



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE
SAN NICOLÁS DE HIDALGO



FACULTAD DE QUÍMICO FARMACOBIOLOGÍA

TESIS

**SÍNTESIS DE AMIDAS Y CARBONATOS DE *ENT*-LABDANOS
EMPLEANDO ONDAS ULTRASÓNICAS**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO FARMACOBIOLOGO

PRESENTA

FRANCISCO JUÁREZ CARRILLO

DIRECTOR

D. C. HUGO ALEJANDRO GARCÍA GUTIÉRREZ

CO-DIRECTORA

D. C. ROSA ELVA NORMA DEL RÍO TORRES

Morelia, Michoacán, diciembre 2019.

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

AGRADECIMIENTOS

Parte del presente trabajo se desarrolló y presentó en los siguientes eventos académicos:

- **Juárez-Carrillo, Francisco.** Preparación de una amida empleando la activación del grupo carboxilo del ácido 2α -hidroxieperuico. Estancia de Investigación realizada en el marco de las actividades del XXIII Verano de la Investigación Científica y Tecnológica del Pacífico, en el Instituto de Investigaciones Químico Biológicas de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Morelia, Michoacán del 18 junio al 03 de agosto de 2018.
- **Juárez-Carrillo, Francisco.** Obtención de la 2α -acetoxi-*N*-(piridin-2-il)eperuamida empleando 2-aminopiridina. Presentación realizada en el marco de las actividades del 7° Verano Nicolaita de la Investigación, en la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Morelia, Michoacán del 25 junio al 12 de agosto de 2018.
- **Juárez-Carrillo, Francisco.** Activación del grupo carboxilo del ácido 2α -hidroxieperuico para la obtención de nuevos derivados. Estancia de Investigación realizada en el marco de las actividades del XXIV Verano de la Investigación Científica y Tecnológica del Pacífico, en el Instituto de Investigaciones Químico Biológicas de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Morelia, Michoacán del 17 junio al 02 de agosto de 2019.
- **Juárez-Carrillo, Francisco.** Obtención de nuevos derivados amídicos del ácido 2α -hidroxieperuico empleando ultrasonido. Presentado en el XXII Concurso de Carteles “Tópicos Selectos de Química”, efectuado con motivo del Día del Químico en la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Morelia, Michoacán el 29 de Noviembre de 2018. Obteniendo el 1er lugar en la Categoría Investigación.

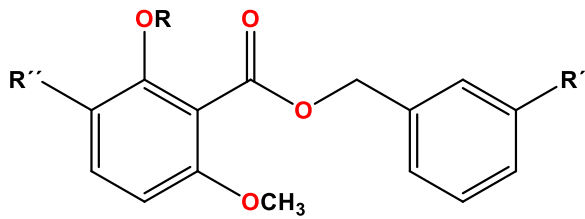
ÍNDICE

I.	ÍNDICE DE ESTRUCTURAS.	ix
II.	ÍNDICE DE FIGURAS.	xi
III.	ÍNDICE DE TABLAS.	xiii
IV.	SÍMBOLOS, ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS.	xiv
V.	RESUMEN.	xvi
VI.	ABSTRACT.	xvii
1.	INTRODUCCIÓN.	1
2.	ANTECEDENTES.	6
2.1	Compuestos fenólicos.	9
2.2	Glicósidos.	10
2.3	Alcaloides.	11
2.4	Terpenos.	11
2.5	Diterpenos.	13
2.5.1	Actividad Farmacológica de diterpenos.	15
2.6	Familia Asteraceae.	17
2.6.1	Género <i>Ageratina</i> .	17
2.6.2	<i>Ageratina petiolaris</i> .	17
2.6.3	Ácido 2 α -hidroxieperuico.	20
2.7	Ácidos carboxílicos y derivados.	20
2.8	Activadores del grupo carboxilo.	21
2.8.1	Formación de cloruros de ácido.	22
2.8.1.1	Anhídridos de ácido	23
2.8.2	Formación de ésteres.	23

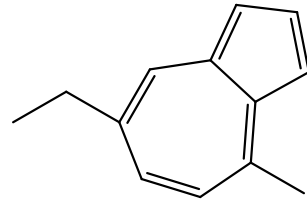
2.8.2.1	Esterificación de Fisher.	23
2.8.2.2	Esterificación por reacción de un anhídrido de ácido con un alcohol.	24
2.8.2.3	Esterificación por reacción de un anión carboxilato con un halogenuro de alquilo.	24
2.8.3	Reacción de ácidos carboxílicos con diazometano.	25
2.8.4	Formación de amidas.	25
2.9	Métodos de Química Computacional.	26
2.9.1	Modelado molecular.	26
2.9.2	Protocolo Monte Carlo.	26
2.9.3	Mecánica molecular.	27
2.9.4	Teoría de Funcionales de la Densidad.	27
3.	JUSTIFICACIÓN.	28
4.	OBJETIVO.	29
4.1	Objetivo general.	29
4.2	Objetivos específicos.	29
5.	DISCUSIÓN DE RESULTADOS.	30
5.1	Obtención del ácido 2 α -hidroxieperuico (7).	30
5.2	Esterificación del ácido 7 para obtener el ácido 2 α -acetoxieperuico (8).	34
5.3	Preparación de la 2 α -acetoxi- <i>N</i> -(piridin-2-il)eperuamida (9).	37
5.4	Preparación de la 2 α -hidroxi- <i>N</i> -(piridin-2-il)eperuamida (10).	44
5.5	Preparación del carbonato a partir del 2 α -hidroxi- <i>N</i> -(piridin-2-il)eperuamida (11) e intermediario acil-imidazol (12).	51
5.6	Preparación del 2 α -hidroxi-15-eperuato de 3-hidroxi-5-metilfenilo (13).	56
5.7	Preparación del 2 α -acetoxi-15-eperuato de 3-hidroxi-5-metilfenilo (14).	62

6.	CONCLUSIONES.	68
7.	PARTE EXPERIMENTAL.	69
7.1	Generalidades.	69
7.2	Colecta de la especie vegetal.	69
7.3	Obtención del extracto hexánico de flor de <i>Ageratina petiolaris</i> .	70
7.4	Modelado molecular de los ácidos y sus derivados.	70
7.5	Obtención del ácido 2 α -hidroxieperuico (7).	70
7.6	Esterificación del ácido 7 para obtener el ácido 2 α -acetoxieperuico (8).	71
7.7	Preparación de la amida 2 α -acetoxi- <i>N</i> -(piridin-2-il)eperuamida (9).	73
7.8	Preparación de la amida 2 α -hidroxi- <i>N</i> -(piridin-2-il)eperuamida (10).	74
7.9	Preparación del carbonato a partir del 2 α -hidroxi- <i>N</i> -(piridin-2-il)eperuamida (11) e intermediario acilimidazol (12).	75
7.10	Preparación del 2 α -hidroxi-15-eperuato de 3-hidroxi-5-metilfenilo (13).	78
7.11	Preparación del 2 α -acetoxi-15-eperuato de 3-hidroxi-5-metilfenilo (14).	79
8.	BIBLIOGRAFÍA	81
9.	ANEXOS	84

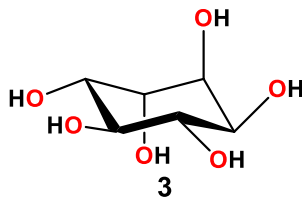
I. ÍNDICE DE ESTRUCTURAS



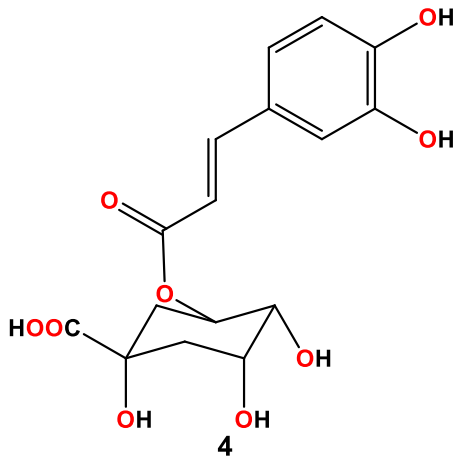
- 1a** R=H R'=H R''=H
1b R=CH₃ R'=H R''=H
1c R=CH₃ R'=OCH₃ R''=H
1d R=CH₃ R'=H R''=OCH₃



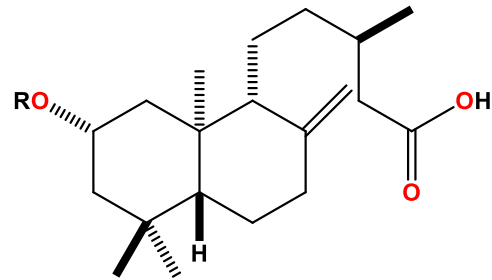
2



3

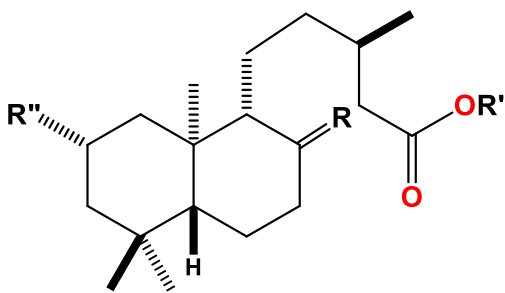


4

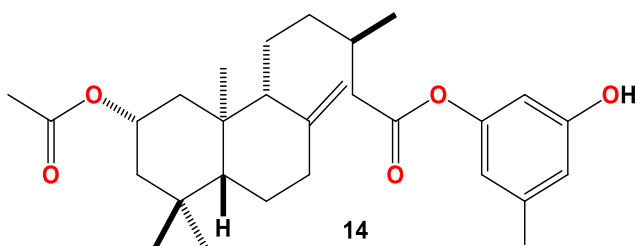
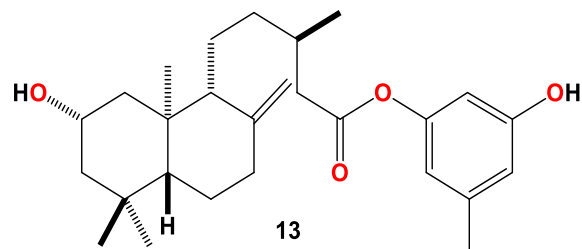
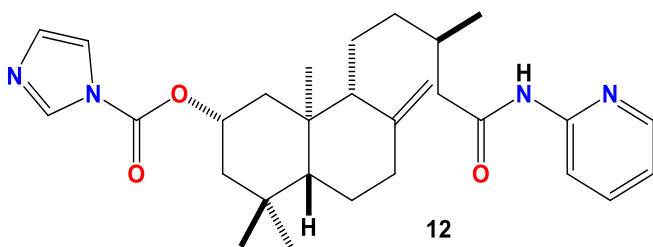
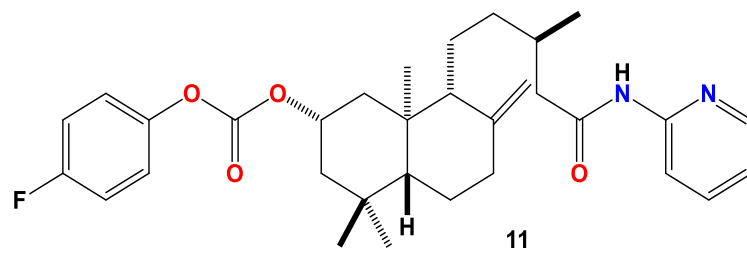
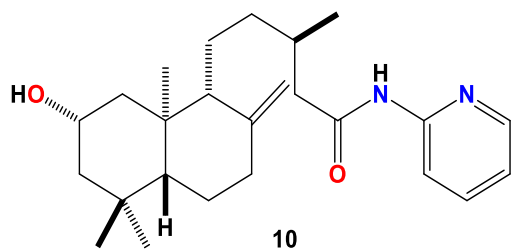
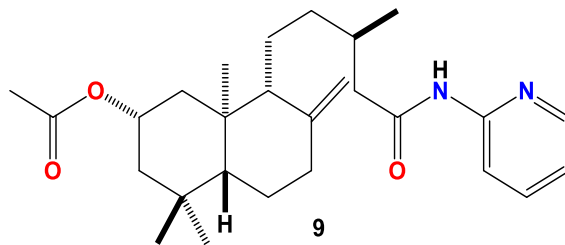
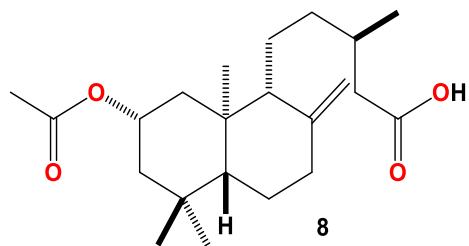


5 R= *-iso-valeroil*

6 R= *-tigloil*



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



II. ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Papiro de Ebers.	1
Figura 2.	Códice de la Cruz y Badiano.	2
Figura 3.	Drogas disponibles en el mercado.	4
Figura 4.	<i>Taxus brevifolia</i> (Taxaceae).	5
Figura 5.	Principales rutas de biosíntesis de metabolitos secundarios y sus interacciones con el metabolismo primario.	8
Figura 6.	Fenol.	9
Figura 7.	Ruta del ácido Shikímico.	10
Figura 8.	Glicósido.	11
Figura 9.	<i>Amanita muscaria</i> (muscarina).	11
Figura 10.	Esqueletos de diterpenos.	14
Figura 11.	Esqueleto base de diterpeno tipo labdano.	14
Figura 12.	Estructura del paclitaxel.	15
Figura 13.	Estructuras de compuestos con propiedad farmacológica.	16
Figura 14.	Diterpenos aislados de <i>E. singularis</i> .	16
Figura 15.	Floración de <i>Ageratina petiolaris</i> .	18
Figura 16.	Composición fitoquímica obtenida de <i>A. petiolaris</i> .	19
Figura 17.	Derivados del ácido 2 α -iso-valeroxieperuico (5).	19
Figura 18.	Ácido 2 α -hidroxieperuico (7).	20
Figura 19.	Activadores del grupo carboxilo.	22
Figura 20.	Formación de cloruros de ácido.	23
Figura 21.	Reacción de anhídridos con piridina.	23
Figura 22.	Reacción de Fisher.	24
Figura 23.	Reacción de alcoholes con cloruros de acilo.	24
Figura 24.	Reacción anión carboxilato con un halogenuro de alquilo.	24
Figura 25.	Reacción ácidos carboxílicos con diazometano.	25
Figura 26.	Reacciones para la obtención de amidas.	26
Figura 27.	Obtención del ácido 2 α -hidroxieperuico. A) <i>Ageratina petiolaris</i> en su habitat; B) Flores secas; C) Maceración en hexano; D) Concentración de extracto; E) Hidrólisis alcalina; F) Cromatografía en columna; G) Cristales del ácido 2 α -hidroxieperuico; H) Identificación del compuesto mediante RMN.	30

Figura 28.	Cristales del ácido 2 α -hidroxieperuico (7).	31
Figura 29.	Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) del ácido 2 α -hidroxieperuico (7) en CDCl_3 .	32
Figura 30.	Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) del ácido 2 α -hidroxieperuico (7) en CDCl_3 .	33
Figura 31.	Miel del ácido 2 α -acetoxieperuico (8).	34
Figura 32.	Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) del ácido 2 α -acetoxieperuico (8) en CDCl_3 .	35
Figura 33.	Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) del ácido 2 α -acetoxieperuico (8) en CDCl_3 .	36
Figura 34.	Miel de la 2 α -acetoxi- <i>N</i> -(piridin-2-il)eperuamida (9).	38
Figura 35.	Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) del 2 α -acetoxi- <i>N</i> -(piridin-2-il)eperuamida (9) en CDCl_3 .	39
Figura 36.	Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) del 2 α -acetoxi- <i>N</i> -(piridin-2-il)eperuamida (9) en CDCl_3 .	40
Figura 37.	Ampliación del espectro HMBC de la amida 9 en CDCl_3 .	41
Figura 38.	Ampliación del espectro HSQC de la amida 9 en CDCl_3 .	42
Figura 39.	Mínimo global del 2 α -acetoxi- <i>N</i> -(piridin-2-il)eperuamida (9).	43
Figura 40.	Miel de la 2 α -hidroxi- <i>N</i> -(piridin-2-il)eperuamida (10).	45
Figura 41.	Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) del 2 α -hidroxi- <i>N</i> -(piridin-2-il)eperuamida (10) en CDCl_3 .	46
Figura 42.	Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) del 2 α -hidroxi- <i>N</i> -(piridin-2-il)eperuamida (10) en CDCl_3 .	47
Figura 43.	Ampliación del espectro HMBC de la amida 10 en CDCl_3 .	48
Figura 44.	Ampliación del espectro HETCOR de la amida 10 en CDCl_3 .	49
Figura 45.	Mínimo global del 2 α -hidroxi- <i>N</i> -(piridin-2-il)eperuamida (10).	50
Figura 46.	Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) del carbonato 11 en CDCl_3 .	52
Figura 47.	Mínimo global del carbonato 11 .	53
Figura 48.	Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) del acil-imidazol 12 en CDCl_3 .	54
Figura 49.	Mínimo global del acil-imidazol 12 .	55
Figura 50.	Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) del 2 α -hidroxi-15-eperuato de 3-hidroxi-5-metilfenilo (13) en CDCl_3 .	58
Figura 51.	Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) del 2 α -hidroxi-15-eperuato de 3-hidroxi-5-metilfenilo (13) en CDCl_3 .	59

Figura 52.	Ampliación del espectro HETCOR de 2 α -hidroxi-15-eperuato de 3-hidroxi-5-metilfenilo (13) en CDCl ₃ .	60
Figura 53.	Mínimo global del compuesto 2 α -hidroxi-15-eperuato de 3-hidroxi-5-metilfenilo (13).	61
Figura 54.	Espectro de RMN de ¹ H (400 MHz) del 2 α -acetoxi-15-eperuato de 3-hidroxi-5-metilfenilo (14) en CDCl ₃ .	64
Figura 55.	Espectro de RMN de ¹³ C (100 MHz) del 2 α -acetoxi-15-eperuato de 3-hidroxi-5-metilfenilo (14) en CDCl ₃ .	65
Figura 56.	Ampliación del espectro HETCOR del 2 α -acetoxi-15-eperuato de 3-hidroxi-5-metilfenilo (14) en CDCl ₃ .	66
Figura 57.	Mínimo global del compuesto 2 α -acetoxi-15-eperuato de 3-hidroxi-5-metilfenilo (14).	67

III. INDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Clasificación de terpenos.	13
Tabla 2.	Ácidos carboxílicos y derivados.	21
Tabla 3.	Parámetros termoquímicos de los confórmeros de 9 .	83
Tabla 4.	Parámetros termoquímicos de los confórmeros de 10 .	84
Tabla 5.	Parámetros termoquímicos de los confórmeros de 11 .	85
Tabla 6.	Parámetros termoquímicos de los confórmeros de 12 .	87
Tabla 7.	Parámetros termoquímicos de los confórmeros de 13 .	88
Tabla 8.	Parámetros termoquímicos de los confórmeros de 14 .	89

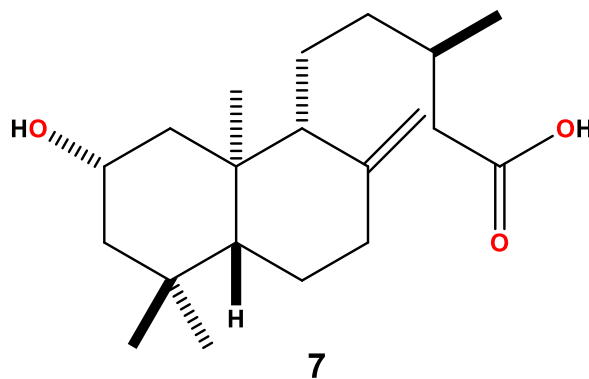
IV. SÍMBOLOS, ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

°C	Grados Celsius
Ác	Ácido
AcOEt	Acetato de etilo
CDCl ₃	Cloroformo deuterado
DMAPP	Dimetil difosfato
FPP	Farnesil difosfato
DC	Dicroísmo circular
CDI	1,1'-carbonildiimidazol
CH ₂ Cl ₂	Cloruro de metileno
CHCl ₃	Cloroformo
Cm	Centímetros
COSY	Resonancia magnética de correlación homonuclear
DCC	1,1'-diciclohexilcarbodiimida
DEPT	Resonancia magnética nuclear de carbono trece con mejora sin distorsión de polarización
DFT	Teoría de Funcionales de la Densidad
G	Gramo
GGPP	Geranil geranil difosfato
GPP	Geranil difosfato
H	Hora
HETCOR	Resonancia magnética nuclear de correlación heteronuclear
HMBC	Resonancia magnética nuclear de coherencia heteronuclear a múltiples enlaces
HSQC	Resonancia magnética nuclear de coherencia heteronuclear cuántica simple
Hz	Hertz
IR	Infrarrojo
IPP	Isopentil difosfato

<i>J</i>	Constante de acoplamiento
Kcal	Kilocaloría
Kg	Kilogramos
L	Litro
MC	Monte Carlo
MeOH	Metanol
Mg	Miligramo
MHz	Megahertz
ml	Mililitros
MMFF	Campo de Fuerza Molecular Merck en Mecánica molecular
MS	Espectrometría de masas
Msnm	Metros sobre el nivel del mar
N ₂	Nitrógeno
NOESY	Espectroscopia de mejoramiento nuclear de Overhauser
p.f.	Punto de fusión
Ppm	Partes por millón
RMN	Resonancia magnética nuclear
T	Temperatura
THF	Tetrahidrofurano
UV	Ultravioleta
ν_{\max}	Frecuencia Máxima
Δ	Desplazamiento químico

V. RESUMEN

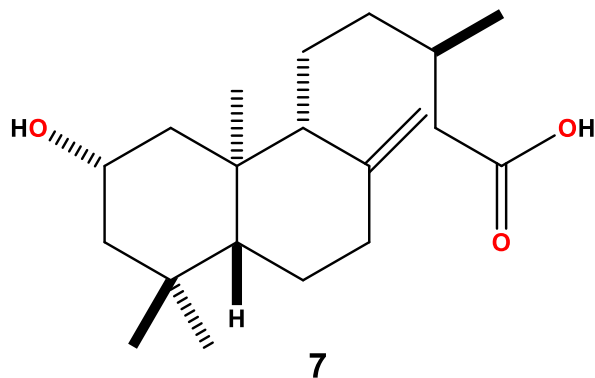
El ácido 2 α -hidroxieperuico (**7**) es un diterpeno tipo *ent*-labdano obtenido a partir de la hidrólisis alcalina del extracto hexánico de flores de *Ageratina petiolaris*. El ácido **7** posee dentro de su estructura grupos funcionales de los cuales destacan el hidroxilo y el carboxilo en las posiciones C-2 y C-15 respectivamente, ambos sustituyentes permiten la preparación de derivados de interés farmacológico. Para la obtención del derivado **8** se sometió a **7** a una reacción de acetilación con anhídrido acético en piridina, esto en baño de vapor, para posteriormente llevar a cabo la formación del enlace tipo amida empleando como agente acoplante 1,1'-carbonildiimidazol (CDI) acompañado de 2-aminopiridina, empleando la técnica de ondas ultrasónicas a temperatura ambiente para obtener el derivado **9**, el cual se sometió a una hidrólisis alcalina con hidróxido de potasio en metanol a reflujo para así obtener el derivado **10**. El derivado **10** se sometió a tratamiento con CDI en reacción con ondas ultrasónicas y posterior a ello se le agregó el 4-fluorofenol para obtener los compuestos **11** y **12**. Para la obtención de los derivados **13**, **14** se trató al compuesto **7** con orcinol en presencia de CDI. Así mismo se construyeron los modelos moleculares, buscando las estructuras de mínima energía mediante Mecánica Molecular aplicando el método de Monte Carlo y la optimización mediante Teoría de Funcionales de la Densidad a nivel de cálculo B3LYP/DGDZVP de los compuestos obtenidos.



Palabras clave: *Ageratina petiolaris*, diterpeno, CDI, derivado, modelado molecular.

VI. ABSTRACT

2 α -hydroxyeperuic acid (**7**) is an *ent*-labdane diterpene obtained from alkaline hydrolysis from flowers hexane extract of *Ageratina petiolaris*. The compound **7** within its structure possess functional groups of which stand out the hydroxyl group and carbonyl group at C-2 and C-15 positions. Both substituents allow the preparation of derivatives with pharmacological interest. To obtain the product **8**, compound **7** was treated under acetylation conditions with acetic anhydride in pyridine under steam bath. Subsequently the formation of the amine type bond was carried out using as coupling agent 1,1-carbonildiimidazol (CDI) accompanied by an amide such as 2-aminopiridine using the technique of ultrasonic waves at room temperature to obtain the derivate **9**. The derivate **9** was treated with potassium hydroxide in methanol at reflux to obtain the derivative **10**. The latter was treated with CDI and 4-fluorophenol with ultrasonic waves to obtain the derivatives **11** and **12**. Compound **7** was treated with orcinol for the production of derivates **13** and **14** in the presence of CDI. Molecular models were built to search the lowest-energy structures using molecular mechanics applying the Monte Carlo method and the optimization by Density Functional Theory at the B3LYP/DGDZVP at level of theory of the obtained compounds.



Keywords: *Ageratina petiolaris*, diterpene, CDI, derivative, molecular modeling.

1. INTRODUCCIÓN

Los productos naturales provenientes de plantas, animales y minerales, han sido la base del tratamiento de enfermedades humanas. Sin embargo, la sabiduría antigua ha sido la base de la medicina moderna y seguirá siendo una fuente importante de medicina y terapéutica futuras. Las plantas constituyen una fuente valiosa de medicamentos potenciales para toda la humanidad. Se sabe que muchas de estas plantas contienen potentes compuestos biológicamente activos y al menos el 25% de los medicamentos utilizados actualmente en la medicina moderna se derivan de las plantas.^{1,2}

Las plantas medicinales y aromáticas han sido estudiadas por la medicina tradicional practicada desde la antigüedad a través de errores y aciertos, estos conocimientos se han obtenido por la experiencia, práctica y observación, además de ser transmitidos a través de generaciones. Desde la antigüedad el aprovechamiento del hombre sobre las plantas medicinales ha quedado plasmado en numerosos testimonios escritos pertenecientes a distintas civilizaciones y culturas.³

El papiro de Ebers (Figura 1), escrito hace unos 3500 años, describe enfermedades e indicaciones para solucionarlas mediante el empleo de especies vegetales.



Figura 1. Papiro de Ebers.

El Códice de la Cruz y Badiano (Figura 2) escrito en 1552 por el indígena Xochimilca Martín de la Cruz y traducido del náhuatl al latín por Juan Badiano en México, contiene el tesoro herbolario de los antiguos mexicanos.



Figura 2. Códice de la Cruz y Badiano.

Los objetivos del uso de plantas como fuentes de agentes terapéuticos son; I) aislar compuestos biológicamente activos para uso directo como fármacos; II) producir compuestos biológicamente activos de estructuras nuevas o conocidas de mayor actividad y/o menor toxicidad; III) usar agentes como herramientas farmacológicas; y IV) usar toda la planta o parte de ella como remedios de hierbas.¹

En el siglo XIX se practicaron los primeros análisis químicos de esencias y otros principios activos de los vegetales, con la aplicación del microscopio y la Química Analítica nace la Farmacoquímica y en 1811 se aísla la morfina a partir del opio.

Los productos naturales y sus derivados han sido reconocidos durante muchos años como una fuente de agentes terapéuticos y diversidad estructural. Tienen una amplia gama de diversidad de estructuras químicas multidimensionales. Mientras tanto, la utilidad de los productos naturales como modificadores de la función biológica también ha ganado

considerable atención.⁴ El descubrimiento de fármacos se está convirtiendo en una tarea científica desafiante para encontrar candidatos líderes robustos y viables, que no es más que el proceso que fluye desde un análisis de producto natural a un nuevo aislamiento que requiere experiencia y conocimiento. Sin embargo, además de su diversidad de estructura química y su biodiversidad, el desarrollo de nuevas tecnologías ha revolucionado la detección de productos naturales en el descubrimiento de nuevos fármacos.⁵ La aplicación de estas tecnologías ofrece una oportunidad única para restablecer productos naturales como una fuente importante para el descubrimiento de fármacos.

Se ha estimado que existen casi 75,000 especies de plantas superiores en la tierra, y solo el 10% se ha utilizado en medicina tradicional. Solo del 1 al 5% se han estudiado científicamente y se sabe que tienen valor terapéutico.⁶

En todo el mundo, la medicina herbal se basa en la medicina tradicional. Según la encuesta oral realizada en muchas regiones del mundo, se ha dicho que las medicinas tradicionales tienen su propia importancia y filosofía básica. Por lo tanto, la exploración de los componentes químicos de las plantas y su detección farmacológica pueden proporcionarnos la base para desarrollar una cura a través del descubrimiento de medicamentos a base de hierbas.

Aunque el valor terapéutico de los productos naturales es evidente, el uso de estos compuestos estructuralmente complejos presenta una serie de desafíos. A menudo es difícil acceder a cantidades suficientes de un producto natural. Por lo tanto, la caracterización completa de las propiedades biológicas y químicas de los compuestos puede ser problemática. Sin embargo, el éxito de los productos naturales en el desarrollo de agentes terapéuticos, ha atraído la atención de los investigadores. En consecuencia, muchas estrategias para identificar un número creciente de productos naturales han sido reportadas. Además, las técnicas de biosíntesis y semisíntesis juegan un papel crítico en la provisión de un suministro adecuado de muchos productos naturales.³

Más del 40% de los fármacos actuales, y aún más de los agentes contra el cáncer, pueden rastrear sus orígenes o principios de diseño sintético en el descubrimiento de un producto natural.^{3,8}

Algunos fármacos que están disponibles en el mercado se descubrieron en fuentes naturales. Un ejemplo importante es la actividad analgésica del ácido acetilsalicílico (Figura 3), que es hasta ahora el agente medicinal más conocido y utilizado a nivel mundial. Su origen es de los géneros de plantas *Salix* spp. y *Populus* spp. y está relacionado con la salicina, un glucósido β -alcohólico. Otro es el descubrimiento fortuito en el laboratorio del antibiótico penicilina (Figura 3) a partir del hongo *Penicillium notatum*.³

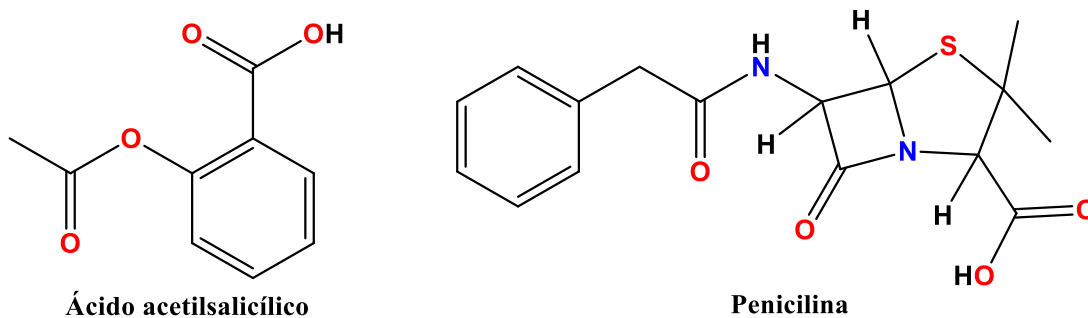


Figura 3. Fármacos disponibles en el mercado.

Algunos otros ejemplos muestran el valor y la importancia de los productos naturales de plantas y microorganismos en los días modernos. El Paclitaxel (Taxol®), aislado de la corteza del tejo del Pacífico *Taxus brevifolia* (Taxaceae, Figura 4), es el ejemplo más reciente de un producto natural importante que ha tenido un impacto en medicina. Otros ejemplos de actividad contra una variedad de retrovirus, incluido el VIH, son dos compuestos aislados de *Hypericum perforatum* (Guttiferae), la hipericina y pseudohipericina. En cuanto a las plantas medicinales que tienen buenas propiedades terapéuticas, estas son valiosas para el sistema moderno de descubrimiento de medicamentos a base de productos naturales.³



Figura 4. *Taxus brevifolia* (Taxaceae).

Durante el desarrollo de la Química Orgánica, algunos premios Nobel, han sido otorgados gracias a los productos naturales, es decir, en base a su estudio dentro del análisis conformacional, la evolución de dicroísmo circular (CD), la resonancia magnética nuclear (RMN), la espectrometría de masa (MS), "el arte de la síntesis orgánica", y por supuesto, los marcos lógicos para la síntesis total de productos naturales de alta complejidad molecular.^{7,8}

2. ANTECEDENTES

Históricamente, los productos naturales han sido impulsores en la evolución de la química orgánica; “Motores de su desarrollo y como enlaces al dominio de la biología”.⁸ La importancia central de los productos naturales en la química orgánica puede verse en el desarrollo de metodología sintética, refinamientos de la teoría de orbitales moleculares frontera, bioquímica y metabolismo secundario, avances asombrosos en el desarrollo de fármacos y, más recientemente, avances en biología química. Más del 40% de los medicamentos recetados actualmente, y aún más de los agentes anticancerígenos, pueden rastrear sus orígenes o principios de diseño sintético subyacentes hasta el descubrimiento de un producto natural.⁸

Todos los organismos transforman y utilizan varios compuestos orgánicos que les permiten sobrevivir, crecer y reproducirse, ya que estas sustancias los proveen de energía en forma de ATP y nutrientes. Algunas moléculas son de crucial importancia en la vida como lo son los carbohidratos, proteínas, ácidos grasos y ácidos nucleicos. Los organismos varían ampliamente en su capacidad de síntesis y transformación química.

El metabolismo es el conjunto de reacciones químicas que realizan las células de los seres vivos para sintetizar sustancias complejas a partir de otras más simples, o para degradar las complejas y obtener las simples.

La ruta metabólica de las plantas es mucho más amplia que en otros organismos. Aparte de la producción de metabolitos primarios las plantas sintetizan una gran cantidad y diversidad de compuestos orgánicos que no parecen tener una función directa en el crecimiento y desarrollo. Estas sustancias se conocen con el nombre de metabolitos secundarios, productos secundarios o productos naturales que se derivan del metabolismo central o primario (Figura 5).^{9,10}

Las plantas, organismos autótrofos, además del metabolismo primario presente en todos los seres vivos, poseen un metabolismo secundario que les permite producir y acumular compuestos de naturaleza química diversa. Estos compuestos derivados del metabolismo secundario se denominan metabolitos secundarios, se distribuyen

diferencialmente entre grupos taxonómicos, presentan propiedades biológicas, muchos desempeñan funciones ecológicas y se caracterizan por sus diferentes usos y aplicaciones como medicamentos, insecticidas, herbicidas, perfumes o colorantes, entre otros.

Los metabolitos secundarios juegan un papel clave en la adecuación de las plantas a medida que funcionan en la protección contra las infecciones microbianas y virales, la radiación UV, la atracción de los polinizadores y frugívoros, y la alelopatía. A diferencia de los metabolitos primarios, los metabolitos secundarios tienen una distribución restringida en el reino vegetal, es decir se encuentran con frecuencia en una sola especie vegetal o grupo taxonómico delimitado.^{11,12}

Los metabolitos secundarios producidos por las plantas son de gran interés debido a su enorme diversidad estructural y funcional y se pueden dividir en tres grupos químicamente diferentes (Figura 5): terpenos: formados principalmente por la vía del mevalonato, fenoles: la mayoría formados por la vía del shikimato y/o la vía de los acetatos, y compuestos que contienen nitrógeno: principalmente los alcaloides, formados por la vía de los aminoácidos.^{9,11-13}

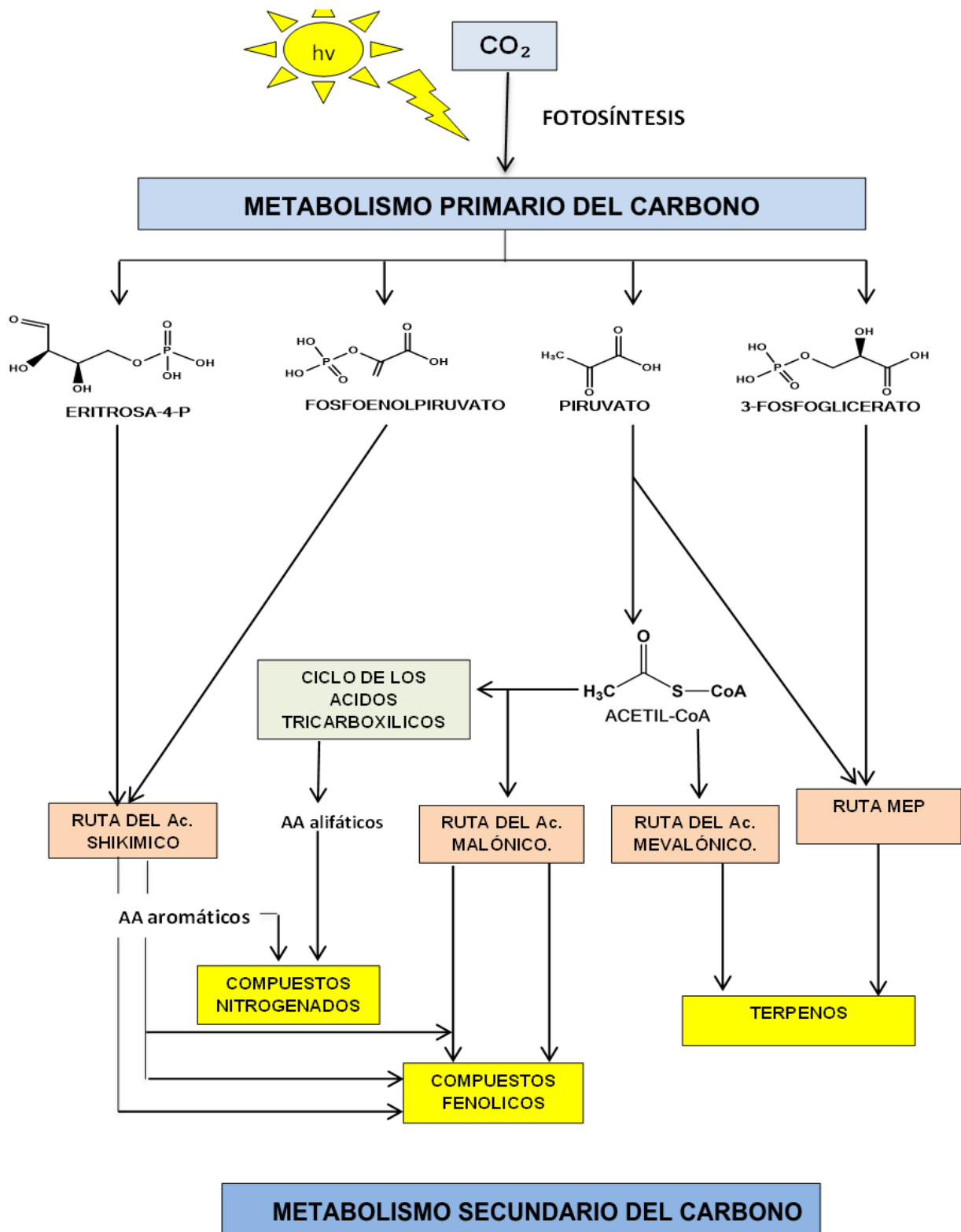


Figura 5. Principales rutas de biosíntesis de metabolitos secundarios y sus interacciones con el metabolismo primario.

2.1. Compuestos fenólicos

Las plantas sintetizan una gran variedad de productos secundarios que contienen un grupo fenol. Estas sustancias reciben el nombre de compuestos fenólicos, polifenoles o fenilpropanoides y derivan todas ellas del fenol, un anillo aromático con un grupo hidroxilo. Los compuestos fenólicos se encuentran comúnmente conjugados con azúcares o ácidos orgánicos.¹⁴

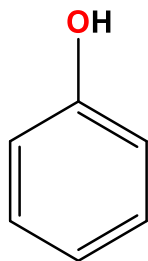


Figura 6. Estructura del fenol.

Existen dos rutas básicas implicadas en la biosíntesis de compuestos fenólicos: La ruta del ácido malónico, es una fuente importante de fenoles en hongos y bacterias, pero es poco empleada en plantas superiores.¹⁴

La ruta del ácido shikímico es responsable de la biosíntesis de la mayoría de los compuestos fenólicos de plantas. A partir de eritrosa-4-P y de ácido fosfoenolpirúvico se inicia una secuencia de reacciones que conduce a la síntesis de ácido shikímico y, aminoácidos (fenilalanina, triptófano y tirosina). Entre los que se encuentran: cumarinas, flavonoides, lignina y taninos.¹⁴

RUTA DEL ÁCIDO SHIKIMICO

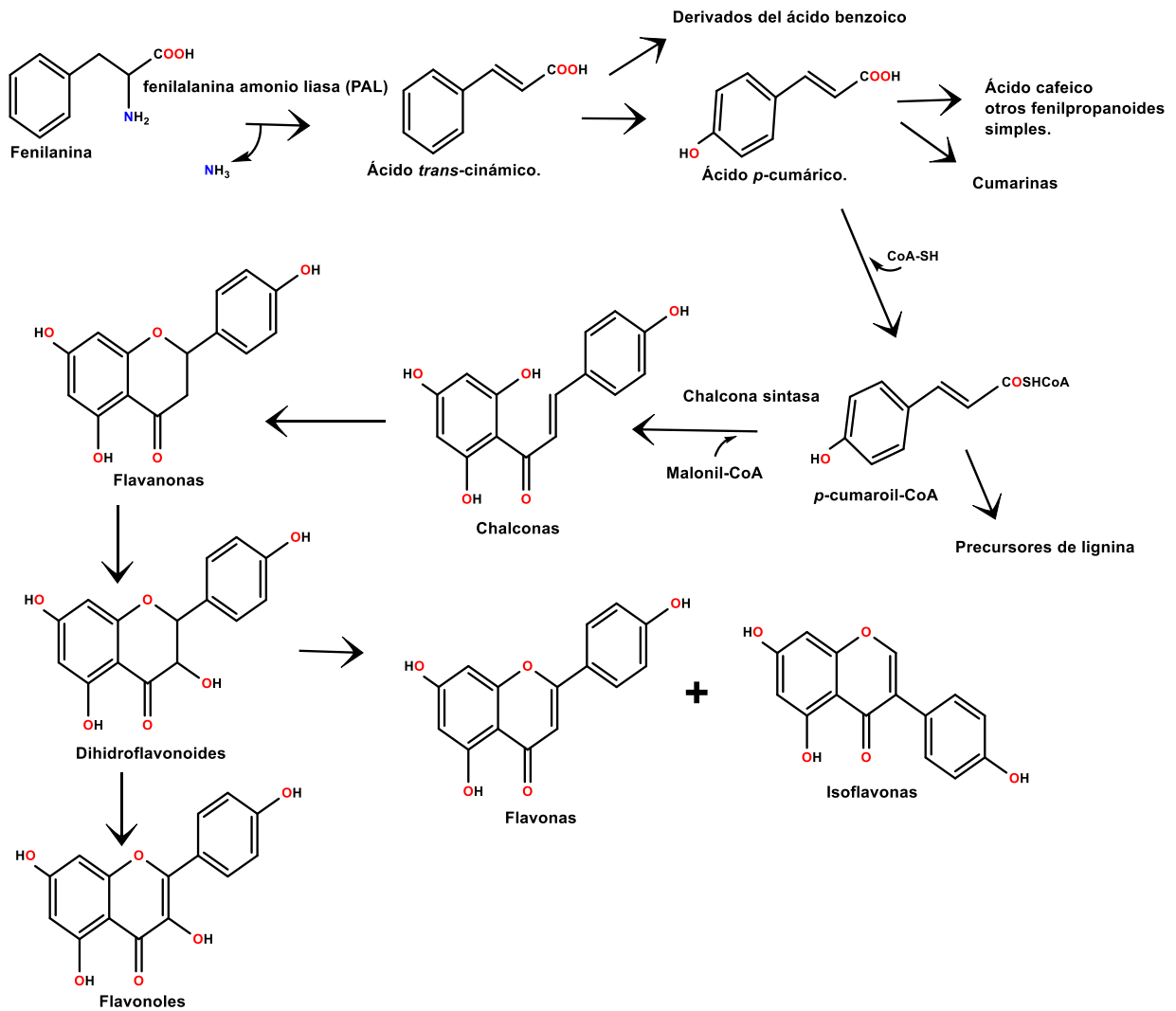


Figura 7. Ruta del ácido Shikímico.

2.2. Glicósidos

Los glicósidos son compuestos que resultan de la combinación del grupo reductor de un azúcar con una sustancia de naturaleza distinta, con eliminación de una molécula de agua. Su nombre hace referencia al enlace glicosídico que se forma cuando una molécula de azúcar se condensa con otra que contiene un grupo hidroxilo. Entre los que se encuentran: saponinas, glicósidos cardiacos, glicósidos cianogénicos y

glucosinolatos. Por su unión existen O-Glicósidos, S-Glicósidos, N-Glicósidos, C-Glicósidos.¹⁵

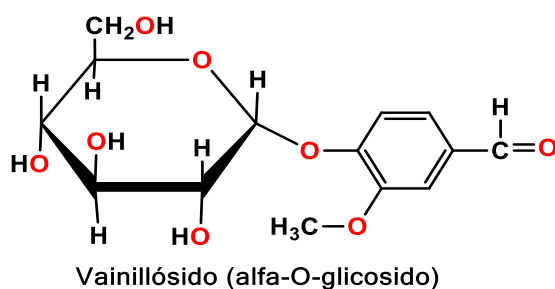


Figura 8. Glicósido.

2.3. Alcaloides

La toxicidad de ciertas plantas, hongos y animales ha sido conocida por el ser humano desde tiempos remotos, aunque no se supiera asociar esa toxicidad con determinados compuestos como son los alcaloides. Se sintetizan a partir de aminoácidos normalmente a partir de lisina, tirosina y triptófano, aunque algunos como la nicotina y compuestos relacionados derivan de la ornitina.¹³ La muscarina es un alcaloide tóxico aislado de la *Amanita muscaria* (Figura 9).

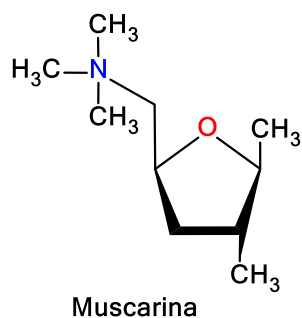


Figura 9. *Amanita muscaria* (muscarina).

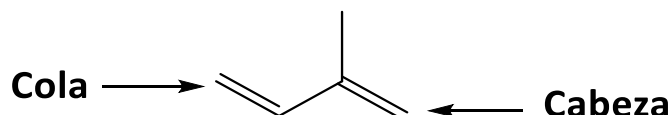
2.4. Terpenos

Los terpenos constituyen una gran familia de fitoconstituyentes de poca base común funcional y estructural. Los esteroides, los carotenoides y el ácido giberélico son solo

algunos de sus miembros. Están compuestos por el grupo más importante de compuestos activos en plantas con más de 55,000 estructuras conocidas. Son derivados poliméricos de isopreno y sintetizados a partir de acetato a través de la vía del ácido mevalónico. El número de unidades incorporadas en un terpeno particular sirve como base para su clasificación. Muchos de ellos tienen actividad farmacológica y se usan para el tratamiento de enfermedades tanto en humanos como en animales.¹⁶

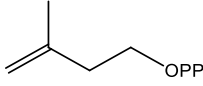
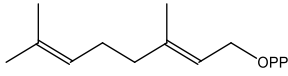
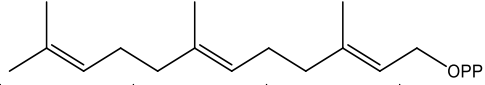
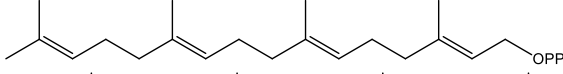
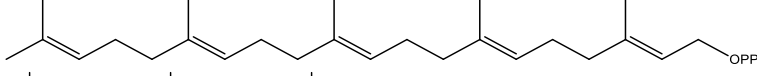
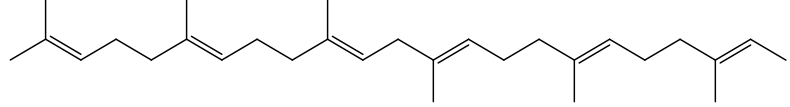
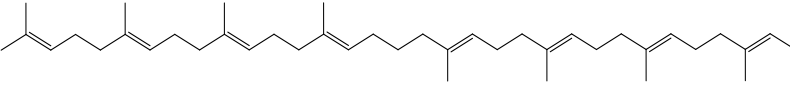
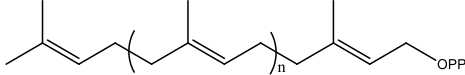
Algunos compuestos interesantes se utilizan ampliamente en el sector industrial como sabores, fragancias, especias. Se han aislado varios miles de tipos diferentes de moléculas de grupos de plantas muy diferentes. A pesar de sus estructuras variadas, todas ellas se sintetizan solo por unas pocas vías¹⁷ a partir de la vía del ácido mevalónico, o bien por la ruta del metileritritol fosfato (MEP). Durante su formación cada grupo de terpenos se origina por la condensación “cabeza-cola” de un número variable de unidades isoprénicas.¹⁶

Durante su formación, las unidades de isopreno se unen en forma de cabeza y cola.



Debido a la amplitud de este grupo de productos naturales, surge la necesidad de establecer un sistema de clasificación para ello. La clasificación tradicionalmente aceptada se basa en la cantidad de unidades de isopreno presentes en la estructura. Es por ello que el número de unidades de isopreno incorporadas en un terpeno se utiliza como base para su clasificación, lo que puede apreciarse en la Tabla 1.

Tabla 1. Clasificación de los terpenos.

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

2.5. Diterpenos

Los diterpenos son compuestos caracterizados por poseer una estructura básica de 20 carbonos y proceder del precursor (2*E*,6*E*,10*E*)-geranilgeranilpirofosfato (GGPP), presentando una gran variabilidad estructural. En una primera instancia, los diterpenos pueden dividirse en dos grandes grupos, acíclicos y ciclícos.¹⁸ Los compuestos acíclicos son los menos frecuentes, pudiendo ser lineales o poseer un ciclo lactónico o éter. Por su parte, los diterpenos ciclados son clasificados a su vez en: bicíclicos (labdanos y clerodanos), tricíclicos (pimaranos, isopimaranos, abietanos, casanos y rosanos), tetracíclicos (kauranos, atisiranos, beyeranos y giberelinas) y pentacíclicos (traquilobanos).

También se incluyen en este grupo los diterpenos macrocíclicos como los cembrenos, casbenos o taxanos y los diterpenos misceláneos briarano y vibsano.

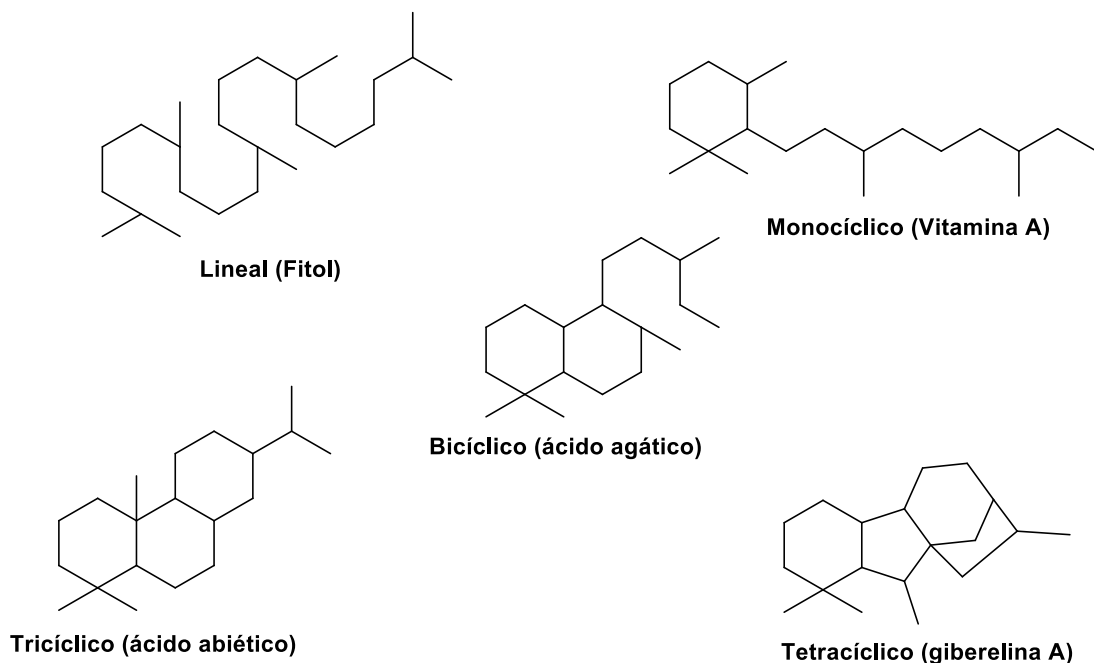


Figura 10. Esqueletos de diterpenos.

Los diterpenos tipo labdano (Figura 10) son poco comunes en la naturaleza, por esta razón se busca preparar nuevos derivados a partir de productos naturales, se ha informado que este tipo de estructuras se pueden emplear como agentes anticancerosos potenciales. Además de que pueden ser empleados para la síntesis de metabolitos más complejos, como es el caso del 13-hidroxi podocarpa-8,11,13-trieno sintetizado a partir de (-)-sclareol.⁷

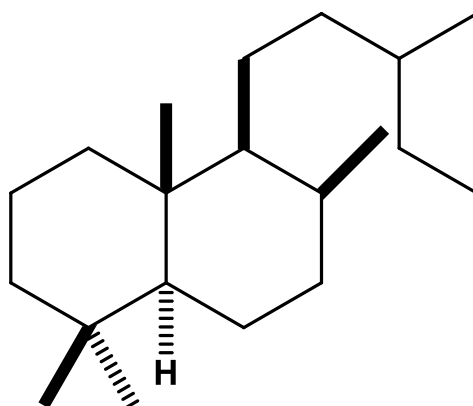


Figura 11. Esqueleto base de diterpeno tipo labdano.

2.5.1. Actividad farmacológica de los diterpenos

El interés farmacológico de los diterpenos está fuera de toda duda, si recordamos que dentro de este grupo se encuentran los diterpenos tricíclicos del género *Taxus* y sus derivados (paclitaxel o Taxol® y docetaxel o Taxotere®), utilizados actualmente en terapéutica en el tratamiento de algunos tipos de cáncer por su acción antimetabólica.^{18,19}

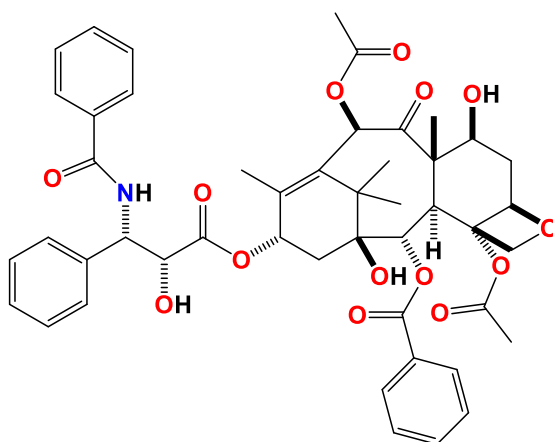


Figura 12. Estructura del paclitaxel.

Además de estos compuestos, existen otros diterpenos que presentan interesantes actividades farmacológicas que los convierten en potenciales agentes terapéuticos. Así, podemos mencionar las propiedades antihipertensivas del ácido labdan-8(17)-en-15-oico y de la forskolina, la antiagregante plaquetaria del carnosol y de los ácidos pimárico y levopimárico, así como el interés de las quinonas diterpénicas de *Salvia miltiorrhiza* Bunge en el tratamiento de diversas afecciones del miocardio.^{18,19}

También se han encontrado otras propiedades farmacológicas para estos compuestos, entre las que se destacan las propiedades antirretrovirales de la prostratina, antitumorales de la oridonina y la lasiokaurina, antimicrobianas de la salvipimarona, antiparasitarias del ácido kaurenico frente al *Trypanosoma cruzi*, antiinflamatorias de numerosos diterpenos obtenidos de la familia Lamiaceae (como la tanshinona IIA y el borjatriol aislados de los géneros *Salvia* y *Sideritis*, respectivamente), además de las propiedades analgésicas y gastroprotectoras del ácido centipédico.^{19,20}

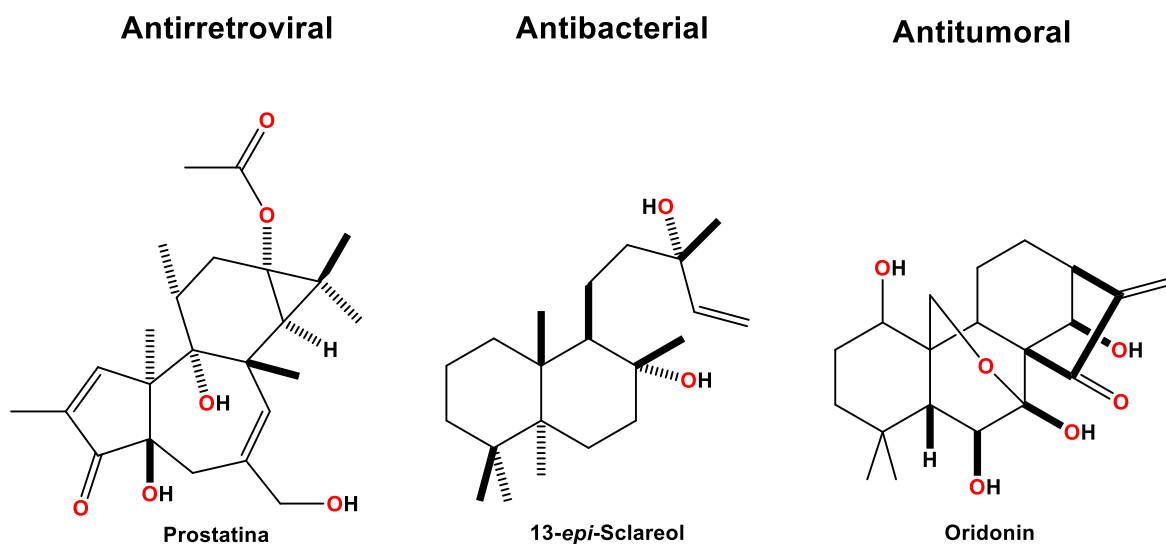


Figura 13. Estructuras de compuestos con propiedades farmacológicas.

Los diterpenos palmonina D y la palmonina F (Figura 14), aislados de *Eunicella singularis*, presentaron una potente actividad apoptótica, además previeron el crecimiento de esferoides incluso después de diez días de incubación. Por lo que podrían usarse como anticancerosos contra el cáncer de mama, ambos compuestos son candidatos para su posterior desarrollo como fármacos.²¹

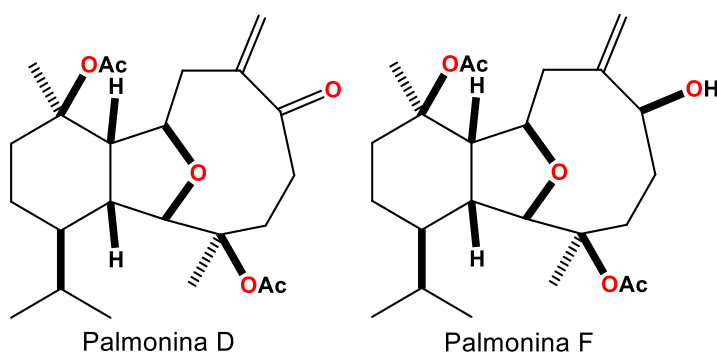


Figura 14. Diterpenos aislados de *E. singularis*.

2.6. Familia Asteraceae

México es uno de los principales centros de diversificación de la familia Asteraceae, una familia de angiospermas con distribución cosmopolita. Se registra 26 tribus, 417 géneros y 3,113 especies de Asteraceae, de las cuales 3,050 son especies nativas y 1,988 son endémicas del territorio nacional. Los géneros más relevantes, tanto por el número de especies como por su componente endémico, son *Ageratina*, *Verbesina* y *Stevia*. Esta familia también presenta una amplia variedad de formas de vida: herbáceas, suculentas, lianas, epifitas, árboles y arbustos.^{22,23} La evidencia filogenética y los datos paleontológicos sugieren que el ancestro de Asteraceae surgió en el hemisferio sur, en el área que hoy corresponde a la región andina de Sudamérica.^{23,24} Una de las características más importantes es la presencia de flores apretadas en una inflorescencia condensada que se asemeja a una sola flor grande.

2.6.1. Género *Ageratina*

En México, se encuentran distribuidas en el territorio nacional cerca 164 especies del género *Ageratina*, es un grupo taxonómico complejo al cual se han incluido algunas especies antes pertenecientes al género *Eupatorium*, tal es el caso de *Ageratina petiolaris* anteriormente conocida como *Eupatorium petiolare*.²⁵

Las plantas pertenecientes al género *Ageratina* poseen una riqueza importante en compuestos labdanólicos dentro de los que destacan los ácidos catívico, labdadienólico y 13-*epi*-labdanólico aislados de *A. jocotepecana* y el ácido 2 α -*iso*-valeroxieperuico, un *ent*-labdano aislado de *A. petiolaris*.^{7,24}

2.6.2. *Ageratina petiolaris*

Es un arbusto que puede llegar a 2 m de altura; tallos leñosos, cilíndricos, de 2 a 5 mm de diámetro, estriados, blanco-amarillentos, puberulentos; hojas opuestas, peciolo de 1.5 a 8 cm de largo, pubescente, lámina ovada, de 3.5 a 10 cm de largo por 2.5 a 10 cm de ancho, ápice agudo u obtuso, borde crenado-dentado, base cordada, haz puberulento, envés pubescente, con abundantes glóbulos resinosos, tri a pentanervada desde la base, membranácea; numerosos capítulos de 7 a 8 mm de largo dispuestos en corimbos, compuestos terminales, pedicelos pubescentes;

involucro turbinado, de 5 a 7 mm de largo por ± 5 mm de ancho, cubre la mitad basal o más de las corolas, sus brácteas discretas en 3 series de la misma longitud, lineal-lanceoladas, agudas, verdes, pubescentes; flores 35 a 40; corola de 4 a 5 mm de largo, blanca, glabra, con glóbulos resinosos en los lóbulos; aquenio de 2 a 3 mm de largo, muy pubescente, vilano casi del largo de la corola, cerdas blanco-rosadas (Figura 15).



Figura 15. Floración de *Ageratina petiolaris*.

Ageratina petiolaris conocida comúnmente como “Hierba del ángel” o “Yolochíchitl”. Se ha colectado de Huehuetoca a Milpa Alta y de Pachuca y Real del Monte a Amecameca, entre 2350 y 3000 m de altitud, en sitios con pastizal, matorral xerófilo y bosque de pino, encino y *Juniperus*; crece frecuentemente en ambientes de disturbio, especialmente a lo largo de caminos y carreteras.⁷

En 1983, Calderón y colaboradores realizaron el estudio fitoquímico de *Eupatorium petiolare* (*Ageratina petiolaris*) colectada en la ciudad de México, aislando al ácido 2 α -iso-valeroxieperuico (**5**) (Figura 16), un diterpeno tipo *ent*-labdano.²⁶

Existen varios reportes sobre la composición fitoquímica de *A. petiolaris* (Figura 15) identificando al 2-hidroxi-6-metoxibenzoato de bencilo (**1a**), 2,6-dimetoxibenzoato de bencilo (**1b**), 2,6-dimetoxibenzoato de 3-metoxibencilo (**1c**), 2-hidroxi-3,6-dimetoxibenzoato de bencilo (**1d**), chamazuleno (**2**), L-quirositol (**3**), ácido clorogénico (**4**), ácido 2 α -iso-valeroxieperuico (**5**) y ácido 2 α -tigloiloxieperuico (**6**).²⁷

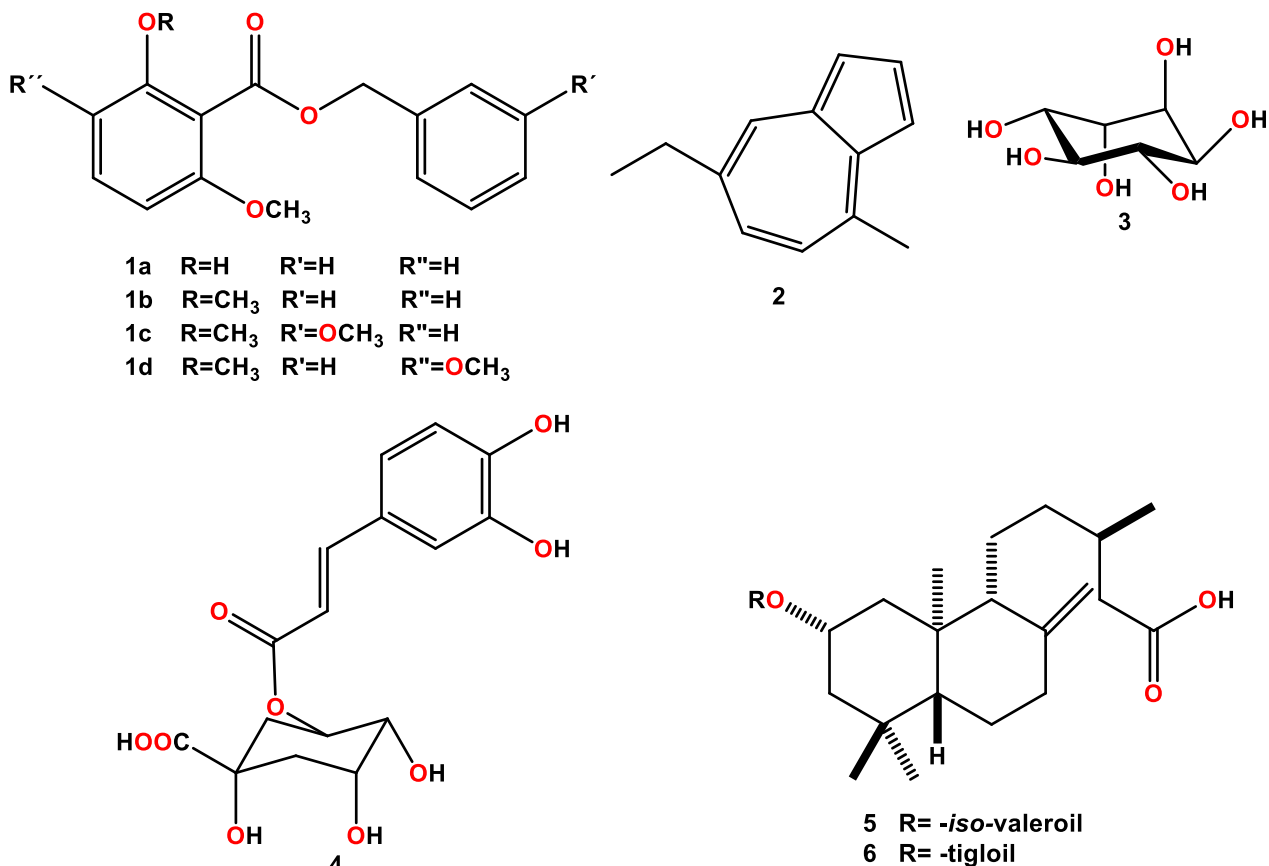


Figura 16. Composición fitoquímica obtenida de *A. petiolaris*.

El ácido 2 α -*iso-valeroxieperuico* (5), diterpeno tipo *ent*-labdano al cual se le realizaron diferentes reacciones químicas obteniéndose diferentes derivados (Figura 17).²⁷

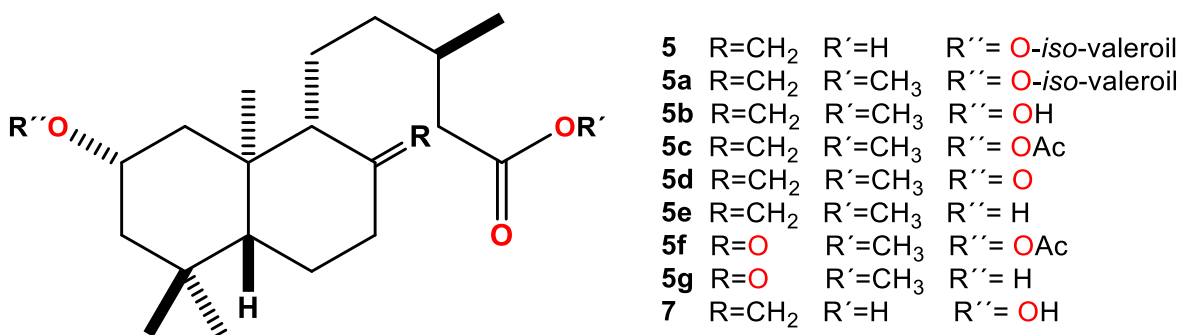


Figura 17. Derivados del ácido 2 α -*iso-valeroxieperuico* (5).

2.6.3. Ácido 2 α -hidroxieperuico (7)

A partir de una hidrólisis básica sobre el enlace tipo éster del ácido 2 α -isovaleroxieperuico (5), se obtuvo el ácido 2 α -hidroxieperuico (7) (Figura 18) en forma de cristales.

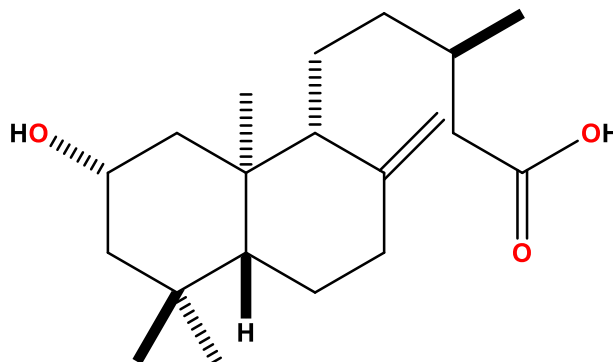


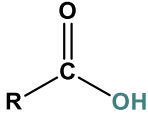
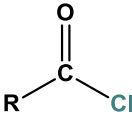
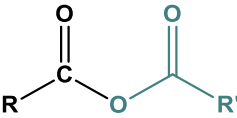
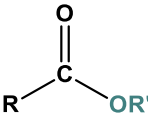
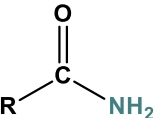
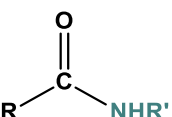
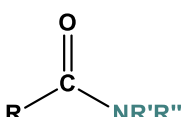
Figura 18. Ácido 2 α -hidroxieperuico (7).

Dentro de su esqueleto el ácido 2 α -hidroxieperuico (7), posee grupos funcionales los cuales se pueden modificar mediante diferentes reacciones químicas que conduzcan a diversos derivados del diterpeno tipo *ent*-labdano. Algunos procesos para la modificación química se describen a continuación, los cuales están estrechamente relacionados con los grupos funcionales existentes en el ácido 7.

2.7. Ácidos carboxílicos y derivados

A los compuestos que contienen el grupo carboxilo (abreviado -COOH o CO₂H) se les denomina ácidos carboxílicos. El grupo carboxilo es el origen de una serie de compuestos orgánicos entre los que se encuentran los haluros de ácido (RCOCl), los anhídridos de ácido (RCOOCOR), los ésteres (RCOOR'), y las amidas (RCONH₂).²⁸

TABLA 2. Ácidos carboxílicos y derivados.

Clase	Fórmula General
Acido carboxílico	
Cloruro de ácido	
Anhídrido de ácido	
Éster	
Amida	
Amida N-sustituida	
Amida N,N-disustituida	

2.8. Activadores del grupo carboxilo

Los derivados de los ácidos carboxílicos son difíciles de preparar mediante reacciones directas con aminas y alcoholes debido a su complejidad, por lo que se ha llegado a la necesidad de utilizar activadores del grupo carboxilo. La activación del ácido carboxílico se puede lograr por conversión en grupos funcionales más reactivos como el haluro de acilo, anhídrido, azida de acilo o por activación *in situ* mediante reactivos

de acoplamiento tales como: 1,1'-carbonildiimidazol (CDI) y 1,1'-diclohexilcarbodiimida (DCC, Figura 19), entre otros.^{25,26}

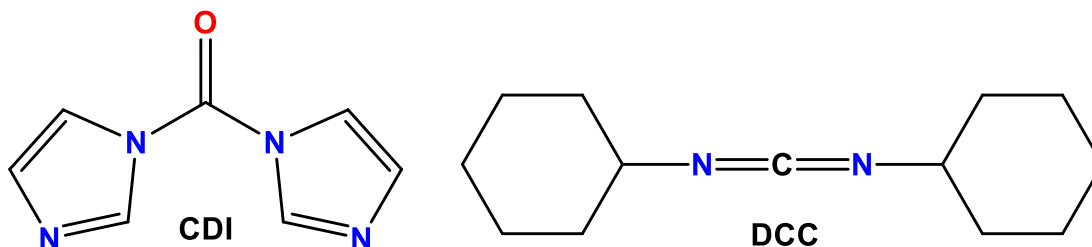


Figura 19. Activadores del grupo carboxilo.

2.8.1. Formación de cloruro de ácido

Los cloruros de ácido son generalmente intermediarios muy útiles en la formación de derivados de ácidos carboxílicos debido a que ellos son normalmente mucho más reactivos que estos últimos, por ejemplo en reacciones de esterificación, amidación, etc.^{29,30}

En particular, los cloruros de ácido son un tipo de derivados muy utilizados, que provienen de sus correspondientes ácidos carboxílicos, y donde el grupo acilo está unido a un buen grupo saliente. Los cloruros de ácido se preparan mediante la reacción de los ácidos carboxílicos con: cloruro de tionilo (SOCl_2), tricloruro de fósforo (PCl_3) o pentacloruro de fósforo (PCl_5).²⁸

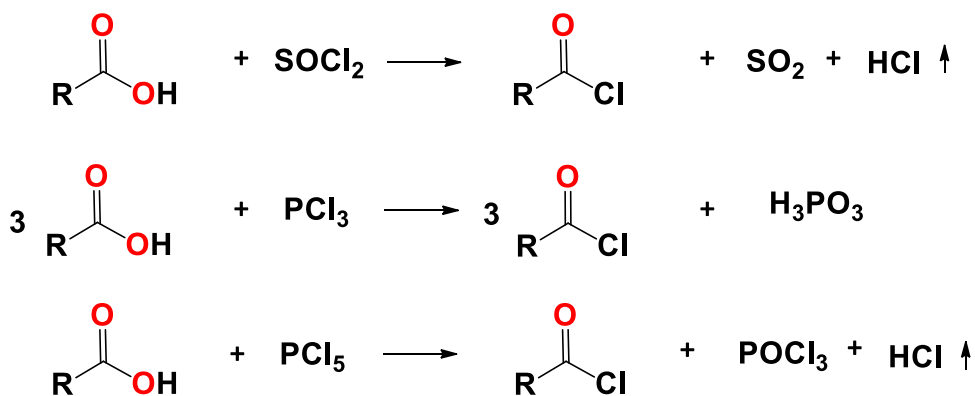


Figura 20. Formación de cloruros de ácido.

2.8.1.1 Anhídridos de ácido

Se preparan por reacción de los ácidos carboxílicos con cloruros de ácido en presencia de una base no nucleofílica, como la piridina.²⁷

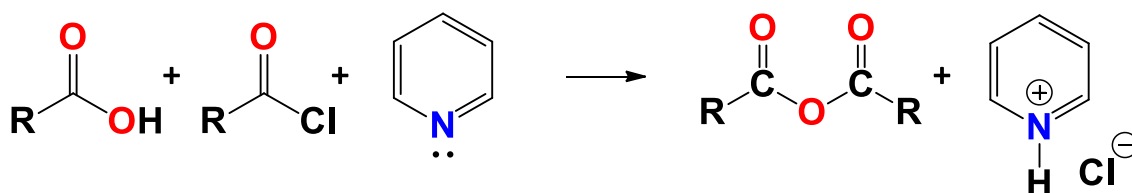


Figura 21. Reacción de anhídridos con piridina.

2.8.2. Formación de ésteres

Los ácidos carboxílicos reaccionan con alcoholes, en presencia de un catalizador ácido, formando ésteres y agua (reacción de esterificación de Fischer).²⁸

2.8.2.1. Esterificación de Fisher

Los ácidos carboxílicos pueden transformarse directamente en ésteres al calentarlos con alcoholes en presencia de una cantidad catalítica de ácido mineral.^{29,30}

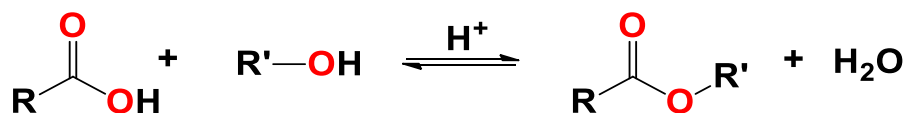


Figura 22. Reacción de Fisher.

2.8.2.2. Esterificación por reacción de un anhídrido de ácido con un alcohol

La reacción de anhídridos con alcoholes permite obtener ésteres.²⁹ Los ésteres también se forman por la reacción de alcoholes con cloruros de acilo, esta reacción se lleva a cabo en presencia de una base débil como la piridina.³¹

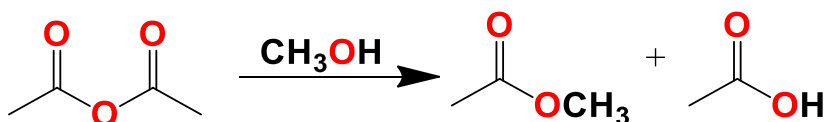


Figura 23. Reacción de anhídridos de ácido con alcohol.

2.8.2.3. Esterificación por reacción de un anión carboxilato con un halogenuro de alquilo

La reacción de un anión carboxilato con un halogenuro de alquilo en un disolvente polar aprótico permite obtener ésteres.³⁰

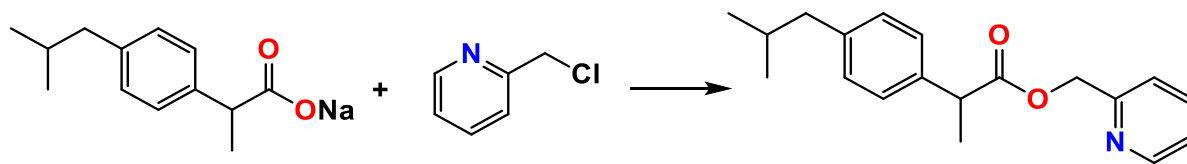


Figura 24. Reacción anión carboxilato con un halogenuro de alquilo.

2.8.3. Reacción de ácidos carboxílicos con diazometano

La reacción de ácidos carboxílicos con diazometano permite obtener ésteres metílicos. Esta reacción es poco utilizada debido a la elevada toxicidad del diazometano.³⁰⁻³³

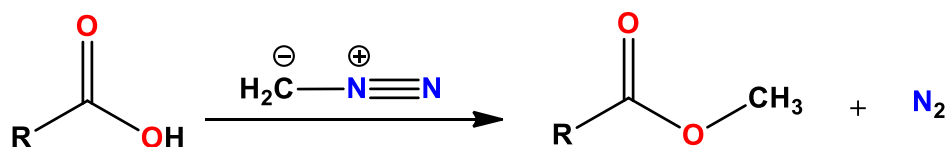


Figura 25. Reacción ácidos carboxílicos con diazometano.

2.8.4. Formación de amidas

Las amidas, abundan en todos los organismos vivos; las proteínas, ácidos nucleicos y muchos productos farmacéuticos tienen grupos funcionales amida; la razón de esta abundancia de amidas es que son más estables a las condiciones acuosas que se encuentran en los organismos vivos. Las amidas son las menos reactivas de los derivados de ácidos carboxílicos.^{7,31}

Las amidas se pueden preparar a partir de cloruros de ácido, de anhídridos de ácido, de ésteres, de ácidos carboxílicos e incluso de sales de ácidos carboxílicos. Todos estos métodos implican la adición nucleofílica de amoníaco o de aminas, seguida de eliminación del correspondiente grupo saliente. La reacción de cloruros de ácido con amoníaco o aminas, para obtener amidas, se lleva a cabo en presencia de un exceso de la amina o del amoníaco a fin de neutralizar el HCl formado en la reacción.²⁸

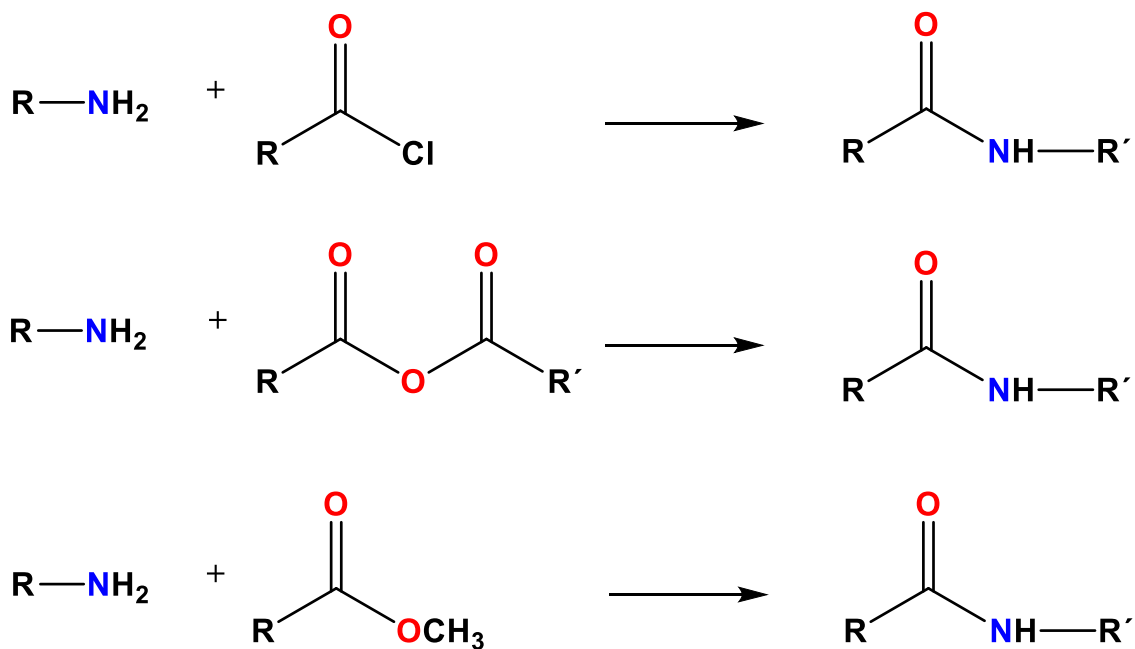


Figura 26. Reacciones para la obtención de amidas.

2.9. Métodos de Química Computacional

La Química computacional tiene por objeto estudiar, caracterizar y predecir la estructura y estabilidad de los sistemas químicos, estudiando diferencias de energía entre diferentes estados para explicar propiedades espectroscópicas y mecanismos de reacción a nivel atómico.³²

2.9.1. Modelado molecular

Es una técnica computacional que permite estudiar la interacción que existe entre moléculas químicas, mediante el empleo de programas informáticos que representen las estructuras y comportamiento de las moléculas.^{31,33}

2.9.2. Protocolo Monte Carlo

Protocolo de Monte Carlo es una combinación de muestreo aleatorio y el empleo de la distribución de Boltzmann. Es una manera de seleccionar estructuras tridimensionales

arbitrarias, no relacionadas entre sí. Las configuraciones secuenciales de este tipo de muestreo son instantáneas al azar del movimiento total de la molécula y por tanto no ofrece ninguna pista sobre la ruta traslacional que las une.³³

2.9.3. Mecánica molecular

Es un método de cálculo diseñado para obtener energías y estructuras de moléculas. Los cálculos de mecánica molecular o campo de fuerza están basados sobre modelos simples de mecánica clásica de estructura molecular.³²

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

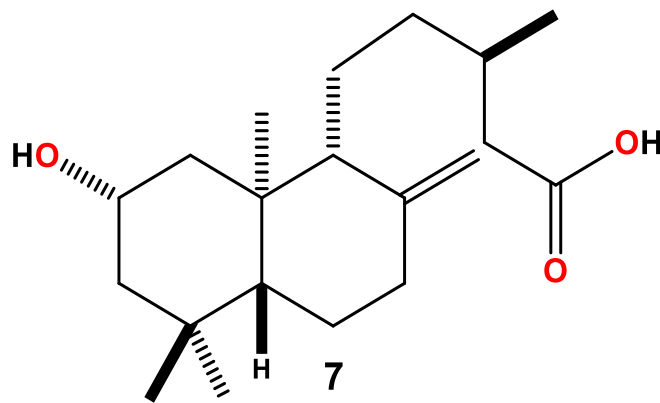
2.9.4. Teoría de Funcionales de la Densidad

Los métodos de la Teoría de Funcionales de la Densidad (DFT) proceden de la mecánica cuántica, concretamente del modelo Thomas-Fermi-Dirac (1920) y del trabajo fundamental de Slater (1950). La aproximación DFT se basa en la estrategia de introducir la correlación electrónica usando funcionales (funciones de funciones) de la densidad electrónica. Estos métodos usan el teorema de Hohenberg-Kohn, (1964), en el que se demuestra la existencia de un solo funcional que determina la energía del estado fundamental y la densidad electrónica exactamente. Sin embargo, el teorema no da la forma del funcional.^{32,33}

Es un proceso variacional alternativo a la solución de la ecuación de Schrödinger, donde el funcional de la energía electrónica es minimizado con respecto a la densidad electrónica. Es uno de los métodos más utilizados en los cálculos cuánticos de la estructura electrónica de la materia, tanto en la física de la materia condensada como en la Química cuántica.³¹

3. JUSTIFICACION.

Ageratina petiolaris es un arbusto con una amplia gama de metabolitos secundarios, debido a los diferentes estudios que se han realizado en los cuales se obtuvo al diterpeno tipo *ent*-labdano [ácido 2 α -hidroxieperuico, (7)] que posee dentro de su estructura grupos funcionales, de los cuales destacan el hidroxilo y el carboxilo en las posiciones C-2 y C-15 respectivamente, grupos que son esenciales para la obtención de nuevos derivados de interés farmacológico, especialmente para generar fármacos con posible actividad anticancerosas.



4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo general

Llevar a cabo la preparación de nuevos derivados tipo amida y carbonato explotando los grupos funcionales que el ácido 2 α -hidroxieperuico (**7**) pose dentro de su estructura, obtenido por hidrólisis básica del extracto hexánico de flores de *Ageratina petiolaris* para aumentar su posible actividad biológica.

4.2. Objetivos específicos

- Colectar y separar en sus diferentes partes la planta *Ageratina petiolaris*.
- Obtener mediante maceración el extracto hexánico de flores.
- Del extracto crudo obtener por hidrólisis alcalina con KOH en metanol el ácido 2 α -hidroxieperuico.
- Realizar las reacciones correspondientes para llevar a cabo la transformación química del ácido 2 α -hidroxieperuico.
- Caracterizar los productos obtenidos, mediante sus datos físicos y espectroscópicos.

5. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

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

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

Se obtuvo el extracto hexánico de las flores de *Ageratina petiolaris* el cual se sometió a una hidrólisis alcalina para obtener el ácido 2α -hidroxieperuico, como cristales incoloros en forma de aguja, con un punto de fusión de 127-128 °C (Lit. 127-128 °C),^{7,27} el cual se identificó por medio de sus espectros de RMN. Los desplazamientos de RMN de ^1H y punto de fusión coincidieron con los datos descritos en la literatura.²⁷

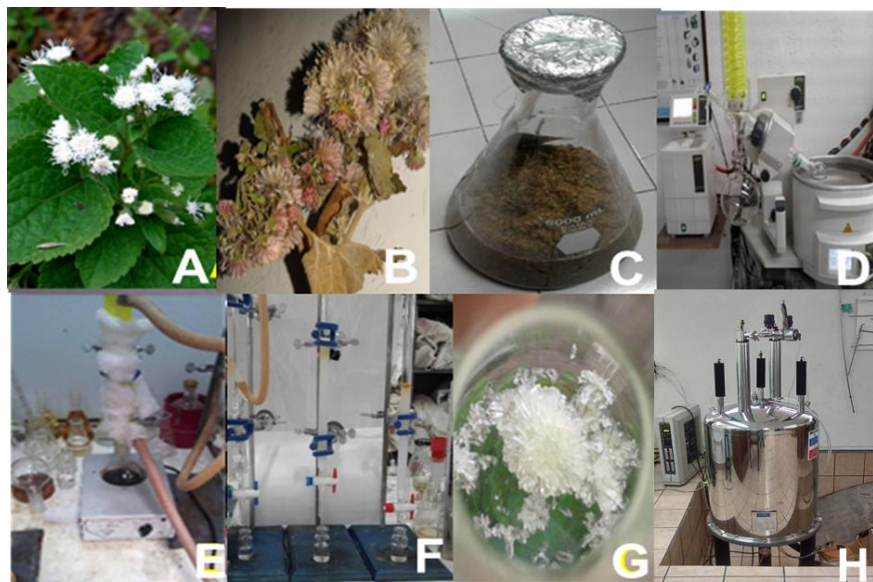


Figura 27. Obtención del ácido 2α -hidroxieperuico. A) *Ageratina petiolaris* en su hábitat; B) Flores secas; C) Maceración en hexano; D) Concentración de extracto; E) Hidrólisis alcalina; F) Cromatografía en columna; G) Cristales del ácido 2α -hidroxieperuico; H) Identificación del compuesto mediante RMN.

En el espectro de RMN de ^1H de **7** (Figura 29) se observaron dos señales simples en 4.84 y 4.50 ppm correspondientes a los hidrógenos del metileno exocíclico H-17 y H-17' respectivamente, en 4.17 ppm se apreció una señal quíntuple ($J = 5.4$ Hz) correspondiente al hidrógeno base de hidroxilo H-2, en 1.15 ppm se observó una señal doble de dobles ($J = 12.5, 2.8$ Hz) identificada como H-5, en 0.99 se encontró una señal simple que integra para tres hidrógenos identificados como Me-18, así mismo en 0.98 ppm se observó una señal doble ($J = 6.2$ Hz) debida al único metilo secundario de la molécula Me-16, en 0.92 y 0.91 ppm se observaron dos señales simples correspondientes a Me-19 y Me-20 respectivamente. Cabe señalar que estas dos últimas señales habían sido reportadas como una señal simple que integraba para seis hidrógenos.⁷

En el espectro de RMN de ^{13}C (Figura 30) se observaron 20 señales que confirman la presencia del diterpeno. En 178.9 ppm se observó la señal propia para el carbonilo C-15, en 148.0 ppm se observó la señal de C-8, en 107.0 ppm se apreció la señal del carbono del metileno exocíclico C-17, en 67.8 ppm se observó la señal del carbono base de hidroxilo C-2 principalmente.



Figura 28. Cristales del ácido 2 α -hidroxieperuico (**7**).

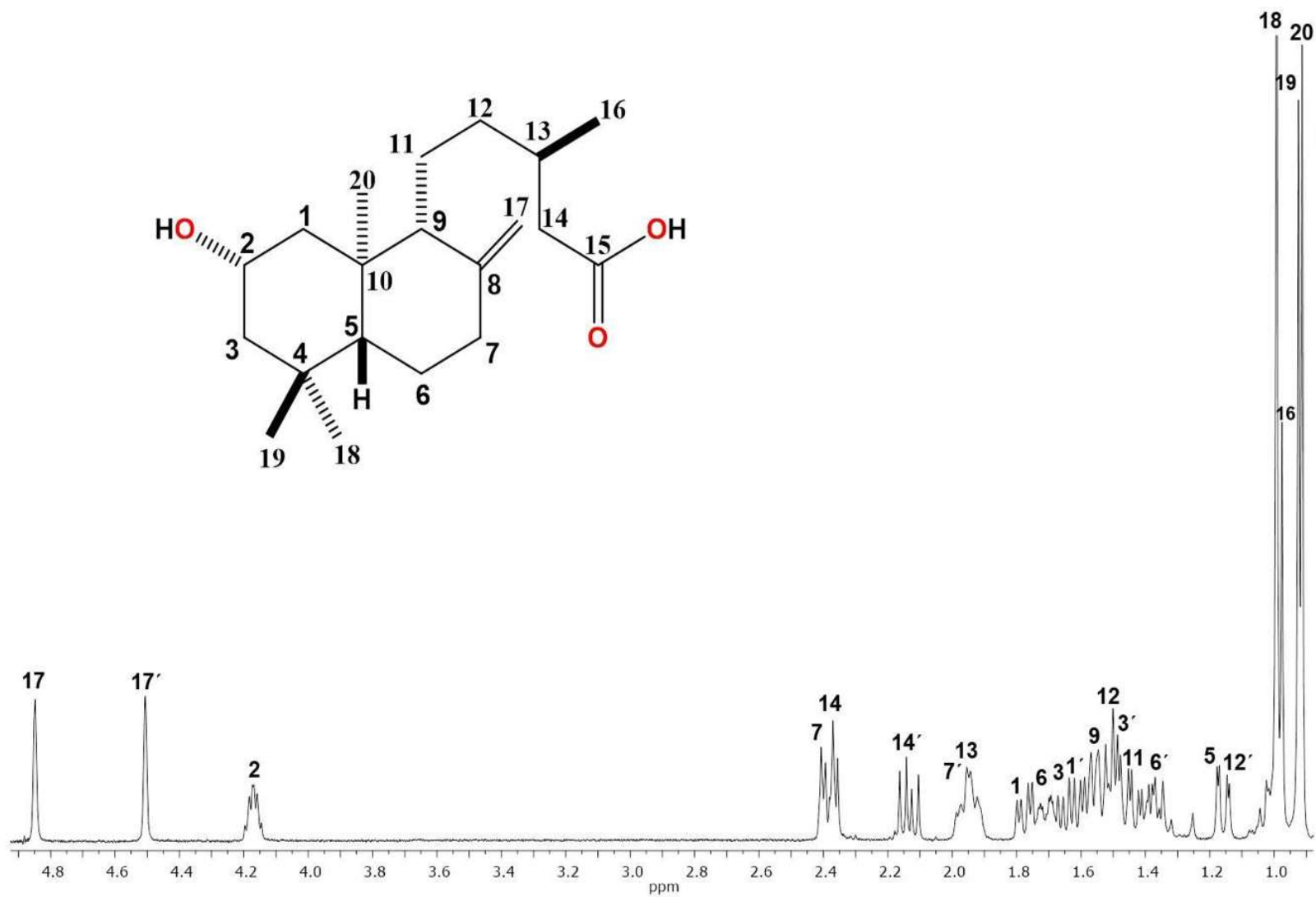


Figura 29. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) del ácido 2 α -hidroxieperuico (7) en CDCl_3 .

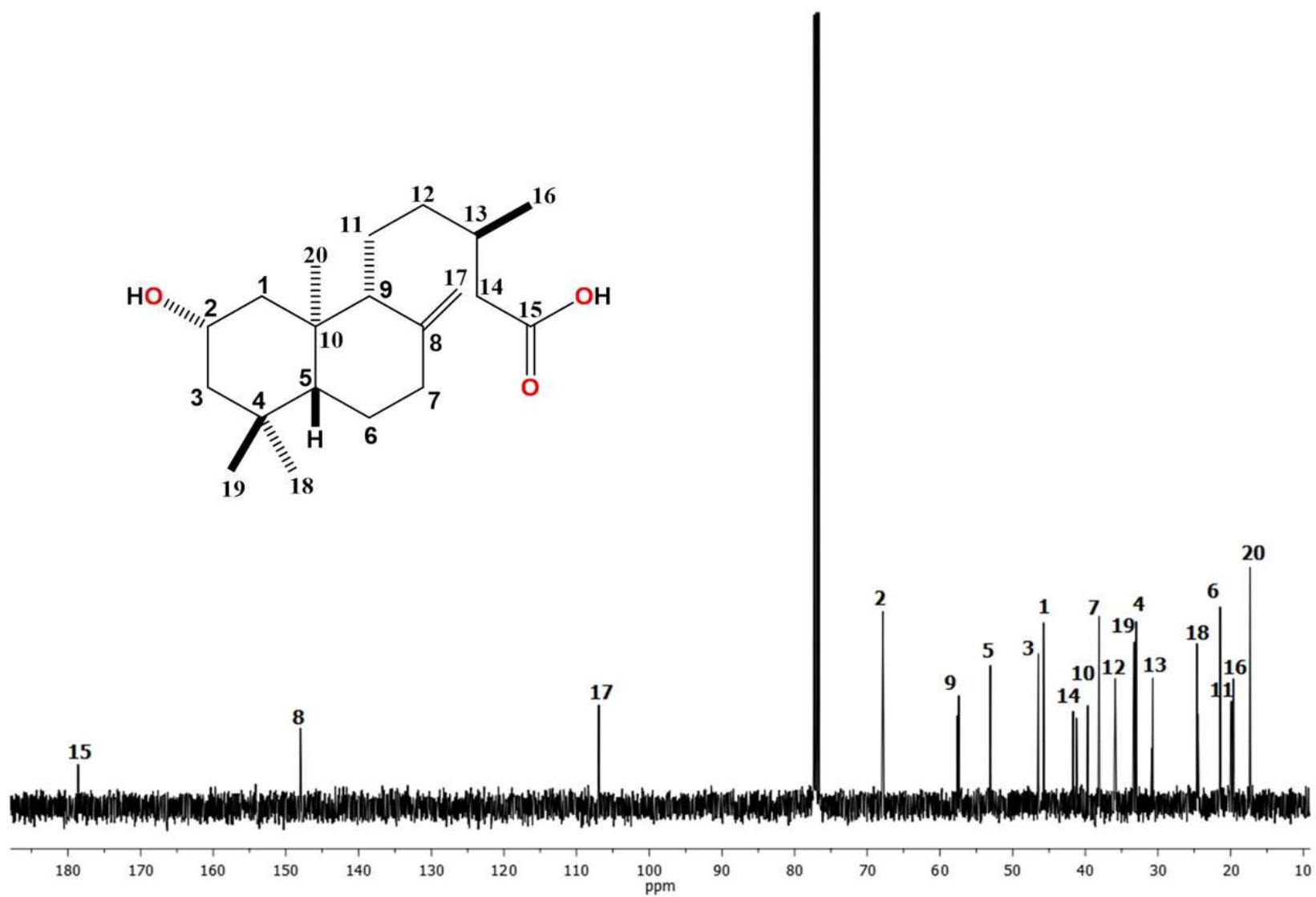
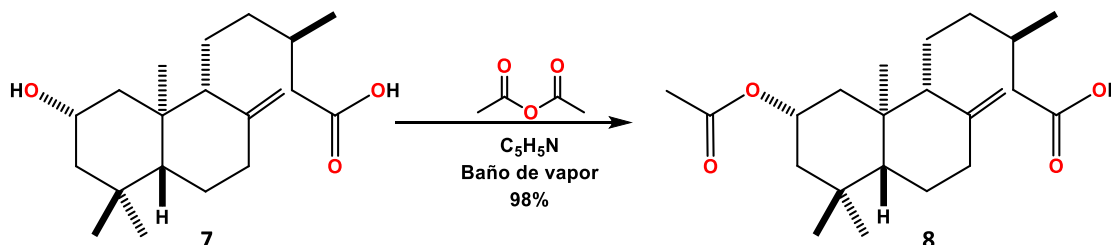


Figura 30. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) del ácido 2 α -hidroxieperico (7) en CDCl_3 .

5.2. Esterificación del ácido **7** para obtener el ácido 2α -acetoxieperuico (**8**)

La esterificación del compuesto **8** se llevó a cabo mediante la acetilación del grupo hidroxilo en C-2 de **7** en presencia de anhídrido acético y piridina, la mezcla de reacción fue sometida a baño de vapor por periodos de 8 h hasta completar 24 h. El derivado acetilado se identificó por medio de sus espectros de RMN teniendo un aspecto de miel ligeramente ámbar.



El espectro de RMN de 1H de **8** (Figura 32) mostró una señal quintuple en 5.15 ppm ($J = 3.9$ Hz), correspondiente al hidrógeno base de éster H-2, y en 2.03 ppm una señal simple que integró para los tres protones de Me-22.

El espectro de RMN de ^{13}C de **8** (Figura 33) se observaron 22 señales confirmando la presencia del compuesto en donde se identificaron dos señales de carbonilo, una en 179.3 ppm correspondiente al ácido carboxílico y otra en 170.6 ppm asignada al carbonilo de éster del acetilo, también resultan importantes las señales en 70.6 ppm del carbono base de éster y en 21.6 ppm la señal que se asignó al metilo del acetilo. Lo que concuerda con el reporte previo.



Figura 31. Miel del ácido 2α -acetoxieperuico (**8**).

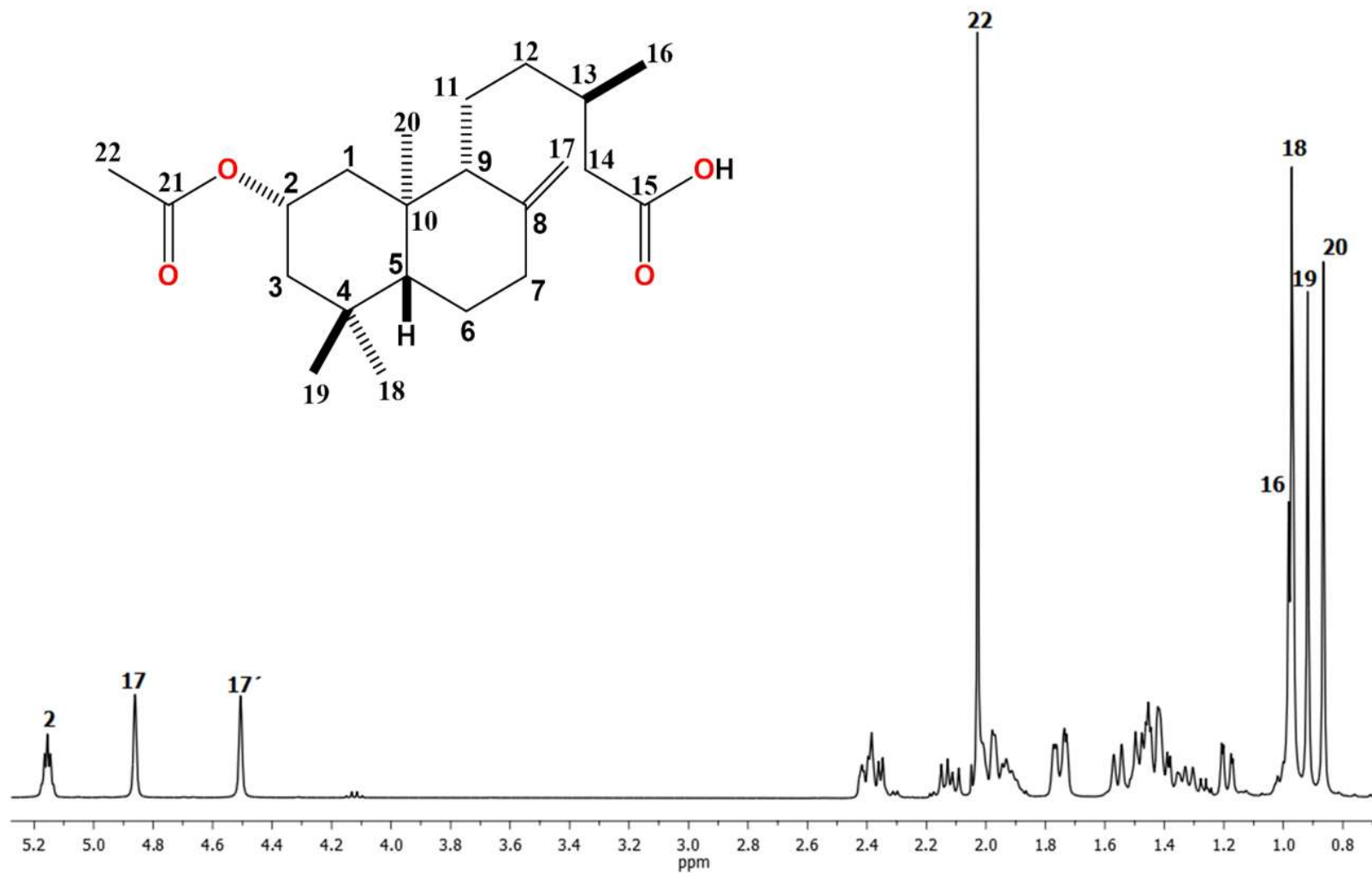


Figura 32. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) del ácido 2 α -acetoxieperuico (**8**) en CDCl_3 .

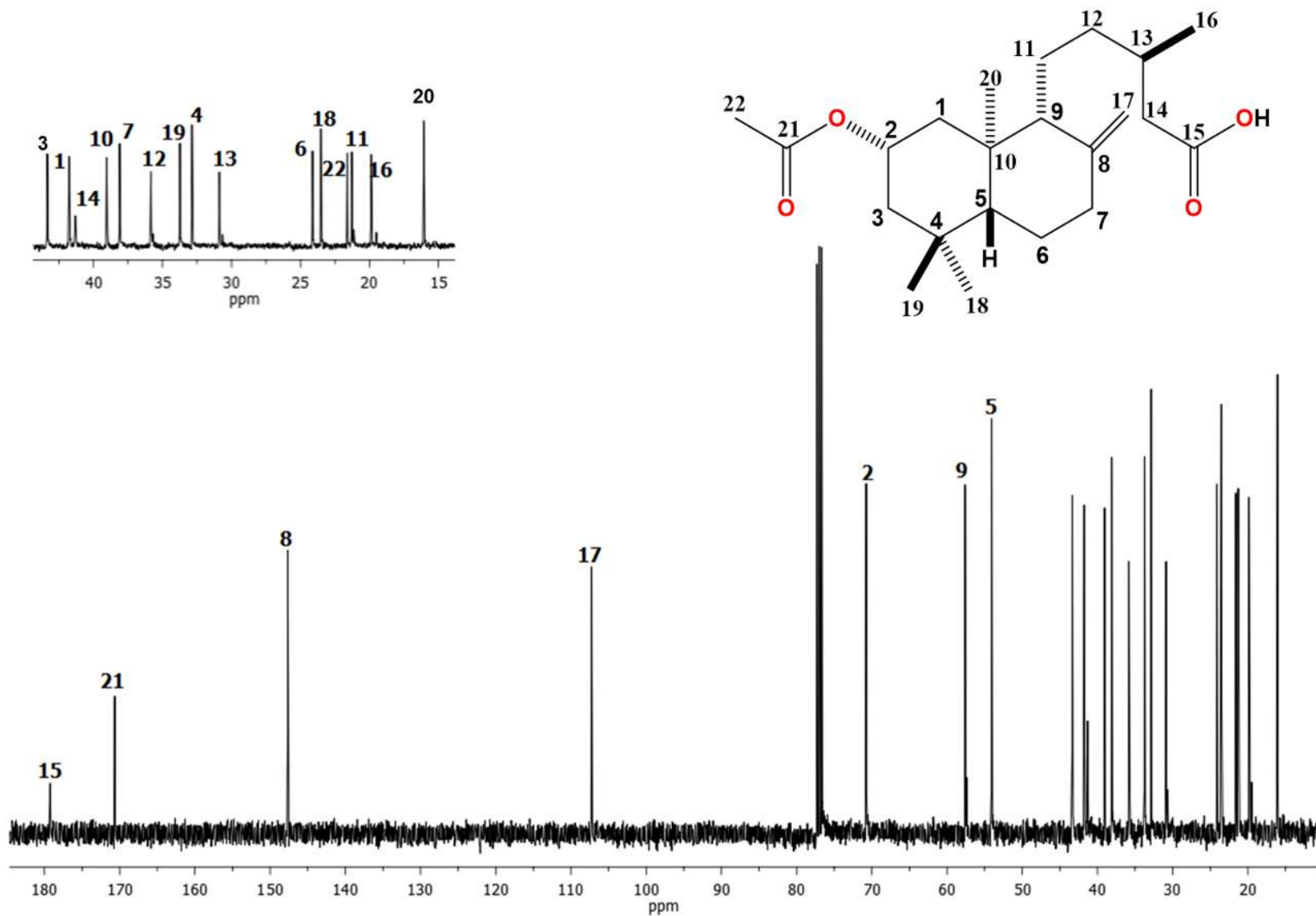
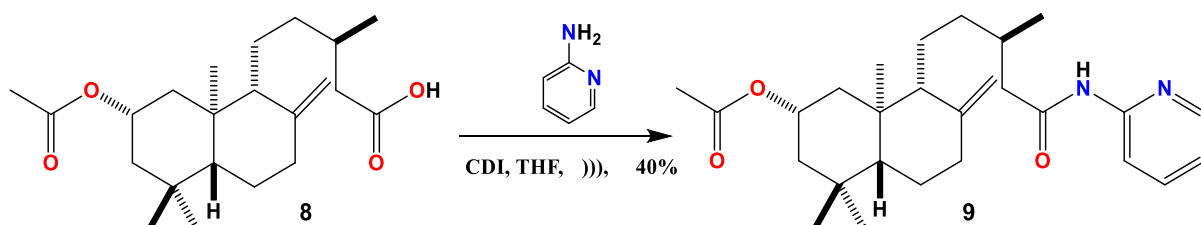


Figura 33. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) del ácido 2 α -acetoxiperuico (**8**) en CDCl_3 .

5.3. Preparación de la 2 α -acetoxi-*N*-(piridin-2-il)eperuamida (**9**)

La amida **9** se preparó partiendo del derivado ácido **8**, en una primera etapa **8** se hizo reaccionar con CDI para la activación del grupo carboxilo C-15 por un periodo de 90 min, posteriormente, en una segunda etapa se adicionó la 2-aminopiridina para la formación del enlace amida a temperatura ambiente durante 90 min adicionales, obteniendo el compuesto de interés una miel incolora, esta metodología resulta novedosa en el área de productos naturales dado que comúnmente esta reacción es empleada para la síntesis de péptidos.



En el espectro de RMN de ^1H de la amida **9** (Figura 35) destacan las señales a campo bajo para los hidrógenos aromáticos en 8.24 ppm una señal múltiple para H-27, en 8.22 ppm como una señal múltiple para H-25 y en 7.70 ppm una señal múltiple para H-26, en 7.03 una señal doble de dobles de dobles ($J = 7.3, 4.8, 1.0$ Hz) para H-24, observándose un acoplamiento entre dichas señales, así mismo en 5.14 ppm se observó una señal quintuple ($J = 4.1$ Hz) correspondiente al hidrógeno base de éster H-2, se mostraron dos señales simples en 4.84 y 4.50 ppm correspondientes a los hidrógenos del metileno exocíclico H-17 y H-17' respectivamente, así como el resto de las señales características del sistema.

En el espectro de RMN de ^{13}C de la amida **9** (Figura 36) se observaron 27 señales que confirman la presencia del compuesto amídico de los cuales se observaron dos señales de carbonilos, una en 170.3 ppm correspondiente al carbonilo de amida C-15 y otra en 170.6 ppm asignada al carbonilo de éster C-21, en la región de los carbonos

aromáticos se observaron cinco señales correspondientes C-23, C-27, C-26, C-24, C-25 a 151.5, 147.7, 138.4, 119.7 y 114.1 ppm del anillo aromático respectivamente.

En el espectro HMBC (Figura 37) se observa una señal de correlación del hidrógeno H-24 con los carbonos C-27 y C-25, así mismo se observa una correlación entre el H-25 con el carbono cuaternario C-23 y con C-26, C-24, correspondientes a los carbonos del anillo amida, observándose también una correlación de H-26 con el carbono cuaternario C-23 y con los C-27 y C-25.

Las señales del anillo aromático se asignaron en base a su espectro HSQC (Figura 38) en la cual se pudo asignar la correlación entre C-H del anillo amídico de C-24, C-25, C-26, C-27 respectivamente.



Figura 34. Miel de la 2α -acetoxi-*N*-(piridin-2-il)eperuamida (**9**).

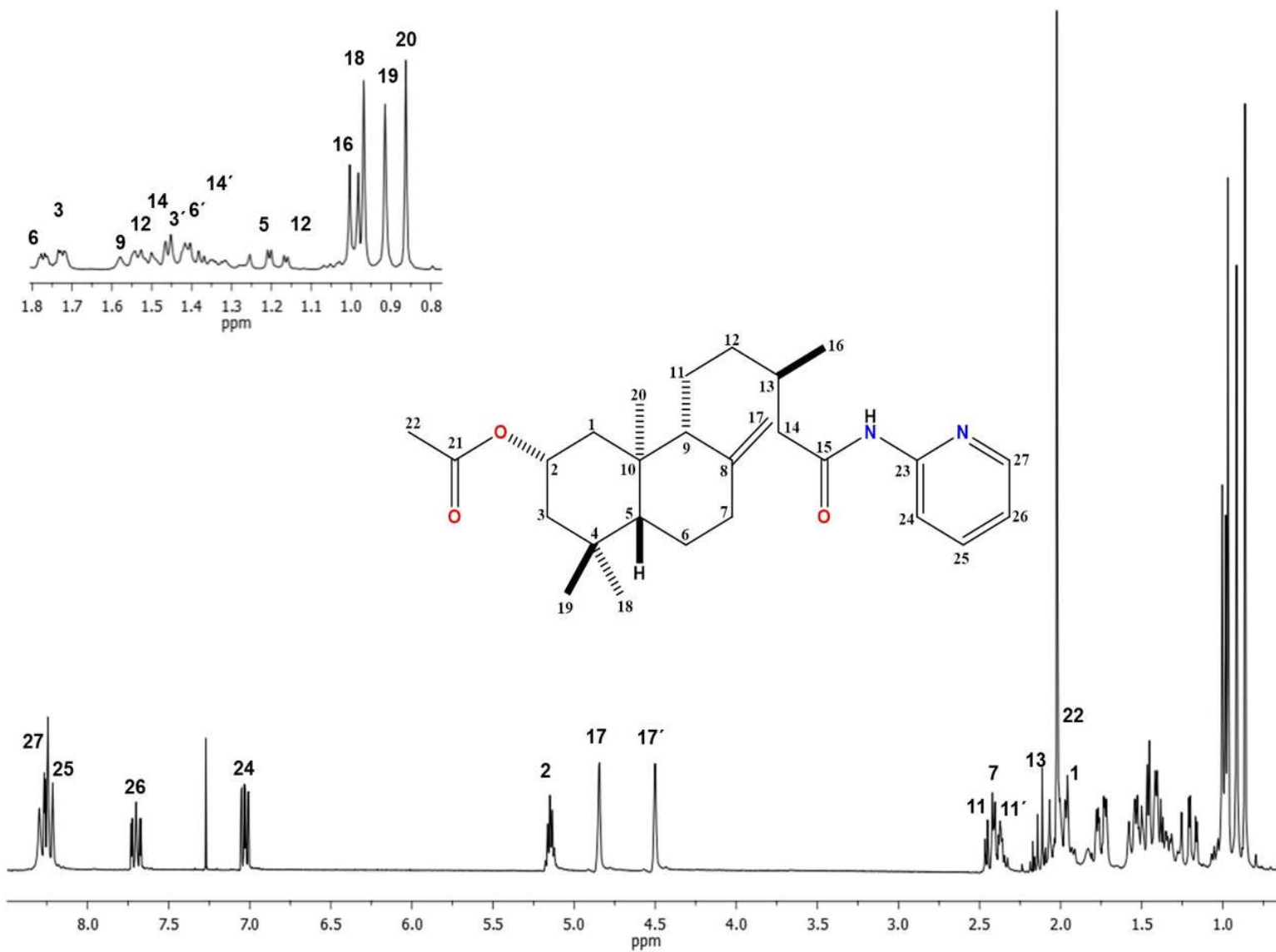


Figura 35. Espectro de RMN de ¹H (400 MHz) del 2α-acetoxi-N-(piridin-2-il)eperuamida (9) en CDCl₃.

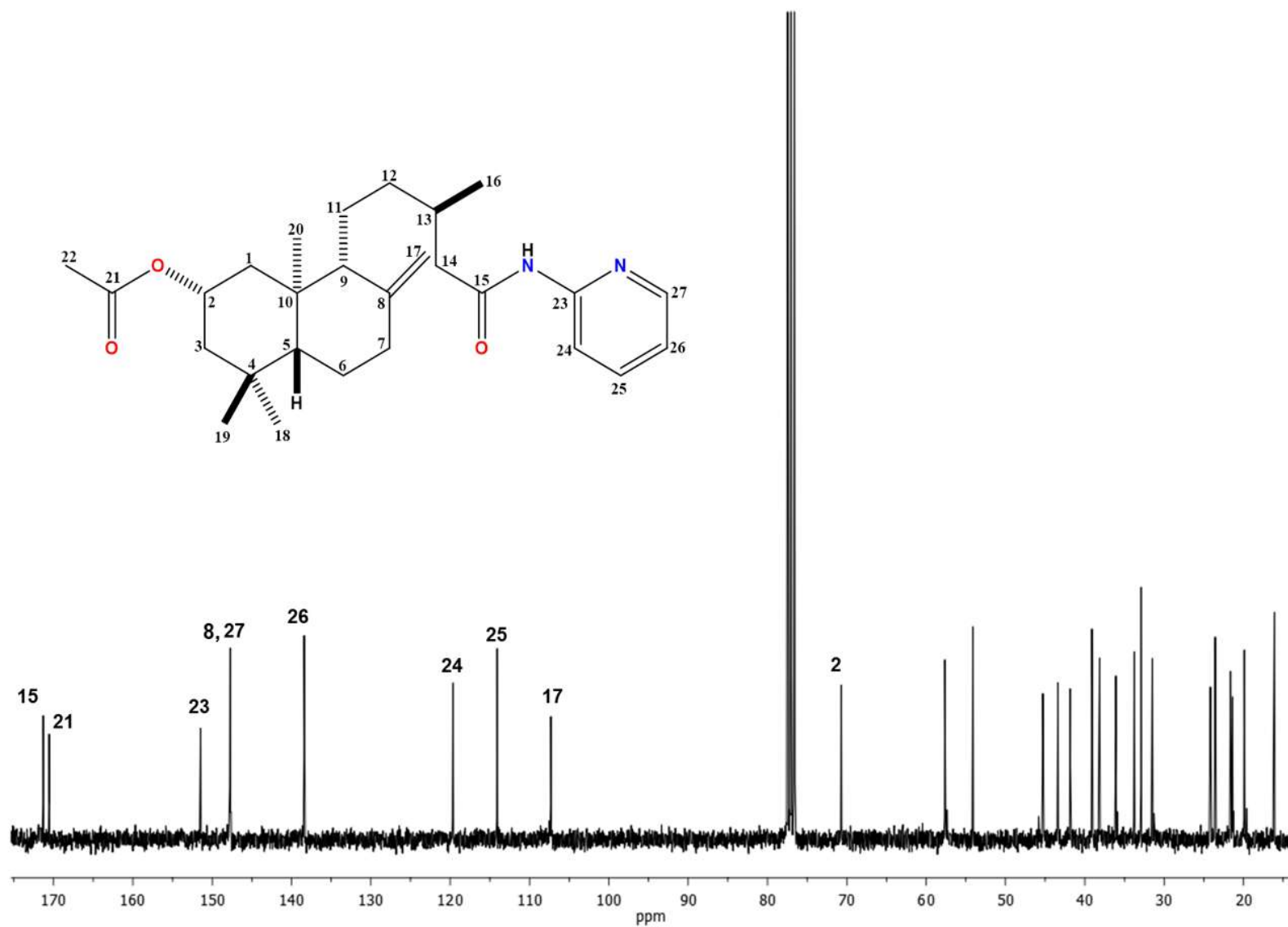


Figura 36. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) del 2 α -acetoxi-N-(piridin-2-il)eperuamida (9) en CDCl_3 .

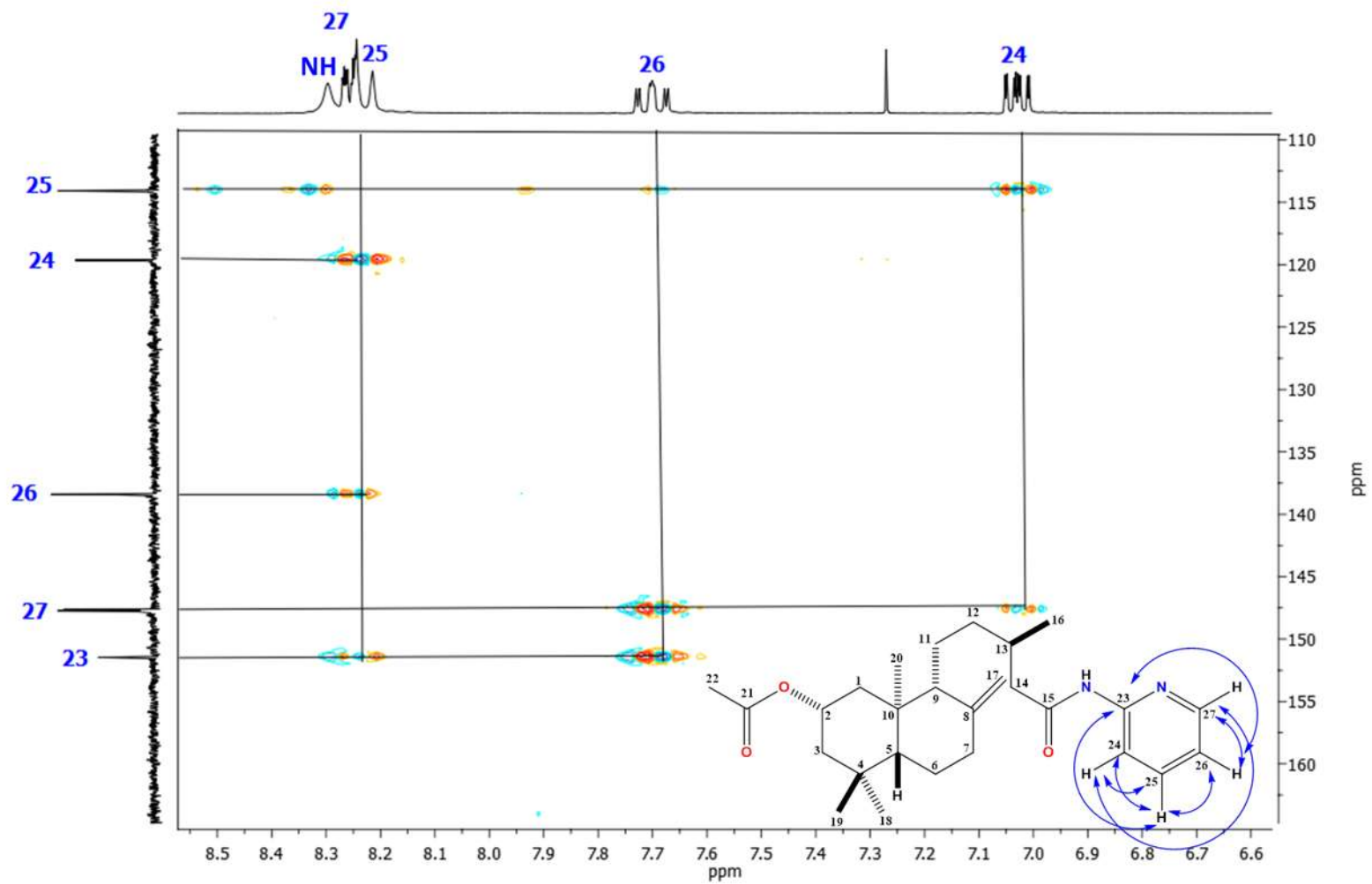


Figura 37. Ampliación del espectro HMBC de la amida 9 en CDCl_3 .

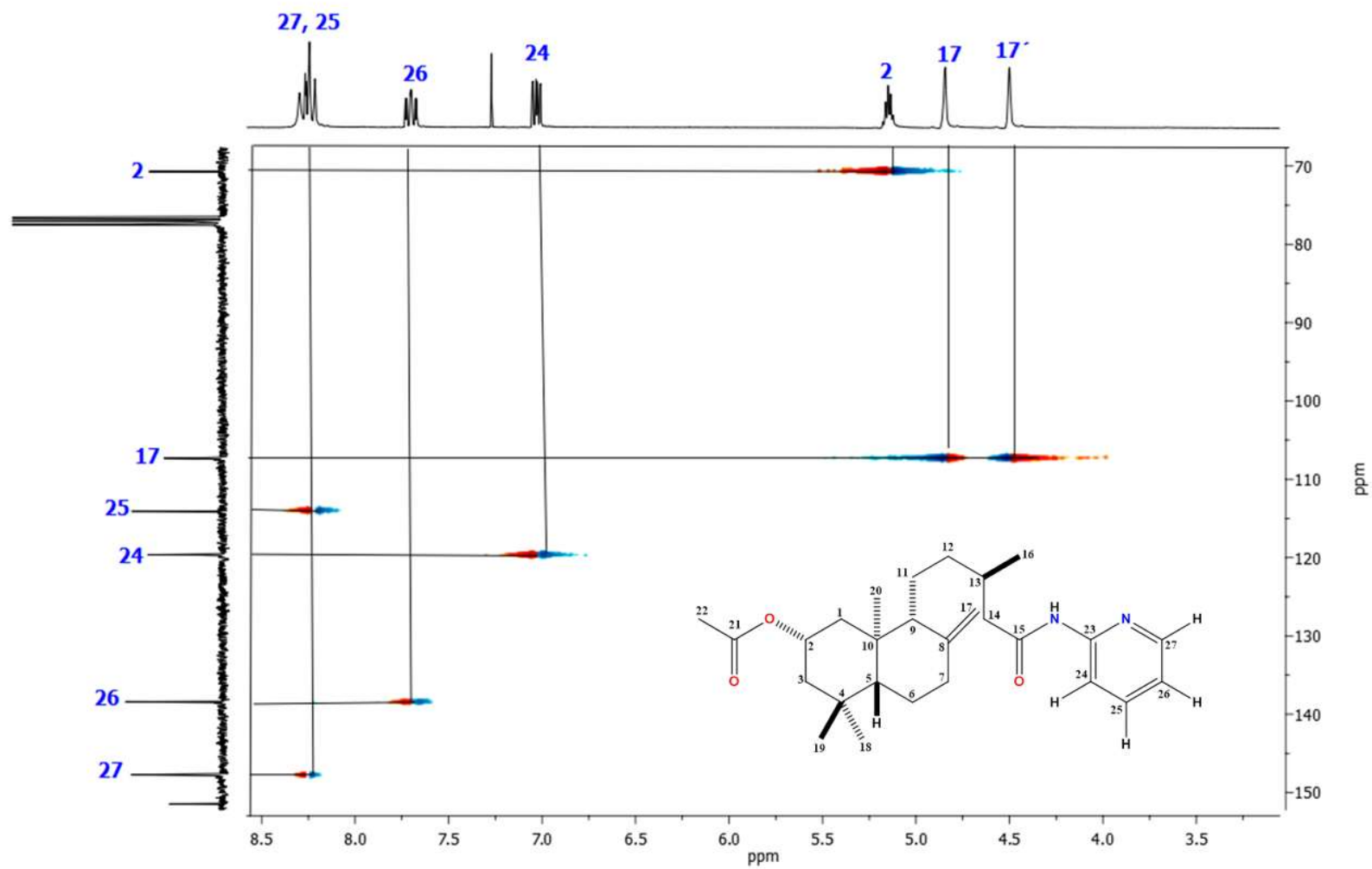


Figura 38. Ampliación del espectro HSQC de la amida 9 en CDCl_3 .

De los cálculos computacionales se obtuvieron distintos conformeros pertenecientes al compuesto **9**, arrojando como mínimo global el conformero que se muestra en la (Figura 39), debido a que presenta una energía de $E_{\text{DFT}} = -1348.45$ hartrees. De todos los conformeros obtenidos durante los cálculos realizados computacionalmente cabe mencionar que estos presentan la misma disposición en el sistema base diterpénico, tomando un arreglo conformacional que hace que los sustituyentes incorporados en las cadenas laterales de C-2 y C-15, intenten acoplarse una con otra, lo que nos lleva a pensar que existe una interacción entre ellos que hace que tomen tal conformación, probablemente por la formación de puentes de hidrógeno que pudiese existir entre ellos. Es necesario mencionar que para poder confirmar tal supuesto es necesario llevar a cabo este estudio más a fondo.

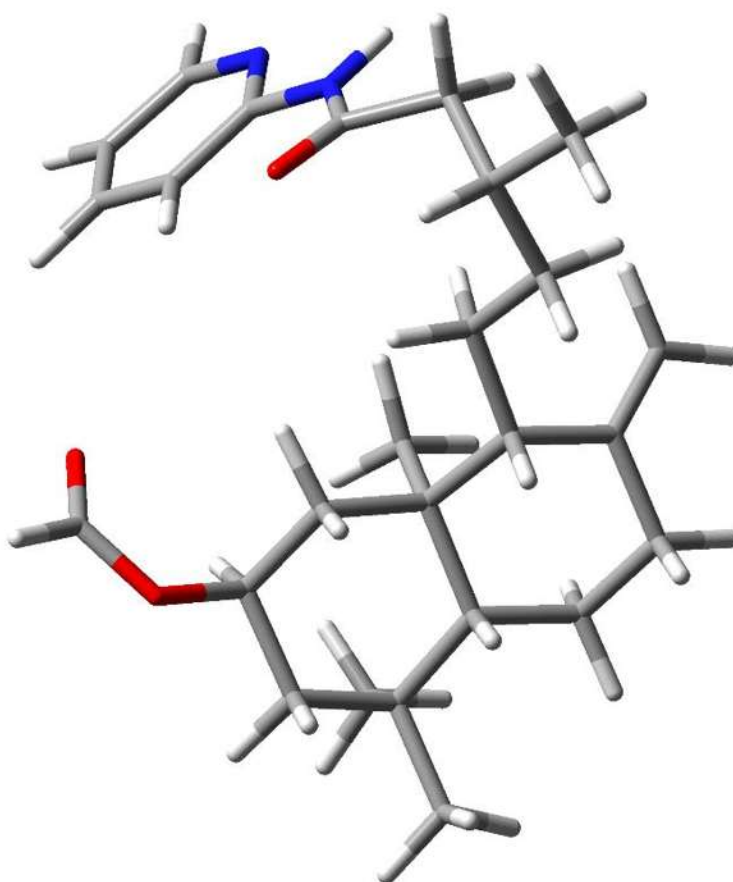
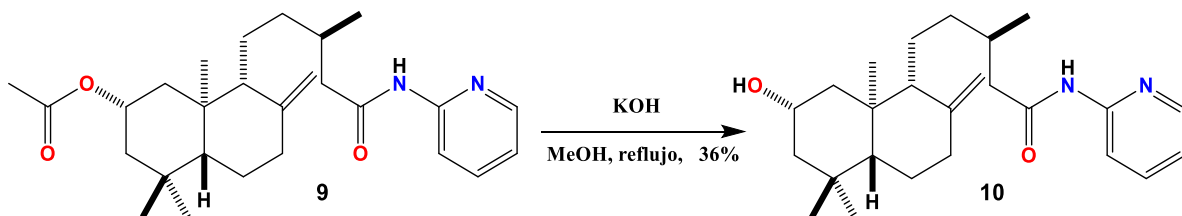


Figura 39. Mínimo global de la 2 α -acetoxi-*N*-(piridin-2-il)eperuamida (**9**)

5.4. Preparación de la 2 α -hidroxi-*N*-(piridin-2-il)eperuamida (**10**)

La amida **10** se preparó partiendo de la 2 α -acetoxi-*N*-(piridin-2-il)eperuamida (**9**) en una sola etapa, haciendo reaccionar el C-2 mediante una reacción de hidrólisis alcalina con hidróxido de potasio en metanol a reflujo por un periodo de 4 horas, obteniendo al compuesto de interés como una miel incolora.



En el espectro de RMN de ^1H de la amida **10** (Figura 41) destacan las señales a campo bajo para los hidrógenos aromáticos. En 8.26 ppm una señal múltiple para H-25, en 8.25 ppm una señal doble de triples ($J = 1.9, 0.9$ Hz) para H-23 y en 7.71 ppm una señal doble de dobles de dobles ($J = 8.8, 7.3, 1.9$ Hz) para H-24, en 7.04 ppm una señal doble de dobles de dobles ($J = 7.3, 4.8, 1.0$ Hz) para H-22, así mismo en 4.83 y 4.51 ppm se observaron dos señales simples correspondientes a los hidrógenos del metileno exocíclico H-17 y H-17' respectivamente, y en 4.14 ppm se observó una señal quintuple ($J = 4.1$ Hz) correspondiente al hidrógeno base de hidroxilo H-2, así como el resto de las señales características del sistema.

En el espectro de RMN de ^{13}C (Figura 42) se observaron 25 señales confirmando la presencia de nuestro compuesto en los que destacan una señal de carbonilo, en 171.7 ppm correspondiente al carbonilo de amida C-15, en la región de los carbonos aromáticos se observaron cinco señales correspondientes C-21, C-25, C-24, C-22, C-23 en 151.7, 147.7, 138.5, 119.7 y 114.0 ppm respectivamente, así como las demás señales correspondientes al sistema base.

En el espectro HMBC (Figura 43) se observa una señal de correlación del hidrógeno H-22 con los carbonos C-23 y C-25, así mismo se observa una correlación entre el NH con el carbonilo C-15 base de enlace amida y con C-22, observándose también una correlación de H-24 con el carbono cuaternario C-21 y con C-23, C-25 así mismo la correlación entre el H-25 con los carbonos C-22, C-24 y C-21, que corresponde al anillo de la amida.

Las señales del anillo aromático se asignaron en base a su espectro HETCOR (Figura 44) en la cual se pudo asignar la correlación entre C-H del anillo amídico C-22, C-23, C-24, C-25 respectivamente.



Figura 40. Miel de la 2α -hidroxi-*N*-(piridin-2-il)eperuamida (**10**).

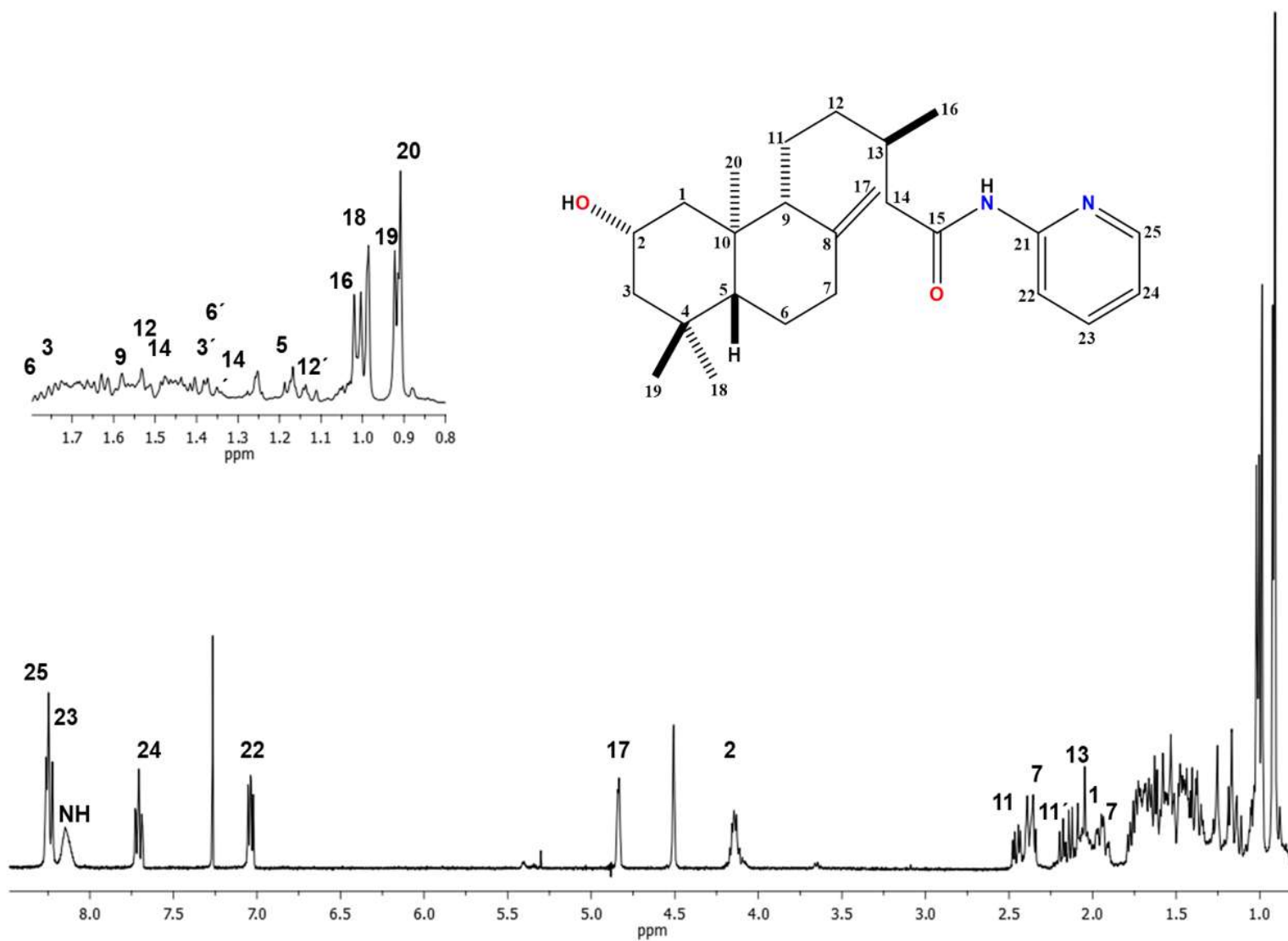


Figura 41. Espectro de RMN de ¹H (400 MHz) del 2 α -hidroxi-N-(piridin-2-il)eperuamida (**10**) en CDCl₃.

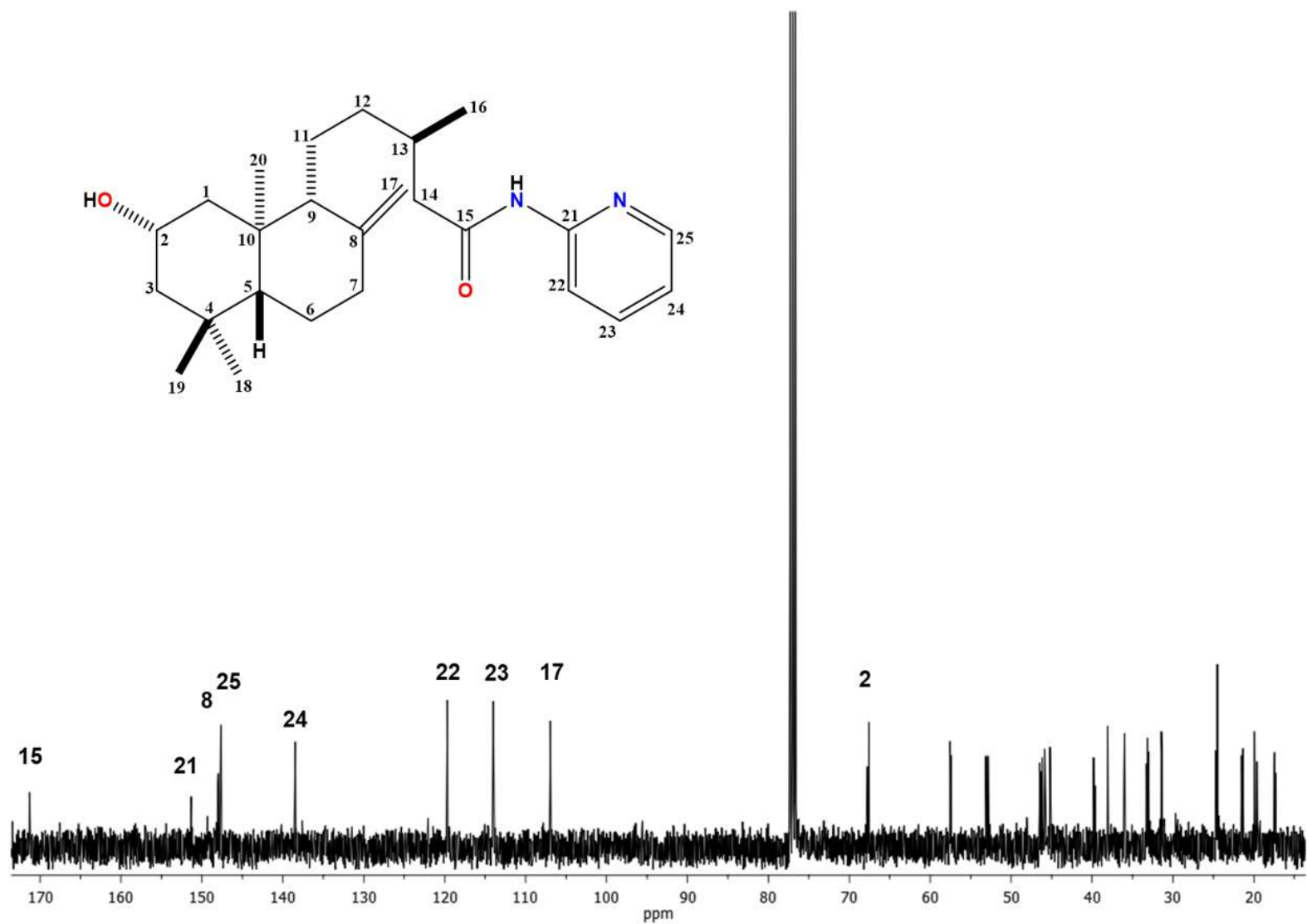


Figura 42. Espectro de RMN de ¹³C (100 MHz) del 2 α -hidroxi-N-(piridin-2-il)eperuamida (**10**) en CDCl₃.

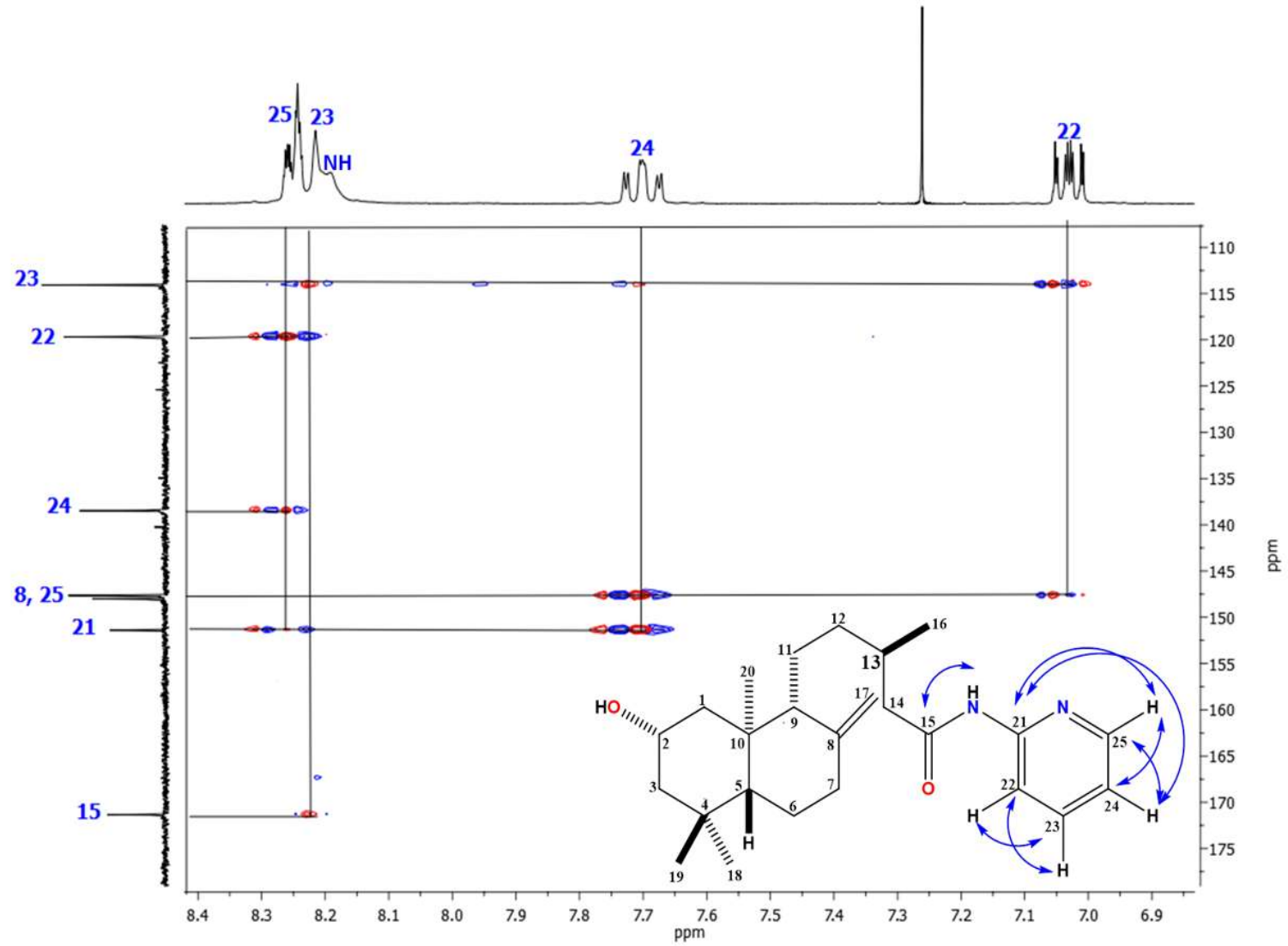


Figura 43. Ampliación del espectro HMBC de la amida **10** en CDCl₃.

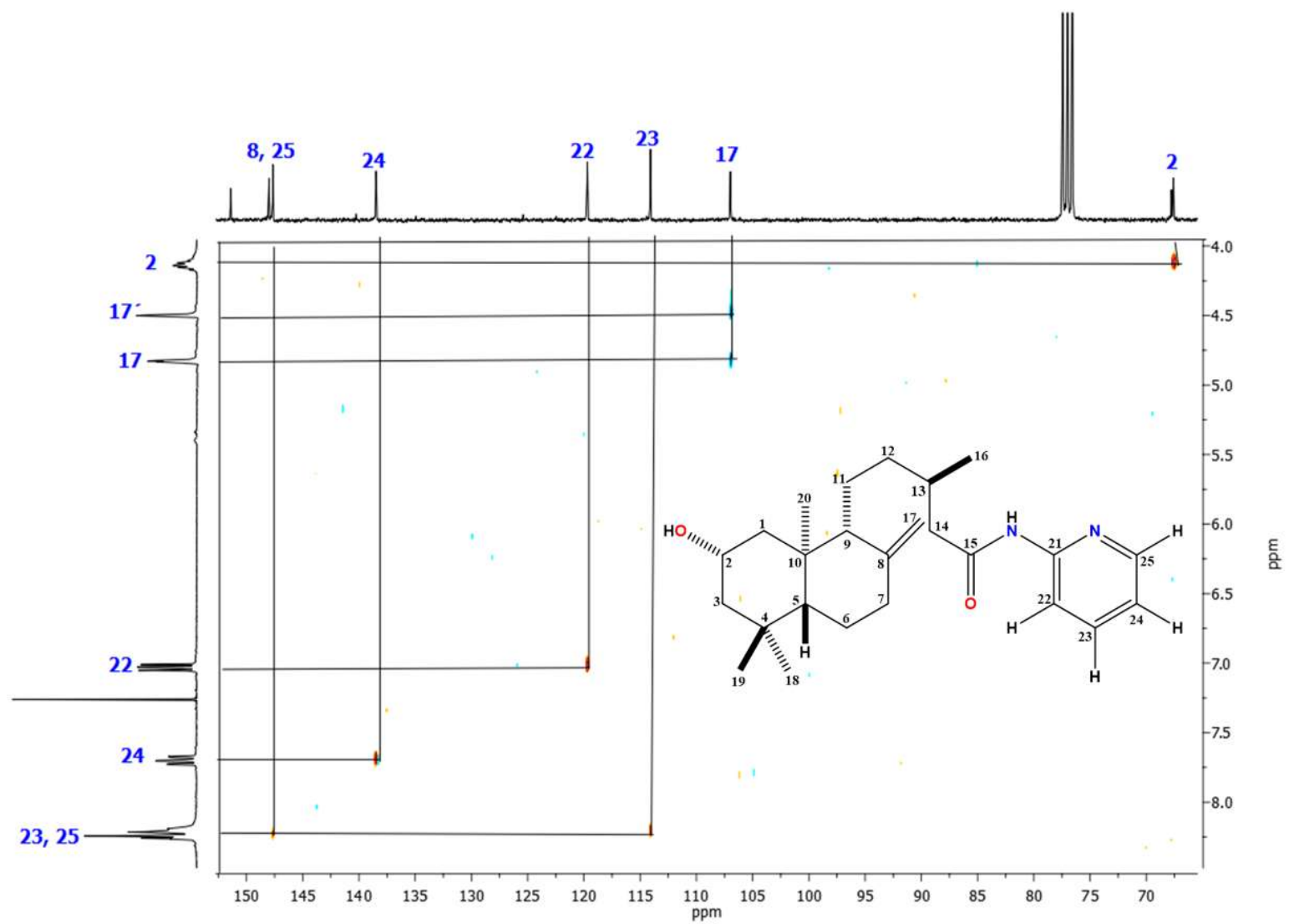


Figura 44. Ampliación del espectro HETCOR de la amida 10 en CDCl₃.

De los cálculos computacionales se obtuvieron distintos conformémeros pertenecientes al compuesto **10**, arrojando como mínimo global el conformémero que se muestra en la (Figura 45), debido a que presenta una energía de $E_{\text{DFT}} = -1235.09$ hartrees. De todos los conformémeros obtenidos durante los cálculos realizados computacionalmente cabe mencionar que en este conformémero se observa un arreglo conformacional que hace que el sustituyente incorporado en la cadena lateral C-15, no intente acoplarse con el hidroxilo de la posición C-2 lo que nos hace pensar que no existe una interacción entre ellos, por lo tanto el arreglo que el conformémero toma es diferente a los conformémeros que cuentan con sustituyentes distintos en las posiciones C-2 y C-15.

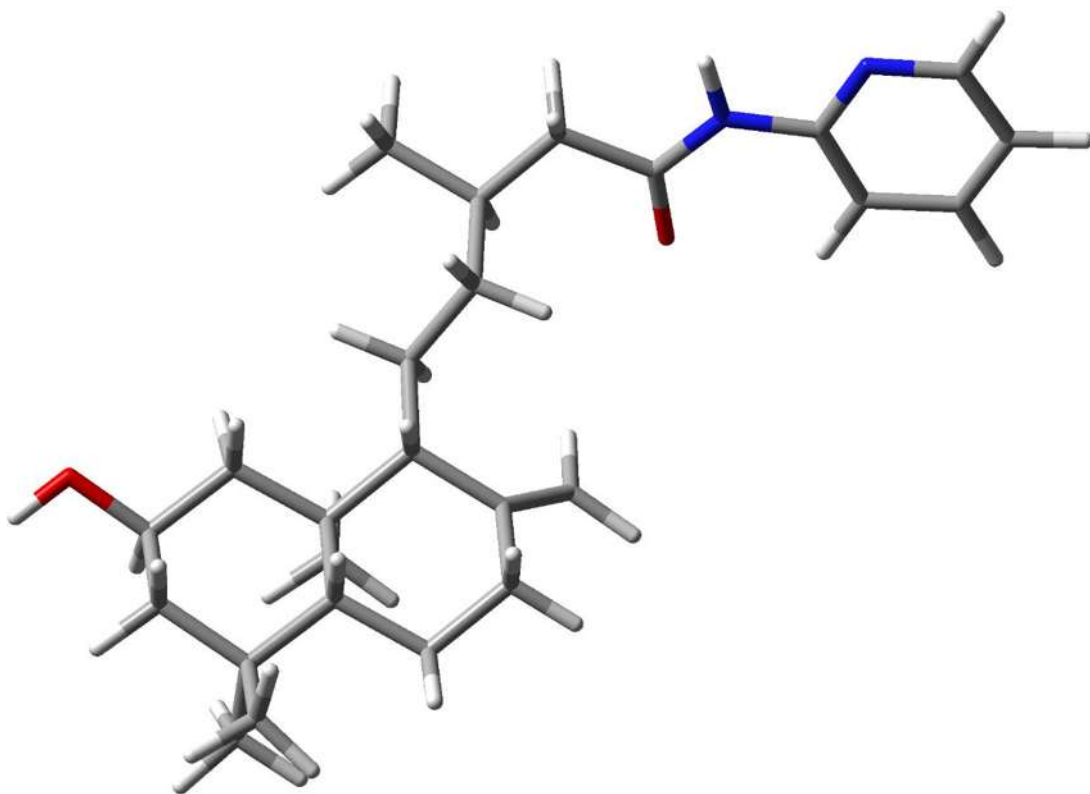
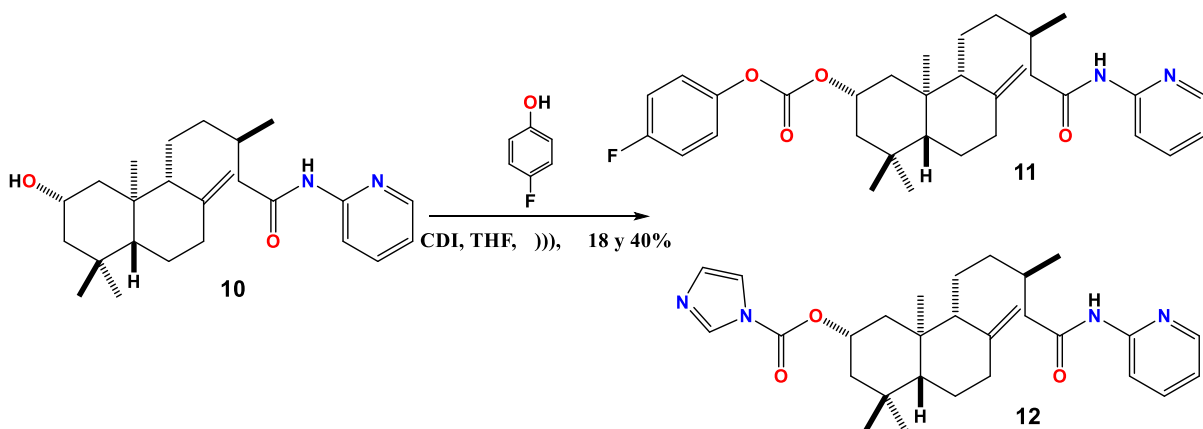


Figura 45. Mínimo global de la 2α -hidroxi-*N*-(piridin-2-il)eperuamida **10**.

5.5. Preparación del carbonato a partir del 2 α -hidroxi-*N*-(piridin-2-il)eperuamida (**11**) e intermediario acil-imidazol (**12**)

El carbonato **11** se preparó partiendo de la amida **10**. En una primera etapa **10** se hizo reaccionar con CDI para la activación del grupo hidroxilo C-2 durante 8 h. Posteriormente en una segunda etapa se adicionó el reactivo 4-fluorofenolen en baño ultrasónico a temperatura ambiente por 12 h más, obteniendo el compuesto de interés una miel incolora, también se pudo identificar el intermediario acil imidazol **12**.



En el espectro de RMN de ^1H de **11** (Figura 46) destacan las señales a campo bajo para los hidrógenos aromáticos: en 8.25 ppm una señal múltiple para H-25, en 8.21 ppm una señal simple para H-23 y en 7.69 ppm una señal triple ($J = 0.9$) para H-24, en 7.13 una señal múltiple para H-28, en 7.12 ppm una señal múltiple para el H-28', en 7.07 ppm una señal múltiple para el H-29, en 7.07 ppm una señal múltiple para H-29', en 7.04 una señal múltiple para H-22. En 5.07 una señal múltiple correspondiente al H-2, así mismo en 4.88 y 4.53 ppm se observaron dos señales una múltiple y una simple correspondientes a los hidrógenos del metileno exocíclico H-17 y H-17' respectivamente, así como el resto de las señales características del sistema.

En el espectro de RMN de ^1H de **12** (Figura 48) destacan las señales aromáticas en 8.24 ppm una señal múltiple para H-25, en 8.22 ppm una señal simple para H-23, en 8.12 una señal simple para H-27, en 7.71 un señal multiple para H-24, en 7.40 una señal múltiple para H-28, en 7.07 una señal múltiple para H-29 así como el resto de las señales características del sistema diterpenico.

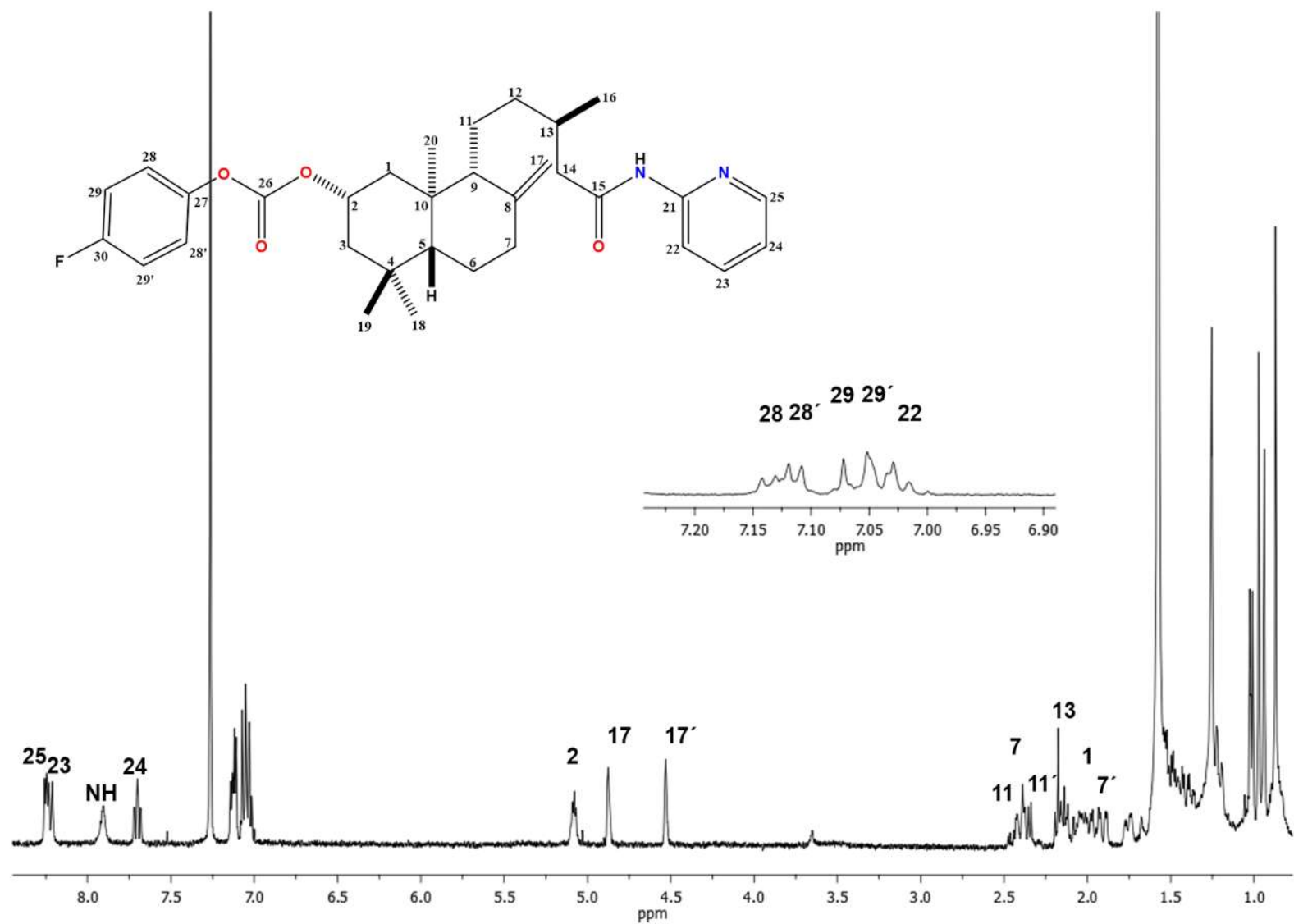


Figura 46. Espectro de RMN de ¹H (400 MHz) del carbonato **11** en CDCl₃.

De los conformeros obtenidos mediante los cálculos computacionales para el compuesto **11**, se obtuvo el mínimo global que se muestra en la (Figura 47), que presenta una energía de $E_{\text{DFT}} = -1753.95$ hartrees. De todos los conformeros obtenidos durante los cálculos realizados computacionalmente cabe mencionar que estos presentan la misma disposición en el sistema base diterpénico, tomando un arreglo conformacional que hace que los sustituyentes incorporados en las cadenas laterales de C-2 y C-15, intenten acoplarse una con otra, lo que permite suponer que existe una interacción entre los electrones de los anillos aromáticos que hace que tomen tal conformación.

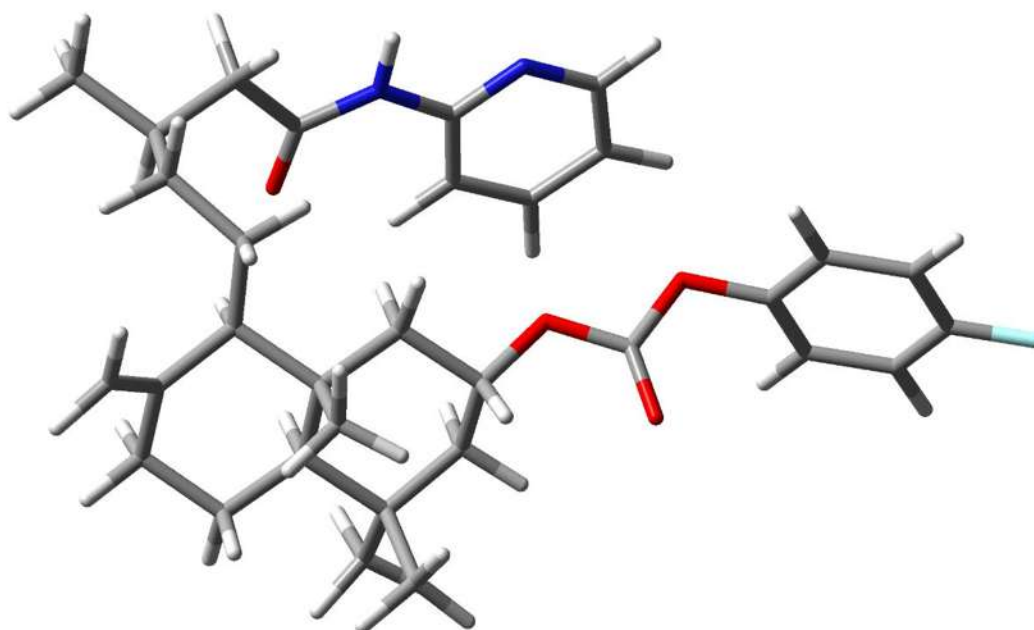


Figura 47. Mínimo global del carbonato **11**.

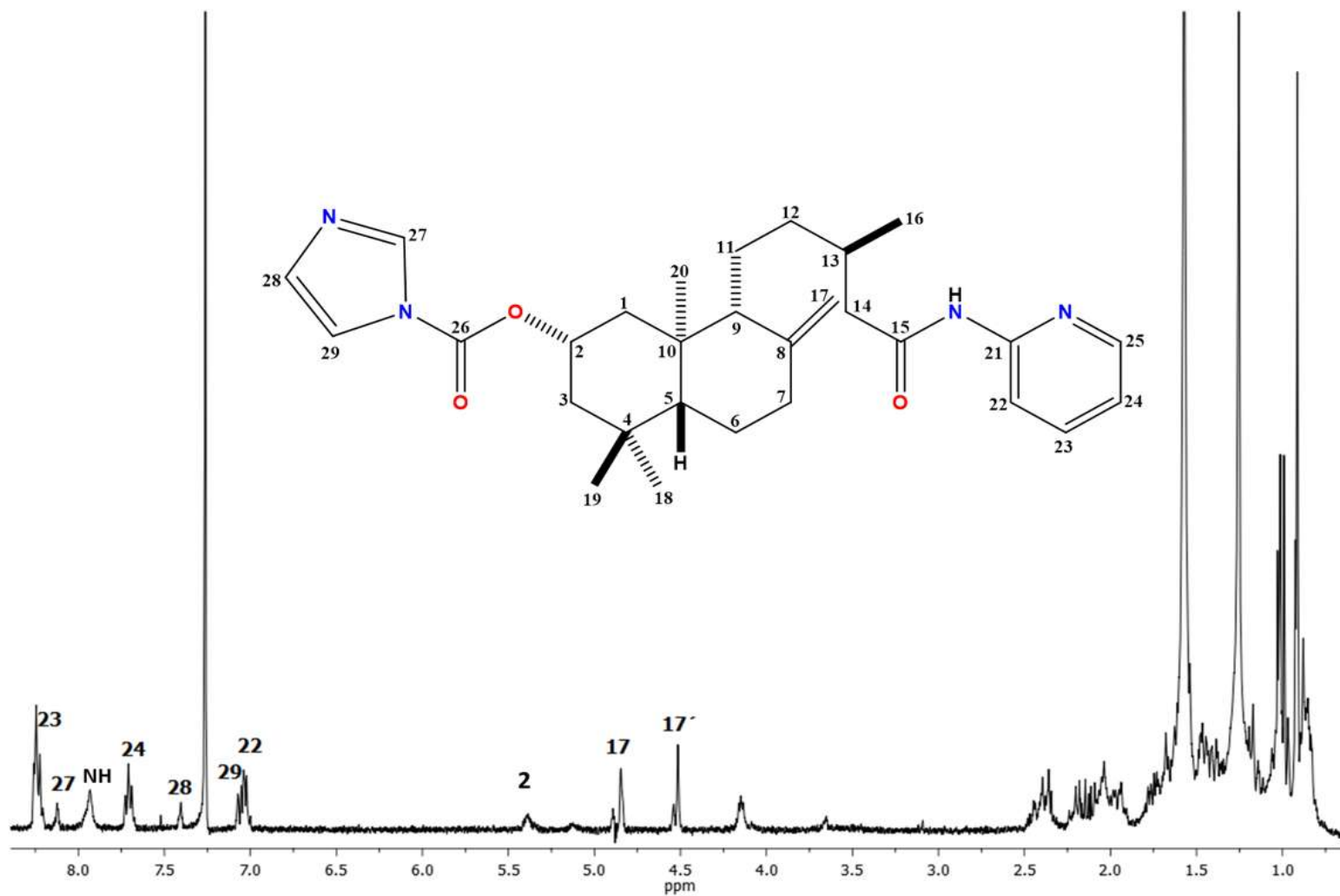


Figura 48. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) del intermediario acil-imidazol **12** en CDCl_3 .

De los conformeros obtenidos mediante los cálculos computacionales para el compuesto **12**, se obtuvo el mínimo global que se muestra en la (Figura 49), que presenta una energía de $E_{\text{DFT}} = -1573.45$ hartrees. De todos los conformeros obtenidos durante los cálculos realizados computacionalmente, se observa que los sustituyentes incorporados en las cadenas laterales de C-2 y C-15, están distanciados uno del otro observándose que no toman un arreglo conformacional que hace que los sustituyentes intenten acoplarse, quizás esto se deba a que no existe alguna interacción entre ellos.

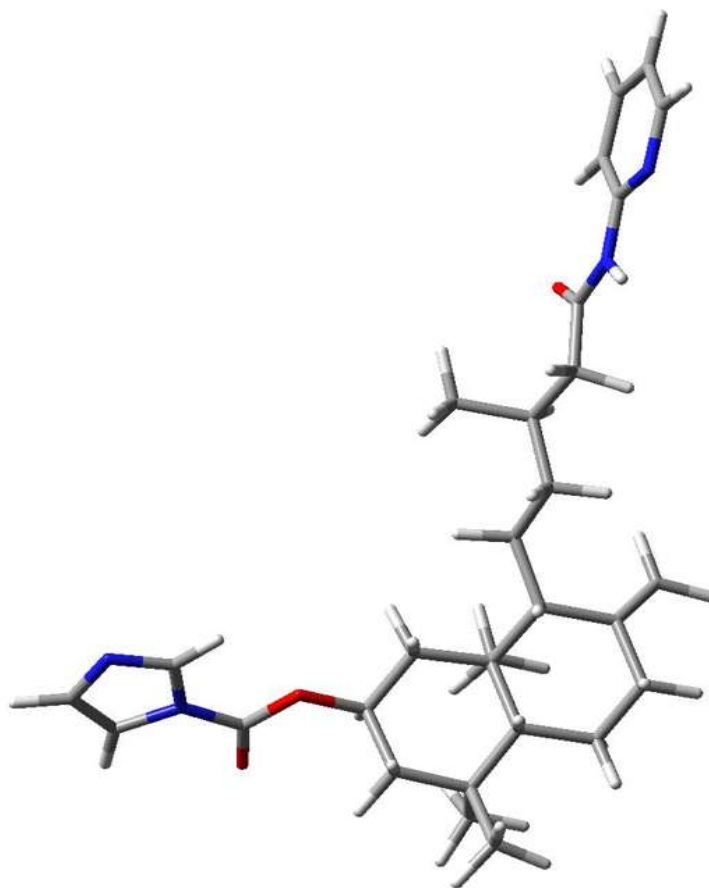
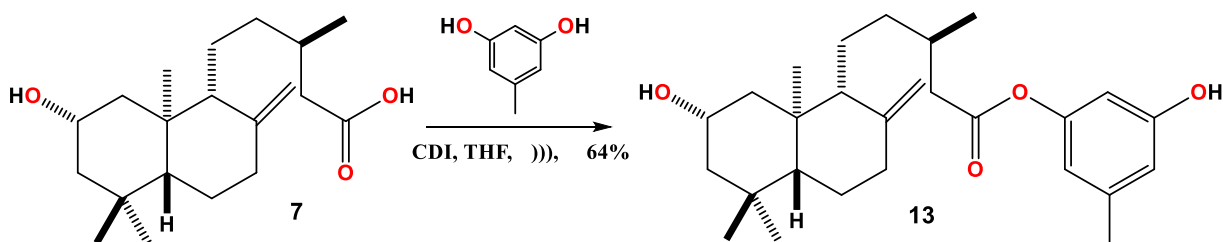


Figura 49. Mínimo global del acil-imidazol **12**.

5.6. Preparación del 2 α -hidroxi-15-eperuato de 3-hidroxi-5-metilfenilo (**13**)

El producto de reacción con orcinol se preparó partiendo del ácido 2 α -hidroxieperuico (**7**), en una primera etapa el derivado **7** se hizo reaccionar con CDI para la activación del grupo carboxilo C-15 durante 90 min. Posteriormente en una segunda etapa se adicionó el orcinol en baño ultrasónico a temperatura ambiente para la formación del éster, obteniendo el compuesto de interés en forma de miel con un color ámbar.



En el espectro de RMN de ^1H de **13** (Figura 50) se observó en 6.51 ppm una señal simple correspondiente al H-24, en 6.44 ppm una señal simple para H-26, en 6.41 ppm una señal simple correspondiente al H-22, dos señales simples en 4.87 y 4.55 ppm correspondientes a los hidrógenos del metileno exocíclico H-17 y H-17' respectivamente. En 4.15 ppm se apreció una señal múltiple correspondiente al hidrógeno base de hidroxilo H-2, así como a campo más alto, todas las demás señales características de nuestro sistema base.

En el espectro de RMN de ^{13}C de **13** (Figura 51) se observaron 27 señales que confirman la presencia del producto de reacción, teniendo como señales características en 172.0 ppm se observó la señal propia para el carbonilo C-15, en 147.9 ppm se observó la señal del C-8 base del metileno exocíclico, en 107.0 ppm se apreció la señal del carbono del metileno exocíclico C-17, en la región de los carbonos aromáticos se observaron seis señales correspondientes a C-23, C-21, C-25, C-26, C-24, C-22 a 156.6, 151.3, 140.6, 114.2, 113.9 y 106.2 ppm respectivamente del anillo

aromático. En 68.0 ppm se observó la señal del carbono base de hidroxilo C-2 principalmente, así como a campo alto se observó en 21.4 ppm una señal de metileno correspondiente C-27.

Las señales del anillo aromático se asignaron en base a su espectro HETCOR de **13** (Figura 52) en la cual se pudo asignar la correlación entre C-H correspondientes a C-22, C-24, C-26, respectivamente.

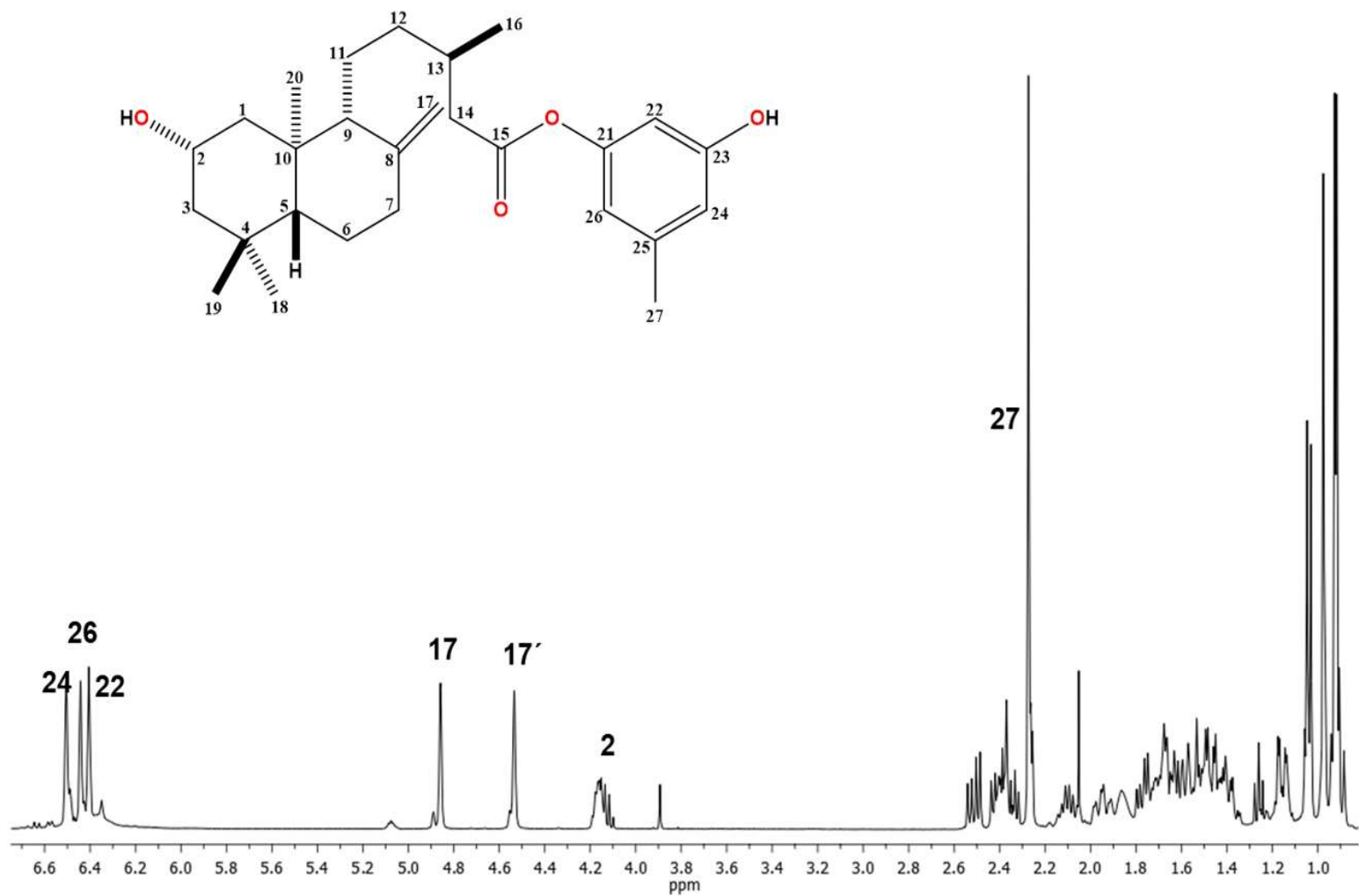


Figura 50. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) del 2 α -hidroxi-15-eperuato de 3-hidroxi-5-metilfenilo (**13**) en CDCl_3 .

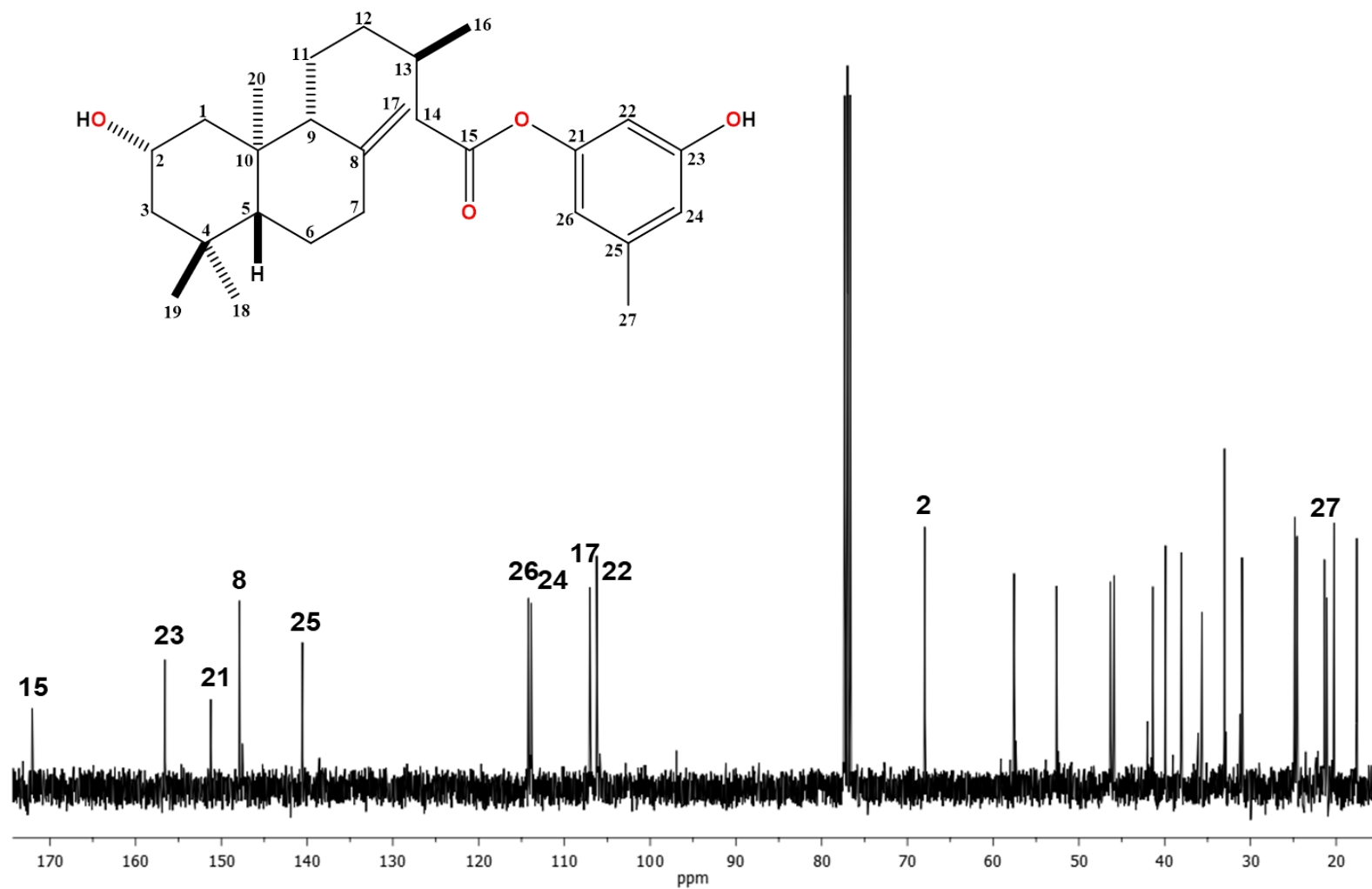


Figura 51. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) del 2 α -hidroxi-15-eperuato de 3-hidroxi-5-metilfenilo (13) en CDCl_3 .

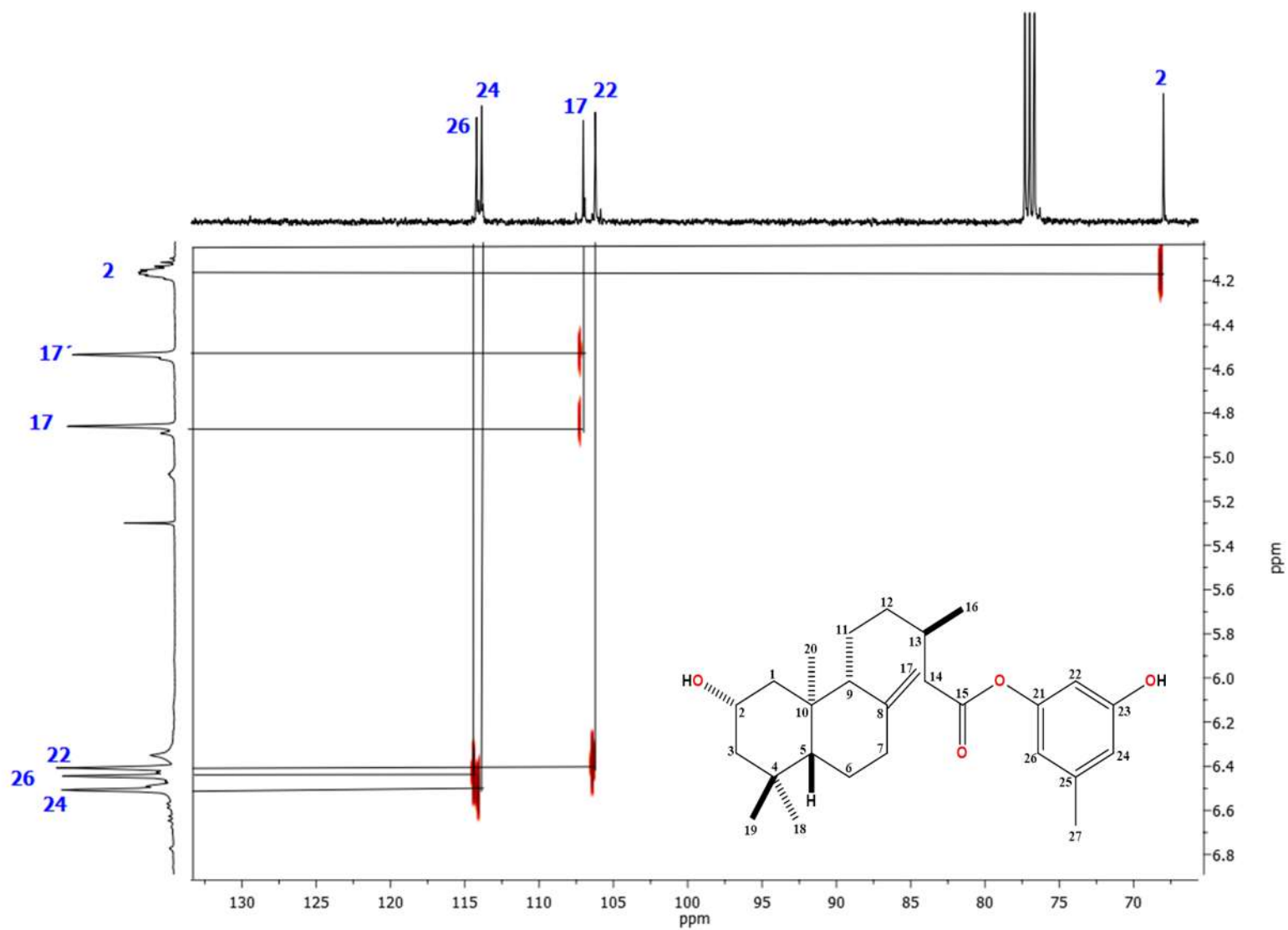


Figura 52. Ampliación del espectro HETCOR del 2 α -hidroxi-15-epurato de 3-hidroxi-5-metilfenilo (**13**).en CDCl₃.

De los conformeros obtenidos mediante los cálculos computacionales para el compuesto **13**, se obtuvo el mínimo global que se muestra en la (Figura 51), que presenta una energía de $E_{\text{DFT}} = -1353.43$ hartrees. De todos los conformeros obtenidos durante los cálculos realizados computacionalmente cabe mencionar que estos presentan la misma disposición en el sistema base diterpénico, tomando un arreglo conformacional que hace que el protón de hidroxilo del C-2 interactúe con el hidroxilo perteneciente al anillo aromático, a lo que nos hace pensar que esa interacción puede ser por puentes de hidrogeno por los sustituyentes que se presentan, es necesario confirmar tal supuesto para ello es necesario llevar a cabo este estudio más a fondo.

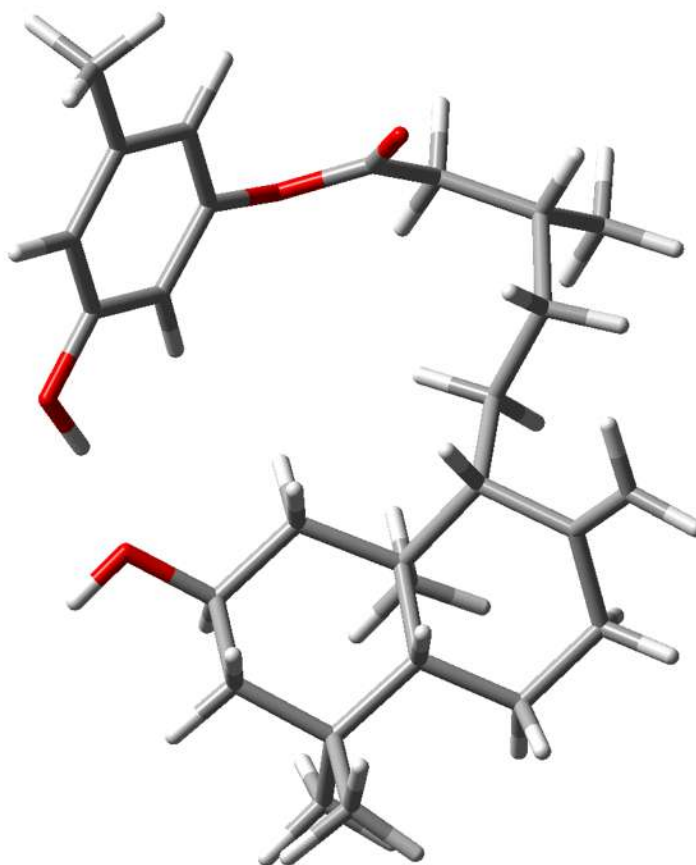
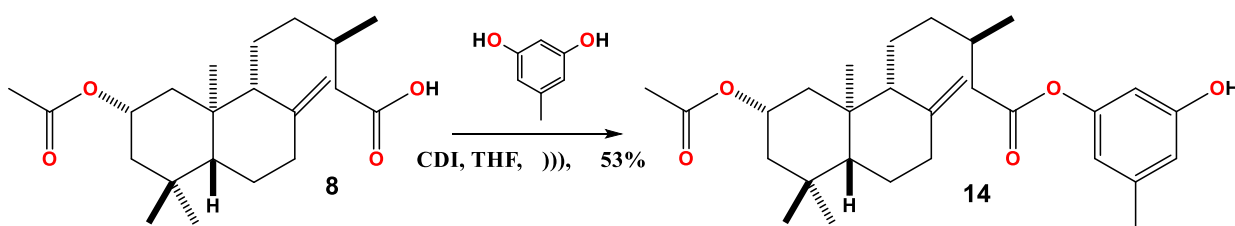


Figura 53. Mínimo global del compuesto 2 α -hidroxi-15-eperuato de 3-hidroxi-5-metilfenilo **13**.

5.7. Preparación del 2 α -hidroxi-15-eperuato de 3-acetoxi-5-metilfenilo (**14**)

El producto de reacción con orcinol se preparó partiendo del derivado ácido 2 α -acetoxieperuico (**8**) en una primera etapa el derivado **8** se hizo reaccionar con CDI para la activación del grupo carboxilo C-15 durante 90 min. Posteriormente en una segunda etapa se adicionó el orcinol, la mezcla se llevó a baño ultrasónico a temperatura ambiente para la formación del enlace éster, obteniendo el compuesto de interés como una miel incolora.



En el espectro de RMN de ^1H de **14** (Figura 54) se observaron cómo señales características en 6.54 ppm una señal doble ($J = 5.5$ Hz) correspondiente a H-26, en 6.43 ppm una señal doble ($J = 5.2$ Hz) para H-28, en 6.36 ppm una señal triple ($J = 0.3$ Hz) para H-24, en 5.14 ppm una señal múltiple correspondiente al hidrógeno base de éster H-2, dos señales simples en 4.88 y 4.54 ppm correspondientes a los hidrógenos del metileno exocíclico H-17 y H-17' respectivamente. Hacia campo más alto en 2.28 ppm una señal simple correspondiente al metilo Me-29, en 2.05 ppm una señal simple para el Me-22, así como todas las demás señales características del sistema base.

En el espectro de RMN de ^{13}C de **14** (Figura 55) se observaron 29 señales que confirman la presencia del producto de reacción, teniendo como señales características en 171.8 ppm la señal propia para el carbonilo C-15, en 171.6 ppm la señal perteneciente al carbonilo C-21, en 147.9 ppm la señal del carbono vinílico C-8,

en 107.3 ppm la señal del carbono del metileno exocíclico C-17. En la región de los carbonos aromáticos se observaron seis señales correspondientes a C-25, C-23, C-27, C-28, C-26 y C-24 a 157.8, 151.2, 140.5, 114.1, 113.9 y 106.0 ppm respectivamente del anillo aromático. En 71.3 ppm se observó la señal del carbono base de éster C-2 principalmente, así como a campo alto se observó en 21.6 ppm una señal de metilo correspondiente C-29.

Las señales del anillo aromático de **14** se asignaron en base a su espectro HETCOR (Figura 56) en la cual se pudo asignar la correlación entre C-H pertenecientes al C y H del anillo enumerado C-24, C-26 y C-28 respectivamente.

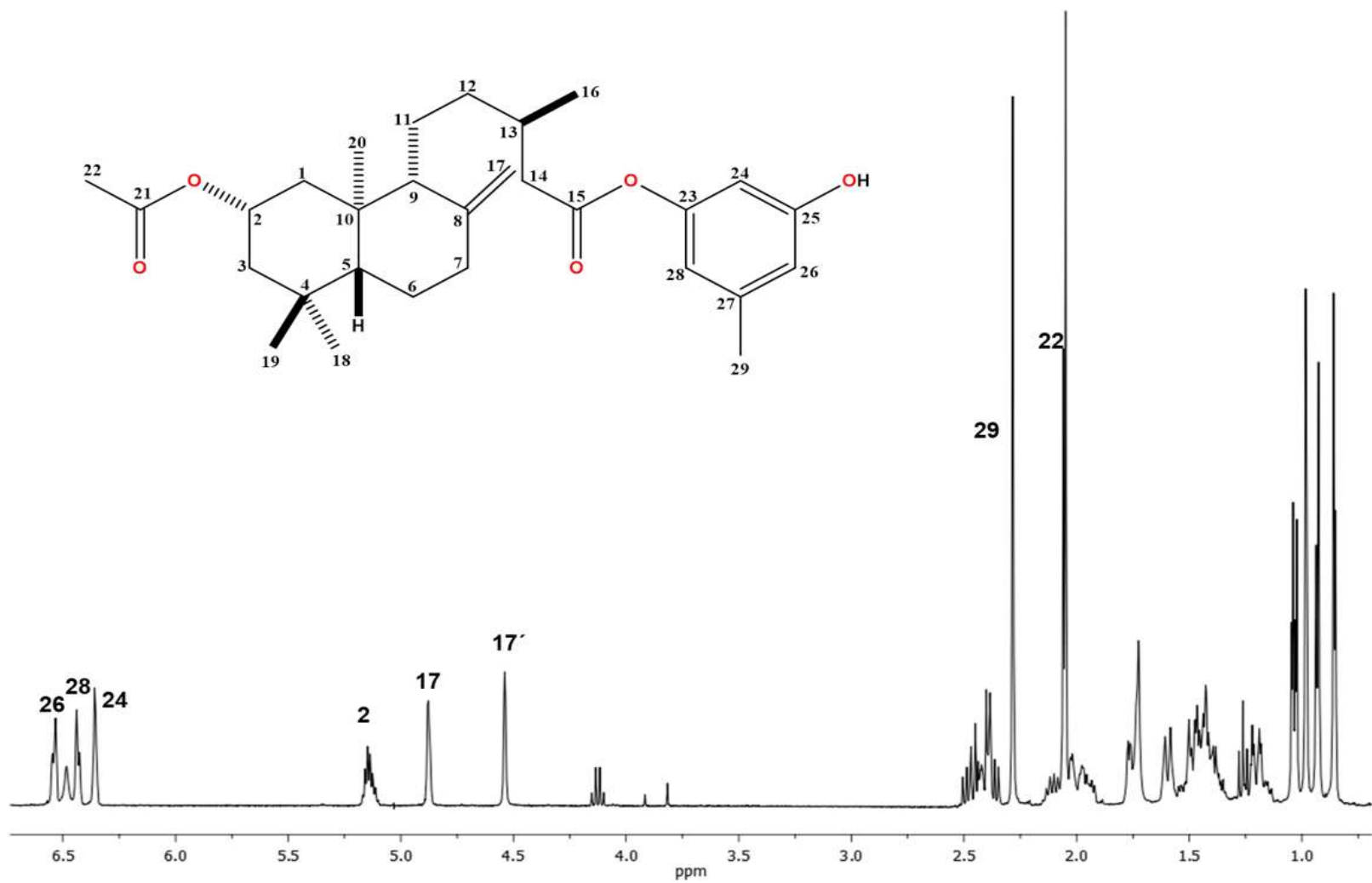


Figura 54. Espectro de RMN de ¹H (400 MHz) del 2 α -acetoxi-15-eperuato de 3-hidroxi-5-metilfenilo (14) en CDCl₃.

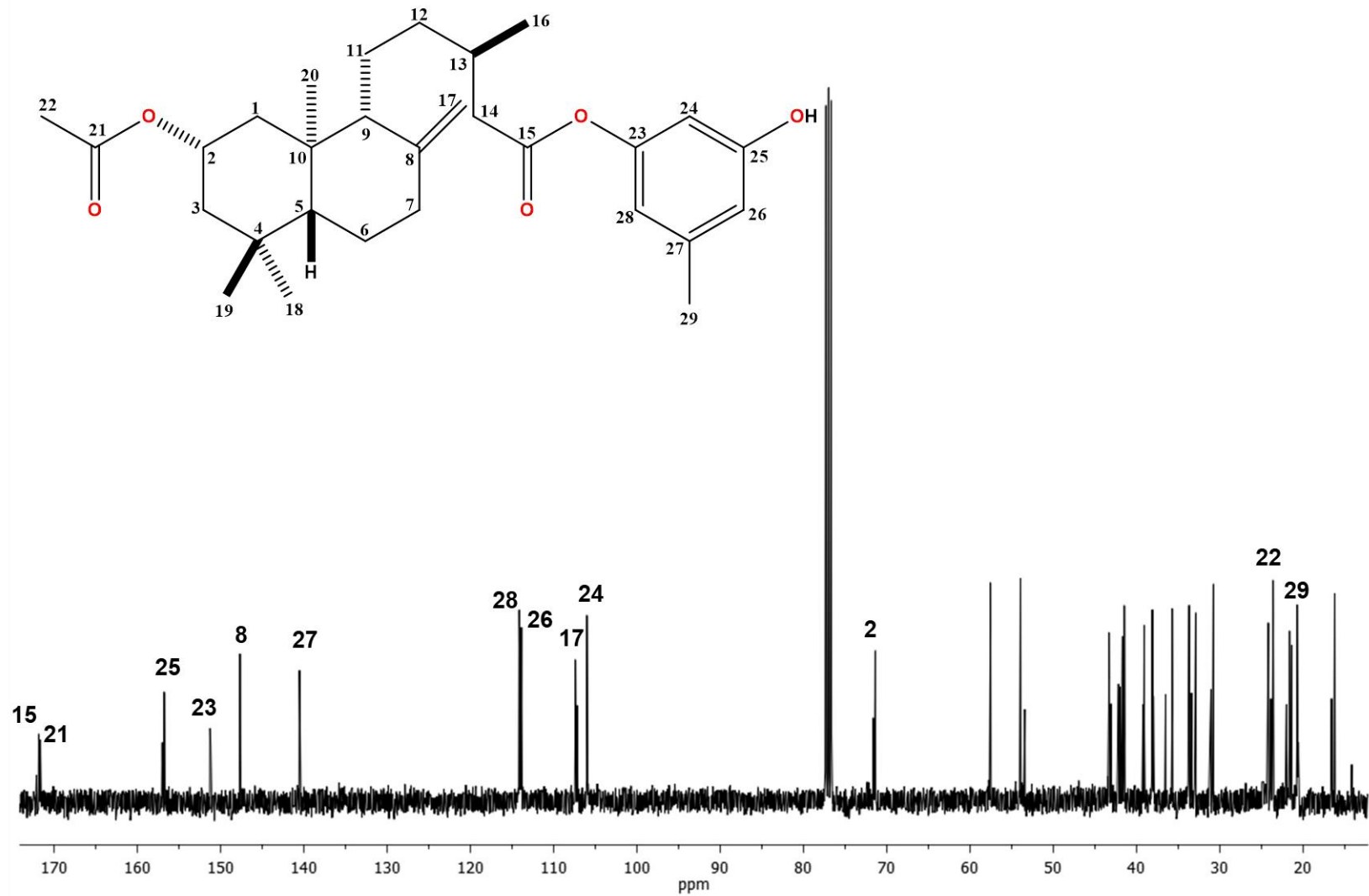


Figura 55. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) del 2 α -acetoxi-15-eperuato de 3-hidroxi-5-metilfenilo (14) en CDCl₃.

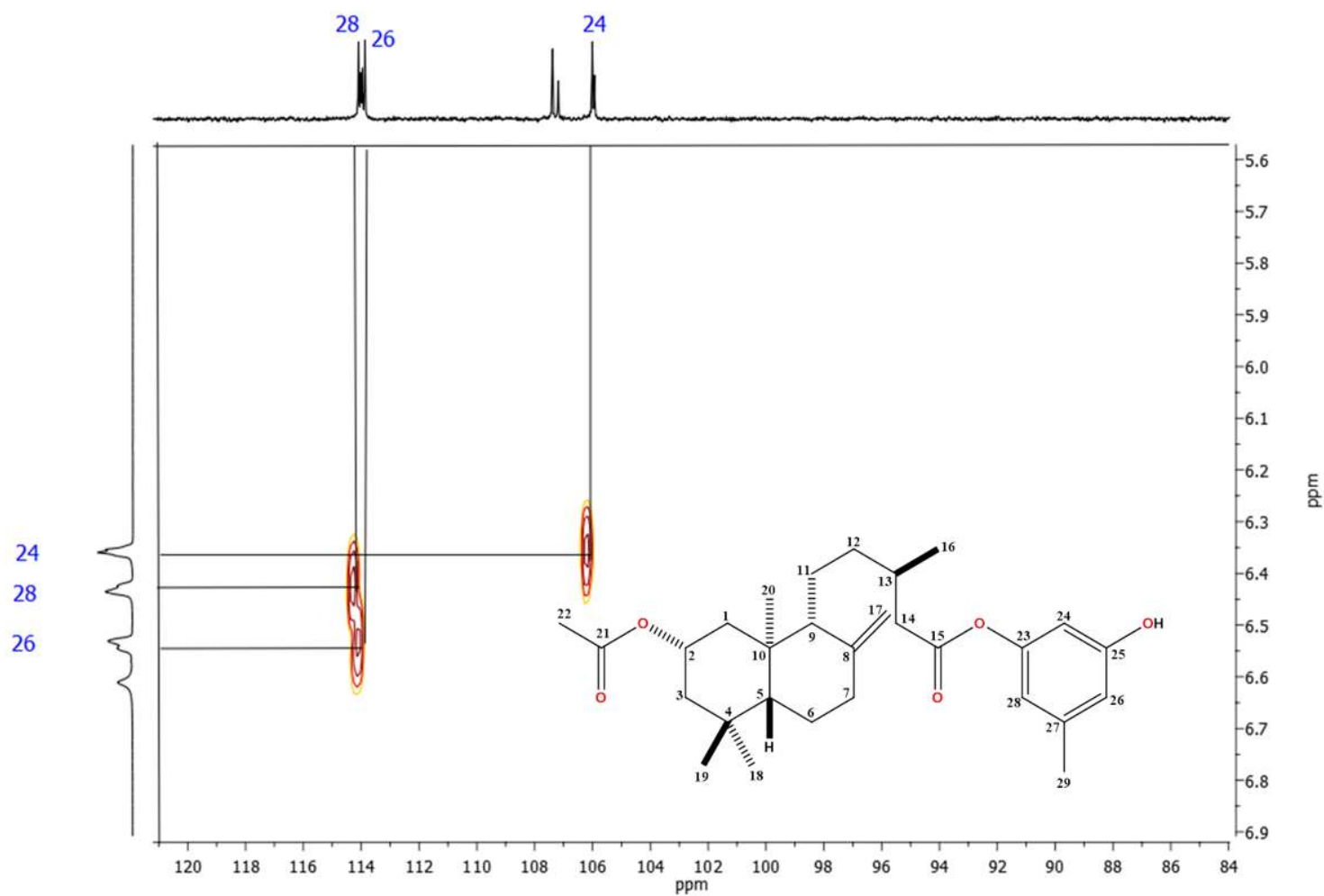


Figura 56. Ampliación del espectro HETCOR del 2 α -acetoxi-15-eperuato de 3-hidroxi-5-metilfenilo (**14**) en CDCl₃.

De los conformeros obtenidos mediante los cálculos computacionales para el compuesto **14**, se obtuvo el mínimo global que se muestra en la (Figura 55), que presenta una energía de $E_{\text{DFT}} = -1466.810994$ hartrees. De todos los conformeros obtenidos durante los cálculos realizados computacionalmente cabe mencionar que estos presentan la misma disposición en el sistema base diterpénico, tomando un arreglo conformacional que hace que los sustituyentes incorporados en las cadenas laterales de C-2 y C-15, intenten acoplarse una con otra, lo que nos lleva a pensar que existe una interacción entre ellos que hace que tomen tal conformación. Podría mencionarse la interacción por puentes de hidrógeno que pudiese existir entre el protón del hidroxilo del anillo aromático y el carbonilo del acetilo.

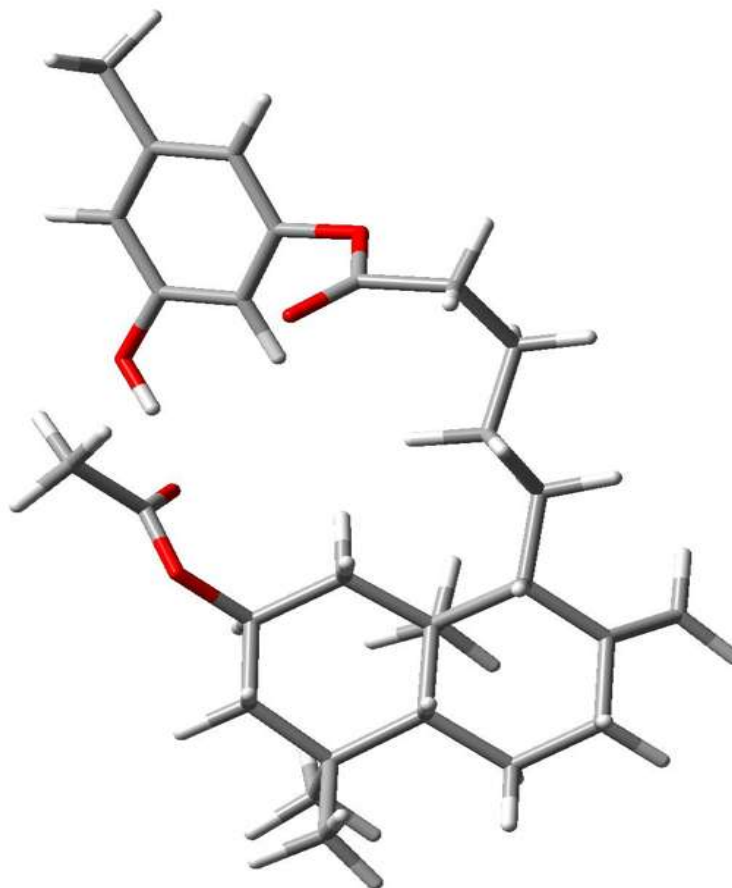


Figura 57. Mínimo global del compuesto 2 α -acetoxi-15-epiperuato de 3-hidroxi-5-metilfenilo **14**

6. CONCLUSIONES

Para la presente investigación se llevó a cabo el estudio con el extracto hexánico de flores de *Ageratina petiolaris*, del cual mediante una hidrólisis básica del extracto se pudo obtener el ácido 2 α -hidroxieperuico (**7**) en forma de cristales.

El compuesto acetilado **8** se obtuvo a partir del derivado **7**, mediante una acetilación con anhídrido acético y piridina.

El tratamiento del ácido 2 α -hidroxieperuico (**7**) fue posible gracias a la activación de los grupos OH y COOH presentes en la estructura ubicados en la posición C-2 y C-15, y al activador (CDI) para generar el intermediario acil-imidazol y después ser tratado con una amina para generación de los derivados **9** y **10**.

Para la formación del compuesto **11** se vio comprometido el grupo hidroxilo en la posición C-2, partiendo del derivado **9** que mediante la activación por parte del CDI pudo obtenerse el carbamato propuesto.

Para la preparación de los ésteres se partió de los compuestos **7** y **8**, para así obtener los derivados **13** y **14** sufriendo una modificación en C-2 y C-15.

Cabe destacar que los derivados **9**, **10**, **11**, **12**, **13** y **14** fueron sometidos a tratamiento con ondas ultrasónicas. Es importante profundizar con la exploración química de estos compuestos para encontrar las condiciones óptimas de reacción y aumentar su rendimiento.

La construcción de los modelos moleculares y la búsqueda de las estructuras de mínima energía se llevó a cabo mediante Mecánica Molecular aplicando el método de Monte Carlo y la optimización mediante Teoría de Funcionales de la Densidad a nivel de cálculo B3LYP/DGDZVP de cada compuesto, esto con el fin de obtener el mínimo global de cada uno de los derivados.

7. PARTE EXPERIMENTAL

7.1. Generalidades

Para las separaciones cromatográficas en columna abierta se utilizó como fase estacionaria sílica gel 60, de 230-400 mallas, y como fase móvil mezclas de disolventes orgánicos en orden ascendente de polaridad. La cromatografía en columna se monitoreó por cromatografía en placa fina, observándose bajo luz UV y fueron reveladas con soluciones de sulfato cérico amoniacal.

Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear de ^1H a 400 MHz y de ^{13}C a 100 MHz se determinaron en un espectrómetro Varian Mercury Plus 400, los experimentos COSY, NOESY, HSQC y HMBC se determinaron en un espectrómetro Varian Mercury 300. Empleando como disolventes cloroformo deuterado (CDCl_3), y como referencia tetrametilsilano (TMS). La multiplicidad de las señales se indica de acuerdo a las siguientes abreviaturas: s (simple), d (doble), t (triple), q (cuádruple), quint (quíntuple) y m (múltiple).

7.2. Colecta de la especie vegetal

Ageratina petiolaris fue colectada el 01 de marzo de 2014 en San Joaquín Morelos, Municipio de Tlalpujahua, Michoacán a 2592 msnm ($19^\circ 44' 48.99''$ Norte, $100^\circ 14' 45.37''$ Oeste), cuando se encontraba en floración.

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

La única parte de interés para el desarrollo de nuestro proyecto fue la flor de *A. petiolaris*.

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

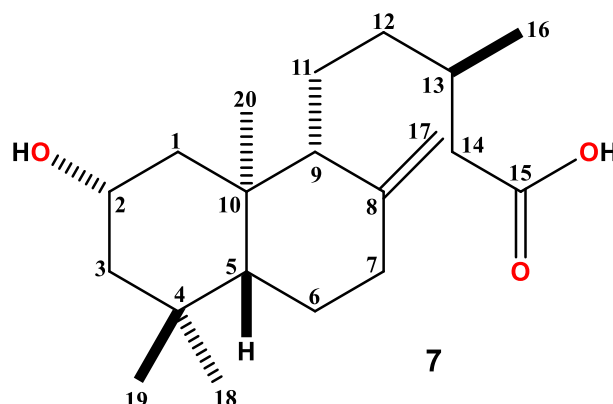
Se obtuvo el extracto hexánico de flores de *Ageratina petiolaris*, sometiendo a maceración la cantidad de 380 g de flores secas, con 3 L de hexano durante 7 días. Se filtró y se concentró en rotavapor, este procedimiento se repitió 4 veces para el mismo lote obteniéndose 21 g de una miel color verde oscuro (6% de rendimiento).

7.4. Modelado molecular de los ácidos y sus derivados

Los modelos moleculares se construyeron utilizando el programa Spartan'14 y aplicando el protocolo de Monte Carlo (MC) para la búsqueda conformacional empleando mecánica molecular (MMFF) para encontrar las estructuras de mínima energía de los ácidos **9**, **10**, **11**, **12** **13** y **14**. Los confórmeros de mínima energía se optimizaron mediante la Teoría de Funcionales de la Densidad (DFT) a nivel de cálculo B3LYP/DGDZVP.

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

En un matraz balón de 500 mL se disolvieron 5 g de extracto hexánico de flor de *Ageratina petiolaris*, en 200 mL de metanol y se agregaron 5 g de hidróxido de potasio (KOH). La mezcla de reacción se llevó a reflujo durante 4 h. Posteriormente se agregaron 120 mL de ácido clorhídrico al 10% hasta llegar a un pH de 2-3. Se vertió en un embudo de separación de 500 mL sobre hielo y se extrajo con acetato de etilo (AcOEt). Se lavó 4 veces con agua agitando ligeramente y se secó con sulfato de sodio anhidro (Na₂SO₄). Se concentró en rotavapor hasta sequedad absoluta y se obtuvo un producto verde. El producto de la reacción fue sometido a purificación cromatográfica en columna abierta, usando una fase estacionaria de sílice gel de 230-400 mallas y como fase móvil se utilizaron mezclas de hexano-acetato de etilo, en orden ascendente de polaridad. De las fracciones eluidas con hexano-acetato de etilo (7:3) se obtuvieron 117 mg del ácido 2 α -hidroxieperuico en forma de agujas con 23% de rendimiento.



Agujas incoloras, p.f. 127-128°C.

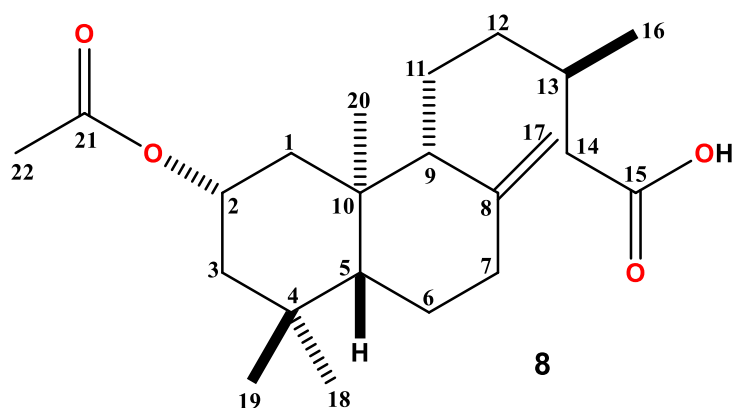
RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 4.84 (1H, s, H-17), 4.50 (1H, s, H-17'), 4.17 (1H, quint, $J = 5.4$ Hz, H-2), 2.39 (1H, m, H-7) 2.39 (1H, dd, $J = 14.7, 5.4$ Hz, H-14), 2.12 (1H, dd, $J = 14.7, 8.4$ Hz, H-14'), 1.95 (1H, m, H-7'), 1.94 (1H, m, H-13), 1.77 (1H, m, H-1), 1.71 (1H, m, H-6), 1.64 (1H, m, H-3), 1.61 (1H, m, H-1'), 1.57 (1H, m, H-9), 1.51 (1H, m, H-12), 1.49 (1H, m, H-3'), 1.48 (1H, m, H-11), 1.42 (1H, m, H-6'), 1.15 (2H, dd, $J = 12.5, 2.8$ Hz, H-5), 1.03 (1H, m, H-12'), 0.99 (3H, s, Me-18), 0.98 (3H, d, $J = 6.2$ Hz, Me-16), 0.92 (3H, s, Me-19), 0.91 (3H, s, Me-20).

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

7.6. Esterificación del ácido 7 para obtener el ácido 2 α -acetoxieperuico (**8**)

Para la obtención del compuesto **8** en un vial de 20 mL se disolvieron 500 mg (1.5515×10^{-3} mol) del ácido 2 α -hidroxieperuico (**7**) en 4 ml de piridina, y se agregaron

5 ml de anhídrido acético, calentando en baño de vapor durante 24 horas. Se vertió sobre hielo y se extrajo con acetato de etilo. Se lavó 3 veces con ácido clorhídrico al 10% y 4 veces con agua agitando ligeramente, se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró y concentró obteniendo un crudo de reacción con un ligero color café. El producto de la reacción se purificó en columna cromatográfica. De las fracciones eluídas con hexano-acetato de etilo (8:2) se obtuvieron 492 mg de una miel ligeramente ámbar con un 98.4% de rendimiento.



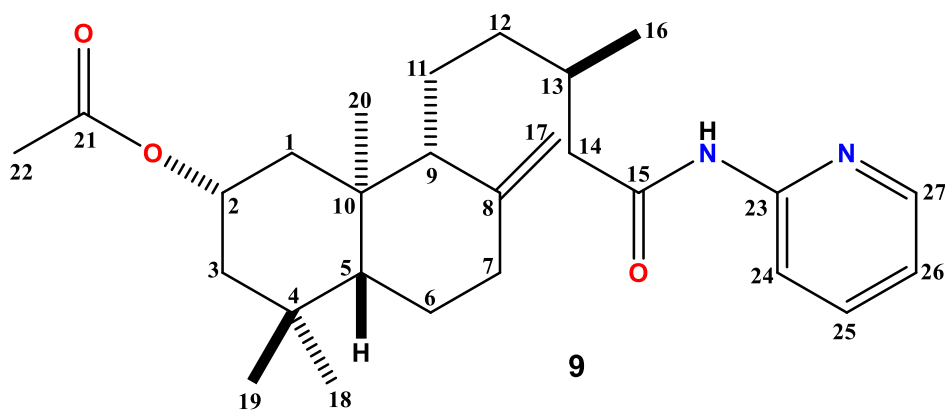
Miel ligeramente ámbar.

RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 5.15 (1H,quínt, $J = 4.4$ Hz, H-2), 4.86 (1H, s, H-17), 4.51 (1H,s, H-17'), 2.38 (2H, m, H-7), 2.37 (1H, dd, $J = 14.9, 5.4$ Hz, H-14), 2.12 (1H, dd, $J = 14.9, 8.4$, H-14'), 2.03 (3H, s, Me-22), 1.99 (1H, m, H-1), 1.93 (1H, m, H-13), 1.70 (1H, m, H-6), 1.70 (1H, m, H-3), 1.50 (1H, m, H-9), 1.47 (1H, m, H-12), 1.45 (1H, m, H-3'), 1.42 (1H, m, H-1'), 1.42 (1H, m, H-6'), 1.89 (1H, dd, $J = 12.5, 2.6$ Hz, H-5), 1.0 (1H, m, H-12'), 0.98 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, Me-16), 0.97 (3H, s, Me-18), 0.92 (3H, s, Me-19), 0.87 (3H, s, Me-20).

RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ 179.3 (C=O, C-15),170.6 (C=O, C-21), 147.6 (C, C-8), 107.1 (CH_2 , C-17), 70.6 (CH, C-2), 57.5 (CH, C-9), 54.0 (CH, C-5), 43.3 (CH_2 , C-3), 41.7 (CH_2 , C-1), 41.3 (CH_2 , C-14), 39.0 (C, C-10), 38.1 (CH_2 , C-7), 35.8 (CH_2 , C-12), 33.7 (CH_3 , C-19), 32.8 (C, C-4), 30.9 (CH, C-13), 24.1 (CH_2 , C-6), 23.5 (CH_3 , C-18), 21.6 (CH_3 , C-22), 21.2 (CH_2 , C-11), 19.8 (CH_3 , C-16), 16.0 (CH_3 , C-20).

7.7. Preparación de la amida 2 α -acetoxi-*N*-(piridin-2-il)eperuamida (**9**)

Se colocaron 50 mg (1.3726×10^{-4} mol) del ácido 2 α -acetoxieperuico (**8**) en un matraz balón. Con 1.5 equivalentes (2.3273×10^{-4} mol) de CDI se activó el grupo carboxilo de la materia prima para generar el intermediario acil-imidazol, utilizando THF como disolvente y colocando la reacción durante 90 min en baño ultrasónico. Transcurrido el tiempo se adicionaron 3 equivalentes (4.6547×10^{-4} mol) de 2-aminopiridina en el baño ultrasónico 90 min más; una vez completado el tiempo, la reacción se extrajo con acetato de etilo. El crudo se sometió a cromatografía en columna abierta con gel de sílice de 230-400 mallas. En las fracciones eluidas con hexano-acetato de etilo (75:25) se obtuvieron 20 mg de la amida correspondiente con un rendimiento del 40%.



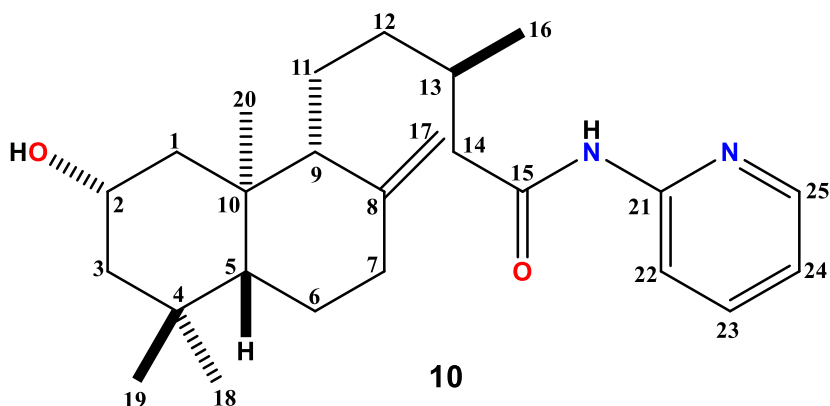
Miel incolora.

RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 8.24 (1H, m, H-27), 8.22 (1H, m, H-25), 7.70 (1H, m, H-26), 7.03 (1H, ddd, $J = 7.3, 4.8, 1.0$ Hz, H-24), 5.14 (1H, quint, $J = 4.1$ Hz, H-2), 4.84 (1H, s, H-17), 4.50 (1H, s, H-17'), 2.44 (1H, s, H-11), 2.40 (1H, m, H-7), 2.10 (1H, s, H-11'), 2.05 (1H, m, H-13), 2.03 (3H, d, $J = 1.8$ Hz, Me-22), 1.99 (1H, m, H-1), 1.97 (1H, m, H-7'), 1.76 (1H, m, H-6), 1.75 (1H, m, H-3), 1.53 (1H, d, $J = 4.0$ Hz, H-9), 1.53 (1H, m, H-12), 1.51 (1H, m, H-14), 1.44 (1H, m, H-3'), 1.44 (1H, m, H-1'), 1.40 (1H, m, H-6'), 1.34 (1H, m, H-14'), 1.20 (1H, dd, $J = 12.5, 2.6$ Hz, H-5), 1.03 (1H, m, H-12'), 0.99 (3H, d, $J = 6.39$ Hz, Me-16), 0.97 (3H, s, Me-18), 0.92 (3H, s, Me-19), 0.86 (3H, s, Me-20).

RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ 170.3 (C=O, C-15), 170.6 (C=O, C-21), 151.5 (C, C-23), 147.7 (C y CH, C-8 y CH-27), 138.4 (CH, C-26), 119.7 (CH, C-24), 114.1 (CH, C-25), 107.3 (CH_2 , C-17), 70.7 (CH, C-2), 57.7 (CH, C-9), 54.1 (CH, C-5), 45.3 (CH_2 , C-11), 43.4 (CH_2 , C-3), 41.9 (CH_2 , C-1), 39.1 (C, C-10), 38.1 (CH_2 , C-7), 36.1 (CH_2 , C-12), 33.8 (CH_3 , C-19), 32.9 (C, C-4), 31.5 (CH, C-13), 24.2 (CH_2 , C-6), 23.6 (CH_3 , C-18), 21.6 (CH_3 , C-22), 21.4 (CH_2 , C-14), 19.9 (CH_3 , C-16), 16.1 (CH_3 , C-20).

7.8. Preparación de la amida 2 α -hidroxi-N-(piridin-2-il)eperuamida (**10**)

En un matraz balón se disolvieron 50 mg (1.3726×10^{-4} mol) de la amida acetilada en 10 mL (3.1210×10^{-4} mol) de metanol y se agregaron 50 mg (8.9117×10^{-4} mol) de KOH. La mezcla en reacción se llevó a reflujo durante 4 horas, se agregaron 7 ml de ácido clorhídrico al 10% hasta llegar a un pH de 2-3. Se vertió en un embudo de separación sobre hielo y se extrajo con acetato de etilo (AcOEt). Se lavó 4 veces con agua agitando ligeramente, se secó con sulfato de sodio anhidro y se concentró, el producto de la reacción fue sometido a purificación en columna, usando una fase estacionaria de sílice gel de 230-400 mallas y como fase móvil mezclas de hexano-acetato de etilo, en orden ascendente de polaridad. De las fracciones eluidas con hexano-acetato de etilo (6:4) se obtuvieron 18 mg de la amida hidroxilada **10** correspondiente al 36%.



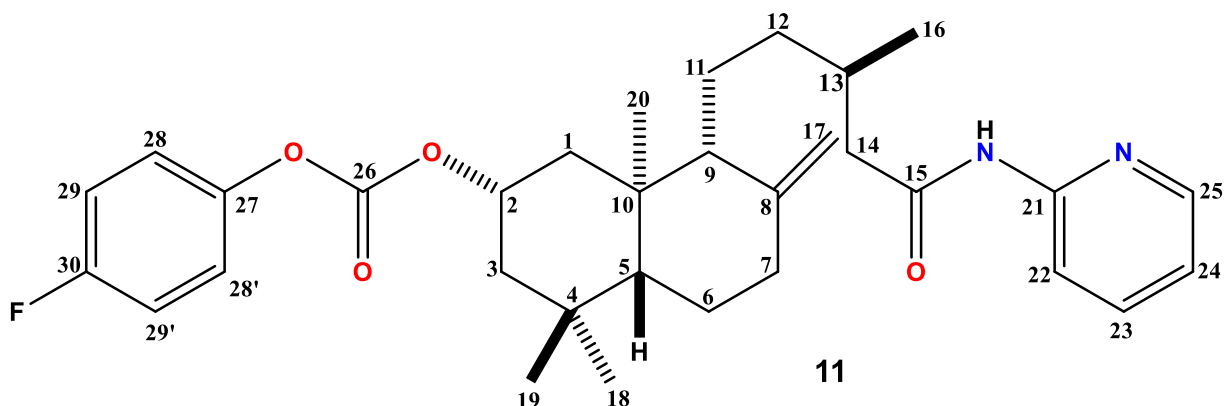
Miel incolora.

RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 8.26 (1H, m, H-25), 8.25 (1H, dt, $J = 1.9, 0.9$ Hz, H-23), 7.71 (1H, ddd, $J = 8.8, 7.3, 1.9$ Hz, H-24), 7.04 (1H, ddd, $J = 7.3, 4.8, 1.0$ Hz, H-22), 4.83 (1H, s, H-17), 4.51 (1H, s, H-17'), 4.14 (1H, quint, $J = 4.1$ Hz, H-2), 2.44 (1H, m, H-11), 2.36 (1H, m, H-7), 2.14 (1H, m, H-11'), 2.05 (1H, m, H-13), 1.97 (1H, m, H-1), 1.94 (1H, m, H-7'), 1.75 (1H, m, H-6), 1.72 (1H, m, H-3), 1.54 (1H, m, H-9), 1.54 (1H, m, H-12), 1.51 (1H, m, H-14), 1.44 (1H, m, H-3'), 1.44 (1H, m, H-1'), 1.41 (1H, m, H-6'), 1.35 (1H, m, H-14'), 1.17 (1H, m, H-5), 1.02 (1H, m, H-12'), 1.00 (3H, d $J = 6.42$ Hz, Me-16), 0.99 (3H, s, Me-18), 0.92 (3H, s, Me-19), 0.91 (3H, s, Me-20).

RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ 171.7 (C=O, C-15), 151.7 (C, C-21), 148.0 (C, C-8), 147.7 (CH, C-25), 138.5 (CH, C-24), 119.7 (CH, C-22), 114.0 (CH, C-23), 107.0 (CH_2 , C-17), 69.0 (CH, C-2), 57.9 (CH, C-9), 53.3 (CH, C-5), 46.3 (CH_2 , C-11), 46.4 (CH_2 , C-3), 45.2 (CH_2 , C-1), 39.8 (C, C-10), 36.1 (CH_2 , C-7), 36.1 (CH_2 , C-12), 33.3 (CH_3 , C-19), 33.0 (C, C-4), 31.3 (CH, C-13), 24.7 (CH_2 , C-6), 21.5 (CH_3 , C-18), 21.4 (CH_2 , C-14), 17.3 (CH_3 , C-16), 16.1 (CH_3 , C-20).

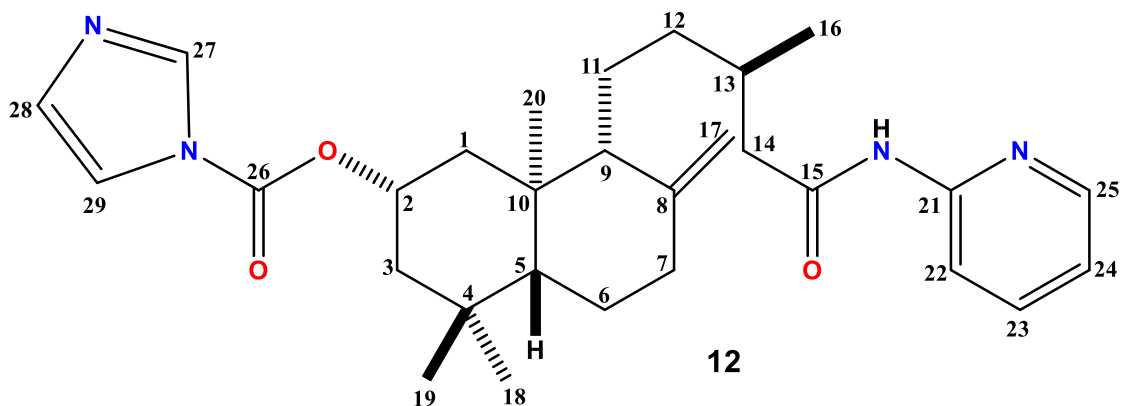
7.9. Preparación del carbonato a partir del 2 α -hidroxi-*N*-(piridin-2-il)eperuamida (11**) y el intermediario acil-imidazol (**12**)**

En un matraz balón se disolvieron 20 mg (5.0214×10^{-5} mol) de la amida hidroxilada **10**, con 1.5 equivalentes (7.5322×10^{-5} mol) de CDI se activó el grupo OH de la materia prima para generar el intermediario acil-imidazol, utilizando THF como disolvente y colocando la reacción durante 8 h en baño ultrasónico. Transcurrido el tiempo se adicionaron 3 equivalentes (1.5064×10^{-4} mol) del 4-fluorofenol en el baño ultrasónico 12 h más. Una vez completado el tiempo, la reacción se extrajo con acetato de etilo. El crudo se sometió a cromatografía en columna abierta con gel de sílice de 230-400 mallas. En las fracciones eluidas con hexano-acetato de etilo 8:2 y 6:4 se obtuvieron 3.6 mg del carbonato y 8 mg del acil-imidazol correspondiente al 18% y 40%.



Miel incolora.

RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 8.25 (1H, m, H-25), 8.21 (1H, s, H-23), 7.69 (1H, t, $J = 0.9$ Hz, H-24), 7.13 (1H, m, H-28), 7.12 (1H, m, H-28'), 7.07 (1H, m, H-29), 7.07 (1H, m, H-29'), 7.04 (1H, m, H-22), 5.07 (1H, m, H-2), 4.88 (1H, m, H-17), 4.53 (1H, s, H-17'), 2.42 (1H, m, H-11), 2.39 (1H, m, H-7), 2.18 (1H, m, H-11'), 2.01 (1H, m, H-13), 1.97 (1H, m, H-1), 1.93 (1H, m, H-7'), 1.77 (1H, m, H-6), 1.73 (1H, m, H-3), 1.58 (1H, m, H-9), 1.58 (1H, m, H-12), 1.50 (1H, m, H-14), 1.41 (1H, m, H-3'), 1.41 (1H, m, H-1'), 1.25 (1H, m, H-6'), 1.25 (1H, m, H-14'), 1.21 (1H, m, H-5), 1.02 (1H, m, H-12'), 1.02 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, Me-16), 0.97 (3H, s, Me-18), 0.94 (3H, s, Me-19), 0.87 (3H, s, Me-20).

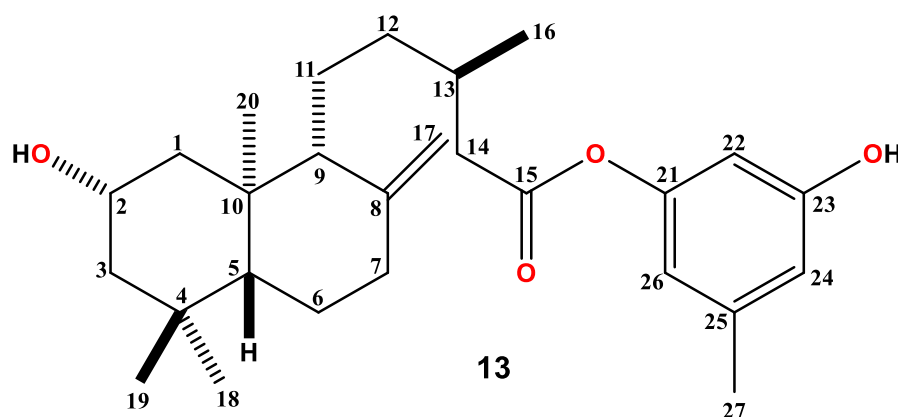


Miel incolora.

RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 8.24 (1H, m, H-25), 8.22 (1H, s, H-23), 8.12 (1H, s H-27), 7.71 (1H, m, H-24), 7.40 (1H, m, H-28), 7.07 (1H, m, H-29), 7.04 (1H, m, H-22), 5.39 (1H, m, H-2), 4.84 (1H, m, H-17), 4.51 (1H, m, H-17'), 2.42 (1H, m, H-11), 2.39 (1H, m, H-7), 2.18 (1H, m, H-11'), 2.01 (1H, m, H-13), 1.97 (1H, m, H-1), 1.93 (1H, m, H-7'), 1.77 (1H, m, H-6), 1.73 (1H, m, H-3), 1.58 (1H, m, H-9), 1.58 (1H, m, H-12), 1.50 (1H, m, H-14), 1.41 (1H, m, H-3'), 1.41 (1H, m, H-1'), 1.25 (1H, m, H-6'), 1.25 (1H, m, H-14'), 1.21 (1H, m, H-5), 1.02 (1H, m, H-12'), 1.02 (3H, d, $J = 8.5$ Hz, Me-16), 0.97 (3H, s, Me-18), 0.94 (3H, s, Me-19), 0.87 (3H, s, Me-20).

7.10. Preparación del 2 α -hidroxi-15-eperuato de 3-hidroxi-5-metilfenilo (**13**)

En un matraz balón se disolvieron 100 mg (3.1031×10^{-4} mol) del ácido 2 α -hidroxieperuico **7** con 1.5 equivalentes (4.6547×10^{-4} mol) de CDI para activar el grupo carbonilo de la materia prima para generar el intermediario acil-imidazol, utilizando THF como disolvente y colocando la reacción durante 90 min en baño ultrasónico. Transcurrido el tiempo se adicionaron 3 equivalentes (9.3095×10^{-4} mol) de orcinol en el baño ultrasónico 90 min más; una vez completado el tiempo, la reacción se extrajo con acetato de etilo. El crudo se sometió a cromatografía en columna abierta con gel de sílice de 230-400 mallas. En las fracciones eluidas con hexano-acetato de etilo (65:35) se obtuvieron 64.4 mg del producto correspondiente al 64%.



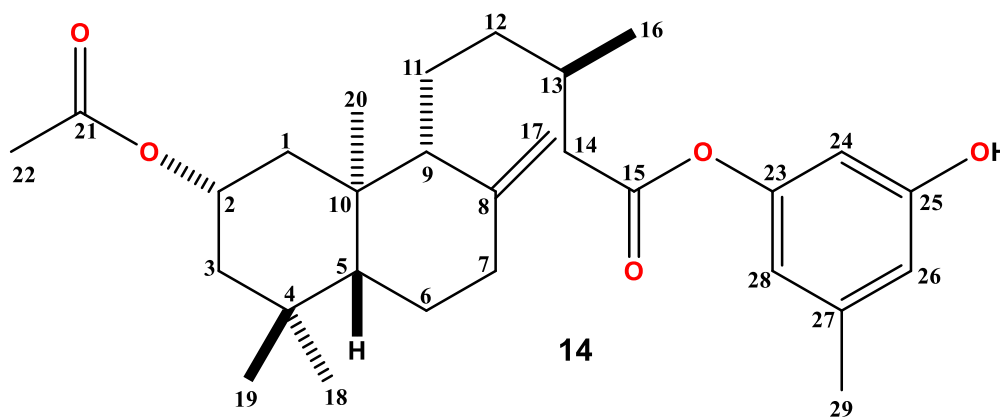
Miel color ámbar.

RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 6.51 (1H, s, H-24), 6.44 (1H, s, H-26), 6.41 (1H, s, H-22), 4.87 (1H, s, H-17), 4.55 (1H, s, H-17'), 4.15 (1H, m, H-2), 2.51 (1H, m, H-11), 2.38 (1H, m, H-7), 2.27 (1H, s, Me-27), 2.09 (1H, m, H-11'), 2.05 (1H, m, H-13), 1.95 (1H, m, H-1), 1.94 (1H, m, H-7'), 1.77 (1H, m, H-6), 1.67 (1H, m, H-3), 1.52 (1H, m, H-9), 1.49 (1H, m, H-14), 1.40 (1H, m, H-3'), 1.43 (1H, m, H-1'), 1.40 (1H, m, H-6'), 1.35 (1H, m, H-14'), 1.16 (1H, m, H-5), 1.05 (1H, m, H-12'), 1.03 (3H, d, $J = 6.71$ Hz, Me-16), 0.98 (3H, s, Me-18), 0.93 (3H, s, Me-19), 0.91 (3H, s, Me-20).

RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ 172.0 (C=O, C-15), 156.6 (C, C-23), 151.3 (C, C-21), 147.9 (C, C-8), 140.6 (C, C-25), 114.2 (CH, C-26), 113.9 (CH, C-24), 107.0 (CH_2 , C-17), 106.2 (CH, C-22), 68.0 (CH, C-2), 57.6 (CH, C-9), 52.6 (CH, C-5), 46.3 (CH_2 , C-11), 45.9 (CH_2 , C-3), 41.3 (CH_2 , C-1), 39.9 (C, C-10), 38.1 (CH_2 , C-7), 35.6 (CH_2 , C-12), 33.0 (CH_3 , C-19), 33.0 (C, C-4), 30.9 (CH, C-13), 24.8 (CH_2 , C-6), 24.6 (CH_3 , C-18), 21.4 (CH_3 , C-27), 21.0 (CH_2 , C-14), 20.2 (CH_3 , C-16), 17.6 (CH_3 , C-20).

7.11. Preparación del 2 α -acetoxi-15-eperuato de 3-hidroxi-5-metilfenilo (14)

En un matraz balón se disolvieron 115 mg (3.1570×10^{-4} mol) del acetoxieperuico **8** con 1.5 equivalentes (4.7356×10^{-4} mol) de CDI para activar el grupo carbonilo de la materia prima para generar el intermediario acil imidazol, utilizando THF como disolvente y colocando la reacción durante 90 min en baño ultrasónico. Transcurrido el tiempo se adicionaron 3 equivalentes (9.4712×10^{-4} mol) de orcinol en el baño ultrasónico 90 min más. Una vez completado el tiempo, la reacción se extrajo con acetato de etilo. El crudo se sometió a cromatografía en columna abierta con gel de sílice de 230-400 mallas. En las fracciones eluidas con hexano-acetato de etilo (75:25) se obtuvieron 62 mg del producto correspondiente al 53%.



Miel incolora.

RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 6.54 (1H, d, $J = 5.5$ Hz, H-26), 6.43 (1H, d, $J = 5.2$ Hz, H-28), 6.36 (1H, t, $J = 0.3$ Hz, H-24), 5.14 (1H, m, H-2), 4.88 (1H, s, H-17),

4.54 (1H, s, H-17'), 2.46 (1H, m, H-11), 2.39 (1H, m, H-7), 2.28 (1H, s, Me-29), 2.06 (1H, m, H-11'), 2.05 (1H, s, Me-22), 2.05 (1H, s, H-13), 2.00 (1H, m, H-1), 1.95 (1H, m, H-7'), 1.76 (1H, m, H-6), 1.73 (1H, m, H-3), 1.60 (1H, m, H-9), 1.50 (1H, m, H-14), 1.46 (1H, m, H-3'), 1.43 (1H, m, H-1'), 1.37 (1H, m, H-6'), 1.20 (1H, m, H-14'), 1.06 (1H, m, H-5), 1.04 (1H, m, H-12'), 1.03 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, Me-16), 0.98 (3H, s, Me-18), 0.93 (3H, s, Me-19), 0.86 (3H, s, Me-20).

RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ 171.8 (C=O, C-15), 171.6 (C=O, C-21), 157.8 (C, C-25), 151.2 (C, C-23), 147.9 (CH, C-8), 140.5 (C, C-27), 114.1 (CH, C-28), 113.9 (CH, C-26), 107.3 (CH_2 , C-17), 106.0 (CH, C-24), 71.3 (CH, C-2), 57.5 (CH, C-9), 52.6 (CH, C-5), 43.3 (CH_2 , C-11), 42.1 (CH_2 , C-3), 41.4 (CH_2 , C-1), 39.2 (C, C-10), 38.1 (CH_2 , C-7), 36.5 (CH_2 , C-12), 33.4 (CH_3 , C-19), 32.8 (C, C-4), 30.7 (CH, C-13), 24.2 (CH_2 , C-6), 23.8 (CH_3 , C-18), 21.6 (CH_3 , C-29), 20.7 (CH_3 , C-22), 20.6 (CH_2 , C-14), 16.2 (CH_3 , C-16), 14.1 (CH_3 , C-20).

8. BIBLIOGRAFÍA

1. M. Lahlou, Screening of Natural Products for Drug Discovery. *Expert Opinion on Drug Discovery*, **2007**, 2(5):697-705.
2. B. Patwardhan, A. D. B. Vaidya and M. Chorghade, Ayurveda and Natural Products Drug Discovery. *Current Science*, **2004**, 86(6): 789-799.
3. Kapchan, M. Drugs from Natural Products—Plant Sources. *Drug Discovery*. **1971**, 1-13.
4. Sircar NN. Medicinal plants. *The Eastern Pharmacist*. **1982**, 29 (291):49-52
5. Tariq O, Siddiqi AJ. Vitamin C content of Indian medicinal plants- a literature review. *Indian Drugs*. **1985**; 23(2), 72-83.
6. Rao AVR, Gurjar MK. Drugs from plant resources: An overview. *Pharmatimes*. **1990**; 22(5):19-20.
7. Luna-Vázquez, Mónica. Transformación química del ácido 2 α -hidroxieperuico aislado de *Ageratina petiolaris*. Tesis para obtener el grado de Química Farmacobióloga de la U.M.S.N.H., **2015**.
8. Molinski, T. All Natural: The Renaissance of Natural Products Chemistry. *Org. Lett.* 2014, 16:3849-3855.
9. Aharoni A.; Galili G. Metabolic engineering of the plant primary–secondary metabolism interface. *Current Opinion in Biotechnology*. Wiley, **2011**, 22: 239-244.
10. Primo Y.E., Química Orgánica básica y aplicada: de la molécula a la industria. Réverte, **1995**, 851-859.
11. Taiz, L.; Zeiger, E. Fisiología Vegetal, 3^a ed. Artmed, **2006**, 529-536.
12. Martínez, S. I.; Castillo, G. E. Manual de Fitoterapia. Elsevier, **2007**, 25-33.
13. García, A. A.; Urría-Carril, E. P. Metabolismo Secundario de Plantas. *Reduca (Biología). Serie Fisiología Vegetal*, **2009**, 2, 119-145.
14. A Crozier, MN Clifford, H Ashihara. Plant Secondary Metabolites: Occurrence, Structure and Role in the Human Diet, **2006**.
15. Catedra de farmacología (2017) Farmacognosia, recuperado de: http://www.fcn.unp.edu.ar/sitio/farmacognosia/wp-content/uploads/2017/03/TP5_-GLICOSIDOS-I_-2017.pdf

16. file:///C:/Users/Owner/Pictures/1...Documentos%20tesis/2014-07-JPP.pdf
17. Tanaka, J.; Higa, T.; Suwanborirux, K.; Kokpol, U.; Bernadinelli, G.; Jefford, C, W. Bioactive Norsesterterpene 1,2-dioxanes from a Thau sponge, *Mycale* sp. *Journal of Organic chemistry* **1993**, 58: 2999-3002.
18. Bruneton, J. *Farmacognosia*. Acribia, S.A. España, **2001**; p 629-633.
19. Hernandez, J. M. Pontifica Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias (2014), recuperado de: <https://pdfs.semanticscholar.org/a0ef/ed124405d1d88c553562b2b99aedf64e5fe8.pdf>
20. Ramírez, M. Contribución al estudio químico de *Conyza trihecatactis* (Blake) Cuatrecasas (COMPOSITAE-ASTERACEA) y sus posibles efectos farmacológicos. Trabajo de grado para optar al título de Bióloga. Universidad Javeriana, Bogotá **2008**. Recuperado de <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/34493/MendezPradoHeidiKarol2017.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
21. Lajili, S.; Deghrigue, M.; Abdelhamid, A.; Bjelogrić, S.; Muller, C.D.; D'auria, M.; Bouraoui, A.; Anticancer activity of diterpenes and steroids from *Eunicella singularis* against two- and threedimensional breast cancer cell models. *Journal of Coastal Life Medicine*. **2017**; 5(12): 531-539. Recuperado de https://www.researchgate.net/publication/321489069_Anticancer_activity_of_diterpenes_and_steroids_from_Eunicella_singularis_against_two-and_three-dimensional_breast_cancer_cell_models
22. García-Sánchez, E. Ramírez-López, C. B.; Talavera-Alemán, A.; León-Hernández, A.; Martínez-Muñoz, R. E.; Martínez-Pacheco, M. M.; Gómez-Hurtado, M. A.; Cerda-García Rojas, C. M.; Joseph-Nathan, P.; del Río R. E. Absolute configuration of (13*R*)- and (13*S*) labdane diterpenes coexisting in *Ageratina jocotepecana*. *J. Natural. Products*. **2014**, 77, 1005-1012.
23. Katina, L.; Crisis, J. V.; Tellería, M. C.; Barreda, V.; Palazzesi L. Early History Asteraceae in Patagonia: Evidence from Fossil Pollen Grain. *New Zealand Journal of Botany* **2007**, 45: 605-610.

24. Katinas, L.; Gutiérrez, D. G.; Grossi, M. A.; CRISCI, J. V. Panorama de la Familia Asteraceae (Compositae) en la República Argentina. *Boletín De La Sociedad Argentina De Botánica* **2007**, 42: 113-129.
25. Villaseñor J. L.; Diversidad y distribución de la familia Asteraceae en México. *Revista en la Internet*. **2018**, 96(2): 332-358.
26. Calderón, J. S.; Quijano, L.; Garduño, M.; Gómez, F.; Ríos, T. 2α -iso-Valeroyloxyeperuic acid, a diterpene from *Eupatorium petiolare*. *Phytochemistry*. **1983**, 22: 2617-2619.
27. Bustos-Brito, C.; Andrade-Cetto, A.; Giraldo-Aguirre, J.D.; Moreno-Vargas, A. D.; Quijano, L. Acute hypoglycemic effect and phytochemical composition of *Ageratina petiolaris*. *J. Ethnopharmacol.* **2016**, 185: 341-346.
28. Química Organica, Ácidos Carboxílicos recuperado de: <http://www.sinorg.uji.es/Docencia/QO/tema11QO.pdf>
29. Luis J. Calvillo-Carranza. "Estudio por modelado y anclaje molecular de la amida preparada a partir del ácido 2-hidroxiéperuico" Tesis de Licenciatura presentada en la Facultad de Químico Farmacobiología de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, **2016**.
30. Jaramillo, L. M. Curso de Química Orgánica General. Universidad Del Valle Vicerrectora Académica. Santiago de Cali, **2002**. Recuperado de https://www.academia.edu/32780127/C.V_esp%C3%B1ol_FZ.doc
31. Carey F.A. Química Orgánica. *McGraw Hill*
32. Medina (2011), Química computacional des de la mecánica clásica hasta la cuántica recuperado de: <https://www.repositoriodigital.ipn.mx/bitstream/123456789/8508/1/QUIMICA%20COMPUTACIONAL.pdf>
33. Marili Martínez-Cabello. "Preparación de ésteres aromáticos y derivados imidazólicos a partir del ácido 2α -hidroxiéperuico". Tesis de Licenciatura presentada en la Facultad de Químico Farmacobiología de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, **2019**.

Tabla 3. Parámetros termoquímicos de los conformeros de **9**.

Confórmero	$\Delta E_{\text{MMFF}}^{\text{a}}$	$\%_{\text{MMFF}}^{\text{b}}$	$\Delta E_{\text{DFT}}^{\text{c}}$	$\%_{\text{DFT}}^{\text{d}}$	$\Delta G_{\text{OPT}}^{\text{e}}$	$\%_{\text{OPT}}^{\text{f}}$
9-1	0.48	22.00	0.33	22.00	0.00	40.00
9-2	0.00	50.00	0.00	39.00	0.16	30.00
9-3	0.73	15.00	0.00	39.00	0.16	30.00
9-4	1.17	07.00	3.45	00.00	3.81	00.00
9-5	1.27	06.00	3.45	00.00	3.81	00.00

^a Energía relativa a partir de mecánica molecular de **9-2** $E_{\text{MMFF}} = 27.5579104\text{kcal/mol}$.

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

^c Energía relativa a partir de DFT a nivel B3LYP/DGDZVP de **9-2** $E_{\text{DGDZVP}} = -846505.3020\text{kcal/mol}$.

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

^e Energía libre de Gibbs relativa a partir de DFT a nivel B3LYP/DGDZVP de **9-1** $G_{\text{DGDZVP}} = -846164.5373\text{kcal/mol}$.

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

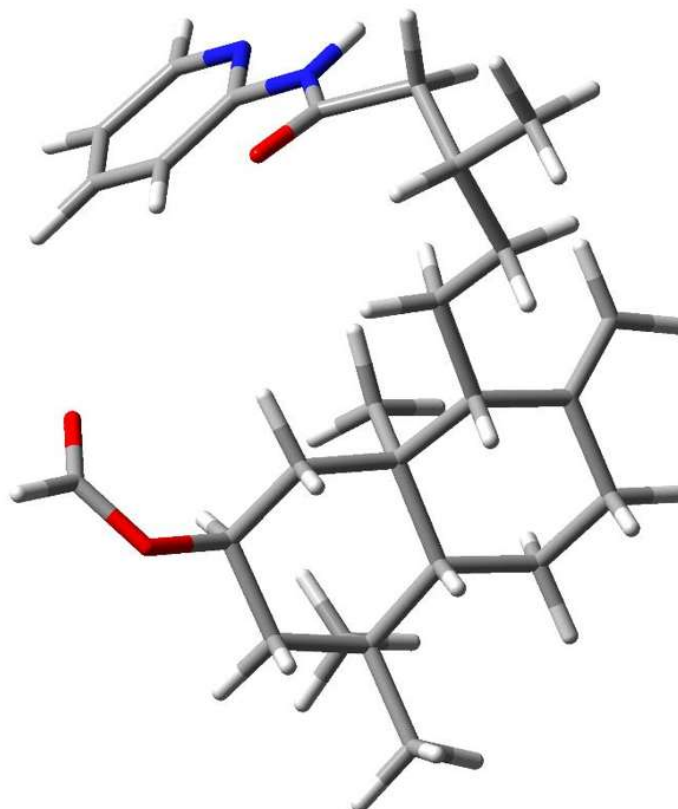


Tabla 4. Parámetros termoquímicos de los conformeros de **10**.

Conformero	$\Delta E_{\text{MMFF}}^{\text{a}}$	% $_{\text{MMFF}}^{\text{b}}$	$\Delta E_{\text{DFT}}^{\text{c}}$	% $_{\text{DFT}}^{\text{d}}$	$\Delta G_{\text{OPT}}^{\text{e}}$	% $_{\text{OPT}}^{\text{f}}$
10-1	1.79	02.00	2.29	01.00	0.00	33.00
10-2	2.17	02.00	2.25	01.00	0.15	26.00
10-3	1.86	02.00	2.34	02.00	0.22	23.00
10-4	0.00	46.00	0.00	65.00	0.68	11.00
10-5	2.11	01.00	3.07	00.00	1.43	03.00
10-6	1.86	02.00	3.23	00.00	1.65	02.00
10-7	0.05	43.00	0.45	30.00	1.90	01.00
10-8	2.47	01.00	2.98	00.00	2.00	01.00
10-9	2.53	01.00	3.58	01.00	4.06	00.00

^a Energía relativa a partir de mecánica molecular de **10-4** $E_{\text{MMFF}} = 35.6456251$ kcal/mol.

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

^c Energía relativa a partir de DFT a nivel B3LYP/DGDZVP de **10-4** $E_{\text{DGDZVP}} = -775373.136$ kcal/mol.

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

^e Energía libre de Gibbs relativa a partir de DFT a nivel B3LYP/DGDZVP de **10-1** $G_{\text{DGDZVP}} = -775035.4198$ kcal/mol.

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

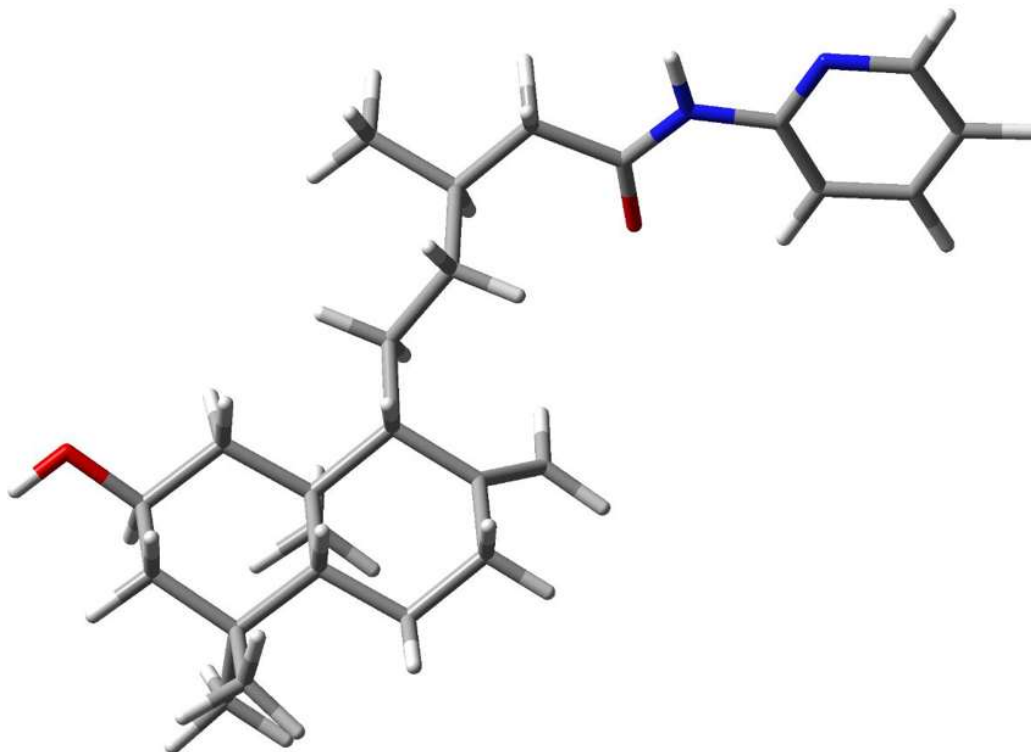


Tabla 5. Parámetros termoquímicos de los conformeros de **11**.

Confórmero	$\Delta E_{\text{MMFF}}^{\text{a}}$	% $_{\text{MMFF}}^{\text{b}}$	$\Delta E_{\text{DFT}}^{\text{c}}$	% $_{\text{DFT}}^{\text{d}}$	$\Delta G_{\text{OPT}}^{\text{e}}$	% $_{\text{OPT}}^{\text{f}}$
11-1	1.60	05.00	0.00	47.00	0.00	55.00
11-2	3.49	00.00	1.18	06.00	0.16	42.00
11-3	0.00	82.00	0.68	15.00	2.55	01.00
11-4	1.17	11.00	0.68	15.00	2.55	01.00
11-5	4.38	00.00	0.68	15.00	2.55	01.00
11-6	2.80	01.00	2.17	01.00	2.59	00.00
11-7	3.66	01.00	3.78	01.00	4.28	00.00

^a Energía relativa a partir de mecánica molecular de **11-3** $E_{\text{MMFF}} = 45.293661$ kcal/mol.

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

^c Energía relativa a partir de DFT a nivel B3LYP/DGDZVP de **11-1** $E_{\text{DGDZVP}} = -1101004.0041$ kcal/mol.

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

^e Energía libre de Gibbs relativa a partir de DFT a nivel B3LYP/DGDZVP de **11-1** $G_{\text{DGDZVP}} = -1100621.1890$ kcal/mol.

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

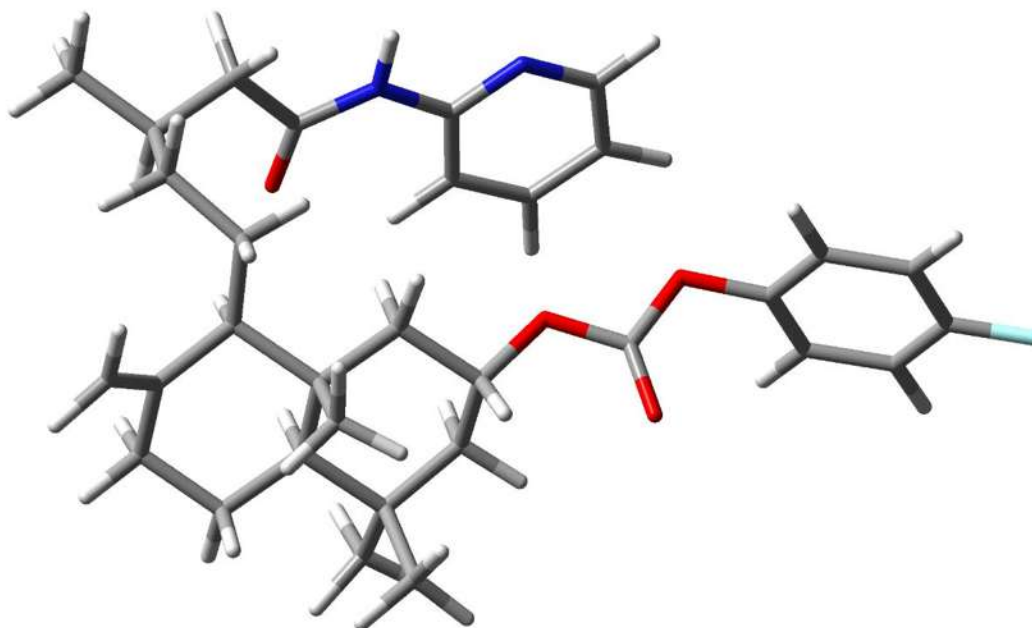


Tabla 6. Parámetros termoquímicos de los conformeros de **12**.

Conformero	$\Delta E_{\text{MMFF}}^{\text{a}}$	$\%_{\text{MMFF}}^{\text{b}}$	$\Delta E_{\text{DFT}}^{\text{c}}$	$\%_{\text{DFT}}^{\text{d}}$	$\Delta G_{\text{OPT}}^{\text{e}}$	$\%_{\text{OPT}}^{\text{f}}$
12-1	0.11	35.00	0.00	65.00	0.00	88.00
12-2	0.39	22.00	0.97	13.00	1.49	07.00
12-3	0.00	42.00	0.65	22.00	1.72	05.00
12-4	2.95	00.00	2.75	00.00	3.10	00.00
12-5	1.97	01.00	5.05	00.00	6.85	00.00

^a Energía relativa a partir de mecánica molecular de **12-3** $E_{\text{MMFF}} = 56.9467068$ kcal/mol.

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

^c Energía relativa a partir de DFT a nivel B3LYP/DGDZVP de **12-1** $E_{\text{DGDZVP}} = -987729.3800$ kcal/mol.

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

^e Energía libre de Gibbs relativa a partir de DFT a nivel B3LYP/DGDZVP de **12-1** $G_{\text{DGDZVP}} = -987360.82$ kcal/mol.

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

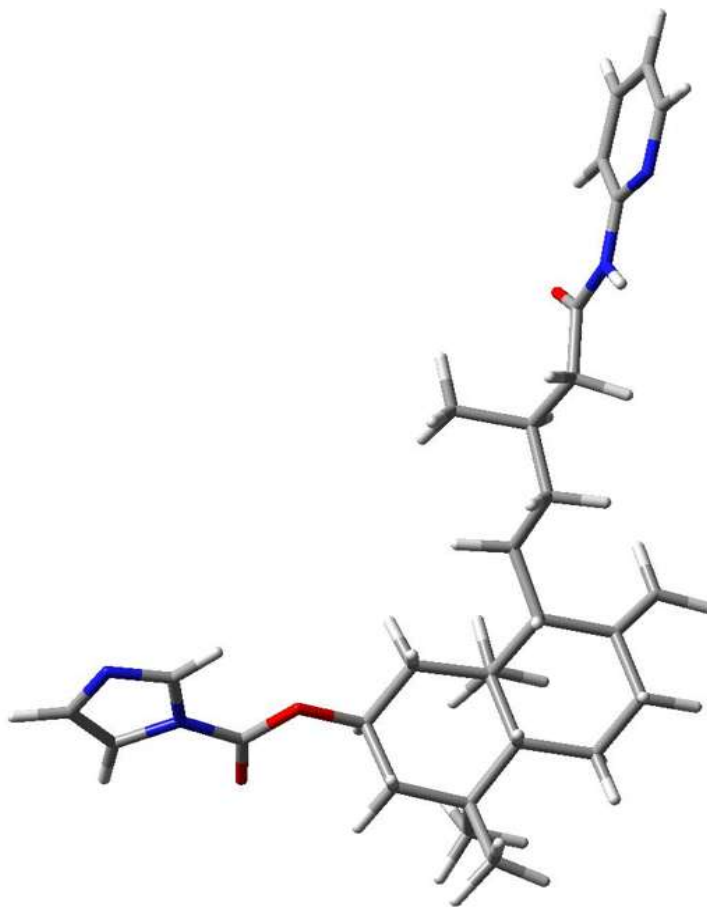


Tabla 7. Parámetros termoquímicos de los conformeros de **13**.

Conformero	$\Delta E_{\text{MMFF}}^{\text{a}}$	% $_{\text{MMFF}}^{\text{b}}$	$\Delta E_{\text{DFT}}^{\text{c}}$	% $_{\text{DFT}}^{\text{d}}$	$\Delta G_{\text{OPT}}^{\text{e}}$	% $_{\text{OPT}}^{\text{f}}$
13-1	0.00	71.00	0.00	70.00	0.00	87.00
13-2	0.63	25.00	0.67	22.00	1.25	11.00
13-3	3.24	00.00	2.06	02.00	2.66	01.00
13-4	3.01	00.00	2.18	02.00	2.88	01.00
13-5	3.98	01.00	2.21	02.00	2.95	00.00
13-6	2.36	01.00	2.19	02.00	3.14	00.00
13-7	2.03	02.00	2.84	00.00	3.72	00.00

^a Energía relativa a partir de mecánica molecular de **13-1** $E_{\text{MMFF}} = 88.18\text{kcal/mol}$.

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

^c Energía relativa a partir de DFT a nivel B3LYP/DGDZVP de **13-1** $E_{\text{DGDZVP}} = -849649.37\text{kcal/mol}$.

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

^e Energía libre de Gibbs relativa a partir de DFT a nivel B3LYP/DGDZVP de **13-1** $G_{\text{DGDZVP}} = -849295.53\text{kcal/mol}$.

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

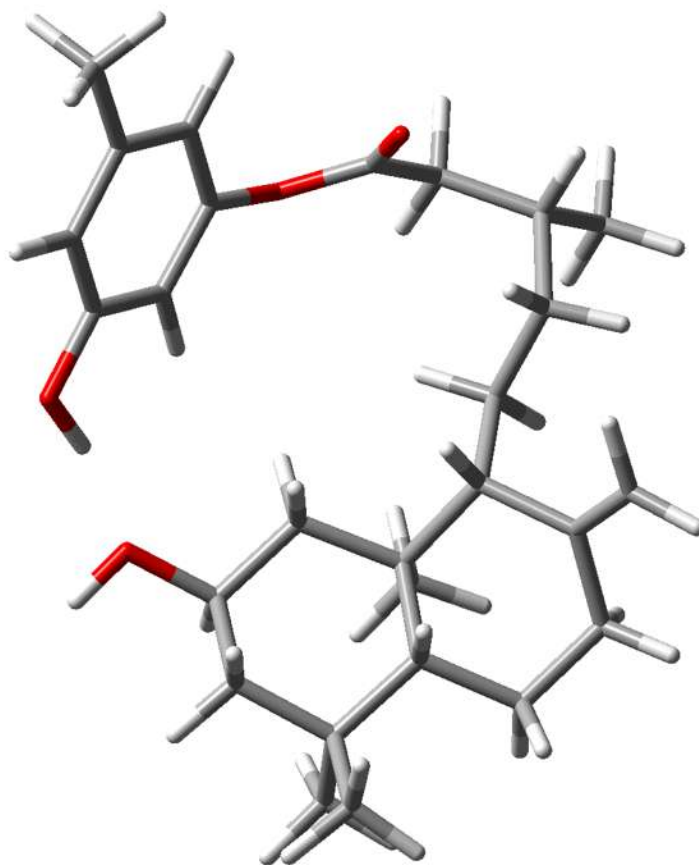


Tabla 8. Parámetros termoquímicos de los conformeros de **14**.

Conformero	$\Delta E_{\text{MMFF}}^{\text{a}}$	% $_{\text{MMFF}}^{\text{b}}$	$\Delta E_{\text{DFT}}^{\text{c}}$	% $_{\text{DFT}}^{\text{d}}$	$\Delta G_{\text{OPT}}^{\text{e}}$	% $_{\text{OPT}}^{\text{f}}$
14-1	0.00	66.00	0.00	75.00	0.00	65.00
14-2	0.41	33.00	0.64	25.00	0.36	35.00
14-3	4.63	01.00	5.83	00.00	4.99	00.00
14-4	2.93	00.00	4.89	00.00	5.12	00.00
14-5	4.17	00.00	9.49	00.00	6.96	00.00
14-6	4.22	00.00	9.93	00.00	7.02	00.00

^a Energía relativa a partir de mecánica molecular de **14-1** $E_{\text{MMFF}} = 67.879404\text{kcal/mol}$.

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

^c Energía relativa a partir de DFT a nivel B3LYP/DGDZVP de **14-1** $E_{\text{DGDZVP}} = -920797.6258\text{kcal/mol}$.

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

^e Energía libre de Gibbs relativa a partir de DFT a nivel B3LYP/DGDZVP de **14-1** $G_{\text{DGDZVP}} = -920438.5668\text{kcal/mol}$.

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

