



UNIVERSIDAD MICHUACANA DE  
SAN NICOLÁS DE HIDALGO



Instituto de Investigaciones Químico-Biológicas  
Maestría en Ciencias Químicas

**“Correlación biomimética de *p*-mentenos glucosilados hacia  
epoxitimoles de la tribu Eupatorieae”**

TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

**MAESTRA EN CIENCIAS QUÍMICAS**

**PRESENTA:**

Q.F.B. Jessica Montserrat Lorenzo García

**Directores**

D.Q. Mario Armando Gómez Hurtado

D.C. Rosa Elva Norma del Río Torres

Morelia, Michoacán mayo del 2022.

## ÍNDICE

|                               |    |
|-------------------------------|----|
| ÍNDICE DE FIGURAS .....       | 3  |
| ÍNDICE DE TABLAS .....        | 3  |
| ÍNDICE DE ESQUEMAS .....      | 4  |
| RESUMEN .....                 | 6  |
| INTRODUCCIÓN.....             | 8  |
| ANTECEDENTES .....            | 9  |
| JUSTIFICACIÓN .....           | 16 |
| OBJETIVOS .....               | 17 |
| OBJETIVO GENERAL.....         | 17 |
| OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....   | 17 |
| DISCUSIÓN DE RESULTADOS ..... | 18 |
| CONCLUSIÓN .....              | 45 |
| PARTE EXPERIMENTAL .....      | 46 |
| REFERENCIAS .....             | 51 |

## ÍNDICE DE FIGURAS

|                                                                                                                                                                      |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figura 1.-</b> Funcionalizaciones del esqueleto de timol (1).                                                                                                     | 9  |
| <b>Figura 2.-</b> Derivados del timol (1) funcionalizados en la posición C-6 del anillo aromático.                                                                   | 10 |
| <b>Figura 3.-</b> Derivados funcionalizados en posición bencílica de timol (1).                                                                                      | 11 |
| <b>Figura 4.-</b> Derivados funcionalizados con doble enlace en C-8 y C-9 del esqueleto de timol.                                                                    | 11 |
| <b>Figura 5.-</b> Derivado de epoxitímol aislados de <i>Ageratina glabrata</i> (35-39) y <i>p</i> -menteno 40 del aceite esencial de <i>A. glabrata</i> .            | 12 |
| <b>Figura 6.-</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ a 400 MHz del extracto metanólico de la parte aérea de <i>A. glabrata</i> , en $\text{DMSO-}d_6$ .                 | 18 |
| <b>Figura 7.-</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ a 400 MHz del tratamiento ácido del extracto metanólico de <i>A. glabrata</i> , en $\text{CDCl}_3$ .               | 19 |
| <b>Figura 8.-</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ a 400 MHz, del (+)-(3 <i>S</i> ,4 <i>S</i> ,6 <i>R</i> )-3,6-dihidroxi-1-menteno (43), en $\text{CD}_3\text{OD}$ . | 20 |
| <b>Figura 9.-</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ a 400 MHz de timohidroquinona (49), en $\text{CDCl}_3$ .                                                           | 21 |
| <b>Figura 10.-</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ a 100 MHz de timohidroquinona (49), en $\text{CDCl}_3$ .                                                       | 22 |
| <b>Figura 11.-</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ a 400 MHz de timol (1), en $\text{CDCl}_3$ .                                                                      | 23 |
| <b>Figura 12.-</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ a 400 MHz del crudo de reacción entrada 1, en $\text{CDCl}_3$ .                                                   | 27 |
| <b>Figura 13.-</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ a 400 MHz del crudo de reacción de la entrada 7, en $\text{CDCl}_3$ .                                             | 28 |
| <b>Figura 14.-</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ a 400 MHz del 6-clorotímol (64), en $\text{CDCl}_3$ .                                                             | 29 |
| <b>Figura 15.-</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ a 100 MHz del 6-clorotímol (64), en $\text{CDCl}_3$ .                                                          | 30 |
| <b>Figura 16.-</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ a 400 MHz del compuesto 65 impuro, en $\text{CDCl}_3$ .                                                           | 32 |
| <b>Figura 17.-</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ a 400 MHz del 7-oxotímol (66), en $\text{CDCl}_3$ .                                                               | 33 |
| <b>Figura 18.-</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ a 400 MHz del 8-hidroxitímol (50), en $\text{CDCl}_3$ .                                                           | 34 |
| <b>Figura 19.-</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ a 100 MHz del 8-hidroxitímol (50), en $\text{CDCl}_3$ .                                                        | 35 |
| <b>Figura 20.-</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ a 400 MHz del derivado carbonatado 67, en $\text{CDCl}_3$ .                                                       | 36 |
| <b>Figura 21.-</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ a 400 MHz del crudo de reacción de la entrada 13, en $\text{CDCl}_3$ .                                            | 37 |
| <b>Figura 22.-</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ a 400 MHz del crudo de reacción entrada 16, en $\text{CDCl}_3$ .                                                  | 38 |
| <b>Figura 23.-</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ a 400 MHz del 6-bromotímol (70), en $\text{CDCl}_3$ .                                                             | 39 |
| <b>Figura 24.-</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ a 100 MHz del 6-bromotímol (70), en $\text{CDCl}_3$ .                                                          | 40 |
| <b>Figura 25.-</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ a 400 MHz del 2,6-dibromotímol (71), en $\text{CDCl}_3$ .                                                         | 41 |
| <b>Figura 26.-</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ a 100 MHz del 2,6-dibromotímol (71), en $\text{CDCl}_3$ .                                                      | 41 |
| <b>Figura 27.-</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ a 400 MHz del 2-bromotímol (72), en $\text{CDCl}_3$ .                                                             | 42 |

## ÍNDICE DE TABLAS

|                                                            |    |
|------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tabla 1.-</b> Condiciones de oxidación en el timol (1). | 25 |
|------------------------------------------------------------|----|

## ÍNDICE DE ESQUEMAS

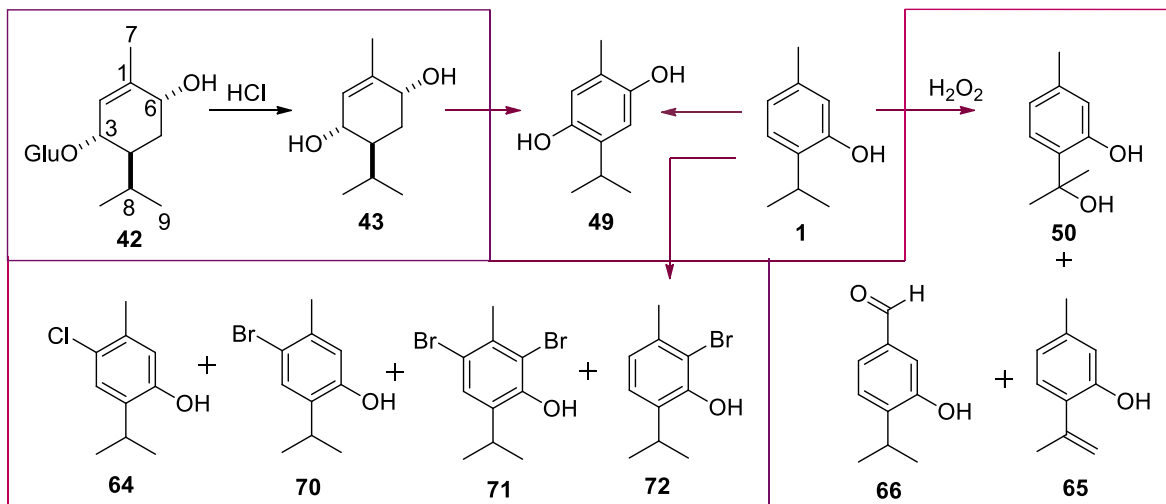
|                                                                                                                                     |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Esquema 1.-</b> Obtención de monoterpenos aromáticos a partir de p-mentenos glicosilados.                                        | 13 |
| <b>Esquema 2.-</b> Oxidación del timol ( <b>1</b> ) con micromiceto <i>Aspergillus niger</i> .                                      | 13 |
| <b>Esquema 3.-</b> Oxidación aeróbica de alquibenceno.                                                                              | 14 |
| <b>Esquema 4.-</b> Oxidación aeróbica en posición bencílica.                                                                        | 14 |
| <b>Esquema 5.-</b> Oxidación bencílica de cumeno ( <b>51</b> ).                                                                     | 14 |
| <b>Esquema 6.-</b> Halogenación en timol ( <b>1</b> ) con NBS.                                                                      | 15 |
| <b>Esquema 7.-</b> Condiciones para la oxidación de 3,6-dihidroxi-1-menteno ( <b>43</b> ).                                          | 20 |
| <b>Esquema 8.-</b> Compuestos esperados de la oxidación.                                                                            | 24 |
| <b>Esquema 9.-</b> Correlación estructural de derivados oxidados de timol ( <b>1</b> ) y compuestos aislados de especies vegetales. | 44 |

## SÍMBOLOS, ACRÓNIMOS Y ABREVIATURAS

|                        |                                            |
|------------------------|--------------------------------------------|
| AcOEt                  | Acetato de etilo                           |
| BPO                    | Peróxido de Benzoilo                       |
| cm                     | Centímetros                                |
| d                      | Señal doble                                |
| ddd                    | Señal doble de dobles de dobles            |
| dddd                   | Señal doble de dobles de dobles de dobles  |
| DMAPP                  | Dimetialil pirofosfato                     |
| DMSO                   | Dimetil Sulfóxido                          |
| eq                     | Equivalente                                |
| EtOH                   | Etanol                                     |
| g                      | Gramos                                     |
| GPP                    | Geranil difosfato                          |
| h                      | Horas                                      |
| Hz                     | Hertz                                      |
| IPP                    | Isopentenil pirofosfato                    |
| <i>J</i>               | Constante de acoplamiento                  |
| LPP                    | Linalil difosfato                          |
| m                      | Señal múltiple                             |
| MeOH                   | Metanol                                    |
| mg                     | Miligramo                                  |
| mL                     | Mililitro                                  |
| mmol                   | Milimol                                    |
| NBS                    | <i>n</i> -bromosuccinimida                 |
| NCS                    | <i>n</i> -clorosuccinimida                 |
| NHPI                   | <i>n</i> -hidroxiftalimida                 |
| No.                    | Número                                     |
| NPP                    | Neril difosfato                            |
| °C                     | Grados Celsius                             |
| ppm                    | Partes por millón                          |
| RMN de <sup>13</sup> C | Resonancia Magnética Nuclear de Carbono-13 |
| RMN de <sup>1</sup> H  | Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno  |
| s                      | Señal simple                               |
| sa                     | Señal simple ancha                         |
| sept                   | Señal séptuple                             |
| septd                  | Señal séptuple de dobles                   |
| t/a                    | Temperatura ambiente                       |
| ta                     | Señal triple ancha                         |
| δ                      | Desplazamiento químico                     |

## RESUMEN

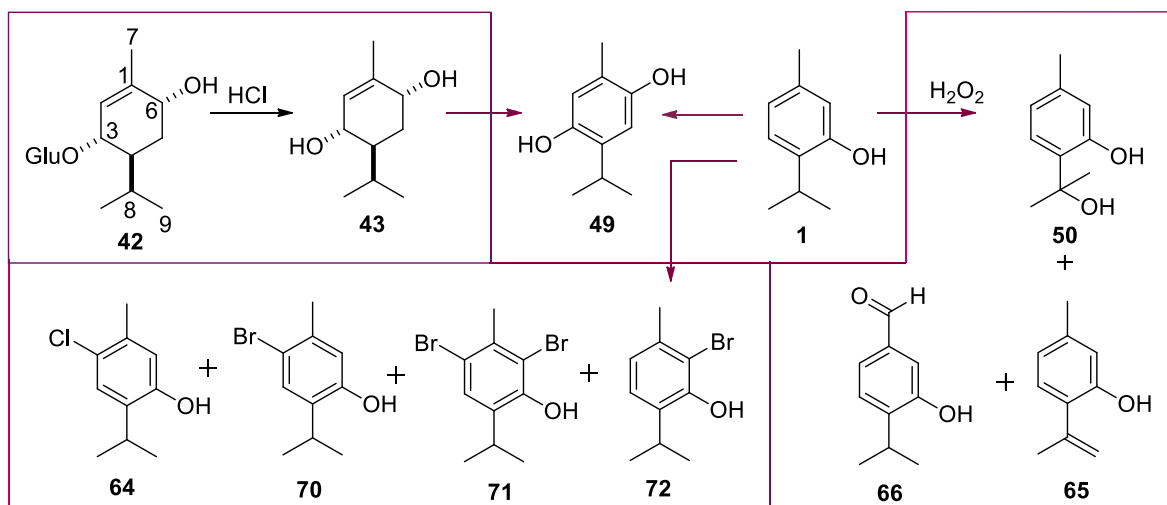
En el presente trabajo se describe una ruta biomimética que alude a posibles procesos catabólicos de *p*-mentenos glucosilados hacia derivados de timol intermediarios para la obtención de epoxitimoles, por medio de la oxidación del *p*-menteno **43** obtenido de la hidrólisis ácida del extracto metanólico de *Ageratina glabrata* generando timoles funcionalizados en el anillo aromático **49** que conecta al timol (**1**), así como con derivados oxidados en posición bencílica **50**, **66**, con doble enlace en C-8 y C-9 (**65**), cuyos esqueletos son encontrados en derivados aislados de distintas especies de la familia Asteraceae. Adicionalmente se realizaron las reacciones de halogenación en el timol como alternativa de derivatización obteniendo a **64**, **70-72**. Los compuestos se caracterizaron por sus datos físicos, espectroscópicos y sugirieron una estrecha conexión entre *p*-mentenos glucosilados y derivados de timol.



**Palabras clave:** *Ageratina glabrata*, *p*-menteno, oxidación, derivado de timol.

## ABSTRACT

In the present work, a biomimetic route is described that alludes to possible catabolic processes of glycosylated *p*-menthenes towards thymol derivatives which are intermediates to obtain epoxythymols, through the oxidation of *p*-mentene **43** obtained from the acid hydrolysis of the methanolic extract of *Ageratina glabrata*, generating functionalized thymols in the aromatic ring **49** that connects to thymol (**1**) as well as oxidized derivatives in the benzylic position **50**, **66**, with double bonds at C-8 and C-9 (**65**), whose skeletons are found in isolated derivatives of different species of the Asteraceae family. Additionally, halogenation reactions were carried out on thymol as an alternative to derivatization, obtaining compounds **64**, **70-72**. The compounds were characterized by their physical and spectroscopic data and suggested a close connection between glycosylated *p*-menthenes and thymol derivatives.



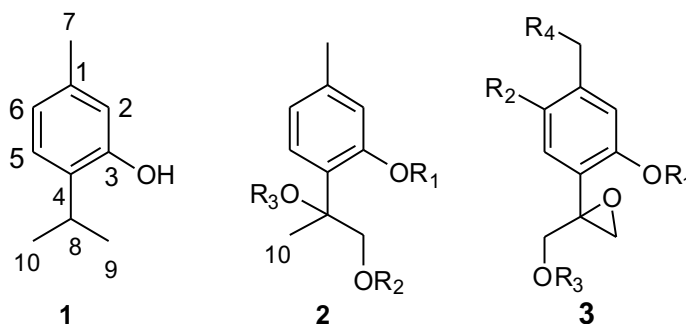
**Keywords:** *Ageratina glabrata*, *p*-menthene, oxidation, thymol derivative.

## INTRODUCCIÓN

La naturaleza es la red misteriosamente integrada de fenómenos simples a inmensamente complejos, que se encuentra ligados a los organismos vivos, los cuales necesitan realizar una variedad de acciones biológicas que incluyen reacciones enzimáticas, principalmente de oxidación, ciclación y reordenamientos entre algunas otras,<sup>1</sup> dentro de estos organismos vivos, las plantas son altamente eficientes para sintetizar metabolitos secundarios<sup>2</sup> llamados también productos naturales,<sup>3</sup> con una interesante diversidad estructural, ejemplo de ellos son los terpenos que constituyen una de las familias de compuestos con más variedad estructural, los cuales se encuentran restringidos a algunas especies vegetales, confieren propiedades favoreciendo aplicaciones medicinales que incluyen actividad biológica antiinflamatoria, antioxidante, hipoglucemiante, antimicrobiana, inmunoestimulante y analgésica.<sup>4-6</sup> El conocimiento del metabolismo de estos principios activos permite asociarlos para aplicaciones médicas, químicas, biotecnológicas, entre algunas otras más, también el conocimiento del metabolismo puede ayudar a comprender los mecanismos y hacer modificaciones biotecnológicas para favorecer la producción de algún compuesto en particular. En la literatura existen compuestos bioactivos como los epoxitimoles que han mostrado importantes efectos, citotóxicos y antibacterianos,<sup>4-9</sup> hasta el momento únicamente se sabe que el timol es biosintetizado a través de la vía de los terpenos por medio de reacciones enzimáticas de la ciclación de GPP.<sup>10</sup> Por otro lado, en recientes trabajos se planteó una ruta biomimética que alude al metabolismo de monoterpenos glucosilados hacia monoterpenos fenólicos.<sup>11</sup> En el presente trabajo se sugiere la posible correlación entre *p*-mentenos glucosilados a derivados del timol, precursores de epoxitímol mediante la reactividad del timol para la obtención de derivados de epoxitímol.

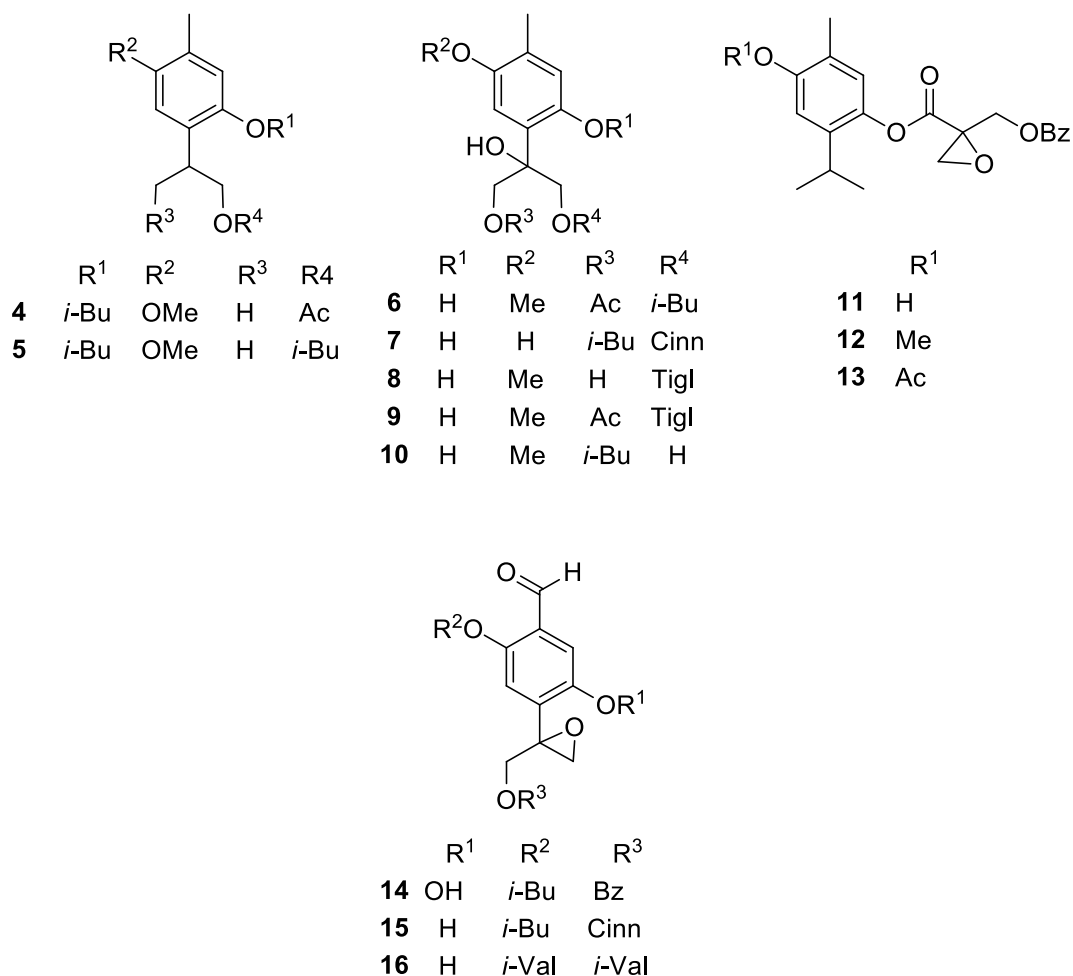
## ANTECEDENTES

El timol (2-isopropil-5-metilfenol) (**1**) es un monoterpeno fenólico e isómero de carvacrol que es biosintetizado a través de la vía de los terpenos por medio de reacciones enzimáticas.<sup>10</sup> Tiene aplicaciones como antiséptico, antimicrobiano, antiinflamatorio, analgésico y antioxidante,<sup>12-18</sup> por lo que posee importancia industrial y farmacológica.<sup>19</sup> Se encuentra en abundancia en el aceite esencial de algunas plantas como orégano, tomillo y ajedrea (*Origanum vulgare*, *Thymus vulgaris* y *Satureja hortensis*),<sup>20</sup> además de encontrarse funcionalizado generando múltiples derivados que se distribuyen en 42 géneros de la familia Asteraceae. Estos derivados se destacan por sus funcionalizaciones en las posiciones C-8, C-9 (**2**) y/o C-10, también incluyen sustituciones en C-7 y/o en el anillo aromático C-3 y C-6, algunos derivados del timol incluyen un anillo de oxirano en el C-8/C-9 (**3**), lo que le confiere quiralidad y son conocidos como epoxitimoles (figura 1).<sup>21</sup>



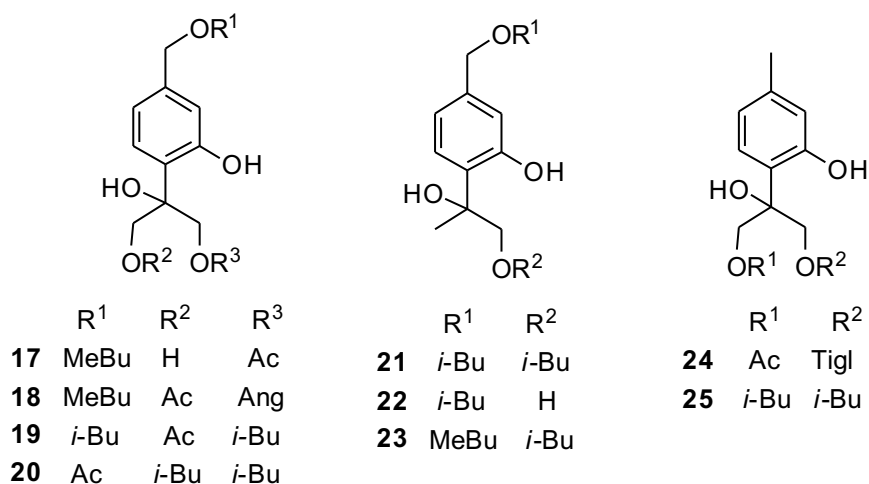
**Figura 1.-** Funcionalizaciones del esqueleto de timol (**1**).

Se sabe hasta el momento, que este tipo de derivados de timol solo se encuentran en especies vegetales de la familia Asteraceae, ejemplo de ello son las especies de *Kunia ignorata*,<sup>22</sup> *Inula crithmoides*<sup>23</sup> y *Ageratina cylindrica*,<sup>9</sup> de las que se han aislado derivados de timol funcionalizados en C-6, como los compuestos **4-16**, también se encuentran algunas especies como *Mikania decora*,<sup>24</sup> *Ageratina glabrata*,<sup>25-27</sup> *Ageratina mairetiana*<sup>28</sup> y *Piptothrix areolare*,<sup>29</sup> que además de encontrarse compuestos funcionalizados en la posición del anillo aromático muestran funcionalización con un grupo hidroxilo en el C-8 (**6-10** y **14-16**) (figura 2).



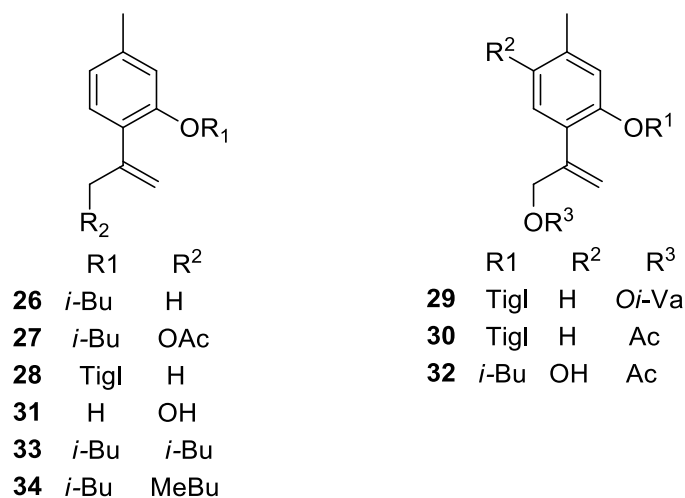
**Figura 2.-** Derivados del timol (**1**) funcionalizados en la posición C-6 del anillo aromático.

Algunos otros compuestos obtenidos de fuentes naturales con esqueleto de timol funcionalizados en la posición bencílica son los encontrados en la parte aérea de las especies *Vieraea laevigata*<sup>30</sup> (**17**, **18**), *Calea nelsonii* (**19-22**)<sup>31,32</sup> *Inula wissmanniana* (**21**, **25**),<sup>33</sup> *Eupatorium fortunei* (**24**)<sup>34</sup> y en las raíces de *Gaillardia aristata* el compuesto **23** (figura 3).<sup>35</sup>



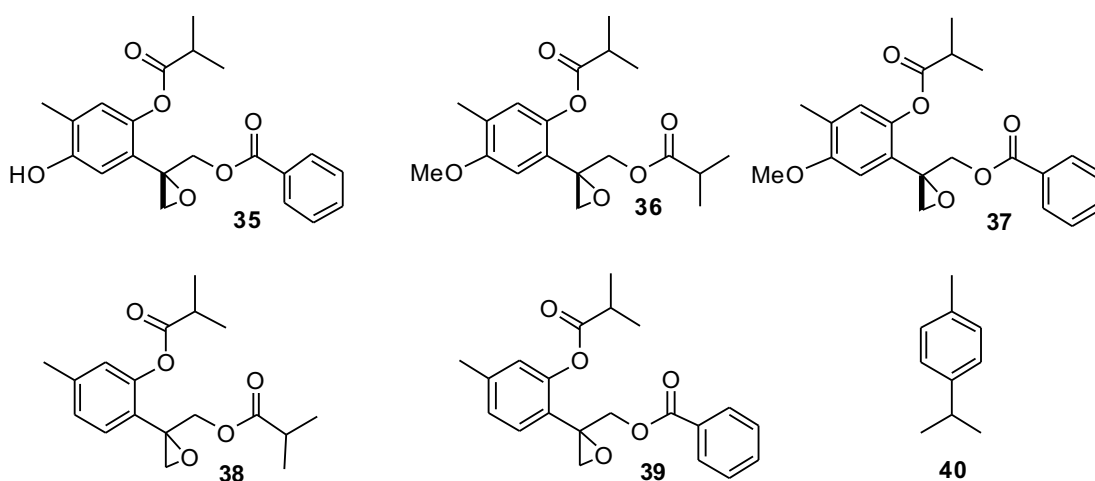
**Figura 3.-** Derivados funcionalizados en posición bencílica de timol (**1**).

También se han descrito derivados de timol que poseen un doble enlace en la posición C-8/C-9 como los mostrados en la figura 4, aislados de *Ageratina aromatica* (**26**),<sup>36</sup> *Schkuhria multiflora* (**26**, **27**),<sup>37</sup> *Eupatorium fortunei* (**28-30**),<sup>34</sup> *Kaunia arbuscularis* (**31**),<sup>38</sup> *Mikania decora* (**32**)<sup>24</sup> y *Doronicum pardalianches* (**33**, **34**).<sup>39</sup>



**Figura 4.-** Derivados funcionalizados con doble enlace en C-8 y C-9 del esqueleto de timol.

En el grupo de trabajo se han aislado derivados de epoxitimol funcionalizados en la posición C-6, C-8, C-9 y C-10 de la especie vegetal de *Ageratina glabrata*<sup>40</sup> como isobutirato de (+)-(8*S*)-10-benziloxi-6-hidroxi-8,9-epoxitimilo (**35**), isobutirato de (+)-(8*S*)-10-acetoxi-6-metoxi-8,9-epoxitimilo (**36**), isobutirato de (+)-(8*S*)-10-benzoiloxi-6-metoxi-8,9-epoxitimilo (**37**), isobutirato de 10-isobutiriloxi-8,9-epoxitimilo (**38**) e isobutirato de 10-benzoiloxi-8,9-epoxitimilo (**39**). Además, se han encontrado monoterpenos aromáticos en el aceite esencial de esta especie, en donde destaca el *p*-cimeno (**40**) con una abundancia del 4.7% (figura 5).<sup>41</sup>

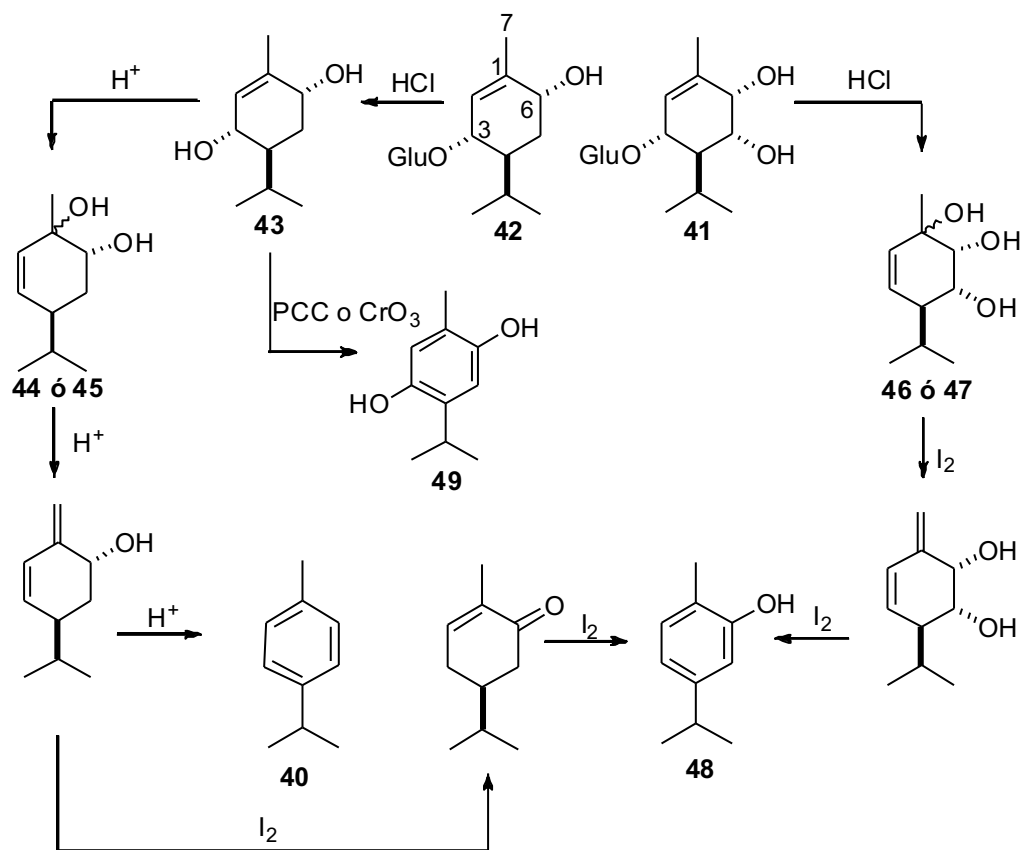


**Figura 5.-** Derivado de epoxitimol aislados de *Ageratina glabrata* (**35-39**) y *p*-menteno **40** del aceite esencial de *A. glabrata*.

De manera interesante también se ha descrito que la parte aérea de *Ageratina glabrata* es rica en monoterpenos glucosilados que incluye al (-)-(3*S*,4*R*,5*R*,6*S*)-3,5,6-trihidroxi-1-menteno 3-*O*- $\beta$ -D-glucopiranosido (**41**) y (-)-(3*S*,4*S*,6*R*)-3,6-dihidroxi-1-menteno 3-*O*- $\beta$ -D-glucopiranosido (**42**).<sup>42</sup>

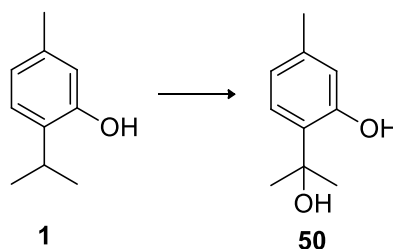
En un trabajo anterior establecieron una correlación biomimética entre estos glucosidos de *p*-menteno hacia carvacrol (**48**) y *p*-cimeno (**40**), donde obtuvieron por medio de hidrólisis ácidas los derivados de *p*-menteno **44-47**,<sup>11</sup> que al ser sometidas a reacciones de deshidratación y oxidaciones permitieron obtener los compuestos monoterpénicos aromáticos **40** y **48**. Una investigación complementaria permitió establecer una relación

química entre el monoterpeno **43** y timohidroquinona (**49**)<sup>43</sup> (esquema 1), lo que abrió la posibilidad de pensar que los *p*-mentenos pueden ser precursores de epoxitimoles y para que esto ocurra, el esqueleto de timol (**1**) debería pasar por oxidaciones bencílicas.



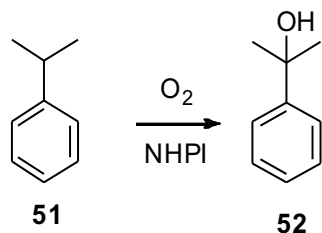
**Esquema 1.-** Obtención de monoterpenos aromáticos a partir de *p*-mentenos glicosilados.

La literatura ha establecido que se puede llegar a oxidaciones bencílicas en el timol **(1)**, por medio de biotransformaciones utilizando *Aspergillus niger* generando una serie de compuestos funcionalizados en el que destaca el compuesto **50** (esquema 2).<sup>44,45</sup>



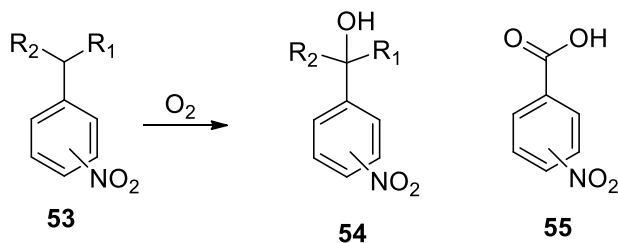
**Esquema 2.-** Oxidación del timol (1) con micromiceto *Aspergillus niger*.

Algunas oxidaciones bencílicas a compuestos de alquilbenceno proceden mediante reacciones aeróbicas con  $O_2$ , catalizadas por *N*-hidroxifthalimida (NHPI) como se muestra en el esquema 3.<sup>46</sup>



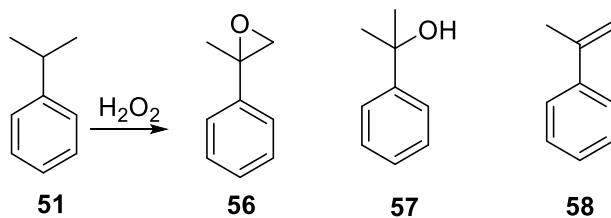
**Esquema 3.-** Oxidación aeróbica de alquilbenceno.

Oxidaciones aeróbicas en alquilarenos con un grupo nitro en el anillo aromático, utilizando  $O_2$  como agente oxidante con mezcla de NaOH/EtOH dieron como resultado los derivados oxidados **54** y **55** como se muestra en el esquema 4.<sup>47</sup>



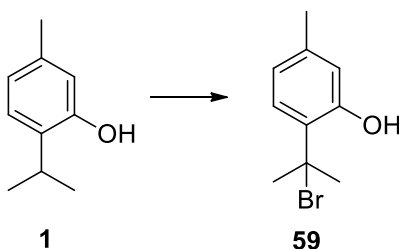
**Esquema 4.-** Oxidación aeróbica en posición bencílica.

También existen reportes de oxidaciones que generan directamente epóxidos como las condiciones probadas en monoterpenos como el cumeno (**51**) con  $H_2O_2$  en presencia de manganeso (III) y un co-catalizador de acetato de amonio, generando el epóxido de metilestireno (**56**), el alcohol bencílico **57** y el derivado **58** con doble enlace en el isopropilo entre otros derivados (esquema 5).<sup>48</sup>



**Esquema 5.-** Oxidación bencílica de cumeno (**51**).

Como ruta alternativa para la obtención de compuestos que pueden sufrir una eliminación y así formar un precursor para la formación de epóxidos, pueden considerarse las halogenaciones bencílicas, las cuales se han logrado en el timol (**1**) utilizando como reactivo NBS y peróxido de benzoílo como co-catalizador, obteniendo el compuesto 8-bromotimol (**59**) (esquema 8).<sup>49</sup>



**Esquema 6.-** Halogenación en timol (**1**) con NBS.

Las reacciones químicas reportadas en estas investigaciones hacen pertinente explorar ahora la posibilidad de generar intermediarios de epoxitimol, a partir de los *p*-mentenos glucosidados **41** y **42** transitando por los monoterpenos aromáticos **40**, **48** y **49** (esquema 1), para trazar una correlación biomimética de *p*-mentenos glucosilados hacia epoxitimoles de la tribu Eupatorieae por medio de reacciones de oxidación bencílica.

## JUSTIFICACIÓN

Entre los metabolitos secundarios que se encuentran dentro de la familia Asteraceae existen compuestos que tienen similitudes estructurales, también se encuentran monoterpenos de los cuales se ha sugerido que existe una ruta biomimética que alude al metabolismo para la obtención de compuestos aromáticos. De las reacciones demostradas en esta investigación se hace pertinente explorar la posibilidad de generar compuestos intermediarios a partir derivados de *p*-mentenos para la obtención de compuestos intermediarios que permitan la formación de epoxitimoles, como los aislados dentro de la Tribu Eupatorieae.

## OBJETIVOS

### OBJETIVO GENERAL

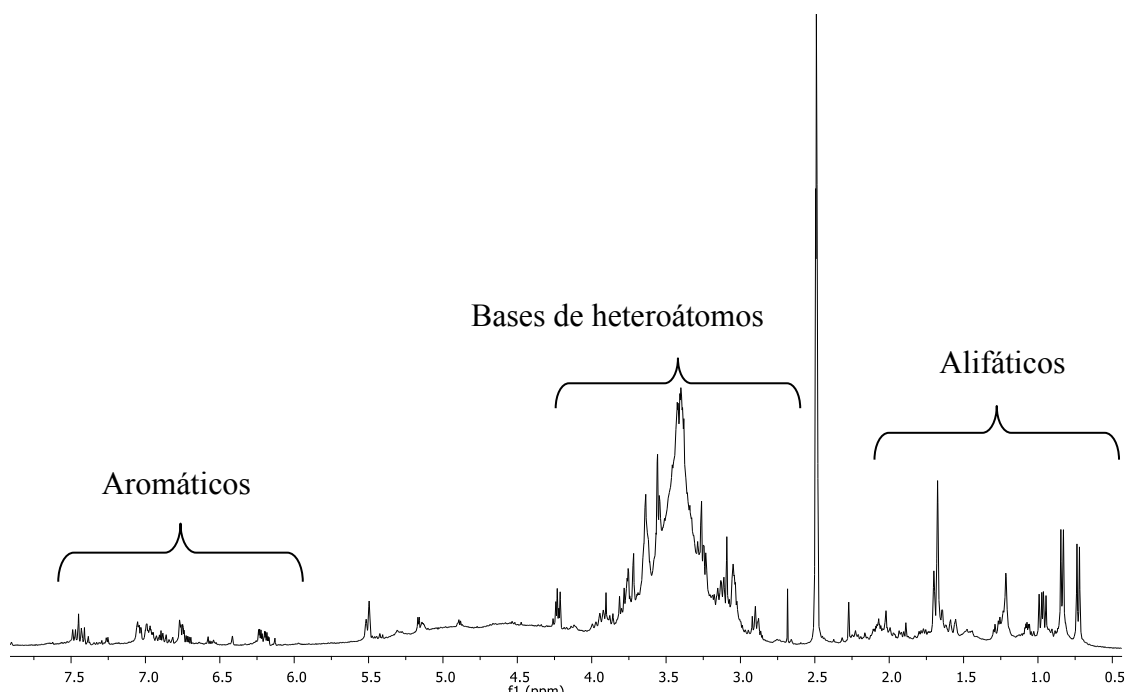
Explorar la reactividad de los monoterpenos aromáticos obtenidos a partir de las oxidaciones de *p*-mentenos glucosilados de *Ageratina glabrata*, para establecer la correlación biomimética entre esta clase de compuestos y los epoxitimoles, metabolitos comunes de la tribu Eupatorieae.

### OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Obtener a los precursores naturales con esqueleto de *p*-menteno a partir de los extractos metanólicos de *A. glabrata*.
2. Generar derivados del *p*-cimeno mediante reacciones de oxidación suave a partir del derivado glucosilado de *p*-menteno **42**, y validar las metodologías establecidas.
3. Promover reacciones de oxidación bencílica a partir de timol y de los monoterpenos aromáticos preparados para la obtención de precursores claves para la formación de epoxitimoles.
4. Caracterizar los productos obtenidos mediante sus datos físicos y espectroscópicos.

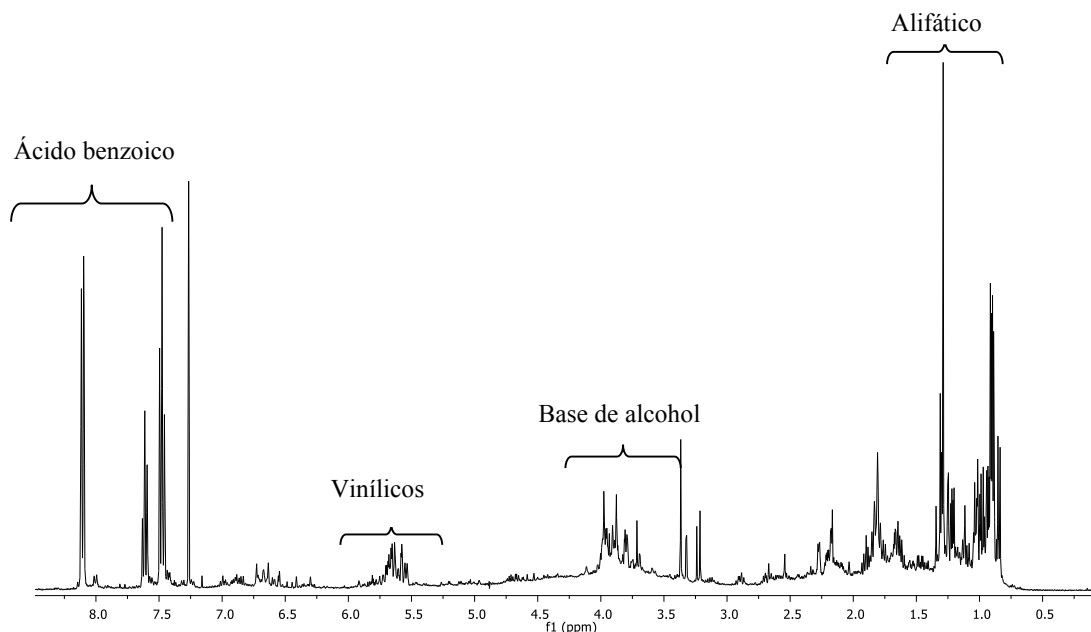
## DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Para llevar a cabo la preparación de los precursores de epoxitimoles se obtuvo el extracto metanólico de hojas de *Ageratina glabrata* se procedió a realizar su análisis por RMN de  $^1\text{H}$ , en el cual se aprecian señales de protones aromáticos entre 8.0-6.0 ppm, bases de heteroátomo alrededor de 4.5-3.0 ppm en mayor proporción, y grupos alifáticos entre 2.0-0.5 ppm, destacando la presencia de metilos secundarios característicos de esqueletos de *p*-menteno entre 1.0-0.7 ppm (figura 6).



**Figura 6.-** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  a 400 MHz del extracto metanólico de la parte aérea de *A. glabrata*, en  $\text{DMSO-}d_6$ .

Confirmada la presencia de compuestos con esqueleto de *p*-menteno, el extracto fue sometido a tratamiento ácido, de acuerdo a lo descrito previamente,<sup>11</sup> obteniendo una miel de color marrón, esta fue analizada por RMN de  $^1\text{H}$  observándose la presencia de señales intensas correspondientes al ácido benzoico entre 8.2-7.5 ppm, hidrógenos vinílicos en 5.8-5.5 ppm, hidrógenos bases de heteroátomos entre 4.0-3.8 ppm, y señales correspondientes a protones alifáticos entre 2.5-0.7 ppm (figura 7).

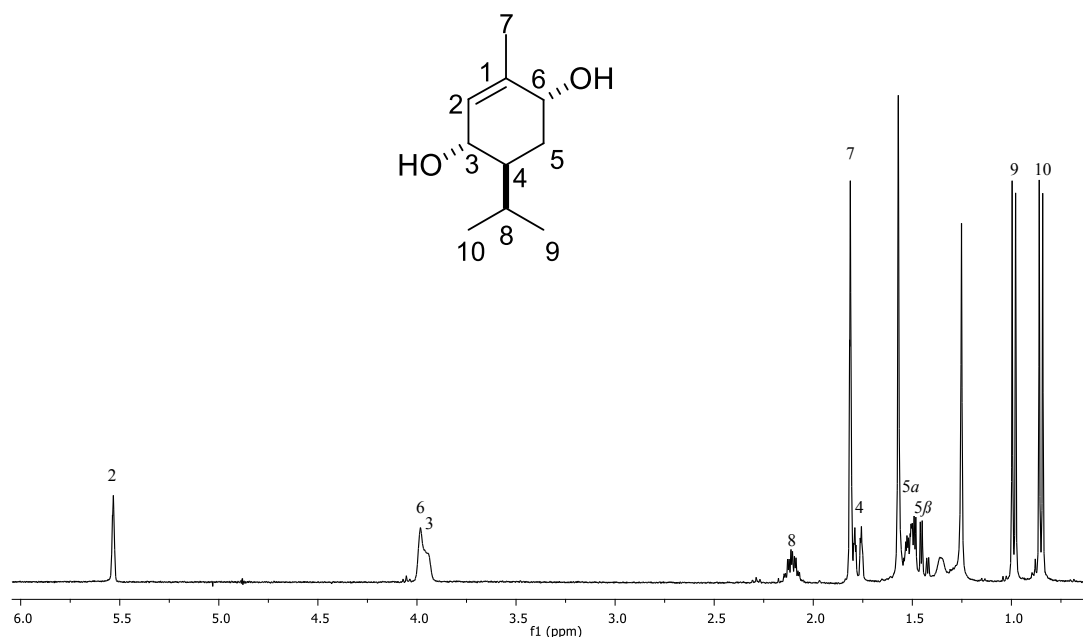


**Figura 7.-** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  a 400 MHz del tratamiento ácido del extracto metanólico de *A. glabrata*, en  $\text{CDCl}_3$ .

La miel color marrón fue llevada a columna cromatográfica para su separación, utilizando gel de sílice como fase estacionaria y como eluente mezclas hexanos-AcOEt en orden ascendente de polaridad, aislando los compuestos tipo *p*-menteno **43-47**, de los cuales se tomó al compuesto **43** para explorar la reacción de oxidación.<sup>11,42</sup>

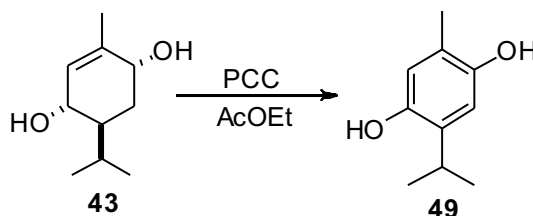
En el espectro de RMN de  $^1\text{H}$  del (+)-(3*S*,4*S*,6*R*)-3,6-dihidroxi-1-menteno (**43**) se observa una señal simple ancha en 5.44 ppm correspondiente al protón vinílico de la posición H-2, se encuentra una señal triple ancha ( $J = 4.1$  Hz) y doble ancha ( $J = 9.2$  Hz) en 3.89 ppm y 3.82 ppm que son asignadas a los H-6 y H-3, respectivamente. En 2.09 ppm se observa una señal doble de séptuplos ( $J = 6.8, 2.8$  Hz) correspondiente al H-8 base del isopropilo; en 1.74 ppm se observa otra señal simple correspondiente al metilo  $\text{CH}_3$ -7. En 1.69 ppm se encuentra una señal doble de dobles de dobles ( $J = 13.5, 2.8, 2.8$  Hz) correspondiente a H-5 $\alpha$ , el H-4 se observa como una señal doble de dobles de dobles de dobles ( $J = 13.1, 9.2, 2.8, 2.8$  Hz) en 1.56 ppm, en 1.36 ppm se observa una señal doble de dobles de dobles ( $J = 13.5, 13.1, 4.1$  Hz) correspondientes a los H-5 $\beta$ . En 0.95 y 0.80 ppm se observan dos señales dobles correspondientes a los metilos de isopropilo en las

posiciones CH<sub>3</sub>-9 y CH<sub>3</sub>-10 con  $J = 6.8$  Hz cada una (figura 8). Los datos espectroscópicos correspondieron con los descritos por Pardo-Novoa *et al.* en 2016 y 2019.



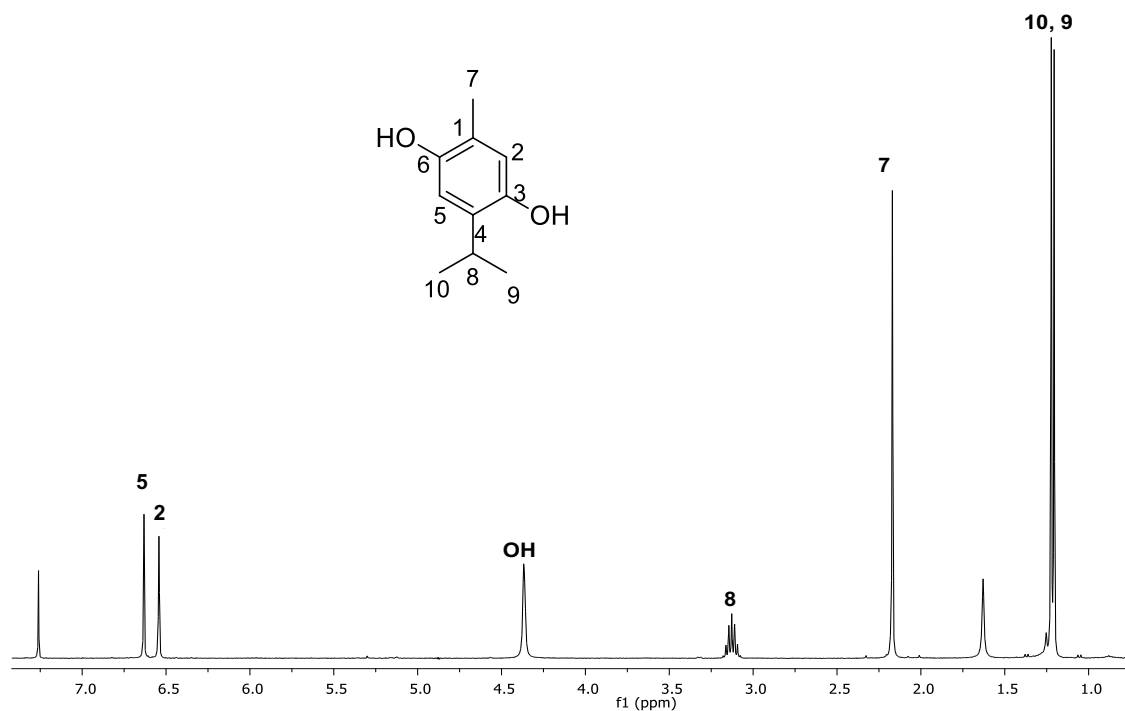
**Figura 8.-** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  a 400 MHz, del (+)-(3*S*,4*S*,6*R*)-3,6-dihidroxi-1-menteno (**43**), en CD<sub>3</sub>OD.

Una vez obtenido el *p*-menteno de partida, se procedió a llevar a cabo su oxidación utilizando una suspensión de clorocromato de piridino (PCC) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> y agregando el compuesto **43** disueltos en AcOEt.<sup>50</sup> La mezcla se dejó reaccionar por 40 minutos con agitación constante a temperatura ambiente (esquema 7).



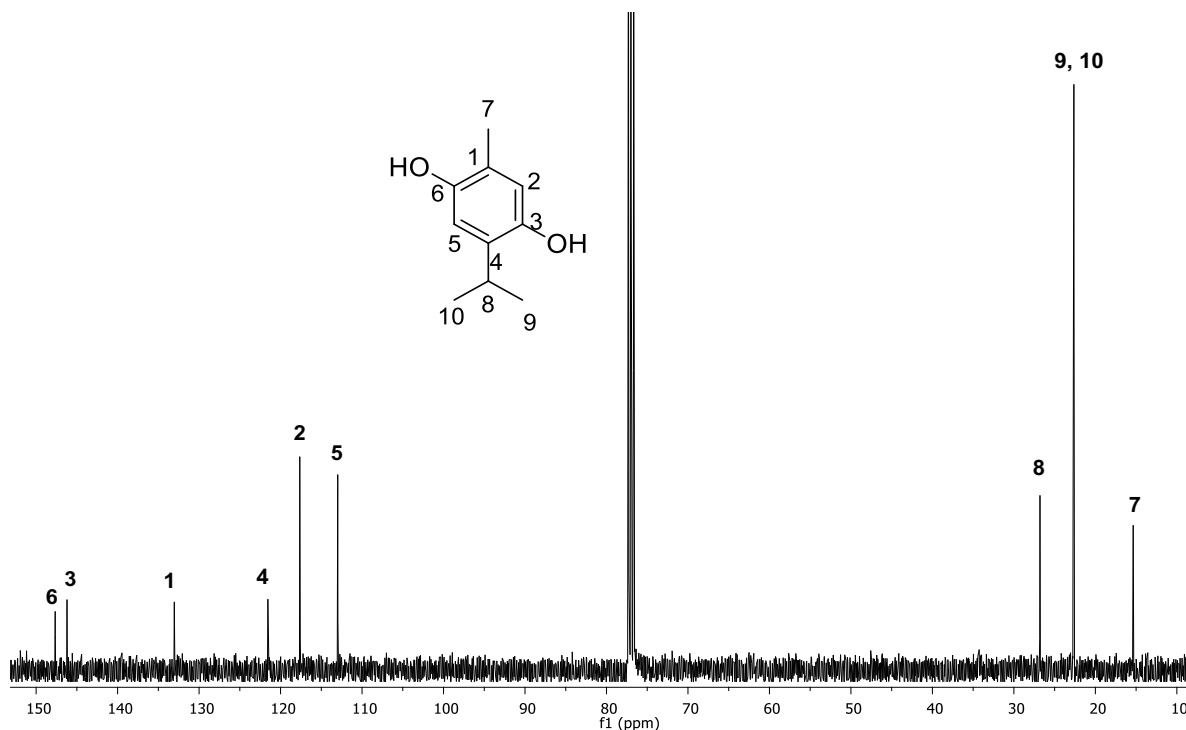
**Esquema 7.-** Condiciones para la oxidación de 3,6-dihidroxi-1-menteno (**43**).

El crudo de reacción fue purificado directamente por cromatografía en columna, obteniendo cristales incoloros con punto de fusión de 125 - 127 °C, en su análisis de RMN de  $^1\text{H}$  se observa la presencia de dos señales simples en 6.63 ppm correspondiente a H-5, y 6.54 ppm perteneciente a H-2, indicando la presencia de hidrógenos aromáticos; en 4.37 ppm una señal simple ancha de los hidroxilos, en 3.13 ppm se observa una señal séptuple con una  $J = 6.9$  Hz del protón H-8 base de isopropilo; en 2.17 ppm se encuentra una señal simple correspondiente al  $\text{CH}_3$ -7; en 1.21 ppm se observa una señal doble con una  $J = 6.9$  Hz de los metilos del isopropilo  $\text{CH}_3$ -9 y  $\text{CH}_3$ -10 (figura 9), al aromatizarse el compuesto hay un desplazamiento del H-2 en 6.54 ppm, al igual que el H-5 que ahora se encuentra en 6.63 ppm. Los desplazamientos obtenidos fueron comparados con los de la literatura, concordando con el compuesto de timohidroquinona<sup>51</sup> (**49**) obteniendo un rendimiento del 49%.



**Figura 9.-** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  a 400 MHz de timohidroquinona (**49**), en  $\text{CDCl}_3$ .

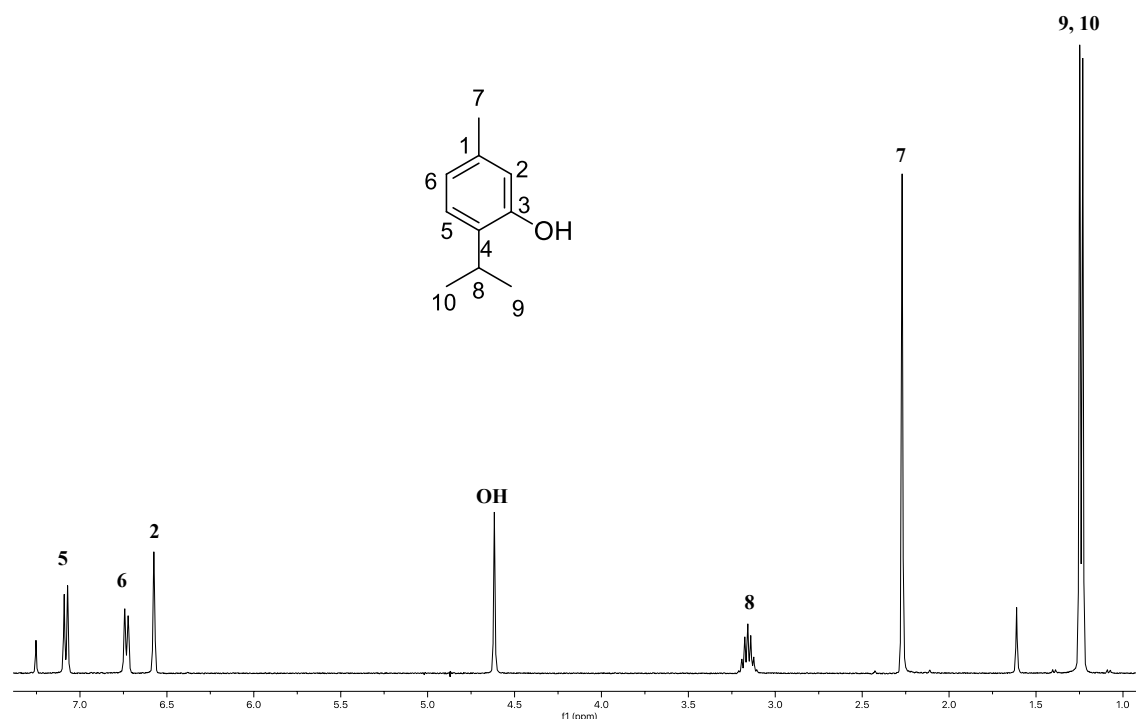
El espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$ , mostró diez señales correspondientes a la estructura propuesta para el derivado **49**, observándose en 147.6 ppm una señal correspondiente a C-6, en 146.2 ppm se encuentra una señal del carbono C-3, en 133.0 y 121.5 ppm se localizan las señales de C-1 y C-4, respectivamente. En 117.6 y 112.9 ppm se observan las señales de los carbonos C-2 y C-5, respectivamente. La señal correspondiente al carbono C-8 se encuentra en 26.8 ppm, en 22.6 ppm se localiza una señal traslapada de los carbonos  $\text{CH}_3$ -9 y  $\text{CH}_3$ -10, finalmente en 15.3 ppm se observa una señal para el carbono  $\text{CH}_3$ -7 (figura 10).<sup>51</sup>



**Figura 10.-** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  a 100 MHz de timohidroquinona (**49**), en  $\text{CDCl}_3$ .

Estos resultados permitieron validar las metodologías establecidas de un trabajo previo, para la obtención del *p*-menteno **43**<sup>11</sup> y a partir de este, la formación del compuesto **49**<sup>43</sup> cuyo esqueleto permite asociar al esqueleto de timol con *p*-mentenos glucosilados, esto abre la posibilidad de ahora poder correlacionar el esqueleto de timol con los epoxitimoles. Para esto se planteó como estrategia emplear al timol comercial para los distintos ensayos de oxidación, cabe resaltar que el timol comercial mostró en su espectro de RMN de  $^1\text{H}$  dos señales dobles en 7.08 y 6.72 ppm con una  $J = 7.8$  Hz cada una corresponden a H-5 y H-6, en 6.58 ppm se observa una señal simple ancha correspondiente a H-2 aromático, en 4.62 ppm hay una señal simple ancha correspondiente al OH, en 3.16 ppm se encuentra una

señal séptuple ( $J = 7.0$  Hz) correspondiente al protón H-8 base de isopropilo, en 2.26 ppm se observa una señal simple del CH<sub>3</sub>-7 y en 1.24 ppm se encuentra una señal doble ( $J = 7.0$  Hz) correspondiente a los metilos de isopropilo CH<sub>3</sub>-9 y CH<sub>3</sub>-10 (figura 11).<sup>52</sup>

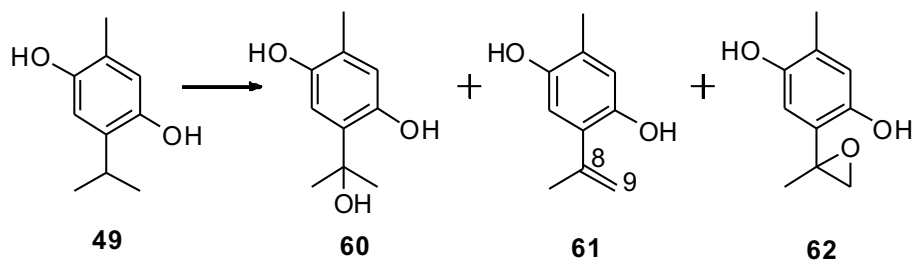


**Figura 11.-** Espectro de RMN de <sup>1</sup>H a 400 MHz de timol (**1**), en CDCl<sub>3</sub>.

Una vez caracterizada la materia de partida se iniciaron las reacciones de funcionalización en el timol (**1**), en donde se espera que con la reacción de oxidación se obtengan los compuestos **60-62** (esquema 8) ya sea en la misma mezcla de reacción<sup>48</sup> ó por separado,<sup>44,45</sup> en el segundo de los casos, se tiene que realizar posterior mente las reacciones correspondientes que permitan llegar a generar el epoxitimol **62**. El análisis de RMN de <sup>1</sup>H permite establecer la presencia, de estos compuestos mostrando que para el compuesto **60** se hace notoria la desaparición de la señal séptuple en 3.16 ppm, y en su lugar hay desplazamiento de una señal simple correspondiente a los metilos del isopropilo en la posición CH<sub>3</sub>-9 y CH<sub>3</sub>-10 en aproximadamente 1.66 ppm.<sup>45</sup>

Para el compuesto **61** en el espectro de RMN de <sup>1</sup>H se espera como en el caso anterior observar dos señales quintuples de los protones vinílicos H-9a y H-9b entre 5.11 y 4.99 ppm, de acuerdo con la literatura.<sup>34</sup>

Por último, para el compuesto epoxidado **62** se espera observar en su espectro de RMN de  $^1\text{H}$  al igual que en los dos casos anteriores señales dobles en la región de 3.20-2.47 ppm que corresponden al  $\text{CH}_2$ -9 de oxirano.<sup>21</sup> Teniendo en cuenta los desplazamientos característicos de cada compuesto esperado, se llevó a cabo la búsqueda de condiciones adecuadas para la oxidación del esqueleto de timol (**1**) empleando agentes oxidantes que como  $\text{KMnO}_4$ ,  $\text{CrO}_3$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{O}_2$  y DDQ (Tabla 1).



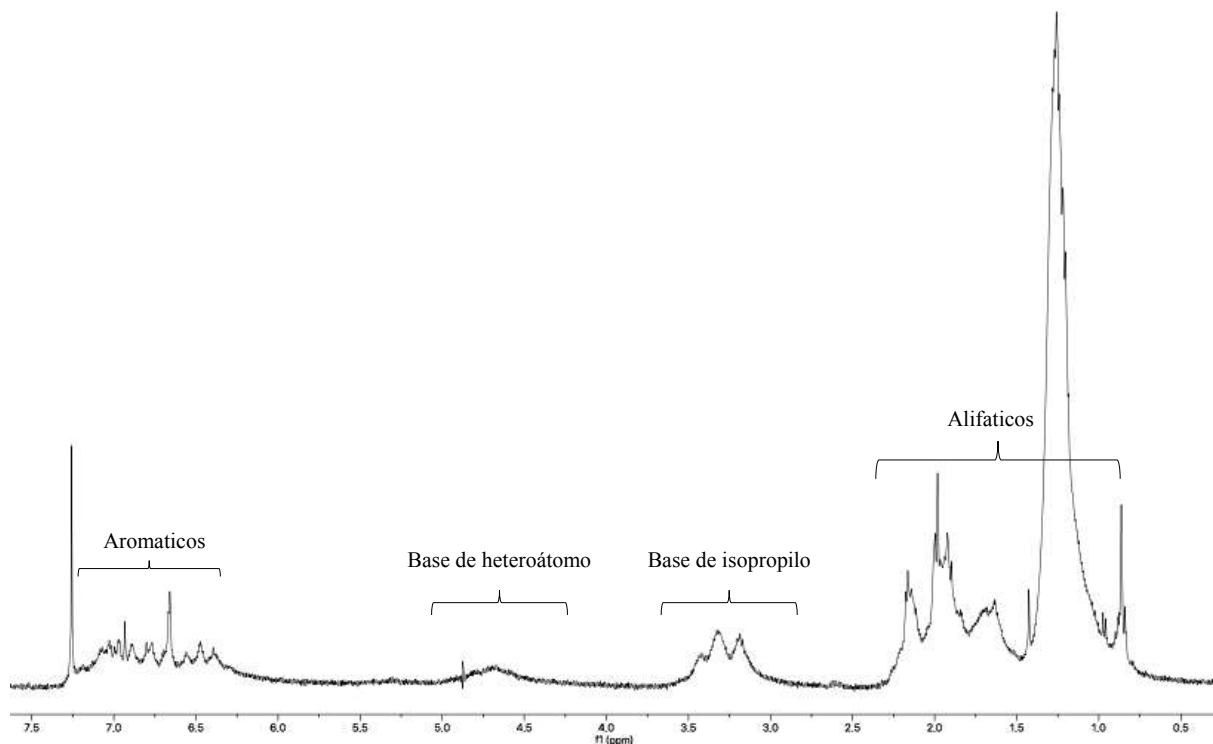
**Esquema 8.-** Compuestos esperados de la oxidación.

**Tabla 1.-** Condiciones de oxidación en el timol (**1**)

| Entrada | Compuesto | Tiempo<br>(h) | Reactivos                                                                             | Temperatura<br>(°C) | Disolvente                                   | Producto de<br>reacción                               | Rendimiento<br>% |
|---------|-----------|---------------|---------------------------------------------------------------------------------------|---------------------|----------------------------------------------|-------------------------------------------------------|------------------|
| 1       | <b>1</b>  | 9             | 3eq KMnO <sub>4</sub><br>2 mol/L H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>                       | 80                  | Ác. acético:<br>Agua                         | mc                                                    | -                |
| 2       | <b>1</b>  | 3.5           | 3eq KMnO <sub>4</sub><br>2 mol/L H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>                       | 80                  | Ác. acético:<br>Agua                         | mc                                                    | -                |
| 3       | <b>1</b>  | 3.5           | 1.5eq KMnO <sub>4</sub><br>2 mol/L H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>                     | 80                  | Ác. acético:<br>Agua                         | mc                                                    | -                |
| 4       | <b>1</b>  | 3.5           | 1.5eq KMnO <sub>4</sub><br>2 mol/L H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>                     | t/a                 | Ác. acético:<br>Agua                         | mc                                                    | -                |
| 5       | <b>1</b>  | 3.5           | 1.5eq KMnO <sub>4</sub>                                                               | t/a                 | Ác. acético:<br>Agua                         | mc                                                    | -                |
| 6       | <b>1</b>  | 3.5           | 1.5eq KMnO <sub>4</sub>                                                               | t/a                 | Ác. acético:<br>Acetona                      | mc                                                    | -                |
| 7       | <b>1</b>  | 3.5           | 1.5eq KMnO <sub>4</sub>                                                               | t/a                 | Acetona                                      | <b>50</b>                                             | -                |
| 8       | <b>1</b>  | 1             | 1eq CrO <sub>3</sub><br>10 mol/L H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>                        | t/a                 | CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>              | <b>1</b>                                              | -                |
| 9       | <b>1</b>  | 2             | 1eq CrO <sub>3</sub><br>10 mol/L H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>                        | t/a                 | CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>              | <b>49, 64</b><br>(1:1)                                | 50               |
| 10      | <b>1</b>  | 3             | 10 mol/L H <sub>2</sub> O <sub>2</sub><br>O <sub>2</sub><br>0.02 eq FeCl <sub>3</sub> | 80                  | CNCH <sub>3</sub>                            | <b>49, 50, 64, 65</b><br>y <b>66</b><br>(3:1:7:0.5:1) | 60               |
| 11      | <b>1</b>  | 24            | 3.3 eq<br>Cloroformiato<br>de fenilo                                                  | t/a                 | Piridina:<br>CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> | <b>67</b>                                             | 95               |
| 12      | <b>67</b> | 1.5           | 10 mol/L H <sub>2</sub> O <sub>2</sub><br>O <sub>2</sub><br>0.02 eq FeCl <sub>3</sub> | 80                  | CNCH <sub>3</sub>                            | <b>67</b><br>mc                                       | -                |

|                                                                                                                                            |    |           |   |                                                                                       |      |                                                 |                              |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|-----------|---|---------------------------------------------------------------------------------------|------|-------------------------------------------------|------------------------------|
| mc: mezcla<br>compleja                                                                                                                     | 13 | <b>67</b> | 3 | 10 mol/L H <sub>2</sub> O <sub>2</sub><br>O <sub>2</sub><br>0.02 eq FeCl <sub>3</sub> | 80   | CNCH <sub>3</sub>                               | <b>68 y 69</b><br>mc         |
| Se iniciaron<br>estudios<br>con<br>KMnO <sub>4</sub><br>como<br>agente<br>oxidante<br>partiendo<br>con 3 eq<br>como lo<br>reportado<br>por | 14 | <b>67</b> | 1 | 2eq DDQ                                                                               | t/a  | Ác. acético:<br>CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> | <b>67</b>                    |
|                                                                                                                                            | 15 | <b>67</b> | 2 | 2eq DDQ                                                                               | t/a  | Ác. acético:<br>CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> | <b>67, 69 y</b><br>mc        |
|                                                                                                                                            | 16 | <b>67</b> | 3 | 2eq DDQ                                                                               | t/a  | Ác. acético:<br>CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> | <b>69 y</b><br>mc            |
|                                                                                                                                            | 17 | <b>1</b>  | 4 | 1eq NBS<br>0.02eq BPO                                                                 | t/a  | CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>                 | <b>1</b>                     |
|                                                                                                                                            | 18 | <b>1</b>  | 4 | 1eq NBS<br>0.02eq BPO                                                                 | 60°C | CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>                 | <b>1</b>                     |
|                                                                                                                                            | 19 | <b>1</b>  | 4 | 2eq NBS<br>0.02eq BPO                                                                 | 60°C | CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>                 | <b>70,71 y 72</b><br>(6:7:2) |

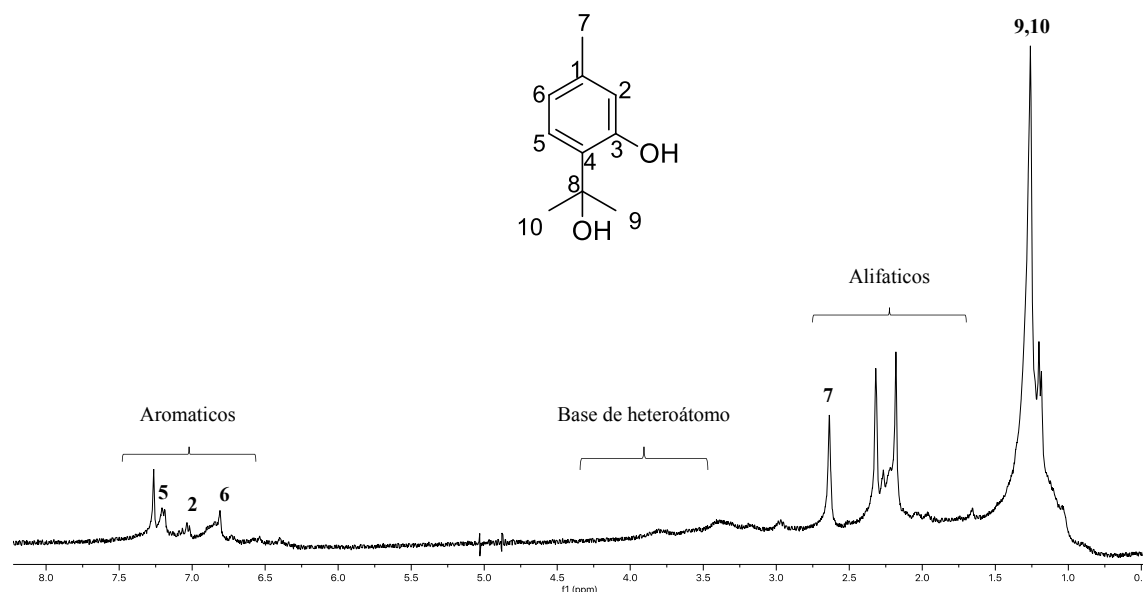
Liangwu y colaboradores para oxidaciones bencílicas en *p*-cimeno,<sup>53</sup> se procedió a realizar pruebas de oxidación en el timol (**1**), como se muestra en la tabla **1** (entrada 1). Pasado este tiempo la reacción se extrajo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> haciendo lavados con NaHCO<sub>3</sub> y agua, obteniendo 350 mg de una miel color marrón la cual fue analizada por RMN de <sup>1</sup>H dando como resultado un espectro que sugiere la presencia de una mezcla compleja de compuestos, puede observar entre 7.5-6.0 ppm señales de protones aromáticos, hidrógenos base de heteroátomo entre 5.0-4.5 ppm, hidrógeno base de isopropilo entre 3.5-3.0 ppm y grupos alifáticos entre 2.5-0.5 ppm (figura 12).



**Figura 12.-** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  a 400 MHz del crudo de reacción entrada 1, en  $\text{CDCl}_3$ .

Debido a estos resultados, se decidió hacer una modificación en el tiempo de reacción (entrada 2), mostrándose el espectro de RMN de  $^1\text{H}$  del crudo de la reacción igual a la anterior reacción. Con el fin de disminuir la cantidad de productos formados, se redujo a la mitad de los equivalentes del agente oxidante (entrada 3), se disminuyó la temperatura (entrada 4), y modificó la acidez del medio que potencializa al agente oxidante (entrada 5) y los disolventes que aumentaban la capacidad oxidativa del  $\text{KMnO}_4$  (entrada 6), no obstante, en ninguno de los casos se pudo observar cambios significativos en los resultados obtenidos de las reacciones. Finalmente al cambiar el disolvente que no potencializa la capacidad oxidativa del agente oxidante (entrada 7) se observa una notoria disminución de subproductos, como se aprecia en las señales de protones aromáticos entre 7.3-6.8 ppm y señales de protones alifáticos entre 2.7-2.1 ppm, además de ser notorias las señales características del compuesto 8-hidroxitimol (**50**) que resultó ser mayoritario y cuyos protones aromáticos se ubican entre 6.96-6.64 ppm, y las señales de  $\text{CH}_3$ -7,  $\text{CH}_3$ -9 y  $\text{CH}_3$ -

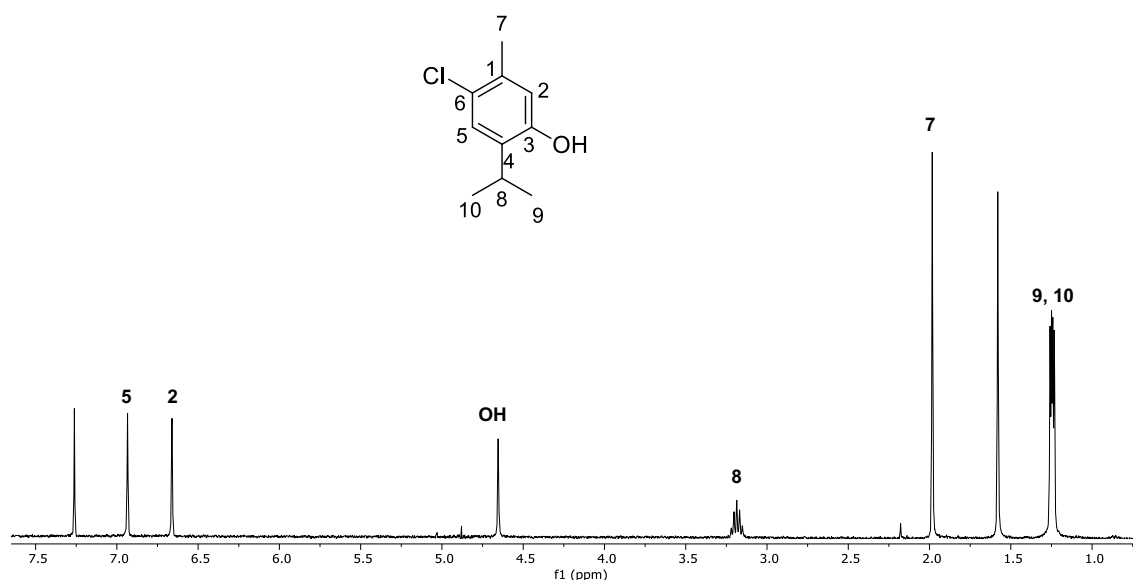
10 entre 2.28 y 1.66 ppm (figura 13).<sup>45</sup> Como es evidente, aun cambiando las condiciones de reacción sigue persistiendo una mezcla compleja, posiblemente la obtención de esta mezcla compleja sea debida a la reactividad del agente oxidante y aunque se puede inferir la presencia de **50** que puede ser utilizado como intermediario para la obtención de epoxitimoles, este no pudo ser purificado de la mezcla de compuestos, por esta razón se decidió bajar el poder oxidante del sistema.<sup>54</sup>



**Figura 13.-** Espectro de RMN de <sup>1</sup>H a 400 MHz del crudo de reacción de la entrada 7, en CDCl<sub>3</sub>.

Con la finalidad de disminuir el poder oxidante se decidió emplear CrO<sub>3</sub> y H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (entrada 8 y 9), haciendo reaccionar 1.5 g (10 mmol) de timol (**1**) usando como disolvente CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (entrada 8), la reacción fue monitoreada por medio de cromatografía en capa fina, observando que al transcurrir una hora de reacción la materia prima seguía sin cambio alguno, por lo que se modificó el tiempo de reacción (entrada 9) y se observó que al pasar dos horas, la materia de partida se había consumido y se procedió a llevar a cabo la extracción con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Se impregnó directamente en gel sílice sometiéndose a purificación mediante cromatografía en columna, obteniendo dos compuestos en forma de cristales de

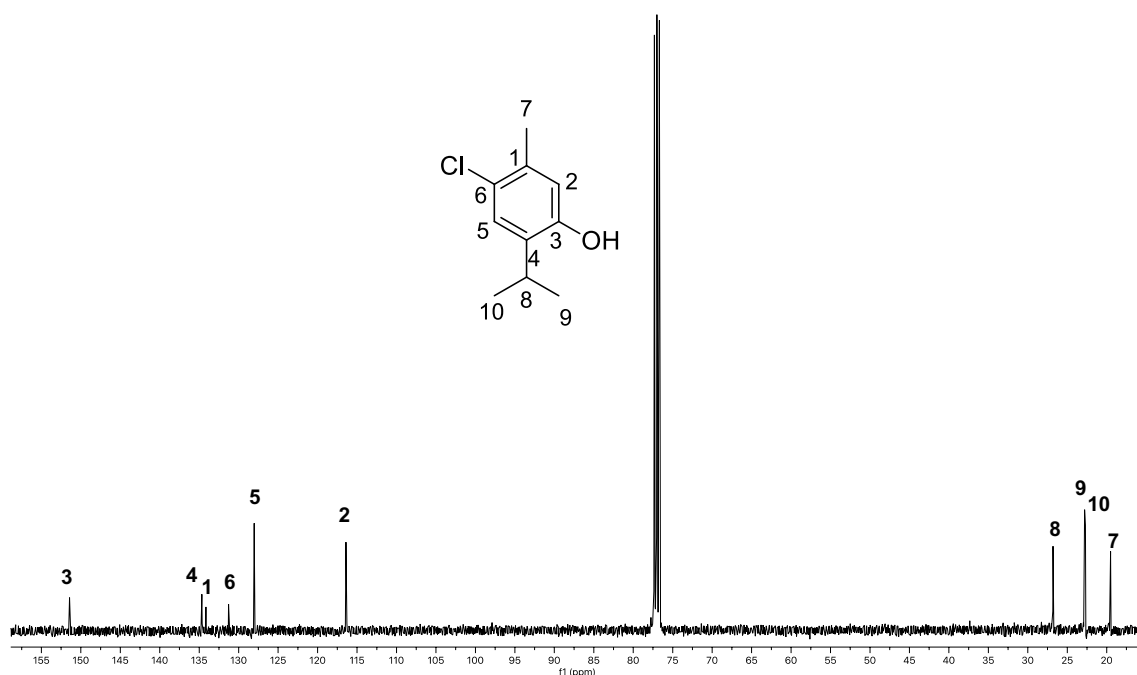
aguja, incoloros con un rendimiento del 25% cada uno. Fueron analizados por medio de RMN de  $^1\text{H}$  (figura 14) donde los desplazamientos del primer compuesto que fue obtenido (punto de fusión de 94-96 °C) en la fracción 15 con la polaridad 4:1 (hexanos-AcOEt ) mostraron dos señales simples en 6.93 ppm y 6.66 ppm asignadas al H-5 y H-2 del anillo aromático, en 4.65 ppm se observa una señal simple ancha asignada al protón de hidroxilo, en 3.19 ppm se tiene una señal séptuple con una  $J = 6.9$  Hz característica de un protón base de isopropilo asignándose a H-8, en 1.98 ppm se observa una señal simple correspondiente al metilo aromático  $\text{CH}_3$ -7 y en 1.25 ppm se observan dos señales dobles con una  $J = 6.9$  Hz correspondiente a los metilos del isopropilo  $\text{CH}_3$ -9 y  $\text{CH}_3$ -10.



**Figura 14.-** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  a 400 MHz del 6-clorotimol (**64**), en  $\text{CDCl}_3$ .

En el espectro de  $^{13}\text{C}$  de RMN (figura 15) se puede observar en 151.4 ppm la señal del carbono cuaternario base de oxígeno asignada a la posición C-3, en 134.6 y 134.1 ppm se localizan dos señales de los carbonos cuaternarios de las posiciones C-4 y C-1, respectivamente. En 131.2 ppm se encuentra la señal del carbono cuaternario base de heteroátomo en posición del C-6, en 128.0 y 116.4 ppm se observan las señales de los carbonos C-5 y C-2, respectivamente. En 26.8 ppm se observa la señal del carbono C-8 base de isopropilo, en 22.8 y 22.6 ppm se localizan las señales de los carbonos de metilo del isopropilo en posición C-9 y C-10, y en 19.5 ppm se observa la señal del carbono del

metilo en posición C-7. Estos desplazamientos coinciden con los datos del 6-clorotimol (**64**).<sup>55</sup>



**Figura 15.-** Espectro de RMN de <sup>13</sup>C a 100 MHz del 6-clorotimol (**64**), en CDCl<sub>3</sub>.

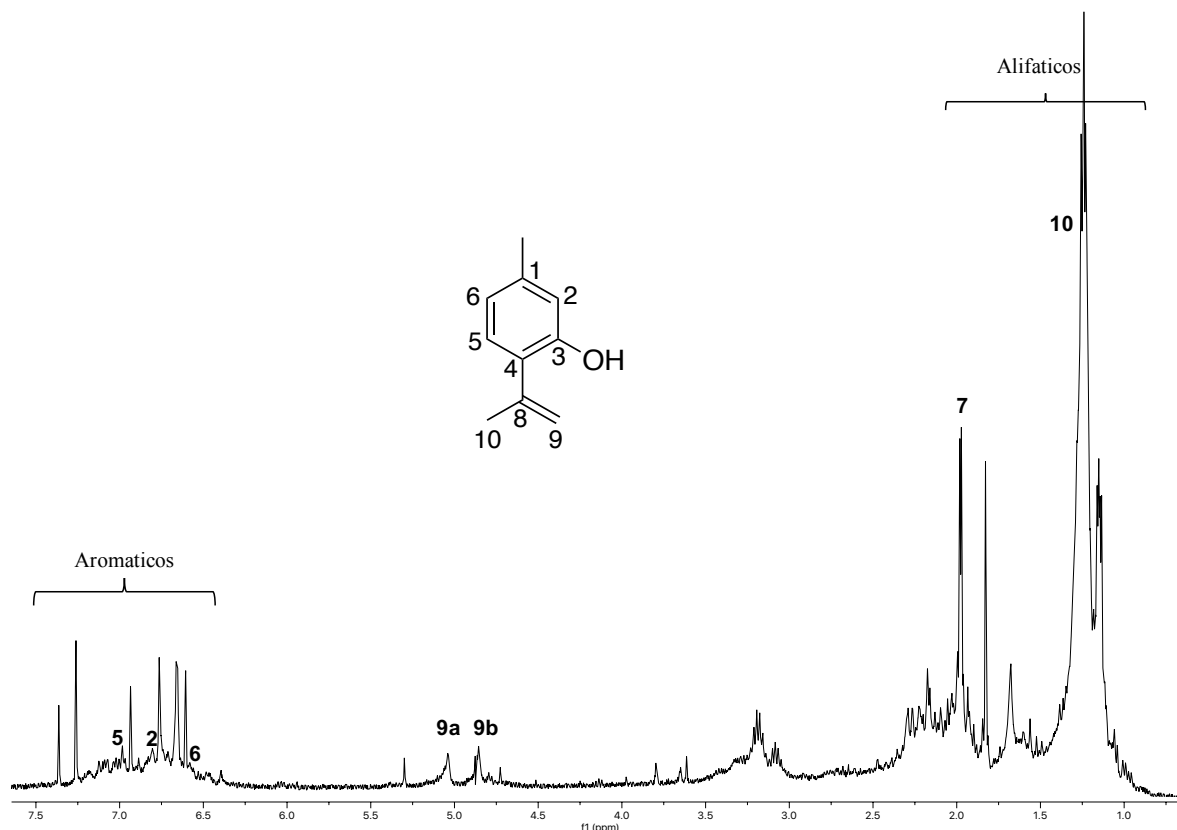
El segundo compuesto obtenido de la entrada 9 en las fracciones 3-7, con polaridad de 4:1 hexanos-AcOEt mostró datos de RMN de <sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C, iguales a la timohidroquinona (**49**). Como se aprecia estas condiciones fueron favorables para sustitución electrofílica aromática, posiblemente no se alcanzó la activación de la posición bencílica, ya que no se mostró indicios de que esta posición reaccionara, aun así, el compuesto obtenido **59** dihidroxilado aparece en sistemas de timoles epoxidados como los compuestos obtenidos de *Ageratina glabrata*<sup>25-27</sup> y *Ageratina cylindrica*.<sup>9</sup> De igual manera, ambos compuestos (**49** y **64**) muestran similitud con timoles naturales aislados de *Kaunia arbuscularis*,<sup>38</sup> *Mikania decora*<sup>24</sup> e *Inula crithmoides*.<sup>23</sup>

Con la intención de favorecer la oxidación bencílica se modificaron las condiciones de reacción, llevando a cabo una oxidación aeróbica utilizando H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (entrada 10) con flujo constante de O<sub>2</sub>,<sup>46</sup> se monitoreó por cromatografía en capa fina, al transcurrir 3h de la reacción no había materia prima y se decidió llevar a cabo la extracción con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> y agua, obteniendo 300 mg de una miel, color marrón, la cual se purificó mediante cromatografía

en columna, obteniendo compuestos en forma de miel y cristales, estos últimos fueron analizados por medio de RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ , los desplazamientos obtenidos coincidieron con los descritos anteriormente para el compuesto 6-clorotimol (**64**), cuyo rendimiento fue de 35%.

Los cristales obtenidos de la cromatografía de la entrada 10, en la fracción 10 con polaridad de 4:1 hexanos-AcOEt fueron analizadas por medio de RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ , mostrando señales cuyos desplazamientos fueron iguales a los descritos para la timohidroquinona (**49**), obtenida con un rendimiento del 15%.

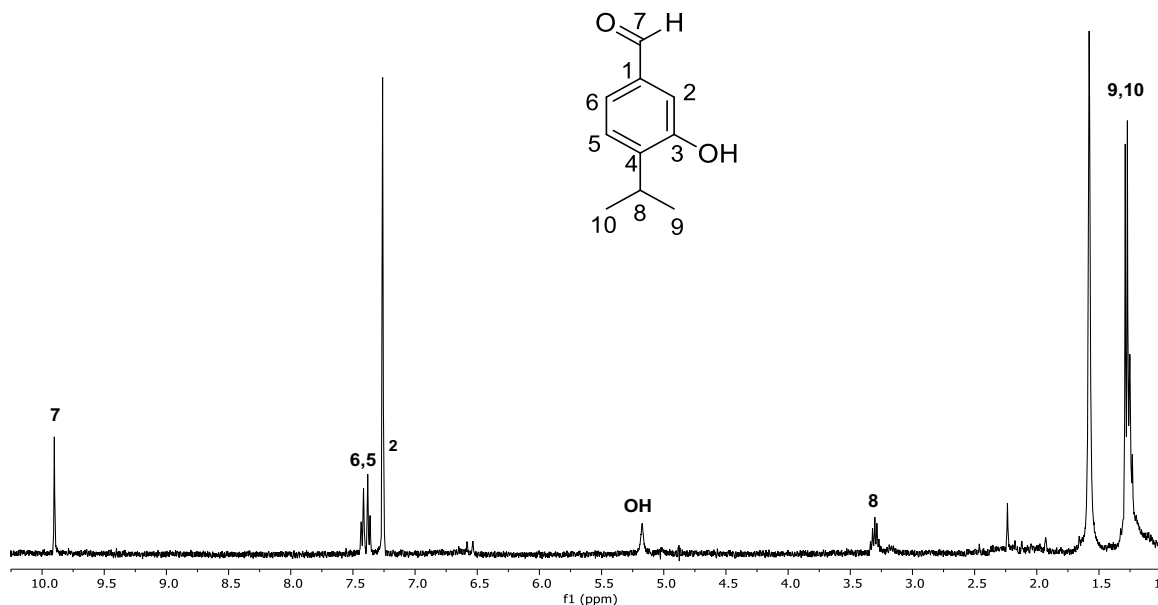
De las siguientes fracciones analizadas por RMN de  $^1\text{H}$  (figura 16) se observa que se mantiene el patrón de señales del sistema aromático, además de las señales quintuples típicas de protones vinílicos entre 5.04 y 4.85 ppm,<sup>26</sup> lo que sugiere la presencia del compuesto derivado de timol **65**, por lo que se recurrió a purificaciones por medio de cromatografía en columna, debido a la alta volatilidad y bajo rendimiento del compuesto imposibilitó su purificación. Este compuesto presenta una estructura química similar a los compuestos **26-34** obtenidos de fuentes naturales como *Mikania decora*,<sup>24</sup> *Ageratina aromatica*,<sup>36</sup> *Schkuhria multiflora*,<sup>37</sup> *Eupatorium fortunei*,<sup>34</sup> *Kaunia arbuscularis*<sup>38</sup> y *Doronicum pardalianches*.<sup>39</sup>



**Figura 16.-** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  a 400 MHz del compuesto **65** impuro, en  $\text{CDCl}_3$ .

Siguiendo con el análisis del resto de las fracciones de la cromatografía de la entrada 10, (fracción 17) con polaridad de 17:3 hexanos-AcOEt al ser analizada por RMN de  $^1\text{H}$  (figura 17) se observa una señal simple en 9.90 ppm la cual indica la presencia de un protón de aldehído la cual fue asignada para el H-7, en 7.42 y 7.37 ppm se encuentran dos señales dobles con una  $J = 8.0$  Hz cada una, por lo cual esta multiplicidad y constantes de acoplamiento indicando la presencia de dos protones aromáticos en posición orto y son asignadas para H-6 y H-5, respectivamente. En 7.26 ppm se aprecia una señal simple correspondiente a un protón aromático asignada a H-2, en 5.17 ppm se encuentra una señal simple ancha corresponde al OH, en 3.29 ppm aparece una señal séptuple con una  $J = 6.8$  Hz característica del protón base de isopropilo H-8. En 1.35 y 1.21 ppm se observan dos señales dobles con  $J = 6.8$  Hz correspondiente a los metilos del isopropilo  $\text{CH}_3$ -9 y  $\text{CH}_3$ -10, respectivamente. Debido a la naturaleza volátil de estos compuestos, su rendimiento fue bajo (5%), Los datos espectroscópicos sugirieron la obtención del 7-oxotimol (**66**).<sup>51</sup> Este

compuesto guarda una estrecha relación estructural con los timoles **14-16** obtenidos de *Ageratina cylindrica*,<sup>9</sup> *Ageratina mairetiana*<sup>28</sup> y *Piptothrix areolare*.<sup>29</sup>

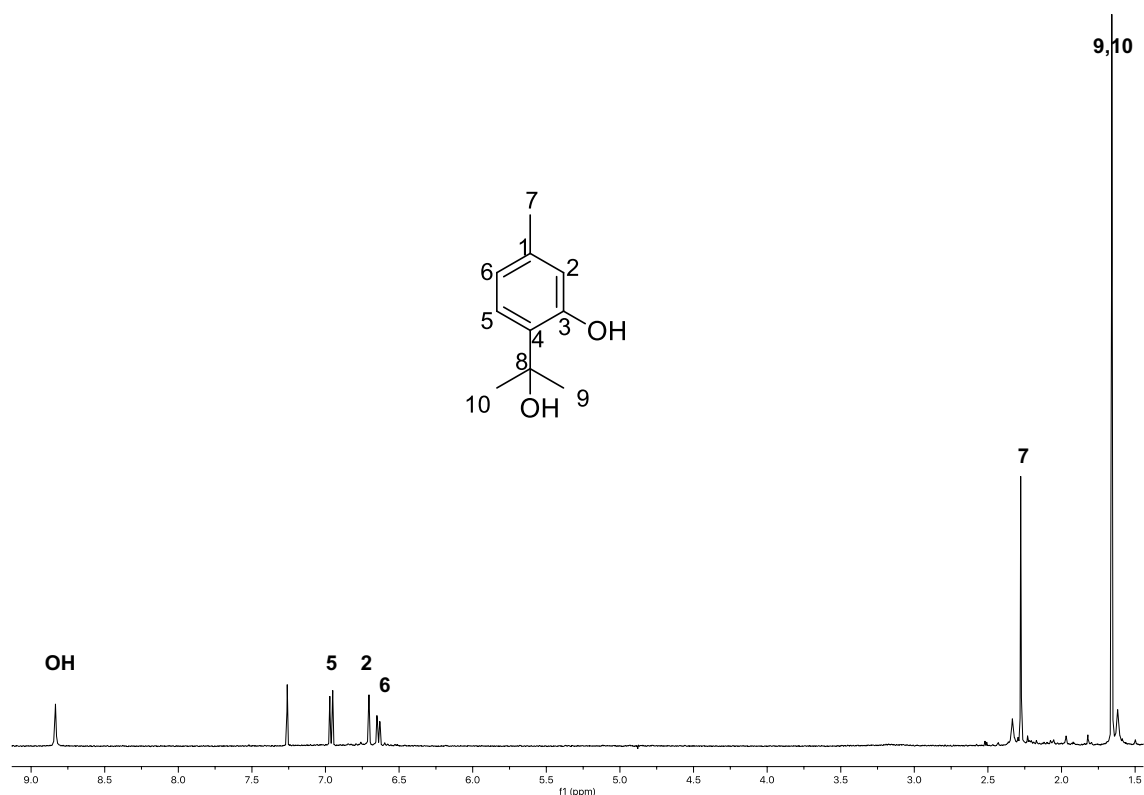


**Figura 17.-** Espectro de RMN de <sup>1</sup>H a 400 MHz del 7-oxotimol (**66**), en CDCl<sub>3</sub>.

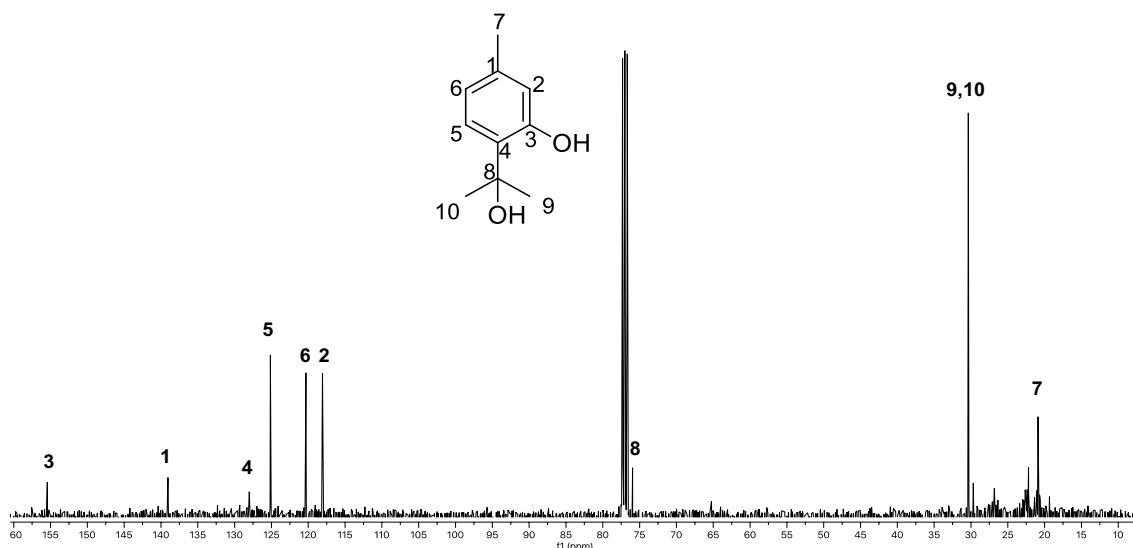
Continuando con las fracciones de cromatografía de la entrada 10, en la fracción 19 de la polaridad de 4:1 hexanos-AcOEt al ser analizada por medio de RMN de <sup>1</sup>H (figura 18) se observa la señal simple ancha del OH en 8.81 ppm, en 6.96 ppm se encuentra una señal doble con  $J = 7.8$  Hz asignada al H-5, en 6.71 ppm se observa una señal simple correspondiente al H-2 y en 6.64 ppm se encuentra una señal doble con  $J = 7.8$  Hz, la cual corresponde al H-6. Estas señales son características de un anillo trisustituido del timol, indicando que la oxidación ocurrió en posición bencílica, además se puede observar un cambio en el desplazamiento y multiplicidad de la señal de los metilos CH<sub>3</sub>-9 y CH<sub>3</sub>-10 que se observan como señales simples en 1.66 ppm.

En el espectro de <sup>13</sup>C de RMN (figura 19) se puede observar en 155.4 ppm la señal del carbono cuaternario base de oxígeno C-3, en 139.0 y 128.0 ppm se localizan dos señales de los carbonos cuaternarios en posición C-1 y C-4, respectivamente. En 125.1 ppm se encuentra la señal correspondiente al C-5, en 120.3 y 118.1 ppm se observan las señales de los carbonos C-6 y C-2, respectivamente. En 76.0 ppm se observa la señal del C-8 ahora

base de OH, en 30.4 ppm se localizan la señal de los carbonos de metilo del isopropilo C-9 y C-10, y en 20.9 ppm se observa la señal del carbono del metilo C-7. Los datos espectroscópicos de RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  fueron comparados con la literatura coincidiendo con el 8-hidroxitimol (**50**),<sup>41</sup> al igual que el anterior tiene alta volatilidad afectando su aislamiento con un rendimiento de 5%. Este compuesto presenta una relación estructural con compuestos aislados de *Vieraea laevigata*,<sup>30</sup> *Colea nelsonii*,<sup>31,32</sup> *Inula wissmanniana*,<sup>33</sup> *Eupatorium fortunei*.<sup>34</sup> En estas especies además de contener 8-hidroxitimol (**50**) también contiene derivados de epoxitimol.<sup>30-34</sup> Por lo que puede sugerirse como uno de los precursores claves para la biosíntesis de epoxitimoles.

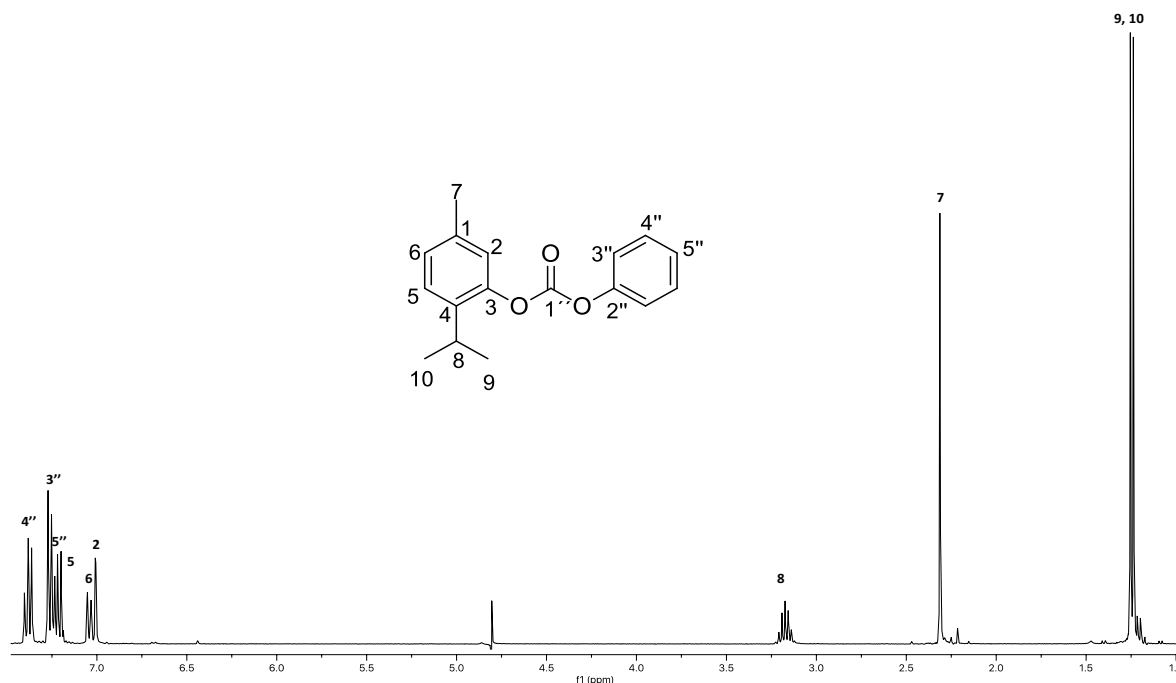


**Figura 18.-** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  a 400 MHz del 8-hidroxitimol (**50**), en  $\text{CDCl}_3$ .



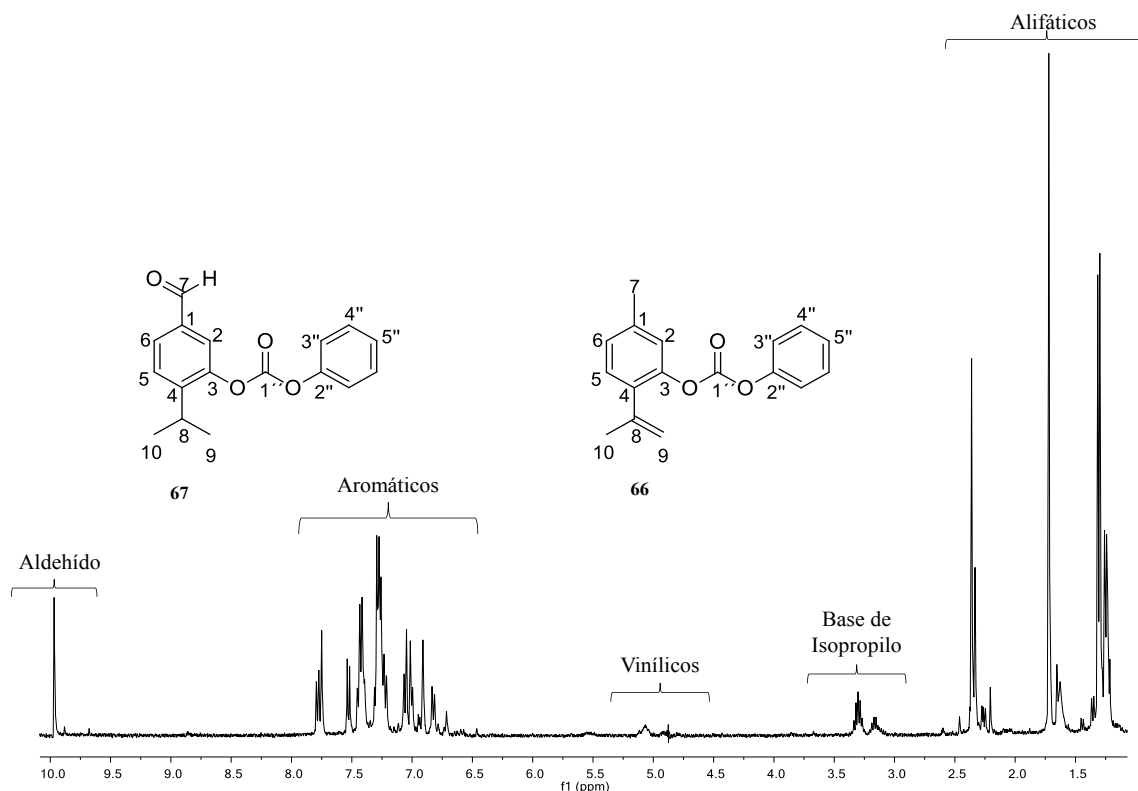
**Figura 19.-** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  a 100 MHz del 8-hidroxitimol (**50**), en  $\text{CDCl}_3$ .

Debido a que no pudo ser aislado de la mezcla de productos el compuesto **65** por el bajo rendimiento y alta volatilidad que presentó, se decidió preparar un derivado con mayor peso molecular y evitar su volatilidad. Se preparó al derivado carbonatado **67** (entrada 11). En su espectro de RMN de  $^1\text{H}$  aparecen las señales de protones aromáticos entre 7.40 y 7.22 ppm y se asignan al benceno del carbonato de fenilo, y en entre 7.21 a 7.00 ppm se muestran las señales características de los protones aromáticos del timol H5, H6 y H-2 (figura 20). Esta reacción se llevó a cabo con un 95% de rendimiento.



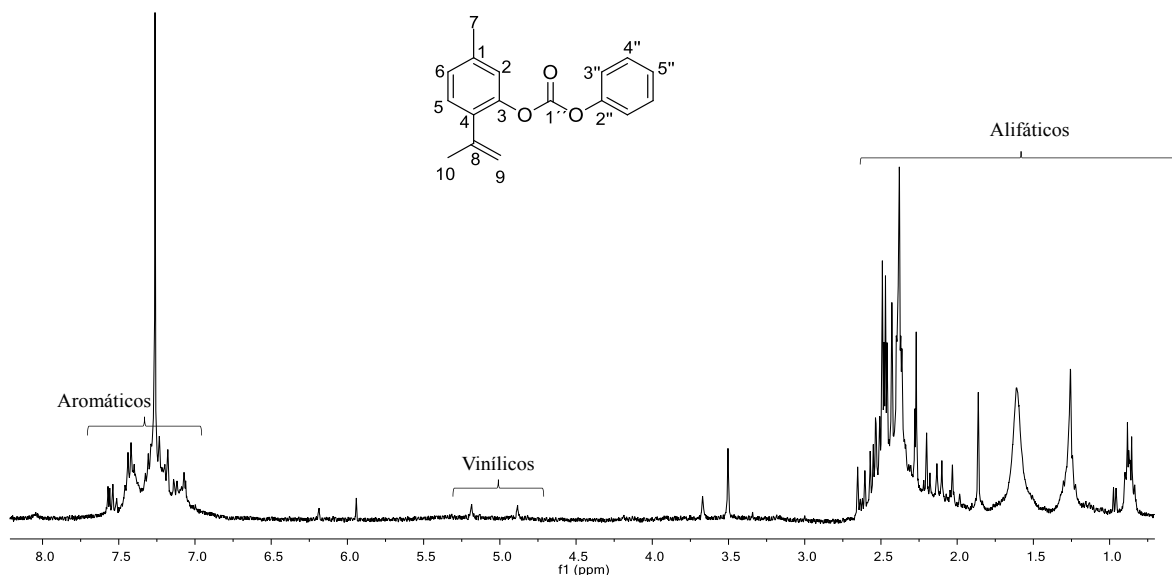
**Figura 20.-** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  a 400 MHz del derivado carbonatado **67**, en  $\text{CDCl}_3$ .

Una vez obtenido el derivado **67**, se procedió a replicar las condiciones de reacción favorables para la oxidación bencílica con  $\text{H}_2\text{O}_2$  y flujo de  $\text{O}_2$  (entrada 12), el crudo de reacción se analizó por RMN de  $^1\text{H}$  en donde apenas había indicios de las señales esperadas para los compuestos oxidados de interés, por lo que se optó por aumentar el tiempo de la reacción (entrada 13). El análisis del espectro de RMN de  $^1\text{H}$  del crudo de reacción muestra una señal en 9.97 ppm, la cual indica la presencia de un grupo aldehído, además de señales de protones aromáticos entre 7.79 a 6.71 ppm las cuales corresponden a los anillos aromáticos. En 5.06 a 4.91 ppm aparecen señales pertenecientes a protones vinílicos,<sup>34</sup> también puede observarse que en 3.30 y 3.17 ppm hay señales pertenecientes a protones base de isopropilo (figura 21).



**Figura 21.-** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  a 400 MHz del crudo de reacción de la entrada 13, en  $\text{CDCl}_3$ .

Con la finalidad de favorecer la oxidación bencílica de **67** se decidió utilizar DDQ como agente oxidante de alta selectividad en posiciones bencílicas<sup>56</sup> además de que este oxidante se puede manipular su grado de oxidación por medio los disolventes hasta formar alquenos.<sup>54</sup> Se procedió a utilizarlo en la reacción con el derivado **67** (entrada 14 a 16) con modificaciones en el tiempo que nos pudiera favorecer en la obtención del compuesto **69**. Al analizar el crudo de reacción de la entrada 16 en su espectro de RMN de  $^1\text{H}$  se pudo observar las señales de protones vinílicos en 5.19 y 4.88 ppm que se relacionan con la presencia del compuesto **69**, además de encontrarse entre 7.57 a 7.06 ppm las señales de los protones aromáticos y entre 2.25 a 0.88 ppm las señales de compuestos alifáticos (figura 22). Este sistema vinílico tiene una estrecha relación con derivados de timol aislados de *Mikania decora*,<sup>24</sup> *Eupatorium fortunei*,<sup>34</sup> *Ageratina aromatica*,<sup>36</sup> *Schkuhria multiflora*,<sup>37</sup> *Kaunia arbuscularis*<sup>38</sup> y *Doronicum pardalianches*.<sup>39</sup>

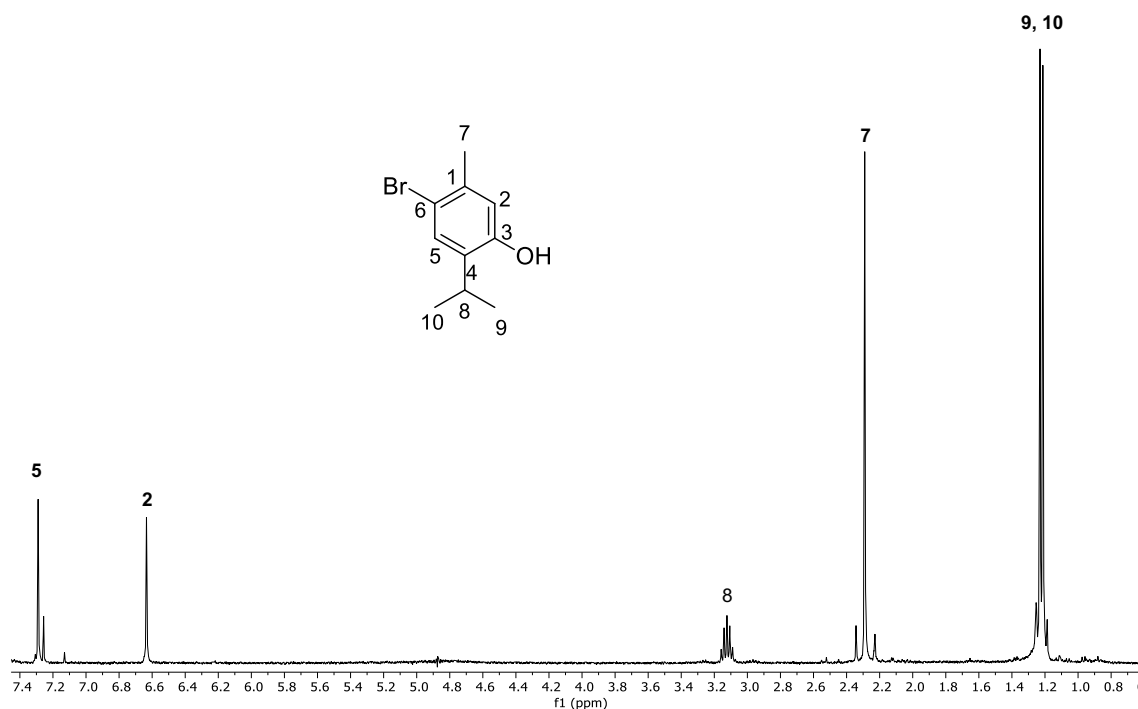


**Figura 22.-** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  a 400 MHz del crudo de reacción entrada 16, en  $\text{CDCl}_3$ .

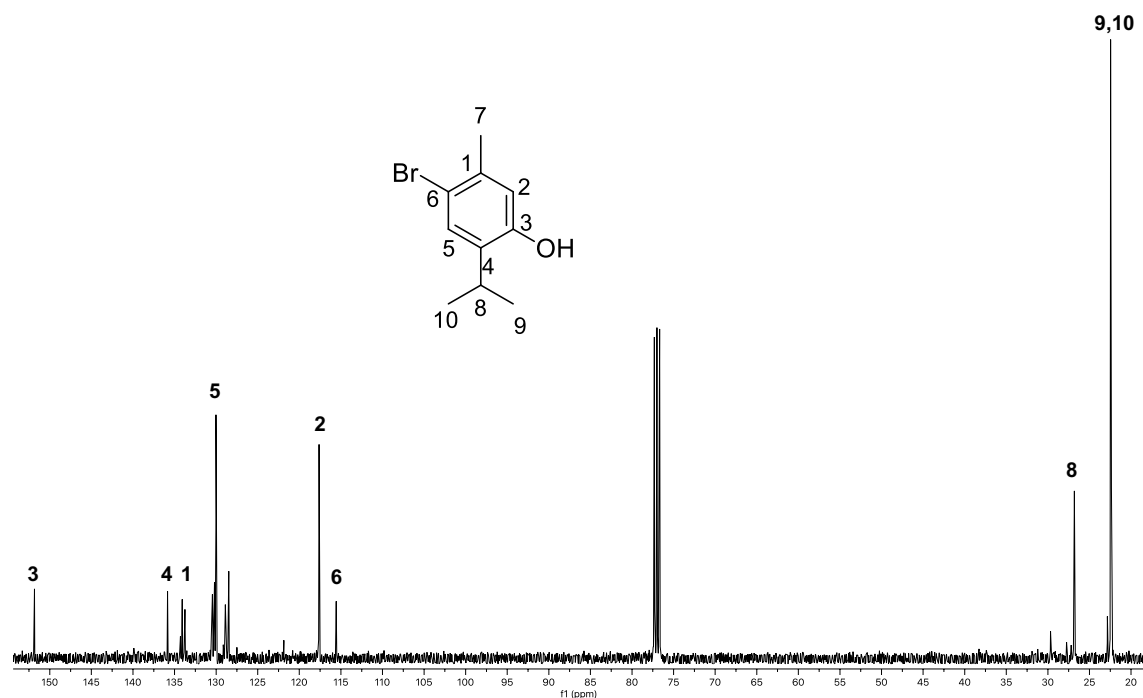
Con la finalidad de implementar una estrategia alternativa para la obtención de intermediarios de timol claves para la formación de epoxitimoles, se decidió llevar esfuerzos de halogenación bencílica, siguiendo las condiciones de reacción reportadas por Yanqin shi y colaboradores en 2021<sup>49</sup> utilizando NBS como agente halogenante y peróxido de benzoilo (BPO) como catalizador de la reacción (entrada 17-19). El monitoreo de la reacción (entrada 17) fue por medio de cromatografía en capa fina, se pudo observar que no había cambio de la materia de partida, optando por aumentar la energía de la reacción por medio de la temperatura (entrada 18) siguió sin mostrar cambios evidentes, así que se aumentaron los equivalentes del agente halogenante (entrada 19), teniendo como resultado una miel color marrón, la cual fue sometida a columna cromatográfica. Las fracciones fueron analizadas por medio de RMN de  $^1\text{H}$  (figura 23) mostrando cambios significativos principalmente en la región de protones aromáticos. El espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de la fracción 22 de la polaridad 4:1 hexanos-AcOEt aparece una señal simple en 7.29 ppm la cual indica la presencia de un protón aromático asignada para el H-5, al igual que en 6.63 ppm hay una señal simple que fue asignada al H-2, en 3.12 ppm se observa una señal séptuple con  $J = 6.9$  Hz característica del H-8 base de isopropilo, por otra parte en 2.29

ppm se observa una señal simple que corresponde al CH<sub>3</sub>-7 y en 1.22 ppm se observa una señal doble con una  $J = 6.9$  Hz que integra para seis hidrógenos correspondientes a los metilos de isopropilo CH<sub>3</sub>-9 y CH<sub>3</sub>-10.

En el espectro de RMN de <sup>13</sup>C, se observan diez señales correspondientes al esqueleto de monoterpeno; en donde se observa en 161.8 ppm una señal correspondiente al carbono cuaternario base de oxígeno en la posición C-3, en 136.8 y 134.0 ppm se tiene dos señales correspondientes a los carbonos cuaternarios en la posición C-4 y C-1, respectivamente. En 130.0 y 117.6 ppm se localizan las señales de los carbonos C-5 y C-2, en 115.5 ppm se encuentra la señal del carbono cuaternario base de halógeno C-6, en 26.8 ppm se observa la señal del carbono base de isopropilo C-8, en 22.4 ppm se localiza la señal para los carbonos pertenecientes a los metilos de isopropilo C-9 y C-10, y en 22.3 se observa la señal que corresponde al carbono de metilo de la posición C-7 (figura 24). Estas señales fueron comparadas con la literatura<sup>49</sup> por lo que se determinó la presencia del 6-bromotimol (**70**).



**Figura 23.-** Espectro de RMN de <sup>1</sup>H a 400 MHz del 6-bromotimol (**70**), en CDCl<sub>3</sub>.

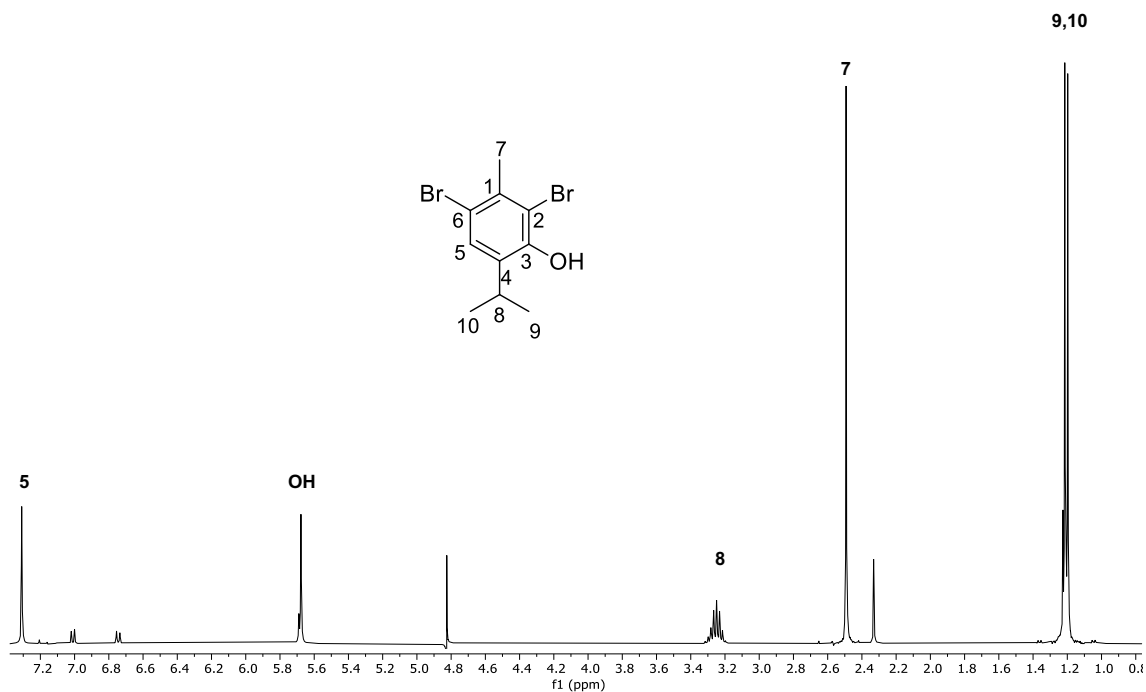


**Figura 24.-** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  a 100 MHz del 6-bromotimol (**70**), en  $\text{CDCl}_3$ .

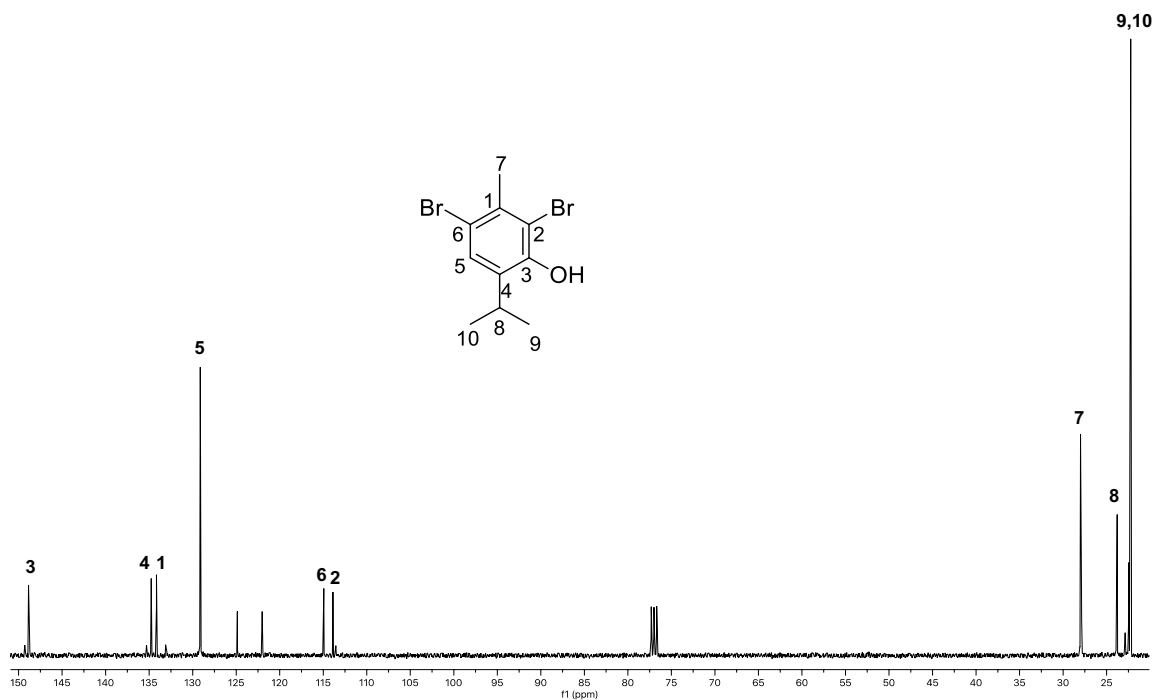
La miel amarilla de la fracción 12 obtenida en la polaridad de 4:1 hexanos-AcOEt de la cromatografía de la entrada 19 fue analizada por de RMN de  $^1\text{H}$  (figura 25) donde se puede observar una señal simple en 7.31 ppm la cual corresponde al H-5 del anillo aromático, en 5.67 ppm se observa una señal simple ancha que es asignada al OH, en 3.25 ppm aparece una señal séptuple  $J = 6.9$  Hz, la cual es característica del H-8 base de isopropilo, en 2.33 ppm se tiene una señal simple que corresponde al  $\text{CH}_3$ -7 y en 1.21 ppm se observa una señal doble con una  $J = 6.9$  Hz que integra para seis protones correspondiente a los metilos de isopropilo  $\text{CH}_3$ -9 y  $\text{CH}_3$ -10.

En el espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$ , se aprecian diez señales figura 26 en donde se observa en 148.8 ppm una señal corresponde a carbono cuaternario base de oxígeno asignado a la posición C-3, en 134.7 y 134.1 ppm se observan las señales para los carbonos cuaternarios C-4 y C-1, respectivamente, en 129.1 ppm se encuentra la señal del carbono C-5, en 114.9 y 113.8 ppm se localizan las señales de los carbonos cuaternarios base de heteroátomo C-6 y C-2, respectivamente, en 27.9 ppm se observa la señal para el carbono

de metilo C-7, en 23.7 ppm se localiza la señal para el carbono base de isopropilo C-8, en 22.4 ppm se localiza un traslape de señales para los carbonos pertenecientes a los C-9 y C-10. Estos datos fueron iguales a los reportados para el 2,6-dibromotimol (71).<sup>57</sup>

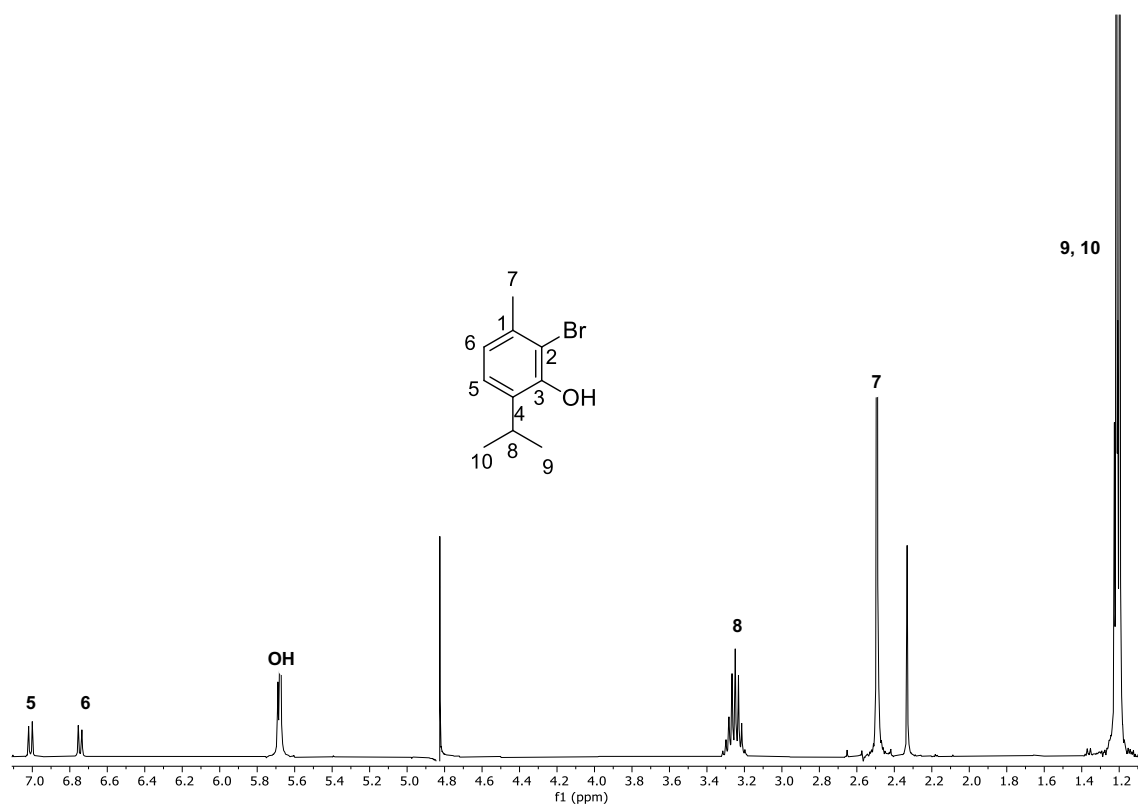


**Figura 25.-** Espectro de RMN de <sup>1</sup>H a 400 MHz del 2,6-dibromotimol (71), en CDCl<sub>3</sub>.



**Figura 26.-** Espectro de RMN de <sup>13</sup>C a 100 MHz del 2,6-dibromotimol (71), en CDCl<sub>3</sub>.

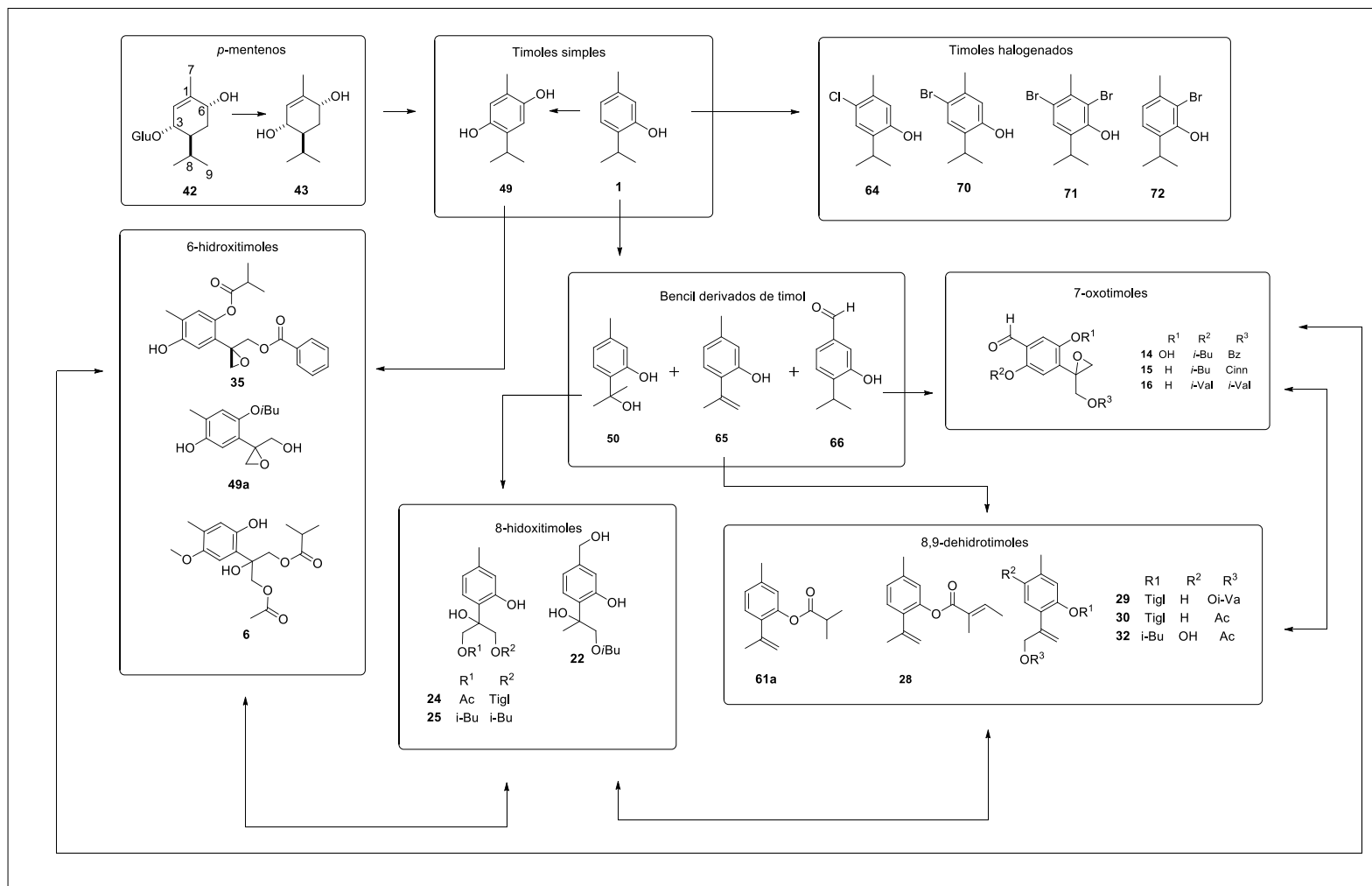
El tercer compuesto obtenido de la cromatografía del crudo de reacción de la entrada 19, presentó un aspecto viscoso amarillo que al ser analizada por RMN de  $^1\text{H}$  (figura 27) se pudo observar en 7.02 ppm y en 6.76 ppm dos señales dobles con  $J = 7.8$  Hz cada una, que fueron asignadas para los protones aromáticos H-5 y H-6 la constante de acoplamiento y la multiplicidad indica la presencia de dos hidrógenos vecinos en el anillo aromático del timol, en 5.68 ppm se tiene una señal simple ancha característica del grupo hidroxilo del anillo aromático, en 3.22 ppm se encuentra una señal séptuple con  $J = 6.9$  Hz correspondiente al H-8 base de isopropilo, en 2.31 ppm se observa una señal simple correspondiente al  $\text{CH}_3$ -7 y en 1.27 ppm se observa una señal doble con  $J = 6.9$  Hz correspondientes a los metilos del isopropilo en la posición C-9 y C-10. Las señales obtenidas sugieren la presencia de 2-bromotimol (**72**), que al compararse los datos espectroscópicos fueron iguales con la literatura.<sup>57</sup>



**Figura 27.-** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  a 400 MHz del 2-bromotimol (**72**), en  $\text{CDCl}_3$ .

Con base en los datos experimentales y la literatura se puede proponer una correlación biomimética entre *p*-mentenos y epoxitimoles por intermediarios de timol (**49**, **50**, **65** y **66**) como se muestra en el esquema 9. Por ejemplo, a partir de la reacción de oxidación de los compuestos **1** y **43** fue obtenido el compuesto **49**, el cual se correlaciona con los derivados del 6-hidroxitimol, descritos en algunas especies de *Ageratina*.<sup>11,26</sup> Por su parte, el derivado **50**, que procede de la oxidación bencílica de timol (**1**) se puede relacionar con los 8-hidroxitimoles obtenidos de *Calea nelsonii*,<sup>31,32</sup> *Eupatorium fortunei*<sup>34</sup> e *Inula wissmanniana*.<sup>33</sup> El derivado 8,9-dehidrotimol (**65**) puede tener conexiones biosintéticas con derivados análogos funcionalizados en C-3 y C-6, así como con compuestos oxidados en C-10. Adicionalmente, el compuesto **66** tiene una relación directa con 7-oxotimoles altamente funcionalizados, como los obtenidos de *Ageratina cylindrica*,<sup>9</sup> *A. mairetiana*<sup>28</sup> y *Piptothrix areolare*.<sup>29</sup>

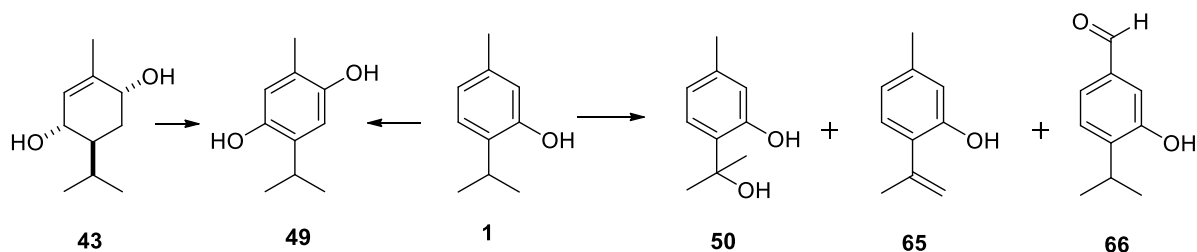
De acuerdo a la reactividad química de los grupos funcionales incorporados experimentalmente al esqueleto de timol (**1**), también puede sugerirse la posible correlación de 7-oxotimoles con 6-hidroxitimoles y 8,9-dehidrotimoles. De igual manera los 8,9-dehidrotimoles pueden tener una estrecha relación química con los derivados del 8-hidroxitimol. Finalmente, este último bloque podría correlacionarse con los respectivos derivados deshidratados que dan paso a la serie 8,9-dehidrotimol, como se observa en el esquema 9.



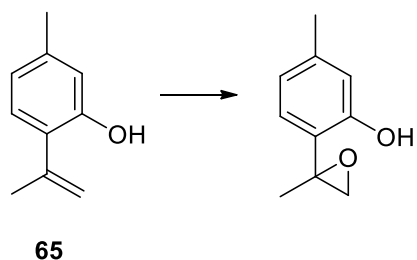
**Esquema 9.-** Correlación estructural de derivados oxidados de timol (1) y compuestos aislados de especies vegetales.

## CONCLUSIÓN

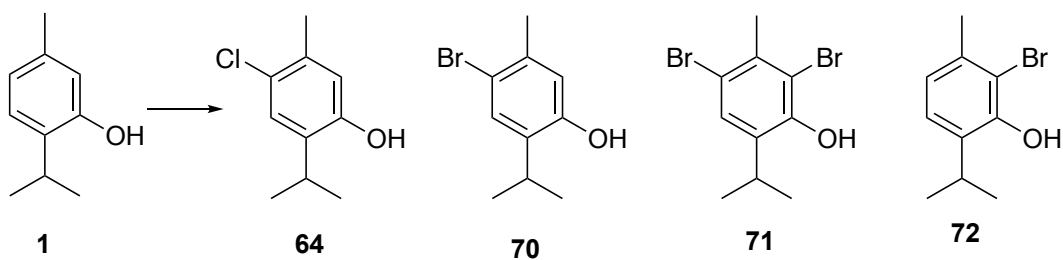
A partir del estudio de la reactividad del *p*-menteno **43**, obtenido de la hidrólisis ácida del extracto metanólico de *Ageratina glabrata*, se pudo obtener el compuesto aromático **49** que es un derivado de timol, que a su vez permite correlacionar timoles funcionalizados en posición bencílica (**50**, **65** y **66**) los cuales tienen estrecha relación química con epoxitimoles obtenidos de fuentes naturales.



En particular, el compuesto **65** está relacionado estrechamente con los epoxitimoles, ya que es un intermediario clave que al sufrir la epoxidación bencílica generaría el respectivo anillo de oxirano. Lo anterior sugiere a este compuesto como un eslabón clave para la correlación entre *p*-mentenos glucosilados y timoles altamente funcionalizados.



Adicionalmente fue posible obtener derivados halogenados de timol (**64**, **70-72**), que revelaron la reactividad del anillo aromático.



## PARTE EXPERIMENTAL

### Material Vegetal

La especie vegetal *Ageratina glabrata* fue colectada en agosto del 2020 a orilla de la carretera del km 4 de la carretera federal No. 200, Pátzcuaro-Opopeo, la cual fue secada a la sombra por un periodo de una semana.

### Obtención de extractos

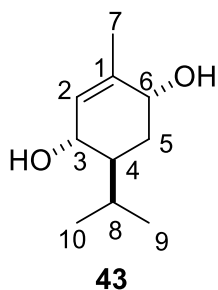
Las hojas, flores y tallos de *A. glabrata* se maceraron en metanol a temperatura ambiente durante tres días, se concentró en un rotavapor, este proceso se llevó a cabo tres veces, del cual se obtuvo el extracto total.

### Hidrólisis ácida

Un lote de 10 g de extracto metanólico se disolvió en 100 mL de agua, después se realizaron particiones líquido-líquido con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  ( $3 \times 100$  mL). La fase acuosa fue colocada en un matraz Erlenmeyer de 200 mL, adicionando lentamente una disolución de ácido clorhídrico al 2% (4 mL) se dejó en agitación durante 2 h a temperatura ambiente; posteriormente, se realizó una extracción con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  ( $3 \times 100$  mL), la fase orgánica se secó y filtró sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro y concentró en rotavapor. Con este proceso se obtuvo 250 mg una miel color marrón.

### Obtención de la materia de partida (52)

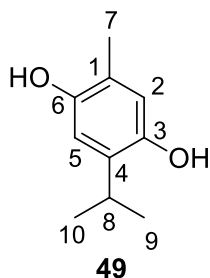
En una columna de 2 cm de diámetro empacada con gel de sílice, se colocaron 1.5 g de miel obtenida por la hidrólisis ácida, y fue eluída con mezclas de hexanos-AcOEt en orden de polaridad ascendente, colectando fracciones de 10 mL. En la polaridad de 3:2 hexanos-AcOEt se obtuvieron 300 mg de cristales con punto de fusión de 166-168 °C, que correspondieron al monoterpeno tipo *p*-menteno (**43**).<sup>11</sup>



RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  5.44 (1H, sa, H-2), 3.89 (1H, ta,  $J = 4.1$  Hz, H-6), 3.82 (1H, da,  $J = 9.2$  Hz, H-3), 2.09 (1H, dsept,  $J = 6.8$ , 2.8 Hz, H-8), 1.74 (3H, sa,  $\text{CH}_3$ -7), 1.69 (1H, ddd,  $J = 13.5$ , 2.8, 2.8 Hz, H-5 $\alpha$ ), 1.56 (1H, dddd,  $J = 13.1$ , 9.2, 2.8, 2.8 Hz, H-4), 1.36 (1H, ddd,  $J = 13.5$ , 13.1, 4.1 Hz, H-5 $\beta$ ), 0.95 (1H, d,  $J = 6.8$  Hz,  $\text{CH}_3$ -9), 0.80 (1H, d,  $J = 6.8$  Hz,  $\text{CH}_3$ -10).

### Preparación del compuesto 49

A una suspensión de 256 mg de clorocromato de piridino (PCC) en 3 mL  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  se le agregó 100 mg de 3,6-dihidroxi-1-menteno (**43**) disueltos en 0.5 mL de AcOEt. La mezcla se dejó reaccionar por 40 min con agitación constante a temperatura ambiente. El crudo de reacción se impregnó directamente en gel sílice y se sometió a purificación mediante cromatografía en columna, se utilizó como fase móvil una mezcla de hexanos-AcOEt.



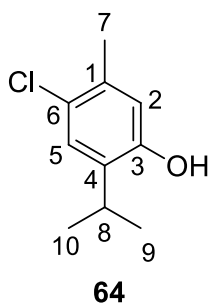
Obtenido en las fracciones 12-28 con polaridad 4:1 hexanos: AcOEt, el compuesto timohidroquinona (**49**) en forma de cristales incoloros, con un punto de fusión de 125-127 °C.<sup>51</sup>

RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm 6.63 (1H, s, H-3), 6.54 (1H, s, H-6), 3.13 (1H, sept,  $J = 6.8$  Hz, H-8), 2.17 (3H, s,  $\text{CH}_3$ -7), 1.21 (6H, d,  $J = 6.8$  Hz,  $\text{CH}_3$ -9 y  $\text{CH}_3$ -10).

RMN de  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm 147.6 (C, C-6), 146.2 (C, C-3), 133.0 (C, C-1), 121.5 (C, C-4), 117.6 (CH, C-2), 112.9 (CH, C-5), 26.8 (CH, C-8), 22.6 ( $\text{CH}_3$ , C-9,  $\text{CH}_3$ , C-10), 15.3 ( $\text{CH}_3$ , C-7).

### Oxidación de timol (**1**) con $\text{CrO}_3$

A una solución de 500 mg (3.32 mmol) de timol (**1**) en 5 mL de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  y  $\text{CrO}_3$  hidratado en 0.1 mL de  $\text{H}_2\text{O}$ , se le agregó 1 mL de  $\text{H}_2\text{O}_2$ , la mezcla se dejó reaccionar por 2h a temperatura ambiente. Transcurrido el tiempo de reacción el crudo de reacción se impregnó directamente en gel sílice y se sometió a purificación mediante cromatografía en columna, se utilizó como fase móvil una mezcla de hexanos-AcOEt con polaridad ascendente.



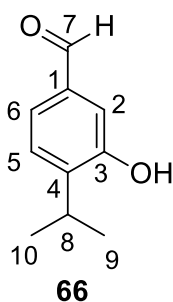
Se obtuvo el compuesto 6-clorotimol (**64**) en forma de cristales incoloros con un rendimiento de 25%. Su punto de fusión fue de 94 - 96 °C.

Su espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm 6.93 (1H, s, H-5), 6.66 (1H, s, H-2), 4.65 (1H, s, OH-3), 3.19 (1H, sept,  $J = 6.9$  Hz, H-8), 1.98 (3H, s,  $\text{CH}_3$ -7), 1.25 (6H, d,  $J = 6.9$  Hz,  $\text{CH}_3$ -9 y  $\text{CH}_3$ -10).

RMN de  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm 151.4 (C, C-3), 134.6 (C, C-4), 134.1 (C, C-1), 131.2 (C, C-6), 128.0 (CH, C-5), 116.4 (CH, C-2), 26.8 (CH, C-8), 22.8 ( $\text{CH}_3$ , C-9), 22.6 ( $\text{CH}_3$ , C-10), 19.5 ( $\text{CH}_3$ , C-7).

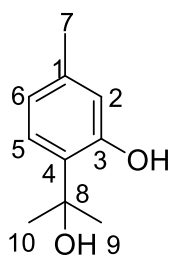
### Oxidación aeróbica de timol (**1**) con $\text{O}_2$ y $\text{H}_2\text{O}_2$

A una solución de 500 mg (3.32 mmol) de timol (**1**) en 5 mL de  $\text{CH}_3\text{CN}$  se le agregó 1 mL (10 mol) de  $\text{H}_2\text{O}_2$  al mismo tiempo y usando como catalizador 5 mg (0.01) de  $\text{FeCl}_3$ , se hace pasar un flujo  $\text{O}_2$  en la reacción, llevándose a reflujo. Trascurrido el tiempo de reacción fue extraída con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  realizando lavados con agua, la miel obtenida se impregnó directamente en gel sílice y se sometió a purificación mediante cromatografía en columna, se utilizó como fase móvil una mezcla de hexanos-AcOEt con polaridad ascendente.



El compuesto 3-hidroxi-4-isopropilbenzaldehído (**66**) se obtuvo en forma de miel color amarillo, con un rendimiento de 5%, el RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm 9.90 (1H, s, H-7), 7.42 (1H, d,  $J = 8.0$  Hz, H-6), 7.37 (1H, d,  $J = 8.0$  Hz, H-5), 7.26 (1H, s, H-2), 5.17 (1H, s, OH-3), 3.29 (1H, sept,  $J = 6.8$  Hz, H-8), 1.35 (3H, d,  $J = 6.8$  Hz,  $\text{CH}_3$ -9) y 1.21 (3H una, d,  $J = 6.8$  Hz,  $\text{CH}_3$ -10).

El compuesto 8-hidroxitimol (**50**) fue obtenido en forma de miel color amarillo, con un rendimiento de 5%.

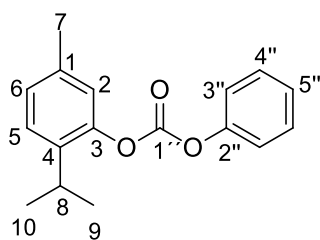


RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm 8.81 (1H, s, OH-3), 6.96 (1H, d,  $J = 7.8$  Hz, H-5), 6.71 (1H, s, H-2), 6.64 (1H, d,  $J = 7.8$  Hz, H-6), 2.28 (3H, s,  $\text{CH}_3$ -7), 1.66 (6H, s,  $\text{CH}_3$ -9,  $\text{CH}_3$ -10).

RMN de  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm 155.4 (C, C-3), 139.0 (C, C-1), 128.0 (C, C-4), 125.1 (CH, C-5), 120.3 (CH, C-6), 118.1 (CH, C-2), 76.0 (C, C-8), 30.4 ( $\text{CH}_3$ , C-9,  $\text{CH}_3$ , C-10), 20.9 ( $\text{CH}_3$ , C-7).

### Carbonatación del timol (1)

A una solución de 500 mg (3.32 mmol) de timol (1) en 1 mL de piridina, con agitación constante, se agregó 3.3 eq (1mL) de cloroformiato de fenilo formándose un sólido blanco, al que se le adicionó  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  hasta disolver. Se dejó reaccionar por un periodo de 24h. Transcurrido el tiempo de reacción se extrajo con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , y se hacen 3 lavados ( $3 \times 100$  mL) con HCl al 10%, agua, finalmente con  $\text{NaHCO}_3$ , se secó con  $\text{NaSO}_4$  anh, se filtró y concentró en el rotavapor. El crudo de la reacción fue analizado por:

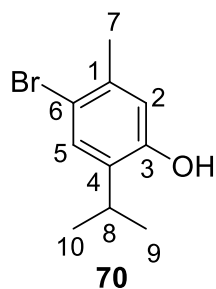


67

RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm 7.38 (2H, tt,  $J = 7.6, 2.2$  Hz, H-4''), 7.25 (2H, d,  $J = 7.6$ , H-3''), 7.23 (1H, tt,  $J = 7.6, 2.2$  Hz, H-5''), 7.21 (1H, d,  $J = 7.8$  Hz, H-5), 7.04 (1H, d,  $J = 7.8$  Hz, H-6), 7.01 (1H, s, H-2), 3.17 (1H, sept,  $J = 6.9$  Hz, H-8), 2.31 (3H, s,  $\text{CH}_3$ -7), 1.25 (6H, d,  $J = 6.9$  Hz,  $\text{CH}_3$ -9 y  $\text{CH}_3$ -10).

### Halogenación de timol con NBS

A una solución de 500 mg (3.32 mmol) de timol (1) en 5mL de  $\text{CHCl}_3$  se le agregaron 1.24g (2eq) de NBS, utilizando como catalizador BPO 16.12 mg (0.02eq), la reacción se llevó a reflujo, por un periodo de 4 h, con monitoreo por cromatografía en capa fina. Trascurrido el tiempo, la reacción fue extraída con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Se obtuvo una miel que fue sometida a purificación mediante cromatografía en columna, se utilizó como fase móvil una mezcla de hexanos-AcOEt con polaridad ascendente.

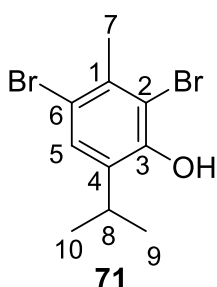


70

En la fracción 12 con polaridad de 4:1 hexanos-AcOEt se obtuvo el compuesto 6-bromotimol (70) como una miel de color amarilla con un rendimiento del 30% su espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$

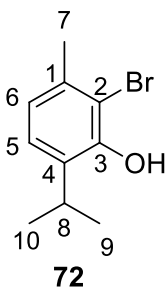
ppm 7.29 (1H, s, H-5), 6.63 (1H, s, H-2), 3.12 (1H, sept,  $J = 6.9$  Hz, H-8), 2.29 (3H, s, CH<sub>3</sub>-7), 1.22 (6H, d,  $J = 6.9$  Hz, CH<sub>3</sub>-9 y CH<sub>3</sub>-10).

RMN de <sup>13</sup>C (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  ppm 161.8 (C, C-3), 136.8 (C, C-4), 134.0 (C, C-1), 130.0 (CH, C-5) 117.6 (CH, C-2), 115.5 (C, C-6), 26.8 (CH, C-8), 22.4 (CH<sub>3</sub>, C-9, CH<sub>3</sub>, C-10), 22.3 (CH<sub>3</sub>, C-7).



De las fracciones 14-16 con polaridad de 4:1 hexanos-AcOEt se obtuvo 2,6-dibromotimol (**71**) en forma de miel amarilla, con un rendimiento del 35%, su espectro de RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  ppm 7.31 (1H, s, H-5), 5.67 (1H, sa, OH-3), 3.25 (1H, sept,  $J = 6.9$  Hz, H-8), 2.33 (3H, s, CH<sub>3</sub>-7), 1.21 (6H, d,  $J = 6.9$  Hz, CH<sub>3</sub>-9 y CH<sub>3</sub>-10).

RMN de <sup>13</sup>C (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  ppm 148.8 (C, C-3), 134.7 (C, C-4), 134.1 (C, C-1), 129.1 (CH, C-5), 114.9 (C, C-6), 113.8 (C, C-2), 27.9 (CH<sub>3</sub>, C-7), 23.7 (CH, C-8), 22.4 (CH<sub>3</sub>, C-9, CH<sub>3</sub>, C-10).



El compuesto 2-bromotimol (**72**) se aisló en forma de una miel amarilla en las fracciones 14 y 15, con un rendimiento del 10%, su espectro de RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  ppm 7.02 (1H, d,  $J = 7.8$  Hz, H-5), 6.76 (1H, d,  $J = 7.8$  Hz, H-6), 5.68 (Ar-OH), 3.22 (1H, sept, H-8), 2.31 (3H, s, CH<sub>3</sub>-7), 1.27 (6H, d,  $J = 6.9$  Hz, CH<sub>3</sub>-9 y CH<sub>3</sub>-10).

## REFERENCIAS

1. Kumar S.; Talapatra B. "Chemistry of Plant Natural Products Stereochemistry, Conformation, Synthesis, Biology, and Medicine, Springer-Verlag." **2015**, p. 65.
2. Jones Barry W. "Life in the Solar System and Beyond, Springer-Praxis." **2000**, p.34.
3. Dewick P. "Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach." 3rd Edition, *John Wiley & Sons*, **2009**, p. 08.
4. Boukhris M.; Bouaziz M.; Feki I.; Jemai H.; El Feki A. and Sayadi S. "Hypoglycemic and antioxidant effects of leaf essential oil of *Pelargonium graveolens* L'Hér. in alloxan induced diabetic rats." *Lipids in health and disease*, **2012**, 11(81): 1-10.
5. Oz M.; Lozon Y.; Sultan A.; Yang K. and Galadari S. "Effects of monoterpenes on ion channels of excitable cells." *Pharmacology & Therapeutics*, **2015**, 152: 83-97.
6. Akerele O. "Las plantas medicinales: un tesoro que no debemos desperdiciar." *Foro mundial de la salud*, **1993**, 14 (4): 390-395.
7. Perez-Vásquez A.; Linares E.; Bye R.; Cerda-García-Rojas C. M. and Mata R. "Phytotoxic activity and conformational analysis of thymol analogs from *Hofmeisteria schaffneri*." *Phytochemistry*, **2008**, 69(6): 1339–1347.
8. Liang H.; Bao F.; Dong X.; Tan R.; Zhang C.; Lu Q. and Cheng Y. "Antibacterial thymol derivatives isolated from *Centipeda minima*." *Molecules*, **2007**, 12: 1606–1613.
9. Bustos-Brito C.; Sánchez-Castellanos M.; Esquivel B.; Calderón J.; Calzada F.; Yopez-Mulia L.; Hernández-Barragán A.; Joseph-Nathan P.; Cuevas G. and Quijano L. "Structure, absolute configuration, and antidiarrheal activity of a thymol derivative from *Ageratina cylindrica*." *Journal of Natural Products*, **2014**, 77(2): 358-363.
10. Loza-Tavera H. "Monoterpenes in essential oils. Biosynthesis and properties." *Advances in Experimental Medicine and Biology*, **1999**, 464: 49-62
11. Pardo-Novoa J.C.; Arreaga-González H.M.; Galván-Gómez S.; Rodríguez-García G.; del Río R.E.; Cerda-García-Rojas C.M.; Joseph-Nathan P. and Gómez-Hurtado M.A. "Biomimetic transformation of *p*-Menthene glucosides into *p*-Cymenes and Carvotanacetone". *Journal of Natural Products*, **2019**, 82(3): 485- 491.
12. Yoshida T.; Mori K. and He G. "Inulavosin, a new thymol dimer with piscicidal activity from *Inula nervosa*." *Heterocycles*, **1995**, 41: 1923-1926.
13. Oke F.; Aslim B. and Oztirk S. "Essential oil composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Satureja cuneifolia* Ten." *Food Chemistry*, **2009**, 112(4): 874-879.
14. Liolios C.; Gortzi O.; Lalas S.; Tsaknis J. and Chinou I. "Liposomal incorporation of carvacrol and thymol isolated from the essential oil of *Origanum dictamnus* L. and in vitro antimicrobial activity." *Food Chemistry*, **2009**, 112(1): 77-83.
15. Dirdy N.; Dubreuil L. and Pinkas M. "Antibacterial activity of thymol, carvacrol and cinnamaldehyde alone or in combination." *Pharmazie*, **1993**, 48(4): 301-304.

16. Botelho M. "The minimum inhibitory concentration of oral antibacterial agents against cariogenic organisms." *Microbios*, **2000**, 103(404): 31-41.
17. Teissedre P. and Waterhouse A. "Inhibition of oxidation of human low-density lipoproteins by phenolic substances in different essential oils varieties." *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **2000**, 48(9): 3801.
18. Jyoti D.; Singh D.; Kumar G.; Karnatak M.; Chandra S.; Prakash V. and Shankar R. "Thymol Chemistry: A Medicinal Toolbox." *Current Bioactive Compounds*, **2019**, 15: 454-474.
19. Bogdan S.; Deyá C. and Romagnoli R. "Evaluation of thymol to antifungic control on paint films." *Revista Materia*, **2015**, 20(3): 699-704.
20. Salgueiro L.; Pinto E.; Gonçalves M.; Pina-Vaz C.; Cavaleiro C.; Rodrigues A. Palmeira A.; Tavares C.; Costa-de-Oliveira S. and Martinez-de-Oliveira J. "Chemical composition and antifungal activity of the essential oil of *Thymbra capitata*." *Planta Medica*, **2004**, 70: 572-575.
21. Talavera-Alemán A.; Rodríguez-García G.; López Y.; García-Gutiérrez H.A.; Torres-Valencia J.M; del Rio R.E.; Cerda-García-Rojas C.M.; Joseph-Nathan P. and Gómez-Hurtado M.A. "Sistematic evaluation of thymol derivatives possessing stereogenic or prostereogenic centers". *Phytochemistry Reviews*, **2016**, 15: 251-277.
22. Bohlmann F; Kramp W.; Gupta R.; King R.; and Robinson H. "Four guaianolides and other constituents from three *Kaunia* species." *Phytochemistry*, **1981**, 20(10): 2375-2378.
23. Marco J.; Sanz-Cervera J.; Manglano E. "Chlorinated thymol derivatives from Fukuda s." *Phytochemistry*, **1993**, 33(4): 875-878.
24. Aponte J.; Jin Z.; Vaisberg A.; Castillo D.; Málaga E.; Lewis W. and Hammond G. "Cytotoxic and anti-infective phenolic compounds isolated from *Mikania decora* and *Crematosperma microcarpum*." *Planta medica*, **2011**, 77(14): 1597-1599.
25. García P.; García S.; Martínez G.; Scior T.; Salvador J.; Martínez P. and del Rio R.E. "Analgesic effect of leaf extract from *Ageratina glabrata* in the hot plate test." *Revista Brasileira de Farmacognosia*, **2011**, 21(5): 928-935.
26. Tamayo-Castillo G.; Jakupovic J.; Bohlmann; F.; Rojas A.; Castro V. and King R. "Germacranolides and other constituents from *Ageratina* species." *Phytochemistry*, **1988**, 27(9): 2893-2897.
27. De Vivar A.; Cuevas L. and Guerrero C. "Eupaglabrina, un nuevo terpeno aislado de *Eupatorium glabratum*." *Revista Latinoamericana de Química*, **1971**, 2: 32-34.
28. Bohlmann F.; Mahanta P.; Suwita A.; Natu A.; Zdero C.; and Grenz, M. "Neue sesquiterpenlactone und andere inhaltsstoffe aus vertretern der Eupatorium-gruppe." *Phytochemistry*, **1977**, 16(12): 1973-1981.
29. Hernández J.D; Román L.U.; Rodríguez J.; Espiñeira J. and Joseph-Nathan P. "Areolal a thymol from *Piptotrix areolare*." *Phytochemistry*, **1986**, 25(7): 1743-1744.
30. González A.; Barrera B.; Méndez J; Martínez J. and Sánchez M. "Thymol derivatives from *Vieraea laevigata*." *Phytochemistry*, **1992**, 32(1): 202-203.

31. Maldonado E.; Marquez C. and Ortega A. "A thymol derivative from *Calea nelsonii*." *Phytochemistry*, **1992**, 31(7): 2527-2528.
32. Mariano, M.; Antonio, S. and Joseph-Nathan P. "Thymol derivatives from *Calea nelsonii*." *Phytochemistry*, **1987**, 26(9): 2577-2579.
33. Wang C.; Zhang X.; Wei P.; Cheng X.; Ren J.; Yan S. and Jin H. "Chemical constituents from *Inula wissemanniana* and their anti-inflammatory activities." *Archives of pharmacal research*, **2013**, 36(12): 1516-1524.
34. Tori M.; Ohara Y.; Nakashima K. and Sono M. "Thymol Derivatives from *Eupatorium fortunei*." *Journal of natural products*, **2001**, 64(8): 1048-1051.
35. Bohlmann F.; Niedballa U. and Schulz J. "Über einige Thymolderivate aus *Gaillardia*- und *Helenium*- Arten." *Chemische Berichte*, **1969**, 102(3): 864-871.
36. Bohlmann F.; Zitzkowski P.; Suwita A. and Fiedler L. "cis-Kolaveninsäure und weitere Inhaltsstoffe aus vertretern der Tribus Eupatorieae." *Phytochemistry*, **1978**, 17(12): 2101-2105.
37. Bohlmann F.; Jakupovic J.; Robinson H. and King R. "Neue diterpene aus *Schkuhria*-arten." *Phytochemistry*, **1980**, 19(5): 881-884.
38. Bohlmann F.; Kramp W.; Gupta R.; King R. and Robinson H. "Four guaianolides and other constituents from three *Kaunia* species." *Phytochemistry*, **1981**, 20(10): 2375-2378.
39. Bohlmann F. and Abraham W. "Ein neuer Sesquiterpenalkohol und andere Inhaltsstoffe aus *Doronicum pardalianches*." *Phytochemistry*, **1979**, 18(4): 668-671.
40. Arreaga-González H.M.; Pardo-Novoa J.; del Río R. E.; Rodríguez-García G.; Torres-Valencia J.; Manríquez-Torres J.; Cerda-García-Rojas C.; Joseph-Nathan P. and Gómez-Hurtado M. "Methodology for the Absolute configuration determination of epoxythymols using the constituents of *Ageratina glabrata*". *Journal of Natural Products*, **2018**, 81(1): 63-71.
41. Pimienta-Ramírez L.; García-Rodríguez Y.; Ríos-Ramírez E.; Lindig-Cisneros R. and Espinosa-García F. "Chemical composition and evaluation of the essential oil from *Eupatorium glabratum* as biopesticide against *Sitophilus zeamais* and several stored maize fungi." *Journal of Essential Oil Research*, **2016**, 28(2): 113-120.
42. Pardo-Novoa J.C.; Arreaga-González H.M.; Gómez-Hurtado M.A.; Rodríguez-García G.; Cerda-García-Rojas C.M.; Joseph-Nathan P. and del Rio R.E. "Absolute configuration of menthene derivatives by vibrational circular dichroism." *Journal of Natural Products*. **2016**, 79(10): 2570-2579.
43. Lorenzo-García J.M. "Preparación de Timohidroxiquinona a partir de 3,6-hidroxi-1-menteno." Tesis de licenciatura presentada en la Facultad de Químico Farmacobiología de la UMSNH, **2019**.
44. Novakovic M.; Bukvicki D.; Vajs V.; Tesevic V.; Milosavljevic S.; Marin P. and Asakawa Y. "Microbial Transformation of *Calamintha glandulosa* Essential Oil by *Aspergillus niger*." *Natural Product Communications*, **2018**, 13(4): 479 - 482.

45. Bier M.; Medeiros A. and Soccol C. "Biotransformation of limonene by an endophytic fungus using synthetic and orange residue-based media." *Fungal Biology*, **2017**, 121(2): 137.
46. Fukuda O.; Sakaguchi S. and Ishii Y. "Preparation of hidroperoxides by N-hidroxiphthalamide calalized aerobic oxidation of alkylbenzenes and hidroaromatic compounds and its application." *Advanced Synthesis and Catalysis*, **2001**, 343(8): 809-813.
47. Kun F.; Guijie L. and Yuanbin S. "Metal-free aerobic oxidation of nitro-substituted alkylarenes to carboxylic acids or benzyl alcohols promoted by NaOH." *Journal of Organic Chemistry*, **2018**, 83(15): 8092-8103.
48. Rebelo S.; Simões M.; Neves G. and Cavaleiro J. "Oxidation of alkylaromatics with hydrogen peroxide catalysed by manganese (III) porphyrins in the presence of ammonium acetate." *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, **2003**, 201(2): 9-22.
49. Shi Y.; Shen J.; Yang D.; Du J.; Lu S.; Ma M. and Wang X. "Green cinnamaldehyde and thymol modified zinc oxide with double synergistic antibacterial effects in polypropylene." *Journal of Applied Polymer Science*, **2021**, 138(33): 50911.
50. Agarwal S.; Tiwari H. and Sharma, J. "Series second-first-order mechanism for the oxidation of primary and secondary alcohols by Cr (VI) reagents." *Tetrahedron*, **1990**, 46(6): 1963-1974.
51. Kamat S.; D'Souza A. and Paknikar S. "Sodium metaperiodate oxidation of isocarvacrol." *Journal of Chemical Research*, **2003**, 7: 395-397.
52. Sabuzi F.; Churakova E.; Galloni P.; Wever R.; Hollmann F.; Floris B. and Conte V. "Thymol Bromination – A Comparison between enzymatic and chemical catalysis." *European Journal of Inorganic Chemistry*, **2015**, (21): 3519-3525.
53. Liangwu Bi.; Qiuge Z.; Zhendong Z. and Dawei Li. "Exploration of chemical oxidation of *p*-cymene". *Advanced Materials Research*. **2012**. 398: 1132 - 1137.
54. Talavera-Alemán A.; Gómez-Hurtado M.; Rodriguez-Garcia G.; Ochoa-Zarzosa A.; Thomassigny C.; Cerda-Garcia-Rojas C.; Joseph-Nathan P. and del Río, R. E. "Preparation and cytotoxic evaluation of vouacapane oxidation products." *Heterocycles*, **2020**, 100(2): 207-224.
55. Kaur R.; Darokar M. and Chattopadhyay S. "Synthesis of halogenated derivatives of thymol and their antimicrobial activities." *Medicinal Chemistry Research*, **2014**, 23: 2212–2217.
56. Kumar V.; Sharma A.; Sharma M.; Sharma U. and Sinha A. "DDQ catalyzed benzylic acetoxylation of arylalkanes: a case of exquisitely controlled oxidation under sonochemical activation." *Tetrahedron*, **2007**, 63(39): 9718-9723.
57. Hahn V.; Sunwoldt K.; Mikolash A. and Schauer F. "Two different primary oxidation mechanisms during biotransformation of thymol by gram-positive bacteria of the genera *Nocardia* and *Mycobacterium*." *Applied Microbial and Cell Physiology*, **2013**, 97: 1289-1297.