



UNIVERSIDAD MICHUACANA DE SAN NICOLÁS
DE HIDALGO



FACULTAD DE QUÍMICO FARMACOBIOLOGÍA

Estudio químico del extracto acuoso de *Ageratina glabrata*.

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
QUÍMICO FARMACOBIOLOGO

PRESENTA:
RAMIRO ISAÍAS PÉREZ JACOB

DIRECTORES:
D.C. ROSA ELVA NORMA DEL RÍO TORRES
M. C. SINUHÉ GALVÁN GÓMEZ

MORELIA, MICH.

JULIO, 2023

El presente trabajo de investigación se realizó en el Laboratorio de Química de Productos Naturales del Instituto de Investigaciones Químico Biológicas de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, bajo la asesoría de la D.C. Rosa Elva Norma del Río Torres y el M.C. Sinuhé Galván Gómez, con el apoyo al Proyecto por la CIC-UMSNH.

ÍNDICE	
SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS	iii
ÍNDICE DE FIGURAS	v
ABSTRACT.....	vii
1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES.....	2
3. JUSTIFICACIÓN.....	11
4. OBJETIVOS	12
4.1 Objetivo general	12
4.2 Objetivos particulares.....	12
5. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	13
7. PARTE EXPERIMENTAL	22
7.1 Generalidades.	22
7.2 Materia vegetal.	22
7.3 Obtención del extracto.	22
7.4 Obtención de ácido benzoico (26).....	22
7.5 Obtención de ácido-3-oxo-γ-cóstico (34).	22
7.6 Obtención de 3α,6α-dihidroxi-1-<i>p</i>-menteno (35).....	23
7.7 Obtención de isobutirato de 10-Benzoioxi-6,8,9-trihidroxitimol. (30)	23
7.7 Obtención de 9-Hidroxitimol (36)	23
REFERENCIAS.....	25

SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS

AcOEt	Acetato de etilo
CH ₂ Cl ₂	Cloruro de metileno
d	Señal doble
dd	Señal doble de dobles
ddd	Señal doble de doble de dobles
dddd	Señal doble de doble de doble de dobles
dt	Señal doble de triple
Hz	Hertz
<i>J</i>	Constante de acoplamiento
m	Señal múltiple
MeOH	Metanol
mg	Miligramo
MHz	Mega Hertz
ppm	Partes por millón
q	Señal quintuple
qd	Señal quintuple de dobles
RMN de ¹³ C	Resonancia Magnética Nuclear de Carbono ¹³
RMN de ¹ H	Resonancia Magnética Nuclear de Hidrogeno ¹
s	Señal simple
sa	Señal simple ancha
sept	Señal séptuple
t	Señal triple

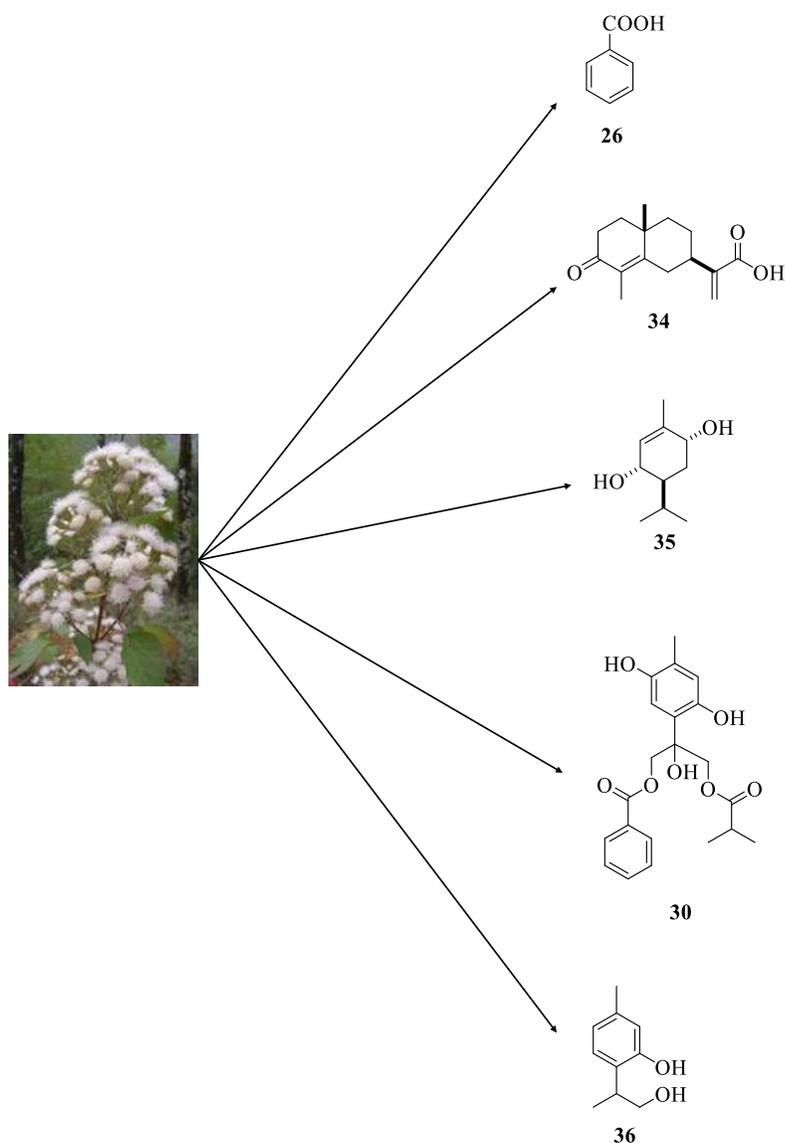
td	Señal triple de dobles
tt	Señal triple de triples

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Compuestos presentes en la familia Asteraceae.	8
Figura 2. DHAP obtenido de <i>A. pazcuarensis</i>	11
Figura 3. Compuestos aislados de <i>A. pichinchensis</i> con actividad antiinflamatoria.....	11
Figura 4. Fórmula del ácido criptoclorogénico (7) aislado de <i>A. adenophora</i>	12
Figura 5. Sakurametina (8) aislada de <i>A. havanensis</i>	12
Figura 6. Germacranólidas aisladas del extracto hexánico de <i>A. vernalis</i>	12
Figura 7. Compuesto aislado de las partes aéreas de <i>Ageratina grandifolia</i>	13
Figura 8. Compuestos 13 y 14 aislados de partes aéreas de <i>A. anisochroma</i>	13
Figura 9. Derivado de timol aislado de las hojas de <i>A. cylindrica</i>	13
Figura 10. Compuestos presentes en el aceite esencial de <i>A. glabrata</i>	14
Figura 11. Compuestos aislados del extracto hexánico de <i>A. glabrata</i>	15
Figura 12. Compuestos aislados de extractos de cloroformo de <i>A. glabrata</i>	15
Figura 13. Compuestos aislados del extracto metanólico de las partes aéreas de <i>A. glabrata</i> . 16	
Figura 14. Compuestos aislados del extracto de diclorometano de <i>A. glabrata</i>	16
Figura 15. Espectro de RMN de ¹ H a 400 MHz de la fase orgánica del extracto acuoso de hojas y tallos de <i>A. glabrata</i>	19
Figura 16. Espectro de RMN de ¹ H a 400 MHz de ácido benzoico (26).	21
Figura 17. Espectro de RMN de ¹ H a 400 MHz de ácido-3-oxo- γ -cóstico (34).	22
Figura 18. Espectro de RMN de ¹ H a 400 MHz de 3 α ,6 α -dihidroxi-1- <i>p</i> -menteno (35). ...	23
Figura 19. Espectro de RMN de ¹ H a 400 MHz de isobutirato de 10-Benzoiloxi-6,8,9- trihidroxitimol (30).	24
Figura 20. Espectro de RMN de ¹ H a 400 MHz de 9-Hidroxitimol (36).	25
Figura 21. Espectro de RMN de ¹³ C a 100 MHz de 9-Hidroxitimol (36).	27

RESUMEN

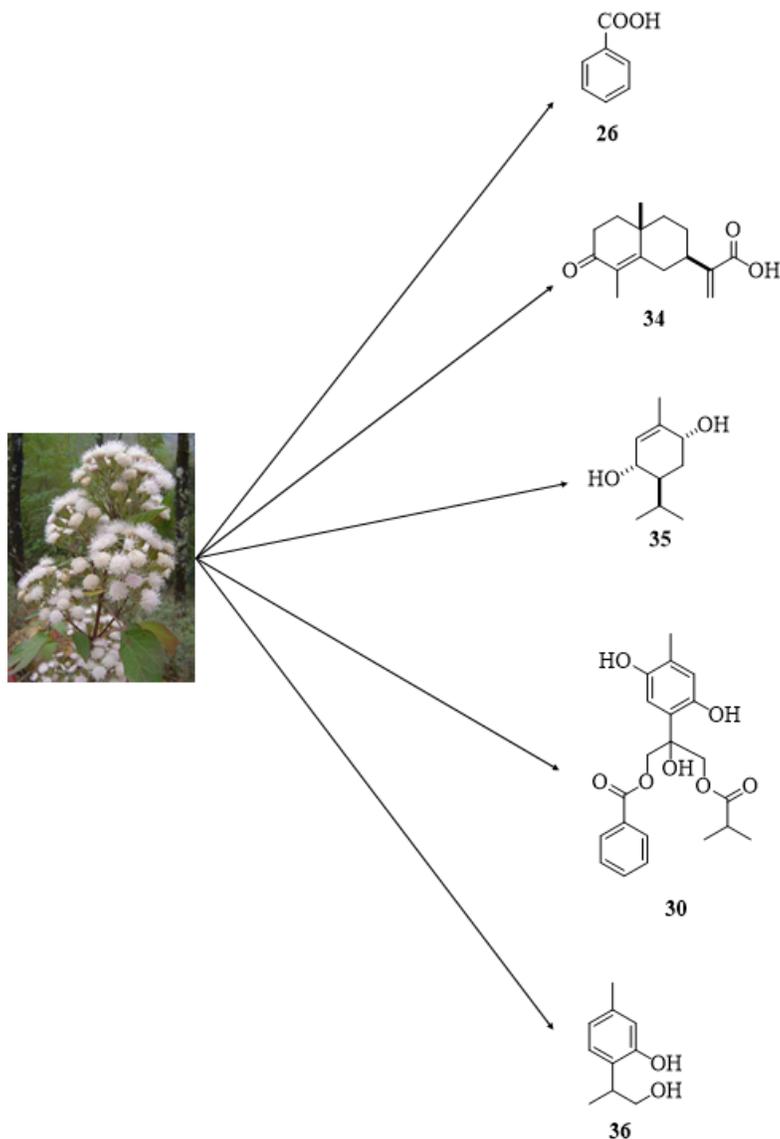
El presente trabajo describe el estudio químico del extracto acuoso mediante reflujo de hojas y tallos de *Ageratina glabrata*, en el cual se aislaron y purificaron al ácido benzoico (**26**), ácido-3-oxo- γ -cóstico (**34**), 3 α ,6 α -dihidroxi-1-*p*-menteno (**35**), isobutirato de 10-benzoiloxi-6,8,9-trihidroxitimol (**30**) y 9-Hidroxitimol (**36**). Todos los compuestos fueron caracterizados por comparación de sus datos espectroscópicos con los reportados. Cabe señalar que este es un método que no se encuentra reportado, razón por la que se decidió a realizar este estudio.



Palabras clave: extracto acuoso, *Ageratina glabrata*, timoles.

ABSTRACT

The present work describes the chemical study of the aqueous extract by reflux of leaves and stems of *Ageratina glabrata*, benzoic acid (**26**), 3-oxo- γ -costic acid (**34**), 3,6-dihydroxy -1-*p*-menthene (**35**), 10-Benzoyloxy-6,8-dihydroxy-9-isobutyryloxythymol (**30**) and 9-hydroxythymol (**36**) were isolated and purified. All compounds were characterized by a comparison of their spectroscopic data with those reported. It should be noted that this is an unprecedented method, so is why it was decided to conduct this study.



Keywords: aqueous extract, *Ageratina glabrata*, thymols

1. INTRODUCCIÓN

Las plantas y los humanos guardan una relación unipartita, en la cual los humanos se han beneficiado de ellas en diferentes usos como: protección del clima, la alimentación y tiempo después los comenzaron a usar en rituales religiosos, en los cuales encontraron su poder curativo (Rodríguez-Acosta *et al.*, 2020).

El manejo tradicional de los recursos vegetales, ha originado un gran conocimiento empírico, que ha permitido el descubrimiento de las cualidades comestibles, medicinales, tóxicas y religiosas en las plantas. Cuando se utilizan correctamente, pueden trabajar de manera conjunta con el cuerpo para lograr una buena salud (Green *et al.*, 2021). La gente ha hecho uso de las plantas a lo largo de toda su historia, generando conocimiento de la flora en general, el cual ha aportado posibilidades diversas, para mantener y mejorar las condiciones de vida de la sociedad (Carapia-Carapia y Vidal-García, 2013). Aislar los compuestos de origen vegetal tiene como ventaja estudiar sus propiedades farmacológicas; entre las que se encuentran eliminar o disminuir su toxicidad al estar en mezcla con otros, los efectos que pueden tener son: antiinflamatorios, cicatrizantes, antimicrobianos, antioxidantes, hipoglucemiantes, entre otros (SAGARPA, 2016).

Entre las diferentes formas de administración destacan: cataplasmas, emplastos, compresas, jarabes, jugos y zumos, infusiones, decocciones, enjuagues, lavados, tinturas, macerados, linimentos, vahos, entre otros.

Para obtener los componentes bioactivos de una especie vegetal se emplean técnicas de extracción que se basan en transferir los metabolitos a un líquido que frecuentemente es alcohol o agua, estas pueden realizarse en temperaturas altas o bajas, de acuerdo con la termolabilidad de, y la concentración depende de las características de la sustancia de origen.

La familia Asteraceae cuenta con una extensa variedad de estas sustancias que poseen un amplio espectro de actividades biológicas, como la tujona (**1**) un monoterpeno que se encuentra presente en el ajeno (*Artemisa absinthium*), el bisabolol (**2**) y camazuleno (**3**) presentes en la manzanilla (*Matricaria chamomilla*) **Figura 1.** (Rodríguez-Acosta *et al.*, 2020).

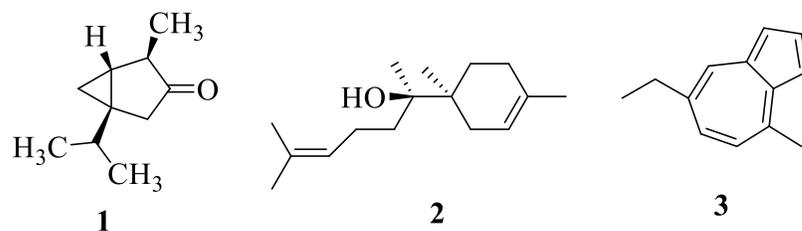


Figura 1. Compuestos presentes en la familia Asteraceae.

2. ANTECEDENTES

Existen varias formas para separar compuestos de especies vegetales y facilitar su uso, este trabajo está enfocado en las extracciones líquido-sólido, las cuales se pueden clasificar en: percolación, maceración, decocción, infusión, digestión, purín, tintura, extracción Soxhlet, destilación por arrastre de vapor y reflujo.

La percolación es el paso de un disolvente, comúnmente llamado menstuo, generalmente alcohólico o una mezcla hidroalcohólica a la planta pulverizada en un solo sentido, logrando concentraciones crecientes de modo que el equilibrio entre el disolvente dentro y fuera del sistema nunca se alcanzan, por lo que la planta siempre está en contacto con nuevas fracciones de menstuo, lo que provoca que ceda todos los componentes solubles.

Por otro lado, la maceración se basa en el contacto prolongado por determinado tiempo del disolvente con la planta, formando un sistema homogéneamente mezclado, donde el disolvente actúa en simultáneo sobre toda la materia, disolviendo los principios activos hasta producirse una concentración equilibrada con el contenido celular.

Otro método es la decocción, en la cual se lleva una mezcla de la materia vegetal con disolvente a temperatura de ebullición del agua por un periodo de tiempo que varía entre 15 y 30 minutos.

La infusión es el sometimiento de la materia húmeda al contacto con el agua a ebullición por 5 minutos, se deja enfriar a temperatura ambiente.

También existe el método por digestión, la cual es una maceración a temperaturas entre 50 y 60 °C. Al aumentar ligeramente la temperatura se consigue un mayor rendimiento de la extracción, ya que la viscosidad del disolvente disminuye lo que provoca que penetre con mayor facilidad las células y extraer los compuestos (Carrión-Jara *et al.*, 2010).

Siguiendo con estos métodos se tiene al purín que es una técnica que se equipara con la maceración, pero en este caso se deja por 15 días tapado, en condiciones de oscuridad, para luego extraer manualmente el extracto (González *et al.*, 2003).

Para realizar tinturas se utiliza alcohol de 70° o 90°, colocando en un recipiente de vidrio una parte de planta por 5 de alcohol, se deja macerar por 5 días, se separa y se utiliza la parte líquida. (SAGARPA, 2016).

La extracción Soxhlet se fundamenta en la colocación de un disolvente en un matraz balón para ponerlo a ebullición hasta que se evapore a un condensador a reflujo el cual cae a un recipiente que contiene un cartucho poroso con la muestra en su interior, el nivel del disolvente aumenta cubriendo el cartucho hasta que se produce un reflujo que regresa el disolvente al matraz y se repite el proceso hasta que se agote la muestra (Núñez, 2008).

La destilación por arrastre de vapor es un método que aprovecha la propiedad del agua en estado gaseoso de mezclarse con moléculas oleosas. El equipo requiere una fuente de vapor, un reactor o cámara de extracción con entrada y salida de vapor donde se coloca la muestra vegetal, un condensador donde el vapor se convierte en líquido de nuevo y se recolecta en un recipiente con desprendimiento para facilitar la separación del agua y el aceite (Olaya & Méndez, 2003).

Por último, el reflujo consiste en colocar la materia con un disolvente en un matraz de fondo redondo conectado a un condensador que se calienta hasta su ebullición, al condensarse el vapor el disolvente se recupera en el matraz (Soto-Guzmán, 2019).

Las técnicas anteriormente mencionadas pueden ser empleadas en especies vegetales, por ejemplo, en la familia asterácea la cual es un grupo que comprende más de 1,700 géneros y entre 24,000 y 30,000 especies y se han aislado moléculas bioactivas que han sido de utilidad para la humanidad (Katinas *et al.*, 2007). En México se registran 417 géneros y 3,113 especies de asteráceas, de las cuales 3,050 son especies nativas y 1,988 son endémicas. Los géneros más relevantes debido al número de especies y su componente endémico, son *Ageratina* (164 y 135, respectivamente), *Verbesina* (164, 138) y *Stevia* (116, 95) (Villaseñor *et al.*, 2018).

Diversas especies de esta familia son utilizadas en la medicina tradicional de varios países incluyendo a México. Las pruebas biológicas de algunas especies han demostrado actividad antihelmíntica, antihemorrágica, antiinflamatoria, antimicrobiana, diurética,

analgésica, hipoglucemiante, antioxidante, antiespasmódica, entre otras (Bustos-Brito *et al.*, 2016).

Un género de importancia dentro de esta familia es *Ageratina*, los metabolitos pertenecientes a este género se identifican en diferentes clasificaciones químicas, tales como: flavonoides, terpenos, benzofuranos, cromenos, siendo estos últimos tres los más comunes (Rivero-Cruz, *et al.*, 2022).

En los últimos años, se han desarrollado diversas investigaciones de dicho género por la importancia de los compuestos químicos presentes como es el caso de *A. pazcuarensis* donde se encontró el compuesto 3,5-diprenil-4-hidroxiacetofenona (DHAP) (4) a partir del extracto de diclorometano de las partes aéreas, mediante cromatografía. **Figura 2** (Rojas-Jiménez *et al.*, 2022).

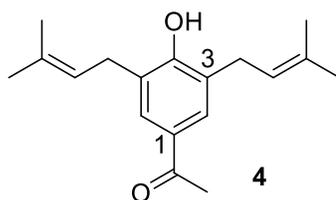


Figura 2. DHAP obtenido de *A. pazcuarensis*

De cultivos celulares en *A. pichinchensis* encontraron dos compuestos con actividad biológica, el (2*S*,3*R*)-5-acetil-7,3-dihidroxi-2-(1-isopropenil)-2,3-dihidrobenzofurano (5) y el 3-epi-lupeol (6) a los cuales se les atribuyen actividades antiinflamatorias **Figura 3** (Sánchez-Ramos, *et al.*, 2023).

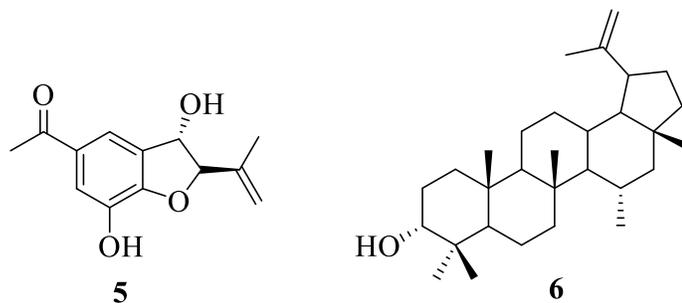


Figura 3. Compuestos aislados de *A. pichinchensis* con actividad antiinflamatoria.

Adicionalmente, de la maceración de las hojas molidas de *A. adenophora* en agua y posterior bipartición con metanol y acetato de etilo aislaron el ácido criptoclorogénico (**7**), que ha demostrado tener actividades antiinflamatorias **Figura 4**. (Ma *et al.*, 2022).

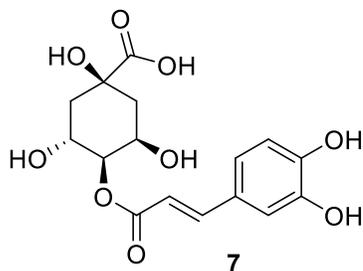


Figura 4. Fórmula del ácido criptoclorogénico (**7**) aislado de *A. adenophora*.

Del extracto etanólico de hojas de la especie vegetal *A. havanensis* reportaron una flavona identificada como sakurametina (**8**) (Spengler *et al.*, 2005), e1 cual presenta actividad antiinflamatoria en un estudio realizando mediante nanoencapsulación en un sistema nanoemulcificado (Santos, 2022).

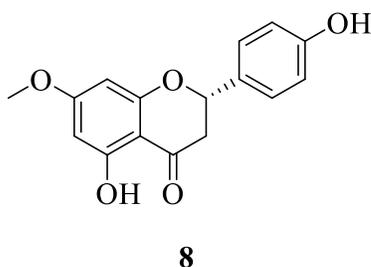


Figura 5. Sakurametina (**8**) aislada de *A. havanensis*.

En 2022, del extracto hexánico de las partes aéreas *A. vernalis* aislaron tres germacranólidas nombradas 1,10- deltoína epoxi A (**9**), deltoína A (**10**) y 15-hidroxideltoína A (**11**) (**Figura 6**), la configuración absoluta de **10** y **11** la establecieron por Dicroísmo Circular Vibracional (Fuentes-Figueroa *et al.*, 2022).

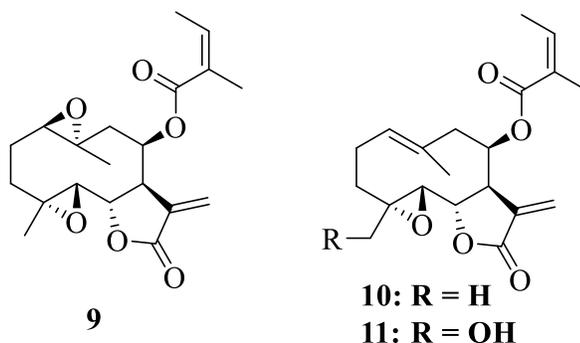


Figura 6. Germacranólidas aisladas del extracto hexánico de *A. vernalis*.

En el extracto acuoso de las partes aéreas de *Ageratina grandifolia* y posterior proceso de extracción por bipartición con AcOEt y MeOH aislaron mediante recromatografías sucesivas, un compuesto tipo cromeno **12**, (**Figura 7**) (Gutiérrez-González, *et al.*, 2021) (Navarro-Vázquez, 2021)

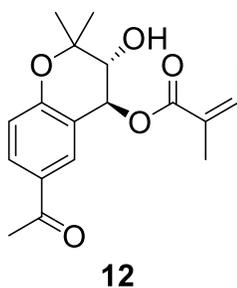


Figura 7. Compuesto aislado de las partes aéreas de *Ageratina grandifolia*.

De las partes aéreas de *A. anisochromia* del extracto de Et₂O-MeOH-éter de petróleo (1:1:1) por maceración a temperatura ambiente, aislaron los compuestos 9-cinamoloiloxitímol (**13**) y 9-cinamoloiloxi-8-hidroxi-10-isobutiriloxitímol (**14**). (**Figura 8**) (Tamayo-Castillo *et al.* 1988).

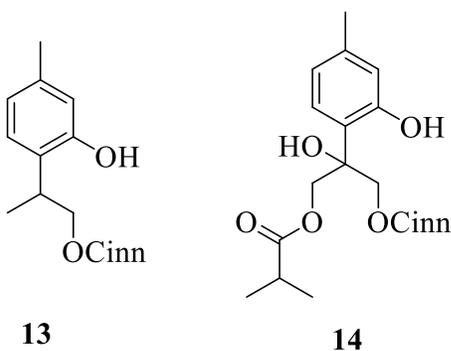


Figura 8. Compuestos **13** y **14** aislados de partes aéreas de *A. anisochroma*.

En 2014, Bustos-Brito *et al.* obtuvieron de las hojas de *A. cylindrica* extraídas por percolación con cloruro de metileno, un derivado de timol, el cual fue identificado como isobutirato de (8*S*)-8,9-epoxi-6-hidroxi-10-benzoiloxi-7-oxotimilo (**15**). (**Figura 9**)

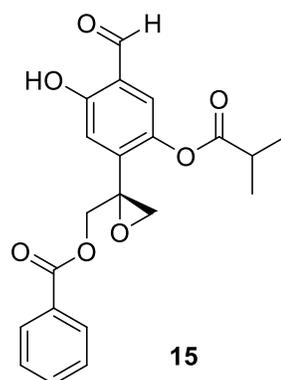


Figura 9. Derivado de timol aislado de las hojas de *A. cylindrica*.

Otra especie vegetal de importancia en México es *Ageratina glabrata* la cual crece en forma de arbusto erecto, ramoso, de flores blancuecinas-rosadas, con tallos estriados y hojas romboideo-oblongas con distribución opuesta de altura entre 1.5 a 2 m. Se conoce popularmente como chamizo blanco, hierba del golpe y es utilizada por su actividad analgésica (García *et al.*, 2011)

El estudio químico del aceite esencial de hojas frescas *A. glabrata* obtenido mediante destilación por arrastre de vapor, y posterior análisis por cromatografía de gases y espectrometría de masa identificaron en su mayoría monoterpenos y sesquiterpenos: α -pineno (**16**), α -felandreno (**17**), β -pineno (**18**), *p*-cimeno (**19**), δ -cadineno (**20**), cariofileno (**21**), selina-6-en-4-ol (**22**), α -cadinol (**23**), entre otros terpenos en menor concentración. (**Figura 10**). (Pimienta-Ramírez *et al.*, 2016).

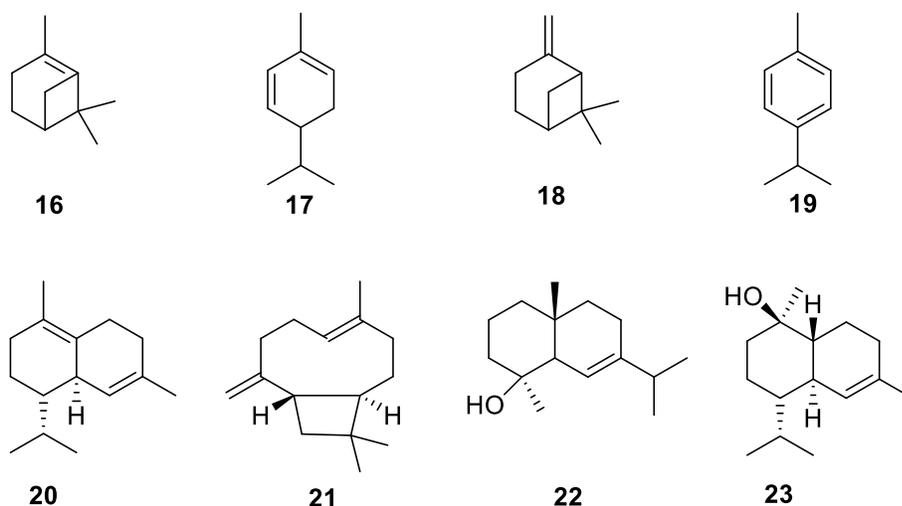


Figura 10. Terpenos presentes en el aceite esencial de *A. glabrata*.

Del extracto hexánico de hojas obtuvieron los epoxitimoles 10-benzoiloxi-6-metoxi-8,9-epoxitimol (**24**) e isobutirato de 10-benzoiloxi-8,9-epoxitimol (**25**). (**Figura 11**) (Arreaga-González, 2019).

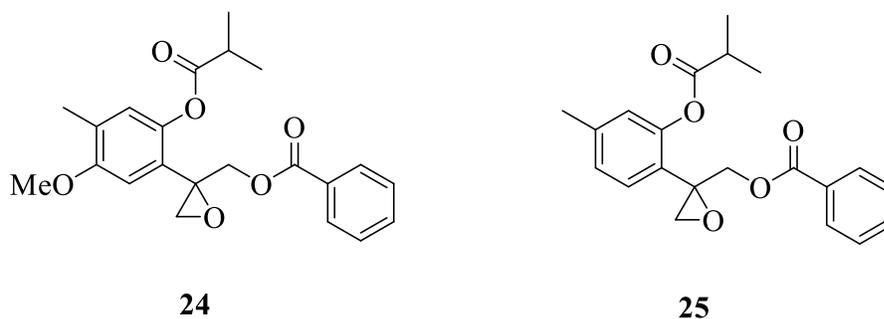


Figura 11. Compuestos aislados del extracto hexánico de *A. glabrata*.

Guerrero y colaboradores reportaron en 1978 de los extractos de cloroformo mediante cromatografía al ácido benzoico (**26**), 5,7-dihidroxi-4'-metoxiflavona o acetina (**27**), ácido ilícico (**28**) y un compuesto nuevo llamado isobutirato de (8*S*)-10-benzoiloxi-8,9-epoxi-6-hidroxitimol (**29**). (**Figura 12**). Posteriormente en 2016 Bustos-Brito y colaboradores, realizaron el estudio del extracto de hojas en diclorometano donde aislaron nuevamente la (8*S*)-10-benzoiloxi-8,9-epoxi-6-hidroxitimol (**29**) el cual presentó actividad antidiarreica y establecieron su configuración absoluta por dos métodos: difracción de rayos X por

valoración de los parámetros de Flack y Hooft y Dicroísmo Circular Vibracional (Bustos-Brito *et al.*, 2016).

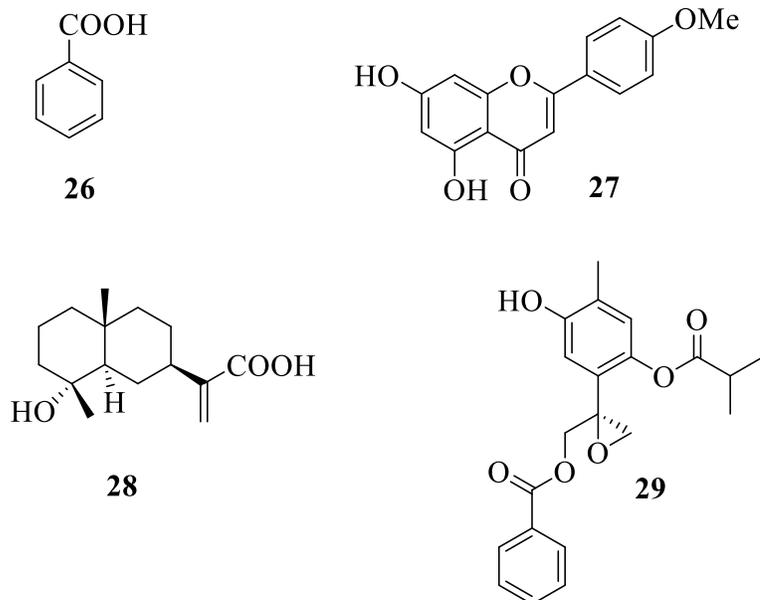


Figura 12. Compuestos aislados de extractos de cloroformo de *A. glabrata*.

Del extracto metanólico de hojas secas aislaron el compuesto mayoritario isobutirato de 10-benzoiloxi-6,8,9-trihdroxitimol (**30**) (Pardo Novoa *et al.*, 2010). En los extractos de las partes aéreas (tallos hojas y flores) se encontraron los compuestos 3,6-dihidroxi-1-menteno 3-O- β -D-glucopiranosido (**31**) y 3,5,6-trihidroxi-1-menteno-3-O- β -D-glucopiranosido (**32**) (**Figura 13**) (Pardo-Novoa, 2018).

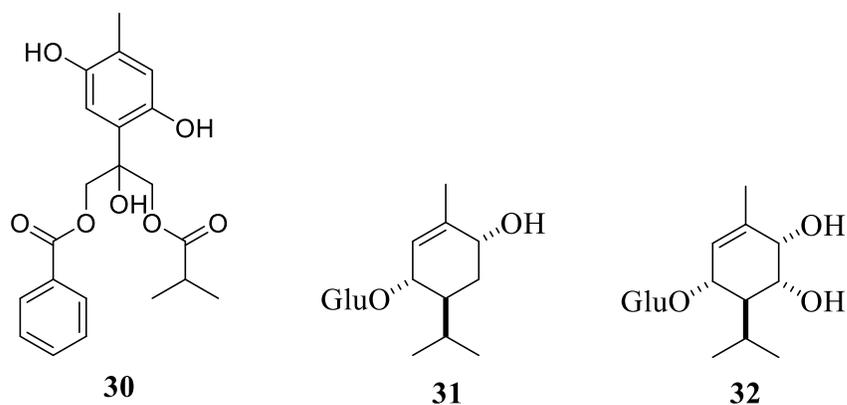


Figura 13. Compuestos aislados del extracto metanólico de las partes aéreas de *A. glabrata*.

Bohlmann y colaboradores en 1977, reportaron el aislamiento de una serie de 8 derivados de epoxitimoles encontraron el (8*S*)-10-benzoiloxi-8,9-epoxi-6-hidroxitimol (**29**) como componente mayoritario, adicional a estos también identificaron tres derivados de timol con un doble enlace en la posición 8 como el isobutirato de 10-isobutiriloxi-8,9-dehidrotimol (**33**). **Figura 14.**

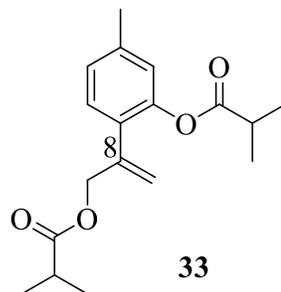


Figura 14. Derivado de timol aislado de *A. glabrata*.

3. JUSTIFICACIÓN

El aislamiento de compuestos tiene importancia a nivel de salud y socioeconómico, ya que las plantas contienen una extensa variedad de metabolitos que utilizan como defensa contra depredadores y patógenos, comunicación y reproducción, que son de interés químico, farmacéutico, agroquímico o biotecnológico. Las distintas formas de extracción y de tipo de disolvente utilizado en *Ageratina glabrata* que ha sido estudiada químicamente desde años atrás (Bohlmann *et al.*, 1977; Talavera, 2012; Bustos-Brito *et al.*, 2016; Pimienta-Ramírez *et al.*, 2016; Pardo-Novoa, 2018), proporcionando diferentes tipos de compuestos; además el género *Ageratina* es utilizado por sus propiedades farmacológicas y se ha demostrado que contienen compuestos analgésicos, antimicrobianos y antiinflamatorios de gran interés. A pesar de presentar varios estudios previos, no existe un estudio químico de la obtención de sus metabolitos por extracción acuosa.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

Realizar un estudio químico del extracto acuoso de las hojas y tallos de *Ageratina glabrata* para evaluar la composición de la fase orgánica obtenida por bipartición.

4.2 Objetivos particulares.

1. Obtener el extracto acuoso de hojas y tallos de *Ageratina glabrata*.
2. Aislar y purificar los compuestos presentes en la fase de diclorometano proveniente de la bipartición del extracto acuoso.
3. Identificar los compuestos por métodos espectroscópicos.

5. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Las hojas y tallos de *Ageratina glabrata* se colocaron a reflujo en agua durante dos horas, posteriormente se realizó una extracción por bipartición con diclorometano de la cual se obtuvo una miel color café-rojizo con un rendimiento del 7.21% que al ser analizada por Resonancia Magnética de Protón, se aprecian señales de 8.2-7.2 ppm de hidrógenos aromáticos, entre 6.5 y 5.5 señales características de hidrógenos vinílicos o bases de ésteres, bases de heteroátomo alrededor de 4.5-3.0 ppm, y grupos alifáticos entre 2.0-0.5 ppm (**Figura 15**).

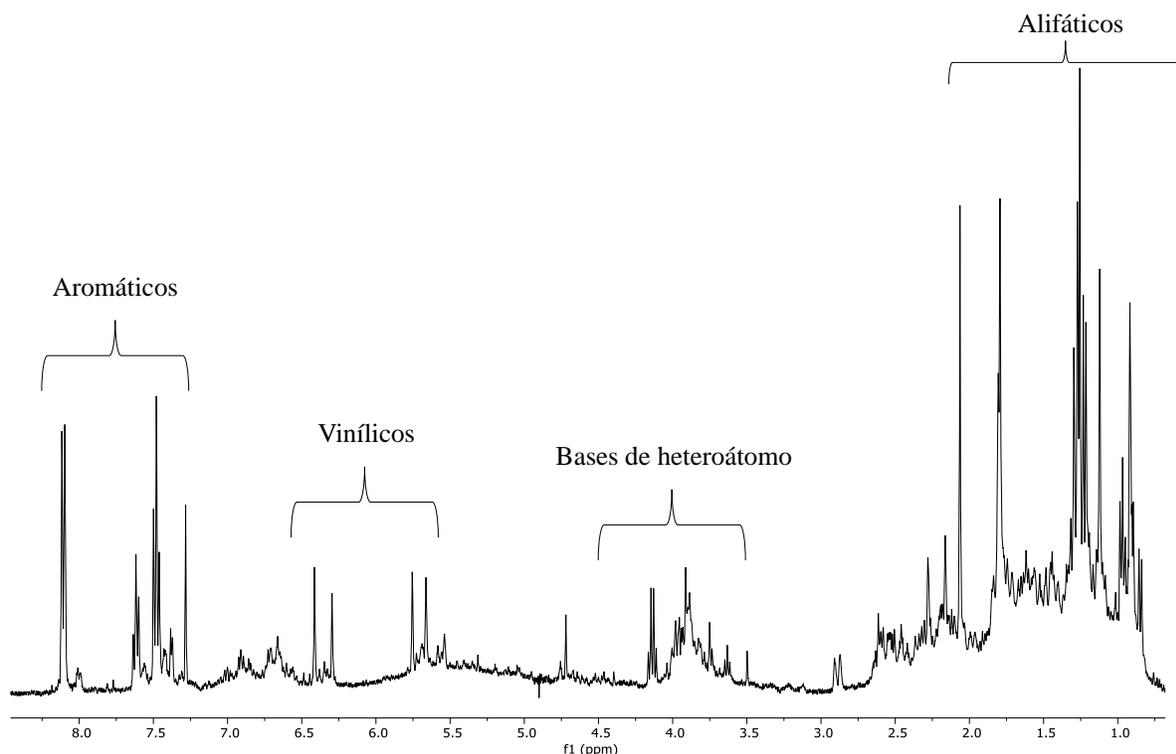


Figura 15. Espectro de RMN de ^1H de la fase CH_2Cl_2 del extracto acuoso de *A. glabrata*.

La miel se llevó a cromatografía en columna, para la separación de los compuestos presentes, utilizando mezclas de Hexanos: AcOEt con polaridades ascendentes donde en la polaridad 9:1 se obtuvo un sólido de color blanco que se analizó por RMN de ^1H (**Figura 16**) donde se aprecian tres conjuntos de señales; en 8.15 ppm una señal doble de dobles que integra para dos hidrógenos con constantes de acoplamiento $J = 7.5$ y 1.3 Hz correspondiente a H2 y H6; una doble de triples que integra para un protón en 7.63 ppm con $J = 7.5$, 1.3 Hz

que corresponde al H-4 y en 7.51 ppm una señal triple que integra para dos hidrógenos con $J = 7.5$ Hz correspondiente a los H-3 y H-5.

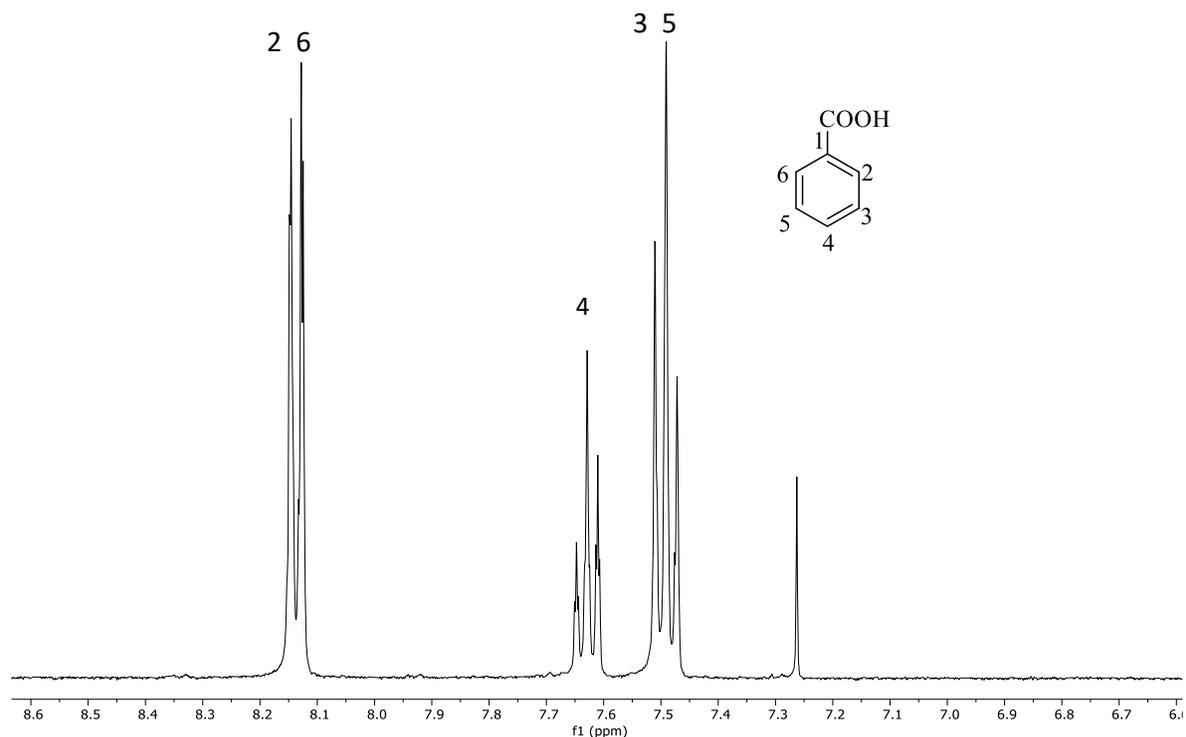


Figura 16. Espectro de RMN de ^1H en CDCl_3 del ácido benzoico (26).

El análisis de los datos de RMN de ^1H permitieron identificar este compuesto como el ácido benzoico con rendimiento de 13.86%, el cual es de suma importancia ya que se encuentra de forma natural en las plantas, desempeñando funciones importantes en el metabolismo al regular el crecimiento y la modificación química de la rizosfera formando parte de los exudados radicales que aumentan la capacidad de captura de minerales; cuando se acumula en gran concentración en el suelo el ácido benzoico funciona como un aleloquímico (Kaur *et al.*, 2005). Es igualmente un mediador de respuestas al estrés, al incorporarse en numerosos metabolitos secundarios asociados con interacciones planta-herbívoro o planta-patógeno tales como: ésteres de glucosinolatos en *Arabidopsis thaliana*; salicina, principal glucósido fenólico en sauce (*Salix*); xantonas en *Hypericum androsaemum*; cocaína en *Erythroxylum coca* y taxol en *Taxus cuspidate*. Muchos de estos

compuestos también son importantes agentes farmacológicos (Valdez-Sepúlveda *et al.*, 2005). Al igual que los anteriores ejemplos en *Ageratina glabrata* se puede observar el fragmento benzoico en las moléculas 10-benzoiloxi-6-metoxi-8,9-epoxitimol (**24**), 10-benzoiloxi-8,9-epoxitimol (**25**), isobutirato de 10-benzoiloxi-6,8,9-trihidroxitimol (**30**) y 10-benzoiloxi-8,9-dihidrotimol (**33**).

Continuando con la purificación de los metabolitos secundarios en la polaridad 7:3 Hexanos: AcOEt se obtuvieron cristales incoloros que al ser analizados en RMN de ^1H , mostraron señales (**Figura 17**) en 6.41 ppm una señal simple correspondiente al H-13a, una señal simple ancha en 5.76 ppm correspondiente al H-13b; una señal doble de doble de dobles en 2.87 ppm con $J = 14.4, 3.5$ y 2.1 Hz correspondiente al H-6a, una señal triple de triples en 2.59 ppm con $J = 12.2, 3.4$ Hz que pertenece al H-7, en 2.43 ppm una señal múltiple indicando el H-2, en 2.05 una señal doble de dobles de dobles con $J = 14.5, 13.0, 1.5$ Hz correspondiente al H-6b, en 1.70 una señal doble con $J = 1.4$ Hz correspondiente al H-15, una señal múltiple en 1.51 ppm indicando el H-9 y en 1.24 ppm una señal simple que indica los hidrógenos del CH_3 -14, estas señales fueron comparadas con las obtenidas por Talavera-Alemán., 2012 las cuales corresponden al ácido-3-oxo- γ -cóstico (**34**) obteniendo un rendimiento de 9.24%.

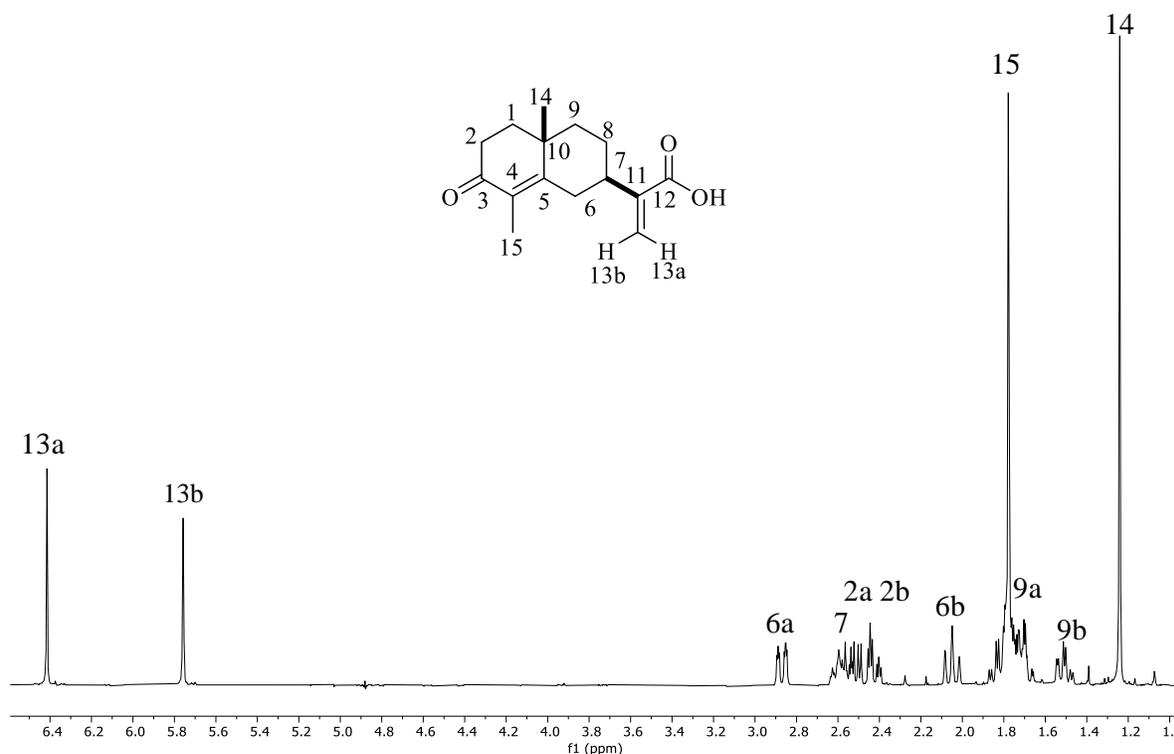


Figura 17. Espectro de RMN de ^1H en CDCl_3 del ácido-3-oxo- γ -cístico (**34**).

Este compuesto resulta importante ya que en un estudio realizado en 2017 por Hegazy *et al.*, describe que mediante una biotransformación del ácido-3-oxo- γ -cístico (**34**) a través hongo *Athelia rolfsii* obtuvieron dos sesquiterpenos los cuales mostraron actividad inhibitoria tumoral *in vitro* utilizando líneas de tumores de pulmón y colon humano. En 2019 en un ensayo *in vitro* por Ebada *et al.*, encontraron actividad citotóxica contra linfoma de ratones.

En la polaridad 3:2 Hexanos-AcOEt se obtuvieron cristales incoloros que al ser analizados por RMN de ^1H , su espectro mostró (**Figura 18**) señales idénticas a las reportadas por Pardo-Novoa en 2011 para el compuesto 3 α ,6 α -dihidroxi-1-*p*-menteno, teniendo un rendimiento de 4.65% (**35**) obtenido mediante la hidrólisis ácida del extracto metanólico de la parte aérea por Pardo Novoa *et al.*, (2011), sin embargo, no hay reportes de que se haya obtenido de forma natural.

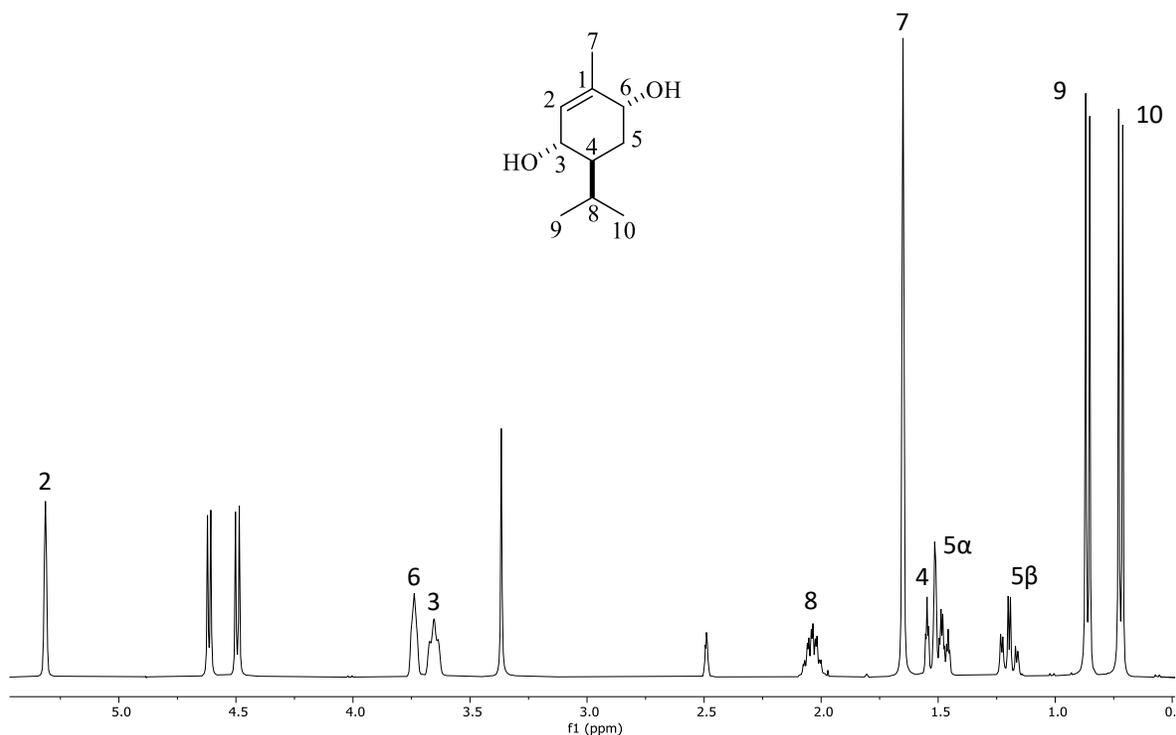


Figura 18. Espectro de RMN de ¹H en CDCl₃ del 3α,6α-dihidroxi-1-*p*-menteno (35).

Por otra parte, la miel obtenida de las fracciones 65-70 se sometió a recromatografía eluida con mezclas de hexanos:AcOEt con polaridad 4:1 (hexanos y AcOEt) se obtuvieron cristales color blanco, se analizaron por RMN de ¹H para su identificación obteniendo en el espectro (**Figura 19**) una señal multiple en 7.98 ppm correspondiente al H-7', una señal triple de triples en 7.57 ppm con valor de $J = 7.4, 1.3$ Hz correspondiente al H-5', en 7.45 ppm una señal multiple correspondiente al H-6', en 7.41 ppm una señal multiple correspondiente al H-4', en 6.67 ppm señal doble con $J = 12$ Hz que corresponde al CH₂ en posición 10, en 6.58 ppm señal doble de $J = 11.9$ Hz que muestra al CH₂ en posición 9, en 2.54 ppm una señal septuple con $J = 7.0$ Hz correspondiente al H-2'', en 2.18 ppm una señal simple que muestra el metilo en posición 7, en 1.12 ppm una señal doble con $J = 7.0$ Hz indicando al metilo en posición 3' y en 1.10 ppm una señal doble con $J = 7.0$ Hz correspondiente al CH₃ en posición 4', señales que corresponden al compuesto isobutirato de 10-benzoiloxi-6,8,9-trihidroxitimol, con rendimiento de 2.31%, (36) reportado por Arreaga-González *et al.*,

(2013), el cual presento actividad antinociceptiva en un estudio realizado por Galván-Gómez *et al.*, (2016).

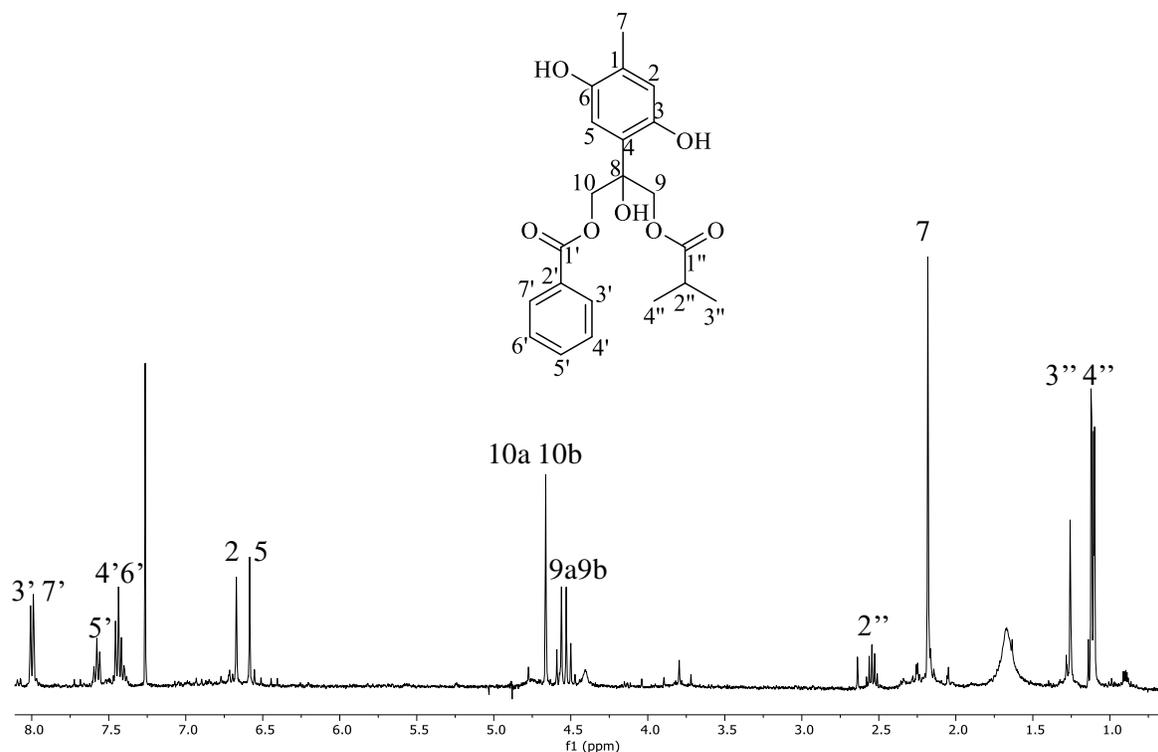


Figura 19. Espectro de RMN de ^1H en CDCl_3 del isobutirato de 10-benzoiloxi-6,8,9-trihidroxitimol (**30**).

Por último, la miel retirada de las fracciones 42-48 se llevó a recromatografía en columna eluida con mezclas de hexanos-AcOEt con polaridad creciente. En las fracciones 17-19 con polaridad 7:3(hexanos-AcOEt) se obtuvo una miel color marrón; el espectro de RMN de ^1H (**Figura 20**) mostró una señal doble en 7.0 ppm con una $J = 8.2$ Hz correspondiente al H-5, en 6.71 ppm una señal simple ancha que integra para H-2 y H-6 debido al traslape de las señales. En 3.93 ppm una señal doble de dobles con $J = 9.8, 3.3$ Hz que pertenece al H-9a, en 3.72 ppm una señal doble de dobles con $J = 9.8, 7.8$ Hz que corresponde al H-9b, en 3.21 ppm una señal quintuple de dobles con $J = 3.6, 7.4$ Hz que corresponde al H-8, en 2.28 ppm una señal simple mostrando los protones del CH_3 -7, en 1.27 ppm una señal doble con $J = 7.4$ Hz corresponde a los protones del CH_3 -10. Estas señales fueron comparadas con las reportadas en la literatura de la **Tabla 1** reportadas por Pérez en 1994, dando como resultado el 9-hidroxitimol (**36**), obteniendo un rendimiento de 0.23%.

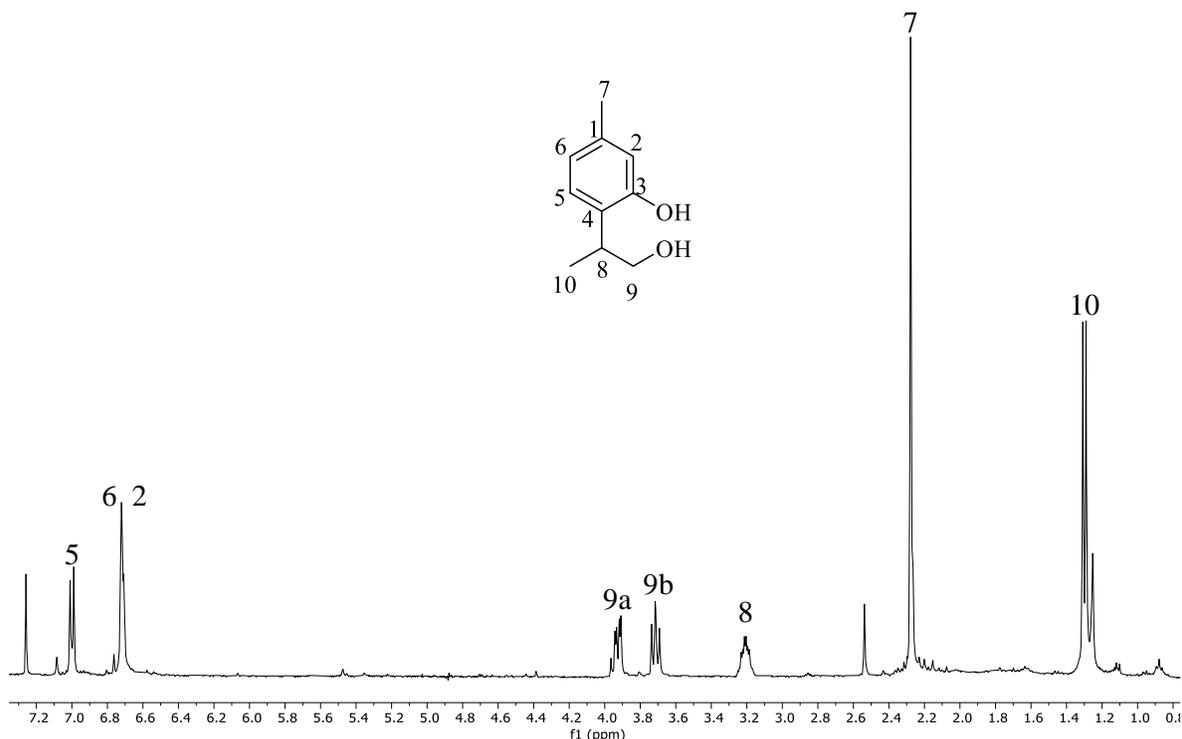


Figura 20. Espectro de RMN de ^1H en CDCl_3 del 9-hidroxitimol (**36**)

En el espectro de RMN de ^{13}C (**Figura 21**) se encuentran las siguientes señales: en 154.8 ppm que corresponde al C-3, 138 ppm se encuentra el carbono cuaternario en posición 4, en 127.8 ppm representando el metino en posición 5, en 121.6 ppm la señal que indica la presencia del CH del C-6, en 118 ppm que indican el carbono terciario en posición 2, en 69.7 ppm el carbono secundario en posición 9, en 36.7 ppm la señal correspondiente al metileno en posición 8, en 21.1 ppm que corresponde al metilo en posición 7 y en 15.9 ppm que indica al carbón primario en posición 10. En la **Tabla 1** se muestra el comparativo de estas señales con las reportadas por Pérez *et al.*, en 1994 en la especie vegetal *Bahia schaffneri* var. *aristata*.

Este compuesto no ha sido reportado en *A. glabrata*, el cual aporta al estudio de la ruta biomimética de glucósidos de *p*-menteno a monoterpenos aromáticos como reportan (Pardo Novoa *et al.*, 2019 y Lorenzo García, 2019), lo cual es de importancia para futuros trabajos de investigación.

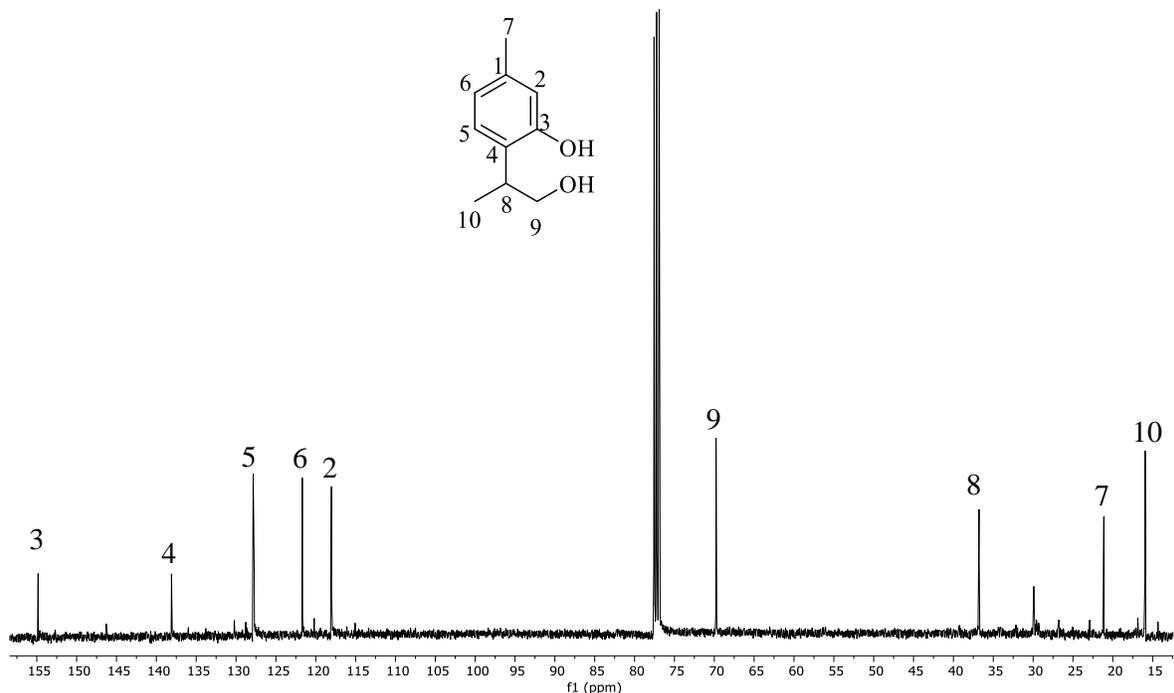


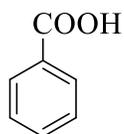
Figura 21. Espectro de RMN de ^{13}C a 100 MHz en CDCl_3 de 9-Hidroxitimol (**36**).

Tabla 1. Comparación de señales obtenidas y reportadas de RMN ^1H y ^{13}C en CDCl_3 del 9-Hidroxitimol (**36**).

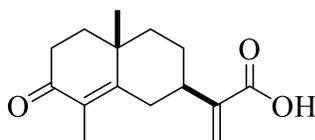
9-Hidroxitimol					
^1H	Experimental (ppm)	Pérez <i>et al.</i> , (1994) (ppm)	^{13}C	Experimental (ppm)	Reportado por Pérez <i>et al.</i> , (1994) (ppm)
5	(d) 7.00 $J= 8.2$ Hz	(d) 7.02 $J= 8.2$ Hz	3	154.8	154.5
6	(sa) 6.70	(d) 6.71 $J= 8.2$ Hz	4	138	137.8
2	(sa) 6.70	(s) 6.70	5	127.8	127.6
9a	(dd) 3.93 $J= 3.3, 9.8$ Hz	(dd) 3.90 $J= 3.6, 9.8$ Hz	6	121.6	121.4
9b	(dd) 3.72 $J= 9.8, 7.8$ Hz	(dd) 3.69 $J= 7.3, 9.8$ Hz	2	118	117.7
8	(q. d) 3.21 $J= 7.4, 3.6$ Hz	(q. d) 3.20 $J= 7.3, 3.6$ Hz	9	69.7	69.4
7	(s) 2.28	(s) 2.27	8	36.7	36.5
10	(d) 1.30 $J= 7.4$ Hz	(d) 1.29 $J= 7.3$ Hz	7	21.1	20.9

6. CONCLUSIÓN

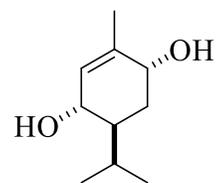
A partir de las hojas y tallos frescos de *A. glabrata* en agua a reflujo es posible obtener metabolitos secundarios de tipo terpenoide lo cual representa una alternativa para el aislamiento y obtención del ácido benzóico (**26**), ácido-3-oxo- γ -cóstico (**34**), isobutirato de 10-benzoiloxi-6,8,9-trihidroxitimol (**30**) que han sido reportados anteriormente en distintos métodos de extracción. Por otro lado, se encontró el 3 α ,6 α -dihidroxi-1-*p*-menteno (**35**), el cual solo ha sido reportado mediante la hidrólisis ácida de su respectivo glucósido y por último el 9-Hidroxitimol (**36**) que fue aislado por primera vez en esta especie vegetal.



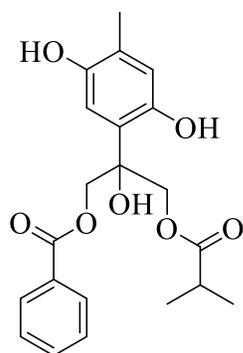
26



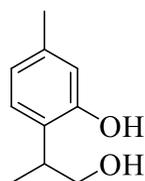
34



35



30



36

7. PARTE EXPERIMENTAL

7.1 Generalidades.

Los espectros de RMN se obtuvieron en un espectrómetro Varian XXX. Para los espectros de RMN ^1H a 400 MHz se utilizó como disolvente CDCl_3 para referencia interna. Estos se procesaron en el programa MestReNova.

Las purificaciones se efectuaron en columnas de cristal con sílice compactada como fase estacionaria y mezclas de hexanos-AcOEt como fase móvil.

7.2 Materia vegetal.

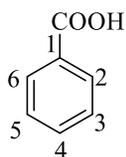
La especie vegetal se colectó a orillas del volcán Paricutín.

7.3 Obtención del extracto.

Las hojas y tallos se sometieron a reflujo por dos horas a una temperatura de $90\text{ }^\circ\text{C}$, posteriormente se realizaron extracciones con diclorometano en relación 1:1 tres veces, obteniendo 8.655 g de extracto.

7.4 Obtención de ácido benzoico (26).

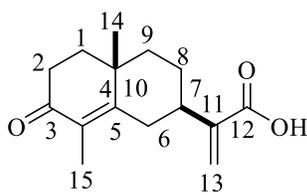
En columna de 3.5 cm. se colocó el extracto acuoso obtenido por reflujo, la cual se eludió con mezclas de hexanos-AcOEt con polaridades ascendentes, recolectado en fracciones de 10 ml aproximadamente en viales de cristal, donde en las fracciones 11-19 se obtuvo 1.2 g ácido benzoico (26).



RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 8.15 (2H, dd, $J=7.5$, 1.3 Hz, H-2, H-6), 7.63 (1H, dt, $J = 7.5$, 1.3 Hz, H-4), 7.51 (2H, t, $J = 7.5$, H-3, H-5).

7.5 Obtención de ácido-3-oxo- γ -cóstico (34).

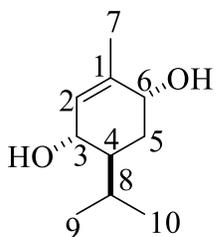
En columna de 3.5 cm. se colocó el extracto acuoso obtenido por reflujo, la cual se eludió con mezclas de hexanos-AcOEt con polaridades ascendentes, recolectado en fracciones de 10 ml aproximadamente en viales de cristal, donde en las fracciones 42-48 se obtuvieron 800 mg de cristales blancos identificados como ácido-3-oxo- γ -cóstico (34).



RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 6.41 (1H, s, H-13a), 5.76 (1H, s, H-13b), 2.87 (1H, ddd, $J = 14.4$, 3.5, 2.1 Hz, H-6a), 2.59 (1H, tt, $J = 12.2$, 3.4 Hz, H-7), 2.43 (2H, m, H-2), 2.05 (1H, ddd, $J = 14.5$, 13.0, 1.5 Hz, H-6b), 1.70 (3H, d, $J = 1.4$ Hz, H-15), 1.51 (1H, m, H-9), 1.24 (3H, s, H-14).

7.6 Obtención de 3 α ,6 α -dihidroxi-1-*p*-menteno (35)

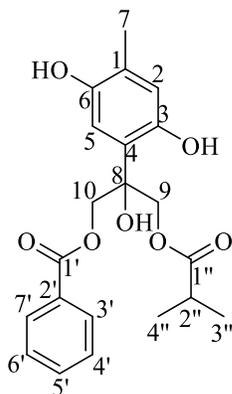
En columna de 3.5 cm. se colocó el extracto acuoso obtenido por reflujo, la cual se eludió con mezclas de hexanos-AcOEt con polaridades ascendentes, recolectado en fracciones de 10 ml aproximadamente en viales de cristal, donde en las fracciones 65-70 se obtuvieron 400 mg cristales transparentes identificados como 3,6-dihidroxi-1-menteno (35).



RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 5.44 (1H, sa, H-2), 3.89 (1H, ta, $J = 4.1$ Hz, H-6), 3.82 (1H, da, $J = 9.2$ Hz, H-3), 2.9 (1H, sept $J = 6.8, 2.8$ Hz H-8), 1.74 (3H, s, $\text{CH}_3 - 7$), 1.69 (1H, ddd, $J = 13.5, 2.8, 2.8$ Hz, H-5'), 1.56 (1H, dddd, $J = 13.1, 9.2, 2.8, 2.8$ Hz, H-4), 1.36 (1H, ddd, $J = 13.5, 13.1, 4.1$ Hz, H-5), 0.95 (1H, d, $J = 6.8$ Hz, CH_3 - 9), 0.80 (1H, d, $J = 6.8$ Hz, CH_3 -10).

7.7 Obtención de isobutirato de 10-benzoiloxi-6,8,9-trihidroxitimol (30)

En columna de 2 cm. se colocó la miel recolectada de lavar los cristales de las fracciones 65-70 y se eluyó con mezclas de hexanos-AcOEt con polaridad ascendentes, recolectado en fracciones de 10 ml aproximadamente en viales de cristal, donde en las fracciones 10-12 se obtuvieron 200 mg de cristales de color blanco identificados como isobutirato de 10-Benzoiloxi-6,8,9-trihidroxitimol.



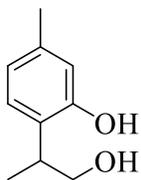
RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 7.98 (1H, m, H-7'), 7.57 (1H, tt, $J = 7.4, 1.3$ Hz, H-5'), 7.45 (1H m, H-6'), 7.41 (1H, m, H-4'), 6.67 (2H, d, $J = 12$, H-10), 4.58 (2H, d, $J = 11.9$, H-9), 2.54 (1H, sept, $J = 7.0$ Hz, 1

H-2''), 2.18 (3H, s, H-7), 1.12 (3H, d, $J = 7.0$ Hz, H-3''), 1.10 (3H, d, $J = 7.0$ Hz, H-4'').

7.7 Obtención de 9-Hidroxitimol (36)

En una columna de 2 cm. se colocó la miel rojiza recolectada de lavar los cristales de las fracciones 42-48 para realizar una recromatografía y se eluyó con mezclas de hexanos-

AcOEt 7:3 en polaridad ascendente, en las fracciones 17-19 de 10 ml cada una se extrajeron 20 mg de una miel de color marrón identificada como 9-Hidroxitimol (**36**).



RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 7.00 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-5), 6.70 (2H, m, H-6, H-2), 3.93 (1H, dd, $J = 3.3, 9.8$ Hz, H-9a), 3.71 (1H, dd, $J = 9.8, 7.4$ Hz, H-9b), 3.21 (1H, quin. d, $J = 7.4, 3.6$ Hz, H-8), 2.28 (3H, s, H-7), 1.29 (3H, d, $J = 7.4$ Hz, CH_3 -10).

RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ 154.8 (C, C-3), 138 (C, C-4), 127.8 (CH, C-5), 121.6 (CH, C-6), 118 (CH, C-2), 69.7 (CH_2 , C-9), 36.7 (CH_2 , C-8), 21.1 (CH_3 , C-7), 15.9 (CH_3 , C-10).

REFERENCIAS

Arreaga González, H. M. Estudio Químico de los extractos metanólicos de *Ageratina glabrata*. Tesis de Licenciatura presentada en la Facultad de Químico Farmacobiología de la UMSNH, **2013**.

Arreaga González, H. M. Configuración absoluta de derivados de timol de la tribu Eupatorieae. Tesis de doctorado presentada en el Instituto de Investigaciones Químico Biológicas de la UMSNH, **2019**.

Bohlmann, F., Jakupovic, J., & Lonitz, M. Natürlich vorkommende Terpen-Derivate, 76. Über Inhaltsstoffe der Eupatorium-Gruppe. *Chemische Berichte*, **1977**; 110(1):301–314.

Bustos-Brito, C., Vázquez-Heredia, V., Calzada, F., Yépez-Mulia, L., Calderón, J., Hernández-Ortega, S., Esquivel, B., García-Hernández, N. & Quijano, L. Antidiarrheal Thymol Derivatives from *Ageratina glabrata*. Structure and Absolute Configuration of 10-Benzoyloxy-8,9-epoxy-6-hydroxythymol Isobutyrate. *Molecules*, **2016**; 21(9): 1132.

Bustos-Brito, C., Sánchez-Castellanos, M., Esquivel, B., Calderón, J. S., Calzada, F., Yépez-Mulia, L., Hernández-Barragán, A., Joseph-Nathan, P., Cuevas, G., & Quijano, L. Structure, absolute configuration, and antidiarrheal activity of a thymol derivative from *Ageratina cylindrica*. *Journal of natural products*. **2014**; 77(2): 358-363.

Carapia-Carapia, L & Vidal-García, F. Etnobotánica: el estudio de la relación de las plantas con el hombre. *Ciencia hoy INECOL*, **2013**.

Carrión, A., & García, C. Preparación de extractos vegetales: Determinación De eficiencia de metódica [Internet]. Universidad de cuenca; **2010**.

Ebada, S. S., El-Kashef, D. H., Müller, W. E., & Proksch, P. Cytotoxic eudesmane sesquiterpenes from *Crepis sancta*. *Phytochemistry Letters*. **2019**; 33, 46-48.

Fuentes-Figueroa, M. Á., Tlapale-Lara, N., Hernández-Carlos, B., Joseph-Nathan, P., & Burgueño-Tapia, E. A new germacranolide from *Ageratina vernalis*. *Natural Product Research*. **2022**; 36(9): 2254-2262.

Galván-Gómez S. Efecto analgesico de un dervado de timol de *Ageratina glabrata*. Tesis de licenciatura presentada en la facultad de Químico Farmacobiología de la UMSNH, **2016**.

García, A. Á., & Carril, E. P. U. Metabolismo secundario de plantas. *Reduca (biología)*. **2011**. 2(3).

García, G., Río, R. E. D., Guzmán, R., Martínez, M. I., & Scior, T. R. Estudios preliminares sobre el efecto analgésico del extracto de hojas de *Ageratina glabrata* en dos modelos térmicos de dolor agudo. *Revista mexicana de ciencias farmacéuticas*. **2011**; 42(1), 45-51.

González, C. S., García, C. B., & Ibarra, T. B. Evaluación de extractos vegetales sobre mosca blanca (*Trialeurodes vaporariorum*) en frijol en condiciones de laboratorio. *Revista de Ciencias Agrícolas*. **2003**; 20(1), 50-61.

Green, A. El Arte de Curar con Hierbas: Los Antiguos Secretos de las Plantas Medicinales. Green Hopex. **2021**

Guerrero, C., Silva, M., Maldonado, E., & Martinez, M. Ácido eupaglabrico un Nuevo compuesto aislado de *Eupatorium glabratum* HBK Rev. *Latinoam Chem*. **1978**; 9, 71-75.

Gutiérrez-González, J. A., Pérez-Vásquez, A., Torres-Colin, R., Rangel-Grimaldo, M., Rebollar-Ramos, D., & Mata, R. α -Glucosidase inhibitors from *Ageratina grandifolia*. *Journal of Natural Products*. **2021**; 84(5): 1573-1578.

Hegazy, M. E. F., Ahmed, A., Hamed, A. R., Abd El Aty, A. A., Mohamed, N. S., & Paré, P. W. 3-Oxo- γ -costic acid fungal-transformation generates eudesmane sesquiterpenes with in vitro tumor-inhibitory activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. **2017**; 27(16), 3825-3828.

Katinas, L., Gutiérrez, DG, Grossi, MA, & Crisci, J.V. Panorama de la familia Asteraceae (= Compositae) en la República Argentina. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*. **2007**; 42 (1-2), 113-129.

Kaur, H.; Inderjit and Kaushik, S. Cellular evidence of allelopathic interference of benzoic acid to mustard (*Brassicajuncea* L.) seedling growth. *Plant Physiol Biochem*. **2005**; 43(1):77-81

Lorenzo García, J. M. Preparación de la timohidroquinona a partir del 3,6-dihidroxi-1-menteno. Tesis de licenciatura presentada en la facultad de Química Farmacobiología de la UMSNH. **2019**

Ma, X., Okyere, S. K., Hu, L., Wen, J., Ren, Z., Deng, J., & Hu, Y. Anti-Inflammatory activity and mechanism of cryptochlorogenic acid from *Ageratina adenophora*. *Nutrients*. **2022**; 14(3), 439.

- Núñez, C. E. Extracciones con equipo Soxhlet. **2008**
- Olaya Flórez, J. M., & Méndez Alzamora, j. M. A. Guía de plantas y productos medicinales. Convenio Andrés Bello. **2003**
- Pardo Novoa J. C. Escrutinio fitoquímico y antimicrobiano de *Eupatorium glabratum* H.K.B. Tesis de licenciatura presentada a la Facultad de Químico Farmacobiología de la UMSNH. **2010**.
- Pardo Novoa, J. C. Determinación de la configuración absoluta de derivados del *p*-menteno de *Ageratina glabrata* HBK. Tesis de doctorado presentado en el Instituto de Investigaciones Químico Biológicas de la UMSNH, **2018**.
- Pardo-Novoa, J. C., Arreaga-González, H. M., Galván-Gómez, S., Rodríguez-García, G., del Río, R. E., Cerda-García-Rojas, C. M., Joseph-Nathan, P. & Gómez-Hurtado, M. A. Biomimetic Transformation of *p*-Menthene Glucosides into *p*-Cymenes and Carvotanacetone. *Journal of Natural Products*. **2019**; 82(3): 485-491.
- Pérez, A. L., & Romo de Vivar, A. The monoterpene 9-hydroxythymol from *Bahia schaffneri* var. *aristata*. *Phytochemistry*. **1994**; 36(4), 1081–1082.
- Pimienta-Ramírez, L., García-Rodríguez, Y. M., Ríos-Ramírez, E. M., Lindig-Cisneros, R., & Espinosa-García, F. J. Chemical composition and evaluation of the essential oil from *Eupatorium glabratum* as biopesticide against *Sitophilus zeamais* and several stored maize fungi. *Journal of Essential oil Research*. **2016**; 28(2), 113-120.
- Rivero-Cruz, I., Gutiérrez-González, J. A., Pérez-Vásquez, A., Villaseñor, J. L., & Mata, R. The genus *Ageratina* (Asteraceae) in America: An insight into its chemistry, and pharmacological potential. *Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening*. **2022**
- Rodríguez-Acosta, M., A. Ortiz-González, A.J. Coombes, M. G. Hernández-Linares. *Plantas Medicinales de Puebla: Una visión etnofarmacológica*. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. México. **2020**
- Rojas-Jiménez, S., Pérez-Gutiérrez, MS, Sánchez-Mendoza, E., Martínez-Casares, RM, Campos-Xolalpa, N., Valladares-Cisneros, MG, & Salinas-Sánchez, DO. Anti-Inflammatory Activity of 3,5-Diprenyl-4-hydroxyacetophenone Isolated from *Ageratina pazcuarensis*. *Revista Internacional de Ciencias Moleculares*. **2022**; 23 (23), 15012.
- SAGARPA. Uso y aprovechamiento de plantas medicinales. **2016**

Sánchez-Ramos, M., Marquina-Bahena, S., Álvarez, L., Bernabé-Antonio, A., Cabañas-García, E., Román-Guerrero, A., & Cruz-Sosa, F. Obtaining 2, 3-Dihydrobenzofuran and 3-Epilupeol from *Ageratina pichinchensis* (Kunth) R. King & Ho. Rob. Cell Cultures Grown in Shake Flasks under Photoperiod and Darkness, and Its Scale-Up to an Airlift Bioreactor for Enhanced Production. *Molecules*. **2023**; 28(2), 578.

Soto Guzmán, E. E. Escalamiento del proceso de obtención de labdanos de interés industrial. Tesis de maestría presentada en el Instituto de Investigaciones Químico Biológicas de la UMSNH. **2019**

Spengler, I., García, T. H., & Calderón, J. S. Flavonoides aislados de las hojas de *Ageratina havanensis*. *Revista Cubana de Química*. **2005**; 17(3), 245.

Talavera-Alemán, A. Componentes minoritarios de *Ageratina glabrata*. Tesis de licenciatura presentada a la Facultad de Químico Farmacobiología de la UMSNH, **2012**.

Tamayo-Castillo G, Jakupovic J, Bohlmann F, Rojas A, Castro V, King RM. Germacranolides and other constituents from *Ageratina* species. *Phytochemistry*. **1988**; 27:2893–2897.

Torres-Barajas, L., Rojas Vera, J., Buitrago Díaz, A., & Morales Méndez, A. Productos naturales y derivados semisintéticos de *Ageratina jah-nii* y *Ageratina pichinchensis* Natural products and semisynthetic derivatives obtained from *Ageratina jahnii* and *Ageratina pichinchenis* (Asteraceae) species. *Revista Ciencia e Ingeniería*. **2019**; Vol, 40(1).

Valdez Sepúlveda, L., González-Morales, S. & Benavides Mendoza, A. Ácido benzoico: biosíntesis, modificación y función en plantas* Benzoic acid: biosynthesis, modification and function in plants. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícola*. **2014**; 6(7).

Villaseñor, J. L. Diversidad y distribución de la familia Asteraceae en México. *Botanical Sciences*. **2018**; 96(2), 332-358.

Navarro-Vázquez, A. Computational Structural Revision of a 4-Hydroxy-3-(1'-angeloyloxy-2', 3'-epoxy-3'-methyl) butylacetophenone Compound from *Ageratina grandifolia*. *Journal of Natural Products*. **2021**; 84(7), 2043-2047