



**Universidad Michoacana de San Nicolás
De Hidalgo**

Facultad de Químico Farmacobiología



Reactividad del ácido (+) 13-*epi*-labdanólico en medios ácidos

Tesis

Que para obtener el título de:
Química Farmacobióloga

Presenta:

Araceli Álvarez Ruiz

ASESORES

Doctora en Ciencias Químicas
Rosa Elva Norma del Río Torres

Doctor en Ciencias Biológicas
Edgar García Sánchez

Morelia, Michoacán. Agosto del 2014

A mis padres y mi hermana:

Que me han apoyado en el transcurso de mi carrera,

por su cariño y comprensión.

AGRADECIMIENTOS

A mis sinodales: D.Q. Mario Armando Gómez Hurtado, D.C. Yliana López Castro, D.C. Consuelo de Jesús Cortés Penagos, D.C. Janett Betzabé González Campos y a la D.C. Sandra Guadalupe Sánchez Ceja, por el tiempo dedicado para la revisión de la tesis y sus valiosas aportaciones en la revisión del manuscrito.

Al Dr. Jerzy Rzedowski, del Instituto de Ecología A.C. Pátzcuaro, Mich, por la clasificación de la planta.

Al Dr. Pedro Joseph Nathan y al Dr. Carlos Martín Cerda García Rojas del Departamento de Química del CINVESTAV, por el apoyo y colaboración en la realización de este trabajo.

A la Q.F.B. Angelina Hernández Barragán por la obtención del espectro de difracción de rayos X.

Al D.C. Edgar García Sánchez por su enseñanza en las técnicas de laboratorio.

A la Q.F.B. Concepción Armenta Salinas y al Q.F.B. José Manuel Zaragoza Ríos del IIQB-UMSNH por la determinación de los espectros de RMN.

Al Lic. Armando Simón Herrejón Solorio y familia por su incondicional apoyo.

A mis amigos, gracias por todo su apoyo.

A mi asesora de tesis:

D.C. Rosa Elva Norma del Río Torres, por sus enseñanzas, por darme oportunidad de formar parte de su equipo de trabajo, por su paciencia y comprensión.

El presente trabajo se llevó a cabo 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 dirección de la D.C. Rosa Elva Norma del Río Torres y el D.C. Edgar García Sánchez, con apoyo del CIC-UMSNH.

ÍNDICE DE CONTENIDO

RESUMEN	
ABSTRACT	
INTRODUCCIÓN	1
PARTE TEÓRICA	4
Clasificación de los alcoholes	5
Deshidratación de alcoholes	6
REGIOSELECTIVIDAD EN LA DESHIDRATACIÓN DE LOS ALCOHOLES: LA REGLA DE ZAITSEV	11
REARREGLOS EN LA DESHIDRATACIÓN DE LOS ALCOHOLES	13
REORDENAMIENTO DEL PINACOL	15
MECANISMO	15
INTERMEDIARIOS DE REACCIÓN	16
ÁCIDOS CARBOXÍLICOS	18
ANTECEDENTES	19
TERPENOS	19
DITERPENOS.....	21
Tribu EUPATORIEAE	27
Género <i>AGERATINA</i>	27
OBJETIVOS	30
OBJETIVO GENERAL	30
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	30
PARTE EXPERIMENTAL	31
DATOS DE LA PLANTA	31
DATOS DE LOS ÁCIDOS UTILIZADOS.....	32
OBTENCIÓN DEL EXTRACTO	32
AISLAMIENTO DEL ÁCIDO (+)13- <i>EPI</i> -LABDANÓLICO (26)	33
PURIFICACIÓN DEL ÁCIDO (+) 13- <i>EPI</i> -LABDANÓLICO (26).....	34
ESTERIFICACIÓN DE 26 CON DIAZOMETANO	35

REACCIONES DE DESHIDRATACIÓN EN MEDIO ÁCIDO	35
MÉTODO GENERAL DE PURIFICACIÓN DEL CRUDO DE REACCIÓN.....	37
DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	41
CONCLUSIÓN	56
BIBLIOGRAFÍA	57

ÍNDICE DE ESQUEMAS

Esquema 1. RUTA BIOSINTÉTICA DE ALGUNOS METABOLITOS SECUNDARIOS.....	2
Esquema 2. DESHIDRATACIÓN DE UN ALCOHOL.....	6
Esquema 3. DESHIDRATACIÓN DE UN ALCOHOL PRIMARIO.....	7
Esquema 4. PROTONACIÓN DEL GRUPO HIDROXILO.....	7
Esquema 5. IONIZACIÓN DEL CARBOCATION.....	8
Esquema 6. ELIMINACIÓN DEL PROTÓN.....	8
Esquema 7. REACCIÓN GLOBAL DE DESHIDRATACIÓN.....	9
Esquema 8. PRODUCTOS DE DESHIDRATACIÓN DEL 2-METIL-2-BUTANOL.....	10
Esquema 9. EJEMPLO DE DESHIDRATACIÓN DEL CICLOHEXANOL.....	11
Esquema 10. PRODUCTO DE ELIMINACIÓN POR LA REGLA DE ZAITSEV....	11
Esquema 11. ESTEREOSELECTIVIDAD DE ACUERDO A LA REGLA DE ZAITSEV.....	12
Esquema 12. ECUACIÓN GENERAL DE REACCIÓN DE REORDENAMIENTO.....	13
Esquema 13. REARREGLO EN LA DESHIDRATACIÓN DE UN ALCOHOL.....	14
Esquema 14. ESTEREOISÓMEROS DEL 3-PENTANOL.....	14

Esquema 15. REACCIÓN DEL PINACOL.....	15
Esquema 16. MECANISMO DEL REARREGLO PINACOL – PINACOLONA.....	16
Esquema 17. ECUACIÓN GENERAL DE ESTERIFICACIÓN.....	18
Esquema 18. REACCIÓN DE ESTERIFICACIÓN.....	18
Esquema 19. BIOSÍNTESIS DE DITERPENOS.....	22

ÍNDICE DE FIGURAS

Fig. 1 EJEMPLOS DE ALCOHOLES.....	4
Fig. 2 CLASIFICACIÓN DE ALCOHOLES.....	5
Fig. 3 INTERMEDIARIOS DE REACCIÓN.....	17
Fig.4 ESTABILIDAD DE LOS CARBOCATIONES.....	17
Fig. 5 EJEMPLOS DE DERIVADOS TERPÉNICOS.....	20
Fig. 6 MOLÉCULA DE ISOPRENO.....	20
Fig. 7 COMPUESTOS AISLADOS DE <i>A. fastigiata</i>	23
Fig. 8 LABDANOS AISLADOS DE <i>A. paniculata</i>	24
Fig. 9 LABDANOS AISLADOS DE <i>H. coronarium</i>	24
Fig. 10 LABDANOS AISLADOS DE <i>S. dulcis</i>	25
Fig. 11 <i>ENT</i> -LABDANOS AISLADOS DE <i>D. viscosa</i>	26
Fig. 12 LABDANOS AISLADOS DE <i>S. canadensis</i>	27
Fig. 13 <i>Ageratina jocotepecana</i>	28

Fig. 14 DITERPENOS AISLADOS DE <i>A. jocotepecana</i>	29
Fig. 15 EVAPORACIÓN DEL EXTRACTO HEXÁNICO DE HOJAS Y FLORES DE <i>A. jocotepecana</i>	32
Fig. 16 CROMATOGRAFÍA DEL EXTRACTO HEXÁNICO DE HOJAS Y FLORES.....	33
Fig. 17 RECROMATOGRAFÍA DEL ÁCIDO (+)13- <i>EPI</i> -LABDANÓLICO (26).....	34
Fig. 18 CRISTALES DEL ÁCIDO (+)13- <i>EPI</i> -LABDANÓLICO (26).....	34
Fig. 19 DISPOSITIVO DE LA REACCIÓN DE DESHIDRATACIÓN DEL ÁCIDO (+)13- <i>EPI</i> -LABDANÓLICO (26).....	37
Fig. 20 ESPECTRO DE RMN DE ^1H A 400 MHz DEL ÁCIDO (+)13- <i>EPI</i> -LABDANÓLICO (26).....	42
Fig. 21 ESPECTRO DE RMN DE ^{13}C A 100 MHz DEL ÁCIDO (+)13- <i>EPI</i> -LABDANÓLICO (26).....	43
Fig. 22 ÁCIDO 13- <i>EPI</i> -LABDANÓLICO (26) Y ÁCIDO LABDANÓLICO (33).....	44
Fig. 23 RAYOS X DE CRISTALES DEL ÁCIDO (+)13- <i>EPI</i> -LABDANÓLICO.....	46
Fig. 24 POSIBLES PRODUCTOS DE REACCIÓN.....	47
Fig. 25 ESPECTRO DE RMN DE ^1H A 400 MHz DE ÁCIDO (+)13- <i>EPI</i> -LABD-8-EN-15-OICO (28).....	48
Fig. 26 RENDIMIENTOS DE LOS PRODUCTOS DE REACCIÓN.....	49
Fig. 27 ESPECTRO DE RMN DE ^1H DEL ÉSTER METÍLICO DEL ÁCIDO (+)13- <i>EPI</i> LABDANÓLICO (29).....	51
Fig. 28 DITERPENOS EPIMÉRICOS DEL ÁCIDO CATÍVICO.....	52
Fig. 29 ESPECTRO DE RMN DE ^1H DEL ÉSTER METÍLICO DEL (+)13- <i>EPI</i> -LABD-7-EN-15-OICO (30).....	53
Fig. 30 ESPECTRO DE ^1H ÉSTER METÍLICO DEL (+)13- <i>EPI</i> -8(17)-LABDEN-15-OICO (31).....	55

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. VARIABLES DE REACCIÓN.....	36
Tabla 2. ROTACIONES ESPECÍFICAS DE 26 Y 33	44
Tabla 3. TABLA DE DESPLAZAMIENTOS QUÍMICOS DE RMN DE ¹³ C.....	45



SÍMBOLOS, ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

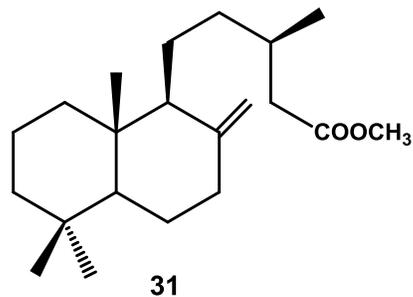
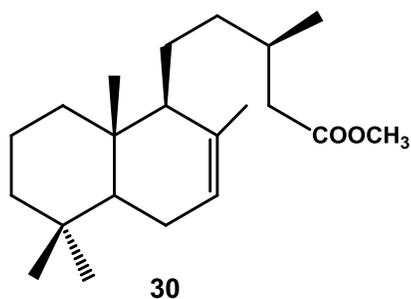
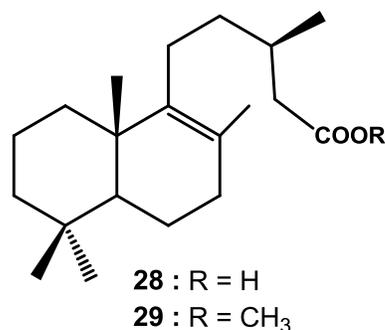
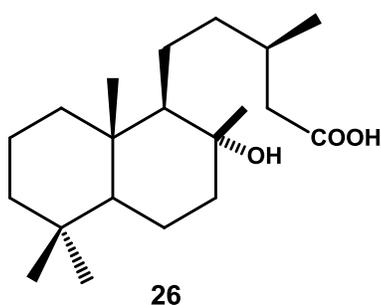
AgNO ₃	Nitrato de Plata
CH ₂ Cl ₂	Cloruro de metileno
FDA	Food and Drug Administration
OH	Hidroxilo
H ₂ SO ₄	Ácido sulfúrico
H ₃ PO ₄	Ácido fosfórico
NaSO ₄	Sulfato de sodio
KHSO ₄	Bisulfato de potasio
°C	Grados celsius
POCl ₃	Oxitricloruro de fósforo
β	Beta
α	Alfa
RCOOH	Ácido carboxílico
IPP	Isopentil pirofosfato
MEP	Metileritritol fosfato
DMAPP	Dimetilalilpirofosfato
GPP	Geranil pirofosfato
GGPP	Geranilgeranil pirofosfato
ESI-MS	Ionización por electroespray
UV	Ultravioleta
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
IR	Infrarrojo
MHz	MegaHertz

Reactividad del ácido (+) 13-epi-labdanólico en medios ácidos

Hz	Hertz
δ	Partes por millón
CDCl ₃	Cloroformo deuterado
TMS	Tetrametil Silano
HClO ₄	Ácido perclórico
TsOH	Ácido <i>p</i> -toluensulfónico
HCl	Ácido clorhídrico
AcOEt	Acetato de etilo
MeOH	Metanol
OCH ₃	Metoxilo
uma	Unidad de masa atómica
cm	Centímetros
mL	Mililitros
g	Gramos
mg	Miligramos
μL	Microlitros
ppm	Partes por millón
dd	Doble de dobles
m	Múltiple
dt	Doble de triples
s	Simple
sa	Simple ancha
d	Doble
min.	Minutos

RESUMEN

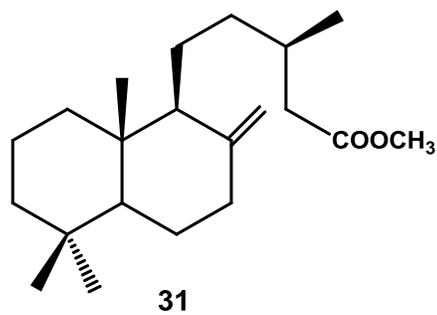
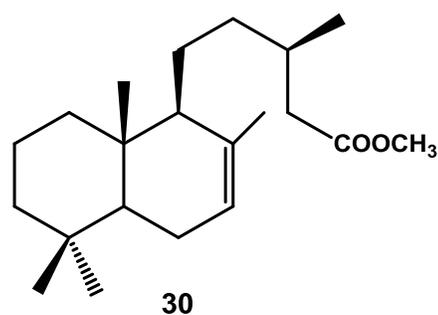
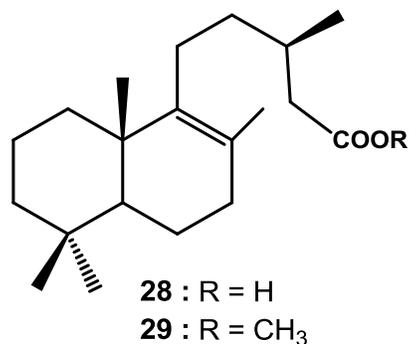
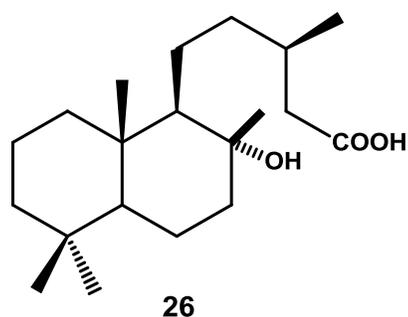
Del extracto hexánico de hojas y flores de *Ageratina jocosotepecana* se aisló el ácido (+)13-*epi*-labdanólico (**26**). Se realizaron reacciones de deshidratación con diferentes ácidos, purificando los productos de reacción por cromatografía en placa con AgNO_3 , cuando la reacción se lleva a cabo en benceno o CH_2Cl_2 el producto correspondió al derivado **28**. Sin embargo, cuando se lleva a cabo en metanol como disolvente ocurre además de la deshidratación la esterificación de los ácidos carboxílicos, correspondiendo a: éster metílico del ácido (+)13-*epi*-labd-8-en-15-oico (**29**), éster metílico del ácido (+)13-*epi*-labd-7-en-15-oico (**30**) y éster metílico del (+)13-*epi*-labd-8(17)-en-15-oico (**31**) dichas estructuras se determinaron de sus datos espectroscópicos. La esteoquímica de C-13 se confirmó por difracción de rayos X de **26**.



Palabras clave: *Ageratina jocosotepecana*, diterpenos, deshidratación, ácido.

ABSTRACT

Phytochemical investigation of the hexanes extracts of leaves and flowers of *Ageratina jocotepecana* afforded (+)13-*epi*-labdanolic acid (**26**). Dehydration reactions were carried out with various acids, were purified the reaction products by Thin Layer Chromatography, employing AgNO₃ as additive, when the reaction was performed in benzene or CH₂Cl₂, the formed product was **28**. However, when the reaction was formed in methanol occurs to form the dehydrated and methyl ester derivates: methyl (+)13-*epi*-labd-8-en-15-oate (**29**), methyl (+)13-*epi*-labd-7-en-15-oate(**30**) and methyl (+)13-*epi*-labd-8(17)-en-15-oate(**31**), such structures were determined by their spectroscopic data. The stereochemistry of C-13 was confirmed by X-ray **26**.



Key words: *Ageratina jocotepecana*, diterpenes, dehydration, acid.

INTRODUCCIÓN

Las plantas son utilizadas por todas las culturas en nuestro planeta, las arcillas de Babilonia, los papiros de Egipto, los grabados americanos dan fe de la utilización de plantas por sus comunidades en el remedio de los males y en ritos mágicos. Se trataba de material seco, pulverizado, masticado o extractos, que hoy los llamamos “hierbas” o “fitofármacos”, en donde se incluyen raíces, hojas, flores, semillas.¹

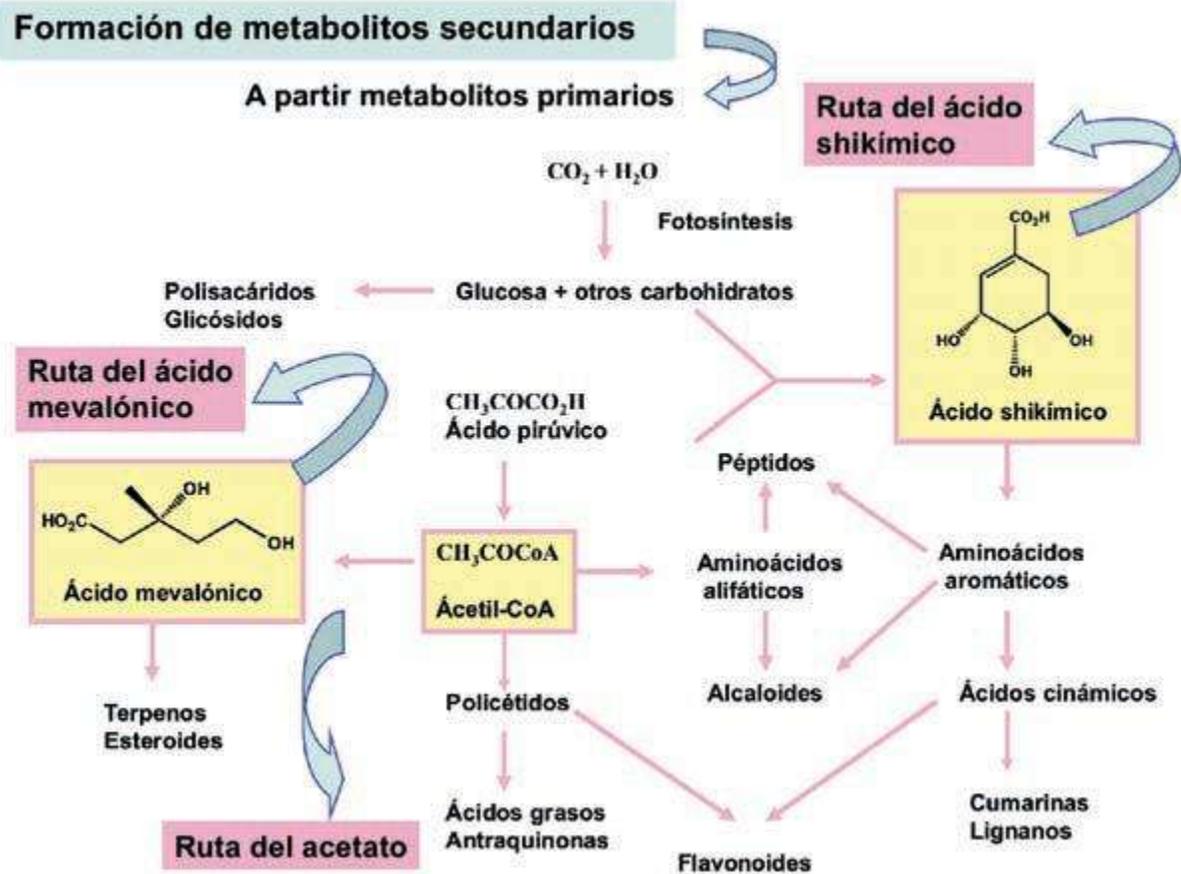
Las plantas para poder vivir, crecer y reproducirse necesitan sintetizar una gran variedad de compuestos orgánicos. Los metabolitos secundarios son específicos de las especies y son definidos como productos naturales. El estudio de los productos naturales es una de las fuentes fundamentales para el desarrollo teórico y experimental de la Química Orgánica.^{2,3}

Los productos naturales constituyen un grupo de compuestos fascinante, no sólo por la notable variedad y diversidad estructural, sino porque dichos compuestos se utilizan como herramientas eficaces para el estudio de fenómenos biológicos y constituyen, por tanto, un claro ejemplo de la interrelación de la Química Orgánica con la Química Biológica y la Química Médica.⁴

Los productos naturales de origen vegetal, siguen siendo un principal recurso utilizado por el ser humano para combatir las enfermedades. Hasta el siglo XIX, época en la que la química orgánica añade a su capacidad analítica la síntesis de nuevos compuestos con actividad terapéutica.⁵

La biosíntesis de los productos naturales comienza con la fotosíntesis que tiene lugar en plantas superiores, algas y algunas bacterias.

Existen tres intermediarios químicos principales como son el acetyl-CoA, el ácido shikímico y el ácido mevalónico, a partir de estos compuestos se biosintetizan los principales grupos de productos naturales como son: los ácidos grasos, antraquinonas, terpenos, esteroides, alcaloides, cumarinas y lignanos ver Esquema 1.



Esquema. 1 Ruta biosintética de algunos metabolitos secundarios
(Tomado de Ángel Gutiérrez²)

Algunos esqueletos de productos naturales se biosintetizan utilizando fragmentos que provienen de más de una ruta específica, como por ejemplo los flavonoides que se forman a partir de la ruta del acetato y del ácido shikímico.

Se estima que durante los últimos 30 años, los productos naturales han sido la principal fuente de nuevos fármacos, especialmente en áreas terapéuticas como la oncología, la inmunosupresión y las enfermedades metabólicas. En un estudio reciente el origen de nuevos fármacos aprobados por la FDA (Food and Drug Administration) entre 1981 y 2010, el 57.7% corresponde a Productos Naturales.⁶

Los productos naturales pueden ser útiles como agentes terapéuticos; ya que interactúan con diversas proteínas y realizan acciones útiles para la salud en procesos patológicos, pueden servir como modelos para la preparación de sustancias bioactivas, como materia prima para la síntesis de sustancias de interés farmacológico y/o interés industrial.

El interés en productos naturales como fuente de innovación en el descubrimiento de fármacos y agroquímicos sigue creciendo en todo el mundo. Nuestro País es una rica fuente de diversidad biológica y química, que puede ser útil como una fuente de estructuras químicas nuevas.⁷

Los terpenos son los productos naturales más abundantes en la naturaleza y con una mayor variedad estructural. Dentro de esta familia de compuestos naturales, los diterpenos bicíclicos de esqueleto labdano constituyen un grupo de gran importancia, no solamente por su número y diversidad estructural, sino por la variada bioactividad que presentan, antitumorales, antibióticos, antialimentarios y antivirales.⁸

PARTE TEÓRICA

Los alcoholes son compuestos orgánicos que contienen grupos hidroxilo (OH). Son compuestos muy frecuentes en la naturaleza, útiles en la industria y en el hogar. La palabra *alcohol* es uno de los términos más antiguos de la química deriva del término árabe *al-kuhl*, originalmente significaba <<el poder>> y posteriormente <<la esencia>>. ⁹

Los alcoholes son compuestos de fórmula general R-OH, donde R es cualquier grupo alquilo, incluso sustituido (Figura 1). El grupo puede ser primario, secundario o terciario; puede ser de cadena abierta o cíclica; puede contener un doble enlace, un átomo de halógeno, un anillo aromático o grupos hidroxilos adicionales.

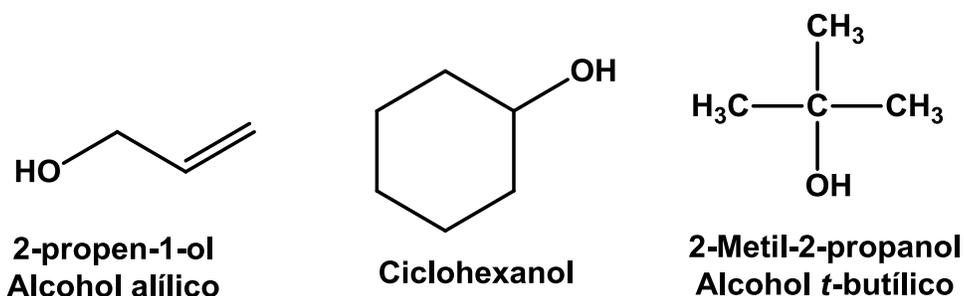


Figura. 1 Ejemplos de alcoholes

Todos los alcoholes contienen el grupo hidroxilo (OH), el cual, al ser su grupo funcional determina las propiedades características de esta familia. Las variaciones en la estructura del grupo R pueden afectar a la velocidad de ciertas reacciones del alcohol, e incluso afectar el tipo de reacción. Los compuestos con un grupo hidroxilo directamente unido a un anillo aromático se les conoce como fenoles. ¹⁰

Clasificación de los alcoholes

Clasificamos un átomo de carbono como primario, secundario o terciario según el número de radicales u otros carbonos unidos al carbono. Un alcohol se clasifica de la misma manera de acuerdo con el tipo de carbono que sea portador del grupo-OH (Figura 2).

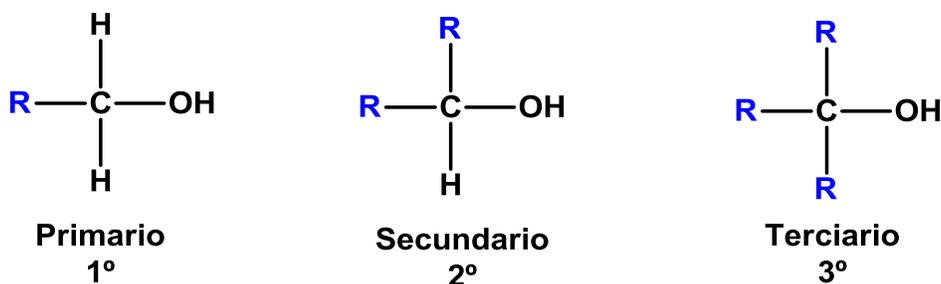


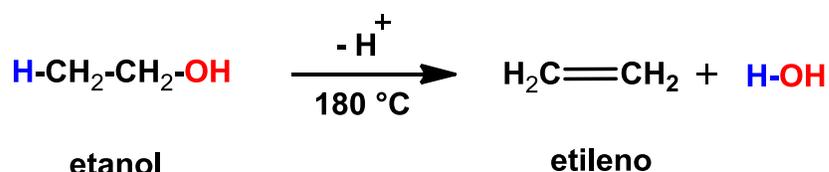
Figura. 2 Clasificación de alcoholes

La reacción de oxidación, afecta directamente a los átomos de hidrógeno unidos al carbono portador del grupo OH.

Una reacción química consiste en la ruptura de enlaces en los reactivos y la formación de nuevos. En el caso de las reacciones orgánicas, los compuestos que participan son sustancias moleculares con fuertes enlaces covalentes en su interior. El mecanismo de reacción es el conjunto de etapas elementales por las que transcurre la reacción. Se denomina sustrato de la reacción al resto activo de la sustancia orgánica que es atacada por una molécula denominada reactivo. La relación estructural que exista entre el sustrato o sustancia orgánica que reacciona y los productos de la reacción, las reacciones orgánicas se pueden clasificar principalmente en: reacciones de Sustitución, Adición, Eliminación, Condensación y de Oxidación-Reducción. Con frecuencia los compuestos orgánicos presentan más de un grupo funcional, por lo que la reactividad de un compuesto está determinada por el número y tipo de grupos funcionales que lo constituyen.¹¹

Deshidratación de alcoholes

Los alcoholes pueden deshidratarse por calentamiento con un ácido fuerte. Por ejemplo, cuando se calienta etanol a 180 °C en presencia de una pequeña cantidad de ácido sulfúrico concentrado, se obtiene etileno con un rendimiento aceptable (Esquema 2).



Esquema 2. Deshidratación de un alcohol

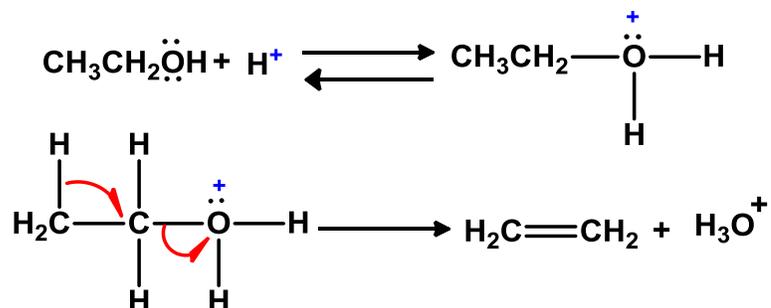
Este tipo de reacciones pueden emplearse para preparar alquenos, es el proceso inverso de hidratación. Se trata de una reacción de eliminación y puede tener lugar a través de un mecanismo E1 o un mecanismo E2 en función del tipo de alcohol de partida.

Con un alcohol primario, se evita la formación de un carbocatión primario intermediario mediante la combinación de las dos últimas etapas del mecanismo. La pérdida de agua y del protón adyacente tiene lugar simultáneamente mediante un mecanismo E2.¹²

El ácido sulfúrico (H₂SO₄) y el ácido fosfórico (H₃PO₄) son los ácidos usados con más frecuencia en las deshidrataciones de los alcoholes. También se usa con frecuencia el bisulfato de potasio (KHSO₄).¹³

Mecanismo para la deshidratación de alcoholes primarios

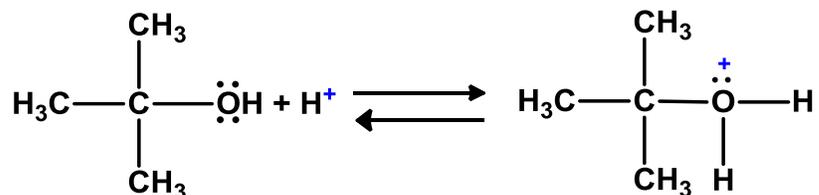
Los alcoholes primarios se deshidratan mediante el mecanismo E2 (Esquema 3).



Esquema 3. Deshidratación de un alcohol primario

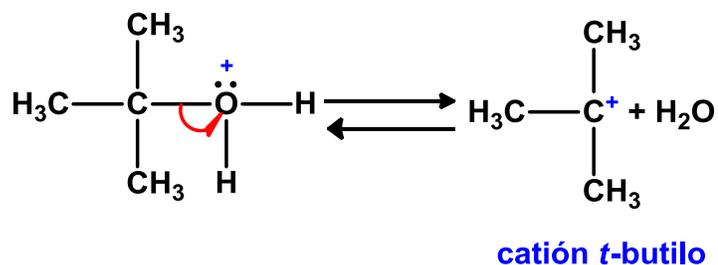
Mecanismo de deshidratación de un alcohol terciario

Los alcoholes terciarios se deshidratan mediante el mecanismo E1. El alcohol *ter*-butílico es un ejemplo típico de esto. La primera etapa implica una protonación rápida y reversible del grupo hidroxilo (Esquema 4).



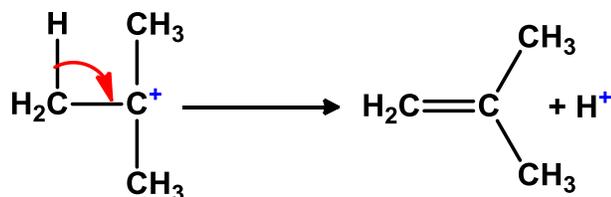
Esquema 4. Protonación del grupo hidroxilo

El proceso de ionización (Esquema 5), la etapa controlante de velocidad, con agua como grupo saliente, tiene lugar fácilmente debido a que el carbocatión resultante es terciario.



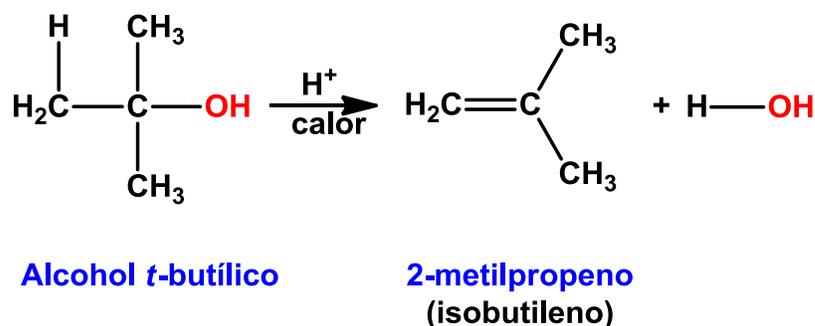
Esquema 5. Ionización del carbocatión

La reacción se completa con la pérdida de un protón del átomo de carbono adyacente al carbocatión para formar el alqueno (Esquema 6).



Esquema 6. Eliminación del protón

La reacción global de deshidratación viene dada por la suma de las tres etapas (Esquema 7).



Esquema 7. Reacción global de deshidratación

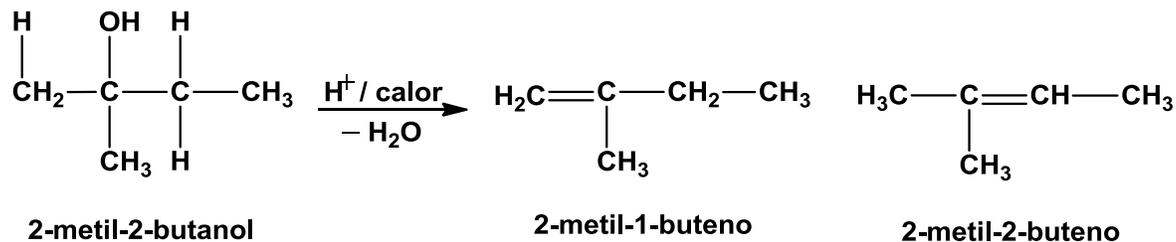
Los aspectos importantes de la deshidratación de alcoholes son:

1.- Todas las reacciones de deshidratación comienzan con una protonación del grupo hidroxilo.

2.- La facilidad con que tiene lugar la deshidratación de un alcohol transcurre según $3^\circ > 2^\circ > 1^\circ$ (en el mismo orden en que favorece la estabilidad del carbocatión).

En ocasiones, la deshidratación de un alcohol da lugar a la formación de dos o más alquenos debido a que, durante el proceso de deshidratación, puede producirse la pérdida de un protón en cualquier átomo de carbono unido directamente al carbono que forma enlace con el grupo hidroxilo. Por ejemplo, la deshidratación de 2-metil-2-butanol (Esquema 8).

En estos casos, normalmente predomina el alqueno más sustituido. Con el término “más sustituido” debe entenderse, que se trata del alqueno con el mayor número de grupos alquilo presentes en los carbonos que forman el doble enlace. Por tanto, en el ejemplo considerado, el producto mayoritario será el 2-metil-2-buteno.

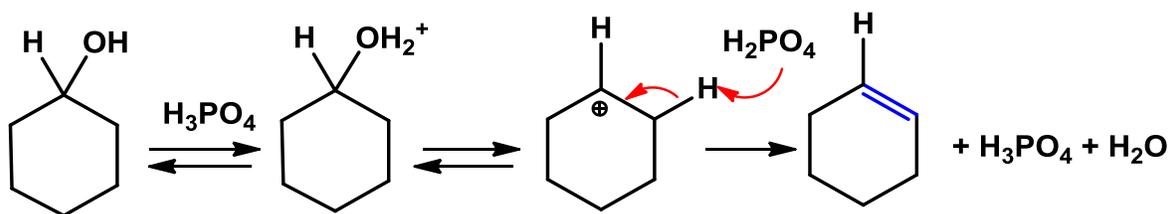


Esquema 8. Productos de deshidratación del 2-metil-2-butanol

Cuando los alcoholes se calientan en presencia de cantidades catalíticas de ácidos se obtiene, un alqueno y agua. Este método es particularmente útil para alcoholes cíclicos o muy sustituidos (terciarios). Los ácidos que se pueden emplear son el KHSO₄, H₃PO₄ ó el POCl₃ en piridina (menos ácido).

Por ejemplo, el ciclohexeno se obtiene a partir del ciclohexanol mediante calentamiento en presencia de H₃PO₄ ó de H₂SO₄ en un sistema de destilación (ver esquema 9). Como el ciclohexeno es más volátil que el ciclohexanol, se va eliminado de la mezcla de reacción y de este modo el equilibrio del proceso se va desplazando hacia la derecha. Para los alcoholes, la protonación presenta un equilibrio entre los reactivos (el alcohol de partida) y los productos (el alqueno y el agua).

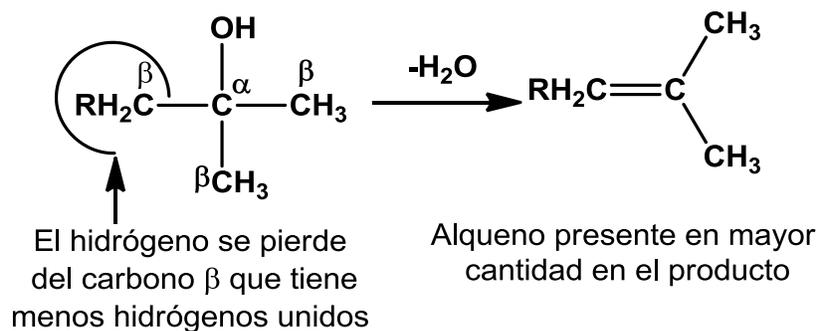
Para favorecer el equilibrio hacia la derecha es necesario eliminar el alqueno o el agua a medida que se van formando. Esto se consigue mediante la destilación del alqueno, más volátil que el alcohol (no puede formar puentes de hidrógeno), o mediante la adición de un agente deshidratante que elimine el agua a medida que ésta se va generando.¹⁴



Esquema 9. Ejemplo de deshidratación del ciclohexanol

REGIOSELECTIVIDAD EN LA DESHIDRATACIÓN DE LOS ALCOHOLES: LA REGLA DE ZAITSEV

La regla de Zaitsev establece que en una reacción de eliminación, el alqueno formado en mayor cantidad, es aquel que corresponde a la eliminación del hidrógeno del carbono β que tiene menos hidrógenos, (Esquema 10).¹³



Esquema 10. Producto de eliminación por la regla de Zaitsev

Regioselectividad: Una reacción es regioselectiva cuando entre varios productos posibles sólo se obtiene uno de ellos.¹⁵

de una dirección, pero en las que se prefiere una, son regioselectivas (Esquema 11).

REARREGLOS EN LA DESHIDRATACIÓN DE LOS ALCOHOLES

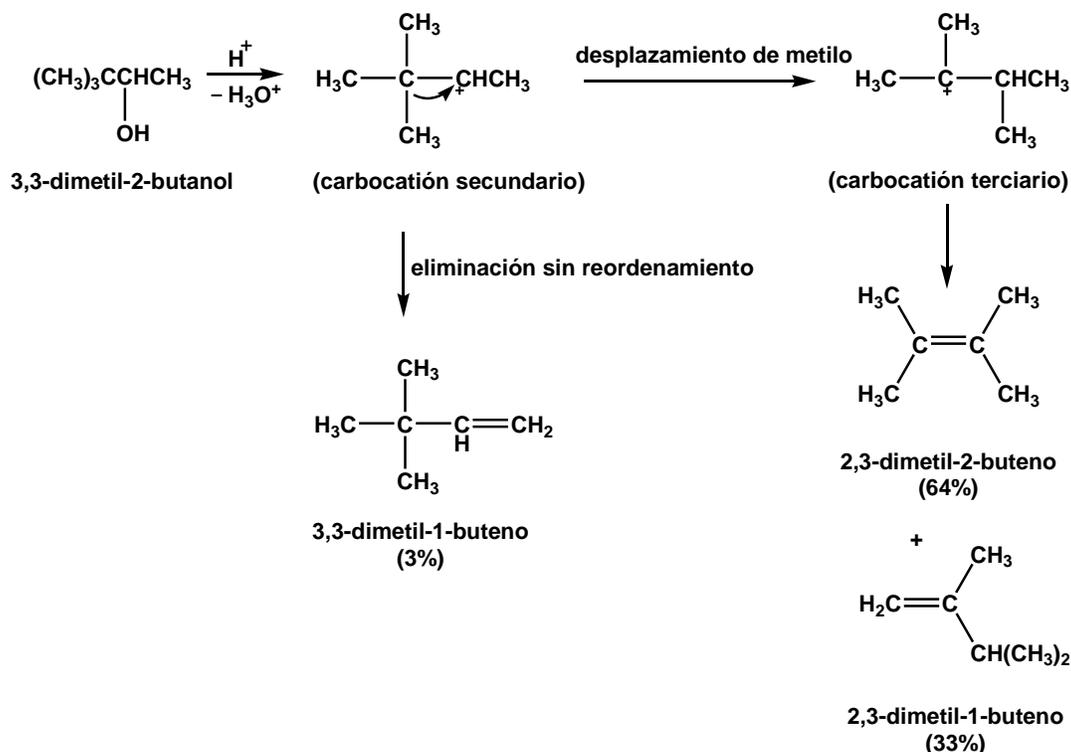
En una reacción de reordenamiento un grupo se desplaza de un átomo a otro en la misma molécula (Esquema 12). La mayoría son migraciones de un átomo a otro adyacente pero algunos están en distancias más largas.¹⁶



Esquema 12. Ecuación general de reacción de reordenamiento

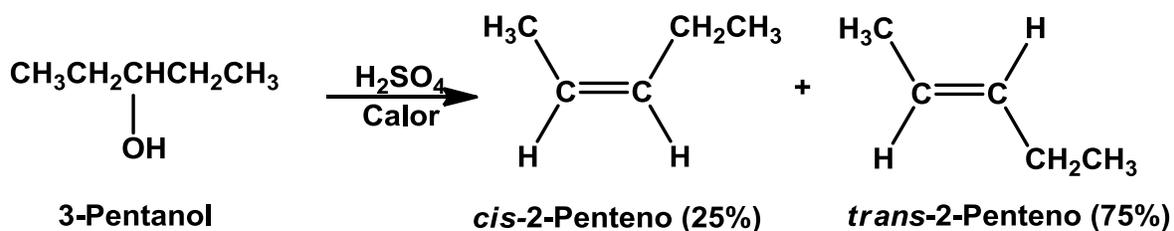
Algunos alcoholes experimentan deshidratación para producir alquenos que tienen esqueletos de carbono diferentes de los alcoholes iniciales. No sólo ha tenido lugar la eliminación, sino que el arreglo de los átomos en el alqueno es diferente del que tiene el alcohol.

Se dice que ha ocurrido un reordenamiento. Un ejemplo de la deshidratación de un alcohol que es acompañada por un reordenamiento para el 3,3-dimetil-2-butanol, se muestra en el esquema 13.



Esquema 13. Rearreglo en la deshidratación de un alcohol

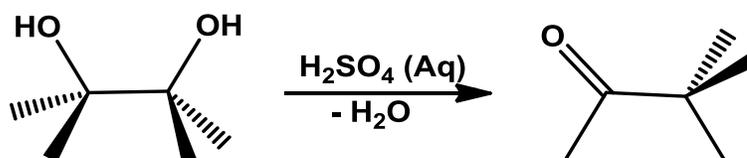
La deshidratación de los alcoholes tiende a producir el estereoisómero más estable de un alqueno. La deshidratación del 3-pentanol, por ejemplo, produce una mezcla de *trans*-2-penteno y *cis*-2-penteno en los que predomina el estereoisómero *trans*, más estable como producto principal (Esquema 14).



Esquema 14. Estereoisómeros del 3-pentanol.

REORDENAMIENTO DEL PINACOL

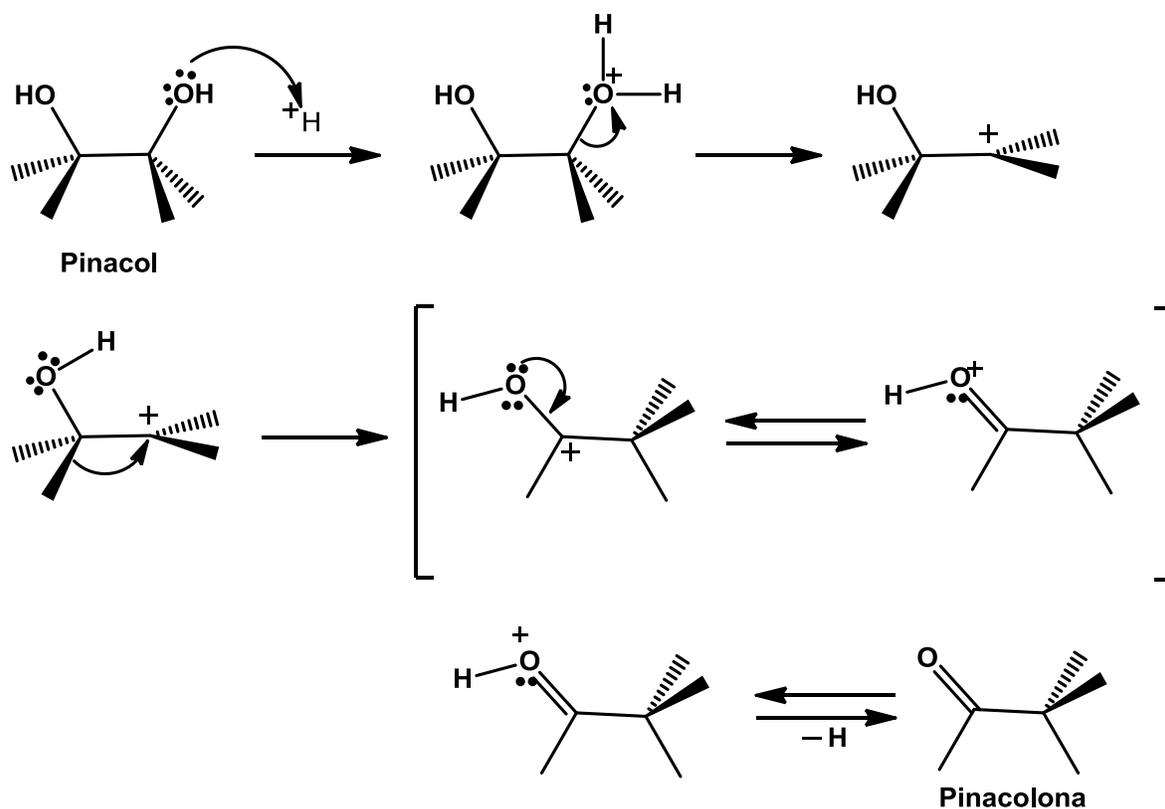
La reacción del pinacol, origina el nombre del reordenamiento donde se produce la eliminación del agua, catalizada por un ácido a partir del pinacol para producir una cetona metílica, con un grupo *t*-butilo (Esquema 15).



Esquema 15. Reacción del pinacol

MECANISMO

Esta reacción ocurre totalmente con una variedad de 1,2-dioles, y puede entenderse que se involucra la formación de un carbocatión intermediario que a su vez sufre un reordenamiento. El primer intermedio generado, es unión α -hidroxicarbocatión, y se reordena a través de una migración 1,2 de un grupo alquilo para producir el compuesto carbonílico (Esquema 16).¹⁷



Esquema 16. Mecanismo de rearrreglo pinacol – pinacolona

INTERMEDIARIOS DE REACCIÓN

Son especies intermedias que se forman a medida que la reacción avanza desde los reactivos hacia los productos (Figura 3). Son menos estables que los reactivos y que los productos y tienen una vida media muy corta en la mezcla de reacción. A pesar de ello existe una sólida evidencia experimental de la existencia de tales intermedios.

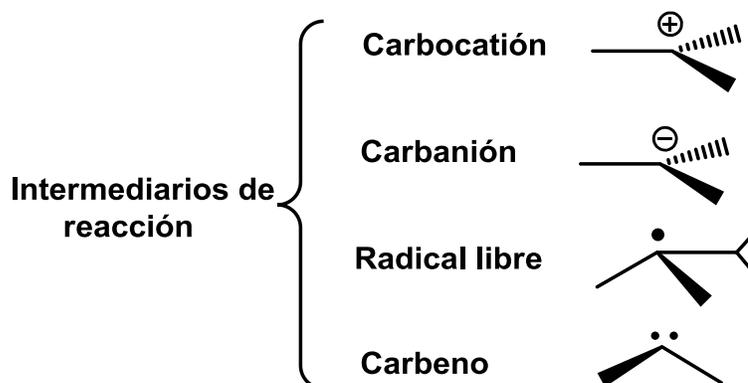


Figura. 3 Intermediarios de reacción

CARBOCATION

La reacción de un alqueno, un alquino o un alcohol (todas bases de Lewis) con un ácido da lugar a la formación inicial de un carbocatión. Los carbocationes son intermediarios, deficientes de electrones y con una alta reactividad. Una vez que se forman, funcionan como ácidos de Lewis que reaccionan con rapidez con bases de Lewis. Los carbocationes varían en estabilidad, dependiendo de su estructura. Conforme mayor sea la estabilidad de un carbocatión, más fácil será su formación. Se ha observado experimentalmente que la estabilidad de los carbocationes aumenta con su grado de sustitución, tal y como se indica en la figura 4.

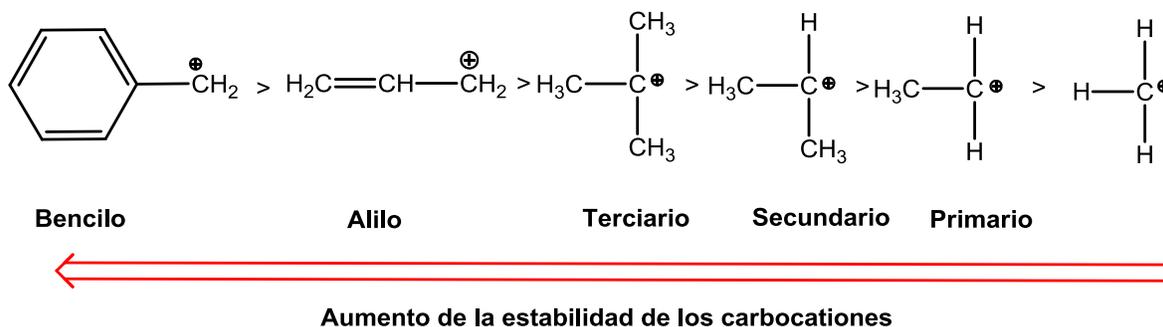
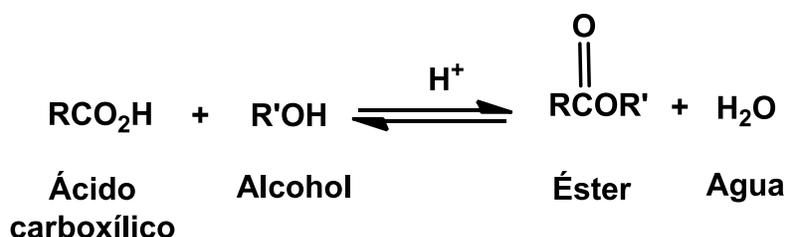


Figura.4 Estabilidad de los carbocationes

ÁCIDOS CARBOXÍLICOS

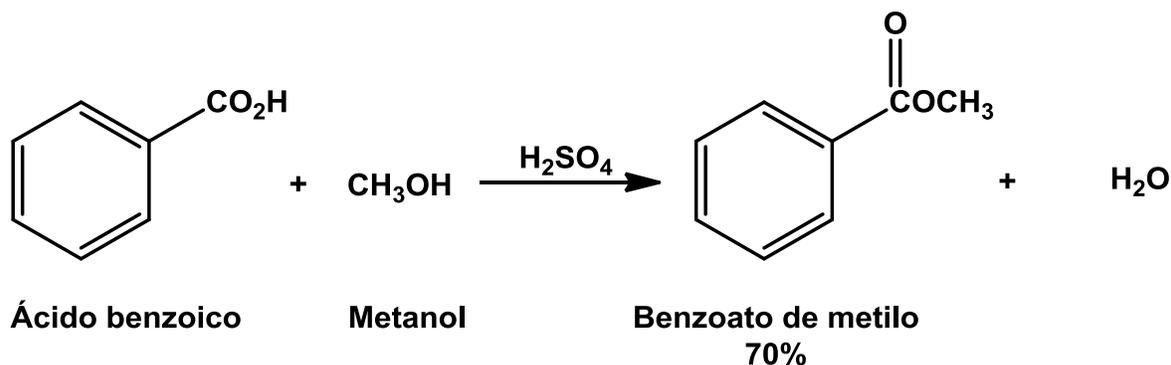
Los ácidos carboxílicos son compuestos del tipo RCOOH, constituyen una de las clases de compuestos orgánicos que se encuentran con más frecuencia en los productos naturales o derivados de ellos.

En presencia de un catalizador ácido, los ácidos carboxílicos y los alcoholes reaccionan para formar ésteres. La reacción se llama esterificación de Fisher. Es un proceso en equilibrio, (Esquema 17), que se puede desplazar para favorecer al éster, eliminando el agua que se forma.¹³



Esquema 17. Ecuación general de esterificación

En el (esquema 18) se muestra la esterificación del ácido benzoico con metanol, catalizada con ácido sulfúrico.



Esquema 18. Reacción de esterificación

ANTECEDENTES

TERPENOS

Los terpenos son comunes en la naturaleza, sobre todo en las plantas como constituyentes de aceites esenciales. Su bloque de construcción es el hidrocarburo isopreno. Por lo tanto, los hidrocarburos de terpeno tienen fórmula molecular $(C_5H_8)_n$ y son clasificados según el número de unidades de isopreno. Este metabolito es conocido por exhibir una amplia gama de propiedades biológicas.¹⁸

Los terpenos o terpenoides, constituyen el grupo más numeroso de metabolitos secundarios, han sido utilizados ampliamente como marcadores taxonómicos en coníferas, poseen actividad antimicrobiana y antifúngica.¹⁹

La ruta biosintética de los terpenos, da lugar tanto a metabolitos primarios como secundarios de gran importancia para el crecimiento y supervivencia de las plantas. Entre los metabolitos primarios se encuentran hormonas, clorofilas, plastoquinonas y ubiquinonas.

Se sintetizan a partir de metabolitos primarios por dos rutas: la del ácido mevalónico, se activa en el citosol, en la que tres moléculas de acetil-CoA se condensan para formar ácido mevalónico que reacciona hasta formar isopentenil pirofosfato (IPP), o bien la ruta del metileritritol fosfato (MEP) que funciona en cloroplastos y genera también IPP.

El isopentenil pirofosfato y su isómero dimetilalil pirofosfato (DMAPP) son los precursores activados en la biosíntesis de terpenos en reacciones de condensación catalizadas por prenil transferasas para dar lugar a prenil pirofosfatos como geranil pirofosfato (GPP), precursor de monoterpenos, farnesil pirofosfato (FPP) precursor de sesquiterpenos y geranil-geranil pirofosfato (GGPP) precursor de diterpenos.²⁰

Dentro del grupo de los derivados terpénicos encontramos distintos productos, entre los que se pueden citar moléculas tan sencillas estructuralmente como el limoneno (**1**) y el timol (**2**), presente en los aceites esenciales de un gran número de plantas aromáticas e inductor de apoptosis de las células cancerosas; otro derivado terpénico con actividad antineoplásica es el alcohol de perilla (*Perilla frutescens*).

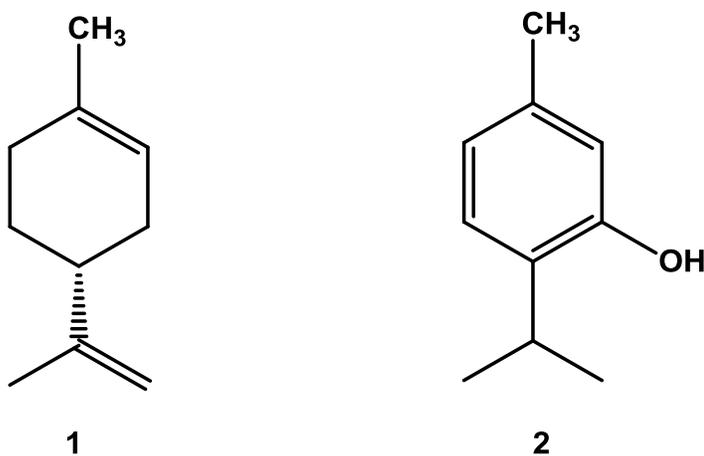


Figura. 5 Ejemplos de derivados terpénicos

Suelen ser insolubles en agua y derivan todos ellos de la unión de unidades de isopreno (5 átomos de C).

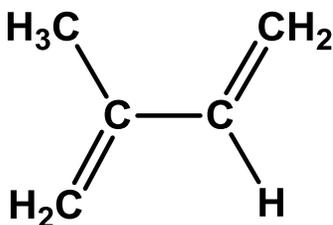


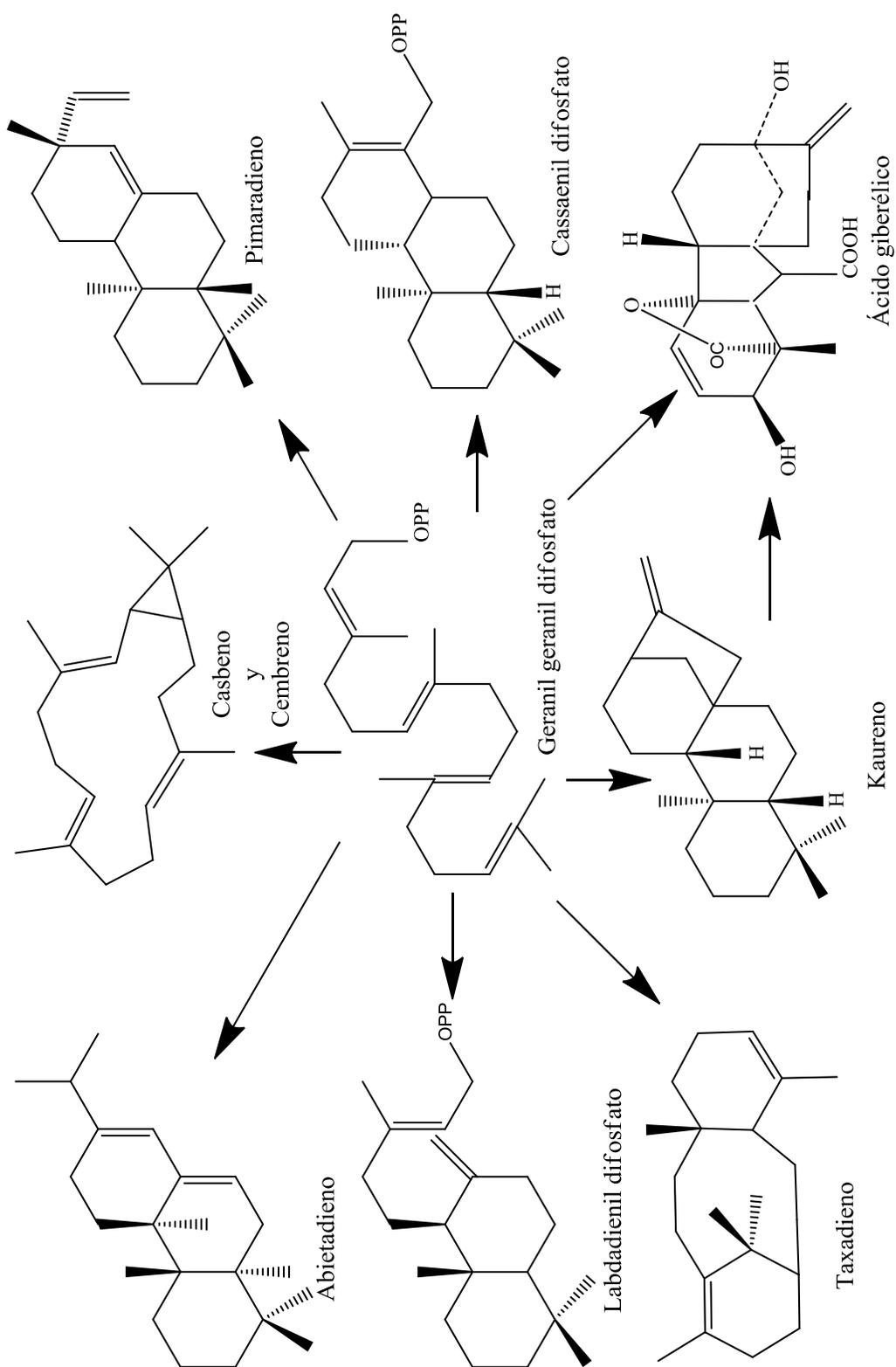
Figura. 6 Molécula de isopreno

De esta forma, los terpenos se clasifican por el número de unidades de isopreno (C₅) que contienen: los terpenos de 10 C contienen dos unidades C₅ y se llaman monoterpenos; los de 15 C tienen tres unidades de isopreno y se denominan sesquiterpenos, y los de 20 C tienen cuatro unidades C₅ y son los diterpenos. Los triterpenos tienen 30 C, los tetraterpenos tienen 40 C y se habla de politerpenos cuando contienen más de 8 unidades de isopreno.²¹

DITERPENOS

Los diterpenos son compuestos C₂₀; se les considera derivados de cuatro moléculas de isopreno. Debido a sus altos puntos de ebullición, generalmente no se encuentran en los aceites volátiles de las plantas, pero sí en las resinas, los exudados (gomas) y las fracciones resinosas de alto punto de ebullición que quedan después de la destilación de los aceites esenciales. Su gran complejidad y dificultad de separación, ha originado que sean pocas sus estructuras conocidas.

La biogénesis de los diterpenos se considera a partir del geranil-geranil pirofosfato, la ciclización vía hidratación, neutralización y rearreglos produce los diferentes tipos de diterpenos (esquema) 19.²²



Esquema. 19 Biosíntesis de diterpenos

Del extracto en éter de petróleo de hojas de *Ageratina fastigiata*, aislaron dos compuestos: un diterpeno derivado del kaurano el *ent*-kauran-16 β -ol (**3**) y un flavonoide la 5-hidroxi-7,4'-dimetoxiflavona (**4**), fueron purificados por recristalización y sus estructuras las determinaron de sus datos espectroscópicos. Los compuestos diterpénicos derivados del kaurano son utilizados como marcadores taxonómicos para las especies del género *Ageratina*.²³

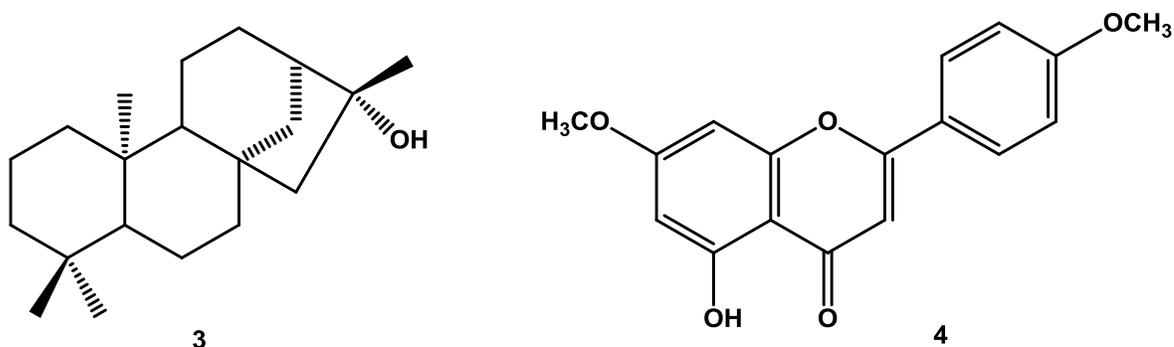


Figura. 7 Compuestos aislados de *A. fastigiata*

De las partes aéreas del extracto de cloruro de metileno de *Andrographis paniculata* se aislaron diterpenos tipo labdano con actividad cardiovascular. Realizaron estudios en modelos animales y mostraron que los compuestos 14-deoxiandrografolida (**5**) y andrografolida (**6**) son los responsables de la vasodilatación coronaria.²⁴

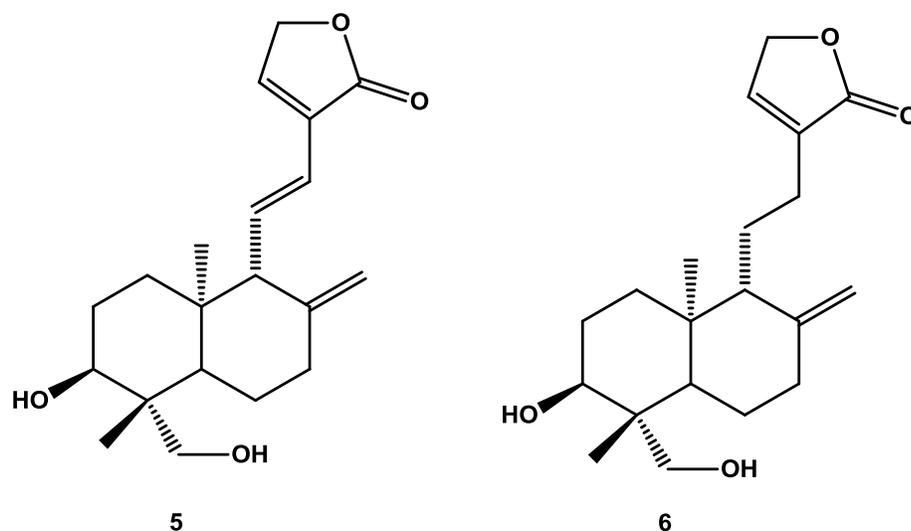


Figura. 8 Labdanos aislados de *A. paniculata*

Las raíces de *Hedychium coronarium* han sido usadas en la medicina tradicional para el tratamiento de la inflamación, enfermedades de la piel, dolor de cabeza, dolor agudo debido al reumatismo. De esta planta aislaron dos nuevos labdanos 15-metoxilabda-8(17), 11*E*,13-trien-16,15-olida (7) y 16-metoxilabda-8(17),11*E*,13-trien-15,16-olida (8) funcionalizados con una lactona.²⁵

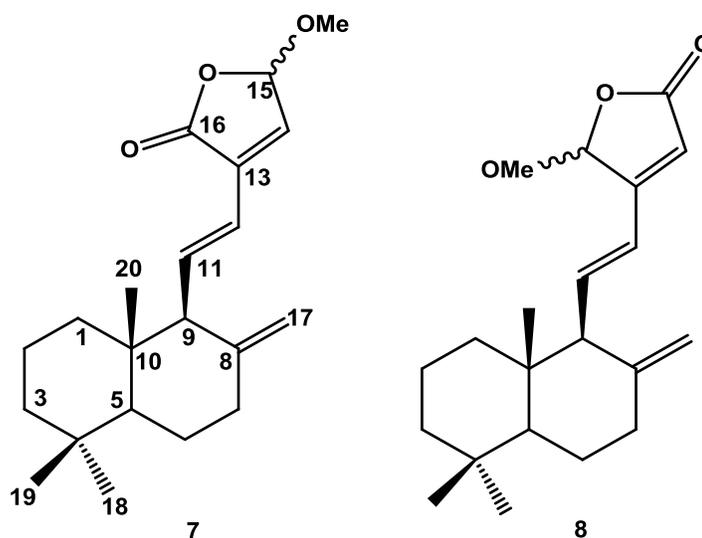


Figura. 9 Labdanos aislados de *H. coronarium*

De las partes aéreas de *Scoparia dulcis* se aislaron tres nuevos diterpenos tipo labdano dulcinodal (**9**), dulcinodiol (**10**) y decanoato de scopadiol (**11**). Las raíces y hojas de las hierbas perenes de *Scoparia dulcis* son usadas como cura para dolor de cabeza, hemorragia, problemas estomacales y para el tratamiento de la diabetes.²⁶

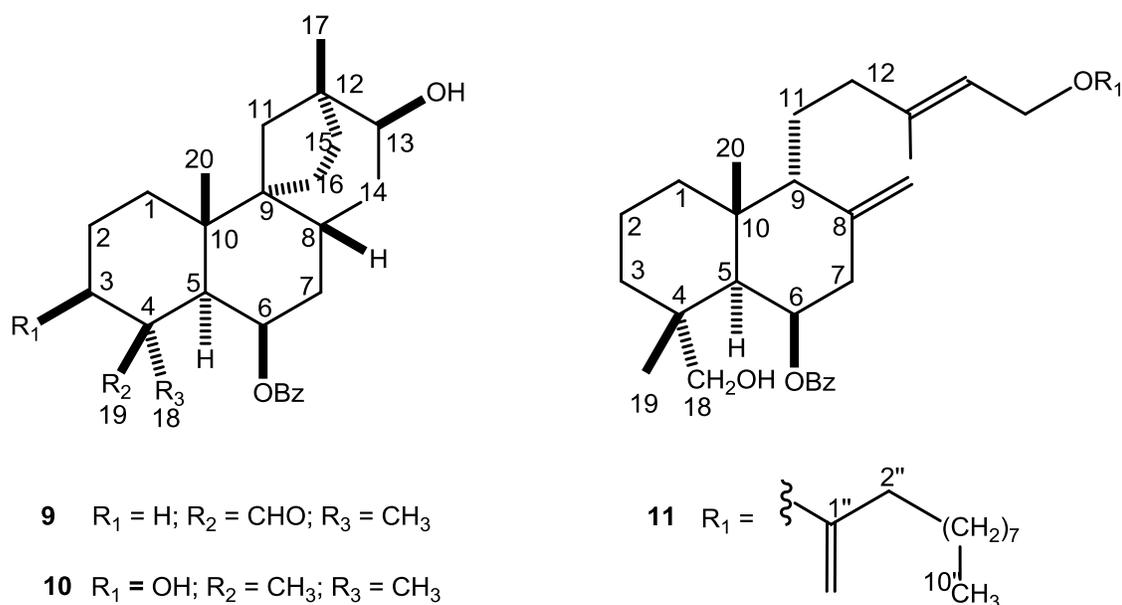


Figura. 10 Diterpen labdanos aislados de *S. dulcis*

La Investigación del extracto crudo etanólico obtenido de las partes aéreas de *Dodonaea viscosa*, llevó al aislamiento de tres nuevos diterpenos *ent*-labdano, *ent*-15-Etoxi-labdano-3 α ,8 β -dihidroxi-13(14)-en-15,16-olida (**12**), *ent*-16-Hidroxi-labdano-3 α ,8 β -dihidroxi-13(14)-en-15,16-olida (**13**), 8 β -Hidroxi-3-O- β -D-glucopiranosil-*ent*-labd-13-en-15,16-diol (**14**). Las estructuras fueron establecidas sobre la base de sus datos espectrales EM-IE, UV, IR y RMN. El extracto crudo mostró prometedora actividad antiherpes.²⁷

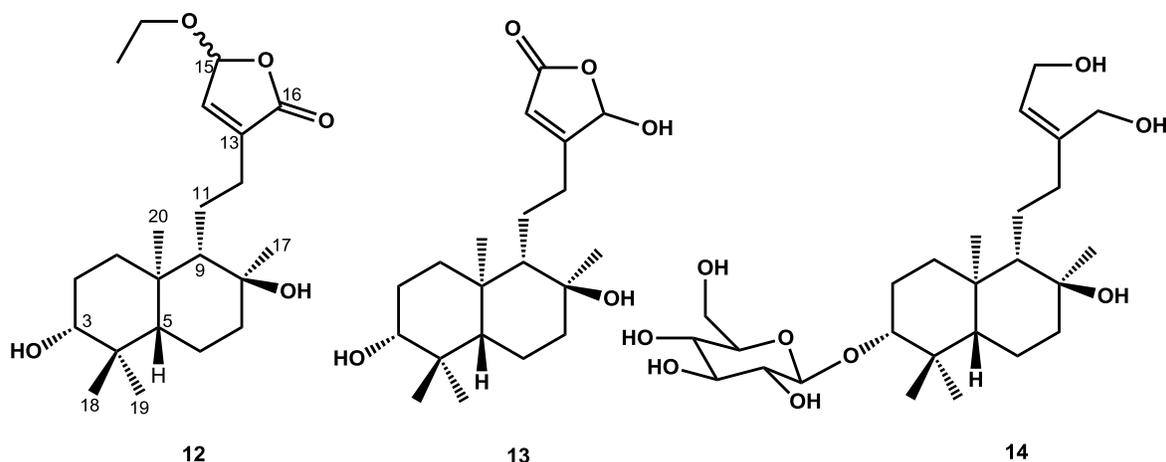


Figura. 11 *ent*-labdanos aislados de *D. viscosa*

Las raíces de *Solidago canadensis* han sido usadas como medicina contra diabetes, mordedura de serpiente, fiebre y enfermedades en el sistema urogenital como antiinflamatorio y analgésico, también para el tratamiento de quemaduras y úlceras. Del extracto etanólico de raíces de *S. canadensis* fueron identificados ocho diterpen labdanos, deoxisolidagenona (**15**), solidagenona (**16**), 9,13,15,16-*bis*-epoxi-labd-7-en-6,15-diona (**17**), 13-*epi*-9,13,15,16-*bis*-epoxi-labd-7-en-6,15-diona (**18**), 15,16-epo-labdan-7,13-dien-6,15-diona (**19**), 15,16-epoxi-labdan-7,13-dien-6,16-diona (**20**), 15-etoxi-9,13,15,16-*bis*-epoxi-labd-7-en-6-ona (**21**), 13-*epi*-15-etoxi-9,13,15,16-*bis*-epoxi-labd-7-en-6-ona (**22**), entre estos, cuatro fueron aislados como dos pares epiméricos **17**, **18** y **21**, **22**. El espectro de RMN de ^1H y ^{13}C de **16** y **17** mostraron señales que son características de diterpenos de tipo labdano.²⁸

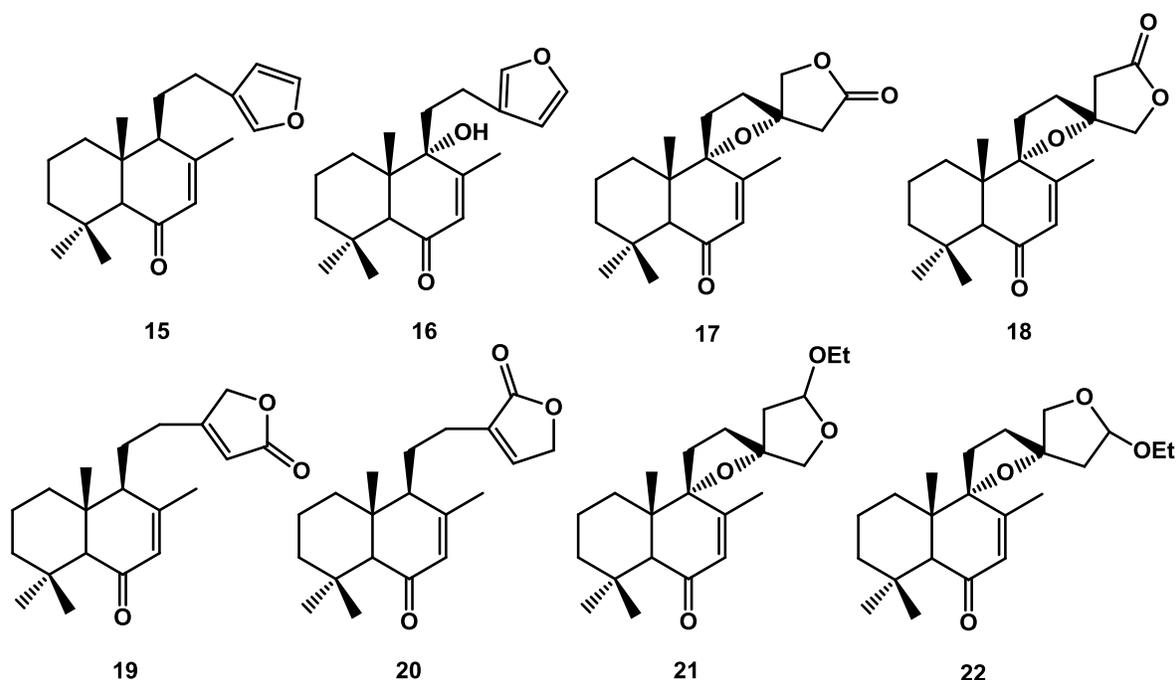


Figura. 12 Diterpen labdanos aislados de *S. canadensis*

Tribu EUPATORIEAE

La tribu Eupatorieae pertenece a la familia Asteraceae que comprende alrededor de 1 100 géneros y más de 20 000 especies, se encuentra distribuida en los estados de Colima, Jalisco y Michoacán.²⁹ Plantas leñosas o herbáceas con las hojas mayormente opuestas; cabezuelas sin flores liguladas; receptáculo por lo general sin páleas ni cerdas; corolas nunca amarillas; ramas del estilo largamente salientes, papilosas o glabras; aquenios prismáticos o comprimidos.³⁰

Género *AGERATINA*

Ageratina es un género de hierbas anuales y arbustos perteneciente a la familia (Asteraceae). Comprende 364 especies descritas y solo 265 aceptadas. Estas plantas crecen en las regiones templadas de América. Unas pocas lo hacen en regiones frías del este de Estados Unidos. Estas plantas estaban anteriormente en el género *Eupatorium*, pero han sido reubicadas.³¹

Las plantas incluidas en el género *Ageratina*, van desde hierbas hasta árboles que tienen hojas simples, generalmente opuestas, de márgenes enteros o dentados, y superficies con o sin pubescencia. Las inflorescencias son terminales y generalmente tienen flores de color blanco a lila.

Las características particulares de esta especie incluyen peciolo de 3 a 6 cm de largo, hojas deltoideas subcordadas, palmeadas y nervada cerca de la base, márgenes dentados irregulares, de 5 a 10 cabezas bracteadas dispuestas en racimos axilares, 50-80 flores por cabeza, corolas blancas de 5-6 mm de largo y aquenios cilíndricos 4 mm de largo, como se muestra en la figura 13.³²



Figura. 13 *Ageratina jocotepecana*

Los trabajos de King y Robinson basados en algunas características anatómicas de las inflorescencias e información citogenética, han permitido incluir muchas especies del amplio género *Eupatorium* en *Ageratina*.²³

La química de *Ageratina* es bastante diversa, muestra numerosos benzofuranos, cromenos, flavonoides, poliacetilenos, sesquiterpenos, diterpenos y triterpenos. La presencia de diterpenos derivados del kaurano y flavonoides metoxilados en los carbonos C-6, C-7 y C-8 es muy común, razón por la cual estos

tipos de compuestos han sido utilizados como marcadores taxonómicos para dicha categoría.

De esta planta se aislaron dos compuestos de tipo diterpeno que inicialmente fueron asignados como: el ácido catívico (**23**) y el ácido labdanólico (**24**).³³ En un trabajo posterior se determinó la configuración absoluta de ambos diterpenos por dicroísmo circular vibracional correspondiendo a las estructuras **25** y **26** como se muestran en la figura. 14.³⁴

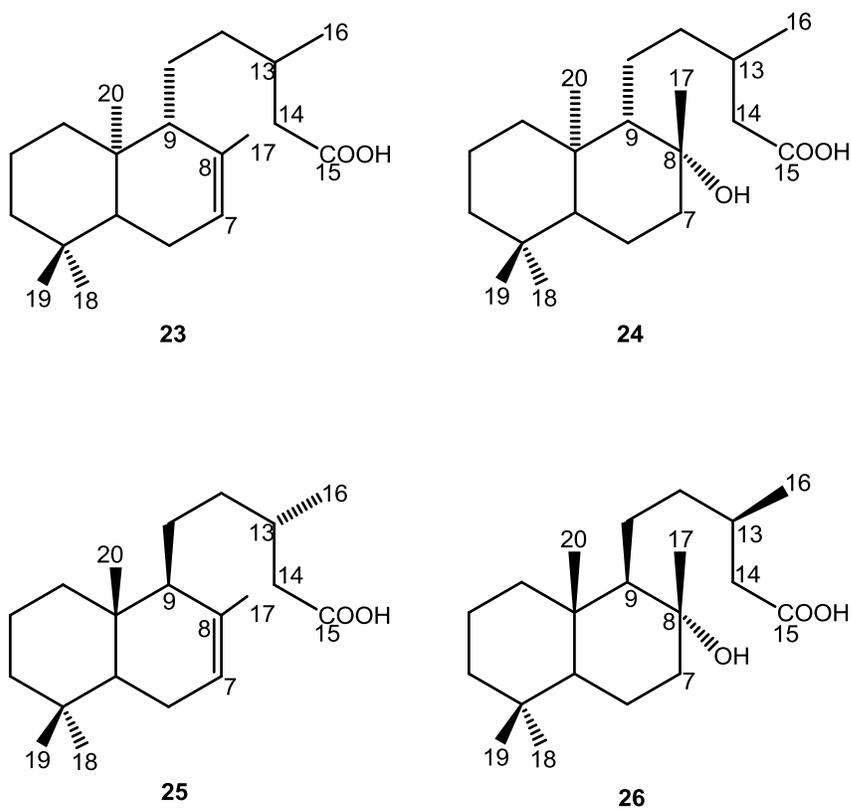


Figura. 14 Diterpenos aislados de *A. jocotepecana*

En este proyecto nos enfocaremos en el ácido (+)13-*epi*-labdanólico (**26**), su reactividad frente a diferentes ácidos para la obtención de nuevas moléculas modificadas de origen natural, que posteriormente puedan ser evaluadas sus actividades biológicas.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Realizar un estudio de reactividad del diterpeno ácido (+)13-*epi*-labdanólico aislado de *Ageratina jocotepecana* en diferentes medios ácidos.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Aislar al ácido (+)13-*epi*-labdanólico de *Ageratina jocotepecana*.
- Llevar a cabo la reacción a diferentes condiciones con ácidos *p*-toluensulfónico, ácido perclórico y ácido fórmico.
- Caracterizar los productos de reacción mediante métodos físicos y espectroscópicos.

PARTE EXPERIMENTAL

Los espectros de RMN de ^1H a 400 MHz y de ^{13}C a 100 MHz, se determinaron en un aparato Varian Mercury Plus-400. En todas las determinaciones se utilizó como disolvente Cloroformo deuterado (CDCl_3) y como referencia interna se utilizó Tetrametil Silano (TMS).

Los espectros de masa se llevaron a cabo en un Cromatógrafo de Gases HP 5890 series II Plus, acoplado a un espectrómetro de Masas HP 5989-B.

La rotación óptica se determinó en un aparato Perkin Elmer 341 usando CHCl_3 como disolvente.

El análisis de difracción de rayos X se llevó a cabo en un difractorómetro Bruker-Nonius CAD4 con radiación de Cu K_α .

Para las separaciones cromatográficas en columna se utilizó sílica gel 230-400 mallas marca Merck.

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

PREPARACIÓN DEL AgNO_3

850 mg de AgNO_3 se disolvieron en 6 ml de acetonitrilo.

DATOS DE LA PLANTA

Se colectó la planta *Ageratina jocotepecana* en el kilómetro 51 de la carretera Morelia-Zacapu, en el mes de febrero en 2011. Fue identificada por el Dr. Jerzy Rzedowski del Instituto de Ecología A.C. del Centro Regional del Bajío, en Pátzcuaro Michoacán.

DATOS DE LOS ÁCIDOS UTILIZADOS

El ácido perclórico (HClO_4) que se utilizó fue marca Baker con un grado de pureza 70-72%.

Ácido *p*-toluensulfónico monohidratado ($p\text{-TsOH}\cdot\text{H}_2\text{O}$), marca sigma con 99% de pureza.

Ácido fórmico marca Merck 98-100% pureza.

OBTENCIÓN DEL EXTRACTO

La planta se secó a la sombra y fue separada en raíz, tallo, hoja, flor. Se pesaron 220 g de hojas y flores de *Ageratina jocotepecana*, las cuales fueron maceradas en 3.5 litros de hexano a temperatura ambiente por 3 días, este proceso se realizó 3 veces para extraer la mayor cantidad posible de materia prima de la planta. Se realizó el mismo procedimiento con CH_2Cl_2 . Se filtró y se evaporó el disolvente del macerado por medio de destilación en un rotavapor. Se obtuvo un total de 6 g del extracto hexánico de hojas y flores de *Ageratina jocotepecana*.



Figura. 15 Evaporación del extracto hexánico de hojas y flores de *A. jocotepecana*

AISLAMIENTO DEL ÁCIDO (+)13-EPI-LABDANÓLICO (26)

6 g de sílice gel fueron impregnados con 6 g del extracto hexánico disuelto en 6 mL de CH_2Cl_2 , esta mezcla se homogenizó y llevó a sequedad, para posteriormente adicionarla a una columna de 4 cm de diámetro con 12 cm de sílice gel como fase estacionaria empaquetada con hexano, se utilizaron 300 mL de hexano como fase móvil. Se agregó mezcla de disolventes en forma ascendente de polaridad Hexano - Acetato de Etilo, continuando con volúmenes de 100 mL Hexano - Acetato de Etilo (9:1) colectando fracciones de 20 mL aproximadamente.



Figura. 16 Cromatografía en columna del extracto hexánico de hojas y flores.

De la fracción 34-46 colectada de las polaridades Hexano - AcOEt (7:3 a 3:2) se obtuvo una miel color verde, en la cual se identificaron señales correspondientes a un diterpeno impuro, de acuerdo con los espectros de RMN de ^1H .

PURIFICACIÓN DEL ÁCIDO (+) 13-*EPI*-LABDANÓLICO (26)

Se recromatografiaron 2.4 g del diterpeno **26** impuro, en una columna de vidrio de 2 cm de diámetro con 12 cm de altura de sílice, impregnada con hexano, adicionando el extracto previamente impregnado como en la cromatografía anterior. Se utilizaron 150 mL de Hexano - Acetona (4:1) como fase móvil para eluir la cromatografía en columna, colectando fracciones de 15 mL aproximadamente, obteniendo 605 mg de cristales blancos en forma de aguja con punto de fusión 68-70 °C de **26**. $[\alpha]_{589} +5$, $[\alpha]_{578} +5$, $[\alpha]_{546} +6$, $[\alpha]_{436} +10$, $[\alpha]_{365} +14$ (c 0.86, CHCl₃); IR ν_{\max} OH (3591, 3505), C=O (1706) cm⁻¹, RMN de ¹H δ 2.39 (1H, dd, $J = 14.7, 6.4$ Hz, H-14), 2.13 (1H, dd, $J = 14.7, 7.6$ Hz, H-14'), 1.97 (1H, m, H-13), 1.85 (1H, dt, $J = 12.2, 2.9$ Hz, H-7), 1.64 (1H, m, H-6), 1.60 (1H, m, H-1), 1.58 (1H, m, H-2), 1.42 (2H, m, H-2' y H-11), 1.40 (2H, m, H-12 y H-12'), 1.35 (2H, m, H-3 y H-7'), 1.25 (1H, m, H-6'), 1.24 (1H, m, H-11'), 1.15 (3H, s, H-17), 1.13 (1H, m, H-3'), 1.03 (1H, m, H-9), 0.98 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-16), 0.93 (1H, m, H-1b), 0.91 (1H, m, H-5), 0.86 (3H, s, H-18), 0.78 (6H, s, H-19 y H-20). Los datos de ¹³C se muestran en la tabla 3. El espectro de masas mostró un ion molecular de 324 una correspondiente al C₂₀H₃₆O₃ cuya fórmula molecular es concordante para el ácido (+)13-*epi*-labdanólico (**26**)



Figura. 17 Recromatografía del ácido (+)13-*epi*-labdanólico (**26**)



Figura. 18 Cristales del ácido (+)13-*epi*-labdanólico (**26**)

ESTERIFICACIÓN DE 26 CON DIAZOMETANO

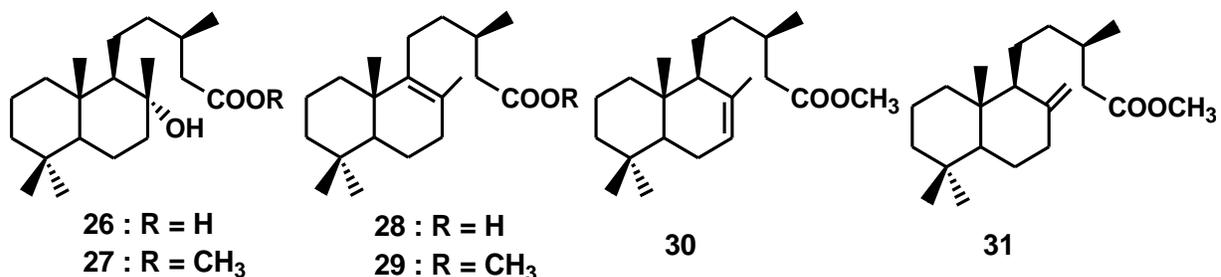
(+)*13-epi*-8-Hidroxilabdan-15-oato de metilo: una solución de **26** (8 mg) en (1 mL) de éter etílico fue tratado con una solución etérea de diazometano durante 5 min. La mezcla de reacción fue evaporada y el residuo fue purificado por cromatografía en columna eluyendo con hexano para dar 6 mg, (73%) del éster **27** como un aceite incoloro; $[\alpha]_{589} +5$, $[\alpha]_{578} +6$, $[\alpha]_{546} +6$, $[\alpha]_{436} +9$, $[\alpha]_{365} +14$ (c 0.7, CHCl₃); IR ν_{\max} 3610, 2967, 1870, 1716, 1707, 1455, 1435, 1385, 1367, 1141, 1110; RMN de ¹H δ 3.66 (3H, s, OCH₃), 2.36 (1H, dd, $J=14.7$, 6.5 Hz, H-14), 2.11 (1H, dd, $J=14.7$, 7.6 Hz, H-14'), 1.95 (1H, m, H-13), 1.86 (1H, m, H-7a), 1.63 (1H, m, H-6a), 1.61 (1H, m, H-1a), 1.56 (1H, m, H-2a), 1.42 (1H, m, H-2b), 1.41 (1H, m, H-11a), 1.38 (3H, m, H-3a, H-12), 1.34 (1H, m, H-7b), 1.27 (1H, m, H-6b), 1.21 (1H, m, H-11b), 1.15 (3H, s, H-17), 1.11 (1H, m, H-3b), 1.01 (1H, m, H-9), 0.96 (3H, d, $J=7.0$ Hz, H-16), 0.91 (1H, m, H-5), 0.90 (1H, m, H-1b), 0.86 (3H, s, H-18), 0.78 (6H, s, H-19 y H-20); RMN de ¹³C δ 174.0 (C-15), 74.2 (C-8), 62.0 (C-9), 56.1 (C-5), 51.4 (OCH₃), 44.4 (C-7), 41.9 (C-3), 41.2 (C-14), 40.2 (C-12), 39.6 (C-1), 39.1 (C-10), 33.4 (C-18), 33.2 (C-4), 31.1 (C-13), 23.9 (C-17), 22.3 (C-11), 21.4 (C-19), 20.5 (C-6), 19.9 (C-16), 18.4 (C-2), 15.4 (C-20).

REACCIONES DE DESHIDRATACIÓN EN MEDIO ÁCIDO

Método General

A una solución de 100 mg de ácido (+)*13-epi*-labdanólico (**26**) o su éster metílico **27** en 5 mL de disolvente, se le adicionaron 20 mg ó 200 μ L de ácido. La mezcla de reacción se dejó a reflujo durante una hora, transcurrido este tiempo la mezcla de reacción se vertió a un embudo de separación que contenía hielo y se extrajo con AcOEt, la fase orgánica se lavó dos veces con agua, dos veces con una solución saturada de bicarbonato de sodio y dos con agua. Se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y concentró para posteriormente determinar RMN de ¹H.

En la tabla 1 se muestran las diferentes condiciones para llevar a cabo cada reacción.



No. Reacción	Materia prima	Disolvente	Ácido	Producto
1	26 mg de 27	1.5 mL Benceno	5.2 mg TsOH	29
2	72 mg de 27	3.5 mL CH ₂ Cl ₂	14 mg TsOH	29
3	60 mg de 26	3 mL CH ₂ Cl ₂	12 mg TsOH	28
4	103 mg de 26	5 mL Benceno	20 mg TsOH	28
5	40 mg de 26	2.5 mL MeOH	11 µL ácido fórmico	26
6	60 mg de 26	2 mL CH ₂ Cl ₂	100 µL ácido fórmico	26
7	60 mg de 26	3 mL MeOH	100 µL ácido perclórico	29, 30 y 31

Tabla 1. Variables de reacción

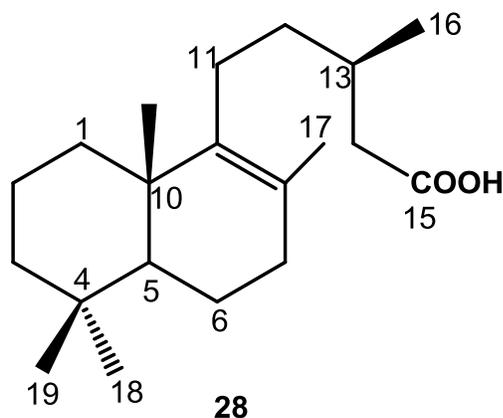


Figura. 19 Dispositivo de la reacción de deshidratación del ácido (+)13-*epi*-labdanólico (**26**)

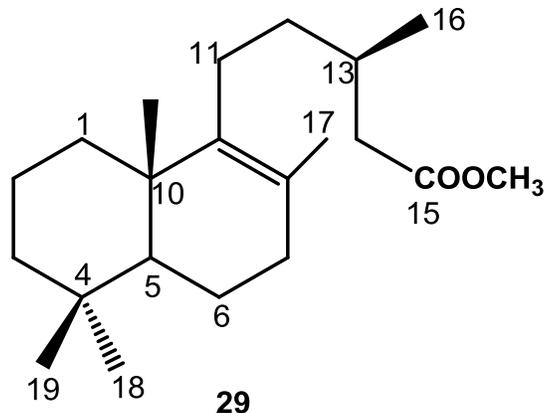
MÉTODO GENERAL DE PURIFICACIÓN DEL CRUDO DE REACCIÓN

Se tomaron 40 mg del crudo de reacción para realizar la purificación en placa preparativa de 20 cm x 10 cm, impregnada con AgNO_3 , se utilizó una mezcla de 100 mL Hexano - 1 mL de AcOEt como fase móvil, en una cámara cromatográfica de vidrio, desarrollada 4 veces protegiendo de la luz. Se reveló la placa con cinta, HCl al 10% y calor, obteniendo dos manchas con $R_f = 0.85$ y $R_f = 0.75$. La mancha con $R_f = 0.85$ correspondió a **29** con una pequeña cantidad del posible derivado exocíclico **31**, por lo tanto se procedió a recromatografiar esta mezcla, en placa preparativa, bajo las mismas condiciones, lo que condujo a la obtención de 26.2 mg del derivado **29** puro con un $R_{f1} = 0.80$, y 0.6 mg del derivado **31** con $R_f = 0.85$. El éster metílico del 13-*epi*-cativico **30** correspondió a la franja con $R_f = 0.75$ y se obtuvieron 1.3 mg. Todas las extracciones de placa se realizaron con AcOEt. Después se lavaron con solución saturada de Bisulfito de

sodio tres veces en un embudo de separación y dos veces con agua. Se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y evaporaron a sequedad.

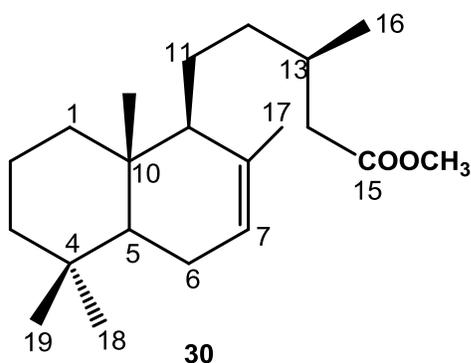


Ácido (+)13-*epi*-labd-8-en-15-oico (28). Miel incolora. RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 2.39 (1H, dd, $J_{14,14'} = 15.0$ y $J_{14,13} = 5.9$ Hz, H-14), 2.16 (1H, dd, $J_{14',14} = 15.0$ y $J_{14',13} = 5.9$ Hz, H-14'), 1.54 (3H, s, H-17), 1.01 (3H, d, $J_{16,13} = 6.7$ Hz, H-16), 0.92 (3H, s, H-18), 0.88 (3H, s, H-19), 0.82 (3H, s, H-20).

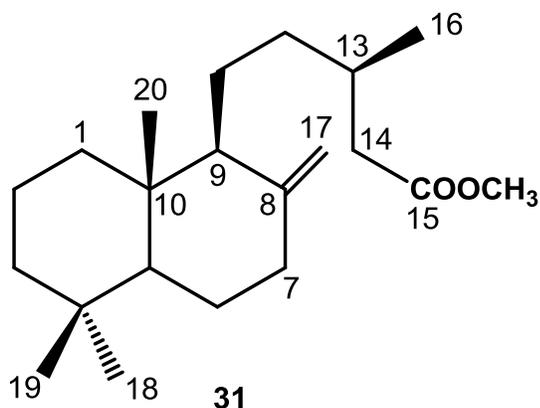


Éster metílico del ácido (+)13-*epi*-labd-8-en-15-oico (29), Miel incolora [α]₅₈₉ +72, [α]₅₇₈ +74, [α]₅₄₆ +85, [α]₄₃₆ +151, [α]₃₆₅ +266 (c 0.22, CHCl₃); IR ν_{\max} 1731, 1463, 1379, 1205 cm⁻¹; RMN de ¹H δ 3.66 (3H, s, OCH₃), 2.34 (1H, dd, $J = 14.7, 5.9$ Hz, H-14), 2.13 (1H, dd, $J = 14.9, 8.5$ Hz, H-14'), 2.05 (1H, m, H-11), 1.95 (2H, m, H-7), 1.93 (1H, m, H-13), 1.82 (1H, m, H-11'), 1.77 (1H, m, H-1), 1.62 (2H, m, H-6), 1.53 (3H, s, H-17), 1.45 (2H, m, H-2), 1.39 (1H, m, H-3), 1.34 (1H, m, H-

12), 1.25 (1H, m, H-12'), 1.15 (1H, m, H-3'), 1.12 (1H, m, H-1'), 1.10 (1H, m, H-5), 0.97 (3H, d, $J = 6.4$ Hz, H-16), 0.93 (3H, s, H-20), 0.87 (3H, s, H-18), 0.82 (3H, s, H-19); HRESIMS m/z 343.2609 $[M + Na]^+$ (calcd for $C_{21}H_{36}O_2 + Na^+$, 343.2608). RMN de ^{13}C δ 173.7 (C-15), 140.4 (C-9), 125.5 (C-8), 51.8 (C-5), 51.3 (OCH₃), 41.7 (C-3), 41.4 (C-14), 38.9 (C-10), 37.2 (C-12), 36.9 (C-1), 33.6 (C-7), 33.3 (C-18), 33.3 (C-4), 31.4 (C-13), 25.4 (C-11), 21.6 (C-19), 20.0 (C-20), 19.6 (C-16), 19.4 (C-17), 19.0 (C-6), 19.0 (C-2).



Éster metílico del ácido (+)13-*epi*-labd-7-en-15-oico (30) Miel incolora. RMN de 1H δ 5.38 (1H, sa), 3.67 (3H, s, OCH₃), 2.32 (1H, dd, $J = 14.7, 6.24$ Hz, H-14), 2.14 (1H, dd, $J = 14.7, 8.0$ Hz, H-14'), 1.65 (3H, s, H-17), 0.95 (3H, d, $J = 6.65$ Hz, H-16), 0.87 (3H, s, H-18), 0.84 (3H, s, H-19), 0.74 (3H, s, H-20), las señales para el resto de los protones se encuentran de 2.0-1.0 ppm. No se obtuvo RMN de ^{13}C , IR y HRMS debido a que la cantidad de muestra obtenida era insuficiente.



Éster metílico del ácido (+) 13-*epi*-labd-8(17)-en-15-oico (31) Miel incolora. RMN de ^1H δ 4.80 (1H, s, H-17), 4.46 (1H, s, H-17'), 3.66 (1H, s, OCH₃), 2.29 (1H, dd, J = 14.87, 6.13 Hz, H-14), 2.11 (1H, dd, J = 14.75, 7.93 Hz, H-14'), 0.94 (3H, d, J = 6.63 Hz, H-16), 0.86 (1H, s, H-18), 0.79 (1H, s, H-19), 0.66 (1H, s, H-20), las señales para el resto de los protones se encontraron de 2.0-1.0. No se obtuvo RMN de ^{13}C , IR y HRMS debido a que la cantidad de muestra obtenida era insuficiente.

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Se colectó *Ageratina jocotepecana* en el kilómetro 51 de la carretera Morelia-Zacapu, se utilizaron hojas y flores de la planta. Se realizó una maceración en hexano por tres días y se concentró el extracto. Se tomaron 6 g del extracto para realizar una cromatografía en columna, utilizando como eluentes Hexano - AcOEt en polaridad ascendente.

Se obtuvo de la fracción 34-46 una miel incolora, colectada de las polaridades Hexano – AcoEt (7:3 a 3:2), cuyo espectro de masas mostró un ion molecular de 324 una correspondiente al $C_{20}H_{36}O_3$ cuya fórmula molecular es concordante para el ácido (+)13-*epi*-labdanólico (**26**).

En el espectro de RMN de 1H a 400 MHz (Figura 20) del diterpeno **26**, se observa una señal en 2.39 ppm doble de dobles con constantes de acoplamiento de $J_{14,14'} = 14.7$ Hz y $J_{14,13} = 6.4$ Hz, en 2.13 ppm se observó una señal doble de dobles con constante de acoplamiento de $J_{14',14} = 14.7$ Hz y $J_{14',13} = 6.4$ Hz señales correspondientes a los hidrógenos 14 y 14'. En 0.98 ppm se encuentra una señal doble correspondiente al metilo secundario 16, en 0.86 ppm se localiza una señal simple correspondiente al metilo terciario 18, en 0.78 ppm se localiza una señal simple correspondiente a los metilos terciarios 19 y 20.

En el espectro de resonancia magnética nuclear de ^{13}C a 100 MHz (figura 21), se observaron 20 señales correspondientes del ácido (+) 13-*epi*-labdanólico (**26**), en 178.4 ppm se observa la señal correspondiente al ácido carboxílico, en 74.6 ppm se encuentra la señal de un carbono cuaternario base de oxígeno, perteneciente al carbono 8. Dichos datos corroboran el esqueleto del diterpeno y fueron comparados con los reportados.

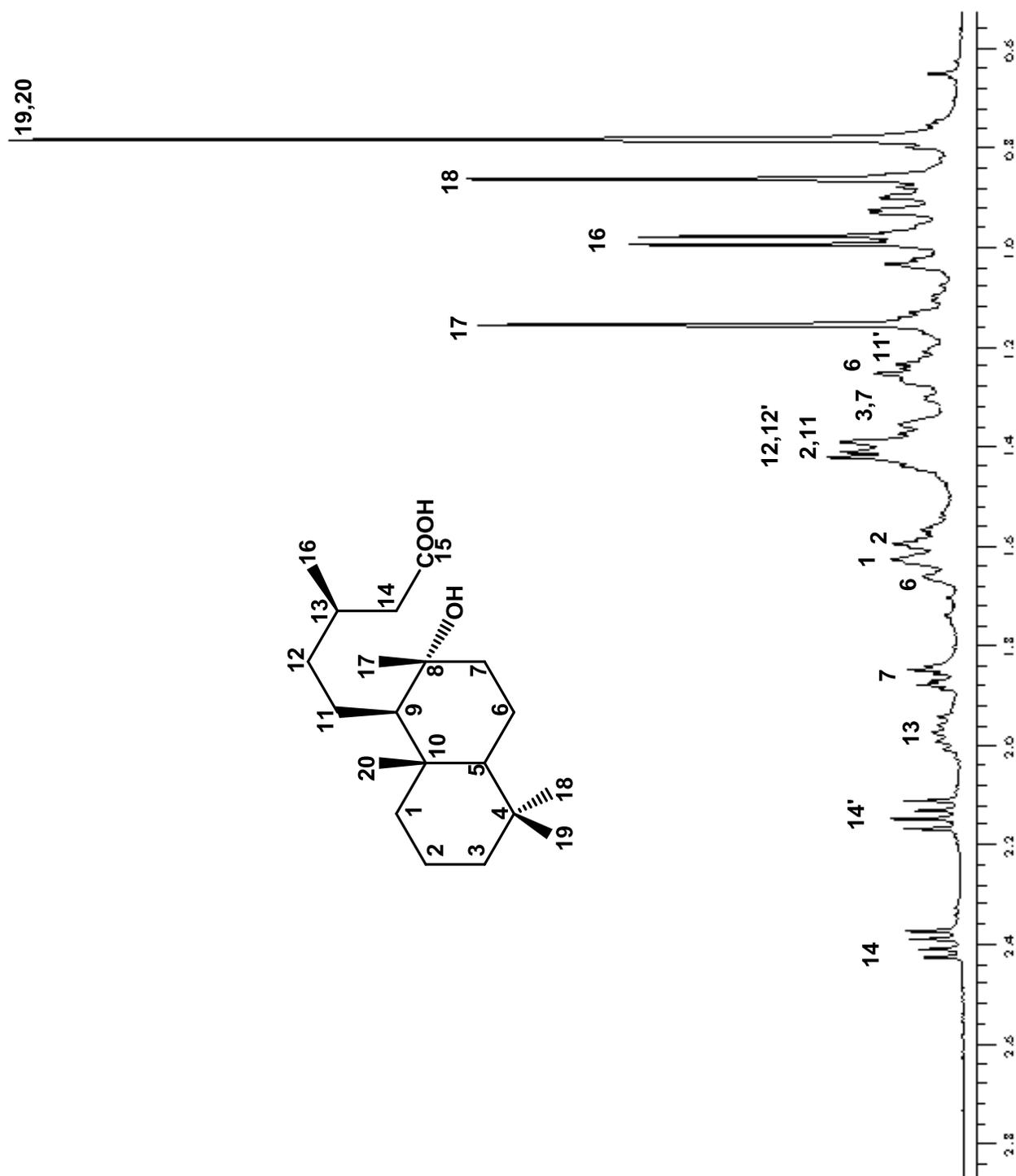


Figura. 20 Espectro de RMN de ¹H a 400 MHz del ácido (+)-13-*epi*-labdanólico (26)

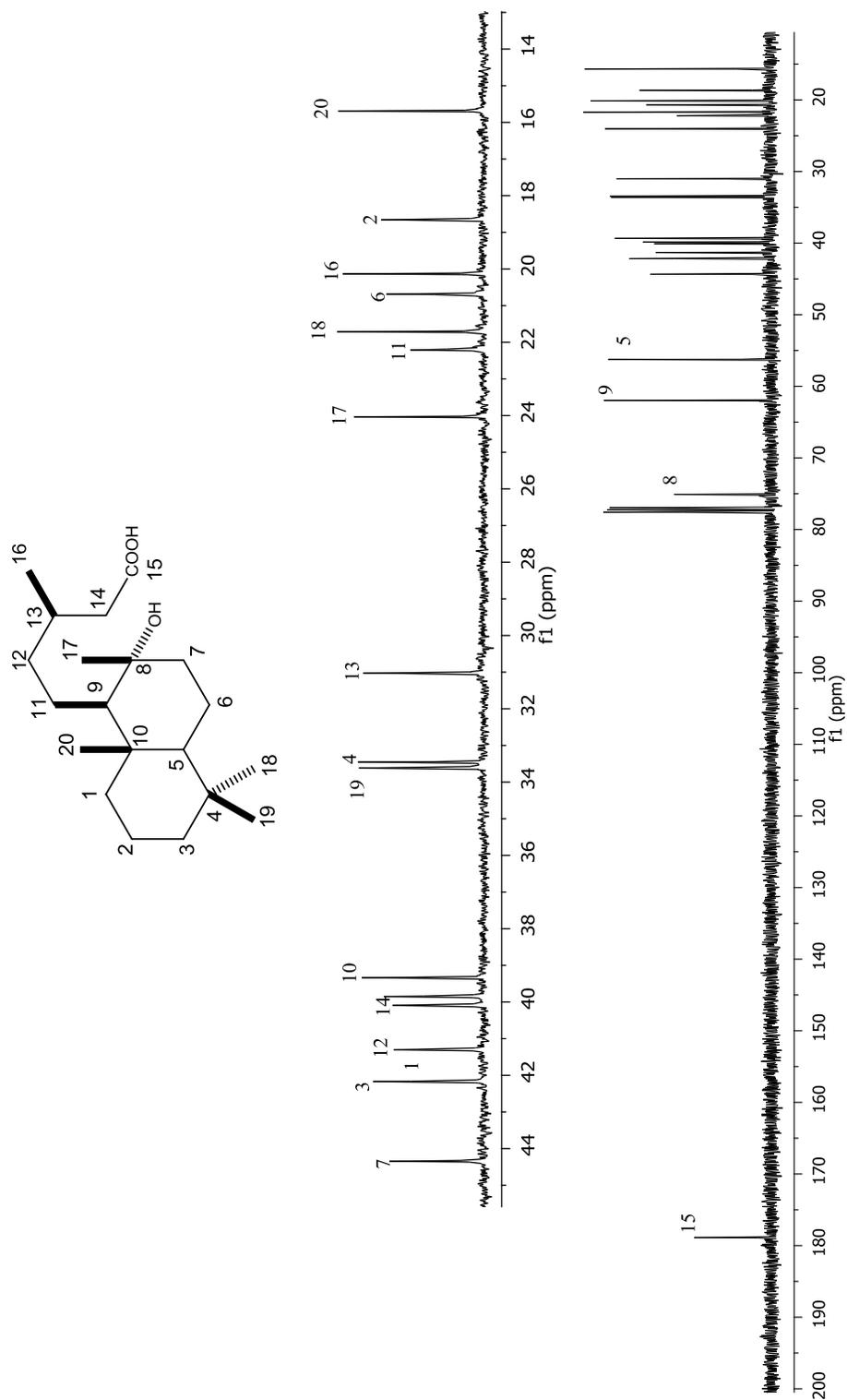


Figura. 21 Espectro de RMN de ^{13}C a 100 MHz del ácido (+)-13-*epi*-labdanólico (26)

El ácido labdanólico fue aislado por primera vez por Cocker, Halsall y Bowers³⁸, “gum labdanum” obtenido de *Cistus ladaniferus*. La estructura de este nuevo diterpeno bicíclico hidroxil-ácido se determinó en un artículo posterior como **33**, pero la configuración en C-13 no quedó determinada.³⁷ El ácido labdanólico (**33**) ha sido también aislado de *Cistus palinhae*.³⁹ El compuesto **26** previamente fue aislado de *Oxylobus glanduliferus*⁴⁰ y *Espeletopsis muiska Cuatr*.⁴¹

Como se mencionó en los antecedentes, este compuesto inicialmente se había propuesto que correspondía al ácido labdanólico (**33**), (Figura 22). Pero haciendo un análisis de todos sus datos físicos y espectroscópicos, se observaron las siguientes diferencias:³⁵

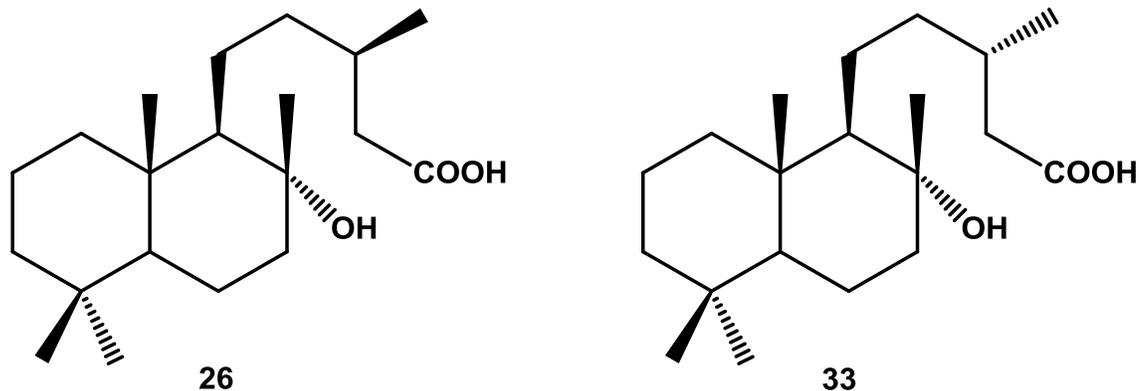


Figura. 22 Ácido 13-*epi*-labdanólico (**26**) y ácido labdanólico (**33**)

Tabla 2. Rotaciones específicas de **26** y **33**

COMPUESTO	ROTACIÓN ESPECÍFICA
26	$[\alpha]_{589} +5.0$ (c 0.86, CHCl ₃)
33	$[\alpha]_{589} - 6.6$ (c 1.06, CHCl ₃)

Tabla 3. Tabla de desplazamientos químicos de RMN de ^{13}C

Posición	Compuesto / δ (ppm)		
	Ácido labdanólico (33)	Ácido 13- <i>epi</i> -labdanólico (26)	$\Delta \delta$
1	39.58	39.63	0.05
2	18.38	18.42	0.04
3	41.94	41.93	0.01
4	33.16	33.22	0.06
5	55.96	56.05	0.09
6	20.37	20.47	0.1
7	43.74	44.25	0.51
8	74.92	74.65	0.27
9	61.97	61.78	0.19
10	39.04	39.10	0.06
11	22.99	21.92	1.07
12	40.45	39.83	0.62
13	31.15	30.79	0.36
14	41.49	40.93	0.56
15	177.87	178.26	0.39
16	19.89	19.90	0.01
17	23.79	23.80	0.01
18	33.33	33.37	0.04
19	21.41	21.47	0.06
20	15.45	15.44	0.01

Como se puede observar en la tabla 3 de desplazamientos químicos de RMN de ^{13}C , los carbonos 11,12,13 y 14 presentan pequeñas diferencias en los desplazamientos de 1.07, 0.62, 0.36 y 0.56 respectivamente, así como la diferencia en la rotación óptica. Lo que sugiere un cambio en la estereoquímica del metilo 16 en la posición 13. Este fenómeno de las diferencias en los

desplazamientos químicos ya ha sido observado por otros autores, en derivados de labdanos epímeros en el carbono 13, aislados de *Marrubium anisodon*.³⁶

De los cristales obtenidos del compuesto **26** con punto de fusión 68-70 °C, se obtuvo la estructura por rayos X (Figura 23), mostrando que el C13 se encuentra en posición β y que co-cristalizó con una molécula de agua, quedando establecida de manera inequívoca la estereoestructura del ácido (+)13-*epi*-labdanólico (**26**).

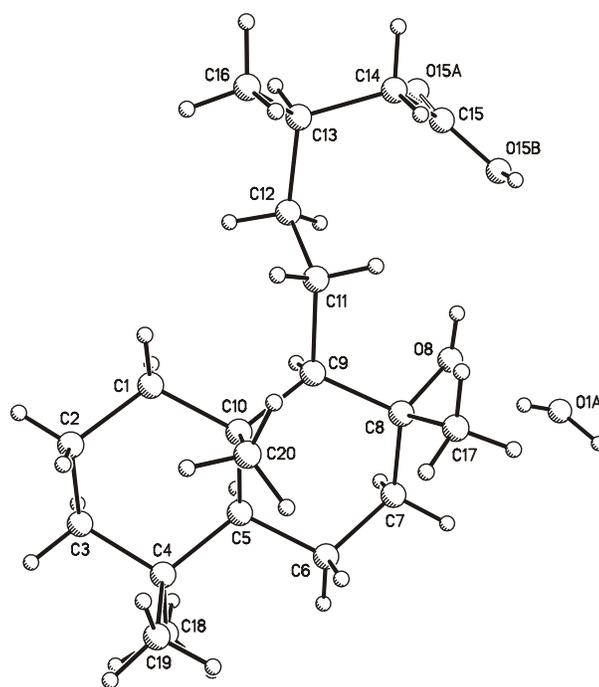


Figura. 23 Rayos X de cristales del ácido (+)-13-*epi*-labdanólico

Una vez establecida la estructura del 13-*epi*-labdanólico (**26**), se procedió a evaluar su reactividad química frente a diferentes ácidos. El ácido (+)13-*epi*-labdanólico presenta un grupo hidroxilo (OH) en el carbono 8, por lo cual procedimos a realizar reacciones de deshidratación en diferentes concentraciones de medios ácidos, para obtener los tres posibles productos de una β -eliminación (Figura 24).

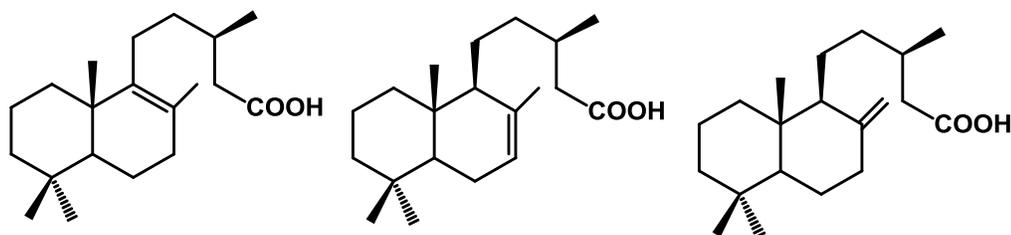


Figura. 24 Posibles productos de reacción

Se iniciaron los estudios de reactividad del **26** usando Ác. *p*-toluensulfónico con benceno y CH₂Cl₂, obteniendo únicamente la deshidratación del grupo hidroxilo **28**.

En el espectro de RMN de ¹H a 400 MHz (Figura. 25) del compuesto **28** se observa una señal doble de dobles en 2.39 ppm con constante de acoplamiento $J_{14,14'} = 15.0$ y $J_{14,13} = 5.9$ Hz, correspondiente al hidrógeno del carbono 14. Se presenta otra señal doble de dobles en 2.16 ppm con $J_{14',14} = 15.0$ Hz y $J_{14',13} = 8.4$ Hz, que pertenecen al otro hidrógeno del carbono 14'. En 1.54 ppm se encuentra una señal simple que corresponde al metilo 17 en el cual se observa una modificación de su desplazamiento químico hacia la región de metilos vinílicos, también se observa una señal doble en 1.01 ppm con una $J_{16,13} = 6.7$ Hz correspondiente a los hidrógenos del metilo secundario 16, en campo alto se visualizan tres señales simples características de metilos terciarios, correspondientes a los metilos 18, 19 y 20 cuyos desplazamientos químicos son 0.92, 0.88 y 0.82 ppm respectivamente. Nos dimos cuenta de que la reacción se había realizado de manera exitosa ya que en el espectro de RMN de ¹H los desplazamientos químicos de los metilos fueron distintos a los de la materia prima, producto de la deshidratación del alcohol mediante la eliminación del hidrógeno del carbono 9 formando un doble enlace en la posición 8-9 con ambos disolventes, el hecho de que en el espectro de RMN no se haya detectado señales en la región de los hidrógenos vinílicos confirma la presencia del doble enlace en dichas posiciones, favoreciéndose el alqueno tetrasustituido por ser el más estable de acuerdo a la regla de Zaitsev.

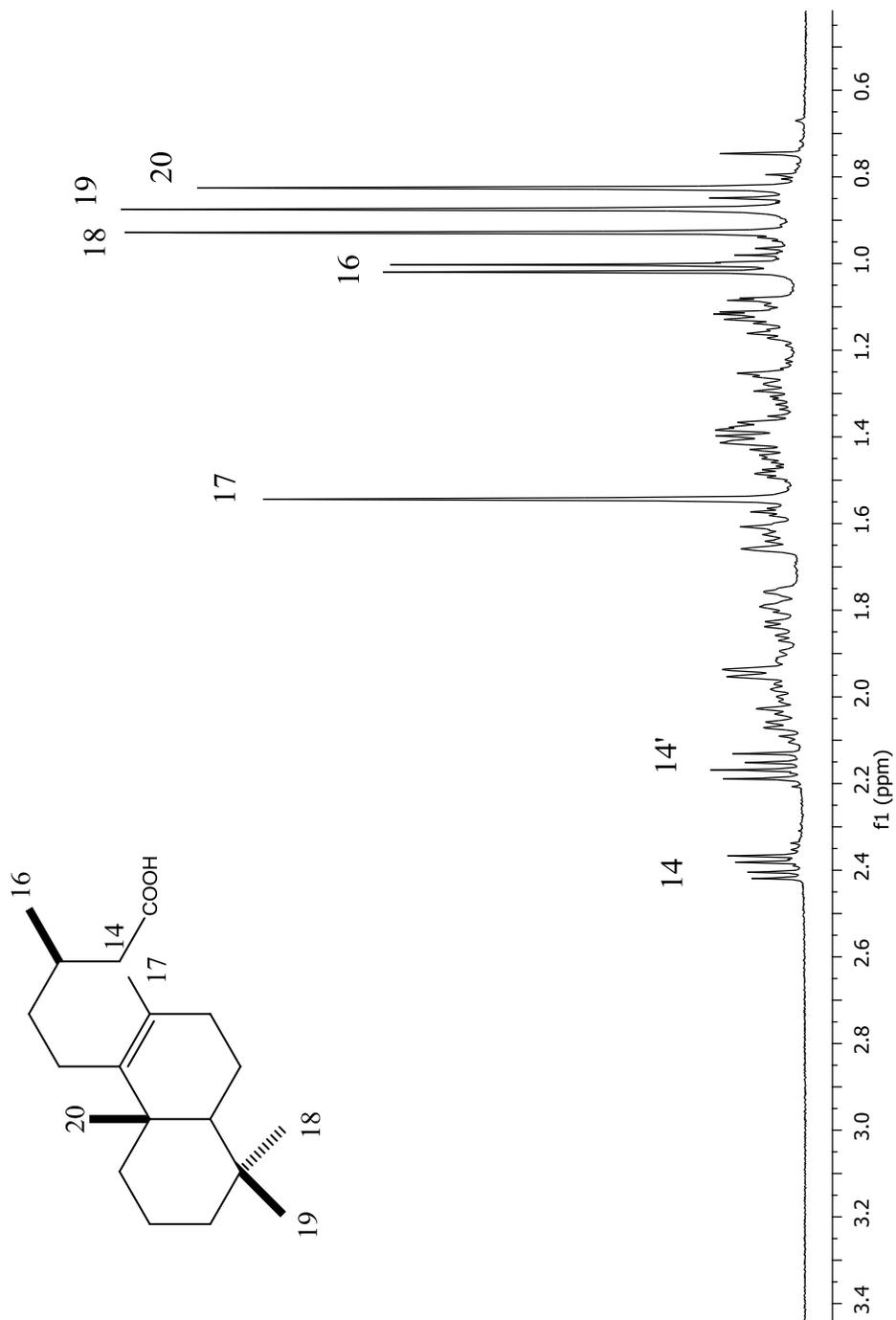


Figura. 25 Espectro de RMN de ¹H a 400 MHz de Ácido (+)-13-epi-labd-8-en-15-oico (28)

Cuando se utilizó ácido fórmico en concentraciones catalíticas, con MeOH y CH₂Cl₂ no se llevó a cabo la reacción ya que en RMN de ¹H se observaron las señales de la materia prima debido a que la concentración del ácido utilizado, no fueron las adecuadas para favorecer la reacción.

Por lo que se decidió ensayar las reacciones con ácido perclórico en MeOH un disolvente orgánico polar, con el cual la reacción resultó muy eficiente ya que el ácido carboxílico se esterificó debido al disolvente utilizado ya que de acuerdo a la ecuación general de esterificación (Esquema 20) se utiliza un alcohol en presencia de un catalizador ácido para llevar a cabo la esterificación, así como también se llevó a cabo la reacción de deshidratación del alcohol. El crudo de reacción mostró la presencia de una mezcla de compuestos con hidrógenos vinílicos, correspondientes a los posibles productos de eliminación de los hidrógenos 7, 9, 17 por acción del ácido, generando los derivados **29**, **30** y trazas de **31**.

El crudo de reacción primeramente se sometió a cromatografía en columna, el compuesto no pudo ser purificado, por lo que se realizó una cromatografía en placa preparativa impregnada con nitrato de plata, ya que es utilizado para la separación de compuestos insaturados de manera que actúa sobre los dobles enlaces C-C deteniendo su polaridad para así separarlo de otros compuestos, por lo que de esta manera logramos separar los compuestos **29**, **30** y **31** obteniendo los siguientes rendimientos:

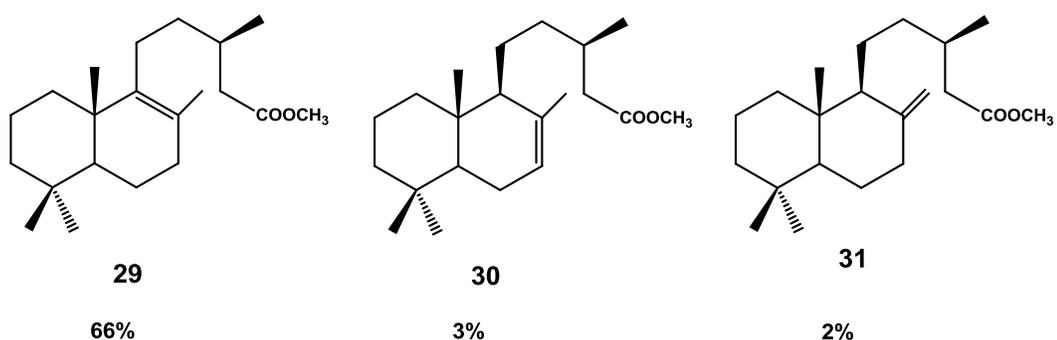


Figura. 26 Rendimientos de los productos de reacción

En el espectro de RMN de ^1H de la figura. 27 para el derivado **29** se observa una señal simple en 3.66 ppm que corresponde al metoxilo del C-15, en 2.34 ppm se observa una señal doble de dobles que corresponde al H-14 con $J = 14.7$ y 5.9 Hz; en 2.13 ppm se observa otra doble de dobles para el H-14' con $J = 14.9$ y 8.5 Hz, en 1.54 ppm se observa una señal simple ancha que corresponde al metilo 17, en 0.97 ppm se observa una señal doble que corresponde al metilo 16 con $J = 6.4$ Hz, en 0.93 ppm se observa una señal simple para el metilo 20, en 0.87 ppm se observa una señal simple para el metilo 18 y en 0.82 ppm se observa otra señal simple para el metilo 19. La ausencia de señales en la región de los hidrógenos vinílicos, indicó que este derivado contenía el doble enlace en la posición 8 y que además por el uso de metanol como disolvente se había llevado a cabo una reacción de esterificación del ácido carboxílico, esto por la presencia de la señal en 3.66 ppm característica de un metoxilo. Mientras que en el espectro de RMN de ^{13}C se observó la presencia de dos nuevas señales en la región de los carbonos sp^2 en 125.5 y 140.4 ppm, así como la desaparición de la señal del carbono base de oxígeno en 74.6 ppm del carbono 8.

El compuesto **29** fue obtenido de manera sintética de *Oxylobus glanduliferus*⁴⁰ y su enantiómero de la goma de labdano por Coker y Halsall³⁸, *C. ladaniferus*⁴³.

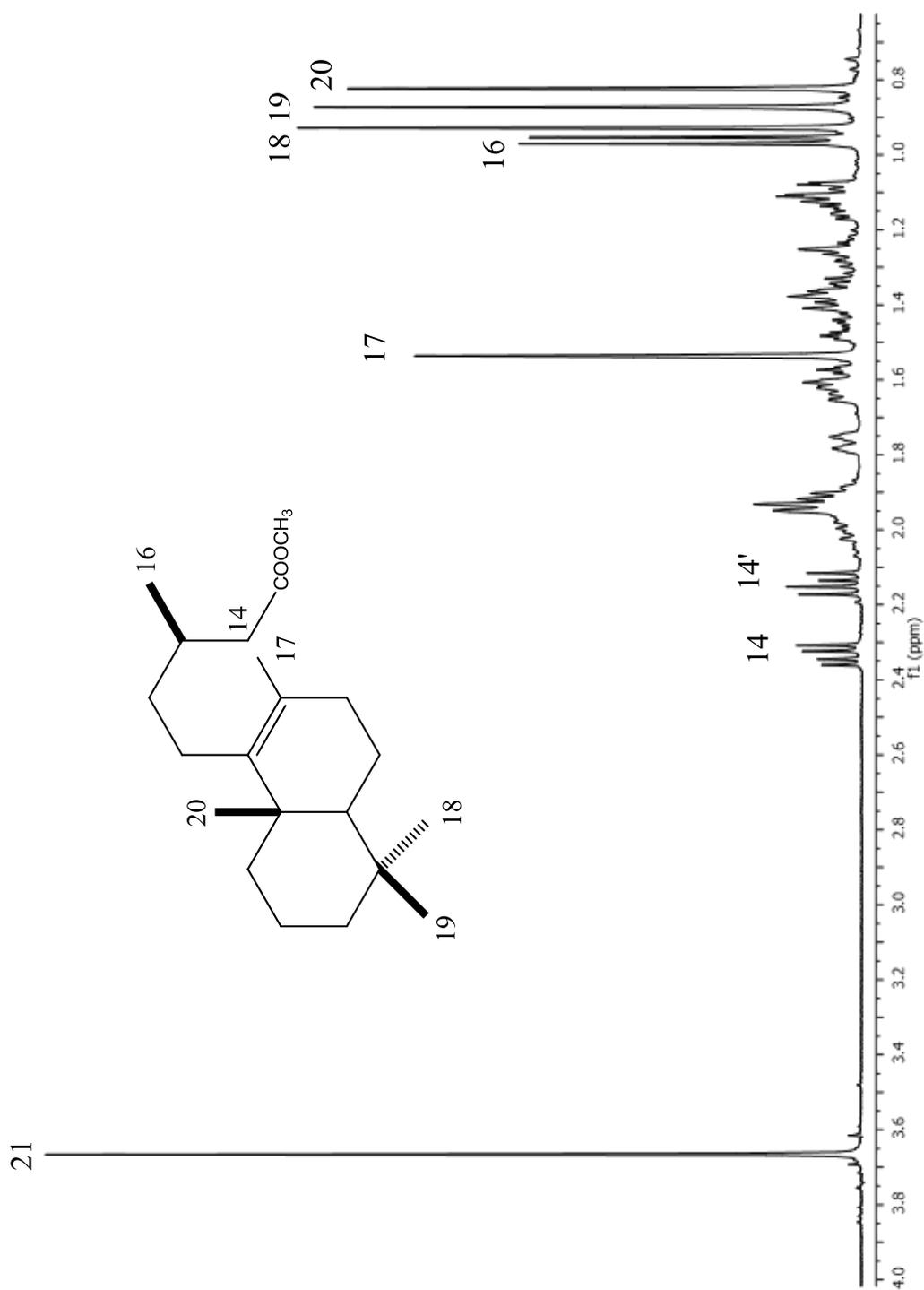


Figura. 27 Espectro de RMN de ¹H del éster metílico del ácido (+)-13-epi-labdanólico (29)

En el espectro de la (figura. 29) del derivado **30** se observa una señal simple ancha en 5.38 ppm correspondiente a un hidrógeno vinílico, en 3.67 ppm se observa una señal simple que corresponde al metoxilo del carbono 15, en 2.32 ppm se encuentra una señal doble de dobles con constantes de acoplamiento de $J_{14,14'} = 14.8$ y $J_{14,13} = 6.2$ Hz, identificada para uno de los hidrógenos del carbono 14, en 2.14 ppm se observa otra señal doble de dobles con constantes de acoplamiento de $J_{14',14} = 14.8$ y $J_{14',13} = 8.0$ Hz, correspondiente al H-14', que está en posición α a un grupo carboxilo, en 1.65 ppm se observa una señal simple que corresponde al metilo 17, en 0.95 ppm se observa una señal doble con constante de acoplamiento $J_{16,13} = 6.7$ Hz correspondiente al metilo 16, en 0.87 ppm se observa una señal simple para el metilo 18, en 0.84 ppm se observa una señal simple del metilo 19 y en 0.74 ppm se observa otra señal simple para el metilo 20. Por lo que la estructura propuesta para el derivado **30** es la indicada en la (figura 28), correspondiente al éster metílico del ácido-13-*epi*-catívico (**30**), debido a que este proviene del ácido (+)-13-*epi*-labdanólico (**26**). Los datos espectroscópicos fueron comparados con el ácido catívico (**34**) obtenido de manera natural de *Ageratina jocotepecana*.^{34,39} El compuesto **30** anteriormente fue preparado de un derivado de *Oxylobus glanduliferus*.⁴⁰

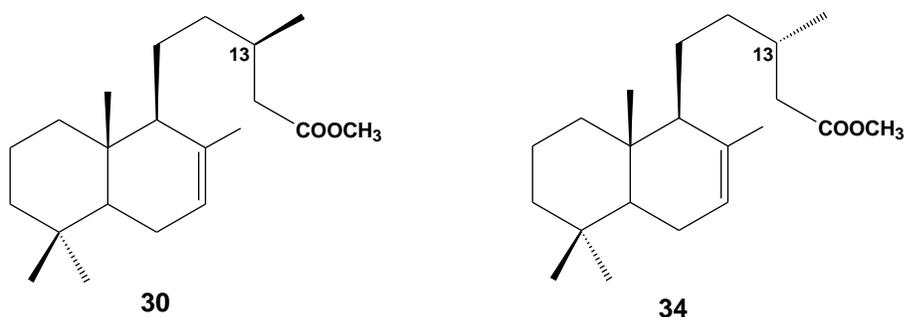


Figura. 28 Diterpenos epiméricos del ácido catívico

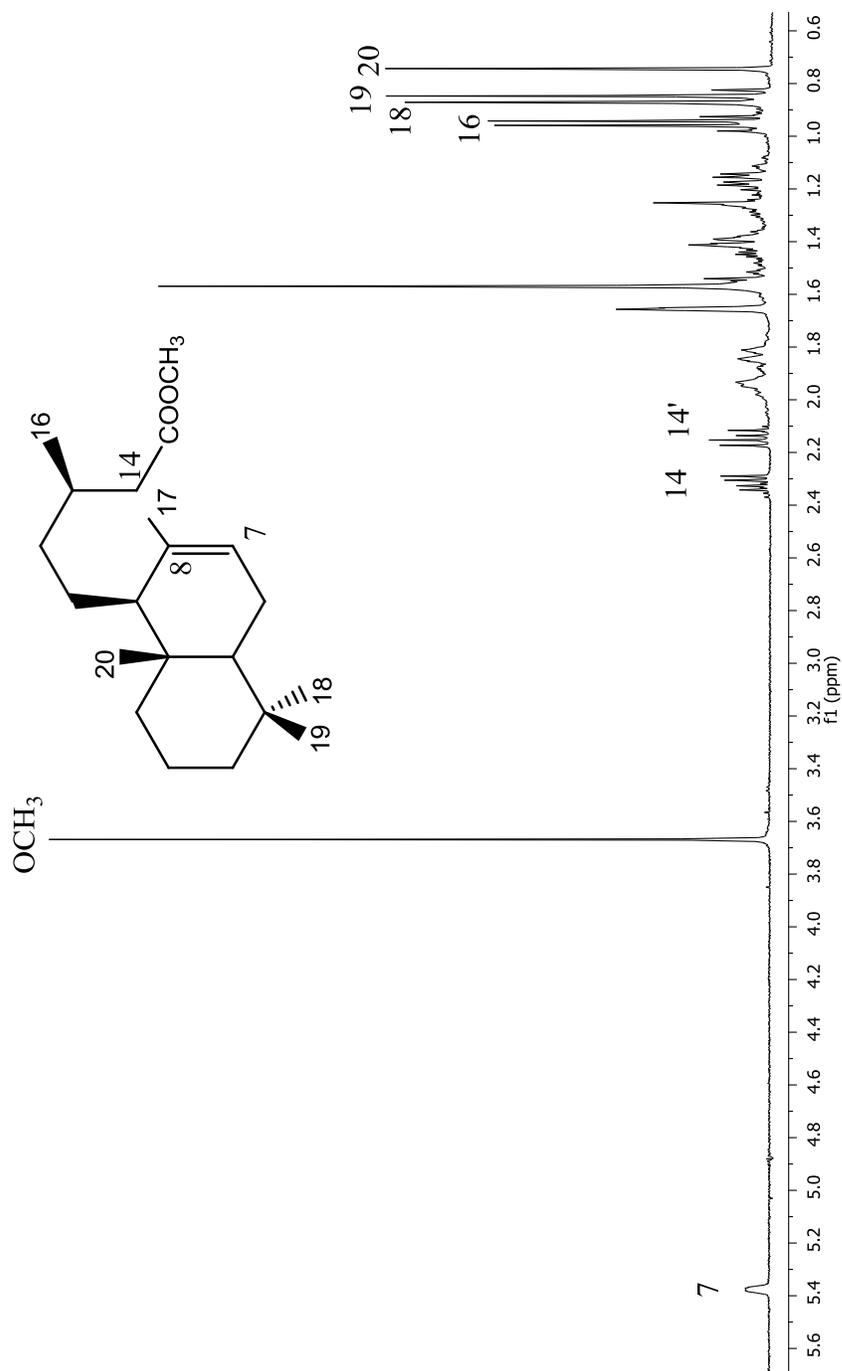


Figura. 29 Espectro de RMN de ¹H del éster metílico del (+)13-epi-labd-7-en-15-oico (30)

En el espectro de RMN de ^1H del derivado **31** (Figura. 30) se observa en 4.8 ppm una señal simple ancha correspondiente al H-17, en 4.46 ppm otra señal simple ancha correspondiente al H-17' exocíclico, en 3.66 ppm se observa una señal simple que integra para tres hidrógenos, correspondiente al metoxilo, en 2.29 ppm se observa una señal doble de dobles que integra para un protón con $J = 14.8, 6.1$ Hz (H-14), en 2.11 ppm se observa una señal doble de dobles que integra para un protón con $J = 14.7, 7.9$ Hz correspondiente a H-14', en 0.94 ppm se observa una señal doble que integra para tres hidrógenos con $J = 6.6$ Hz para el metilo 16, en 0.86 ppm se observa una señal simple que integra para tres hidrógenos correspondiente al metilo 18, en 0.79 y 0.66 ppm se observan dos señales simples que integra para tres hidrógenos cada una correspondientes a los metilos 19 y 20, las señales para el resto de los protones se encontraron de 2.0-1.0 ppm.

El compuesto **31** previamente fue preparado de un derivado de *Oxylobus glanduliferus* por deshidratación,⁴⁰ y su enantiómero el éster metílico del 8(17)-labden-15-oico de *Cistus palinxae*³⁹, *C. ladaniferus*⁴³, y un epímero tipo eperuano de *Copaifera cearensis*.⁴²

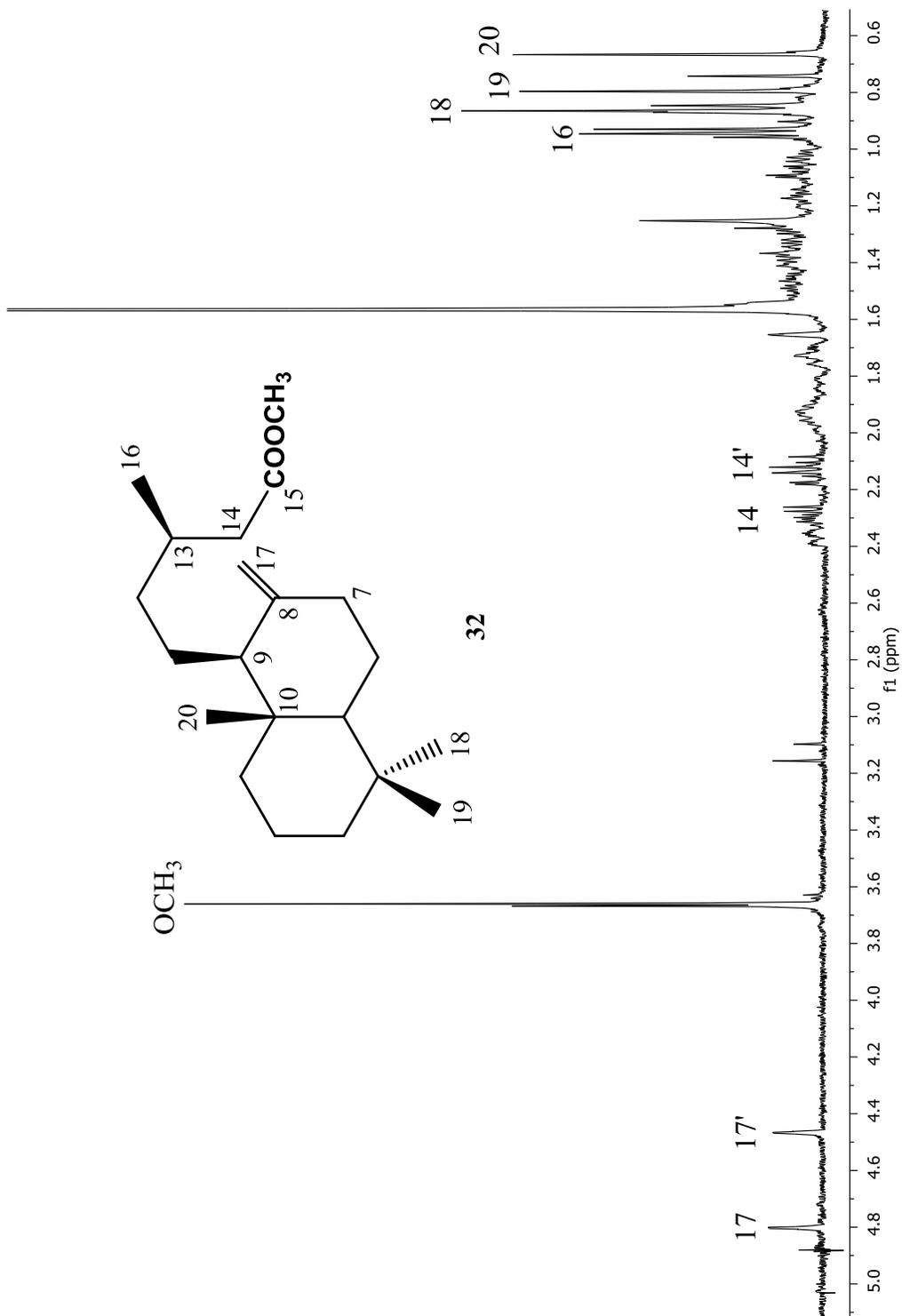


Figura. 30 Espectro de ¹H éster metílico del (+)13-epi-8(17)-labden-15-ol (31)

CONCLUSIÓN

Se purificó **26** en acetona de la cual se obtuvieron cristales adecuados para la difracción, con punto de fusión 68-70 °C, se estableció la estereoquímica del C13 mediante rayos X.

Al realizar la deshidratación de **26** en CH₂Cl₂ y benceno con ácido *p*-toluensulfónico solamente se llevó a cabo la deshidratación mediante el mecanismo E1 eliminando el hidrógeno del C9 obteniendo el compuesto **29** partiendo de **27** y el compuesto **28** partiendo de **26**. En las reacciones con ácido fórmico en metanol y cloruro de metileno la reacción no procedió.

La reacción en ácido perclórico con MeOH condujo a tres productos **29**, **30** y **31** que obedecen la regla de Zaitsev mediante la deshidratación del alcohol de acuerdo a las eliminaciones de los hidrógenos vecinos. Obteniéndose en la misma reacción los respectivos derivados esterificados.

BIBLIOGRAFÍA

- 1.- Monge A., *Ciencia e investigación* **2003**, 6, 36-39.
- 2.- Gutiérrez R. A., Estévez B. A., *Rev.R.Acad.Cienc.Exact.Fís.Nat. (Esp)* **2009**, 103,409-419.
- 3.- Wilson R. M., Danishefsky S. J., *J. Org. Chem.* **2006**, 71, 8329.
- 4.- Kumar K., Waldmann H. A., *Chem. Int. Ed.* **2009**, 48, 3224.
- 5.- Navarro M. M. C., *Revista de Fitoterapia* **2005**, 5, 41-53.
- 6.- Newman D. J. y Cragg G. M., *J. Nat. Prod.*, **2012**, 75, 311-335.
- 7.- Nogueiras C., Spengler I., Guerra J. O., Ortiz Y., Torres S., García H T., Romeu R. C., Regalado L E., González A T., Perera H W., Lactret R., *Biotecnología Aplicada* **2010**, 27, 314-318.
- 8.- Castañeda G. L., "Síntesis de la espirolabdanólida leopersin D y otros labdanos di, tri y tetraoxigenados en el anillo B"; Tesis de doctorado, Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de Salamanca **2009**.
- 9.- Alcoholes. (s.f.). Recuperado el 04 de Marzo de 2014, de http://cvonline.uaeh.edu.mx/Cursos/BV/C0302/Unidad%204/ALCOHOLES_Intro_nomen.pdf.
- 10.- Morrison y Boyd, *Química Orgánica*, 5ª Edición, Ed. Pearson Addison Wesley, México, **1998**, pág. 622
- 11.- Groutas C. W., *Mecanismos de Reacción en Química Orgánica*, 1ª Edición, Ed. Mc Graw Hill, México, **2007**, pp. 65-8.
- 12.- Hart H., Craine E. L., Hart J. D., Hadad M. C., *Química Orgánica*, 12ª Edición, Ed. Mc Graw Hill, España **2007** pp.217-218.

- 13.-** Carey A. F., Química Orgánica, 6ª Edición, Ed. Mc Graw Hill, México, **2006**, pp. 206-2011.
- 14.-** Dupont D. H., Gokel W. G., Química Orgánica Experimental, 1ª Edición, Ed. Reverté, S.A., España, **2007**, pág. 178
- 15.-** Brown H. W., Introducción a la Química Orgánica, 1ª. Edición en español, Ed. Patria, México, **2007**, pp. 180, 204.
- 16.-** March J., Advanced Organic Chemistry Reactions, Mechanisms and Structure, 2ª Edición, Ed. Mc Graw Hill, United States of America, **2007**, pág. 1559.
- 17.-** Carey A. F., and Sundberg J. R., Advanced Organic Chemistry, Part b: Reactions and synthesis. 6th. Edition, Ed. Plenum publishers, United States of America. **2001**, pp. 602-609.
- 18.-** Harborne J. B., Phytochemical Methods, A Guide To Modern Techniques Of Plant Analysis, 3th Edition, Ed. Chapman & Hall, **1998**, pág. 107.
- 19.-** Gershenzon J., Dudareva N., The function of terpene natural products in the natural world. *Nature Chemical Biology*. **2007**, 3, 408-414.
- 20.-** Ávalos G. A., *Reduca (Biología)*. Serie Fisiología Vegetal. **2009**, 2, 119-145.
- 21.-** Valencia O. C., Fundamentos de Fitoquímica, 1ª Edición, Ed. Trillas,. Pp 190-191.
- 22.-** Roque-Flores. M., "Diterpenos del Género *Eupatorium*", Tesis de Licenciatura, Facultad de Químico Farmacobiología, UMSNH, **2008**.
- 23.-** Torrenegra C R., Robles C J. y Pedrozo P. J., Terpenos y flavonoides de *Ageratina fastigiata* (H.B.K.) King & Robinson, *Revista Colombiana de Química*, **1995**, 24, 9-16.

- 24.-** Yooan, N., Thisoda, P., Rangkadilok N., Sahasitawat S., Pholphana N., Rucheirawat S., Satayavivad J., *Planta Med.* **2007**, 73, 503-511.
- 25.-** Phan Van Kiem, Hoang Le Tuan Anh, Nguyen Xuan Nhiem, Chau Van Minh, Nguyen Thi Kim Thuy, Pham Hai Yen, Dan Thuy Hang, Bui Huu Tai, Vivek Bhakta Mathema, Young-Sang Koh, and Young Ho Kim, *Chem. Pharm. Bull.* **2012**, 60, 246-250.
- 26.-** Monira Ahsan, Mohammad R. Haque, S.K.N. Islam, Alexander I. Gray, Choudhury M. Hasan. *Phytochemistry Letters*, **2012**, 5, 609–612.
- 27.-** Simone Quintana de Oliveira, Maria Tereza Rojo de Almeida, Flora Maraslis Izabella Thai's Silva, Thais Cristine Marques Sincero, Jorge Alejandro Palermo, Gabriela Myriam Cabrera, Miguel Soriano Balparda Caro, Claudia Maria Oliveira Simoes, Eloir Paulo Schenkel. *Phytochemistry Letters* **2012**, 5, 500–505.
- 28.-** Helle Wangensteen, Thi T. Phan, Frode Rise, Trine G. Halvorsen and Karl E. Malterud. *Nat. Prod. Res.*, **2012**, 26, 1348–1354.
- 29.-** Villaseñor J.L. y Ortiz E. *Acta botánica mexicana*, **2012**, 100, 259-291.
- 30.-** Rzedowski, G. C. de, J. Rzedowski. Flora fanerogámica del Valle de México. **2005**, 2a. Edición., 1a reimp., Instituto de Ecología, A.C. y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, Pátzcuaro (Michoacán), pág. 781.
- 31.-** En línea [<http://conabio.inaturalist.org/taxa/64116-Ageratina>] citado 16.03.14.
- 32.-** King M.L., Robinson H. *Phytologia*, **1978**, 38, 323-355.
- 33.-** Álvarez-Esquivel F. E., “Tratamiento ácido de derivados del género *Eupatorium*”, Tesis de Licenciatura, Facultad de Químico Farmacobiología de la UMSNH, **2010**.

- 34.-** García-Sánchez E., Ramírez-López C. B., Talavera-Alemán A., León-Hernández A., Martínez-Muñoz Rosa E., Martínez-Pacheco M.M., Gómez-Hurtado M. A., Cerda-García-Rojas Carlos M., Joseph-Nathan P., del Río R.E. *J. Nat. Prod.*, **2014**, 77, 1005–1012.
- 35.-** Castro, J.M.; Salido, S.; Altarejos, J.; Nogueras, M.; Sánchez, A. Synthesis of Ambrox[®] from labdanolic acid. *Tetrahedron* **2002**, 58, 5941-5949.
- 36.-** Hussain, A.; Perveen, S.; Malik, A.; Khan, A. N.; Tareen, R. B. *Helv. Chim. Acta*, **2010**, 93, 1101–1104.
- 37.-** Karin Bjamer, George Ferguson and R. D. Melville, *Acta Cryst.* **1968**. B24, 855
- 38.-** J. D. Cocker, T. G. Halsall y A. Bowers. The chemistry of gum labdanum. *J. am. Chem. Soc.* **1956**, 4259-4270.
- 39.-** J. De Pascual Teresa, J. G. Urones, I. S. Marcos, L. Núñez y P. Basabe. *Phytochemistry*, **1983**, 22, 2805-2808.
- 40.-** Amaro Manuel y Adrián Maricela, *Rev. Latinoamer. Quím.* **1982**, 13, 110-113
- 41.-** Ramírez Martha B., Tellez Alba N., Torrenegra Rubén D. *Rev. Latinoamer. Quím.* **2000**, 28, 119-121
- 42.-** Pinto C. A., Braga F., Waldenir-Rezende M. C., Garrido M. S., Veiga Jr. F., Valdir-Bergter L., Patitucci M. L. y Antunez A. C. O., *J. Braz. Chem. Soc.* **2000**, 11, 355-360.
- 43.-** De Pascual-T J., Bellido I. S., Basabe P., Marcos I. S., Ruano L. F. y Urones J. G., *Phytochemistry*, **1982**, 21, 899-901.