	2.97	0.15	3.39	0.10

^a Energía relativa a partir de mecánica molecular de **31-6** $E_{\text{MMFF}} = 86.2256$ kcal/mol.

^b Población en % calculada a partir de mecánica molecular, $\Delta E_{\text{MMFF}} = -RT \ln K$.

^c Energía relativa a partir de DFT a nivel B3LYP/DGDZVP de **31-2** $E_{\text{DGDZVP}} = -935863.6276$ kcal/mol.

^d Población en % calculada a partir de DFT a nivel B3LYP/DGDZVP, $\Delta E_{\text{DGDZVP}} = -RT \ln K$.

^e Energía libre de Gibbs relativa a partir de DFT a nivel B3LYP/DGDZVP de **31-1** $G_{\text{DGDZVP}} = -935515.0418$ kcal/mol.

^f Población en % calculada a partir de $\Delta G = -RT \ln K$, a nivel B3LYP/DGDZVP.

Tabla 6. Parámetros termoquímicos de los conformeros de **32**.

Conformero	ΔE_{MMFF}^a	%MMFF ^b	ΔE_{DFT}^c	%DFT ^d	ΔG_{OPT}^e	%OPT ^f
32-1	1.12	6.65	0.00	43.88	0.00	65.19
32-2	0.56	17.24	0.31	25.92	0.57	24.81
32-3	1.44	3.88	1.22	5.56	1.55	4.75
32-4	0.00	44.23	1.21	5.66	1.79	3.20
32-5	1.28	5.13	1.15	6.31	2.44	1.07
32-6	1.11	6.80	1.15	6.34	2.85	0.53
32-7	0.73	12.98	1.18	5.97	2.99	0.42
32-8	1.58	3.09	2.83	0.36	4.66	0.03

^a Energía relativa a partir de mecánica molecular de **32-4** $E_{\text{MMFF}} = 85.4424$ kcal/mol.

^b Población en % calculada a partir de mecánica molecular, $\Delta E_{\text{MMFF}} = -RT \ln K$.

^c Energía relativa a partir de DFT a nivel B3LYP/DGDZVP de **32-1** $E_{\text{DGDZVP}} = -869798.0561$ kcal/mol.

^d Población en % calculada a partir de DFT a nivel B3LYP/DGDZVP, $\Delta E_{\text{DGDZVP}} = -RT \ln K$.

^e Energía libre de Gibbs relativa a partir de DFT a nivel B3LYP/DGDZVP de **32-1** $G_{\text{DGDZVP}} = -869459.8333$ kcal/mol.

^f Población en % calculada a partir de $\Delta G = -RT \ln K$, a nivel B3LYP/DGDZVP.

Tabla 7. Parámetros termoquímicos de los confórmers de **33**.

Confórmero	ΔE_{MMFF}^a	%MMFF ^b	ΔE_{DFT}^c	%DFT ^d	ΔG_{OPT}^e	%OPT ^f
33-1	3.22	0.33	0.23	27.47	0.00	89.62
33-2	0.88	17.19	0.20	29.34	1.85	3.97
33-3	1.52	5.78	0.00	40.81	1.95	3.32
33-4	2.39	1.34	1.76	2.11	2.00	3.07
33-5	0.00	75.36	2.96	0.27	5.15	0.02

^a Energía relativa a partir de mecánica molecular de **33-5** $E_{\text{MMFF}} = 91.4007$ kcal/mol.

^b Población en % calculada a partir de mecánica molecular, $\Delta E_{\text{MMFF}} = -RT \ln K$.

^c Energía relativa a partir de DFT a nivel B3LYP/DGDZVP de **33-3** $E_{\text{DGDZVP}} = -977654.3396$ kcal/mol.

^d Población en % calculada a partir de DFT a nivel B3LYP/DGDZVP, $\Delta E_{\text{DGDZVP}} = -RT \ln K$.

^e Energía libre de Gibbs relativa a partir de DFT a nivel B3LYP/DGDZVP de **33-1** $G_{\text{DGDZVP}} = -977277.8045$ kcal/mol.

^f Población en % calculada a partir de $\Delta G = -RT \ln K$, a nivel B3LYP/DGDZVP.

Tabla 8. Parámetros termoquímicos de los confórmers de **34**.

Confórmero	ΔE_{MMFF}^a	%MMFF ^b	ΔE_{DFT}^c	%DFT ^d	ΔG_{OPT}^e	%OPT ^{f,g}
34-1	0.47	18.99	0.00	33.06	0.00	38.44
34-2	0.48	18.44	0.07	29.32	0.26	24.64
34-3	0.00	41.77	0.19	24.11	0.49	16.77
34-4	0.90	9.12	2.21	0.79	0.69	12.03
34-5	1.84	1.87	1.20	4.39	1.35	3.93
34-6	2.24	0.95	0.96	6.57	1.52	2.96
34-7	1.51	3.25	1.82	1.54	2.10	1.11
34-8	1.19	5.61	2.98	0.21	3.45	0.12

^a Energía relativa a partir de mecánica molecular de **34-3** $E_{\text{MMFF}} = 118.0617$ kcal/mol.

^b Población en % calculada a partir de mecánica molecular, $\Delta E_{\text{MMFF}} = -RT \ln K$.

^c Energía relativa a partir de DFT a nivel B3LYP/DGDZVP de **34-1** $E_{\text{DGDZVP}} = -1061995.3688$ kcal/mol.

^d Población en % calculada a partir de DFT a nivel B3LYP/DGDZVP, $\Delta E_{\text{DGDZVP}} = -RT \ln K$.

^e Energía libre de Gibbs relativa a partir de DFT a nivel B3LYP/DGDZVP de **34-1** $G_{\text{DGDZVP}} = -1061607.6862$ kcal/mol.

^f Población en % calculada a partir de $\Delta G = -RT \ln K$, a nivel B3LYP/DGDZVP.