



Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo



INSTITUTO DE INVESTIGACIONES QUÍMICO BIOLÓGICAS

“Estudio del comportamiento coordinante de cromenos
frente a sales metálicas”

TESIS

Que para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS QUÍMICAS

Presenta:

Q.F.B. Martín Pineda Mercado

DIRECTORAS

Doctora Ciencias Químicas Rosa Elva Norma del Río Torres

Doctora en Química Gabriela Rodríguez García

Morelia, Michoacán.

Febrero 2017

Un objetivo puede derivar en muchas puertas, muchos caminos. A veces buenos y a veces malos, en muchos casos no nos va a gustar el resultado. A tal grado que nos desvíe poco a poco del objetivo principal. Y viéndolo bien, empiezas a entender por qué siempre te dicen – No te des por vencido, -La esperanza es lo último que muere, -Ánimo, Ánimo... Este proyecto es un ejemplo de esos objetivos donde uno de sus tantos caminos llevo a la culminación del mismo.

AGRADECIMIENTOS INSTITUCIONALES:

A la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

Al Profesor Jerzy Rzedowski, del instituto de Ecología A.C. en Pátzcuaro, Michoacán.

A la M.C. Concepción Armenta Salinas y al Q.F.B. José Manuel Zaragoza Ríos por la obtención de los espectros de Resonancia Magnética Nuclear y al D.Q. Juan Pablo García Merinos por los espectros de infrarojo.

AGRADECIMIENTOS PERSONALES:

A mis directoras D.C. Rosa Elva Norma del Río Torres y a la D. Q. Gabriela Rodríguez García por darme la oportunidad de realizar este proyecto bajo su asesoría, por su valioso tiempo.

A mis sinodales que revisaron y aprobaron este proyecto de tesis muchas gracias por su valioso tiempo.

A mi mamá Marcela Mercado Martínez y a mi papá Martín Pineda Roque, en cuyo hogar nadie pasa hambre y en cuyos corazones nadie es extraño. Gracias por todos los sacrificios que han hecho.....

A mis amig@s muchas gracias por su amistad, consejos y su valioso tiempo.

El presente trabajo se llevó a cabo en los laboratorios de Química de Productos Naturales y de Química Inorgánica del Instituto de Investigaciones Químico Biológicas de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, bajo la asesoría de las doctoras D.C. Rosa Elva Norma del Río Torres y la D. Q. Gabriela Rodríguez García respectivamente. Con el apoyo económico de los proyectos aprobados por la CIC-UMNSH.

Con el apoyo económico del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología número de beca 332663.

ÍNDICE

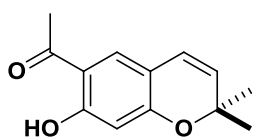
Símbolos, abreviaturas y acrónimos.....	ii
Resumen.....	iii
Abstract.....	iv
Introducción.....	1
Antecedentes.....	2
Justificación.....	12
Objetivo General.....	13
Objetivos específicos.....	13
Discusión de resultados.....	14
Conclusiones.....	52
Parte experimental.....	54
Bibliografía.....	59

ABREVIATURAS, ACRÓNIMOS Y SÍMBOLOS

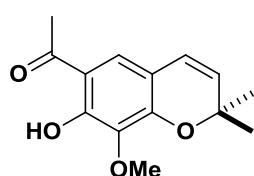
®	Marca registrada
°C	Grados Celsius
δ	Desplazamiento químico
AcOEt	Acetato de Etilo
BPT	Bipirámide trigonal
L	Litros
Kg	Kilogramos
DMF	Dimetilformamida
DMSO	Dimetilsulfóxido
DMSO- _{d6}	Dimetilsulfóxido deuterado
EtOH	Etanol
g	Gramos
g/mol	Gramos por cada mol
h	Horas
HEPG2	Células de carcinoma de hígado
HETCOR	HETeronuclear CORrelation
Hz	Hertz
IM	Insulinomimética
IR	Espectro de infrarrojo
<i>J</i>	Constante de acoplamiento
<i>m/z</i>	Relación masa/carga
MHz	MegaHertz
NOESY	Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy
Oh	Octaédrica
ppm	Partes por millón
RMN de ¹³ C	Resonancia Magnética Nuclear de Carbono-13
RMN de ¹ H	Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno
Th	Tetraédrica
TMS	Tetrametilsilano

Resumen:

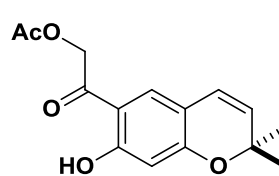
El extracto hexánico de las raíces de *Ageratina arsenei* proporcionó los cromenos eupatoriocromeno (**9**), ripariocromeno A (**10**), ripariocromeno B (**13**) y encecanescina (**38**), la obtención de **9** en buenos rendimientos permitió explorar la reactividad frente a sales metálicas de $ZnCl_2$ y $PdCl_2$ a través de sus respectivas bases de Schiff **40** y **42**, para preparar dos nuevos complejos de coordinación **41** y **43**. Las estructuras fueron confirmadas de sus datos físicos y espectroscópicos.



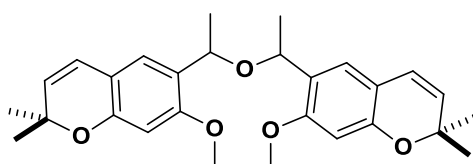
9



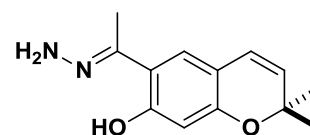
10



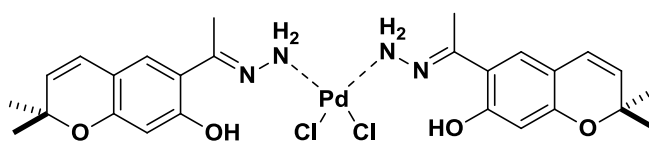
13



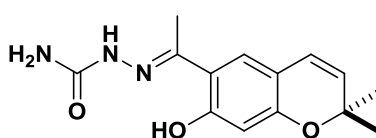
38



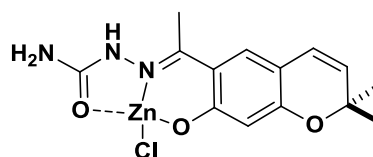
40



41



42

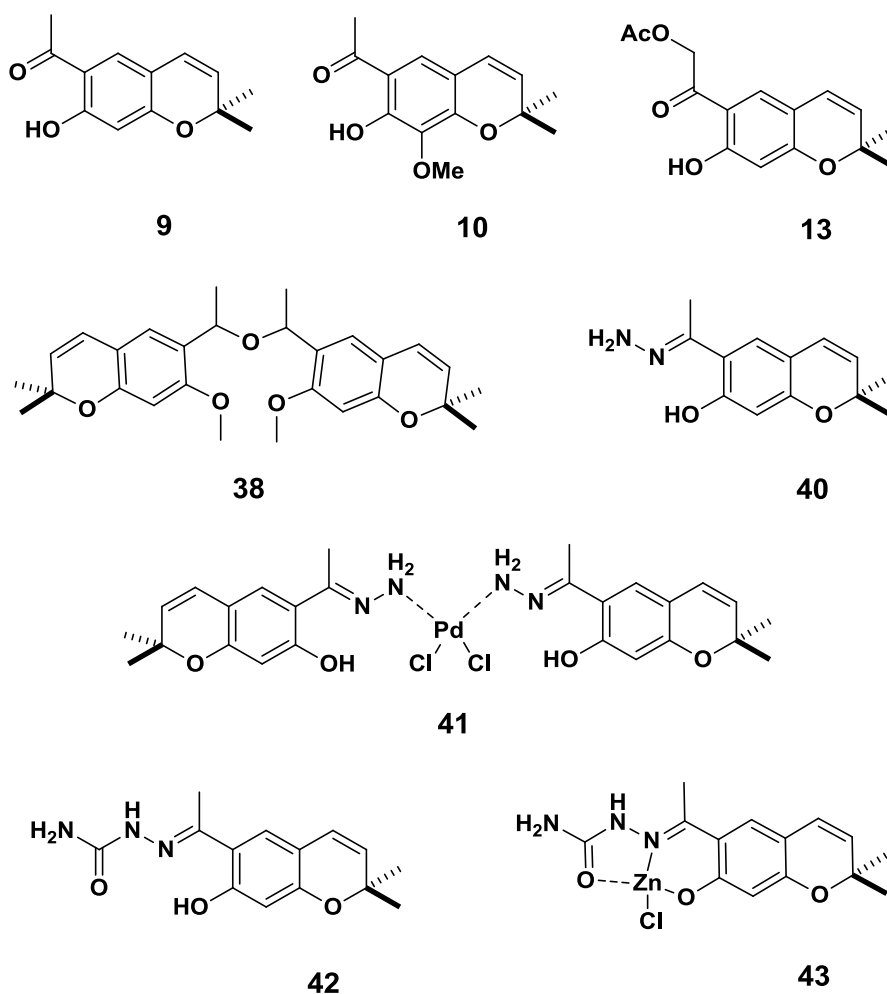


43

Palabras clave: cromenos, bases de Schiff, complejos de coordinación.

ABSTRACT:

The hexanic extract from the roots of *Ageratina arsenei* provided the chromenes derivatives eupatoriochromene (**9**), ripariochromene A (**10**), ripariochromene B (**13**), enecanesisin (**38**). The obtention of **9** in good yield allowed to explore the reactivity with metallic salts of $ZnCl_2$ and $PdCl_2$ of the respective schiff bases **40** and **42** allowing the two new coordination complex **41** and **43**. All structures were established by it physic and spectroscopic data.



Key words: chromene, schiff Bases, coordination complex.

INTRODUCCIÓN:

En México hay una diversidad magnífica de recursos naturales en la que se puede destacar la flora que ha sido admirada desde el tiempo en el que el hombre empezaba a habitar Mesoamérica, adaptando sus usos ornamental, medicinal y alimenticio a su conveniencia. Gracias a la capacidad de razonar y visualizar escenarios el ser humano se ha valido de los recursos naturales como plantas, animales y minerales para su supervivencia y bienestar.

El Estado de Michoacán cuenta con una variedad importante de flora que ha sido catalogada y utilizada por nuestros ancestros, los cuales adquirieron los conocimientos de forma verbal en su mayoría, este conocimiento impulsa al estudio de los productos naturales en el Estado ya que se tiene un deber para con la humanidad de confirmar mediante un método científico y documentar los estudios que nuestros antepasados iniciaron; además de continuar y ampliar el uso de los productos naturales, llevando a cabo trabajos multidisciplinarios que permitan la relación del estudio de los productos naturales con otras áreas de la química con la finalidad de ampliar sus usos o mejorar sus aplicaciones. Por lo que el presente trabajo se llevó a cabo una investigación del estudio de la capacidad coordinante del eupatoriocromeno (9) frente a dos sales metálicas de importancia biológica y catalítica como lo son el $ZnCl_2$ y $PdCl_2$, con la finalidad de incursionar en una nueva aplicación de los productos naturales en el área de química de coordinación ya que a la fecha no hay reportes de este tipo de complejos.

ANTECEDENTES:

Los productos naturales se clasifican en tres grandes familias de compuestos: terpenos, alcaloides y fenoles. Los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios de las plantas y estos poseen uno o más grupos hidroxilos unidos a anillos aromáticos, de estos compuestos existen alrededor de 8,000 variedades de estructuras y generalmente son catalogadas como ácidos fenólicos y análogos, flavonoides, taninos, cumarinas, lignanos, quinonas y cromeno. Actúan como fitoalexinas secretadas como medidas defensivas contra ataques fúngicos o bacterianos. Algunos derivados fenólicos (**1-3**) han mostrado actividades como antialérgica, antiarterogénica, antiinflamatoria, antimicrobiana y antioxidante (**Figura 1**) (Wu-Yang. H. *et al.* 2010; Cheynier V. 2012; Balasundram N., *et al.* 2006; Salazar R. *et al.* 2011).

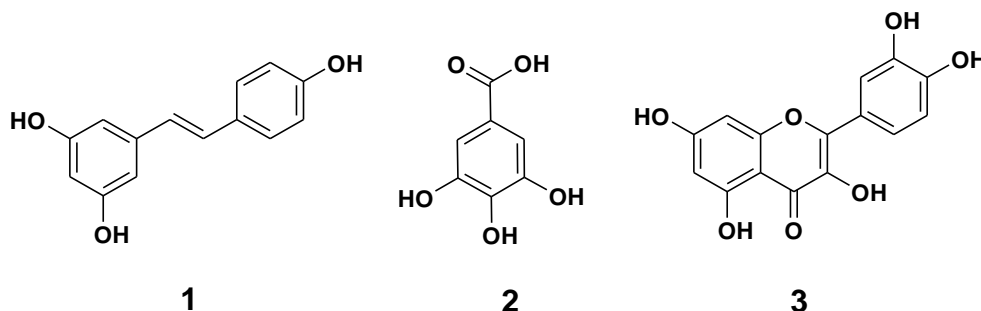


Figura 1.- Derivados fenólicos con actividad biológicas.

Los esqueletos base de la familia de cromenos corresponden a las estructuras **4-6** los cuales resultan de la fusión de un anillo de benceno con un anillo de pirano (benzopirano), el esqueleto *4H* cromeno (**6**) raramente se encuentra en fuentes naturales (**Figura 2**).

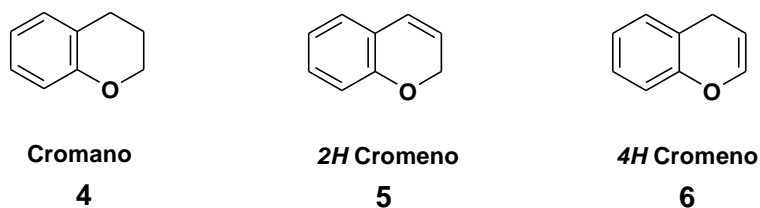


Figura 2.- Esqueletos base de cromenos.

El esqueleto de benzopirano también se puede encontrar en antocianinas, alcaloides, tocoferoles, flavonoides, aunque estos no estén biogenéticamente relacionados (**Figura 3**) (Thomas N., *et al.*, 2013).

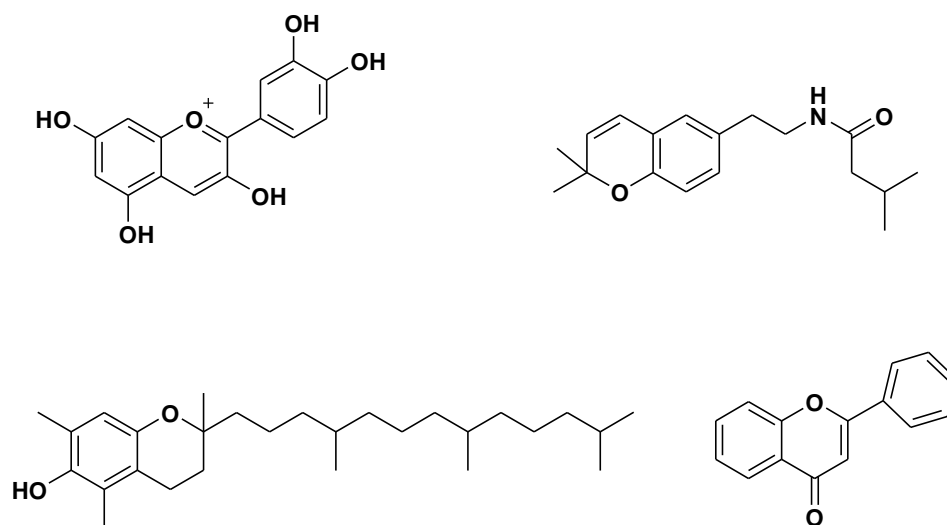


Figura 3.- Derivados fenólicos con esqueleto de cromeno.

Los cromenos funcionalizados como los que se muestran en la (**Figura 4**), han presentado actividades biológicas interesantes como larvicida (Albuquerque J. M. R., *et al.*, 2004), antibacteriana, antidiabética, antihipertensivo, anticancerosa y antiinflamatoria (Thomas N., *et al.*, 2013); la mayoría de ellos han sido aislados de peces y especies vegetales.

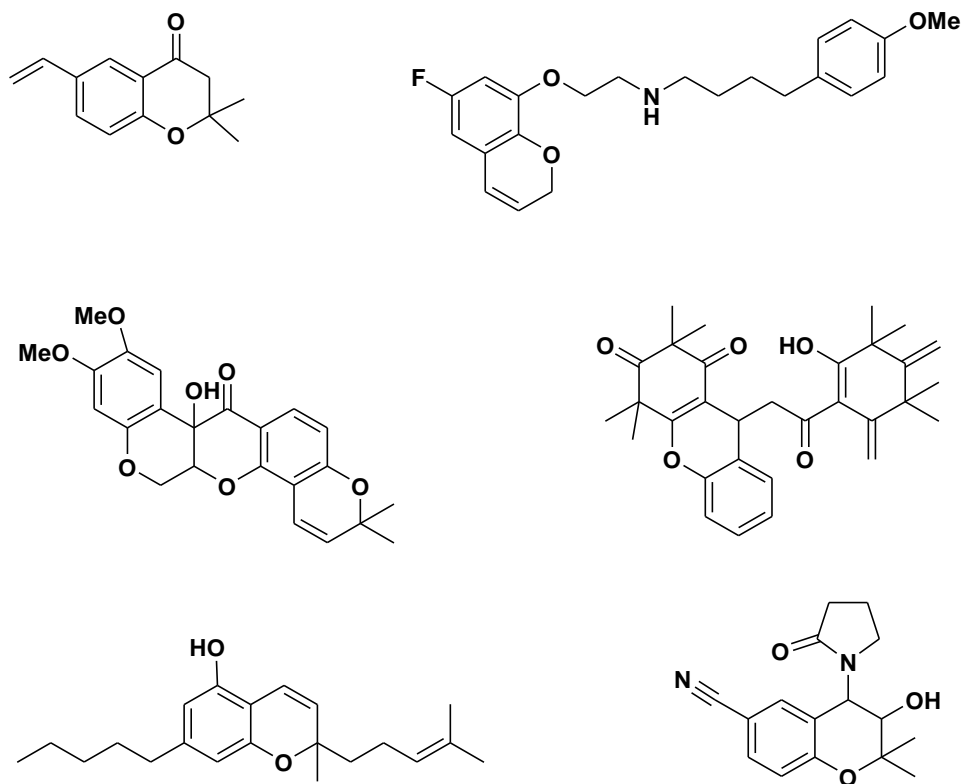


Figura 4.- Cromenos con actividad biológica.

El género *Eupatorium* es una fuente importante de compuestos con esqueleto de cromeno; por ejemplo, del extracto de éter de petróleo de hojas y flores de *Eupatorium aschembornianum* aislaron al eupatoriocromeno B (7) y eupatoriocromeno C (8) (**Figura 5**) (Gómez F. *et al.*, 1982).

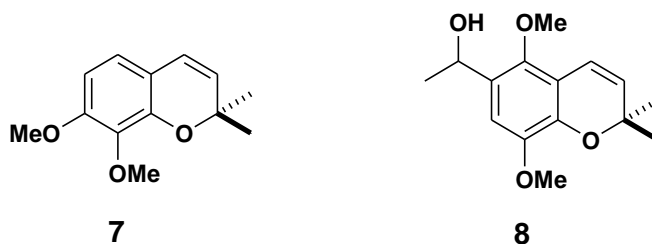


Figura 5.- Cromenos aislados de *E. aschembornianum*.

De *E. adenophorum* reportaron siete derivados de cromeno que correspondieron a eupatoriocromeno (9), ripariocromeno A (10), metilripariocromeno (11), metilevodionol (12), ripariocromeno B (13) y ripariocromeno C (14) (Anthonsen T. 1969) mientras que de *Eupatorium riparium* aislaron por percolación con benceno al metilripariocromeno (11) (Figura 6) (Taylor D. R., Wright J. A., 1971).

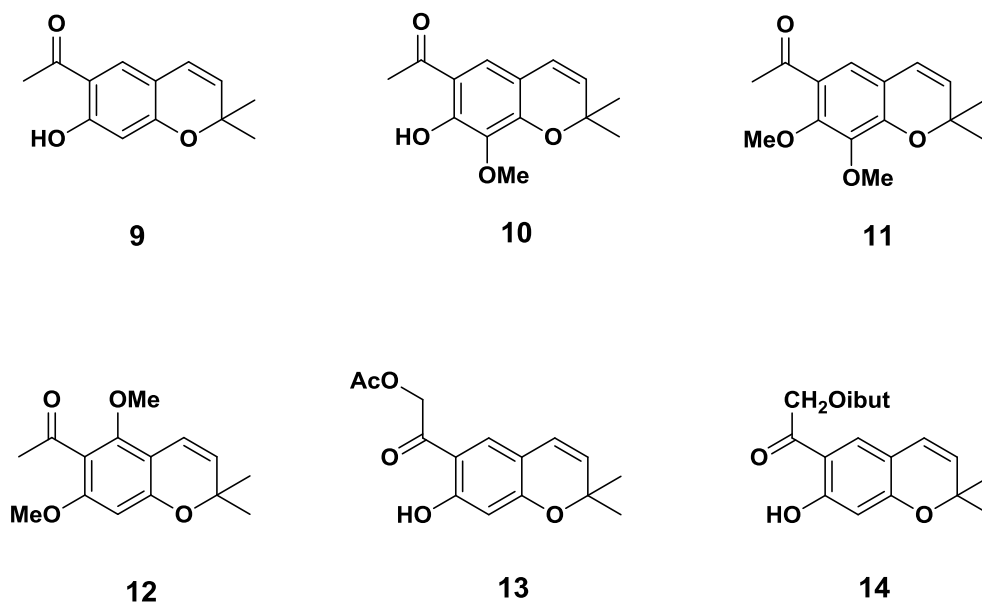


Figura 6.- Cromenos aislados del género *Eupatorium*.

El género *Eupatorium* es un género muy complejo del cual se han desprendido otros géneros como *Chromolaena*, *Piptotrix* y *Ageratina*; este último cuenta con alrededor de 200 especies, algunas son usadas en la medicina tradicional para el tratamiento de micosis superficial, infecciones de piel y heridas por su actividad analgésica, antiinflamatoria, antiviral, antibacteriana y larvicida (Torres-Barajas L., *et al.*, 2013; Largo Jr. G., Ragasa Y. C., 1996).

Ageratina arsenei cuenta con tres estudios químicos, en 1987 Fang *et al.*, aislaron del extracto de diclorometano de hojas entre otros compuestos a los cromenos **15** y **16**; Hernández *et al.*, en 1995, describieron nuevamente al

cromeno **15**, así como el cromeno metoxilado **17** del extracto hexánico de hojas (Figura 7).

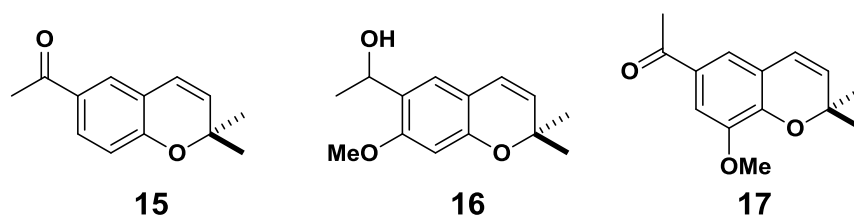


Figura 7.- Cromenos aislados de las hojas de *A. arsenei*.

Gómez Hurtado *et al.*, en el 2012 aislaron en buenos rendimientos de las raíces de *A. arsenei* al eupatoriocromeno (**9**) y ripariocromeno B (**13**) (Figura 8) la estructura de ambas sustancias fueron estudiadas por difracción de rayos X de monocristal, mostrando que hay una distorsión en la planaridad del sistema biciclo debido al empaquetamiento del cristal donde se analizaron varias interacciones por puente de hidrógeno clásicos y no clásicos.

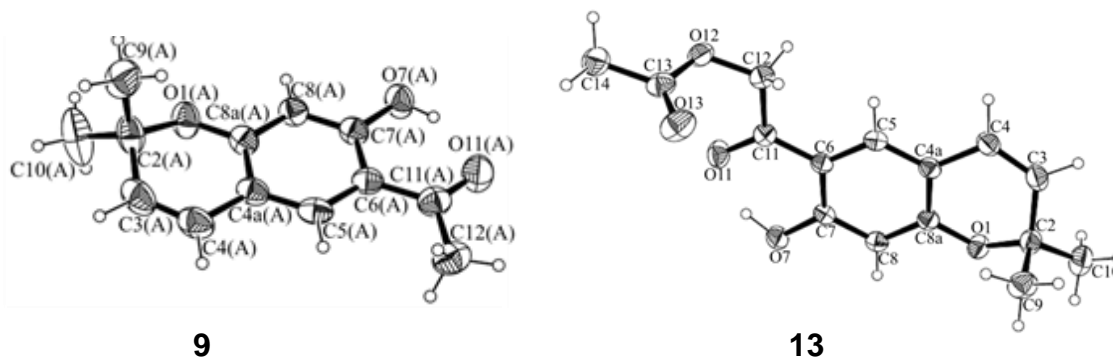


Figura 8.- Eupatoriocromeno (**9**) y ripariocromeno B (**13**).

Estos compuestos han presentado actividades biológicas contra el mosquito *Culex pipens* (Klocke, 1985) y las larvas del *Tenebrio molitor* (Carrizo, 1998); otros reportes muestran que **9** además posee actividad reguladora del crecimiento vegetal, ya que inhibe la germinación de semillas de diversas plantas entre las que se encuentra la alfalfa (Glory L. 1989). Recientemente, al extracto de cloruro de metileno de hojas de *A. arsenei* se le determinó la actividad analgésica en un modelo térmico de dolor agudo (Rojas C. D. *et al.*, 2015).

Los cromemos aislados de *Piper gaudichaudianum*, *P. aduncum* y los derivados preparados por acetilación y reducción **18-21** fueron ensayados *in vitro* contra epimastigoto de *Trypanozoma cruzi*. Los resultados revelaron que los cromemos mostraron significativa actividad antitripanozoma e indicaron que esta clase de productos naturales deberán ser considerados en futuros estudios para generar nuevas drogas contra la enfermedad de Chagas, por ejemplo cuando se acetiló el producto natural **18**, el derivado acetilado **19** mostro mejor actividad; por su parte, cuando se llevó a cabo la hidrogenación del cromeno **20**, el derivado saturado **21** perdió su actividad, de ahí la importancia de realizar estudios de la realción estructura-actividad (**Figura 9**) (Batista *et al.*, 2008).

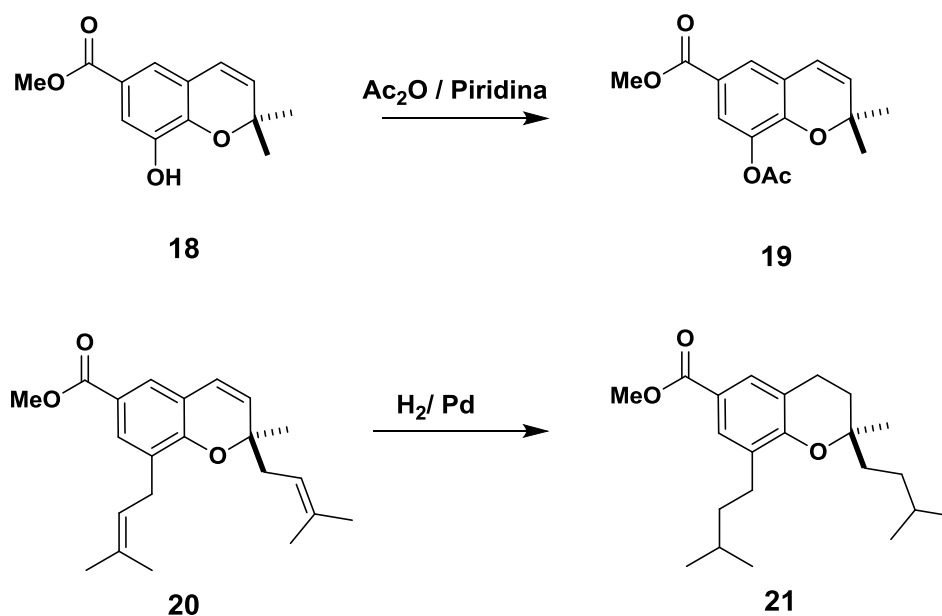


Figura 9.- Cromenos naturales y derivatizados.

Harel *et al.*, en el 2013, emplearon enecalina (**22**) sintética para preparar una serie de derivados nitrogenados con la finalidad de llevar a cabo estudios de relación estructura-actividad, pues se conoce que al introducir átomos de nitrógeno a las moléculas, estas pueden modificar su actividad biológica, observaron que el compuesto **25** mejoró la actividad contra *Plasmodium*

falsiparum con respecto a **22** y **23**. La amida **24** mostró moderada actividad citotóxica contra células L6 (**Figura 10**).

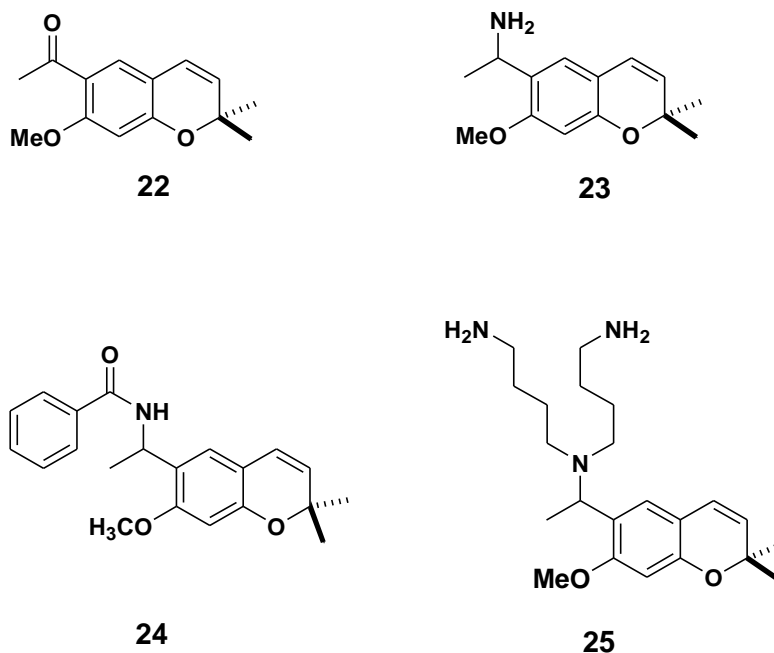


Figura 10.- Cromenos modificados con grupos amino.

Otros derivados nitrogenados **26-28**, que poseen esqueletos diferentes a los cromenos han mostrado actividad antimicrobiana contra bacterias de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, y *Pseudomona aeruginosa*, resaltando la base de Schiff **28** como la más activa, dada la resistencia de microorganismos patógenos causada por el uso excesivo e inadecuado de antibióticos, lleva a la búsqueda de nuevas moléculas con actividad antibacteriana es siempre constante (**Figura 11**) (Gupta K. M. *et al.*, 2007).

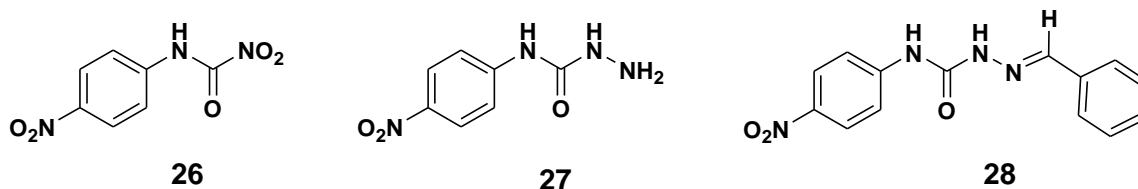


Figura 11.- Derivados nitrogenados con actividad antibacteriana.

Por otro lado, a raíz del descubrimiento de la actividad citotóxica del *cis*-platino[®] (**29**) (**Figura 12**), y su uso para el tratamiento del cáncer, surge el interés de sintetizar compuestos de coordinación con sales metálicas.

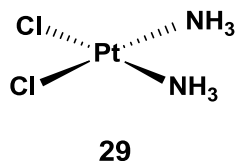
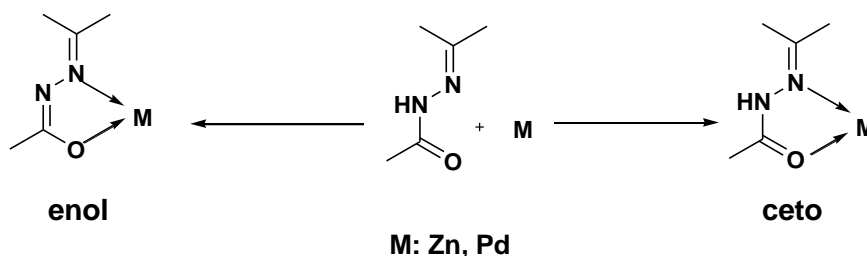


Figura 12.- Estructura del *cis*-platino[®].

La preparación de complejos metálicos usando como ligantes derivados de bases de Schiff, con metales de transición se puede dar de distintas formas; el primero, cuando la formación del complejo se genera debido a que la hidrazona reacciona con el metal en su forma de enol y la segunda cuando reacciona en su forma ceto (**Esquema 1**) (Issa Y. M. *et al.* 1998).



Esquema 1.- Formas de coordinación de hidrazonas con metales.

Andelkovic K. *et al.*, en el 2004, reportaron la formación del derivado **30** en el cual el átomo de zinc se une a los átomos de oxígeno y nitrógeno formando un complejo con geometría octaédrica. El complejo de Zn(II) **31** también adopta esta geometría, mientras que el complejo **32** muestra una geometría cuadrada, los complejos **30-32** presentaron actividad antibacteriana frente bacterias Gram positivas y negativas, además el complejo **32** presentó considerable actividad citotóxica frente células de carcinoma de hígado (HEPG2) (**Figura 13**) (Tahany I. K., *et al.* 2013; Sousa G. D., *et al.* 2013; Guerra W., *et al.* 2005; Dodoff N., *et al.* 1995).

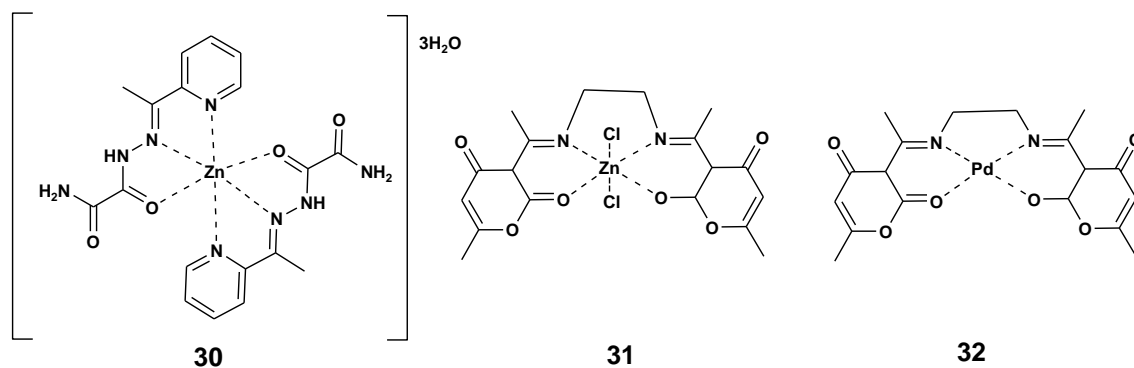


Figura 13.- Complejos de coordinación con zinc y paladio.

La preparación de complejos metálicos juegan un rol importante en la investigación, algunos ejemplos de esto son los complejos **33-35**, donde el Pd(II) y Pt(II) se coordinan al grupo NH₂ del ligante de manera monodentada; estos compuestos son de importancia debido a los efectos inhibitorios que han presentado en células leucémicas (**Figura 14**) (Guerra W., *et al.* 2005; De Sousa, G. D., *et al.* 2013).

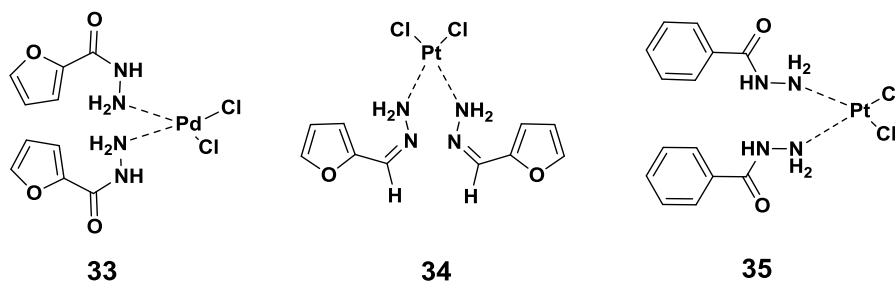
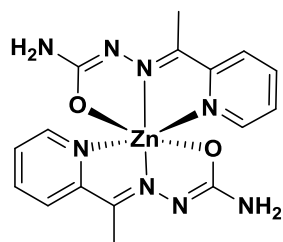
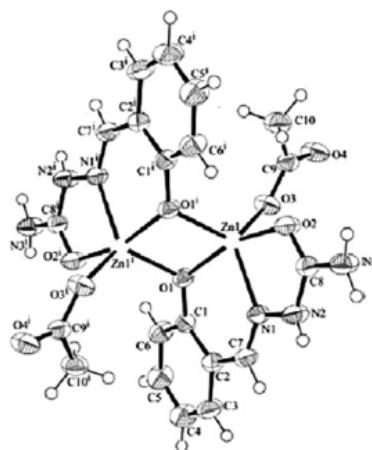


Figura 14.- Ejemplos de complejos metálicos con actividad biológica.

Kasuga, *et al.*, en el 2003 sintetizaron el complejo de zinc(II) **36** que presentó actividad antimicrobiana. Complejos de semicarbazonas pueden generar derivados binucleares como el complejo **37** que muestra una geometría bipirámide trigonal (**Figura 15**) (Parrilha, *et al.*, 2011).



36



37

Figura 15.- Complejos binucleares de Zn(II).

Entre los metales empleados en la química de coordinación el zinc es un metal muy importante en el organismo, de él dependen mecanismos bioquímicos en funciones fisiológicas las cuales han sido extensamente estudiadas. El zinc es omnipresente en las células en contraste con el hierro, que está contenido en componentes de células con un papel específico. El papel del zinc dentro de la biología se puede agrupar en funciones catalíticas, estructurales y regulatorias del organismo como ejemplos son la anhidrasa carbónica, carboxipeptidasas, fosfatasa alcalina y la β -lactamasa son algunas enzimas en las que el rol catalítico del zinc es necesario, en su rol estructural el zinc estabiliza la estructura terciaria de enzimas (Roohani N., *et al.*, 2013; Romaña D. L. *et al.*, 2010). Otro metal importante es el paladio, muy usado en la catálisis de reacciones, es un metal que ha presentado diversos usos como en el equipamiento electrónico de los circuitos y semiconductores (Kielhorn J. *et al.*, 2002); además se ha estudiado farmacológicamente, permitiendo encontrar funciones equiparables con el platino, con la ventaja de ser noble en su reactividad y relativamente más económico.

Considerando los antecedentes resulta interesante llevar a cabo un estudio del comportamiento coordinante de un esqueleto de cromeno con sales metálicas.

JUSTIFICACIÓN:

Los cromenos son compuestos que se pueden aislar en buenos rendimientos de especies del género *Ageratina*. La estructura química del cromeno lo hace candidato para ensayar las reacciones de coordinación, se han encontrado pocos reportes de la química de coordinación con productos naturales y menos aún, no existe ningún reporte de metales coordinados con cromenos, por lo que surge el interés de estudiar el comportamiento de los compuestos eupatoriocromeno (**9**) y ripariocromeno B (**13**) aislados de *Ageratina arsenei*, frente a sales metálicas.

OBJETIVO GENERAL:

Evaluar el comportamiento de coordinación de los cromenos eupatoriocromeno (9) y ripariocromeno B (13) frente a sales metálicas.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

Aislar y caracterizar eupatoriocromeno (9) y ripariocromeno B (13) de *Ageratina arsenei*.

Estudiar las reacciones de coordinación de eupatoriocromeno (9) y ripariocromeno B (13) frente a la sales metálicas.

Caracterizar los compuestos de coordinación por métodos físicos y espectroscópicos.

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Las colectas de *Ageratina arsenei* se realizaron a orilla de la carretera México-Morelia en el Km 25 vía Mil cumbres. Un lote de 0.650 Kg de las raíz secas y molidas de *A. arsenei* se maceraron con 3 L de hexanos durante tres días a temperatura ambiente, se realizaron tres extracciones sucesivas bajo las mismas condiciones, de las cuales se obtuvieron 6 g de extracto que se sometieron a cromatografía utilizando como fase estacionaria gel de sílice y como fase móvil mezclas de hexanos-AcOEt en polaridad creciente; de las fracciones que eluyeron de la polaridad 19:1 hexanos-AcOEt se obtuvieron 0.9 g de cristales amarillos con punto de fusión de 74-75 °C; los cuales fueron analizados por espectroscopia de infrarojo (IR) mostrando una banda en 1620 cm^{-1} correspondiente al estiramiento C=O carbonilo de cetona, en 1278 cm^{-1} se aprecia una banda de tensión correspondiente a la frecuencia de vibración C-OH (fenólico)(Figura 16).

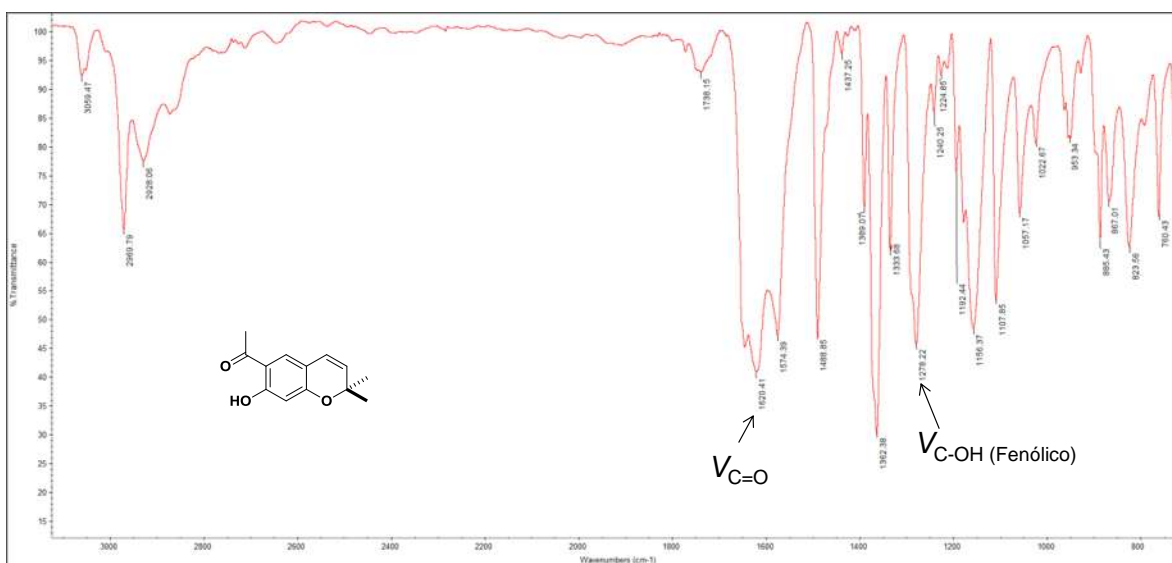


Figura 16.- Espectro IR del eupatoriocromeno (9).

En el espectro de RMN de ^1H de **9** (Figura 17) se observa en 12.73 ppm una señal simple en correspondiente al $-\text{OH}$ fenólico que se encuentra unido al carbono 7, éste grupo se encuentra formando un puente de hidrógeno con el oxígeno del carbonilo en posición 6. Las señales de los hidrógenos aromáticos H-5 y H-8 se observaran como señales simples en 7.28 ppm y 6.29 ppm, respectivamente, indicando que se encontraban en posición *para*. En 6.24 ppm se observa una señal doble ($J_{4-3}= 9.9$ Hz) correspondiente a H-4; en 5.57 ppm una señal doble ($J_{3-4}= 9.9$ Hz) correspondiente a H-3. En 2.50 ppm una señal simple que integra para tres hidrógenos correspondiente a H-12, en 1.43 ppm una señal simple que integra para 6 hidrógenos correspondientes al *gem*-dimetilo.

En el espectro de RMN de ^{13}C de **9** (Figura 18) en 202.1 ppm se encuentra la señal del carbonilo 11, se observan tres señales en la región alifática y nueve en la zona de aromáticos o carbonos sp^2 , en 164.8 ppm presenta una señal en carbono 7, en 160.1 ppm se observó la señal correspondiente al carbono 8a; en 128.5 ppm se tiene a la señal del carbono 3; el carbono 5 tiene su señal en 128.4 ppm; en 120.7 ppm se encuentra la señal del carbono 4. Mientras que la señal en 113.6 ppm corresponde al carbono 6; la señal que se encuentra en 113.3 ppm pertenece al carbono 4a, el carbono 8 presenta su señal en 104.1 ppm; en 77.6 ppm la señal del carbono 2; en 28.3 ppm se aprecia una señal que pertenece a los carbonos 9 y 10, los cuales se encuentran sobrepuestos y finalmente se observó una señal en 25.9 ppm correspondiente al carbono asignado como C-12. Los espectros fueron comparados con los de la literatura y corresponden al eupatoriocromeno (**9**).

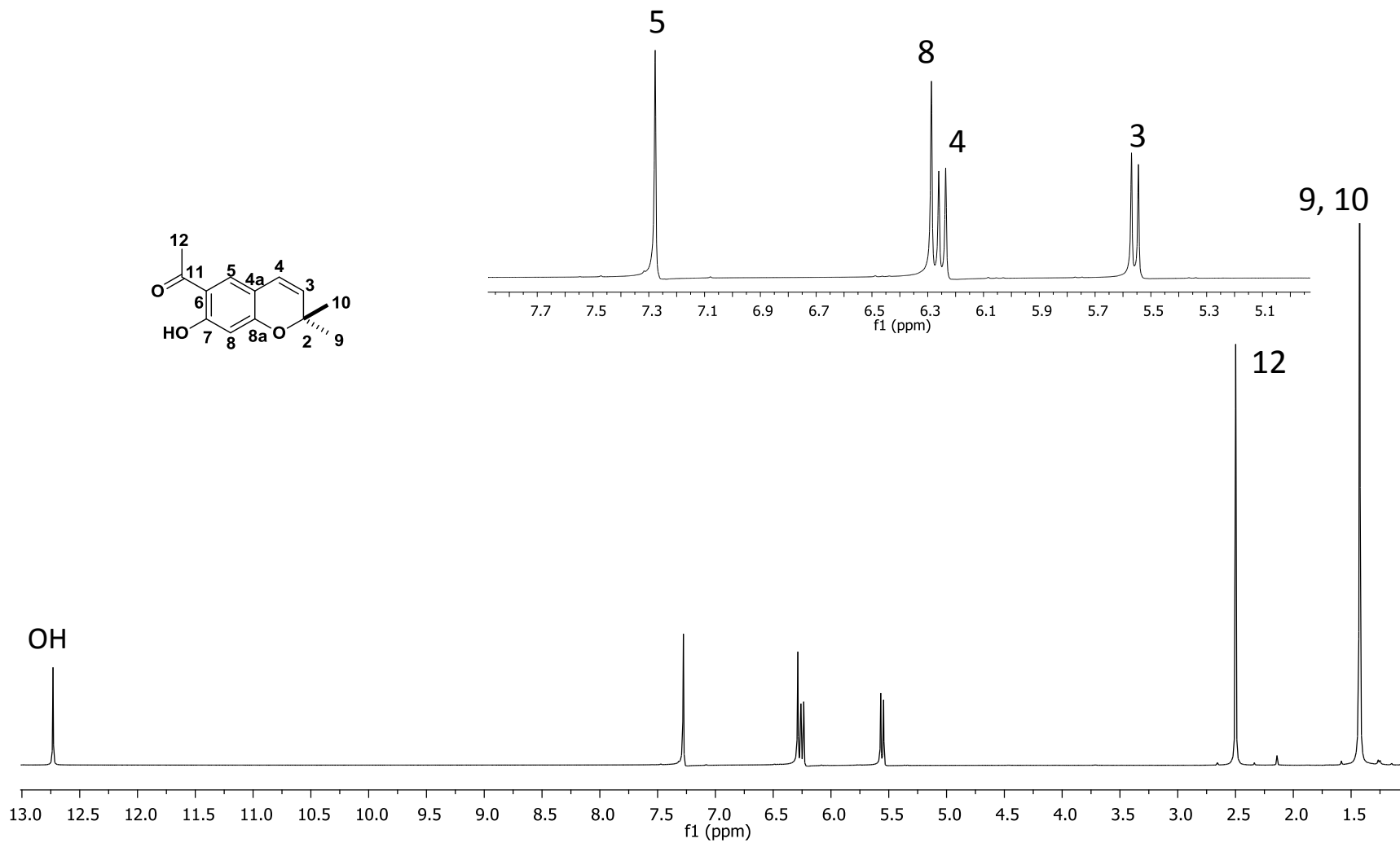


Figura 17.- Espectro de RMN de ¹H a 400 MHz en CDCl₃ de eupatoriocromeno (9).

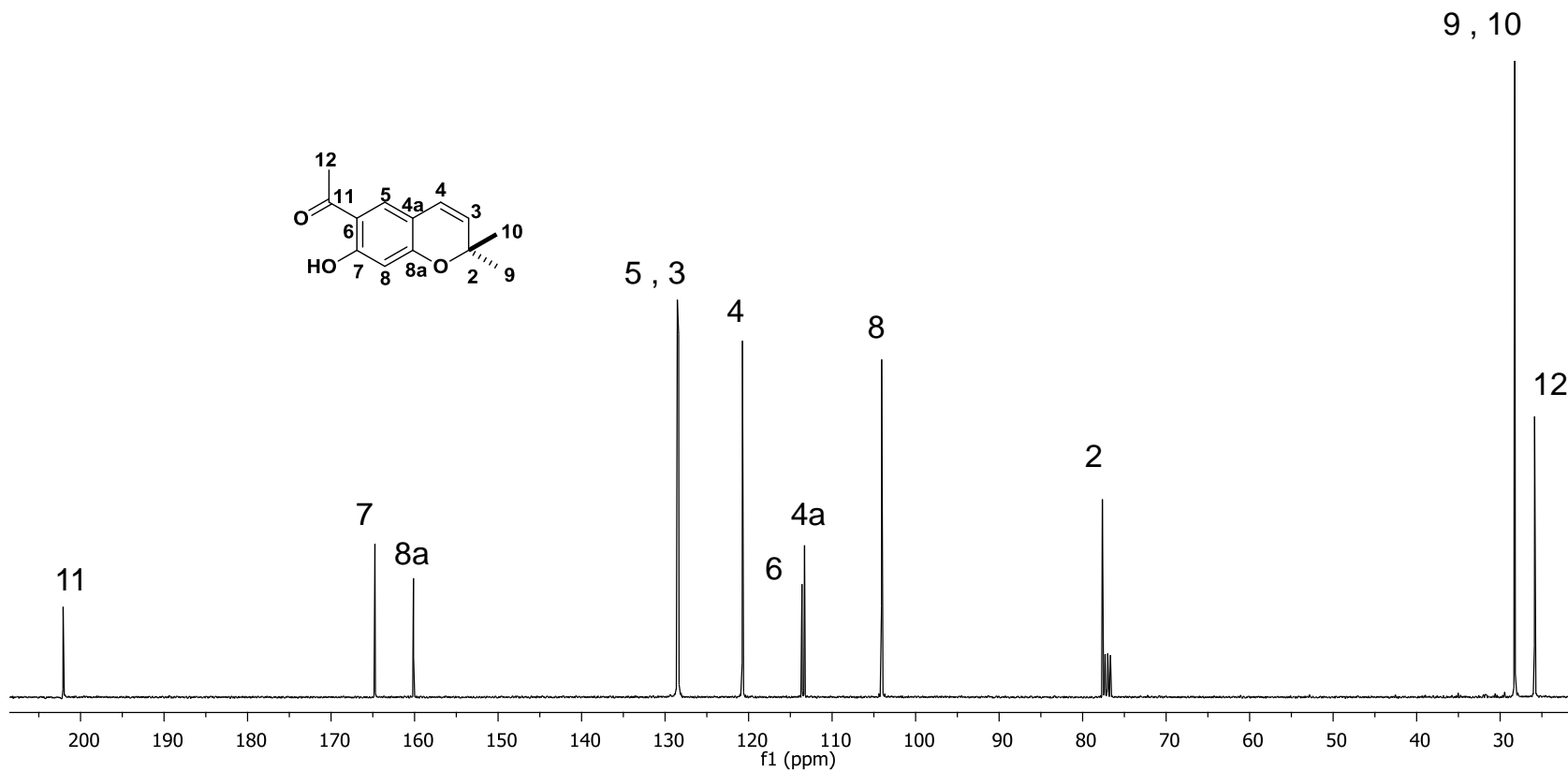


Figura 18.- Espectro de RMN de ¹³C a 100 MHz en CDCl₃ de eupatoriocromeno (9).

Continuando con la separación cromatográfica las fracciones que eluyeron con la polaridad 4:1 hexanos-AcOEt se obtuvieron 0.3 g de cristales incoloros con punto de fusión de 144-145 °C; el espectro IR mostró bandas en 1745 cm^{-1} correspondientes al estiramiento C=O de carbonilo de acetato, una banda perteneciente al estiramiento C=O carbonilo de cetona en 1643 cm^{-1} , en 1269 cm^{-1} banda perteneciente al estiramiento C-OH (fenólico) (**Figura 19**).

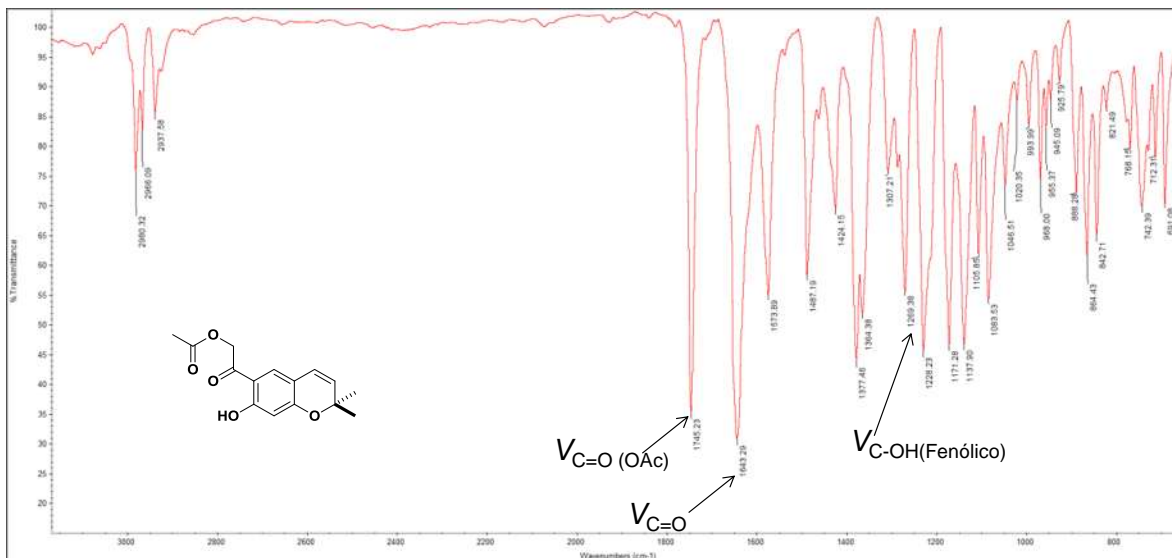


Figura 19.- Espectro IR de Ripariocromeno B (**13**).

El espectro de RMN de ^1H de **13**, (**Figura 20**) muestra una señal 12.05 ppm correspondiente a un grupo OH formando un puente de hidrógeno al igual que el compuesto **9**. Las señales de los hidrógenos aromáticos H-5 y H-8 se observan las señales simples en 7.18 ppm y 6.34 ppm respectivamente, indicando que estos se encuentran en posición *para*, en 6.26 ppm con una ($J_{4,3} = 9.96$ Hz) correspondiente a H-4 y en 5.59 ppm otra señal doble con ($J_{4,3} = 9.96$ Hz) correspondiente al H-3; también se aprecia una señal en 5.25 ppm que integra para dos hidrógenos correspondientes a un grupo metileno (H-12). En 2.23 ppm se encuentra una señal simple que integra para tres hidrógenos que corresponden a un grupo acetilo; en 1.44 ppm se observa una señal simple la cual integra para 6 hidrógenos de los *gem*-dimetilos de los CH_3 -9 y CH_3 -10.

El análisis de RMN de ^{13}C (**Figura 21**) de **13** mostró catorce señales y tres señales en la región alifática y nueve en la zona de aromáticos o carbonos sp^2 . En 195.0 ppm se encuentra la señal del carbono 11, en 170.4 ppm se observa el carbonilo del acetilo, en 165.1 ppm se aprecia la señal del carbono 7, en 160.9 ppm se observa una señal correspondiente al carbono 8a, en 129.3 ppm se tiene a la señal del carbono 3; el carbono 5 tiene su señal en 126.0 ppm; en 120.6 ppm se encuentra la señal del carbono 4; la señal que se encuentra en 113.9 ppm pertenece al carbono 4a; mientras la señal en 111.1 ppm corresponde al carbono 6; el carbono 8 presenta una señal en 104.7 ppm; en 78.2 ppm la señal del carbono 2, se observa una señal en 64.4 ppm correspondiente al carbono asignado como C-12. En 28.5 ppm se aprecia una señal que pertenece a los carbonos 9 y 10, la señal se encuentra sobrepuesta y para finalizar en 20.5 ppm se observa la señal del metilo del acetilo. Los espectros fueron comparados con los de la literatura y corresponden al ripariocromeno B (**13**).

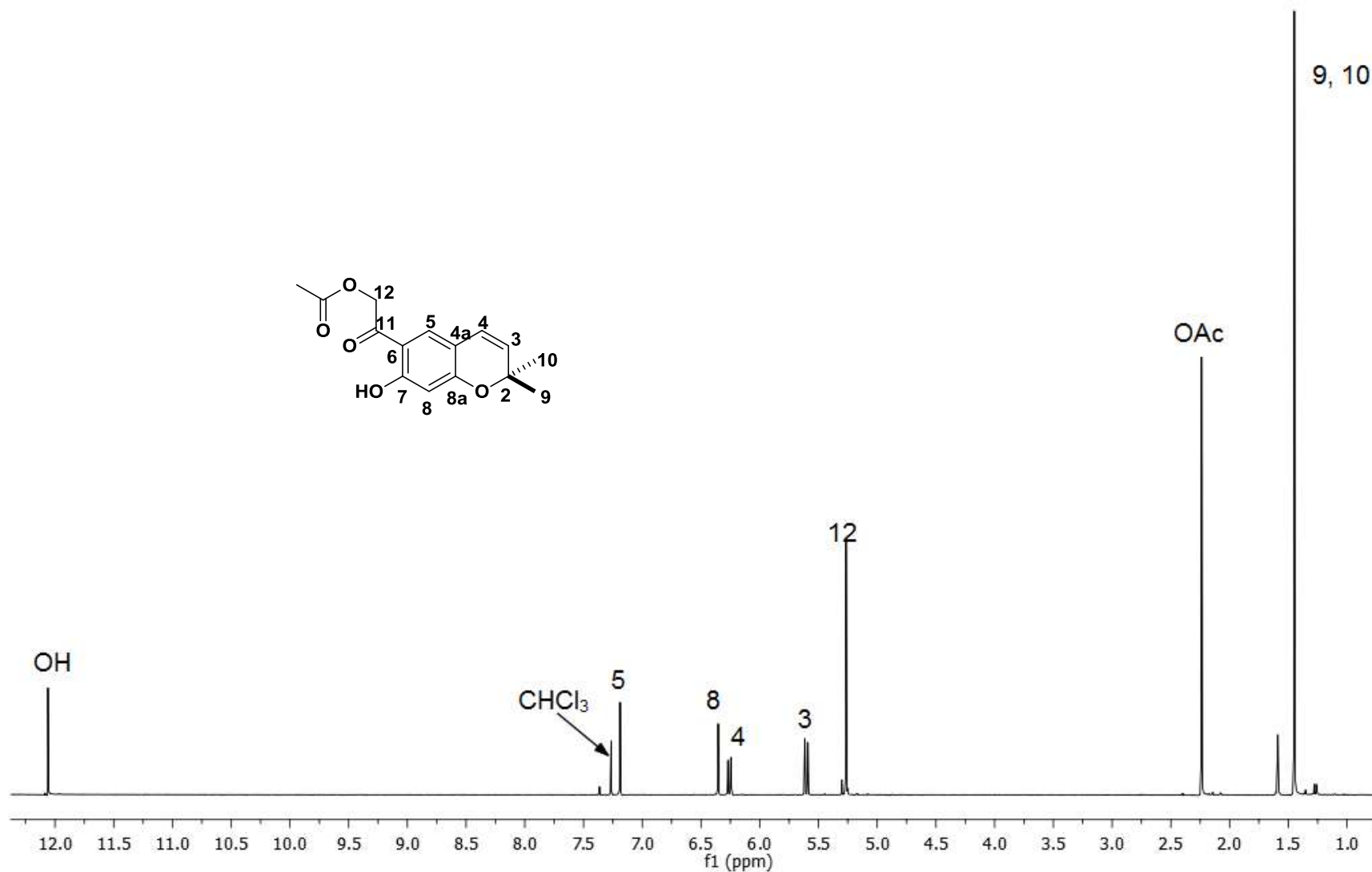


Figura 20.- Espectro RMN de ¹H a 400MHz en CDCl₃ de ripariocromeno B (13).

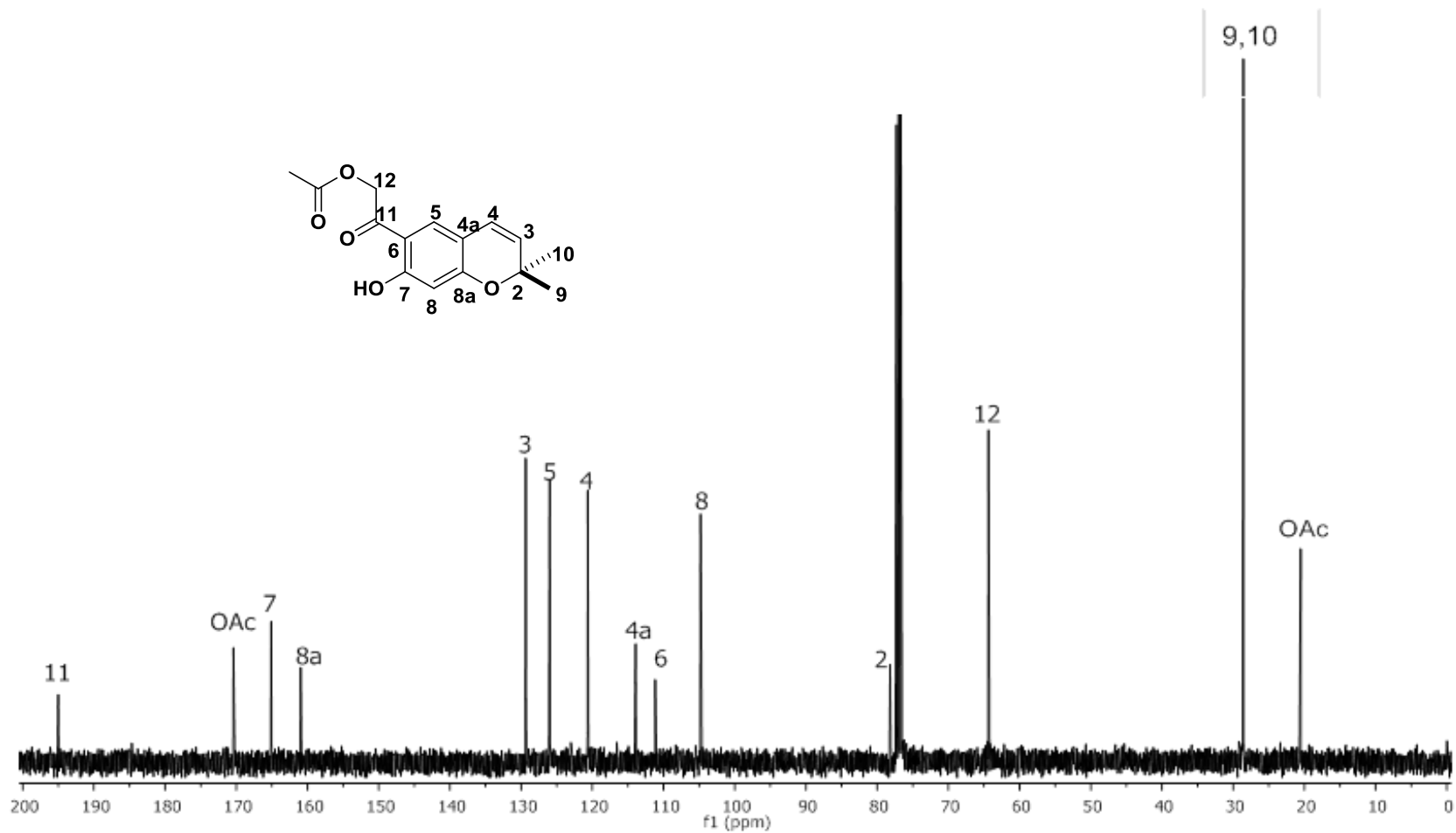


Figura 21.- Espectro RMN de ¹³C a 100 MHz en CDCl₃ de ripariocromeno B (13).

En el curso de las separaciones cromatográficas de los cromenos mayoritarios de este estudio, se encontraron otras fracciones que presentaban cristales, razón por la cual se decidió continuar con la identificación de los otros compuestos aislados. De las fracciones eluidas con la polaridad 16:5 hexanos-AcOEt se obtuvieron 66 mg de cristales incoloros con punto de fusión de 164-165 °C; los cuales se analizaron por RMN de ^1H (**Figura 22**) mostrando señales de los hidrógenos aromáticos H-5 y H-8 que se observan como señales simples en 7.10 ppm y 6.25 ppm respectivamente, lo que nos indica que estos hidrógenos se encuentran ubicados en posición *para*, se observa una señal doble en 6.35 ppm correspondiente a H-4 ($J_{4-3} = 9.3$ Hz), en 5.45 ppm una señal doble para el H-3 ($J_{3-4} = 9.3$ Hz), se observa una señal cuádruple en 4.60 ppm que integra para un hidrógeno correspondiente a H-11 el cual debe ser vecino a un metilo dada su multiplicidad, en 3.65 ppm se observa una señal simple que integra para tres hidrógenos de metoxilo, en 1.41 y 1.45 ppm para dos señales simples que integran cada una para tres hidrógenos correspondiente al *gem*-dimetilo, en 1.30 ppm se observó una señal doble correspondiente al H-12. Datos que indican la presencia de un esqueleto de cromeno metoxilado, debido a la gran similitud con los cromenos previamente aislados.

En el espectro de RMN de ^{13}C (**Figura 23**) se observó una señal en 157.8 del carbono 7 base de metoxilo, en 152.9 ppm se observa la señal de carbono cuaternario para el carbono 8a, se puede observar en 127.4 ppm la señal para el carbono 5, en 125.5 ppm se encuentra una señal correspondiente al carbono 6, la señal en 124.8 ppm corresponde al carbono 4; se observa una señal en 122.3 ppm correspondiente al carbono 3; la señal que se encuentra en 113.8 ppm corresponde al carbono 4a; el carbono 8 se presenta su señal en 99.1 ppm; en 76.4 ppm se presenta la señal para el carbono 2; en 68.5 ppm se observa una señal simple para el carbono asignado como C-11; en 55.2 ppm se observan los metilos del metoxilo, en 28.4 ppm y 28.1 ppm se observan dos señales simples correspondiente a los carbonos 9 y 10 respectivamente; por último en 23.2 ppm se observa una señal correspondiente al carbono asignado como C-12. Las

asignaciones de las señales del RMN de ^1H y ^{13}C fueron confirmadas mediante experimentos de RMN de 2D.

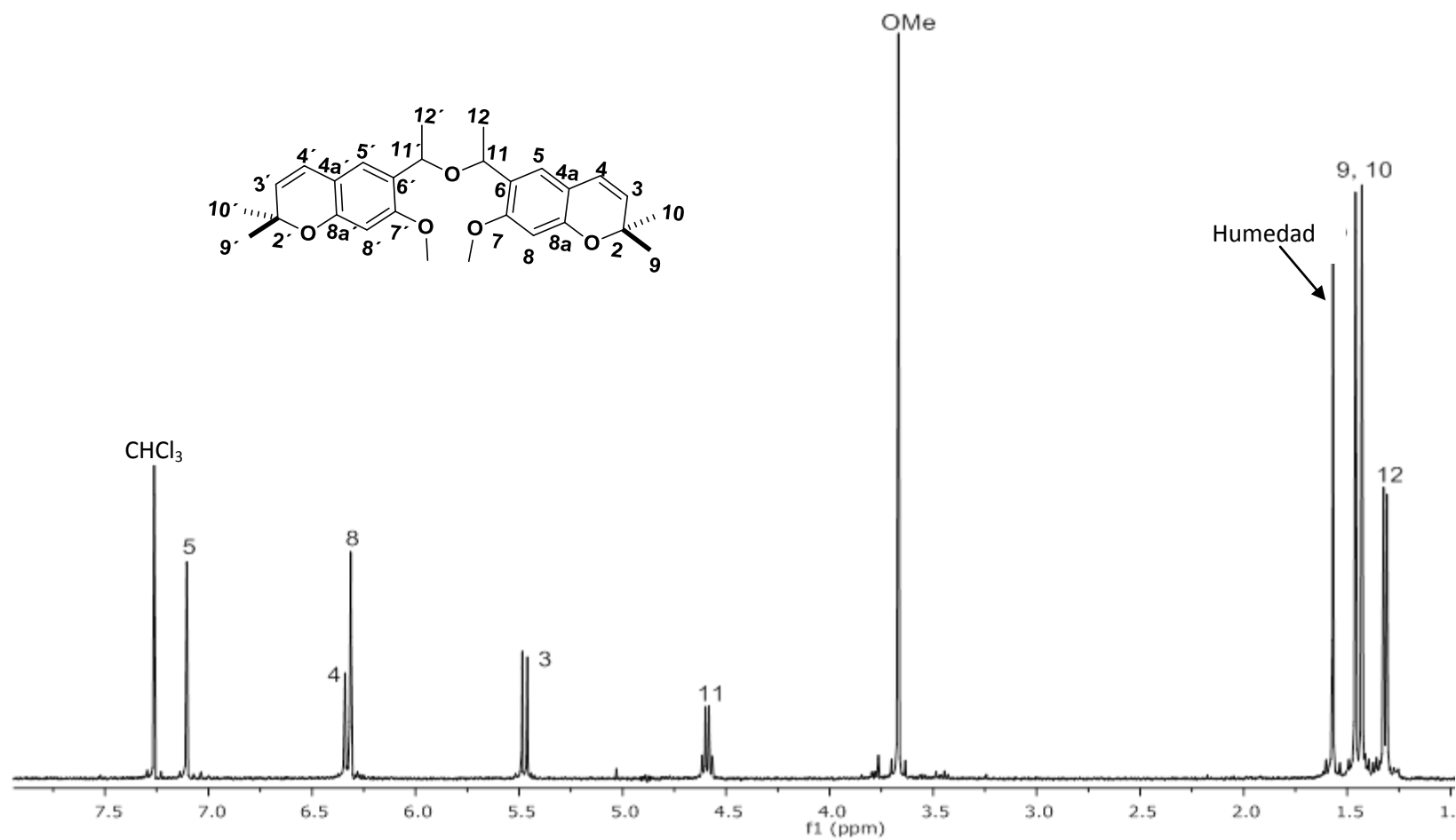


Figura 22.- Espectro de RMN de ^1H a 400 MHz en CDCl_3 de enecanescina (38).

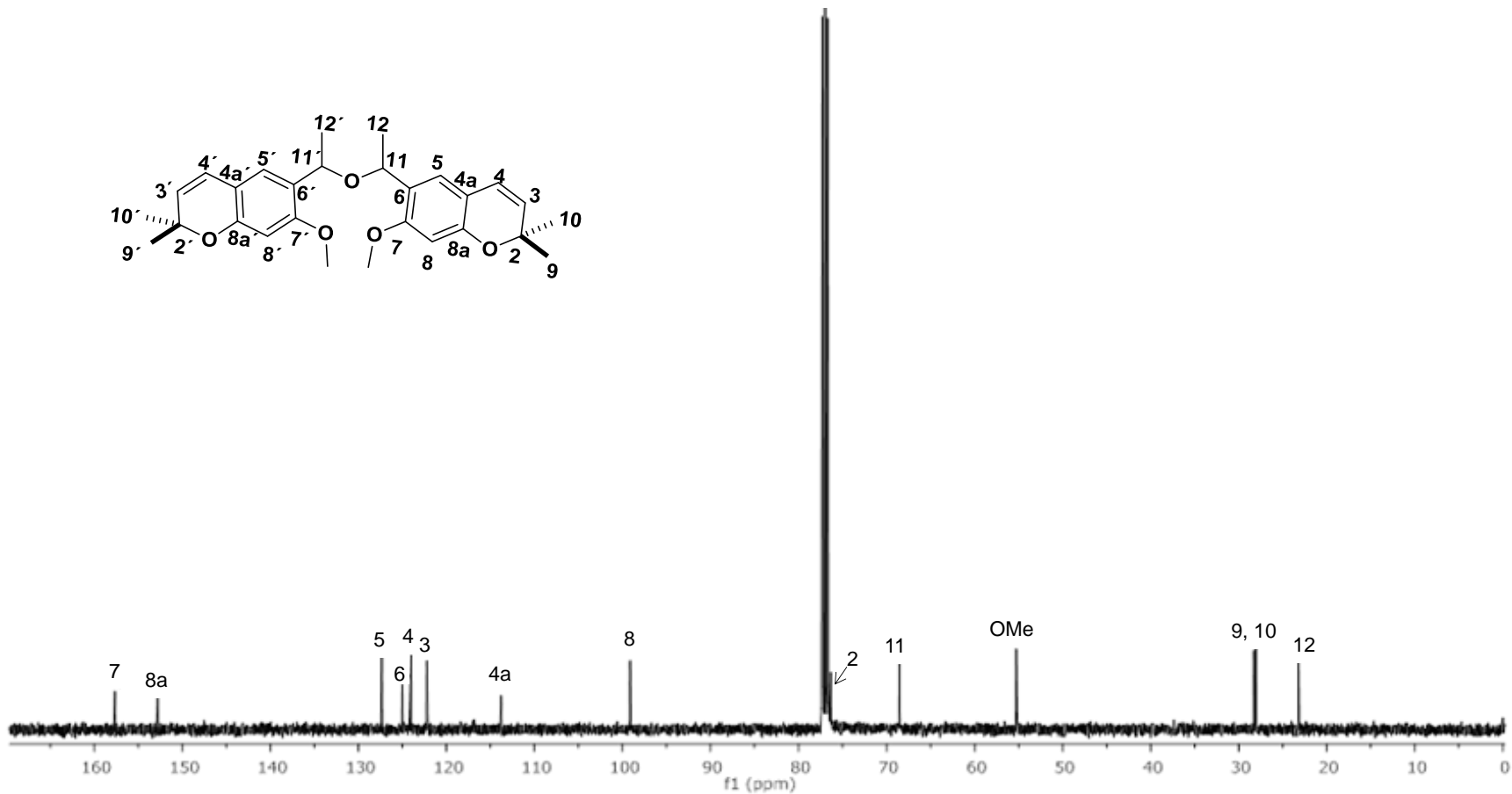


Figura 23.- Espectro de RMN de ¹³C a 100 MHz en CDCl₃ de enecanescina (38).

Una vez analizados los datos de RMN de ^1H y ^{13}C se pueden proponer dos estructuras de isómeros que justifican los desplazamientos químicos:

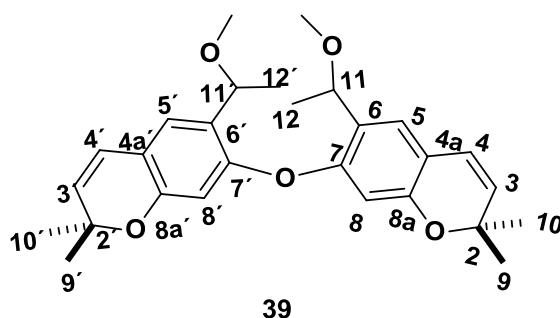
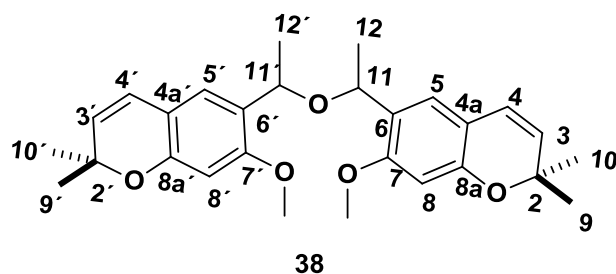


Figura 24.-Posibles estructuras para el derivado **38**

Por lo que se decidió realizar el experimento NOESY (**Figura 25**) para poder corroborar la posición de los sustituyentes como son el metoxilo y el isopropilo en nuestra estructura, se observa que la señal simple del hidrógeno aromático H-5 en 7.10 ppm el cual correlaciona a cuatro enlaces de distancia con el hidrógeno H-11 del isopropilo en 4.60 ppm, también se logra visualizar la correlación que existe entre los hidrógenos pertenecientes al metoxilo en 3.65 ppm y el hidrógeno aromático H-8, mostrando así la localización del metoxilo y el isopropilo, estos se encuentran en posiciones *orto* con respecto a los hidrógenos aromáticos H-8 y H-5 respectivamente **38** y **39**. Con lo que se establece que el derivado corresponde a la encecancina (**38**). Previamente aislada de *Encelia canescens* (Bohlman F. *et al.*, 1983), *A. arsenei* (Fang, S N. Y. *et al.*, 1988) y recientemente en *Eupatorium aschbornianum* (Reyes-Trejo B. *et al.*, 2014).

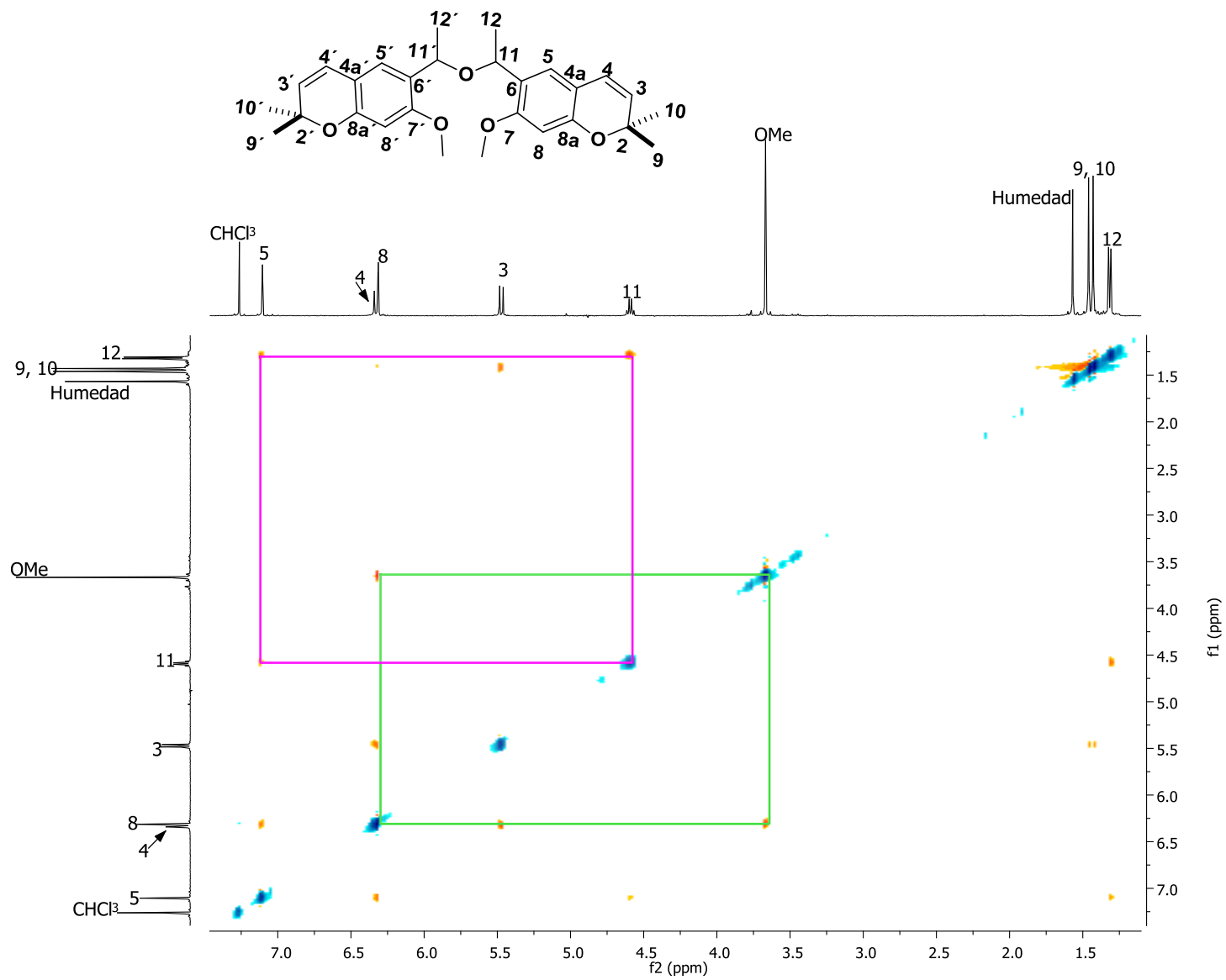


Figura 25.- Experimento NOESY de la enecanescina (38).

De las fracciones eluidas con una polaridad de 7:3 hexanos-AcOEt se obtuvieron 30 mg de unos cristales amarillos, el espectro de RMN de ^1H muestra una señal simple en 12.80 ppm correspondiente al $-\text{OH}$ fenólico que se encuentra unido al carbono 7, éste grupo se encuentra formando un puente de hidrógeno con el oxígeno del grupo carbonilo en posición 6, se observa una señal simple para hidrógenos aromáticos H-5 en 7.12 ppm, una señal doble en 6.27 ppm correspondiente a H-4; en 5.59 ppm una señal doble correspondiente a H-3 señales características del anillo de cromeno, en 3.84 ppm se puede observar una señal simple característica de los protones correspondiente a un metoxilo. En 2.54 ppm una señal simple que integra para tres hidrógenos correspondiente a H-12, en 1.50 ppm una señal simple que integra para 6 hidrógenos correspondientes al *gem*-dimetilo (**Figura 26**).

En el espectro de RMN de ^{13}C (**Figura 27**) se observa en 202.9 ppm la señal del carbono 11, en 155.2 ppm presenta una señal en carbono 8a, el carbono 8 base de metoxilo presenta su señal en 151.0 ppm; en 142.5 ppm el carbono 7 base de hidroxilo, en 129.0 ppm se tiene a la señal del carbono 3; en 116.3 ppm se encuentra la señal del carbono 4. el carbono 5 tiene su señal en 113.5 ppm; Mientras que la señal en 112.2 ppm corresponde al carbono 6, la señal que se encuentra en 110.1 ppm pertenece al carbono 4a, en 78.8 ppm la señal del carbono 2, en 57.9 ppm se puede observar una señal perteneciente a metilo de metoxilo, en 29.2 ppm se aprecia una señal que pertenece a los carbonos CH_3 -9 y CH_3 -10, los cuales se encuentran traslapados; y finalmente una señal en 26.35 ppm correspondiente al carbono asignado como C-12.

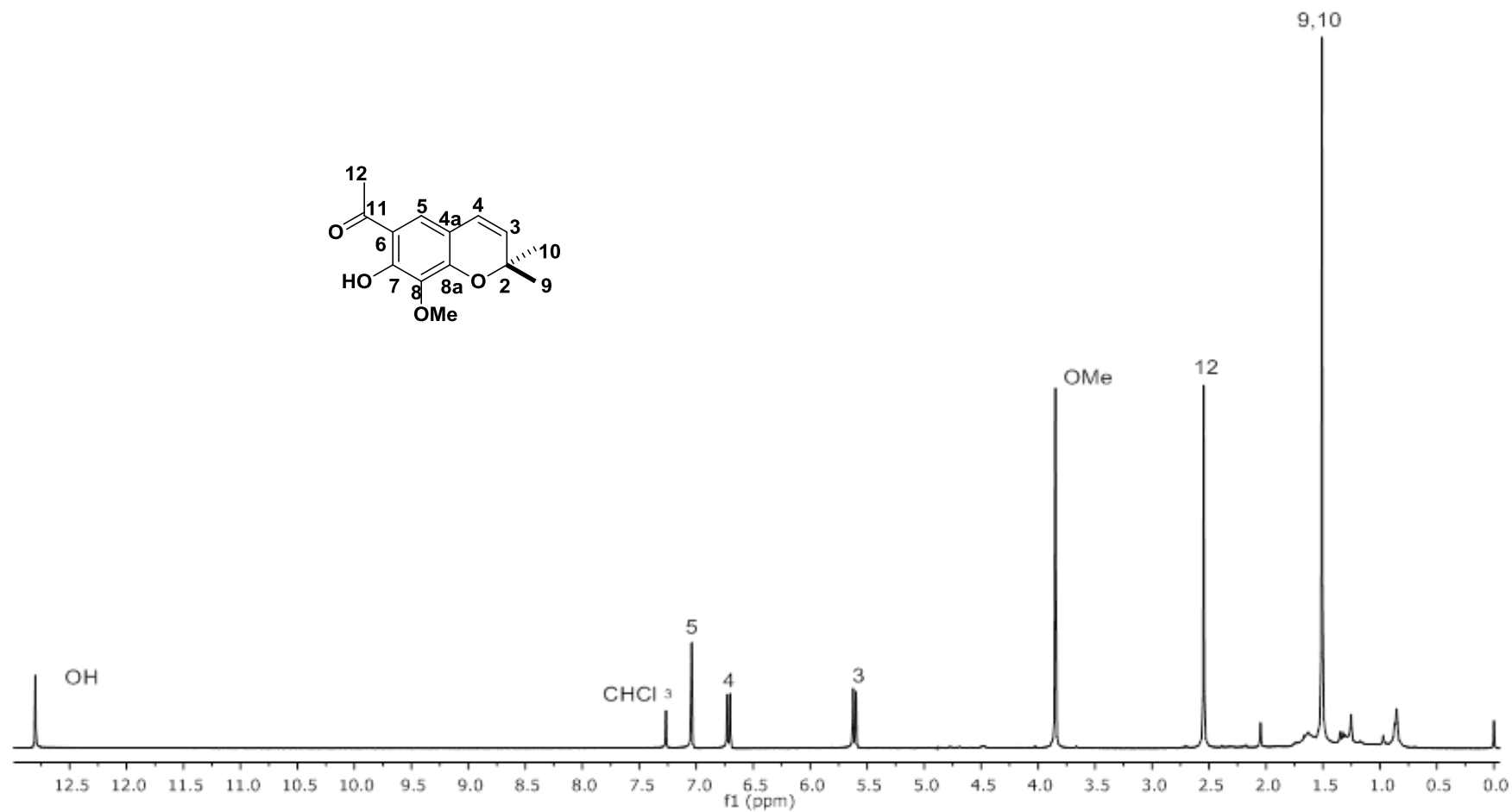


Figura 26.- Espectro de RMN de ¹H a 400MHz en CDCl₃ del ripariocromeno A (10)

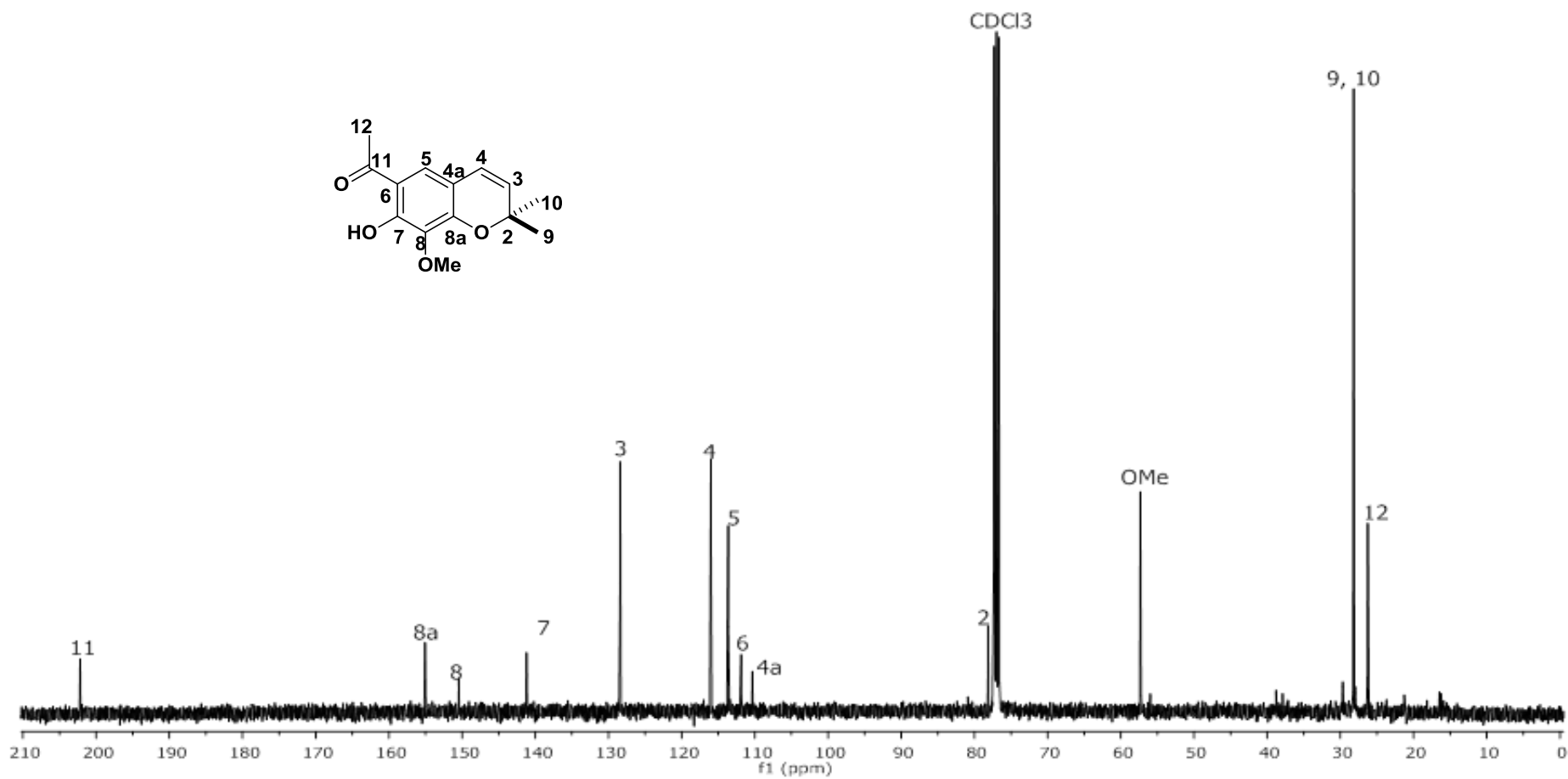


Figura 27.- Espectro de RMN de ^{13}C a 100 MHz en CDCl_3 de ripariocromeno A (10).

Mediante el experimento HETCOR (**Figura 28**) se asigna la señal correspondiente a los carbonos CH₃-C-9 y CH₃-C-10 en 28.9 ppm para los carbonos, ya que estos muestran una correlación con la señal en 1.50 ppm perteneciente a los protones H-9 y H-10. La señal en 2.50 ppm correspondiente al metilo de cetona, muestra una correlación a 26.3 ppm perteneciente al carbono C-12. En 57.9 ppm se observa una señal para el carbono de metoxilo que correlaciona con una señal simple a 3.84 ppm correspondiente a los protones de un metilo. Se observan dos señales dobles una a 6.67 ppm para el protón H-4 y otra a 5.55 ppm perteneciente al protón H-3 que correlaciona cada uno con su respectivo carbono a 116.3 ppm para el C-4 y 128.8 ppm para C-3, en 113.7 ppm se asigna la señal correspondiente para el carbono C-5 que correlaciona en 7 ppm para una señal simple correspondiente al protón H-5. Los espectros fueron comparados con los de la literatura y corresponden al ripariocromeno A (**10**) obtenido anteriormente en hojas de *Ageratina arsenei* (Fang N. S. Y. *et al.*, 1988).

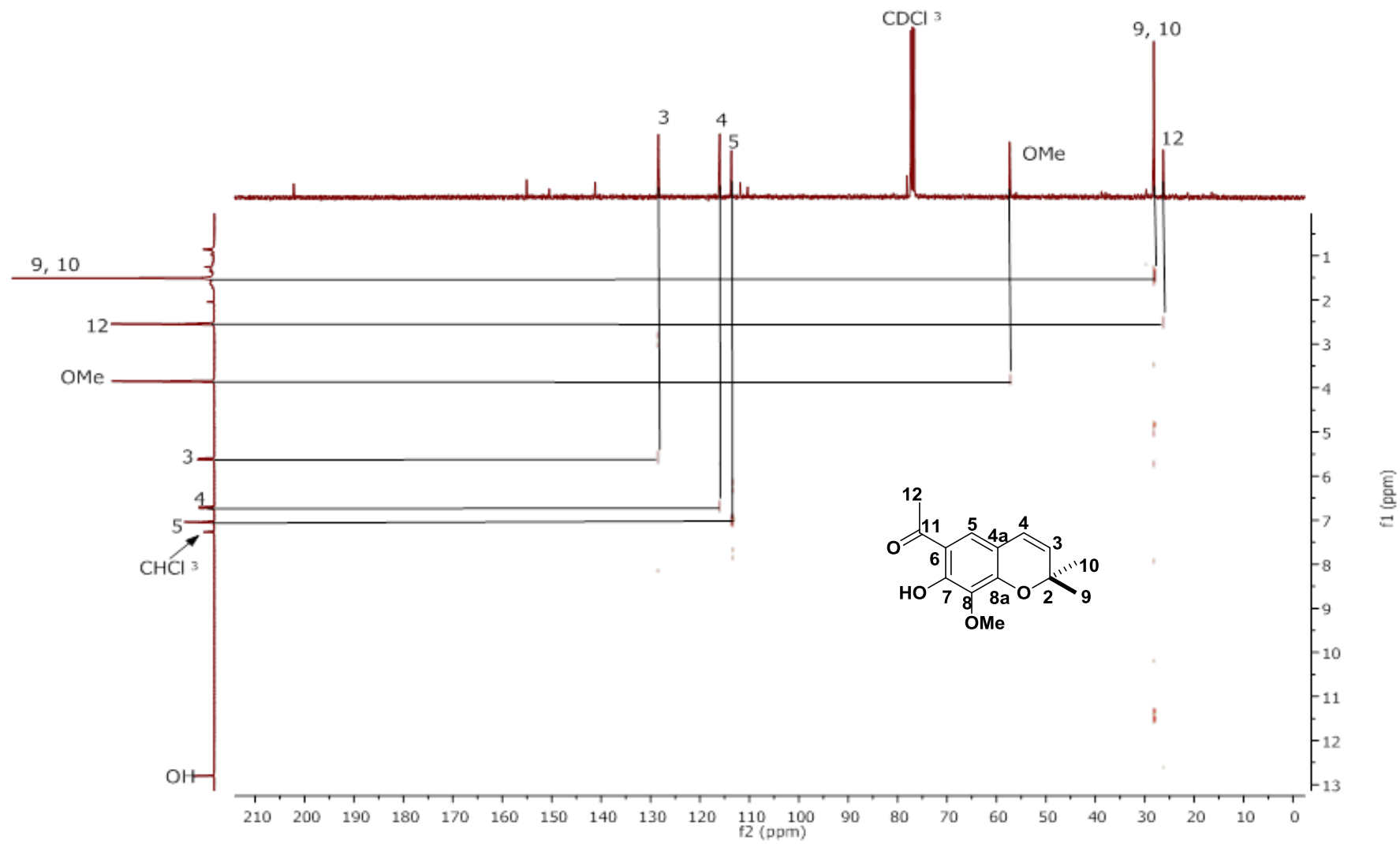
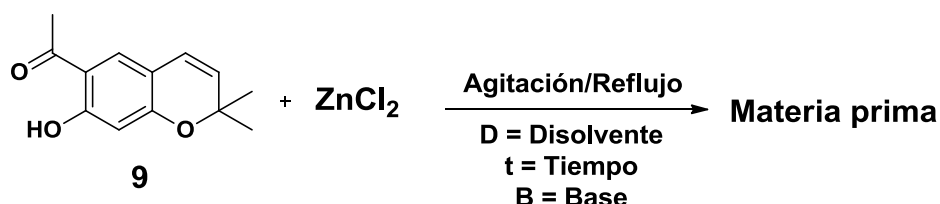


Figura 28.-Experimento HETCOR del ripariocromeno A (10).

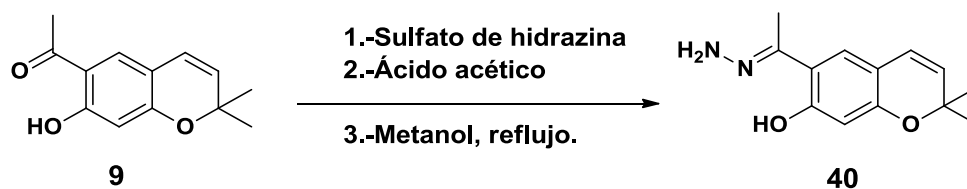
Los estudios de coordinación con las sales metálicas se iniciaron con el eupatoriocromeno (**9**) que se obtuvo en mayor rendimiento de la raíz de la planta, para garantizar que se contaba con cantidad suficiente para la exploración de las condiciones de reacción, realizando los ensayos de coordinación frente a la sal metálica de $ZnCl_2$ **Esquema 2**.



D	B	t (Horas)
Acetona	---	3
Acetona	NaOH	3
Acetona	NaOH	24
Acetona:H ₂ O	NaOH exceso	24
MeOH	NaOH exceso	3
MeOH: H ₂ O	NaOH exceso	3
MeOH	---	3
i-Pro	KOH	3
i-Pro	NaOH	3
i-Pro: H ₂ O	---	24

Esquema 2.- Condiciones generales de reacción del Eupatoriocromeno (**9**) frente al $ZnCl_2$

La obtención de **9** se justifica por la poca reactividad debido a la presencia del puente de hidrógeno y a la fuerza de éste. Con la finalidad de disminuir la fuerza del puente de hidrógeno y aumentar los sitios de coordinación se decidió derivatizar **9**, iniciando con la preparación del derivado **40** **Esquema 3**.



Esquema 3.- Formación de Hidrazona 40

Se disolvieron 100 mg de Eupatoriocromeno (**9**) en 7 mL de Metanol, previamente se disolvió el Sulfato de hidrazina en 2 mL de metanol, la mezcla de reacción se dejó reaccionar durante 24 h a reflujo. Una vez terminado el tiempo de reacción se observa un precipitado color amarillo, el cual se filtra al vacío. Se obtuvieron 67.7 mg cristales amarillo en forma de agujas muy finas, con 60.8 % de rendimiento, con un punto de fusión de 230-235 °C, **Esquema 3** analizados por IR, donde se pudo observar una banda en 2979 cm^{-1} características de $V_{(\text{N-H})}$, en 2932 cm^{-1} se observan $V_{(\text{C-H})}$, en 1634 cm^{-1} estiramiento $V_{(\text{C=N})}$, se observa las bandas $V_{(\text{C=C})}$ en 1614 cm^{-1} y 1560 cm^{-1} se observa a 1279 cm^{-1} estiramiento $V_{(\text{C-O})}$ fenólico. (**Figura 29**)

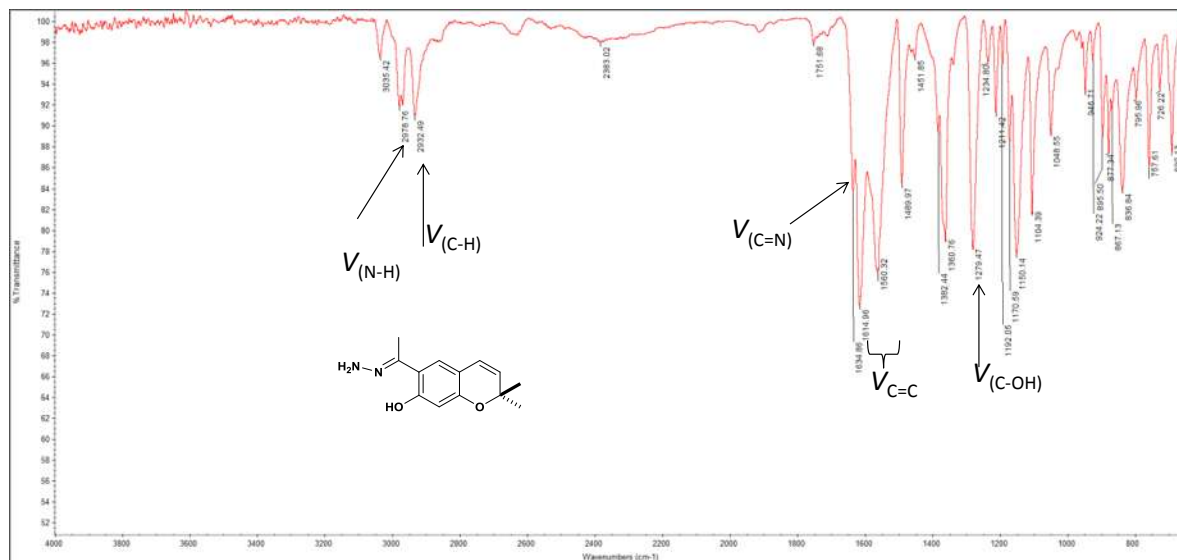


Figura 29.- Espectro IR de la hidrazona de cromeno **40**.

El análisis de RMN de ^1H de **40 (Figura 30)** muestra una señal simple en 13.85 ppm que corresponden al $-\text{OH}$ fenólico, el cual se encuentra formando un puente de hidrógeno con el nitrógeno sp^2 en posición 6. Las señales de los hidrógenos aromáticos H-5 y H-8 se observan cómo señales simples en 7.23 y 6.43 ppm, respectivamente, indicando que se encuentran en posición *para*, se observa además las señales doble en 6.26 ppm correspondiente al H-4; en 5.53 ppm aparece una señal doble correspondiente a H-3; en 2.52 ppm una señal simple que integra para tres hidrógenos correspondiente a H-12 y en 1.44 ppm una señal simple que integra para seis hidrógenos correspondiente al *gem*-dimetilo,

El espectro de RMN de ^{13}C (**Figura 31**) muestra en 167.5 ppm la señal del carbono 11 que corresponde ahora a un carbonilo de hidrazona; en 163.3 ppm presenta una señal en carbono 7, en 157.8 ppm se observa la señal correspondiente al carbono 8a; en 128.5 ppm se tiene la señal del carbono 3; el carbono 5 tiene su señal en 126.66 ppm; en 121.5 ppm se encuentra la señal del carbono 4. Mientras que la señal en 113.8 ppm corresponde al carbono 6; la señal que se encuentra en 112.8 ppm pertenece al carbono 4a, el carbono 8 presenta su señal en 104.7 ppm; en 77.9 ppm se observa el carbono 2, en 28.3 ppm se aprecia una señal que pertenece a los carbonos 9 y 10, los cuales se encuentran sobrepuestos se observa una señal en 15.0 ppm se aprecia una señal que pertenece al carbono asignado como C-12.

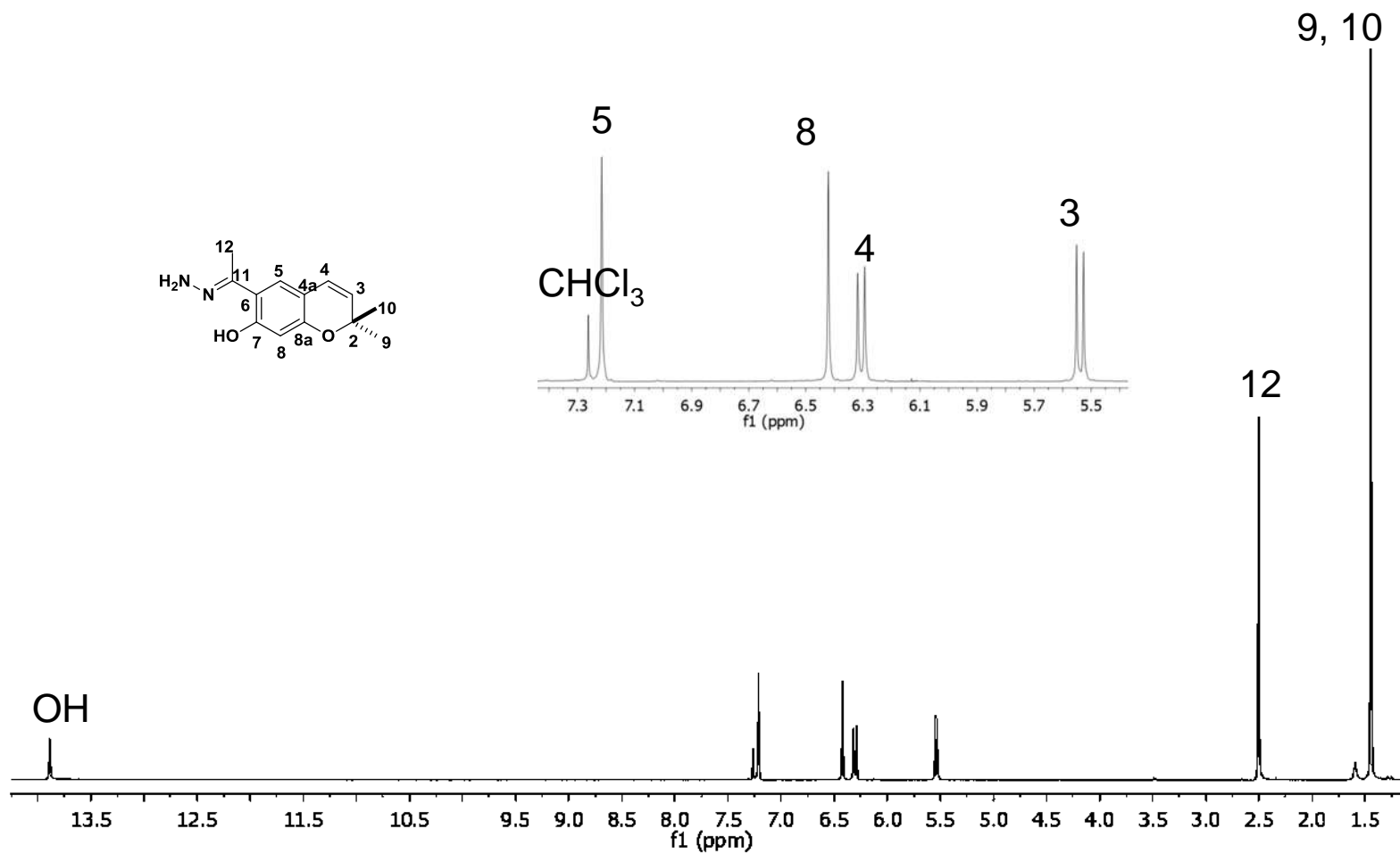


Figura 30.- Espectro de RMN de ¹H a 400MHz en CDCl₃ de la hidrazona **40**.

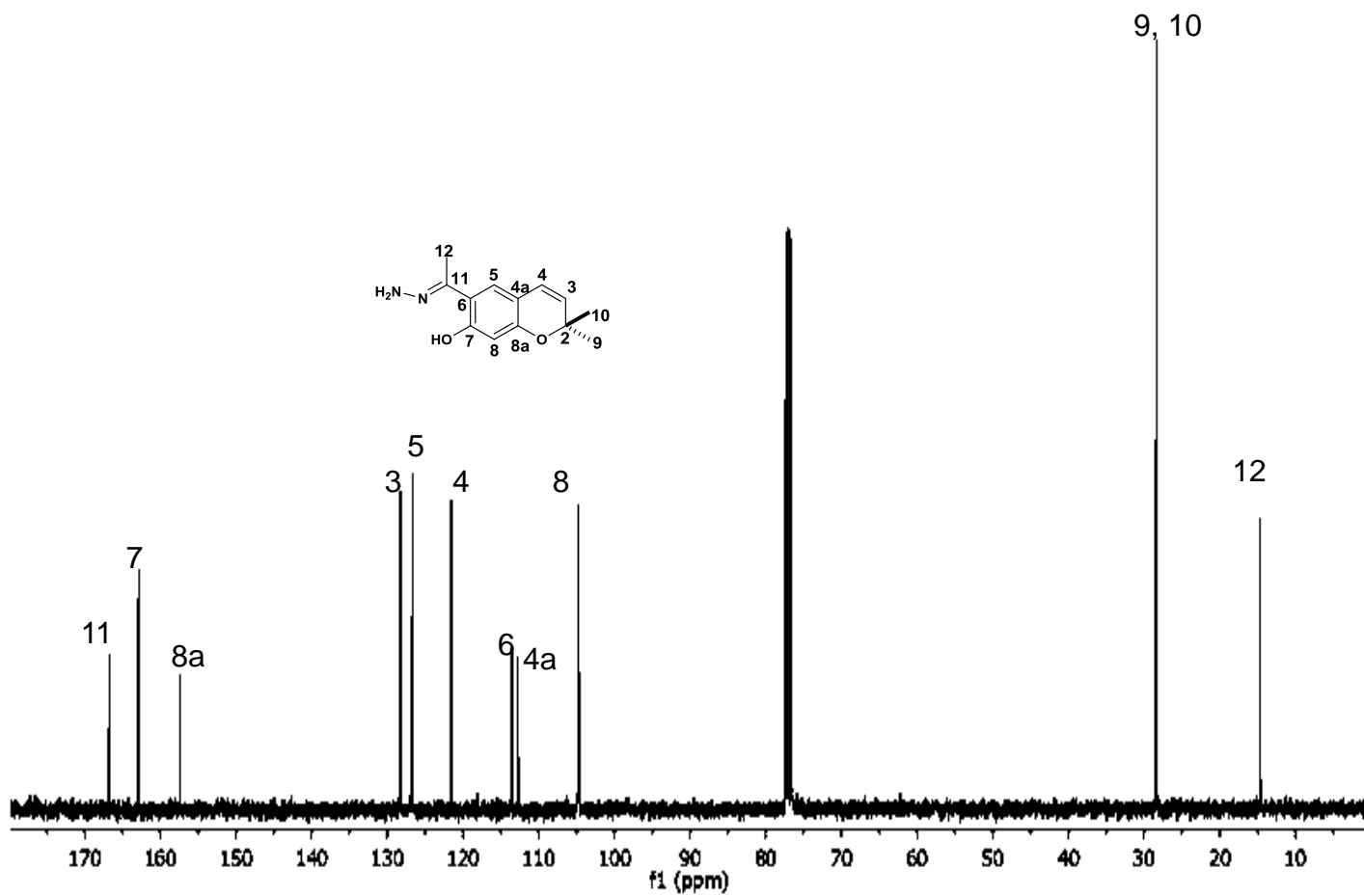
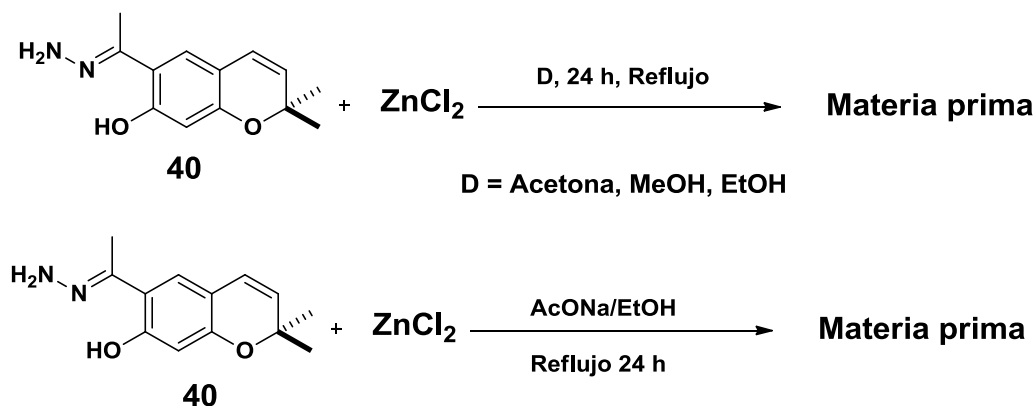


Figura 31.- Espectro de RMN de ^{13}C a 100 MHz en CDCl_3 de la hidrazona 40.

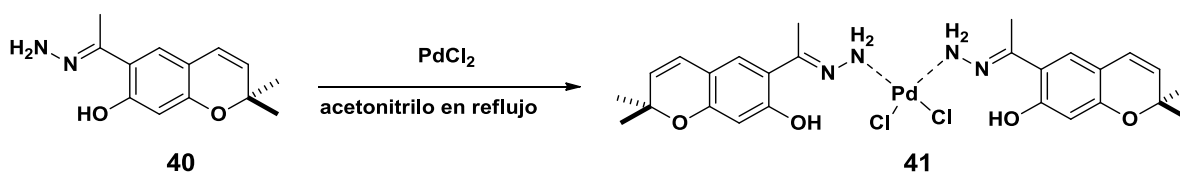
Una vez obtenida la hidrazona **40** y caracterizado mediante espectroscopia IR, RMN de ^1H y ^{13}C , se realizaron los ensayos frente a ZnCl_2 . Las condiciones de reacción se variaron (disolvente y temperatura) como se muestra en el (**Esquema 4**) recuperándose las materias primas en todos los casos.



Esquema 4.- Reacciones realizadas con hidrazona **40** frente a ZnCl_2 en diferentes condiciones.

Estos resultados nos indican que la fuerza del puente de hidrógeno sigue influyendo en la reactividad del ligante, por lo que se decidió cambiar el centro metálico, por paladio ya que este presenta mayor afinidad hacia átomos de nitrógeno.

Por lo que se hizo reaccionar al ligante **40** con PdCl_2 durante 24 h (**Esquema 5**). Observándose la formación de un precipitado anaranjado **41** el cual se filtró y al ser analizado presentó propiedades fisicoquímicas diferentes a la materia de partida **40** (**Tabla 1**). La fase soluble en acetonitrilo se evaporó a presión reducida recuperándose al compuesto **40**, el precipitado, se filtró y correspondió al ligante.



Esquema 5.- Reacción de Hidrazona **40** frente a PdCl_2

	Hidrazona 40	Complejo 41
Aspecto	Sólido	Sólido
Color	Amarillo	Anaranjado
Punto de fusión	230-235 °C	110-130 °C
Solubilidad	CHCl ₃ , CH ₂ Cl ₂ , Acetona ligeramente.	Acetona, MeOH, CH ₃ CN CHCl ₃

Tabla 1.- Propiedades fisicoquímicas de **40** y **41**.

El análisis de **41** por espectroscopia de infrarrojo muestra la simplificación de la señal del NH₂ en 2974 cm⁻¹ y el solapamiento de la banda de C=C con la C=N en 1614 cm⁻¹, el resto de las señales permanecen sin modificación (**Figura 32**).

En base a lo analizado se propone una coordinación de dos moléculas del compuesto **40** a través del grupo amino de manera monodentada hacia el centro metálico para formar el compuesto **41**; este tipo de coordinación coincide con reportes de la literatura (Dodoff N., *et al.*, 1995, Guerra W., *et al.*, 2005, de Sousa, G. D., *et al.*, 2013).

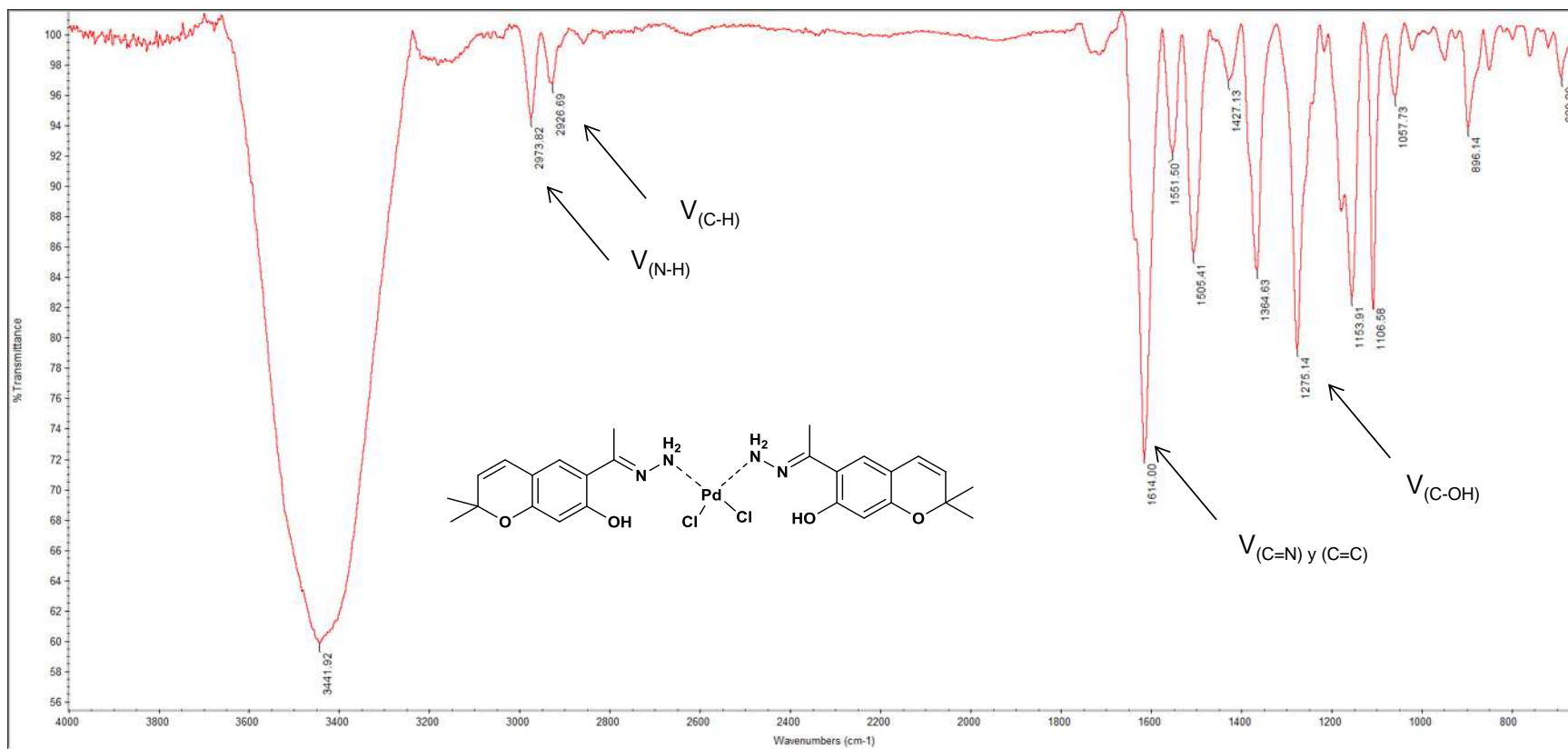


Figura 32.- Espectro IR del producto 41.

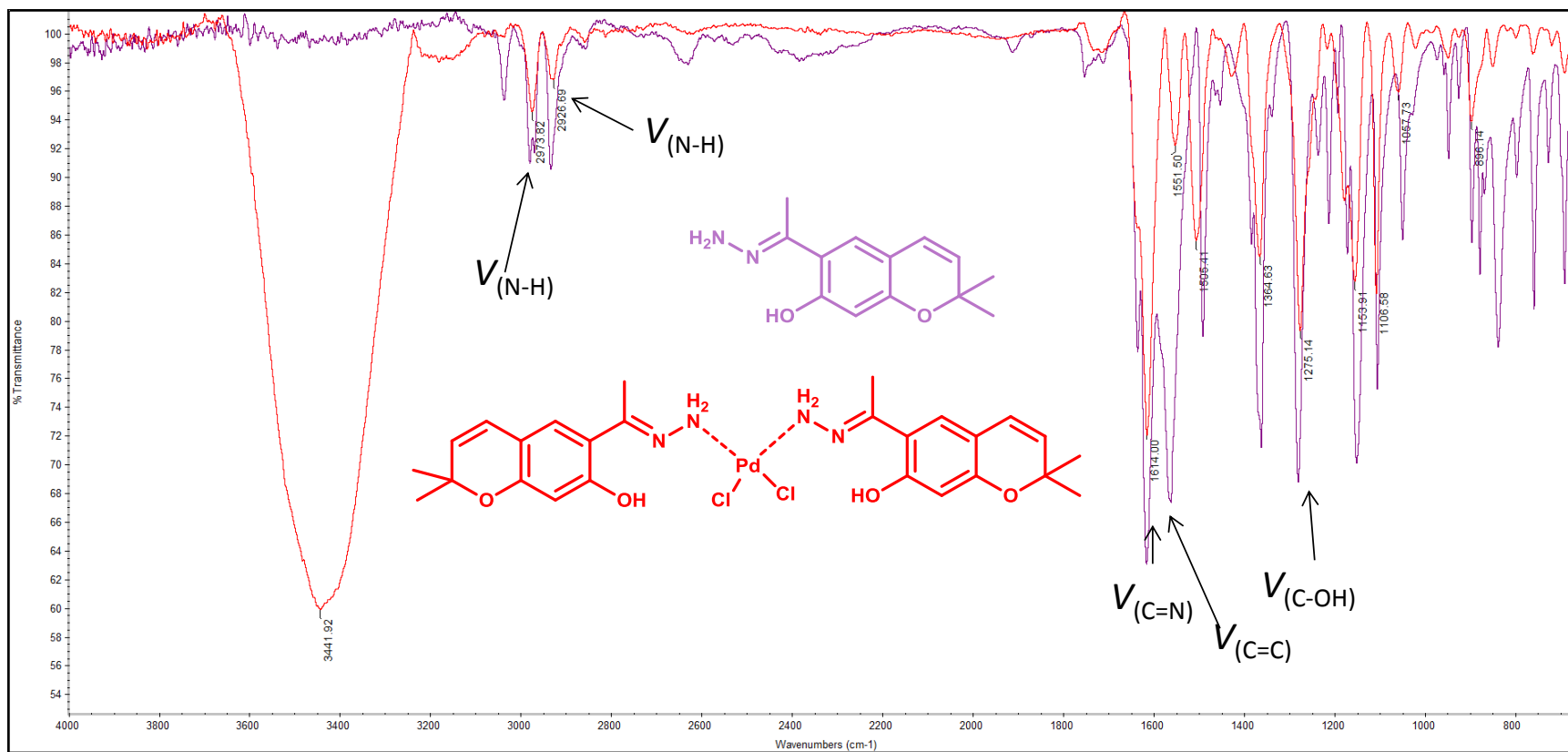


Figura 33.- Comparación de los espectros de IR del complejo **41** y de hidrazona **40**.

El análisis de RMN de ^1H en CDCl_3 a 400 MHz de **41** mostró el patrón de señales de la materia prima en donde los principales cambios se observaron en el desplazamiento de la señal simple del $-\text{OH}$ que se desplazó 1.14 ppm hacia campo bajo, ubicándose en 12.71 ppm, el protón H-5 se localizó en 7.23 ppm desplazándose 0.08 ppm hacia campo alto y la señal de H-8 ubicada en 6.43 ppm desplazada 0.11 ppm hacia campo bajo, el resto de las señales sufren ligeros desplazamientos; esto desplazamientos son atribuidos a la coordinación del átomo de paladio, confirmando lo propuesto con el análisis de infrarrojo (**Figura 34**).

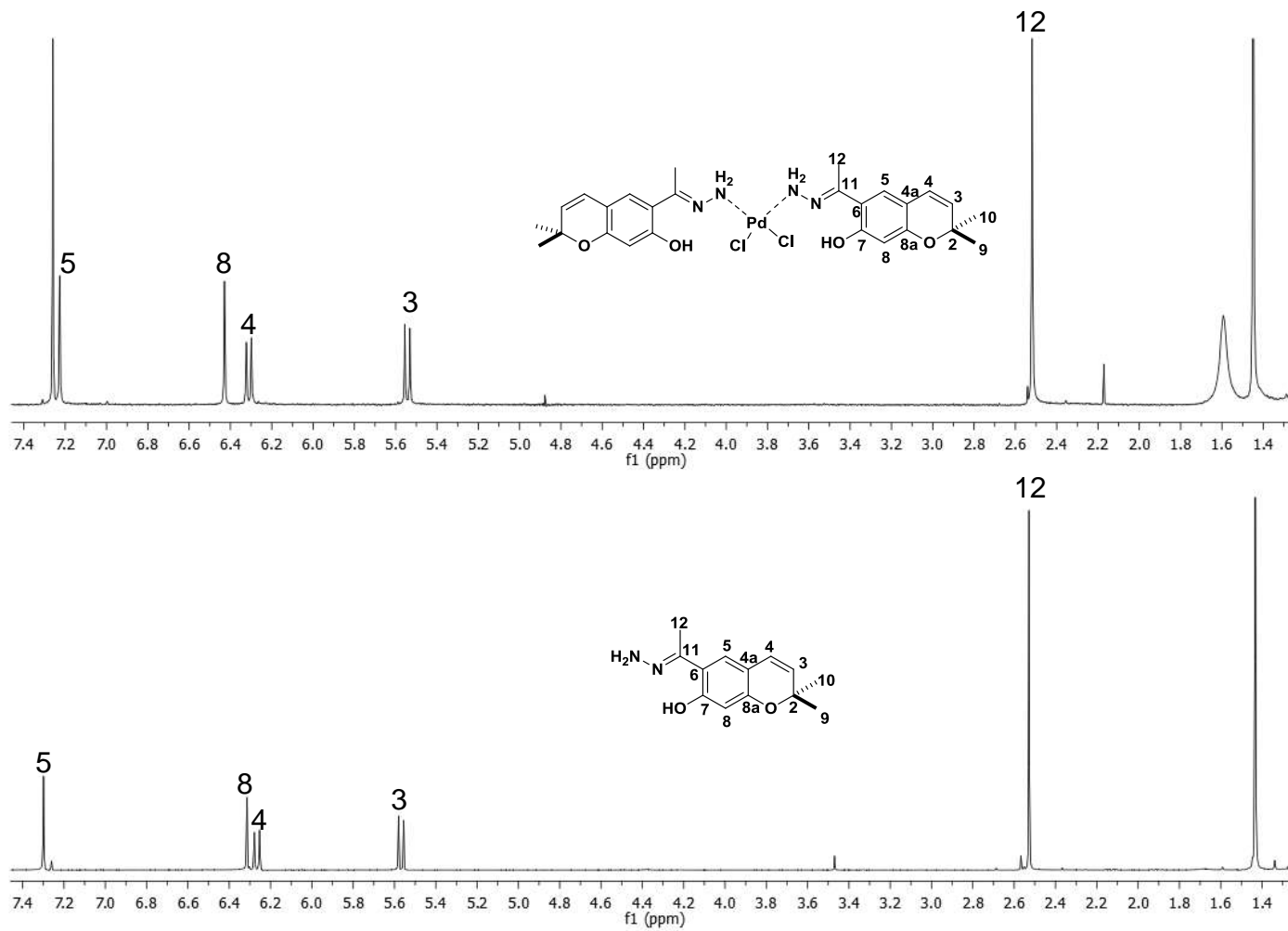
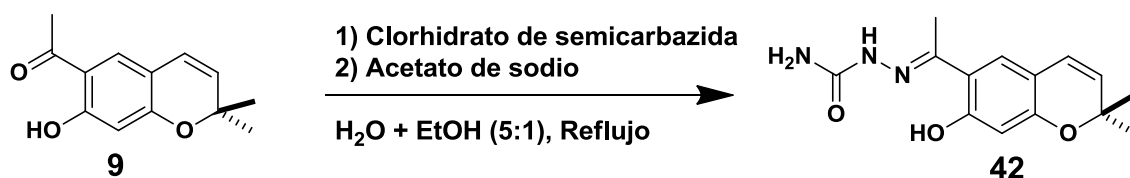


Figura 34.- Comparación de los espectros de RMN ¹H en CDCl₃ a 400 MHz de la hidrazona **40** trazo inferior y el producto **41** trazo superior.

Con la finalidad de continuar con el estudio de reactividad del eupatoriocromeno (**9**) se realizó la derivatización a la semicarbazona **42** (**Esquema 6**), ensayándose diferentes condiciones de reacción para optimizar las condiciones ideales de esta reacción (**Tabla 2**). Eligiendo usar una mezcla H₂O-EtOH (5:1) a reflujo y agitación en agitación por 2 h, obteniéndose un sólido blanco en un rendimiento del 70% el cual fue analizado y comparado con **9** (**Tabla 3**).



Esquema 6.- Reacción para la preparación de la semicarbazona **42**.

ENTRADAS	DISOLVENTE	TIEMPO	T °C	RENDIMIENTO
1	MeOH	6 h	64	20%
3	5 mL H ₂ O/1 mL EtOH	2 h	78	70%
4	8 mL H ₂ O/2 mL MeOH	6 h	64	70 %

Tabla 2.- Condiciones de reacción para la obtención de la semicarbazona **42**.

	Compuesto 9	Compuesto 42
Aspecto	Sólido	Sólido
Color	Amarillo	Blanco
Punto de fusión	74-75 °C	230-235 °C
Solubilidad	CHCl ₃ , CH ₂ Cl ₂ , Acetona DMSO, Hexanos	MeOH, EtOH, DMSO

Tabla 3.- Comparativo de propiedades fisicoquímicas de **9** y **42**

El análisis de infrarrojo de **42** mostró en 3449 cm⁻¹, 3344 cm⁻¹ y 3203 cm⁻¹ las bandas correspondientes a los grupos amino y en 2970 cm⁻¹ y 2928 cm⁻¹ las bandas de C-H, en 1664 cm⁻¹ la banda de C=O, 1628 cm⁻¹ la banda de C=N, 1546 cm⁻¹ las bandas C=C, en 1289 cm⁻¹ la banda C-O (fenólico) y en 1110 cm⁻¹ la banda de N-N, indicando la formación de la semicarbazona **42** (Figura 35).

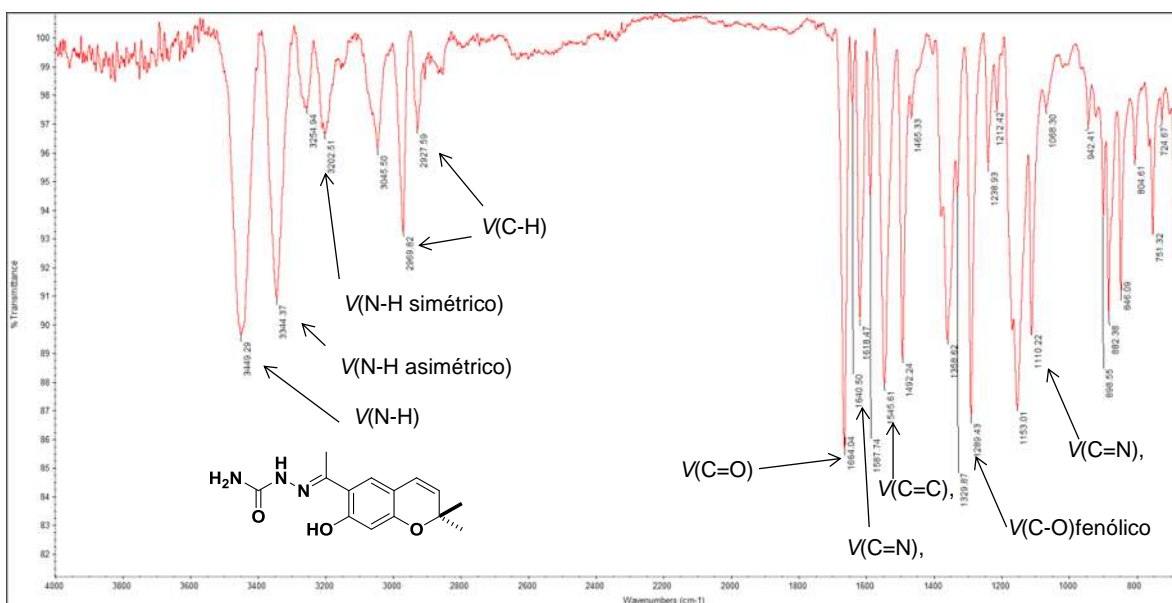


Figura 35.- Espectro IR de la semicarbazona **42**.

En el espectro de RMN de ^1H en DMSO-d_6 a 400 MHz de **42** se observa una señal simple en 9.60 ppm atribuida al $-\text{OH}$ fenólico el cual se encuentra formando un puente de hidrógeno con el nitrógeno sp^2 , en 7.20 ppm se observa la señal simple para H-5, en 6.40 ppm se observa una señal doble con $J_{4-3} = 8.5$ Hz correspondientes al H-4, en 6.20 ppm se observa una señal simple atribuida a H-8. En 6.14 ppm se observa una señal simple ancha perteneciente a los protones del NH_2 , en 5.60 ppm una señal doble con $J_{4-3} = 8.5$ Hz correspondiente a H-3, en 2.20 ppm se observa los protones del metilo del carbonilo de imina y 1.38 ppm se observan las dos señales simples correspondiente a los metilos 9 y 10 (**Figura 36**).

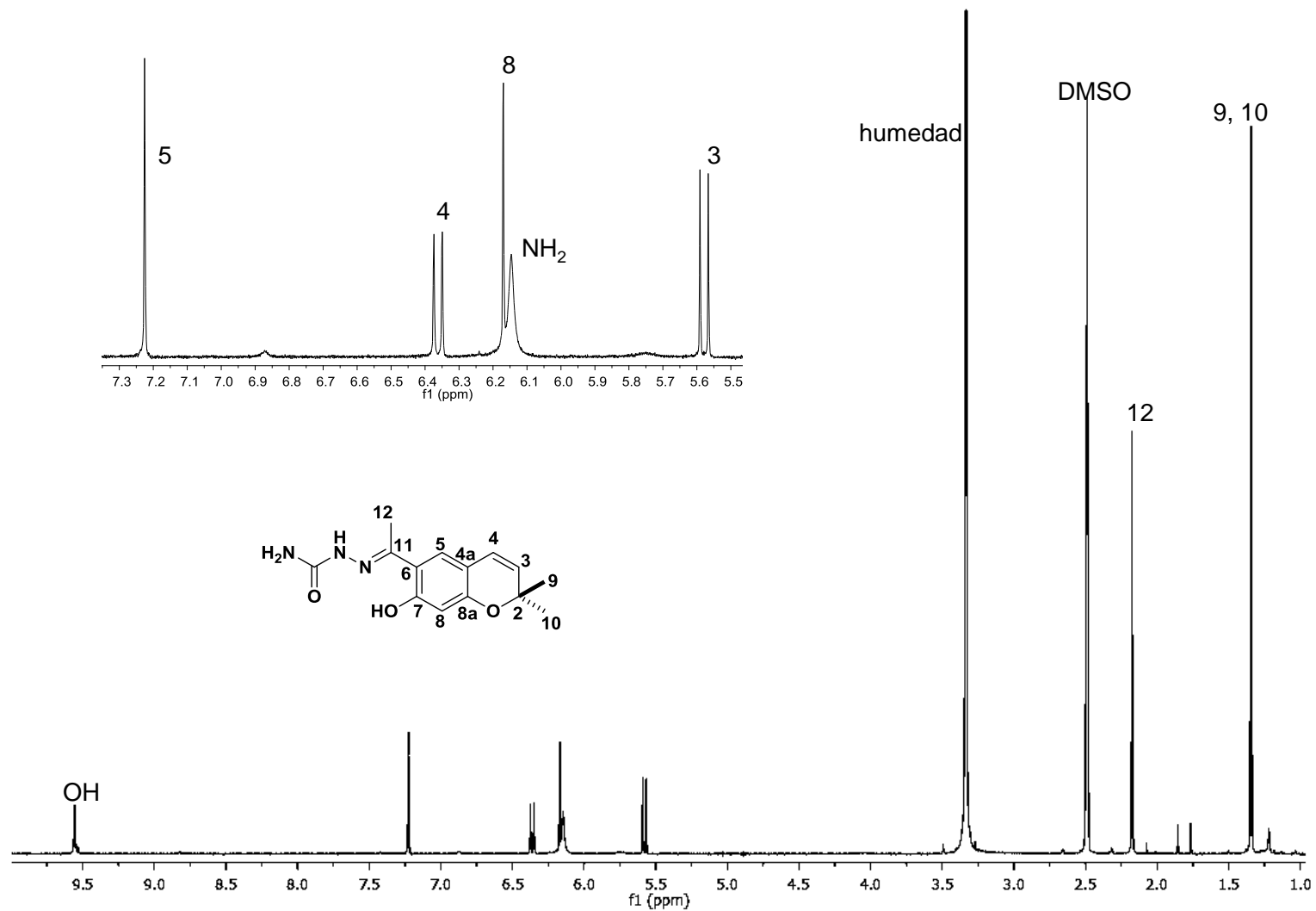
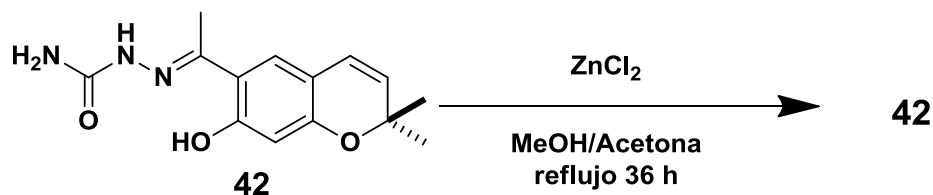


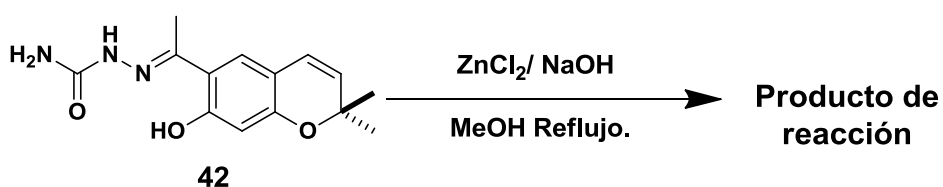
Figura 36. Espectro de RMN de ^1H a 400MHz en DMSO-d_6 de la Semicarbazona **42**.

Una vez obtenido la semicarbazona de cromeno **42** se evaluó su reactividad frente al $ZnCl_2$ usando como disolvente MeOH y acetona a reflujo por 36 h obteniéndose recuperación de la materia prima **42**. (**Esquema 7**).



Esquema 7.- Reacción del derivado de semicarbazona **42** con $ZnCl_2$.

La baja reactividad de la semicarbazona **42** es atribuida a la formación del puente de hidrógeno ya que éste bloquea el sitio de coordinación de la semicarbazona; por lo que se decidió modificar las condiciones de reacción adicionando una base para promover la desprotonación del fenol y aumentar la reactividad del ligante. Se hizo reaccionar la semicarbazona **42** con $ZnCl_2$ y NaOH en metanol a reflujo por 6 h, obteniéndose un sólido blanco con propiedades fisicoquímicas diferentes a la materia prima (**Esquema 8** y **Tabla 4**).



Esquema 8.- Reacción de la semicarbazona **42** con $ZnCl_2$ en presencia de base.

	semicarbazona 42	Producto 43
Aspecto	Sólido	Sólido
Color	Blanco	Blanco
Punto de fusión	230-235 °C	>300 °C
Solubilidad	MeOH, EtOH, DMSO	DMSO y Piridina

Tabla 4.- Comparación de datos fisicoquímicos de **42** y **43**.

El espectro de RMN de ^1H en $\text{DMSO-}d_6$ a 400 MHz mostró un ensanchamiento de las señales entre 7.25 ppm a 6.25 ppm que integra para cinco protones, observándose en 7.12 ppm una señal simple atribuida al H-5, en 6.87 ppm una señal ancha correspondiente al NH_2 , en 6.56 ppm una señal ancha correspondiente a H-8, en 6.32 ppm una señal doble con una $J_{4-3} = 8.5$ Hz correspondiente a H-4, en 5.48 ppm una señal simple ancha atribuida a H-3, en 2.49 ppm una señal simple que integra para tres protones correspondiente a H-12 y en 1.28 ppm una señal simple que integra para seis protones correspondiente a los metilos 9 y 10 (**Figura 37**). El ensanchamiento de las señales se atribuye al efecto anisotrópico provocado por el átomo de cloro y la presencia del centro metálico por lo que se propone la formación del complejo **43** el cual está constituido por una molécula de la semicarbazona de cromeno desprotonado, el cual se coordina de manera tridentada al átomo de Zn(II) por medio del oxígeno del carbonilo de amida, el nitrógeno de imina y el oxígeno fenólico, completando la esfera de coordinación un átomo de cloro. El comparativo de los espectros de la semicarbazona **42** y el producto de reacción **43** se muestran en la **Figura 38**.

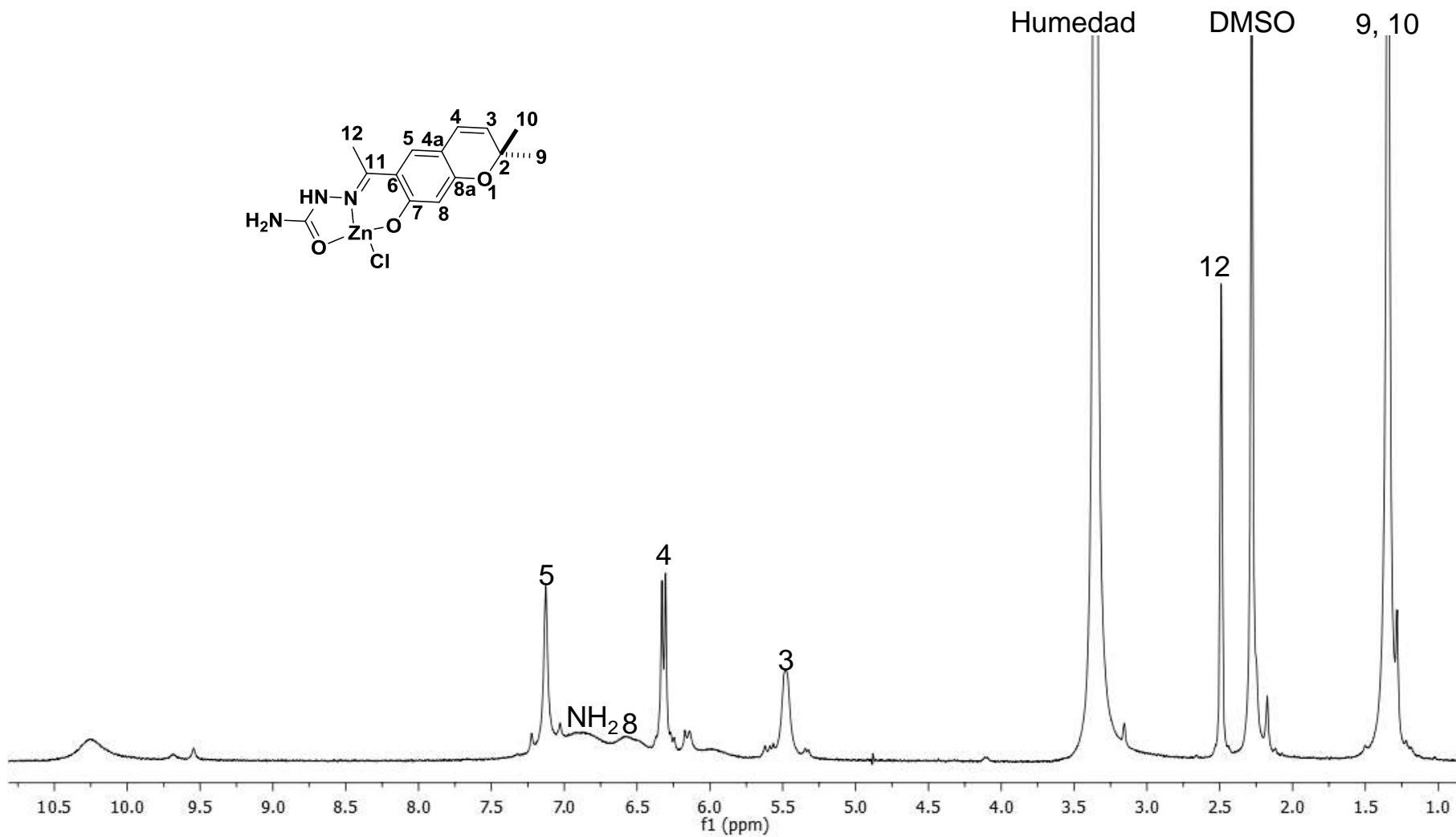


Figura 37.- Espectro de RMN de ^1H en $\text{DMSO-}d_6$ del complejo de $[\text{ZnCl}(\text{semicarbazona de cromeno})]$ **43**.

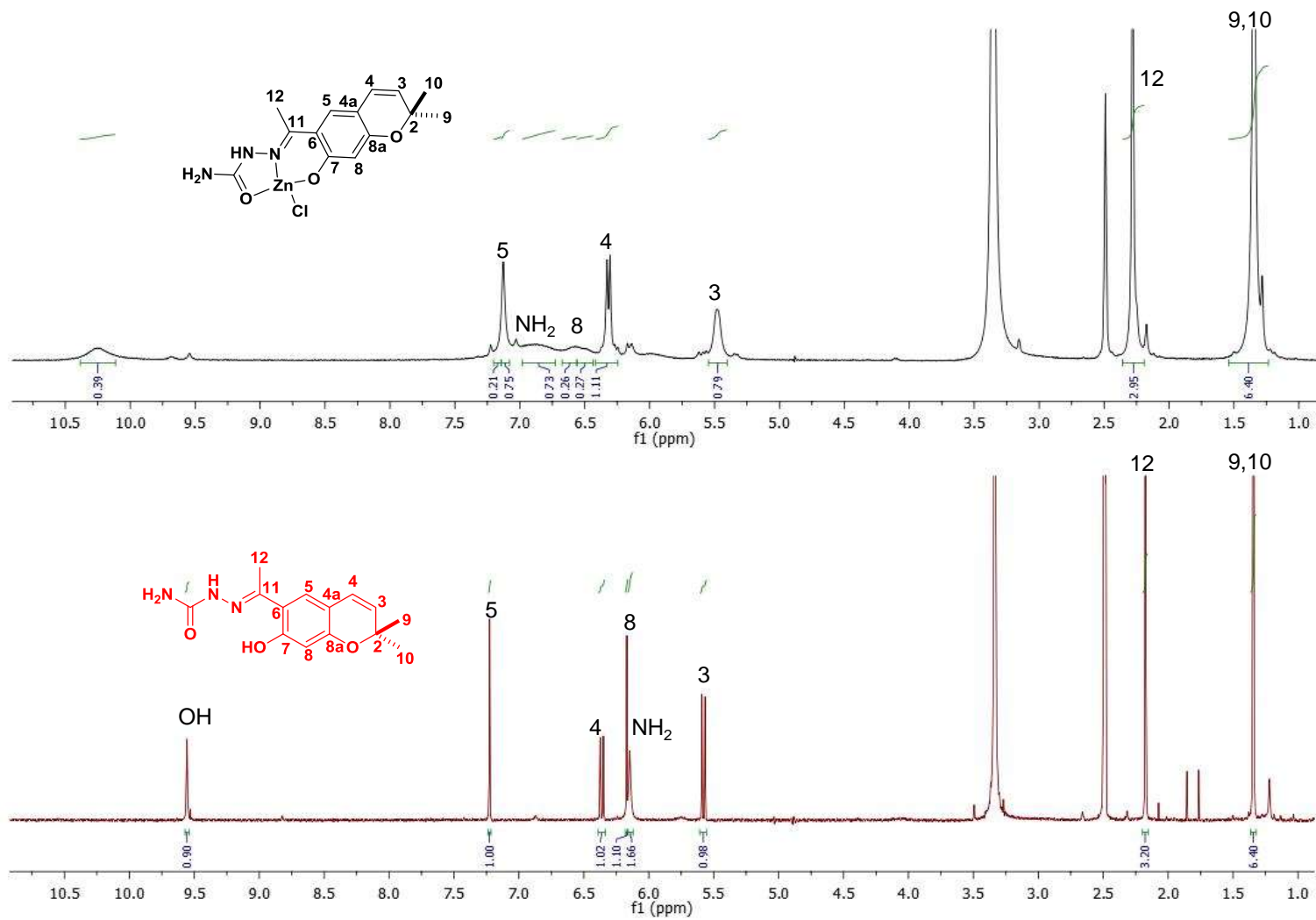
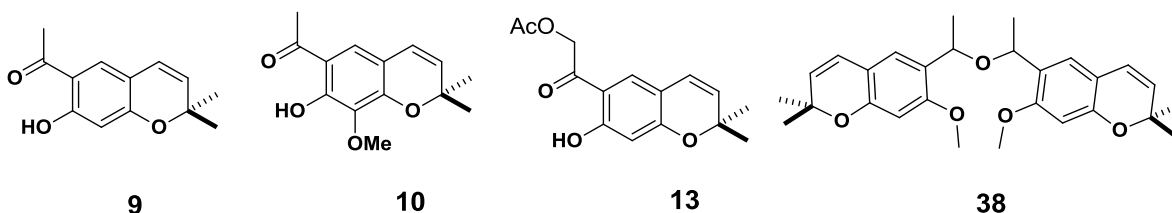


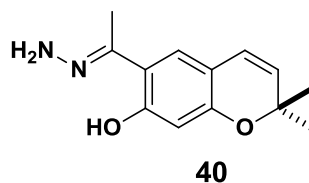
Figura 38.- Comparación de los espectros de RMN de ^1H en $\text{DMSO-}d_6$ de la semicarbazona **42** y el producto **43**.

CONCLUSIONES:

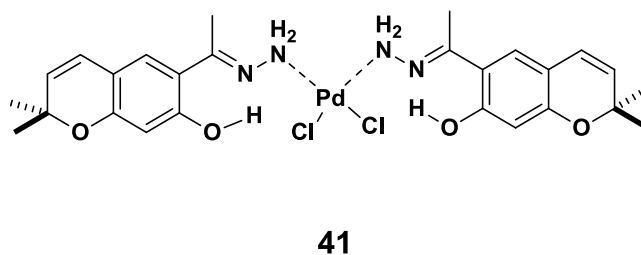
Del extracto hexánico de raíz de *A. arsenei* se aislaron e identificaron cuatro compuestos con esqueleto de cromenos los cuales correspondieron al eupatoriocromeno (**9**), ripariocromeno A (**10**), ripariocromeno B (**13**) y encecánescina (**38**).



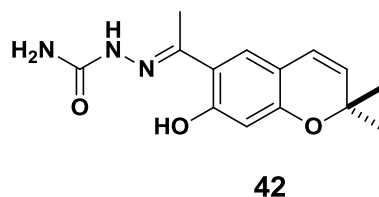
La baja reactividad del eupatoriocromeno (**9**) provocada por la presencia del puente de hidrógeno y la fuerza de éste, no permitió la obtención de un complejo metálico; haciendo necesaria la derivatización del eupatoriocromeno (**9**) preparándose la hidrazona correspondiente **40** en un rendimiento del 60%.



Se evaluó el comportamiento coordinante de la hidrazona **40** frente a PdCl_2 obteniéndose un producto con propiedades fisicoquímicas diferentes a la materia de partida por lo que se propone la formación del complejo **41** según lo analizado por IR, RMN de ^1H .

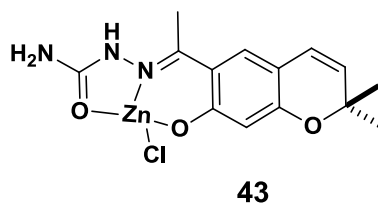


La semicarbazona **42** se preparó a partir del eupatoriocromeno (**9**) obteniendo un rendimiento del 70%



La falta de reactividad de la semicarbazona **42** se debe a la formación del puente de hidrógeno, lo que bloquea la coordinación del átomo de zinc.

La desprotonación del fenol de la semicarbazona **42** promueve la coordinación del átomo de zinc ya que se propone la formación del complejo **43** según los análisis mostrados.



Los estudios preliminares de la reactividad del Ripariocromeno B (**13**) no fueron muy alentadores por lo que no ya no se continuó con este cromeno.

PARTE EXPERIMENTAL:

Los espectros de RMN de 1D y 2D dimensiones se obtuvieron en un espectrómetro Varian Mercury plus de 400 MHz utilizando como disolventes CDCl_3 , DMSO-d_6 . Los espectros de RMN de ^1H fueron adquiridos en 400 MHz y ^{13}C en 100 MHz. Los desplazamientos químicos de estos núcleos se describen con respecto al tetrametilsilano (TMS) empleando como referencia interna.

Los espectros de infrarojo (IR) se determinaron en un espectrofotómetro Thermo Scientific modelo Nicolet iS10 empleado la técnica ATR. Los datos se expresan en número de onda ($\nu \text{ cm}^{-1}$) para los máximos principales de absorción.

Los puntos de fusión fueron determinados en un aparato Fisher-Scientific y no están corregidos.

Todos los disolventes utilizados durante el proceso fueron destilados en el laboratorio.

MUESTRA VEGETAL:

Las colectas de *Ageratina arsenei* se realizaron en el Km 25 de la carretera México-Morelia vía Mil cumbres en el mes de noviembre del 2014. Una muestra se preparó y se envió al Herbario del Instituto de Ecología A.C. en Pátzcuaro Michoacán para la identificación botánica por parte del Profesor Jerzy Rzedowski, del Instituto de Ecología A.C. en Pátzcuaro, Michoacán. La planta se dejó secar a la sombra, separándose la raíz.

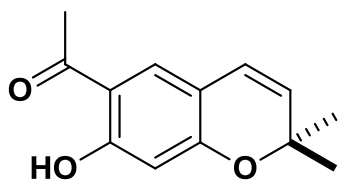
OBTENCIÓN DE EXTRATOS:

Se maceraron 0.650 kg de raíz seca y molida de *A. arsenei* con 3 L de hexano durante tres días a temperatura ambiente, se realizaron tres extracciones sucesivas bajo las mismas condiciones, de las cuales se obtuvieron 6 g de extracto.

ANÁLISIS QUÍMICO:

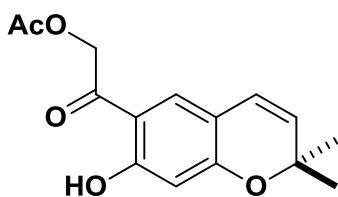
Un lote de 6 g de extracto hexánico se sometió a cromatografía utilizando como fase estacionaria gel de sílice y como fase móvil mezclas de hexanos-AcOEt en polaridad creciente; de las fracciones que eluyeron de la polaridad 19:1 hexanos-AcOEt se obtuvieron 0.9 g de cristales amarillos para **9**. Continuando con la columna cromatográfica las fracciones que eluyeron con la polaridad 4:1 hexanos-AcOEt se obtuvieron 0.3 g de cristales incoloros para **13** los cuales presentaron un punto de fusión de 144-145 °C. De las fracciones eluidas con una polaridad de 7:3 hexanos:AcOEt se obtuvieron 30 mg de unos cristales amarillos, con un punto de fusión 78-80 °C para **10**. De las fracciones eluidas con la polaridad 16:5 Hexanos:AcOEt se obtuvieron 66 mg de cristales incoloros con punto de fusión de 164-165 °C para **38**.

Eupatoriocromeno (9):



Cristales color amarillo en forma de agujas, con punto de fusión 74-75 ° C. IR V_{\max} cm^{-1} : 2981, 2936, 1620, 1278. RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ en ppm: 12.73 (1H, s, OH-7), 7.28 (1H, s, H-5), 6.29 (1H, s, H-8), 6.24 (1H, d, $J_{4,3} = 9.9$ Hz, H-4) 5.57 (1H, d, $J_{3,4} = 9.9$ Hz, H-3), 2.50 (3H, s, CH_3 -12), 1.43 (6H, s, CH_3 -9 y CH_3 -10). RMN de ^{13}C (100 MHz CDCl_3) δ en ppm: 202.0(C-11), 164.8 (C-7), 160.1 (C-8a), 128.5 (C-3), 128.4 (C-5), 120.7 (C-4), 113.6 (C-6), 113.3 (C-4a), 104.1 (C-8) 77.6 (C-2), 28.3 (C-9), 28.3 (C-10), 25.9 (C-12).

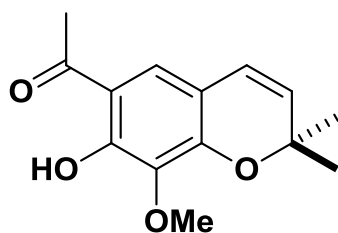
Ripariocromeno B (13):



Cristales blancos en forma de agujas con un punto de fusión 144-145 °C, IR V_{\max} cm^{-1} : 2986, 2939, 1760, 1650. RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ en ppm: 12.05 (1H,s, OH-7), 7.18 (1H, s, H-5), 6.34 (1H, s, H-8), 6.25 (1H, d, $J_{4,3} = 9.9$ Hz, H-4), 5.59 (1H, d, $J_{3,4} = 9.9$ Hz, H-3), 5.25 (2H, s, H-12), 2.23 (3H, s, OAc-12), 1.44 (6H, s, CH_3 -9 y CH_3 -10). RMN de ^{13}C (100 MHz CDCl_3) δ en ppm: 195.0 (C-11), 170.4 (AcO), 165.1 (C-7), 160.9 (C-8a), 129.3 (C-3), 126.0 (C-

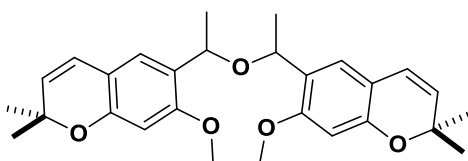
5), 120.7 (C-4), 113.9 (C-4a), 111.1 (C-6), 104.7 (C-8), 78.2 (C-2), 64.4 (C-12), 28.5 (C-9), 28.5 (C-10), 20.5 (Me (AcO)).

Ripariocromeno A (10)



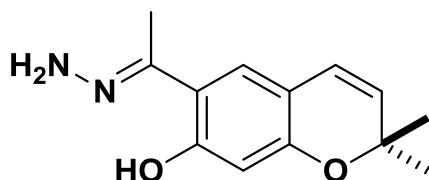
Cristales amarillos en forma de aguja con punto de fusión de 78-80°C. RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ en ppm: 12.80 (1H, s, OH-7), 7.12 (1H, s, H-5), 6.27 (1H, d, $J_{4,3} = 10$ Hz, H-4), 5.59 (1H, d, $J_{3,4} = 10$ Hz, H-3), 3.84 (3H, s, OMe), 2.54 (2H, s, H-12), 1.50 (6H, s, CH_3 -9 y CH_3 -10). RMN de ^{13}C (100 MHz CDCl_3) δ en ppm: 202.9 (C-11), 155.2 (C-8a) 151.0 (C-8), 142.5 (C-7), 129.0 (C-3), 116.3 (C-4), 113.5 (C-5), 112.2 (C-6), 110.1 (C-4a), 78.8 (C-2) 57.9 (OMe), 29.5 (C-9 y C-10), 26.3 (C-12).

Encecanescina (38):



Cristales incoloros con un punto de fusión de 164-165 °C. RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ en ppm: 7.10 (1H, s, H-5), 6.35 (1H, d, $J_{4,3} = 9.3$ Hz, H-4), 6.25 (1H, s, H-8), 5.45 (1H, d, $J_{3,4} = 9.3$ Hz, H-3), 4.60 (3H, t, H-11), 3.65 (6H, s, OMe), 1.41 y 1.45 (6H, s, CH_3 -9 y CH_3 -10), 1.3 (3H, s, H-12). RMN de ^{13}C (100 MHz CDCl_3) δ en ppm: 157.8 (C-7), 152.9 (C-8a), 127.4 (C-5), 125.5 (C-6), 124.8 (C-4), 122.3 (C-3) 113.8 (C-4a), 99.1 (C-8) 76.4 (C-2), 68.5 (C-11), 55.2 (OMe), 28.4 (C-9), 28.1 (C-10) y 23.2 (C-12).

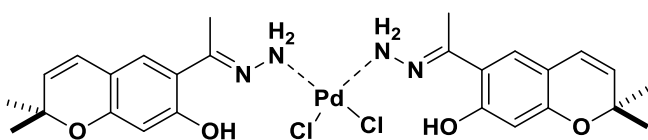
6-(1-etilhidrazona)-7-hidroxi-2,2-dimetil-2H-cromeno (40):



Se disolvieron 100 mg de Eupatoriocromeno (9) en 7 mL de Metanol, previamente se disolvió el sulfato de hidrazina en 2 mL de metanol, la mezcla de reacción se dejó durante 24 h a reflujo. Una vez terminado el tiempo de reacción se observa un precipitado color amarillo en el matraz, el cual se filtra al vacío. Se obtuvo 67.7 mg cristales amarillo en forma de agujas muy finas, con 60.8 % de

rendimiento de reacción, con un punto de fusión de 230-235 °C. IR V_{\max} cm^{-1} : 2979, 2932, 1614, 1279. RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ en ppm: 13.85 (1H, s, OH-7), 7.23 (1H, s, H-5), 6.43 (1H, s, H-8), 6.26 (1H, d, $J_{4-3} = 10$ Hz, H-4), 5.53 (1H, d, $J_{3-4} = 10$ Hz, H-3), 2.52 (3H, s, CH_3 -12), 1.44 (6H, s, CH_3 -9 y CH_3 -10). RMN de ^{13}C (100 MHz CDCl_3) δ en ppm: 167.5 (C-11), 163.3 (C-7), 157.8 (C-8a), 128.5 (C-3), 126.7 (C-5), 121.5 (C-4), 113.8 (C-6), 112.8 (C-4a), 104.7 (C-8) 77.9 (C-2), 28.4 (C-9), 28.4 (C-10), 15.0 (C-12).

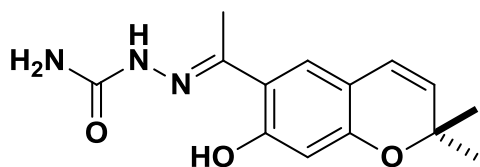
[PdCl₂(6-(1-etilhidrazona)-7-hidroxi-2,2-dimetil-2H-cromeno) (41):



En un matraz se disolvieron el PdCl₂ en 5 mL de acetonitrilo durante 30 min en reflujo y

agitación constante. Se disolvió 100 mg la Hidrazona de cromeno **40** en 5 mL en acetonitrilo y esta solución fue agregada gota a gota al matraz. Una vez terminada el tiempo de reacción, se observó la formación de un precipitado anaranjado el cual se filtró y al ser analizado presentó propiedades fisicoquímicas diferentes a la materia de partida. La fase soluble en acetonitrilo se evaporó a presión reducida obteniéndose recuperación del compuesto de partida. Un polvo anaranjado con un punto de fusión de 110-130 °C. IR $V_{\max}(\text{cm}^{-1})$: 2974, 2926, 1614, 1279. RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ en ppm: 12.71 (1H, s, OH-7), 7.31 (1H, s, H-5), 6.32 (1H, s, H-8), 6.26 (1H, d, $J_{3,4} = 10$ Hz, H-4) 5.56 (1H, d, $J_{3,4} = 10$, H-3), 2.54 (3H, s, H-12), 1.44 (6H, s, CH_3 -9 y CH_3 -10).

6-(1-etilhidrazincarbamida)-7-hidroxi-2,2-dimetil-2H-cromeno (42):

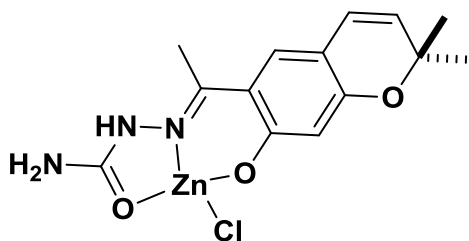


A una solución de 52 mg de Clorhidrato de semicarbazida, 32 mg de acetato de sodio en 5 mL de agua, se le adicionó una solución de 100 mg Eupatoriocromeno (**9**) en 2 mL de

EtOH. La mezcla de reacción se dejó en agitación y reflujo por 2 h, transcurrido este tiempo, el matraz de reacción se colocó en un baño de hielo. El precipitado formado, se filtró al vacío realizando lavados de agua y hexanos. Obteniéndose 65 mg (70%), la recristalización por evaporación lenta en Etanol permitieron la

obtención de cristales incoloros en forma de agujas, con un punto de fusión de 230-235 °C. IR $V_{\max} \text{cm}^{-1}$: 3449, 3344, 3203, 1664, 1641, 1289 cm^{-1} . RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ en ppm: 9.60 (1H, s, OH-7), 7.20 (1H, s, H-5), 6.40 (1H, d, $J_{4,3}=8$, H-4), 6.26 (NH₂) 6.20 (1H, s, H-8), 5.60 (1H, d, $J_{3,4}=8$, H-3), 2.20 (3H, s, CH₃-12) 1.38 (6H, s, CH₃-9 y CH₃-10).

[ZnCl(6-(1-etilHidrazincarboamida)-7-hidroxi-2,2-dimetil-2H-cromeno)] (43):



36 mg de ZnCl₂ en 2 mL de MeOH durante toda la noche. Se disolvieron 100 mg de Semicarbazona de cromeno **42** en 1 mL de MeOH el cual fue agregado gota a gota al matraz, se dejó en agitación por 15 min, después el NaOH se disolvió en 5 gotas de H₂O y 1 mL de MeOH y agregado gota a gota a la reacción en reflujo y agitación constante durante 6 h. Una vez transcurrido el tiempo de reacción, el MeOH fue evaporado y se realizaron lavados con H₂O y MeOH. Se obtuvo un sólido blanco con un 93% y un peso de 127.2 mg de producto de reacción, éste no presento punto de fusión. RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ en ppm: 7.12 (1H, s, H-5), 6.86 (NH₂), 6.55 (1H, s, H-8), 6.32 (1H, da, H-4), 5.58 (1H, s, H-3), 2.24 (3H, s, CH₃-12) 1.30 (6H, s, CH₃-9 y CH₃-10).

BIBLIOGRAFÍA:

- Abu B.F.A., Bahron H., Kassim K., Zin M.A. Synthesis characterization and neurotoxic effect of Schiff base ligands and their complexes. *The Malaysian J. of Analytical Sciences*, **2011**, 15: 93-100.
- Albuquerque M. R., J. R., Silvieira E.R., Uchoa D. E. de A. Lemos T. L G. Souza E. B., Santiago G. M. P., Pessoa O. D. L. Chemical composition and larvicidal activity of the essential oils from *Eupatorium betonicaeforme* (D.C) Baker (*Asteraceae*). *J. Agric Food Chem*, **2004**, 52: 6708-6711.
- Andelkovic K., Jakovijevic G., Zlatovic M., Tesic Z., Sladic D., Howing J., Tellgren R. Synthesis and characterization of zinc (II), palladium (II) and platinum (II) complex with 2'-[1-(2-pyridinyl)ethylidene]oxamohydrazide. The crystal structure of bis[2'-[1-(2-pyridinyl)ethylidene]oxamohydrazido]zinc(II) trihydrate. *J. Serb. Chem. Soc.*, **2004**, 69: 651-660.
- Anthonsen T. New chromenes from *Eupatorium* species. *Acta Chem. Scand.*, **1969**, 23: 3605-3607.
- Balasundram N., Sundram K., Samman S. Phenolic compounds in plants and agricultural by products: antioxidant activity, occurrence and potential uses. *Food Chemistry*, **2006**, 99: 191-203.
- Batista M.J., López A.A., Ambrósio L.D., Regasini O.L., Kato M. J., Bolzani S.V., Cicarelli B.M.R., Furlan M. Natural chromenes and chromene derivatives as potential anti-trypanosomal agents. *Biol. Pharm. Bull.*, **2008**, 31: 538-540.
- Bohlman F., Tsankova E., Jakupvic J., King M.R., Robinson H. Dimeric chromenes and mixed dimers of a chromene with euparin from *Enceliacanescens*. *Phytochemistry*, **1983**, 22: 557-560.
- Bourgaud F., Gravot A., Milesi S., Gontier E. Production of plant secondary metabolites: a historical perspective. *Plant Science*, **2001**, 161: 839-851.
- Buchanan B., Gruissem W., Jones R. **2000**. *Biochemistry & molecular biology of plants*. Capítulo 24. Editorial American society of plant physiologists.
- Carrizo F. R., Sosa M. E., Favier L. S., Penna F., Guerreiro E., Giordano O. S., Tonn C. E. Growth-inhibitory activities of benzofuran and chromene derivatives toward *Tenebrio*

molitor. J. Nat. Prod., **1998**, 61: 1209-1211.

Cheyrier V. Phenolic compounds: from plants to foods. *Phytochemistry*, **2012**, 11: 153-177.

De Romaña D.L., Castillo D. C., Diazgranados D. El zinc en la salud humana –I. *Rev. Chil. Nutr.*, **2010**, 2: 234-239.

Dodoff N., Grancharov K., Spassovska N. Platinum(II) complexes of 4-methoxy- and 4-chlorobenzoic acid hydrazides. synthesis, characterization, and cytotoxic effect. *J. Inorg. Biochem*, **1995**, 60: 257-266.

Fang, N. S. Y., Marbry. T. J. Chromenes from *Ageratina arseneii* and Revised structures of two epimeric chromene dimers. *Phytochemistry*, **1987**, 6: 1902-1905.

Glory B .M. Eupatoriochromene and enecalinal, plant growth regulators from yellow starthistle. (*Centaurea solstitialis* L.). *J. Chem Ecol.*, **1989**, 15: 2073.

Gómez F., Quijano L., Calderón J. S., Perales A., Ríos T. 2,2-dimethylchromenes from *Eupatorium aschembornianum*. *Phytochemistry*, **1982**, 21: 2095-2097

Gómez-Hurtado M. A., Aviña-Verduzco J. A., Gonzáles-Campos J. B., López-Castro Y., Rodríguez-García G., Cerda-García-Rojas M. C., Del Rio R. E. X-ray diffraction and NMR studies of two chromenes from the roots of *Ageratina arsenei*. *Rev. Latinoamer. Quím*, **2012**, 40: 199-209.

Guerra W. Soares Fontes A. P., de Almeida V. M., Silva H. Synthesis and characterization of new platinum (II) complexes containing furan and nitrofurane derived ligands. *Quim. Nova*, **2005**, 28: 809-812.

Gupta K.M., Sachan K.A., Pandeya N.S., Gangwar S.V. Synthesis and antibacterial activity of semicarbazones and thiosemicarbazones. *Asian Journal of Chemistry*, **2007**, 19: 5-9.

Harel D.; Schepmann D.; Prinz H.; Brun R.; Schmidt J.T.; Wünsch B. Natural product derived antiprotozoal agents: synthesis, biological evaluation and structure-activity relationships of novel chromene and chromane derivatives. *J. Med. Chem.*, **2013**, 56: 7442-7448.

Hernández J. D., García M., Román. L. U. Cromenos de *Eupatorium arsenei* *Rev. Soc. Quim. Mex.*, **1995**, 39, 306.

- Issa Y.M., Issa R.M., Adb El-Latif S.A. Abdel El-Salam H. A. Structural studies of Cu(II) chelates with some arylidene derivatives of benzalic Hydrazide. *Monatshefte Fur Chemie*, **1998**, 19:129.
- Kasuga N. C., Sekino K., Ishikawa M., Honda A., Yokoyama M., Nakano S., Shimada N., Koumo C., Nomiya K. Synthesis, structural characterization and antimicrobial activities of 12 Zinc(II) complexes with four thiosemicarbazone and two semicarbazone ligands. *J.Inorg. Bioch.*, **2003**, 96: 298-310.
- Kielhorn J., Melber C., Keller D., Mangelsdorf I. Palladium- A review of exposure and effects to human health. *Int. Hyg. Environ health*, **2002**, 205: 417-432.
- Klocke J. A., Balandrin M. F., Adams R. P., Kingsford E. J. *J. Chem Ecol.*, **1985**, 11, 701
- Largo Jr. G, Ragasa C.Y. A bioactive chromene from *Eupatorium toppingianum*, *Kimika*, 1996, 12:11-14.
- Monge A. El descubrimiento de fármacos a partir de plantas medicinales. *Ciencia e investigación*, **2003**, 6: 36-39.
- Parrilha L. G., Vieira P. R., Rebolledo P. A., Mendes C. I., Lima M. L., Barreiro J. E., Piro E. O., Castellano E. E. Berañd E., Binuclear zinc(II) complexes with the anti-inflammatory compounds salicylaldehyde semicarbazone and salicylaldehyde-4-chlorobenzoyl hydrazine (H2LASSBio-1064). *Polyhedron*, **2011**, 30: 1891-1896.
- Reyes-Trejo B., Guerra-Ramírez D., Zuleta-Prada H., Santillan R. Sánchez-Mendoza M.E., Arrieta J., Reyes L. Molecular disorder in (-)-Encecanescin. *Molecules*, **2014**, 19: 4695-4707.
- Ríos M.Y., Aguilar-Guadarrama B., Navarro V. Two new benzofufuranes from *Eupatorium aschenbornianum* and their antimicrobial activity. *Planta Med.*, **2003**, 69: 967-970
- Rojas C. A. D., Pardo-Novoa J.C., del Río T. R.E., Gómez-Hurtado M.A., Limón D., Luna F., Martínez I. Determinación del efecto analgésico del extracto hexánico de *Eupatorium arsenei* en un modelo de dolor agudo en rata. *Rev. Mex. Cienc. Farm.*, **2015**, 46: 64-69.
- Roohani N., Hurrell R., Kelishadi R., Schulin R. Zinc and its importance for human health: an integrative review. *J. Res. Med Sci.*, **2013**, 18: 144-157.
- Rowinsky E.K, Donehower R.C. Paclitaxel (Taxol) *N. Engl. J. Med.*, **1995**, 332: 1004-1014.

- Salazar R., Espinoza G., Ruiz C., Fernández M.F., Rojas R. Compuestos fenólicos, actividad antioxidante contenido de resveratrol y componentes del aroma de 8 vinos peruanos. *Rev. Soc. Quím*, **2011**, 77: 135-143.
- Sousa G. D., Rodríguez A. M., Silva P. P., Pereira-Maia E. C., Botelho V. F., Amabile de Campos T., Franca E. F., Almedia J. K., Guerra W. A new complex of palladium(II) with 2-furoic hydrazide synthesis, characterization, theoretical calculation and biological studies. *Croat. Chem*, **2013**, 86: 201-206.
- Stanojkovic T. P.; Demertzi D. K.; Primikyri A.; Garcia-Santos I.; Castineiras A.; Juranic Z.; Demertzis M. A. Zinc(II) complexes of "acetyl pyridine 1-(4-fluorophenyl)-piperazine thiosemicarbazone: Synthesis, spectroscopic study and crystal structures-Potential anticancer drugs. *J. Inorg. Biochem*, **2010**, 104: 467-476.
- Tahany I. K., Amal H. E. Synthesis, characterization, antimicrobial and anticancer activity of Zn(II), Pd(II) and Ru(III) complexes of dehydroacetic acid Hydrazone. *J. Chem Pharm. Res*, **2013**, 5: 574-483.
- Taylor D.R., Wright J.A. Chromenes from *Eupatorium riparium*, *Phytochemistry*, 1971, 10: 1665-1667.
- Thomas N., Zachariah S. M. Pharmacological activities of chromene derivatives an overview. *Asian J. Pharm. Clin. Res.*, **2013**, 2: 11-15.
- Torres-Barajas Lizzeth, Rojas-Vera J., Morales-Mendez A., Rojas-Fermín L., Lucena M., Buitrago A. Chemical composition and evaluation of antibacterial activity of essential oils of *Ageratina jahnii* and *Ageratina pichinchensis* collected in Mérida, Venezuela. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, **2013**, 12: 92-98.
- Vanisree M., Lee C.Y, Loo S.F., Nalawade S. M., Lin Y.L., Tsay H.S. Studies on the production of some important secondary metabolites from medicinal plants by plant tissue cultures. *Bot. Bull. Acad Sin*, **2004**, 45: 1-22.
- Wu-Yang H., yi-Zhong C. Natural phenolic compounds from medicinal herbs and dietary plants: potential use for cancer prevention. *Nutrition and Cancer*, **2010**, 62: 1-20.
- .