

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO.

FACULTAD DE QUÍMICA.

OBTENCIÓN DE LOS ESTERES DEL NAPROXENO E IBUPROFENO  
CON EL CACALOL Y EL PIQUEROL A ( PRUEBAS DE ACTIVIDAD )

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA.

P R E S E N T A :

BRENDA AYDEE MORALES MARTÍNEZ.

MÉXICO, D.F.

2006.



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

A mi mamá Aída Martínez .

A mi hermana Sandra Aída.

A mi sobrino Enrique Eduardo.

## AGRADECIMIENTOS.

A mi mamá Aída por su comprensión y apoyo en el curso de las muchas horas de trabajo indispensables para culminar con este trabajo.

A Miguel Ángel por su cariño, amistad y apoyo.

A mi hermana Sandra Aída por que siempre a estado a mi lado y a confiado en mí.

Al Doctor Manuel Jiménez Estrada quien estando verdaderamente comprometido con su labor como formador de las nuevas generaciones de investigadores mexicanos me ofreció su apoyo incondicional en la realización de esta obra.

A mis compañeros del laboratorio 2-10 Aída, Paola, Julio, Felipe Juan, y Simón por los gratos momentos.

## ÍNDICE.

1. ANTECEDENTES. ....	5
1.1 Mecanismo de acción.....	6
1.2 Características farmacológicas generales .....	11
1.3 Efectos adversos.....	12
2. NAPROXENO E IBUPROFENO.....	15
3. LOS PRODUCTOS NATURALES COMO FUENTE DE PRINCIPIOS ACTIVOS. ....	17
3.1 <i>Piqueria trinervia</i> . ....	18
3.2 <i>Psacalium decompositum</i> . ....	19
4. OBJETIVOS . ....	22
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN. ....	24
5.1 Pruebas biológicas.....	27
6. SECCIÓN EXPERIMENTAL. ....	30
6.1 Obtención de compuestos.....	31
7. CONCLUSIONES. ....	45
8. BIBLIOGRAFÍA. ....	46
ANEXO 1 ( ESPECTROS DE RMN <sup>1</sup> H , <sup>13</sup> C, IR Y EM).	



## 1. ANTECEDENTES.

En los últimos 10 años del siglo XX, los tratamientos farmacológicos de los procesos inflamatorios se han ampliado de manera significativa ya que se tiene un mayor conocimiento de los mediadores que participan en la reacción inflamatoria, así mismo, se ha hecho más efectivo el manejo del paciente afectado de dolor, ya que en su terapia se han utilizado diversos fármacos como los antiinflamatorios y analgésicos no esteroideos, así también con la incorporación de fármacos coadyuvantes de la analgesia que han contribuido de manera notable a incrementar la efectividad de los tratamientos en sujetos con dolor [1].

Dos populares compuestos que son utilizados como antipiréticos, analgésicos y antiinflamatorios son **naproxeno** (ácido (s)-6-metoxi- $\alpha$ -metil-2-naftalen acético [1a]) e **ibuprofeno** (ácido 2-(4-isobutilfenil) propiónico [1b]), pertenecen a la familia de fármacos Analgésicos Antipiréticos y Antiinflamatorios No Esteroides (AINEs). Se utilizan ampliamente en las enfermedades del aparato locomotor, ya que administrados a dosis adecuadas y bajo control médico contribuyen decisivamente al bienestar del enfermo. Constituyen uno de los principales tratamientos de muchas enfermedades reumáticas como artritis reumatoide, artritis crónica juvenil, artritis reactivas, espondilitis anquilosante, gota, lupus eritematoso sistémico, artritis psoriática, bursitis y tendosinovitis. Por su efecto analgésico se utilizan también otras patologías como artrosis, dolor muscular, dolor dentario, dolor postoperatorio, y después de traumatismos. Además pueden disminuir la fiebre y pueden ayudar a prevenir trombosis sanguínea. Los AINEs son un grupo heterogéneo de compuestos frecuentemente no relacionados químicamente, aunque la mayoría de ellos son ácidos orgánicos, los cuales a pesar de esto, comparten

ciertas acciones terapéuticas y efectos adversos; el prototipo de estos medicamentos es el ácido acetilsalicílico (AAS), por lo que se les llama con frecuencia drogas tipo AAS [2].

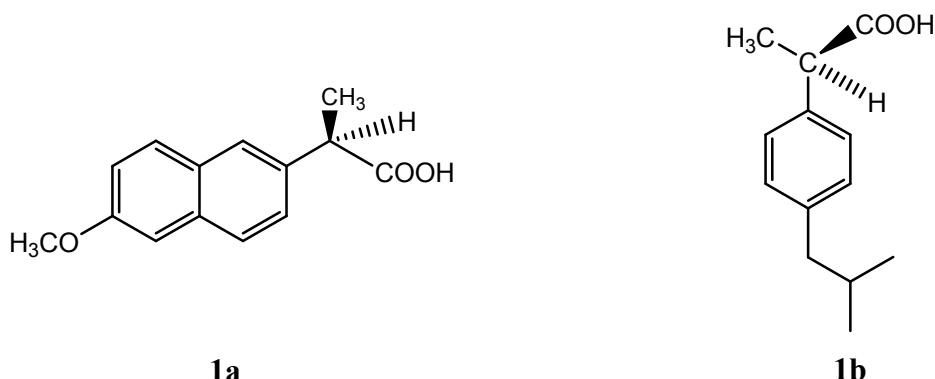


Figura 1. Estructuras de los AINEs **naproxeno 1a** e **ibuprofeno 1b**.

### 1.1 Mecanismo de acción.

La acción más relevante de los AINEs es inhibir las ciclooxigenasas con lo que se bloquea la formación de eicosanoides (prostaglandinas, tromboxanos y leucotrienos) los que junto a la histamina, serotonina y bradiquinina son sustancias endógenas que sensibilizan las terminaciones dolorosas periféricas, participan en el mecanismo de la fiebre a nivel hipotalámico, y son los mediadores químicos más destacados en la inflamación .

La sintetasa del endoperóxido de prostaglandina, llamada comúnmente ciclooxigenasa, es un complejo de enzimas microsómicas de distribución muy amplia y existen dos isoformas de la enzima que son la cox-1, constitutiva, es



decir, presente siempre en tejidos como el riñón, tubo digestivo, y plaquetas y la cox-2 inducida en el sitio de la inflamación, cuya fuente principal la constituyen los macrófagos. Se piensa que la inhibición de la cox-2 media las acciones antipiréticas, analgésicas y antiinflamatoria de los AINEs, pero la inhibición simultánea de la cox-1, ocasiona efectos colaterales no deseados en particular, lo que culmina en úlceras gástricas que son consecuencia de la disminución en la síntesis de prostaglandina (PG) y tromboxano (TX) .

El sistema enzimático de la ciclooxigenasa actúa sobre el ácido araquidónico, ácido graso esencial, dando origen a las prostaglandinas (PG), prostaciclina y tromboxanos(TX). El ácido araquidónico se obtiene a través de la dieta principalmente en las carnes o de otros ácidos esenciales como el linoleico o prostanoico. El mismo no existe en forma libre en el interior de la célula, pero normalmente está esterificado en los fosfolípidos de la membrana, se libera de ellos por activación de la fosfolipasa. Los estímulos que pueden determinar su activación son varios: químicos, físicos, hipoxia, hormonales entre otros, ellos interactúan con los receptores de la membrana plasmática acoplándose con las proteínas reguladoras de unión con GTP y el resultado es la activación de la fosfolipasa o incremento de calcio citosólico que también activa las enzimas anteriormente citadas. Una vez liberado el ácido araquidónico es metabolizado en forma rápida por las ciclooxigenasas; por las lipooxigenasas originando leucotrienos, estos toman su nombre debido a que su síntesis principal es en los leucocitos; el sitio de acción inicial de la lipooxigenasa es la oxidación del carbono 5 derivando así el ácido 5-hidroperoxi -6,8,11,14 eicosatetranoico (5HPETE), análogo inestable de los endoperóxidos cíclicos de la ciclooxigenasa; por diferentes estímulos ya mencionados la lipooxigenasa se activa e incrementa la síntesis de 5HPETE y con este la formación de leucotrienos (LT) liberados en la respuesta inmune y en los procesos inflamatorios. También actúa sobre el ácido araquidónico el citocromo P-450 originando las epoxigenasas. Estos productos se

forman muy rápido, actúan localmente y después se degradan espontáneamente o son destruidos enzimáticamente .

Los AINEs inhiben las ciclooxigenasas y consiguen la producción de prostaglandinas, pero no inhiben los pasos de la lipooxigenasa y por tanto no suprimen la formación de leucotrienos [3,4,5,6].

Recientemente han surgido un grupo de fármacos antiinflamatorios no esteroideos que inhiben selectivamente la cox-2, por lo que producen menos incidencia de efectos indeseables.

**Acción analgésica:** en el dolor postoperatorio los AINEs, pueden ser superiores a los opiáceos, aunque normalmente se clasifican como analgésicos ligeros, es necesario considerar el tipo de dolor y su intensidad. Son particularmente efectivos en el momento en que la inflamación ha sensibilizado los receptores para el dolor a estímulos mecánicos o químicos normalmente indoloros. El dolor que comúnmente acompaña a la inflamación y el daño tisular, probablemente resulta de la estimulación local de las fibras dolorosas y de la hiperalgesia, en parte a consecuencia de un aumento de la excitación de las neuronas centrales de la médula espinal o de la liberación de prostaglandinas, la capacidad de estas para sensibilizar los receptores para el dolor a los estímulos mencionados, parece ser el resultado de la disminución del umbral de los receptores de las fibras C. Los AINEs alivian el dolor, mediante la supresión de la síntesis de prostaglandinas y algunos autores plantean que tengan efectos antinociceptivos en los mecanismos centrales y periféricos. Dentro de la neurofisiología del dolor, observamos que a nivel del proceso inflamatorio ocurren estímulos de suficiente intensidad (liberación de mediadores químicos entre otros) que son capaces de activar las fibras C y estas descargas, que aumentan con el tiempo, activan la segunda neurona del núcleo caudal del trigémino y asta

---

<sup>1</sup>Tipo de dolor, nociceptivo : estimulación de terminales nerviosas periféricas sensitivas se produce por estímulos externos o exógenos.

posterior de la médula espinal, ocurriendo el fenómeno de hipersensibilización [ 3,4,5,6 ] .

**Acción antipirética:** la regulación de la temperatura corporal requiere un delicado balance entre la producción y la pérdida de calor. El hipotálamo regula la temperatura corporal; en la fiebre este termostato se eleva y los AINEs lo hacen retornar a la normalidad. Estas drogas no alteran la temperatura corporal elevada por factores como el ejercicio o aumento de la temperatura ambiente. La fiebre puede ser el resultado de infección o una secuela del daño tisular, inflamación, rechazo de injerto, malignidad u otros estados patológicos. Un rasgo común de estas condiciones es la formación de citoquinas , interferones  $\alpha$  y  $\beta$  y TNF  $\alpha$ . Las citoquinas aumentan la síntesis de prostaglandina (PgE<sub>2</sub>) en los órganos periventriculares y cerca del área preóptica del hipotálamo, y la PgE<sub>2</sub> a través del aumento del AMPc (adenosín monofosfato cíclico) dispara el termostato hipotalámico promoviendo un aumento en la generación de calor y una disminución en la pérdida del mismo. Los AINE suprimen la fiebre causada por agentes que aumentan la síntesis de IL-1y otras citoquinas que producen fiebre por la síntesis de PgE<sub>2</sub>, inhibiendo la síntesis de estas [ 3,4,5,6 ] .

**Acción antiinflamatoria:** los AINEs ejercen su acción antiinflamatoria, por un mecanismo más complejo que la simple inhibición de la síntesis de prostaglandinas. En la inflamación las células endoteliales y las moléculas de adhesión (selectina E,P,L, la intracelular ( ICAM-1), integrinas leucocitarias), juegan un papel importante en dirigir las células circulantes al sitio de la inflamación. Hay varios tipos de mediadores solubles involucrados en la inflamación, además de las moléculas de adhesión celular entre los que están el factor de complemento C-5a, el factor de activación de plaquetas, diferentes citoquinas (interleuquina-1, interleuquina -8) y el factor de necrosis tumoral (TNF), estos dos últimos se derivan de células mononucleares y de macrófagos que inducen la formación de nuevos genes para promover la síntesis de una variedad

de proteínas que contribuyen a la inflamación. Todos estos mediadores químicos junto con el factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos promueven la activación e invasión de neutrófilos (quimiotaxis); estos a pesar de ser la primera línea de defensa, pueden lesionar los tejidos por liberación de proteasas, péptidos inflamatorios, especies de oxígeno reactivo, y lípidos irritantes. Los AINEs inhiben la adhesión y la atracción de los neutrófilos promovidas por estos mediadores químicos, disminuyendo consigo el daño tisular y la inflamación [ 3,4,5,6 ].

La respuesta del tejido conjuntivo vascularizado cualquiera que sea la causa (traumática, física, química o inmunitaria) se reconoce como inflamación; la fase inicial de lesión al tejido se acompaña de cambios vasculares que producen respuestas celulares, luego se produce la fase de reparación. Los AINEs tienen especial acción sobre la fase vascular de este proceso y escasa o nula acción sobre la fase de reparación, lo cual contrasta de manera notable con los antiinflamatorios esteroidales que modifican tanto las fases vasculares como las reparativas inhibiéndolas significativamente [3,4,5,6 ].

Con los AINEs el principal mecanismo de acción a nivel periférico que tienen es el bloqueo de las prostaglandinas. Estudios recientes demuestran que estos fármacos afectan el acoplamiento de estímulo y respuesta en las células más abundantes en la inflamación aguda: los neutrófilos; la activación de los neutrófilos en respuesta a estímulos solubles (quimioatrayentes) o a complejos inmunológicos, sigue vías generales de acoplamiento de estímulos y respuestas de células secretorias, a las cuales inhiben todos los AINEs; estudios hasta la fecha demuestran que la indometacina, piroxicam, diclofenac e ibuprofén (a concentraciones micromolares) inhiben la agregación de células con células de neutrófilos inducida por quimioatrayentes y mediadas por moléculas de adhesión a las superficies celulares CD 11b/ CD 18. Además estos antiinflamatorios a escala periférica, bloquean la activación adrenérgica, estimulan

la vía del óxido nítrico- GMPc a nivel periférico, inhiben las citocinas y la actividad del receptor [3,4,5,6] .

## **1.2 Características farmacológicas generales.**

Todos son antiinflamatorios, analgésicos y antipiréticos con importantes diferencias en su acción; las razones no están completamente estudiadas, pero puede haber diferencia en la sensibilidad de las enzimas según el tejido [7].

Como analgésicos usualmente son efectivos contra dolores ligeros o moderados, carecen de efecto sobre el SNC, lo que los diferencian de los opiáceos, esto incluye la depresión respiratoria y la farmacodependencia y no modifican la percepción de otras modalidades sensoriales diferentes al dolor; el dolor postoperatorio o secundario a inflamación es bien controlado por el AINE, no así el dolor visceral, se indican en los dolores postraumáticos, dolores oncológicos, dolores postparto, en la cefalea y la osteoartritis. Reducen la temperatura corporal durante la fiebre como ya se explicó anteriormente, aunque algunos no deben usarse de rutina debido a su toxicidad. Su principal aplicación clínica es como agentes antiinflamatorios a través de la inhibición de la ciclooxigenasa 2, por esta propiedad se le administra a los pacientes con artritis reumatoide, artritis postraumática y espondilitis anquilosante). Hay otros usos de los AINEs que merecen mencionarse: para cerrar el conducto arteriovenoso en neonatos, debido a que las prostaglandinas están involucradas en la persistencia de este conducto; en la dismenorrea ya que la liberación de prostaglandina por el endometrio es la causa de dolores y calambres en la dismenorrea primaria y en las enfermedades tromboembólicas [ 7 ].

Con relación a la farmacocinética todos presentan buena absorción por vía oral; tienen un alto grado de afinidad por las proteínas plasmáticas. Atraviesan barreras hematoencefálicas y placentarias. Son sometidos a metabolismos

hepáticos o bien mediante glucuronización o de tipo oxidativo antes de ser finalmente excretados; su principal catabolismo ocurre en el riñón tanto en forma libre como metabolizada. Sus acciones pueden retardarse cuando se suministran con alimentos o con antiácidos absorbibles, ejemplo bicarbonato de sodio, o no absorbibles como el hidróxido de aluminio y magnesio, esto es importante para aquellos AINEs de vida media corta ya que pueden alcanzar una menor concentración plasmática [7 ].

### **1.3 Efectos adversos.**

**Trastornos gastrointestinales:** Dispepsias, náuseas, vómitos, diarreas, estreñimiento, esofagitis, úlcera esofágica, erosión de la mucosa gástrica y duodenal, úlceras, sangramiento, y perforación, úlcera en el intestino delgado y grueso, constricción de tipo diafragma (infrecuente).

#### ***Mecanismo***

La mayor parte del daño inducido en el tubo digestivo se debe al efecto directo y que a nivel sistémico los AINEs suprimen la síntesis de prostaglandinas (PGI<sub>2</sub> y PGE<sub>2</sub>) protectoras de la mucosa. Estas inhiben la secreción del ácido en el tracto gastrointestinal, estimulan la secreción de bicarbonato glutation y mucus y mantienen el flujo sanguíneo hacia la mucosa en los tejidos lesionados; favorecen además mayor velocidad de restitución del epitelio desnudo. Los AINEs alteran la permeabilidad de la membrana por pérdida de sodio y potasio. [8,9].

**Trastornos hematológicos:** Aumento del tiempo de sangría y depresión de la médula ósea (rara) .

## ***Mecanismo***

La aspirina inhibe la ciclooxigenasa plaquetaria irreversiblemente mediante acetilación de los grupos serina aminoterminal, inhibiendo la formación de TX A2 (facilita la agregación plaquetaria) e incapacitando a la plaqueta por el resto de su vida útil (8-11 días), debido a que ellas tienen poca o ninguna capacidad para biosintetizar proteínas. Todos los Analgésicos Antipiréticos y Antiinflamatorios No Esteroides, excepto los salicilatos no acetilados, afectan la función plaquetaria de manera reversible; una vez que los niveles séricos del medicamento desaparecen, la función plaquetaria vuelve a ser normal, incluso cuando todavía no se han sintetizado plaquetas nuevas. El paracetamol y la dipirona no ejercen este efecto antiplaquetario [8,9].

Un paciente que por diversas causas esté tomando aspirina u otro AINE, no debe someterse a ningún proceder quirúrgico estomatológico, pues puede presentar sangramiento; sin embargo, si el paciente está tomando aspirina por indicación facultativa debido a que padece de alguna enfermedad vascular obstructiva o cardiopatía, y este requiere algún tipo de intervención quirúrgica estomatológica, el estomatólogo debe realizar una interconsulta con el especialista que trata la enfermedad sistémica del paciente y debe suspenderse el tratamiento 2 semanas antes de la intervención. Tampoco se debe indicar estos tipos de AINES después de realizar cualquier tipo de acto quirúrgico [ 8,9].

**Trastornos renales:** Insuficiencia renal hemodinámica (que puede ir desde un simple compromiso en la tasa de depuración de creatinina a falla renal aguda, disminución de la función tubular e , interferencia con la excreción de agua o sal (hipertensión, insuficiencia cardíaca congestiva y edema maleolar), hipercalcemia y nefritis intersticial (infrecuente).

## ***Mecanismo***

Los efectos adversos de los AINEs sobre el riñón se deben a su efecto supresor de la síntesis de prostaglandinas; las cuales juegan un papel esencial en la función renal: modulan el flujo sanguíneo renal, modulan la tasa de filtración glomerular, regulan la liberación de renina, modulan el mecanismo de concentración y de excreción de sodio y potasio. Los AINEs producen retención de sodio y agua al disminuir la inhibición, inducida por la prostaglandina PGE<sub>2</sub>, de la reabsorción de cloro y la ADH. Producen hiperpotasemia por aumento de la reabsorción de potasio y la supresión de la secreción de renina inducida por las prostaglandinas. La asociación de más de un AINE potencia la inhibición de la síntesis de las prostaglandinas renales y puede conducir, a largo plazo, a nefritis e insuficiencia renal [8,9].

**Hipersensibilidad y Trastornos pulmonares:** Rinitis vasomotora, edema angioneurótico, urticaria generalizada, edema laríngeo, disminución de la tensión arterial, shock, bronco constricción, asma bronquial, y empeoramiento de las enfermedades obstructivas crónicas.

### ***Mecanismo.***

A pesar de su parecido con la anafilaxia, esta reacción no parece ser de naturaleza inmunológica, además un individuo que es intolerante a un AINE puede reaccionar cuando se expone a cualquier otro agente del grupo a pesar de su diversidad química, aunque los salicilatos no acetilados parecen menos probables para producir estas reacciones que la aspirina y otros salicilatos acetilados.[ 8,9]. Siempre que se usen AINEs se debe indagar en el sujeto una base alérgica, pues estos productos al inhibir a las ciclooxigenasas, desplazan el metabolismo del ácido araquidónico hacia la vía de la lipooxigenasa, con la formación de cantidades aumentadas de leucotrienos y otros productos



hipersensibilizantes. El bloqueo de la 5-lipooxigenasa con la droga zileutón puede prevenir los síntomas y signos de la intolerancia a la aspirina [8,9 ].

**Efectos neurológicos:** Sedación, confusión, dolor de cabeza, depresión, psicosis y coma (en intoxicación por salicilatos).

**Efectos hepáticos:** Incremento de los niveles de transaminasa (frecuente), hepatitis clínica (infrecuente) e insuficiencia hepática (rara).

Estas reacciones no tienen relación con las prostaglandinas, sino que se trata de un fenómeno de hipersensibilidad [8,9].

**Prolongación de la gestación:** Las prostaglandinas (E y F) son potentes agentes uterotrópicos y su síntesis por el útero aumenta unas horas antes del parto. Se ha sugerido que las prostaglandinas tienen un papel fundamental en la iniciación y progresión del trabajo del parto. Los AINEs al disminuir la síntesis de prostaglandinas provocan disminución en la motilidad uterina prolongando la gestación. [ 8,9].

## 1. NAPROXENO E IBUPROFENO.

Dos compuestos que son utilizados como analgésicos y antiinflamatorios son el **naproxeno** (ácido (s)-6-metoxi- $\alpha$ -metil-2-naftalen acético [**1a**]) y el **ibuprofeno** (ácido 2-(4-isobutilfenil) propiónico[**1b**]), pertenecen a la familia de farmacos Analgésicos Antipiréticos y Antiinflamatorios No Esteroides (AINEs). El ibuprofeno y el naproxeno son medicamentos usados sólo en su enantiómero con

configuración (S) esta configuración tiene actividad terapéutica. Son derivados del ácido propionico y frecuentemente son usados como alternativa para los salicilatos en la prescripción para el alivio del dolor. La presencia del grupo carboxílico es parcialmente responsable de la toxicidad gastrointestinal [10,11,12]. Un posible camino de reducir la toxicidad gastrointestinal es por la amidación del carboxilo, o por la vía de esterificación. Esta aproximación abre la posibilidad de rutas para nuevas drogas. Son utilizados frecuentemente para el alivio sintomático de dolor de cabeza (cefalea), dolor dental, dolor muscular (mialgia), molestias de la menstruación (dismenorrea), síndrome febril, y dolor tras cirugía (postquirúrgico). También se usa para tratar cuadros inflamatorios, como los que se presentan en artritis, artritis reumatoide (AR), artritis gotosa, osteoartritis, artritis reumatoide y artritis psoriática. Como todos los antiinflamatorios no esteroídicos de la familia de los ácidos aril-propionicos, el ibuprofeno inhibe la acción de las enzimas cox-1 y cox-2. Los efectos anti-inflamatorios del ibuprofeno son el resultado de la inhibición periférica de la síntesis de prostaglandinas subsiguiente a la inhibición de la ciclooxigenasa. El ibuprofeno inhibe la migración leucocitaria a las áreas inflamadas, impidiendo la liberación por los leucocitos de citoquinas y otras moléculas que actúan sobre los receptores nociceptivos. El ibuprofeno, como otros AINEs, no altera el umbral del dolor ni modifica los niveles de prostaglandinas cerebrales, concluyéndose que sus efectos son periféricos. La antipiresis es consecuencia de la vasodilatación periférica debido a una acción central sobre el centro regulador de la temperatura del hipotálamo. Por otro parte el naproxeno actúa inhibiendo la síntesis de prostaglandinas, pero su mecanismo exacto de actuación es desconocido. Aunque el naproxeno requiere normalmente dosis superior a otros AINEs (la dosis mínima efectiva es de aproximadamente 200 mg), se une muy bien a la albúmina y por lo tanto tiene una vida media más larga en sangre que otros analgésicos, llegando hasta 12 horas por dosis. El máximo de concentración en sangre tiene lugar a las 2-4 horas tras la ingestión [ 13].

### 3. LOS PRODUCTOS NATURALES COMO FUENTE DE PRINCIPIOS ACTIVOS.

Durante siglos, la humanidad se ha apoyado de las fuentes vegetales para el tratamiento de las enfermedades y debido a los resultados obtenidos la medicina tradicional ha sido explorada mundialmente a tal grado que diversos fármacos empleados a la fecha han resultado de la purificación de extractos o del aislamiento e identificación de sus principios activos. Sin embargo, resulta interesante saber que de las aproximadamente 600,000 especies vegetales presentes en nuestro planeta, siendo 250,000 a 500,000 de ellas plantas superiores, sólo el 10% de estas han sido estudiadas química y farmacológicamente. En el campo de los productos naturales, actualmente disciplinas tales como la etnofarmacología o la etnobotánica están recibiendo renovado interés en la búsqueda sistematizada de agentes farmacológicos [14].

Los remedios basados en hierbas medicinales siempre han constituido una terapia alternativa importante en México, debido a su gran riqueza florística. De esta, la familia *Asteracea* ha contribuido con el mayor número de plantas de la farmacopea de las comunidades rurales y la razón para la importancia de esta familia incluye al gran número de especies, aproximadamente 380 géneros con 3000 especies recientemente reconocidas [15]. Estas *Asteraceas* han producido plantas medicinales tan populares como la *Artemisia ludoviciana ssp mexicana* (*estafiate*); *Montanoa tomentosa* (*zoapatle*) y *Heterotheca inuloides* (*árnica mexicana*), las cuales contienen a las lactonas como los principios activos. En los últimos 20 años, numerosos estudios han examinado los usos tradicionales de plantas que contienen lactonas en las regiones altas de México [16] y se han efectuado diversas revisiones detalladas sobre la actividad biológica que poseen dichos metabolitos. En dichas revisiones destaca la gran variedad de estructuras, lo que conlleva también a una amplia

gama de actividades farmacológicas, entre las que se encuentran la citotóxica, la antitumoral, la antibacteriana, la antiglucomiética, la antifúngica y la antiinflamatoria. Sin embargo, dentro de este grupo de metabolitos existen también sustancias que resultan tóxicas para el humano, los parásitos, los mamíferos e insectos [16]. En seres humanos, especies como *Laurus nobilis*, *Saussurea lappa* y *Partenium hystrophorus*, todas conteniendo lactonas, son causa de dermatitis de contacto alérgico entre floristas y horticultores. Otras especies reconocidas como apofitas (malezas) se caracterizan por la presencia de lactonas cuyo papel en la Ecología es proveer al vegetal de los medios de defensa, atracción, protección de condiciones climáticas y servir como mensajeros intra e interespecies.

### **3.1 *Piqueria trinervia*.**

*Piqueria trinervia* es una planta silvestre mexicana que pertenece a la familia de Asteraceae, crece en zonas templadas y tropicales de algunas zonas de México, Centro América y Haití. Las raíces de esta planta son usadas frecuentemente en la medicina alternativa como antipirético, antimalárico y antirreumático. La flor y el follaje se usan en infusión y en forma de baños contra la fiebre, cólicos y como antibilioso, además se usa en casos de disentería.

En estudios previos Jiménez-Estrada *et al.*, mostraron que esta planta silvestre contiene varios monoterpenos, 2 diastereoisómeros, piquerol A [2a] y piquerol B [17] y diterpeno trinervinol. Ambos piqueroles tienen propiedades biológicas, incluyendo la inhibición de la germinación y el crecimiento de plantas. Pueden ser los responsables de la interacción alelopática de *Piqueria trinervia* [17].

También en trabajos previos Jiménez-Estrada *et al.*, describieron el mecanismo de acción del piquerol A, especialmente en efectos de fotosíntesis como compuesto aleloquímico. El piquerol A inhibe la síntesis del ATP y la

fosforilación electrónica en el cloroplasto. Las actividades molusquicida y acaricida también fueron observadas en el piquerol A [18].

Cuando el piquerol A es modificado a diacetilpiquerol [2b], incrementa la lipofilidad, inhibe la fotofosforilación. Estos datos sugieren que la actividad de este derivado del piquerol A *in vivo* puede ser lipofílico. Estos derivados también pueden ser responsables de las interacciones alelopáticas de la *Piqueria trinervia*. Otros derivados sintetizados del piquerol A como fenoles e hidroquinonas presentaron actividad herbicida [18]. El efecto sobre la germinación, la fotofosforilación y la fosforilación debe ser entendida en que parte de la estructura es la necesaria para tener dichas actividades biológicas, así como otras que pueden probarse al formar ésteres con compuestos farmacéuticos.



Figura 3. Estructuras del piquerol A 2a y diacetilpiquerol 2b.

### 3.2 *Psacalium decompositum*.

La planta *Psacalium decompositum* A Gray forma parte de un complejo de plantas medicinales conocido comúnmente como matarique, matariqui, pitcávi (tarahumara). Esta planta pertenece a la familia Asteraceae y es conocida también como *Senecio grayanus*, *Hemsley*, *Cacalia decomposita* A Gray, *Mesadenia decomposita* A Gray. Crece en Sonora y Chihuahua [19], las aplicaciones

terapéuticas de esta planta son diversas. La tintura se utiliza para calmar los dolores reumáticos, las neuralgias y para favorecer la cicatrización de las úlceras y las heridas. El cocimiento de la raíz se utiliza contra la diarrea, la gota, la congestión del hígado, contra la diabetes, como antiséptico, antineurálgico, astringente y catártico[19]. Romo et al., en 1964 [21] aislaron y caracterizaron algunos de los compuestos del extracto hexánico de la raíz, entre los cuales el cacalol fue uno de los más abundantes. La estructura del cacalol (1a) fue establecida de manera definitiva por Soriano *et al* en 1987 [22] . El cacalol es un sesquiterpeno que se distingue de otros sesquiterpenos por la presencia del anillo del furano unido al tetrahidronaftaleno junto con tres grupos metilos en los carbonos tres, cinco y siete.

Jiménez-Estrada *et al.* [23] en 1992 probaron la actividad antimicrobiana de los extractos metanólico y hexánico de la raíz de *Psacalium decompositum* por el método de antibiograma y encontraron que los extractos causaron efectos sobre *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes*. En el mismo estudio, el acetato de cacalol (1b) mostró actividad contra *Staphylococcus aureus* y *Cryptococcus neoformans*. Los estudios de Delgado et al [24], en el 2001 demostraron que el cacalol posee actividad antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Proteus michrants*.

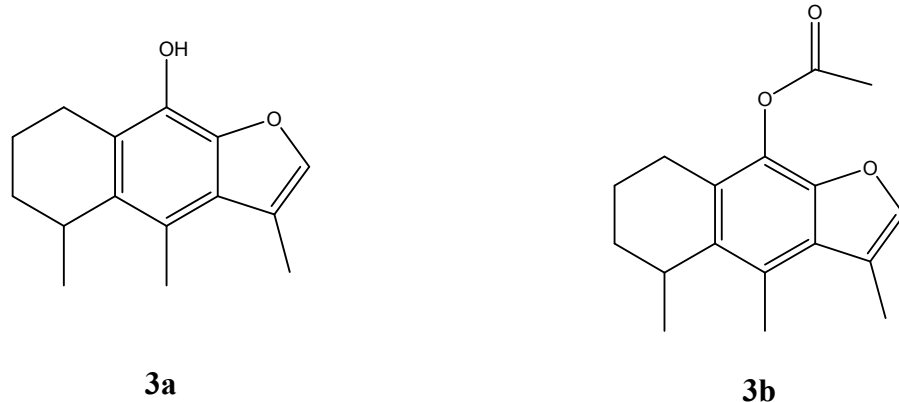


Figura 3.1 Estructuras de los compuestos del **cacalol 3a** y del **acetato de cacalol 3b**.

Recientemente M. González de la Parra y M. Jiménez-Estrada estudiaron algunos esteres del naproxeno e ibuprofeno para utilizarlos como una manera de evaluar efectos sobre la germinación de semillas, el bioensayo fue también utilizado para identificar el desarrollo de los esteres así como su absorción, biotransformación y la interacción [ 11 ].

La búsqueda de nuevas moléculas, tanto de origen natural como sintético, nos lleva a proponer el presente proyecto y encontrar las condiciones de reacción para la esterificación del naproxeno y del ibuprofeno. Dado que se ha buscado bajar los efectos secundarios del naproxeno e ibuprofeno, formando nuevos ésteres y así estudiar la relación estructura-actividad. El piquerol A es un monoterpene, que tiene diferentes actividades biológicas, tiene en su estructura dos grupos hidroxilo alfa a la doble ligadura obteniéndose de la fuente natural, con el cual se pretende formar los esteres del naproxeno e ibuprofeno. Igualmente el cacalol presenta diferentes actividades biológicas, tiene en su estructura un grupo hidroxilo con el cual se formaran los esteres del naproxeno y del ibuprofeno. Además se identificarán plenamente los compuestos obtenidos

por métodos espectroscópicos, espectrométricos y químicos, así como evaluar su actividad.

Se ha observado que las plantas *Psacalium decompositum* y *Piqueria trinervia* presentan actividad biológica, analgesia y antiinflamatoria entre otras, así como el naproxeno y el ibuprofeno, por lo que al unirlos se formarán nuevos derivados de dichas estructuras que podrían presentar actividad biológica como las mencionadas o que se podrían utilizar como precursores para otras actividades farmacológicas .



## 4. OBJETIVOS.

### OBJETIVOS GENERALES.

- a) Buscar las condiciones para llevar a cabo la esterificación del piquerol A y cacalol con el naproxeno e ibuprofeno .

### OBJETIVOS PARTICULARES.

- a) Obtener el piquerol A y el cacalol a partir de su fuente natural (plantas *Psacalium decompositum* y *Piqueria trinervia* ).
- b) Determinar la actividad de los compuestos obtenidos.

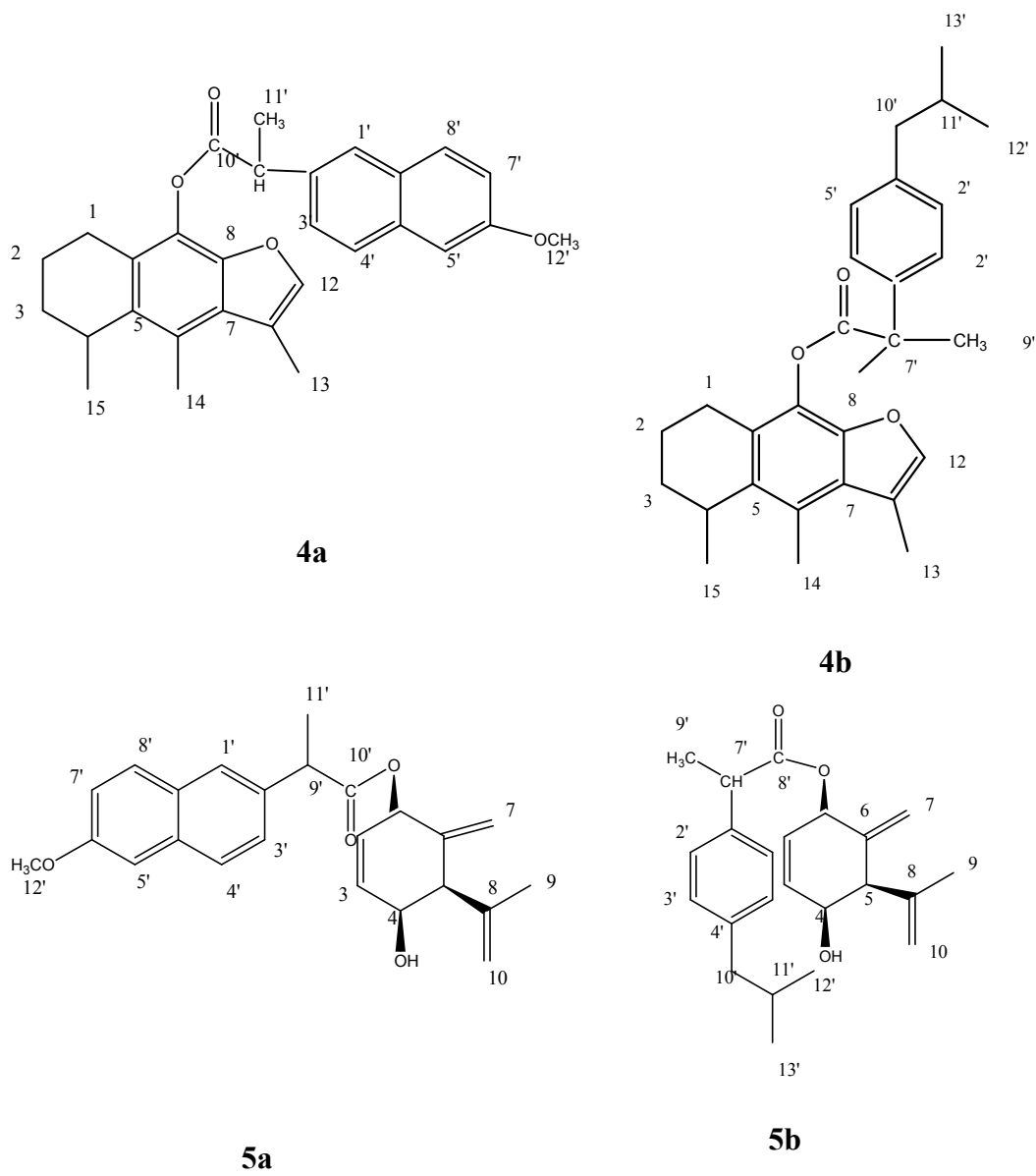


Figura 4. Estructura de los ésteres a obtener



## 5. RESULTADOS Y ANÁLISIS.

En el proceso de obtención de compuestos de las raíces de la planta *Psacalium decompositum*, el extracto hexánico se evaporó a baja temperatura, debido a que el cacalol es un compuesto termolábil.

La reacción de esterificación del cacalol con el naproxeno se llevó a cabo en diferentes condiciones de reacción. La primera se hizo siguiendo el procedimiento descrito por González de la Parra, Jiménez [11], partiendo del supuesto de que el grupo carboxilo del naproxeno no es lo suficientemente reactivo para ser atacado, puede hacerse mucho más reactivo en presencia de un ácido, el cual actuará protonando el átomo de oxígeno del grupo carbonilo, con lo que impartirá carga positiva al ácido carboxílico y hará a este mucho más reactivo hacia el ataque nucleofílico por el alcohol fenólico del cacalol en este caso. Interpretando, el espectro de infrarrojo no se observó la banda correspondiente al grupo carbonilo del éster, además se observaron bandas que no corresponden a la molécula esperada. En su espectro de  $^1\text{H}$ -RMN, no se observaron señales de los hidrógenos correspondientes a la molécula, por lo antes mencionado ya no se realizó la espectroscopia de masas. Estos resultados, nos indicaron la susceptibilidad del cacalol al medio ácido, hace suponer que el cacalol se hidrolizó, ya que las señales de hidrógeno características del cacalol como los metilenos y metilos entre 0.7-1.3 ppm y 1.2-1.4 ppm respectivamente no se observaron, así como, la señal del hidrógeno furánico a 7.35 ppm. Por lo que se cambiaron las condiciones de reacción, al grupo ácido carboxílico del naproxeno se le hizo un tratamiento con cloruro de tionilo, en el cual el ácido carboxílico se convertiría en un derivado reactivo que posteriormente sería atacado por el ión cloruro, nucleófilo, formando un intermediario que sería fácilmente atacado por el oxígeno del fenol del cacalol para obtener como producto final el éster. Se interpretaron los espectros de los productos obtenidos de IR,  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  y EM apareciendo señales que no correspondían a lo esperado de acuerdo a la

estructura del éster y de las materias primas por lo tanto se cambiaron otra vez las condiciones de reacción. En el tercer intento de formar el éster entre el grupo OH del cacalol y el grupo COOH del naproxeno, las condiciones de reacción se seleccionaron de acuerdo a las referencias bibliográficas, Handbook [25], donde se describen una serie de pasos para obtener como producto final un éster. El primero de los pasos fue formar el cloruro del ácido del naproxeno utilizando el cloruro de tionilo, a este intermediario se le realizó un espectro de infrarrojo para corroborar si estaba el grupo éster presente, el cual fue evidente por la presencia, de una banda en  $1783\text{ cm}^{-1}$ , [ver anexo 1, espectro 1]. El cloro es un ión fácilmente saliente facilitando la protonación del carbonilo aumentando la electrofilia y, por lo tanto, la reactividad del carbono del carbonilo facilitando la unión del oxígeno del cacalol. Por otro lado se formó la sal de sodio del cacalol utilizando hidruro de sodio, también el sodio es un ión fácilmente saliente, que donaría electrones transformando al oxígeno en un nucleófilo. Se dejó reaccionar ambas mezclas obteniendo un producto sólido de color café, se hizo la interpretación de sus espectros de infrarrojo se observó una banda en  $1753\text{ cm}^{-1}$  correspondiente al grupo carbonilo del éster y la desaparición de la señal a  $3580\text{ cm}^{-1}$  debida al -OH fenolico. En su espectro de  $^1\text{H-RMN}$  se observó la señal del hidrógeno furánico a 7.34 ppm, el cual muestra la interacción con los hidrógenos del metilo unido al carbono 14, así como la señal en 7.18 ppm correspondientes a los hidrógenos 5', 7' y 8' del naproxeno y en 4.04 ppm se observó un singulete del grupo  $\text{OCH}_3$  del hidrogeno 12'. En su espectro de  $^{13}\text{C-RMN}$  se observó la señal del grupo  $\text{OCH}_3$  del naproxeno en 56.97 ppm, así como señales entre 123.99-131.90 ppm debidas a los carbonos de los metilenos del naproxeno, así también señales entre 11.26-29.68 ppm debidas a los carbonos de los metilos y metilenos del cacalol. El espectro de masas presentó el pico al ión base  $m/z$  a 230 y ión molecular a  $m/z$  443 que corresponde al peso molecular del éster esperado. Con ayuda de sus espectros COSY e HÉTCOR se pudo corroborar que estaba

unido el grupo –OH del cacalol y el grupo –COOH del naproxeno, formando el éster. Ver figura 4 [4a], espectros 2,3,4, 5, 6 y 7 [anexo 1]. Los espectros COSY e HÉTCOR son bidimensionales.

Como se observaron que en estas condiciones de reacción el cacalol no se hidrolizaba y además si se formaba el éster, se decidió volver a utilizar esas condiciones de reacción para obtener el éster del ibuprofeno. Se siguieron las mismas condiciones de trabajo, obteniéndose un compuesto sólido de color café. En su espectro de infrarrojo se observó la banda en  $1760\text{ cm}^{-1}$  correspondiente al grupo carbonilo del éster, en su espectro de  $^1\text{H-RMN}$  se observó la señal del hidrógeno furánico a 7.3 ppm, así como la señal en 0.91 1.3 y 1.6 ppm correspondientes a los hidrogenos 12',13',9' y 11' del ibuprofeno, en el espectro de  $^{13}\text{C-RMN}$  se observó la señal para el ibuprofeno a 126.98 ppm, 127.53 ppm y 129.31 ppm de los carbonos 5',3' y 2', en su espectro de masas presentó el pico base a m/z a 230 y el ión molecular a m/z 418. Con ayuda de sus espectros de COSY e HÉTCOR se determinó la obtención del éster entre el cacalol y el ibuprofeno. Ver figura 4 [4b], espectros 8,9,10,11,12 y 13. [Anexo 1].

Por otra parte se trabajó con el piquerol A, metabolito bioactivo de la planta *Piquería trinervia* que ha presentado actividades como herbicida, molusquicida, antipirético entre otras, es poco estable, la extracción se hizo a temperatura ambiente. Primeramente se siguieron las condiciones que permitieron obtener los ésteres 4a y 4b, es decir, obteniendo el cloruro del ácido y luego el fenolato de sodio, pero en el caso del piquerol A no se obtuvo ningún producto homogéneo que fuera congruente con lo esperado por los datos de RMN, IR y EM. Así mismo, ocurrió con las diferentes condiciones de reacción que se utilizaron para obtener el éster del piquerol A. La esterificación del piquerol A es afectado por el grupo voluminoso de la molécula del naproxeno, reduciendo la posibilidad de reacción en grado considerable. En consecuencia es posible que los alcoholes secundarios del piquerol A estén más impedidos y sean menos reactivos. Cabe mencionar que el

piquerol A es un metabolito con diferentes tipos de doble ligaduras y que pudo tener una reacción de hidrólisis o deshidratación previa, por lo que no se llevó a cabo la esterificación.

Se hizo otro intento con ibuprofeno, partiendo del supuesto de que los ácidos carboxílicos, al reaccionar con un alcohol en presencia de un ácido, se convierten directamente en un éster, en este caso se utilizó el método propuesto por González de la Parra, Jiménez [ 11 ] haciendo la interpretación de sus espectros de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  y EM no se observaron las señales características del piquerol A, por lo que hizo suponer que la molécula sufrió una reacción de hidrólisis por las diferentes condiciones de reacción como fueron ácidas y básicas.

Mecanísticamente, estas sustituciones se realizaron por medio de la adición de un nucleófilo al grupo carbonilo polar del derivado de ácido, seguida de la expulsión de un grupo saliente. La reacción de un derivado de ácido hacia la sustitución depende tanto del entorno estérico alrededor del grupo carbonilo como de la naturaleza electrónica del sustituyente.

### **5.1 Pruebas biológicas.**

En este trabajo como primera instancia se evaluó el efecto que ejerce los ésteres sintetizados del cacalol y naproxeno, sobre el edema inducido por TPA en ratón. Dicho efecto se comparó con el antiinflamatorio ketoprofeno. Se observó que dichos ésteres **4a** y **4b** no difirieron significativamente de los valores correspondientes al grupo control, motivo por el cual se les consideró sin actividad. En otra prueba biológica que se llevó a cabo fue de analgesia, utilizando el método de la plancha caliente y comparando con el mismo antiinflamatorio, ketoprofeno

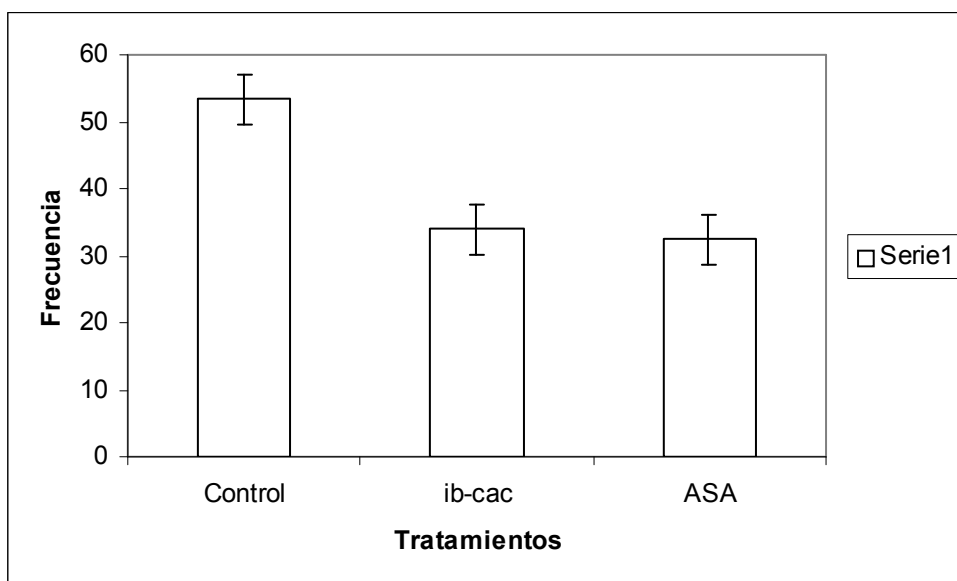
,en dicha prueba se observó una ligera actividad del éster **4b**, lo que nos llevó a realizar otra prueba, también de actividad analgésica utilizando el modelo writhing inducido con ácido acetilsalicílico. Tanto el compuesto como el ácido acetilsalicílico se administraron por vía oral. Transcurrida una hora, se administró por vía intraperitoneal con una dosis de 0.1 ml/10g de una solución de ácido acético al 0.5% para inducir la respuesta de writhing. Inmediatamente después el animal se colocó en un cilindro de acrílico transparente y se registraron el número de writhings durante 20 min.

El modelo de writhing en ratones consistió en inducir una respuesta de irritación acompañada de dolor en el estomago del animal por medio del ácido acético, el animal al sentir dolor estiro sus extremidades posteriores y presento sumido el estomago. Los writhigs se contaron cada vez que el animal estiraba las extremidades posteriores.



Muestra	Dosis (mg/Kg)	Writhings (frecuencia)	Inhibición (%)
Control	-	53.3±3.81	-
Ib-cac	100	33.89±3.67 **	36.42
Ácido acetilsalicílico	250	32.40±3.78 **	39.21

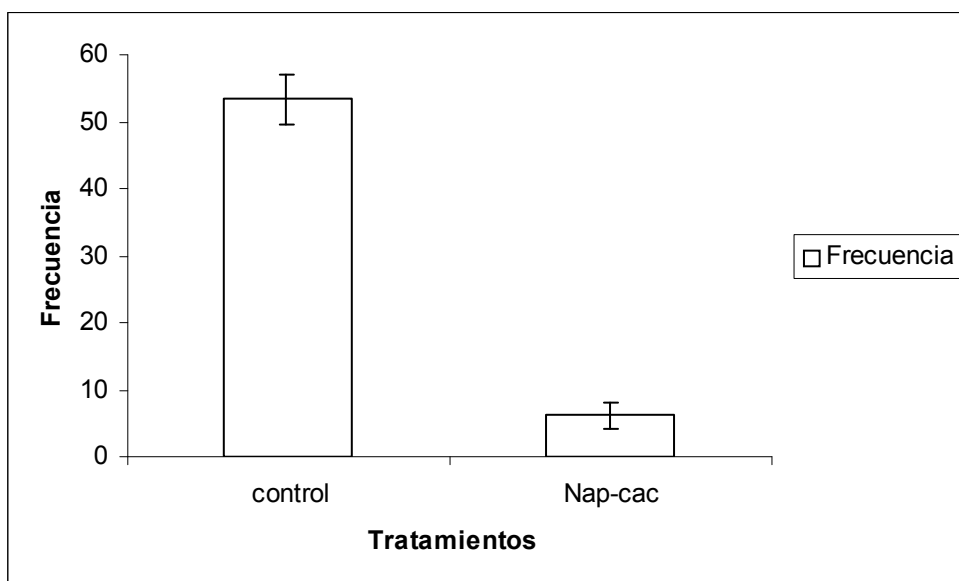
Tabla 1. Resultados del modelo writhing del éster del ibuprofeno con el cacalol. Los datos representan el promedio de diez animales  $\pm$  el error estándar de la media ( $\bar{x} \pm EEM$ ). Los resultados se analizaron mediante una prueba de Mann-Whitney y los valores de  $p \leq 0.05$  (\*) y  $p \leq 0.01$  (\*\*) se consideraron como diferencia significativa con respecto al control.



Grafica 1. Resultados del modelo writhing del éster ibuprofeno-cacalol

Muestra	Dosis (mg/kg)	Writhings (frecuencia)	Inhibición (%)
Control	-	53.3±3.81	-
Nap-Cac	100	6.18±1.95	77.15

Tabla 2. Resultados del modelo writhing del éster del naproxeno con el cacalol. Los datos representan el promedio de diez animales  $\pm$  el error estándar de la media ( $\bar{x} \pm EEM$ ). Los resultados se analizaron mediante una prueba de Mann-Whitney y los valores de  $p \leq 0.05$  y  $p \leq 0.01$  se consideraron como diferencia significativa con respecto al control.



Grafica 2. Resultados del modelo writing del éster naproxeno-cacalol.



## 6. SECCIÓN EXPERIMENTAL.

El curso de las reacciones y las fracciones eluidas de las columnas cromatográficas, se siguieron por cromatografía en capa fina (CCF). El adsorbente y la fase móvil utilizados en las columnas cromatográficas se especifican en los experimentos. En la CCF se utilizaron cromatoplasmas de gel de sílica ALUGRAM/SIL G/uv 254 y la cromatografía en placa preparativa (CCP) en cromatoplasmas ALUMGRAM SIL 100 G/ uv 254. Las placas cromatográficas eluidas se visualizaron con ayuda de una lámpara de luz ultravioleta a una longitud de onda de 254 nm y 365 nm posteriormente se revelaron con una solución de sulfato cerico al 1% en ácido sulfúrico 2 N.

Los extractos fueron concentrados por evaporación del disolvente en un rotavapor. El naproxeno e ibuprofeno se adquirieron en ALDRICH con números de catálogo 28 474-2 y 27 652-9. Grado de pureza 99.9%

Los espectros de RMN  $^1\text{H}$  y RMN  $^{13}\text{C}$  se registraron en un equipo Varian a 300MHz, Varian-Gemini 200 MHz y Eclipse 300 MHz JEOL; utilizando en todo los casos disolventes deuterados y tetrametilsilano (TMS) como referencia interna. Fueron llevados a cabo en el Instituto de Química, UNAM. Los desplazamientos químicos están expresados en partes por millón ( $\delta$ ) en relación al tetrametilsilano. Las abreviaturas utilizadas son: s=singlete, d=doblete, dd=doble de doble y m=multiplete.

Los espectros de infrarrojo (IR) se registraron en los instrumentos Perkin-Elmer 283B y Nicolet Magna IR TM 750.

Los datos de espectrometría de masas (EM) fueron registrados con un espectrómetro por la técnica de impacto electrónico JEOL JMS-AX 5505 HA y fueron obtenidos a 70 eV . Los espectros de RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , IR, EM, COSY e HETCOR de los compuestos estudiados se presentan en el Anexo 1.

### 6.1 Obtención de compuestos.

**Obtención y fraccionamiento del extracto hexánico.** Las raíces de la planta *Psacalium decompositum* A.Gray (500 g) fueron cortadas en pequeños trozos y puestas en contacto con hexano a temperatura ambiente en una columna durante un día. Terminado el proceso , se destiló el hexano a presión reducida. El residuo obtenido (9.25 g) fue un aceite rojizo con olor característico; dicho residuo se fraccionó por cromatografía en columna de gel de silica con un gradiente de polaridad creciente de Hex-AcOEt. De la elución de la columna se eligieron 3 fracciones (2.82 g) que contenían el cacalol puro, obteniéndose un sólido ligeramente amarillo con un punto de fusión de 92-94°C, con un  $R_f=0.66$  en Hex-AcOEt (8:2,v/v); **RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):** s (ppm); 1.18 (d,3H, $\text{CH}_3$ ,H-15); 1.75(m, 4H, H-3,H-2); 2.36 (d,3H, $\text{CH}_3$ ,H-13); 2.52 (s,3H, $\text{CH}_3$ ,H-14); 3.22 (m, 1H, H-4); 7.24 (m, 1H,H-12).

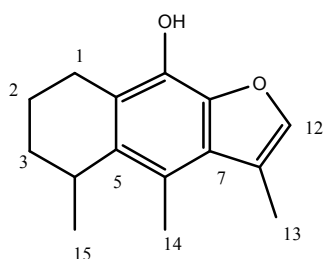
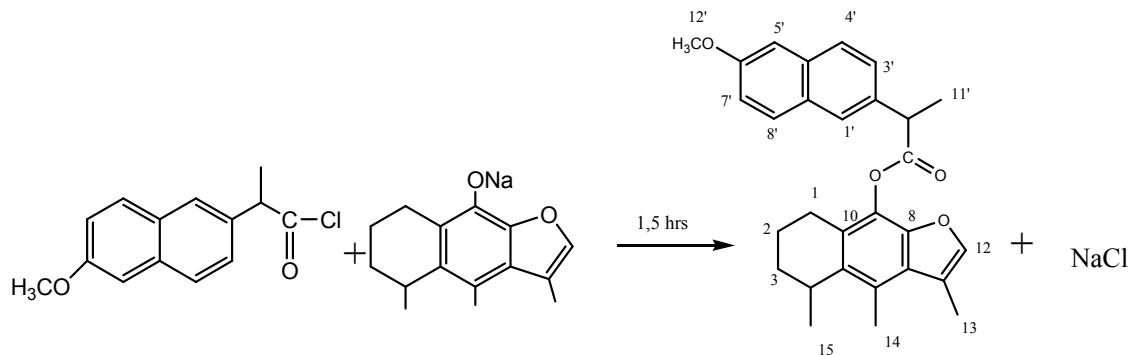
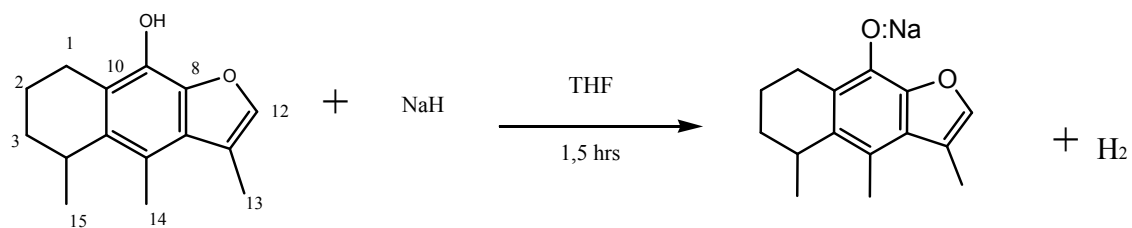
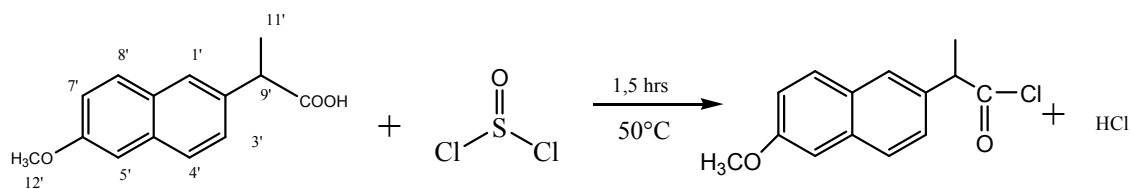


Figura 6.1 Estructura del cacalol.

**1. Reacción de esterificación del cacalol y naproxeno.** En un matraz bola (matraz 1) se colocaron 115.6 mg (0.502 mmol) de naproxeno disueltos en 7.5 mL de cloruro de tionilo, el matraz se conectó a un refrigerante en posición de reflujo y se colocó una trampa de cloruro de calcio por 1 hora 30 minutos, a 50 °C y en agitación magnética. Pasado este tiempo se dejó enfriar la reacción y el disolvente se destiló a presión reducida. En un matraz bola (matraz 2) se colocaron 115.8 mg (0.503 mmol) de cacalol, 2.3 mg de hidruro de sodio y 2 mL de tetrahidrofurano seco en agitación magnética por 1 hora a temperatura ambiente cumplido el tiempo de la reacción a este matraz se le agregó la mezcla de reacción del matraz 1, se conectó a un refrigerante en posición de reflujo por 1 hora y con agitación magnética. La mezcla de reacción se extrae con agua-AcOEt, hasta un pH neutro y se trató con sulfato de sodio anhidro. Los disolventes se destilan a presión reducida obtuyéndose un sólido café. La mezcla de productos se separó mediante cromatografía en placa de gel de silica con un gradiente Hex-AcOEt 8:2 v/v obteniéndose 95.1 mg (42.83 %) de un sólido café. El compuesto presento un  $R_f = 0.63$  en hex.-AcOEt (8:2, v/v.). **IR (  $\text{CHCl}_3$   $\text{cm}^{-1}$  ) v:** 2932,2857,1458 (C-H alifatico); 1602, 1630, 1663 (C=C aromático ); 1753 ( C-O-C-ester );  **$^1\text{H RMN (CDCl}_3, 300 \text{ MHz ) p (ppm):$**  1.18 (d,3H, J= 7.2 MHz  $\text{CH}_3$ , H-15); 1.80 (d, 7H, J= 7.2 MHz H-4, H-3, H-2, H-1); 2.35 (d, 3H, J= 1.2 MHz  $\text{CH}_3$ , H-13); 2.53 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ , H-11'); 4.04 (s,  $-\text{OCH}_3$ , H-12'); 7.18 (d, 2H,J=1.2 MHz H-7', H-8'); 7.32 (d,2H, J=9.3 MHz H-5',H-7'); 7.67 (dd, 2H, J=1.8 MHz H-3', H-4'); 7.80 (d, 1H, J=1.5 MHz H-1', H-3');  **$^{13}\text{C RMN (CDCl}_3, 75 \text{ MHz):$**  s 11.26 (C-11'); 45.27 (C-9'); 56.97 (C-12'); 113.97 (C-5'); 123.99 ( C-7'); 126.59 (C-1'); 126.75 (C-3'); 127.03 ( C-4'); 127.69 (C-8'a); 127.86 (C-8'); 129.56 (C-4'a); 131.90 (C-2'); 131.31 (C-6'); 14.22 (C-14); 18.70 (C-15); 16.43 (C-3); 21.32 (C-2); 23.21 (C-1); 28.82 (C-4); 29.68 (C-12). **EM m/z:** 230  $\text{M}^+$ , 184, 219, 246, 442, 476; Ver anexo 1 espectros 2,3,4,5,6 y 7.



Si se obtuvo

Figura 6.2 Secuencia de reacciones para la obtención del éster del cacalol-naproxeno.

**2. Reacción de esterificación del cacalol y el naproxeno.** La reacción de esterificación se llevó a cabo de acuerdo al método descrito por M. González de la Parra et al., 1999,[11] con ácido para-toluensulfónico / tolueno.

En un matraz bola se colocaron 115.7 mg (0.503 mmol) de cacalol, 115.5 mg (0.502 mmol) de naproxeno, 9.5 mg de ácido para-toluensulfónico disueltos en 8 ml de tolueno. El matraz bola se conectó a un refrigerante en posición de reflujo por 4 horas a 120 °C con agitación magnética. Transcurrido este tiempo el disolvente se destiló a presión reducida. Se obtuvo un aceite café. La mezcla de productos se separó mediante cromatografía en columna (utilizando gel de silica y un gradiente de hexano como eluyente) obteniéndose 23.8 mg (11%) de un aceite de color café, con un  $R_f = 0.60$  en Hex-AcOEt ( 8:2, v/v) .

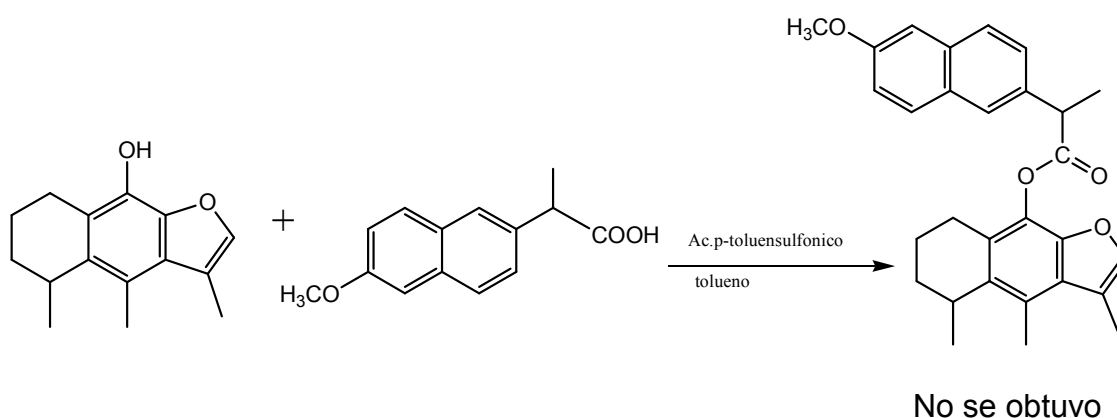


Figura 6.3 Reacción del cacalol y el naproxeno.

**3. Reacción de esterificación del cacalol y el naproxeno.** En un matraz Erlenmeyer de 25 mL se colocaron 230.9 mg (1.003mmol) de cacalol y se agregaron 230.4 mg (1.001mmol) de naproxeno disuelto en 1 mL de piridina. La mezcla de reacción se vertió en un matraz bola que contenía 7 mL de cloruro de tionilo y 2 mL de benceno, obteniéndose una solución de reacción de color café. La mezcla se mantuvo con agitación por 2 horas a temperatura ambiente.



Transcurrido este tiempo se agregó a la mezcla de reacción diclorometano y el disolvente se destiló a presión reducida obteniéndose un aceite café-rojizo. La mezcla de productos se separó mediante cromatografía preparativa de gel de silica con Hex-AcOEt 8:2 v/v como eluyente obteniéndose 30.85 mg (7 %) de un sólido de color café con un  $R_f=0.65$ .

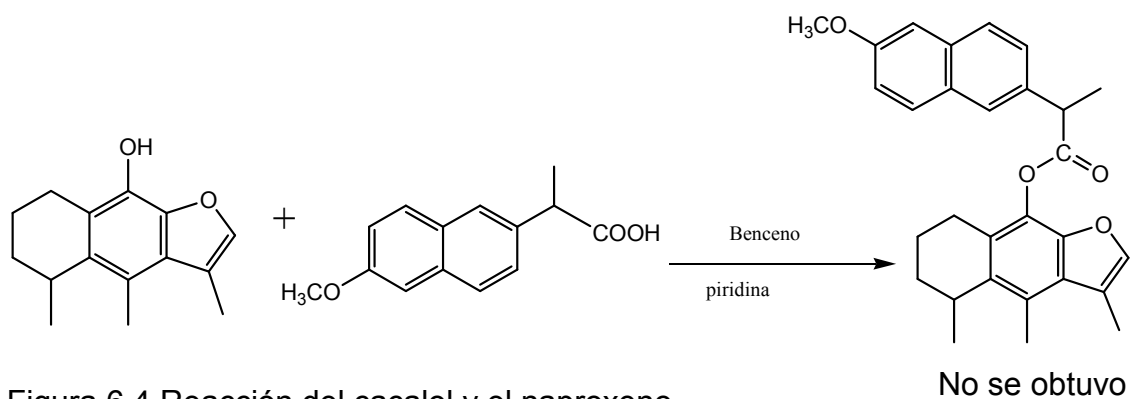
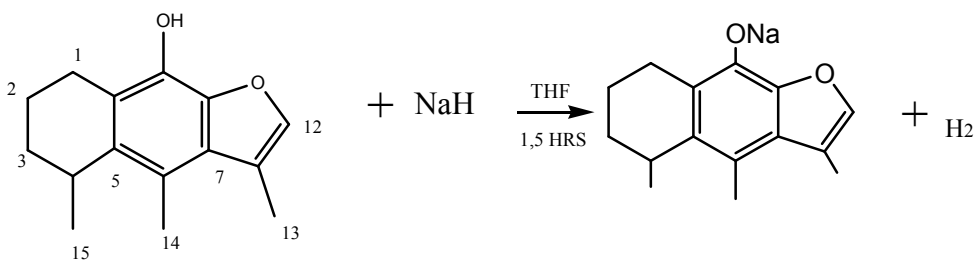
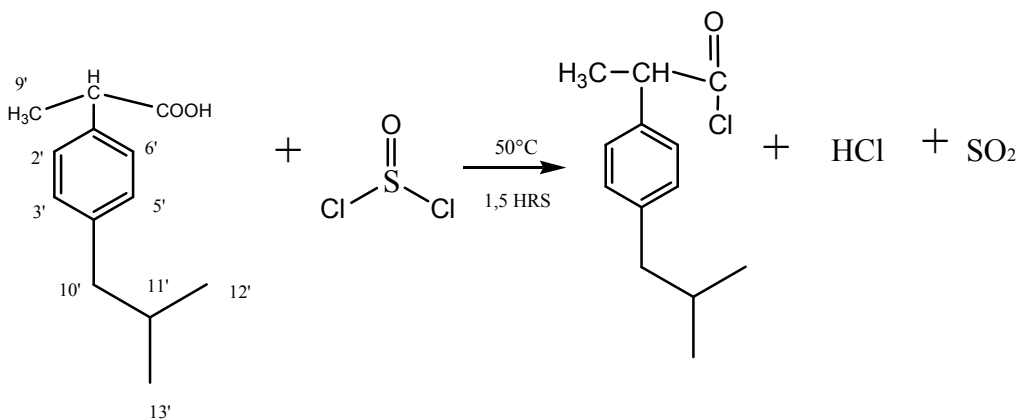


Figura 6.4 Reacción del cacalol y el naproxeno.

**4. Reacción de esterificación del cacalol y el ibuprofeno.** En un matraz bola (matraz 1) se colocaron 208.2 mg (0.9052 mmol) de ibuprofeno disueltos en 8 mL de cloruro de tionilo, el matraz se conectó a un refrigerante en posición de reflujo y se colocó una trampa de cloruro de calcio, se calentó por 1 hora 30 minutos, a 50 °C y con agitación magnética. Pasado este tiempo se dejó enfriar la reacción y el disolvente se destiló a presión reducida. En un matraz bola (matraz 2) se colocaron 228.7 mg (0.994 mmol) de cacalol, 3.3 mg de hidruro de sodio y 3 mL de tetrahidrofurano seco con agitación magnética por 1 hora sin calentar. Al matraz 2 se le agregó la mezcla de reacción del matraz 1, el matraz de reacción se conectó a un refrigerante en posición de reflujo y se calentó por 1 hora y con agitación magnética. La mezcla de reacción se extrajo con H<sub>2</sub>O- AcOEt, hasta un pH neutro y se trató con sulfato de sodio anhidro. Los disolventes se destilaron a presión reducida obteniéndose un sólido café. La mezcla de productos se separó mediante cromatografía en placa de gel de silica con un gradiente Hex-AcOEt 8:2 v/v obteniéndose 198.7 mg (50.76 %) de un sólido café. El compuesto presentó

un Rf= 0.55 en Hex-AcOEt (8:2, v/v). **<sup>1</sup>H RMN (300MHz,CDCl<sub>3</sub>)** :δ 0.91 (d, J=6.45 Hz, 6H, H-12',H-13'); 1.15 (dd, J=3.51 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>, H-15); 1.3 (s, 3H, H-9'); 1.6 (t, J= 7.05 Hz, 1H, H-11'); 1.9 (m, 7H, H-4, H-3, H-2, H-1); 2.3 (d, 3H, CH<sub>3</sub>, H-13); 2.4 (s, 2H, H-10'); 2.52 (s, 3H, CH<sub>3</sub>, H-14); 3.2 (t, J=9.39 Hz, 1H, H-7');7.15 (d, J= 8.22 Hz, 2H, H-2', H-6'); 7.3 (dd, J= 8.22 Hz, 2H, H-3', H-5'); **<sup>13</sup>C-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)** ; δ 11.27 (C-13); 14.21 (C-14); 16.41 (C-15); 18.33 (C-9'); 21.30 (C-3); 21.33 (C-2); 22.32 (C-12', C-13'); 22.99 (C-1); 28.83 (C-4); 29.86 (C-11'); 30.23 (C-2); 45.05 (C-10'); 126.98 (C-5'); 127.53 (C-3'); 129.31 (C-2'); 131.32 (C-6'); 135.28 (C-1'); 140.70 (C-4'). **IR (CHCl<sub>3</sub> cm<sup>-1</sup>) v** :2953.69, 2929.77, 2868.37, 1454.21(C-H alifatico);1760.35 ( C-O-C- ester ); 1575.25 (C=C aromático ); **EM m/z**: 230 M<sup>+</sup> 215,418. Ver anexo 1 espectros 8,9,10,11,12 y 13 .



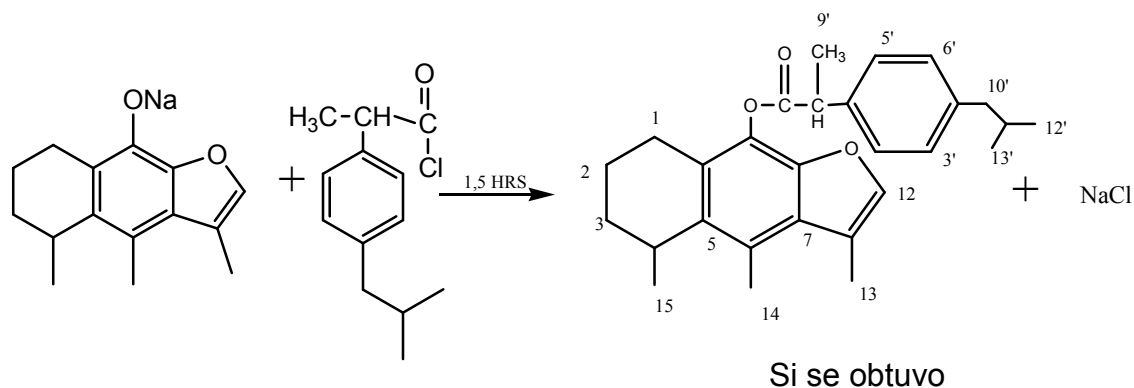


Figura 6.5 Secuencia de reacción para la obtención del éster del cacalol-ibuprofeno.

**Obtención y fraccionamiento del extracto.** La planta *Piqueria trinervia* se recolectó en el Ajusco de la Ciudad de México fue fragmentada de partes aéreas ( hojas y flores ) y puesta en contacto (500g) con agua a temperatura ambiente en una columna durante un día. Terminado este tiempo se hizo una separación liquido-liquido con diclorometano, y se puso en recipientes de vidrio para que se evaporara el agua, obteniéndose un aceite de color café-rojizo con olor característico. A los recipientes de vidrio se les agregó MeOH para separar el aceite formado, al evaporarse el disolvente se obtuvieron 1.98 g de producto crudo y se recristalizó de acetona-diclorometano, y se obtuvieron cristales de color blanco, con un  $R_f = 0.66$  en Hex-AcOEt (7:3,v/v), que se identificó como el piquerol A por  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , ppm) :  $\delta$  6.05 (m, 2H, H-2 , H-3); 5.8 (m, H-1, H-4); 5.4 (d, H-1, H-7); 4.45 (m, H-10); 3.6 (d, H-5); 1.8 (m, H-9).

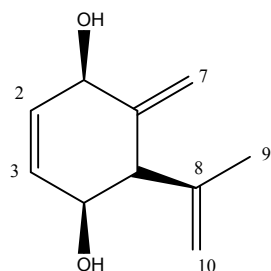
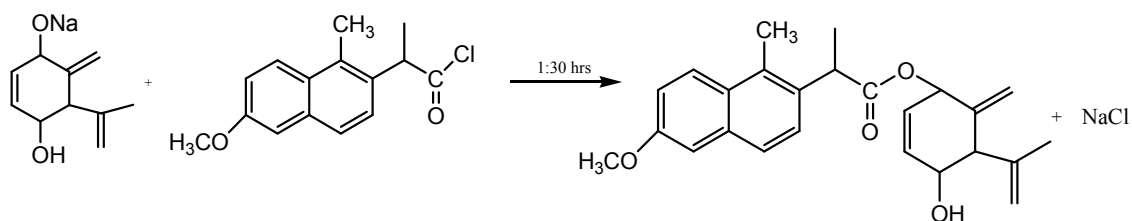
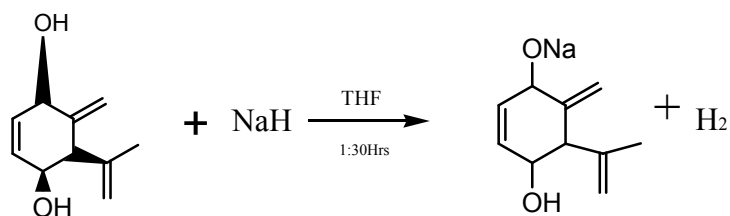
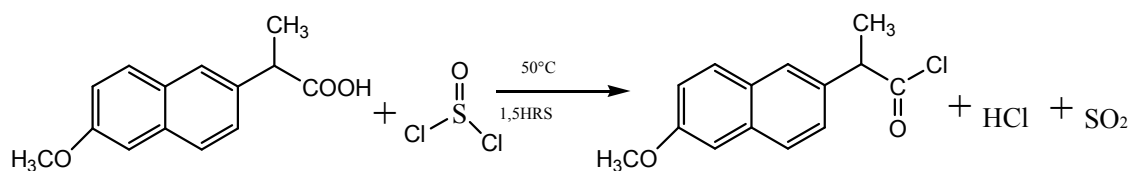


Figura 6.6 Estructura del piquerol A.

**I. Reacción de esterificación del piquerol A y naproxeno.** En un matraz bola (matraz 1) se colocaron 116.1 mg (0.504 mmol) de naproxeno disueltos en 7.5 mL de cloruro de tionilo, el matraz se conectó a un refrigerante en posición de reflujo y se colocó una trampa de cloruro de calcio por 1 hora 30 minutos, a 50 °C y en agitación magnética. Pasado este tiempo se dejó enfriar la reacción y el disolvente se destiló a presión reducida. En matraz bola (matraz 2) se colocaron 84.9 mg (0.51 mmol) de piquerol A, 2.1 mg de hidruro de sodio y 2 mL de tetrahidrofurano seco en agitación magnética por 1 hora sin calentar. Al matraz 2 se le agregó la mezcla de reacción del matraz 1, el matraz de reacción se conectó a un refrigerante en posición de reflujo por 1 hora y con agitación magnética. La mezcla de reacción se extrae con H<sub>2</sub>O- AcOEt, hasta un pH neutro y se trató con sulfato de sodio anhidro. Los disolventes se destilaron a presión reducida obteniéndose un sólido café. La mezcla de productos se separó mediante cromatografía en placa de gel de silica con un gradiente Hex-AcOEt 7:3 v/v obteniéndose 26.6 mg (13.86 %) de un sólido café. El compuesto presentó un R<sub>f</sub> = 0.59 en Hex-AcOEt (7:3, v/v).

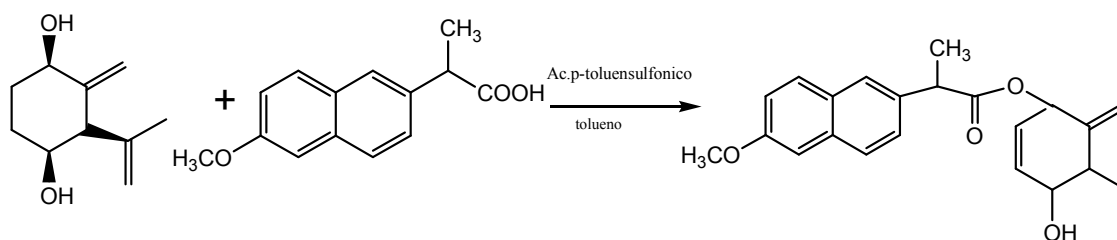


No se obtuvo

Figura 6.7 Secuencia de reacciones para la obtención del éster del piquerol A-naproxeno.

**II. Reacción de esterificación del piquerol A y el naproxeno.** La reacción de esterificación se llevó a cabo de acuerdo al método descrito por M. González de la Parra et., al 1999, con ácido para-toluensulfónico / tolueno. En un matraz bola se colocaron 165.4 mg (1.0 mmol) de piquerol A, 232 mg (1.0 mmol) de naproxeno, 9.5 mg de ácido para-toluensulfónico disueltos en 7 ml de tolueno. El matraz bola se conectó a un refrigerante en posición de reflujo por 5 horas a 30 °C

con agitación magnética. Transcurrido este tiempo el disolvente se destiló a presión reducida. Se obtuvo un aceite café. La mezcla de productos se separó mediante cromatografía en columna ( utilizando gel de silica y hexano como eluyente) obteniendo 30.5 mg (8.04 % ) de un aceite de color café, con un Rf= 0.63 en Hex-AcOEt ( 7:3, v/v) .



No se obtuvo

Figura 6.8 Reacción del piquerol A y del naproxeno.

**III. Reacción de esterificación del piquerol A y el naproxeno.** En un matraz Erlenmeyer de 25 mL se colocaron 166.2 mg (1.0mmol) de piquerol A y se agregaron 232.6 mg (1.0 mmol) de naproxeno disuelto en 3 mL de piridina. La mezcla de reacción se vació en un matraz bola que contenía 3 mL de cloruro de tionilo y 3 mL de benceno, obteniéndose una solución de mezcla de reacción de color café, se mantuvo con agitación por 4 horas sin calentamiento, transcurrido este tiempo se agregaron, 20 mL de agua y diclorometano ,el disolvente se destilo a presión reducida obteniéndose un aceite café oscuro. La mezcla de productos se separó mediante cromatografía preparativa de gel de silica y un gradiente de Hex-AcOEt 99:1 v/v como eluyente obteniéndose 33.6 mg ( 8.8 %) de un sólido de color café con un Rf= 0.58.

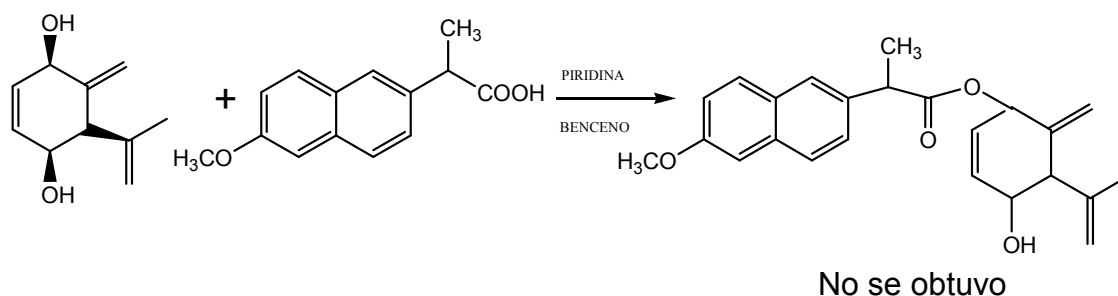
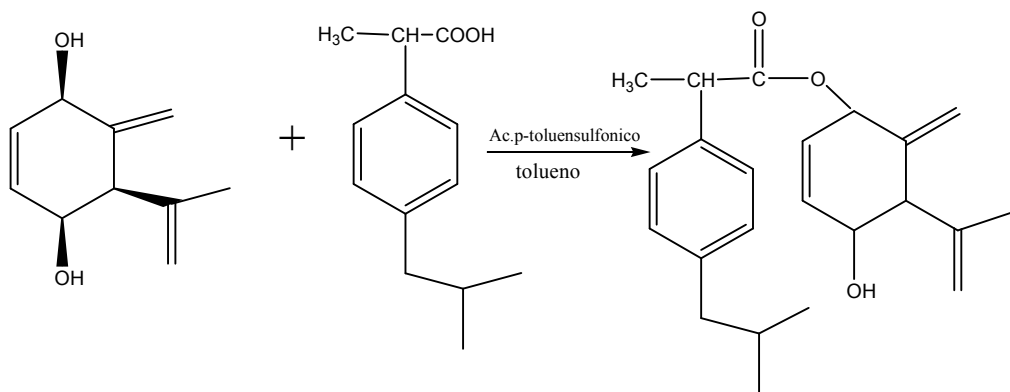


Figura 6.9 Reacción del piquerol A y del naproxeno.

**IV. Reacción de esterificación del piquerol A y el naproxeno.** En un matraz bola se colocaron 300 mg de carbonildiimidazol disueltos en 5 mL de diclorometano, a la solución anterior se le añadieron 132.3 mg (0.57 mmol) de naproxeno. El matraz se conectó a un refrigerante en posición de reflujo con una trampa de cloruro de calcio, con agitación magnética y se calentó a 30 °C por 2 horas. Transcurrido este tiempo se le agrego 83.6 mg (0.5 mmol) de piquerol A y 2 mL de diclorometano, se continuó la agitación magnética y el calentamiento por 4 horas, transcurrido el tiempo se agregaron 25 mL de diclorometano y la solución orgánica se lavó con bicarbonato de sodio al 10 %, agua destilada y solución saturada de cloruro de amonio y se trató con sulfato de sodio anhidro, se destiló el disolvente por presión reducida. Se obtuvo un aceite de color café. Se purificó por cromatografía en columna de gel de silica con un gradiente de hexano como eluyente, obteniéndose 102.5 mg (46.69 %) de un sólido de color amarillo. Con un  $R_f = 0.57$  en Hex-AcOEt (7:3, v/v).

**V. Reacción de esterificación del piquerol A y el ibuprofeno.** La reacción de esterificación se llevó a cabo de acuerdo al método descrito por M. González de la Parra et.,al, 1999, con ácido para-toluensulfónico / tolueno. En un matraz bola se colocaron 83 mg (0.5 mmol) de piquerol A, 147 mg (0.5 mmol) de ibuprofeno, 9.5 mg de ácido para-toluensulfónico disueltos en 10 ml de tolueno.

El matraz bola se conecto a un refrigerante en posición de reflujo y se calentó por 5 horas a 30 °C con agitación magnética. Transcurrido este tiempo el disolvente se destiló a presión reducida sin usar calentamiento. Se obtuvo un aceite café. La mezcla de productos se separo mediante cromatografía en columna ( utilizando gel de silica y hexano como eluyente) obteniendo 46.3 mg ( 24.16 % ) de un aceite de color café, con un Rf=0.63 en Hex-AcOEt ( 7:3, v/v ) .



No se obtuvo

Figura 6.10 Reacción del Piquerol A con el ibuprofeno.

**Parte biológica.** Los animales (ratones) se mantuvieron a 24-25 °C con un foto periodo 12 hr/12 hr luz-oscuridad, con libre acceso a agua. Se mantuvieron en ayuno durante 16 horas previas al experimento. El compuesto (ésteres del cacalol-naproxeno y cacalol-ibuprofeno, cada uno por separado) se disolvió en DMSO



equivalente al 10 % del volumen total de la solución y después se agregó la mezcla Tween 20-metil celulosa para completar el volumen requerido. El compuesto, así como el vehículo y el ácido acetilsalicílico se administraron por vía oral. Transcurrida una hora, después que se administró los ésteres cada uno por separado se administraron por vía intraperitoneal 0.1 ml por cada 10 g de peso del animal (0.1 ml/10 g) de una solución de ácido acético al 0.6 % para inducir la respuesta de writhing. Inmediatamente después el animal se colocó en un cilindro de acrílico transparente y se registraron el número de writhings durante 20 min.

## 7. CONCLUSIONES.

Primeramente los metabolitos bioactivos de las plantas *Psacalium decompositum* y *Piqueria trinervia*, cacalol y piquerol A, respectivamente se extrajeron de su fuente natural obteniéndose con buenos rendimientos.

En las reacciones para obtener los ésteres de naproxeno y del ibuprofeno con el cacalol, la reacción de sustitución nucleofílica en el acilo fue la más favorecida. El piquerol A en las condiciones que se usaron no formó ésteres con el naproxeno y el ibuprofeno.

Los ésteres **4a** y **4b** presentaron actividad analgésica equivalente a la obtenida con el ácido acetilsalicílico empleando una dosis 2.5 veces menor. Es decir, se requiere menos cantidad que una aspirina y debe tener más actividad.

En relación con la actividad antiinflamatoria no se obtuvo actividad.

A pesar de que los resultados obtenidos son preliminares estos son prometedores, ya que hacen ver cierta potencialidad en los ésteres obtenidos, pudiendo servir como precursores para otras actividades farmacológicas.

## 8. BIBLIOGRAFÍA.

1. [www.abc.medicus.com/articulo](http://www.abc.medicus.com/articulo). Artículo /218/Dolor,Ningun Maligno 2006 enero.
2. Goodman y Gilman. Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica, Vol II. Novena edición. Editorial Mac-GrawHill Interamericana, México, **1996**.
3. Gualde, N. La reacción inflamatoria: una defensa agresiva. Mundo Científico 60,6,766-774, **1994**.
4. Sigal, E. The molecular biology of mammalian arachidonic acid metabolism. American Physiological Society L13-L26, **1991**.
5. Schmidt, G.; Giner R.; Mordojovich, P.; Rios, J. Antiinflammatory effects of South American Tanacetum vulgare. Journal of Pharmacy and Pharmacology 50, 1069-1074 ,**1998**.
6. Scherrer, R.; Whitehouse, M. Antiinflammatory agents. Chemistry and Pharmacology Vol II, pp 40-48, **1974**.
7. [www.rxlist.com.monograph](http://www.rxlist.com.monograph). Monografías. 2006 febrero.
8. Soderman, W.; Soderman T. Cellular and molecular foundations of immunity, immunologic inflammation and hypersensitivity. 7a Ed, Cap 4, USA, pp 113-511, **1985**.
9. Bonta,J.L.; Bray, M .A. The Pharmacology of inflammation. Handbook of Inflammation. Elsevier vol 5 pp 27-39, **1987**.
10. Jankowski, C.; LeClair, G.; Jiménez, M.; Chilpa, R. Spectroscopy, 18, 485-500, **2004**.
11. González de la Parra, M.; Ramos, C.; Jiménez, M.; Tejeda, V. ATLA, 26, 635-647, **1998**.
12. González de la Parra, M.; Jiménez, M.; Tejeda, V. ATLA, 27,461-469, **1999**.
13. [fcmfajardo.sld.cu/cev2002/trabajos/02antiinflamatorio](http://fcmfajardo.sld.cu/cev2002/trabajos/02antiinflamatorio). 2006 febrero
14. Testa, B.; Fuhrer, W. Perspectives in Medicinal Chemistry, Switzerland cap 30, pp 475-487. **1993**.

15. Heinrich, M, Robles, M.; West, J. E. Ethnopharmacology of Mexican Asteracea (Compositae). Annual Reviews of Pharmacology and Toxicology 38, 539-565, **1998**.
16. Instituto Nacional Indigenista. Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana, vol II, **1996**.
17. Robles, M.; Aregullin, M.; West, J. Recent Studies on the Zoopharmacognosy, Planta Medica, 61 199-203, **1995**.
18. Jiménez, M.; Navarro, A.; Reyes, R. *J. Agricultural and Food Chemistry*. 44, 2839-2841, **1996**.
19. Saad, I.; Diaz, E.; Jiménez, M.; Rubluo, A. Pergamon. *Phytochemistry*, 55, 51-55, **2000**.
20. Martinez, M . Las Plantas Medicinales de Mexico. 4ª Ed. Ediciones Botas, Mexico, pp. 217-220, **1959**.
21. Diaz, J.L Usos de las Plantas Medicinales de Mexico. Monografias Cientificas II. Editor Instituto Mexicano para el Estudio de las Plantas Medicinales; México , **1976**.
22. Romo,J and Joseph-Nathan, P. The Constituents of Cacalea decomposita A. Gray, Structures of Cacalol and Cacalone. *Tethahedron*, 20:2331, **1964**.
23. Soriano-Garcia, M.; Walls, F.; Yuste, F. *Acta Cryst*, 43: 1805, **1997**.
24. Jiménez E, M.; Lozano R,C.; Valdes M. J.; Leon C,J,R: Actividad Antimicrobiana del Cacalol y sus Derivados. *Revista Latinoamericana de Quimica*, 23/1 y 22/4, 14, **1992**.
25. Delgado,G.;Garduño R,L.; Navarro,V. *J Nat Prod*, 200,64: 432-435.
26. Handbook of Reagents for Organic Syntensis. Activating Agents and Protecting groups. Edited by Pearson and Roush. pp.370-373.
27. Helferich, B.; Schaefer, W. *OSC*, 1,147, **1932** .
28. Womack, E. B.; McWhhirter, J. *OSC*, 3, 714, **1955**.

29. Fuson, R. C.; Walker, J. T. OSC, 2,169, **1943**.

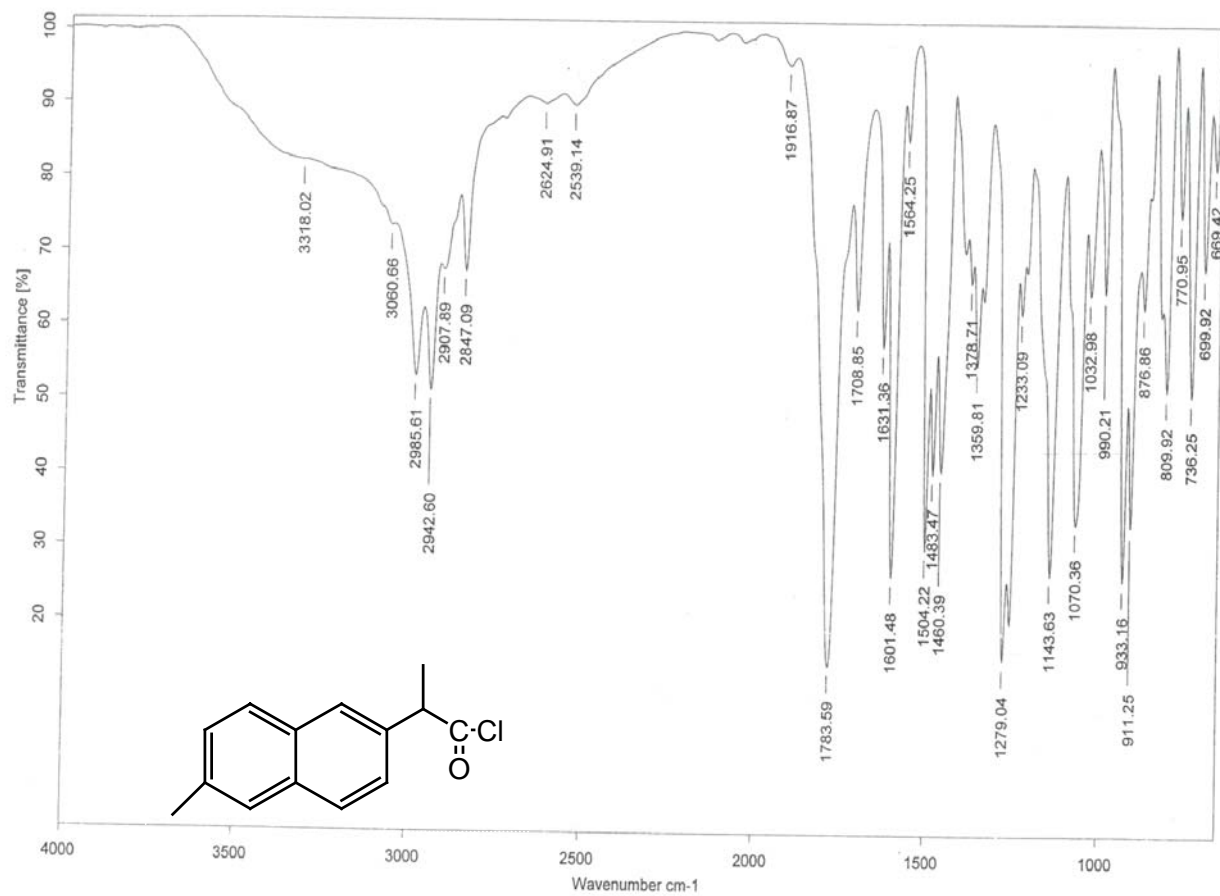
30. Sandler, S. R.; Karo, W. Organic Functional Group Preparations, 2<sup>nd</sup> ed.; Academic: Orlando, Vol. 1, p 157, **1983**.

31. Lin, Y.; Shau, T. J. Molecular Catalysis. 24-25,111-120, **2003**.

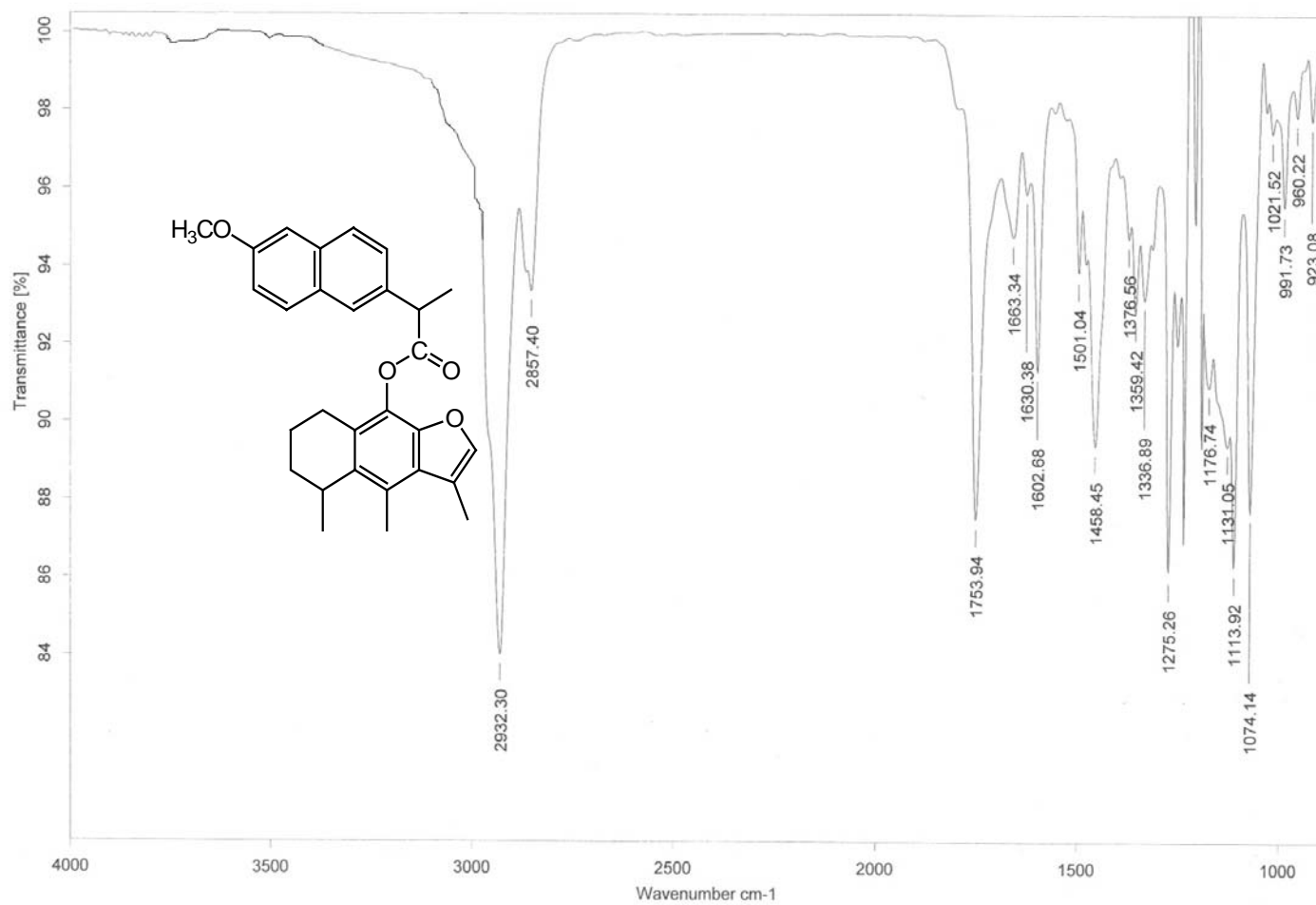
32. Brown, R.; Casalnuovo, A.; Chan, D. Tetrahedron, 60, 4361-4375, **2004**.

# **ANEXO 1**

Instituto de Química, UNAM

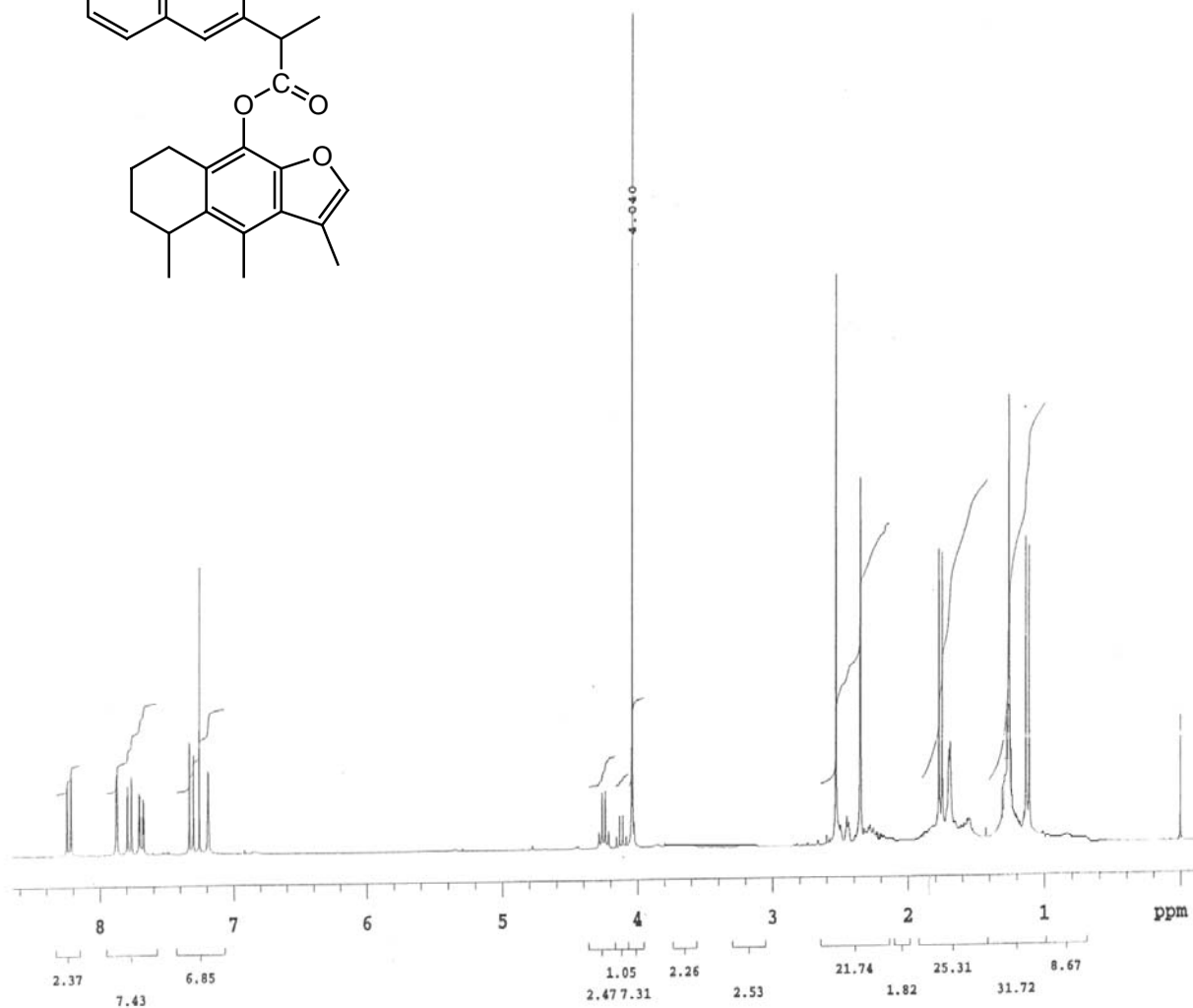
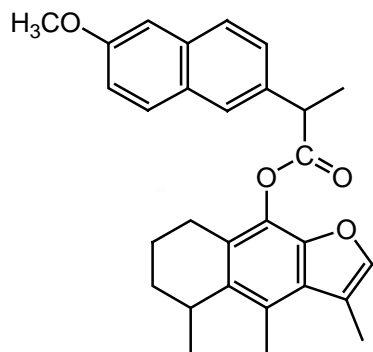


Espectro No 1

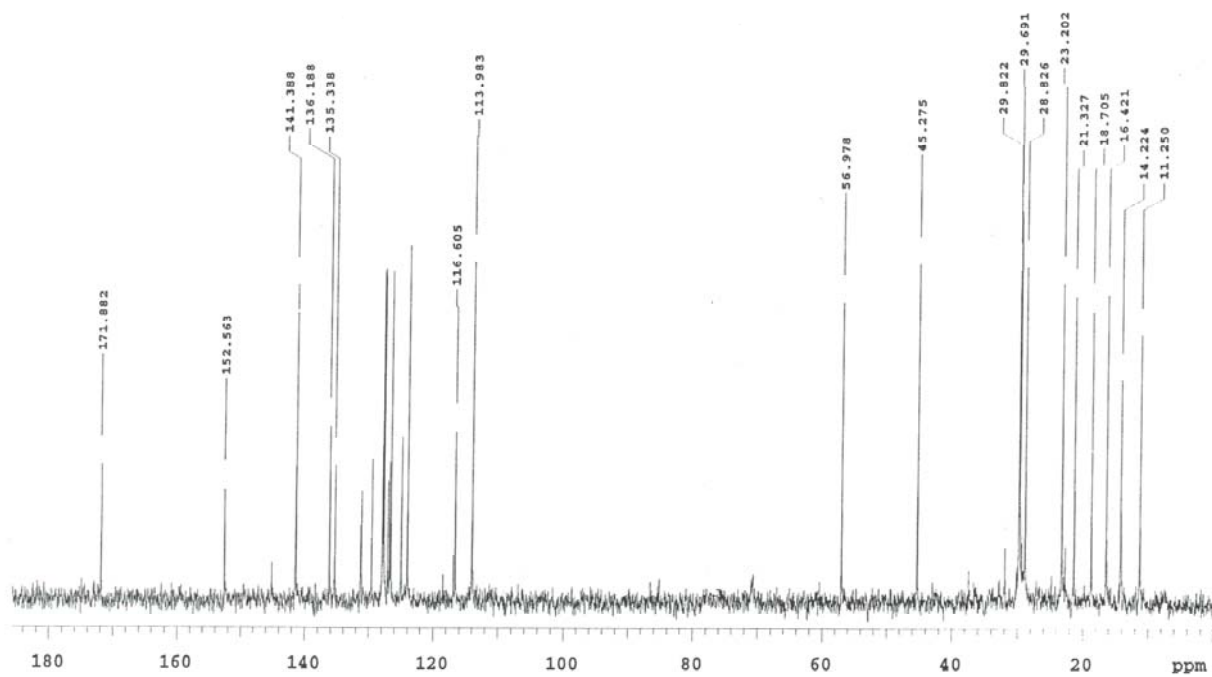
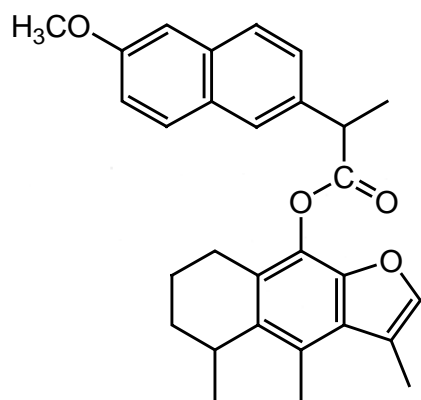


Espectro No 2

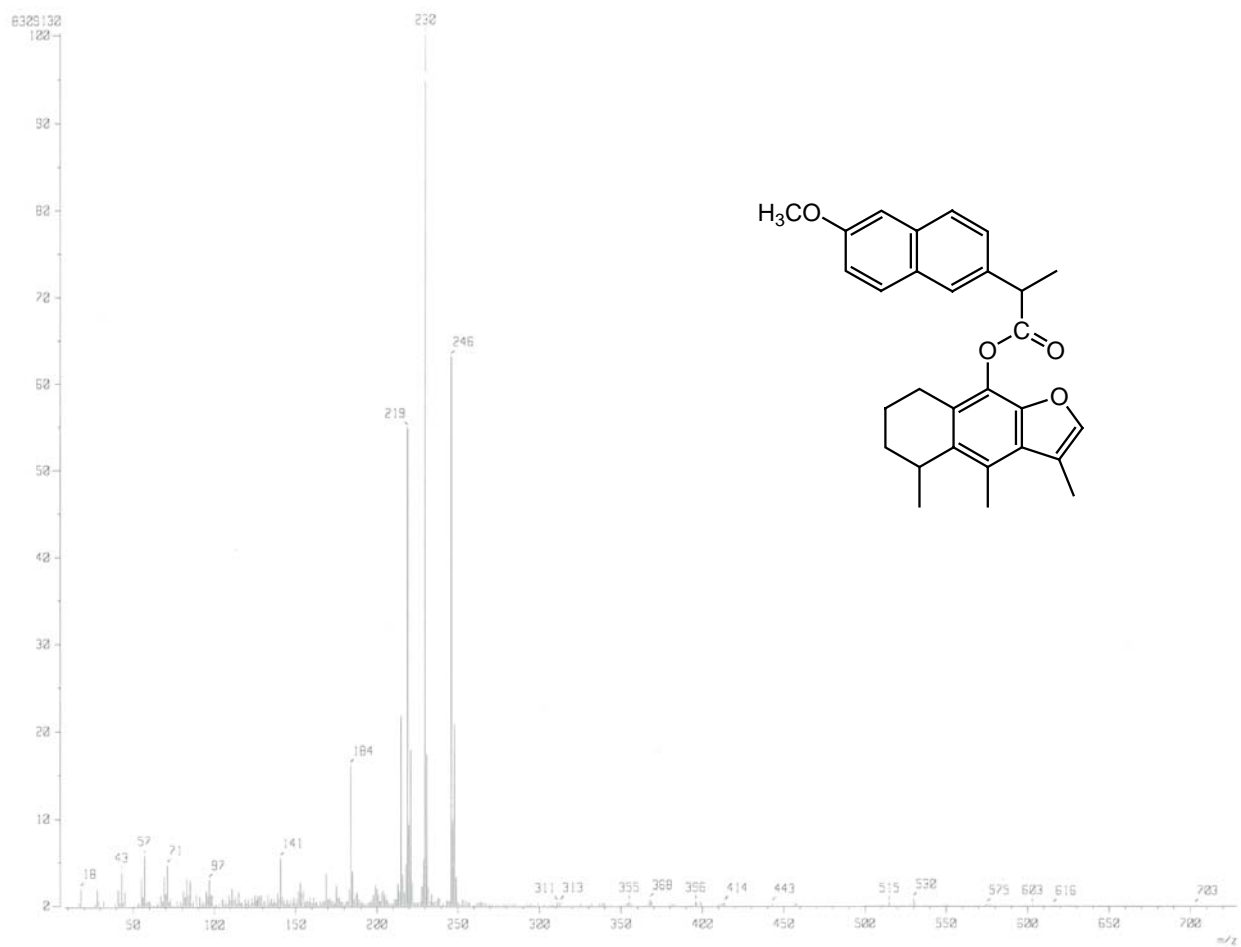




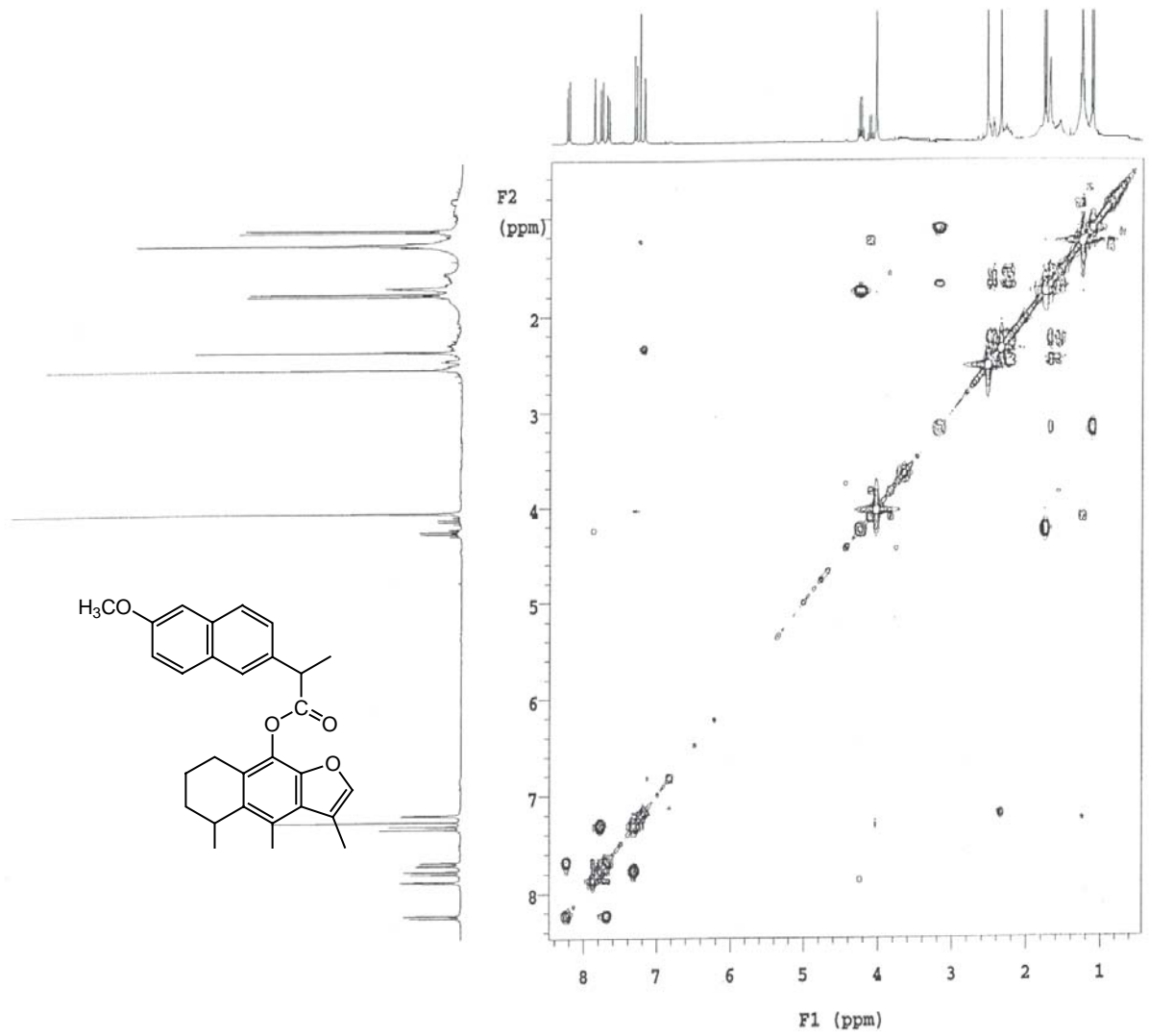
Espectro No 3



Espectro No 4

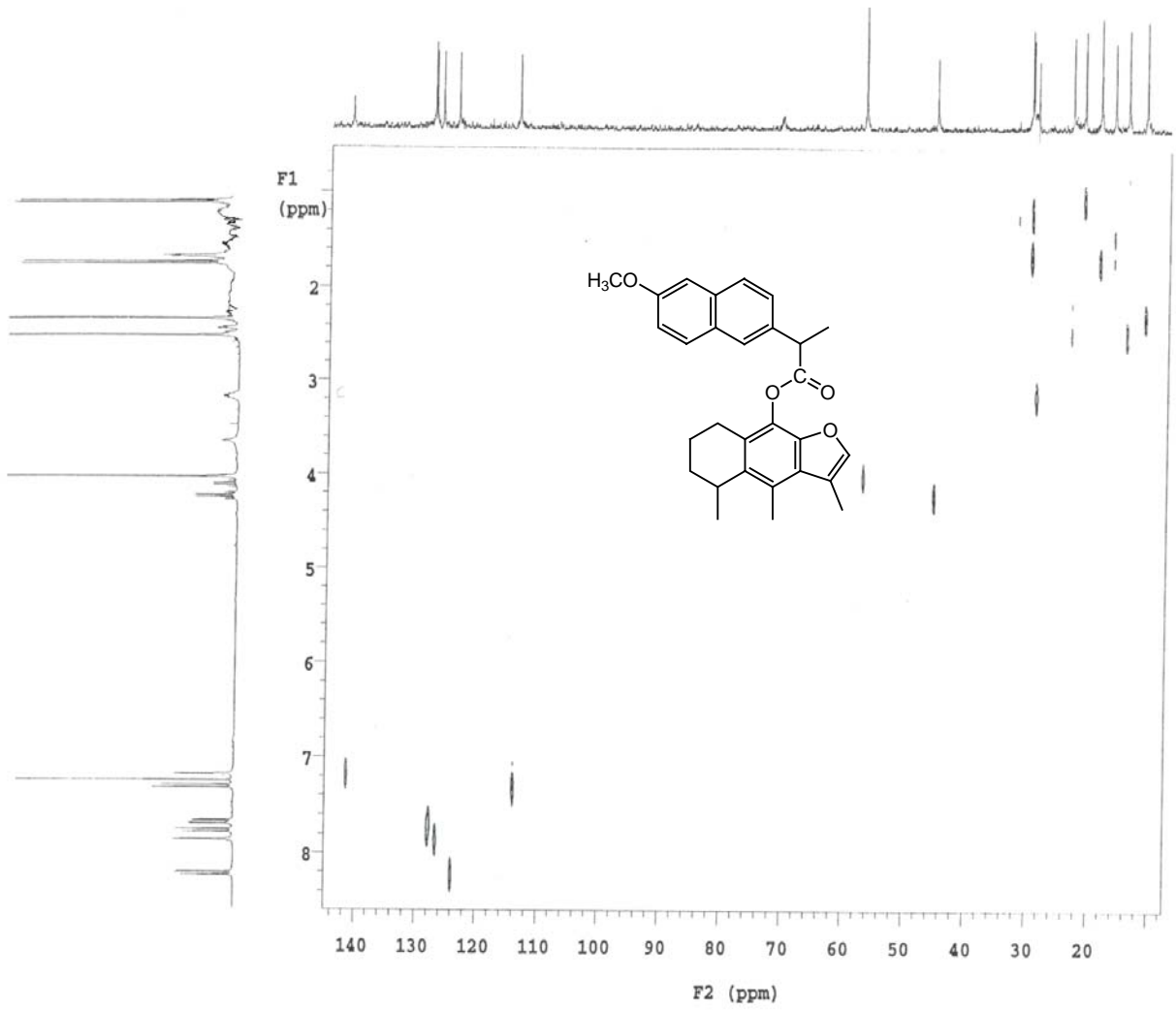


Espectro No 5



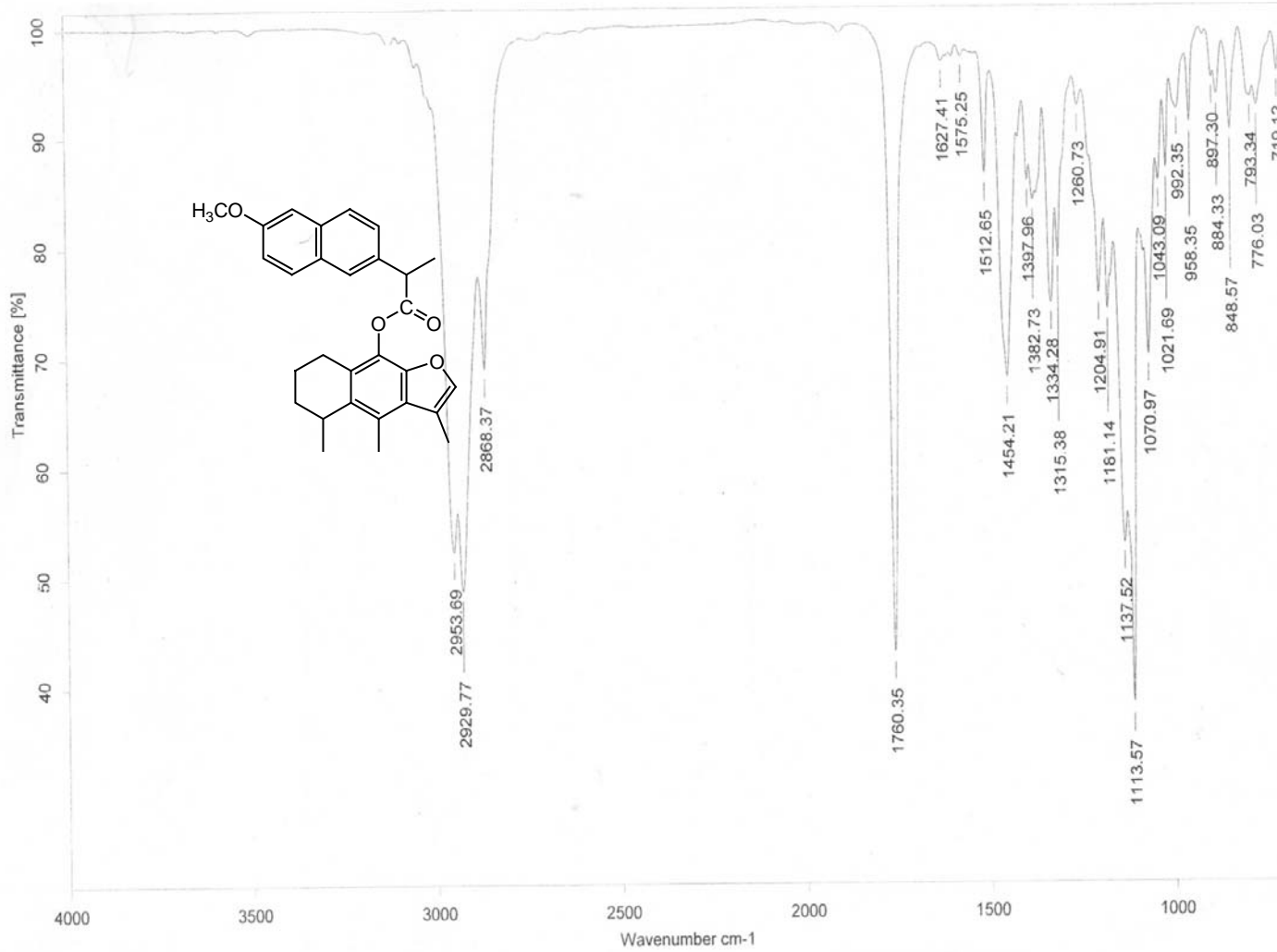
Espectro No 6



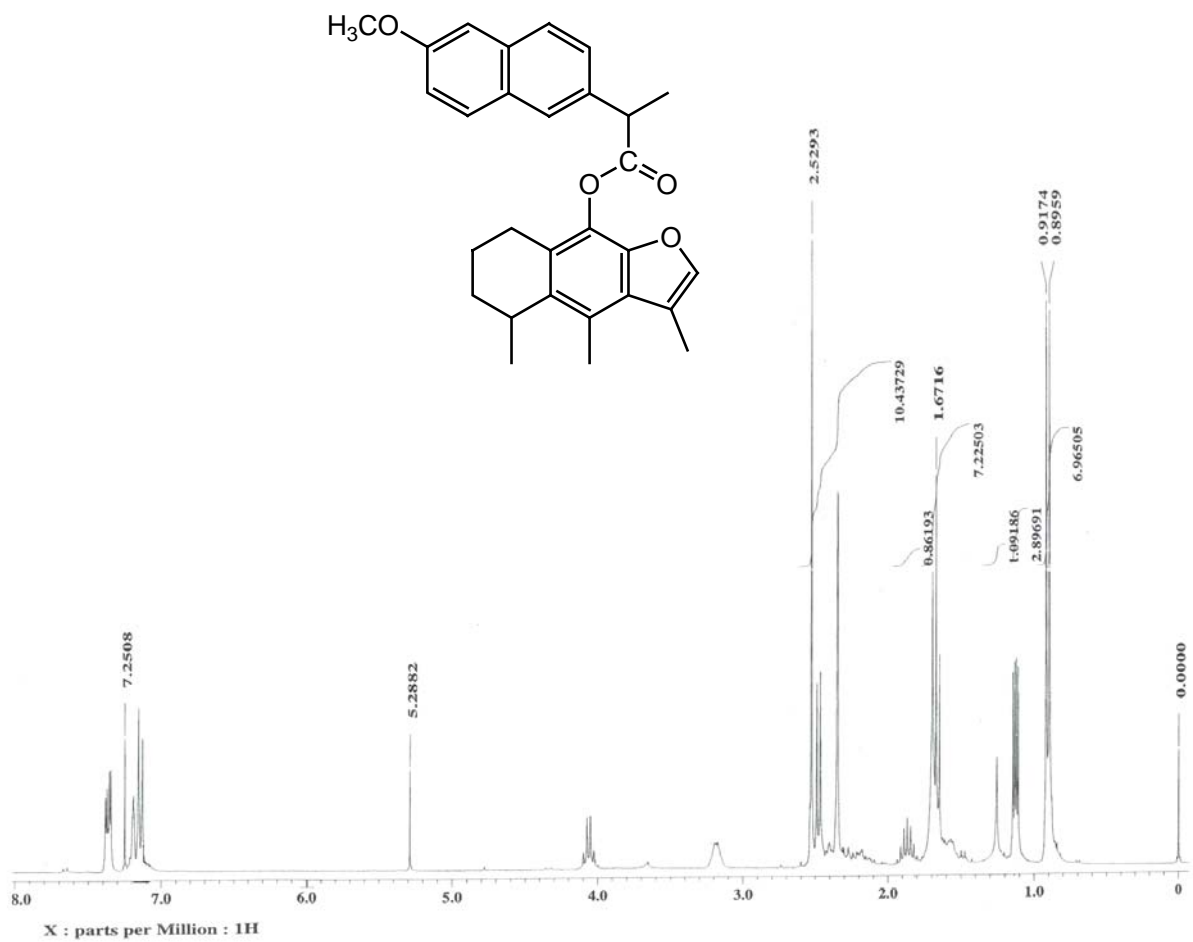


Espectro No 7

Instituto de Química, UNAM

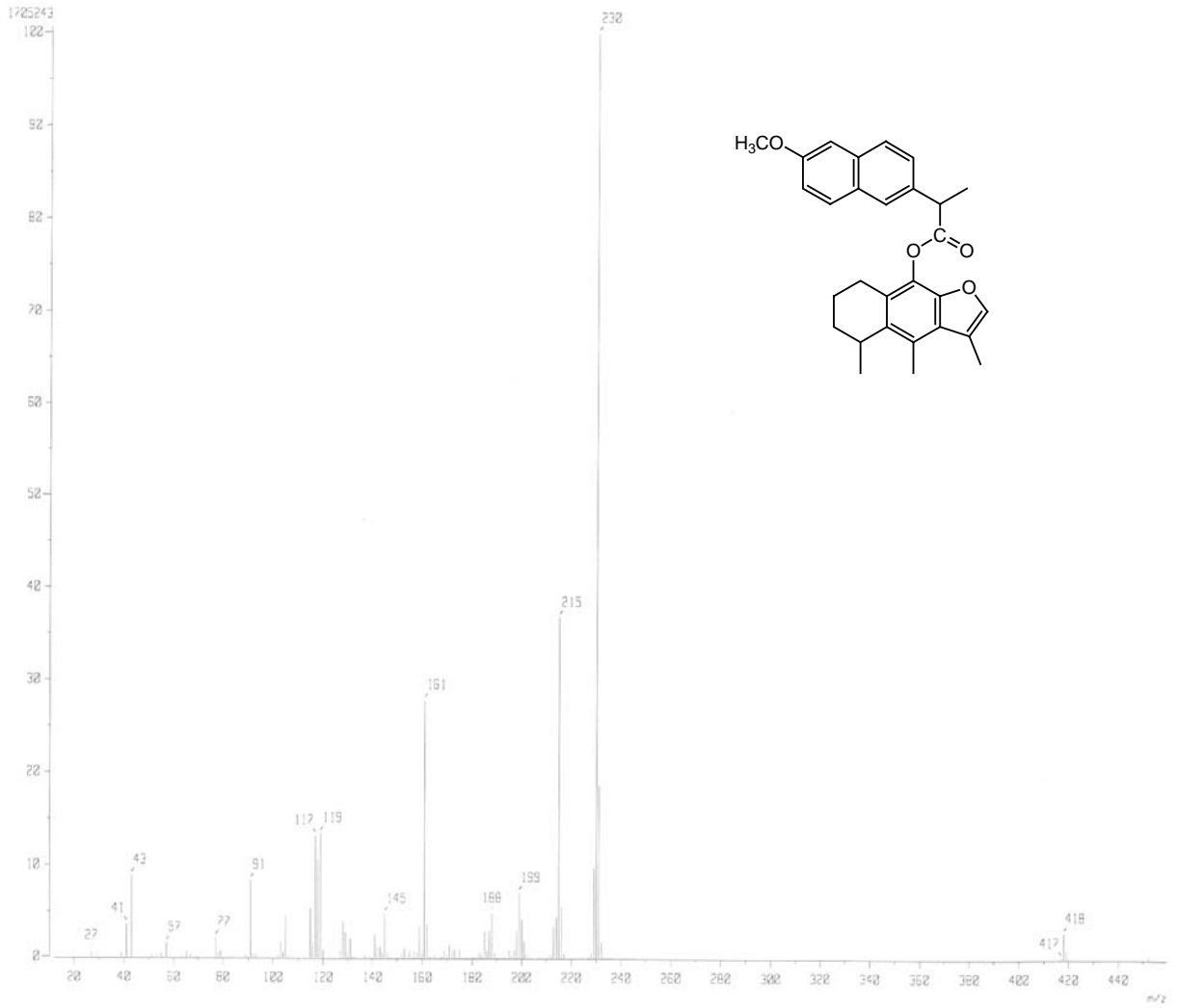


Espectro No 8

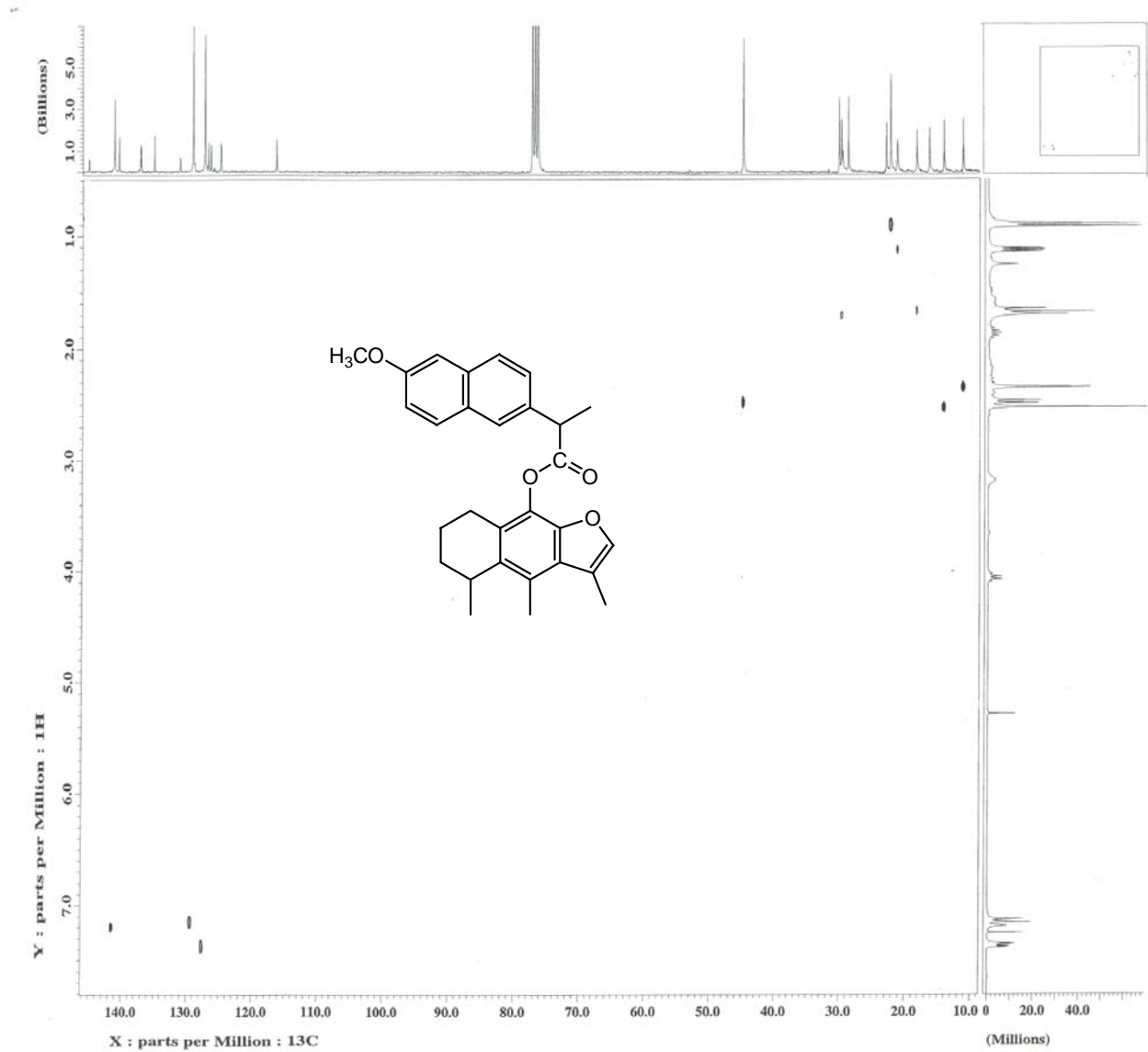


Espectro No 9





Espectro No 10



Espectro No 11

