



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE QUÍMICA

**“Síntesis, caracterización y actividad
antiprotozoaria de derivados de incomptina B”**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA**

PRESENTA

FABIOLA ANGÉLICA LÓPEZ HUERTA



MÉXICO, D.F.

2013



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.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE Profesor: MARIA ISABEL AGUILAR LAURENTS
VOCAL Profesor: ALFONSO SEBASTIAN LIRA ROCHA
SECRETARIO Profesor: ALFREDO ORTEGA HERNANDEZ
1^{ER} SUPLENTE Profesor: ARACELI PATRICIA PEÑA ALVAREZ
2^{DO} SUPLENTE Profesor: GUILLERMINA YAZMIN ARELLANO SALAZAR.

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

LABORATORIO 2-7, DEPARTAMENTO DE PRODUCTOS NATURALES, DEL INSTITUTO DE QUÍMICA
DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO.

ASESOR DEL TEMA:

Dr. Alfredo Ortega Hernández.

SUPERVISOR TÉCNICO:

Dr. Francisco Elihú Bautista Redonda.

SUSTENTANTE:

Fabiola Angélica López Huerta.



Decachaeta incompta (DC) R. M. King & H. Rob



ÍNDICE



Página

Lista de abreviaturas	IV
Lista de figuras	VI
Lista de esquemas	VI
Lista de tablas	VII
Lista de gráficas	VII
Lista de espectros	VIII
1. INTRODUCCION	1
2. ANTECEDENTES	3
2.1 Generalidades de <i>Entamoeba histolytica</i>	3
2.1.2 Morfología	3
2.1.2 Ciclo de vida	4
2.1.3 Manifestaciones clínicas	4
2.2 Generalidades de <i>Giardia lamblia</i>	6
2.2.1 Morfología	7
2.2.2 Ciclo de vida	7
2.2.3 Manifestaciones clínicas	9
2.2.4 Fármacos utilizados en el tratamiento de la giardiasis y la amibiasis	9
2.3 Las plantas como fuente de compuestos para el desarrollo potencial de fármacos	12
2.3.1 El papel de la medicina tradicional mexicana en el descubrimiento de compuestos antiprotozoarios	15
2.4 Género <i>Decachaeta</i>	16
2.4.1 Química del genero <i>Decachaeta</i>	17
2.4.2. <i>Decachaeta incompta</i>	20
2.4.2.2 Química de <i>D. incompta</i>	20
2.4.2.1 Actividad biológica de <i>D. incompta</i>	21
2.5 Lactonas sesquiterpénicas	23



2.5.1 Biogénesis del anillo de germacrano de las lactonas sesquiterpénicas	23
2.5.2 Biogénesis del anillo de lactona	24
2.5.3 Actividad biológica de las LS	27
2.6 Modificación molecular de compuestos naturales.	28
2.6.1 Modalidades del procedimiento de modificación molecular.....	28
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	29
4. HIPÓTESIS	29
5. OBJETIVOS	30
5.1 Objetivo general	30
5.2 Objetivos particulares	30
6. DESARROLLO EXPERIMENTAL	31
6.1 Métodos de separación	31
6.2 Determinación de las constantes físicas, espectroscópicas, y espectométricas	31
6.3 Síntesis de derivados de incomptina B.....	32
6.3.1 Síntesis de ésteres de incomptina B	32
6.3.2 Oxidación de la incomptina B en la posición C-8	33
6.3.3 Síntesis de éteres de incomptina B	34
6.4 Determinación de la actividad antiprotozoaria.....	35
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	37
7.1 Síntesis de ésteres de incomptina B	37
7.1.1 Compuesto I. 8-O-trifluoroacetil incomptina B	40
7.1.2 Compuesto II. 8-O-propanoil incomptina B	40
7.1.3 Compuesto III. 8-O-butanoil incomptina B.....	41
7.1.4 Compuesto IV. 8-O-isobutanoil incomptina B	41
7.1.5 Compuesto V. 8-O-pentanoil incomptina B	42
7.1.6 Compuesto VI. 8-O-metacriloil incomptina B	42
7.2 Oxidación de la incomptina B en la posición C-8	43
7.2.1 Compuesto VII. 8-dehidroincomptina B	43



7.3 Síntesis de éteres de incompina B	44
7.3.1 Compuesto VIII. 8-O-metil incompina B	44
7.3.2 Compuesto IX. 8-O-etil incompina B	45
7.3.3 Compuesto X. 8-O-propil incompina B	45
7.3.4 Compuesto XI. 8-O-isopropil incompina B	46
7.4 Resultados de la actividad antiprotozoaria de los derivados de incompina B.	47
8. CONCLUSIONES.....	53
9. Bibliografía	54
10. ESPECTROS	61



LISTA DE ABREVIATURAS.

Abreviatura	Significado
ADN	Ácido desoxirribonucleico
ARN _m	Ácido ribonucleico mensajero
DL ₅₀	Dosis letal media
mg	Miligramo
kg	Kilogramo
µg/mL	Microgramo por cada mililitro
mL	Mililitro
CH ₂ Cl ₂	Diclorometano
CI ₅₀	Concentración inhibitoria media
IR	Infrarrojo
RMN de ¹ H	Resonancia magnética nuclear de hidrogeno
RMN de ¹³ C	Resonancia magnética nuclear de carbono 13.
mmol	Milimol
UV	Ultravioleta
nm	Nanómetro
N	Normal
H ₂ SO ₄	Ácido sulfúrico
°C	Grado Celsius
H ₂ O	Agua
AcOEt	Acetato de etilo
HCl	Ácido clorhídrico
NaHCO ₃	Bicarbonato de sodio
hrs	Horas
MeOH	Metanol
CH ₃ CN	Acetonitrilo
Ag ₂ O	Óxido de plata (I)



min	Minutos
<i>c</i>	Concentración
Pf	Punto de fusión
CHCl ₃	Cloroformo
Na	Sodio
$[\alpha]^{25}_D$	Rotación óptica específica (25°C, línea D del sodio)
ppm	Partes por millón
δ	Desplazamiento químico
<i>J</i>	Constante de acoplamiento
Hz	Hertz
MHz	Megahertz
d	Doblete
s	Singulete
m	Señal múltiple
EM	Espectometría de masas
pH	Potencial de hidrógeno
CDCl ₃	Cloroformo deuterado
PCC	Clorocromato de piridinio



LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Ciclo biológico de <i>Entamoeba Histolytica</i>	5
Figura 2. Ciclo biológico de <i>Giardia lamblia</i>	8
Figura 3. Fármacos utilizados en el tratamiento de la amibiasis y la giardiasis	10
Figura 4. Clasificación de las fuentes de nuevos medicamentos en el período comprendido entre enero de 1981 y diciembre de 2010.	13
Figura 5. El antimalárico quinina y algunos de sus derivados	14
Figura 6. El antimalárico artemisinina y algunos de sus derivados	15
Figura 7. Compuestos aislados de <i>D. haenkeana</i>	17
Figura 8. Compuestos aislados de <i>D. ovatifolia</i>	18
Figura 9. Compuestos aislados de <i>D. scrabella</i> y <i>D. thieleana</i>	19
Figura 10. Distribución geográfica de <i>D. incompta</i>	20
Figura 11. Estructura química de las incomptinas de <i>D. incompta</i>	21

LISTA DE ESQUEMAS

	Página
Esquema 1. Biogénesis del esqueleto de germacrano	23
Esquema 2. Biogénesis del anillo de lactona por la vía de la costunólida y la inunólida	24
Esquema 3. Biogénesis del anillo de lactona por la vía furanosesquiterpenos	25
Esquema 4. Relaciones biogenéticas entre las estructuras de las lactonas sesquiterpénicas.....	26
Esquema 5. Síntesis general de ésteres de incomptina B utilizando anhídridos de ácido.....	32
Esquema 6. Síntesis general de la oxidación de la incomptina B con clorocromato de piridinio (PCC)	33
Esquema 7. Síntesis general de éteres de incomptina B utilizando haloalcanos	34



LISTA DE TABLAS

	Página
Tabla 1. Actividad antiprotozoaria de las incomptinas presentes en <i>D. incompta</i>	22
Tabla 2. Sistemas de elución utilizados en CC y CCF.....	31
Tabla 3. Datos espectroscópicos de RMN de ^{13}C (CDCl_3 125 MHz, $\delta = \text{ppm}$) de la incomptina B.....	38
Tabla 4. Datos espectroscópicos de RMN de ^1H (CDCl_3 500 MHz, $\delta = \text{ppm}$, $J = \text{Hz}$) de incomptina B.	39
Tabla 5. Resultados de la actividad antiprotozoaria de los ésteres de incomptina ...	47
Tabla 6. Resultados de la actividad antiprotozoaria del compuesto de oxidación de la incomptina B en la posición C-8.....	49
Tabla 7. Resultados de la actividad antiprotozoaria de los éteres de incomptina B ..	50

LISTA DE GRÁFICAS

	Página
Gráfica 1. Actividad antiprotozoaria de los ésteres de incomptina B	48
Gráfica 2. Actividad antiprotozoaria de la 8-dehidroincomptina B	49
Gráfica 3. Actividad antiprotozoaria de los éteres de incomptina B.....	50
Gráfica 4. Actividad antiameba de los compuestos VI, VII y VIII.	51
Gráfica 5. Actividad anti-giardia de los compuestos I, VII y X.....	52



LISTA DE ESPECTROS



Página

Espectro 1. IR del Compuesto I. 8-O-trifluoroacetil incompitina B	62
Espectro 1. 1 EM (ESI+) del Compuesto I. 8-O-trifluoroacetil incompitina B	63
Espectro 1. 2 RMN ¹³ C del Compuesto I. 8-O-trifluoroacetil incompitina B	64
Espectro 1. 3 RMN ¹ H del Compuesto I. 8-O-trifluoroacetil incompitina B	65
Espectro 2. IR del Compuesto II. 8-O-propanoil incompitina B	66
Espectro 2. 1 EM (ESI+) del Compuesto II. 8-O-propanoil incompitina B	67
Espectro 2. 2 RMN ¹³ C del Compuesto II. 8-O-propanoil incompitina B	68
Espectro 2. 3 RMN ¹ H del Compuesto II. 8-O-propanoil incompitina B	69
Espectro 3. IR del Compuesto III. 8-O-butanoil incompitina B	70
Espectro 3. 1 EM (ESI+) del Compuesto III. 8-O-butanoil incompitina B	71
Espectro 3. 2 RMN ¹³ C del Compuesto III. 8-O-butanoil incompitina B	72
Espectro 3. 3 RMN ¹ H del Compuesto III. 8-O-butanoil incompitina B	73
Espectro 4. IR del Compuesto III. 8-O-isobutanoil incompitina B	74
Espectro 4. 1 EM (ESI+) del compuesto IV. 8-O-isobutanoil incompitina B	75
Espectro 4. 2 RMN ¹³ C del compuesto IV. 8-O-isobutanoil incompitina B	76
Espectro 4. 3 RMN ¹ H del compuesto IV. 8-O-isobutanoil incompitina B	77
Espectro 5. IR del Compuesto V. 8-O-pentanoil incompitina B	78
Espectro 5. 1 EM (ESI+) del Compuesto V. 8-O-pentanoil incompitina B	79
Espectro 5. 2 RMN ¹³ C del Compuesto V. 8-O-pentanoil incompitina B	80
Espectro 5. 3 RMN ¹ H del Compuesto V. 8-O-pentanoil incompitina B	81
Espectro 6. IR del Compuesto VI. 8-O-metacriloil incompitina B	82
Espectro 6. 1 EM (ESI+) del Compuesto VI. 8-O-metacriloil incompitina B	83
Espectro 6. 2 RMN ¹³ C del Compuesto VI. 8-O-metacriloil incompitina B	84
Espectro 6. 3 RMN ¹ H del Compuesto VI. 8-O-metacriloil incompitina B	85
Espectro 7. IR del Compuesto VII. 8-dehidroincompitina B	86
Espectro 7. EM (ESI+) del Compuesto VII. 8-dehidroincompitina B	87



Espectro 7. 2 RMN ^{13}C del Compuesto VII. 8-dehidroincomptina B.....	88
Espectro 7. 3 RMN ^1H del Compuesto VII. 8-dehidroincomptina B.	89
Espectro 8. IR del Compuesto VIII. 8-O-metil incomptina B.....	90
Espectro 8. 1 RMN ^{13}C del Compuesto VIII. 8-O-metil incomptina B.....	91
Espectro 8. 2 RMN ^1H del Compuesto VIII. 8-O-metil incomptina B	92
Espectro 9. IR del Compuesto IX. 8-O-etil incomptina B.....	93
Espectro 9. 1 RMN ^{13}C del Compuesto IX. 8-O-etil incomptina B.....	94
Espectro 9. 2 RMN ^1H del Compuesto IX. 8-O-etil incomptina B	95
Espectro 10. IR del Compuesto X. 8-O-propil incomptina B.....	96
Espectro 10.1 RMN ^{13}C del Compuesto X. 8-O-propil incomptina B... ..	97
Espectro 10.2 RMN ^1H del Compuesto X. 8-O-propil incomptina B... ..	98
Espectro 11. IR (KBr/pastilla) del Compuesto XI. 8-O-isopropil incomptina B	99
Espectro 11.1 RMN ^{13}C del Compuesto XI. 8-O-isopropil incomptina B.	100
Espectro 11.2 RMN ^1H del Compuesto XI. 8-O-isopropil incomptina B.....	101



1. INTRODUCCIÓN.

Las enfermedades diarreicas constituyen un factor importante de desnutrición, morbilidad y mortalidad. La Organización Mundial de la Salud (OMS) menciona que cada año se producen unos dos mil millones de casos de diarrea en todo el mundo.¹ En México, las enfermedades diarreicas ocupan uno de los primeros lugares como causa de morbilidad en niños menores de cinco años de edad, lo cual genera el 20% de la demanda de consulta en los servicios de salud y el 10% de las hospitalizaciones pediátricas.²

Entre los principales agentes causales de diarrea se encuentran los protozoarios *Entamoeba histolytica* y *Giardia lamblia*.³ A pesar de contar con fármacos para el tratamiento de la amibiasis y la giardiasis actualmente existe una creciente necesidad de nuevos compuestos seguros y biológicamente más activos que los existentes.⁴

Por otra parte, las plantas se han utilizado durante muchos siglos en la medicina tradicional como tratamientos para malestares que van desde dolores de cabeza hasta distintos tipos de infecciones, por lo que son una fuente de compuestos para el desarrollo de fármacos.^{5,6} En la medicina tradicional mexicana también se usa una amplia variedad de plantas en el tratamiento de los desórdenes gastrointestinales, por ejemplo: la prodigiosa (*Brickellia paniculata*), el árbol de manita (*Chiranthodredron pentadactylon*), pata de león (*Geranium mexicanum*), rosa de piedra (*Helianthemun glomeratum*), granada (*Punica granatum*), mora (*Rubus coriifolius*), epazote de zorrillo (*Teloxys graveolens*) y *Decachaeta incompta*.⁷

Las propiedades farmacológicas de estas plantas se deben al contenido y tipo de metabolitos secundarios presentes en su composición, sin embargo, menos del 10% de las plantas del mundo han sido investigadas científicamente por sus propiedades farmacológicas.⁹



Las estructuras químicas de sustancias naturales también, entre otras cosas, han servido como molde para la síntesis de compuestos⁵ con el fin de mejorar la actividad biológica que presentan.

Con base en lo anterior la presente tesis tuvo como propósito la obtención de derivados de incompina B (que es el metabolito mayoritario presente en las hojas de *D. incompita*), la determinación de su actividad antiprotozoaria y el análisis del efecto de estas modificaciones estructurales sobre dicha actividad en relación con la actividad de la incompina A, sustancia muy activa contra protozoarios.



2. ANTECEDENTES.

2. 1 Generalidades de *Entamoeba histolytica*.

La amibiasis es definida como la infección provocada por el protozooario *Entamoeba histolytica*.^{10,11}

Existe discrepancia en el número de personas infectadas así como en los índices de morbilidad y mortalidad a causa de la amibiasis, debido a que la patogénica *Entamoeba histolytica* y la no patogénica *Entamoeba dispar*, son dos protozoarios morfológicamente idénticos.¹¹ En 1925 se designó como *Entamoeba dispar* al tipo de amiba que infectaba a las personas sin causarles ningún daño y *Entamoeba histolytica* al agente causal de la amibiasis.¹² La prevalencia mundial de ambas especies no ha sido estimada específicamente en la actualidad.¹¹

Entamoeba histolytica se encuentra en todos los países del mundo, pero sin lugar a dudas la mayor incidencia de la infección se encuentra en los países con clima cálido o templado y húmedo, así como en comunidades socioeconómicas precarias en donde la sanidad ambiental y la alimentación son inadecuadas.^{1,2,10,13}

En México, la amibiasis es uno de los problemas de salud pública más importantes. Un estudio seroepidemiológico reportó que 8.41% de la población tiene anticuerpos antiamebianos, lo que demuestra la elevada frecuencia de la infección en la población con este parásito.¹⁴

La mayoría de las personas se infectan por la ingesta de alimentos o agua contaminados con heces que contienen quistes de *E. histolytica*, pero hay otras formas de transmisión como el sexo oral y/o anal.¹⁰

2. 1. 2 Morfología.

Entamoeba histolytica es un parásito protozooario microaerófilico presente en la naturaleza en dos estadios morfológicos principales: el trofozoito (forma móvil o vegetativa) y el quiste (forma infectiva inmóvil).^{10,13}



El trofozoito, es una célula de dimensiones variables cuyas medidas fluctúan entre 10 y 60 micras de diámetro, con forma irregular y movimiento caracterizado por el uso de pseudópodos largos y anchos. En su citoplasma se observa una marcada diferencia entre el ectoplasma que es hialino y transparente, y el endoplasma que tiene una gran cantidad de inclusiones.^{10,15}

El quiste es una estructura redondeada de 10-15 micras de diámetro que posee cuatro núcleos, tiene una cubierta de cromatina gruesa con gránulos uniformes y finos; el cariósoma es pequeño y compacto. Presenta gran resistencia al jugo gástrico y a factores ambientales.^{13,15}

2. 1. 3 Ciclo de vida.

El ciclo biológico de *E. histolytica* (Figura 1) inicia cuando los quistes se introducen en el organismo al ingerir alimentos o agua contaminados con heces. Posterior a la ingestión y el paso hacia el estómago, se lleva el desenquistamiento por la acción de los jugos gástricos, para originar finalmente al trofozoito activo en el intestino delgado. Estos trofozoitos pueden vivir y multiplicarse de manera indefinida dentro de las criptas de la mucosa del intestino grueso, colonizando ciertas regiones del colon y formando nuevamente quistes que son expulsados junto con las heces y pueden permanecer viables durante semanas e incluso meses.^{10,13,15}

2. 1. 4 Manifestaciones clínicas.

El período de incubación del parásito oscila entre algunos días y varios años, siendo una de las parasitosis que pueden presentar un amplio tiempo de latencia.

Existen tres formas principales de infección por *E. histolytica*: la infección asintomática o colonización no invasiva, la amibiasis intestinal y la amibiasis extraintestinal.^{13, 15} Cabe mencionar que de todos los individuos infectados, entre un 80-90% son asintomáticos.¹²

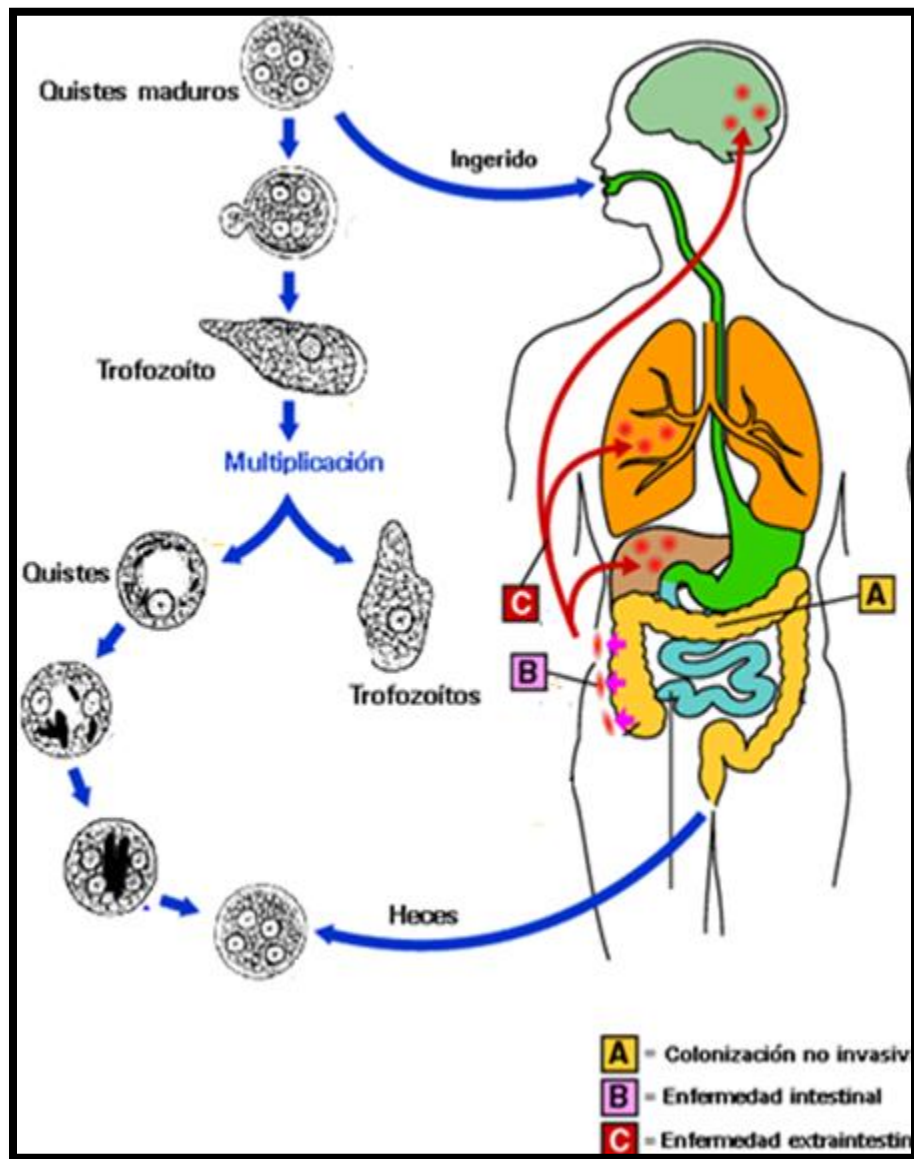


Figura 1. Ciclo biológico de *Entamoeba histolytica*. Los quistes se ingieren y en el intestino delgado se lleva a cabo el desenquistamiento y multiplicación de los trofozoitos que son expulsados en las heces. Los individuos asintomáticos presentan una infección no invasiva y sólo expulsan quistes. La enfermedad intestinal se presenta cuando los trofozoitos invaden la mucosa intestinal. Cuando los quistes llegan a sitios fuera del intestino como a pulmones, hígado y cerebro se presenta la enfermedad extraintestinal.



La amibiasis intestinal se manifiesta clínicamente de varias formas, la más frecuente es la diarrea crónica invasiva sin características especiales, la diarrea amebiana aguda que se caracteriza por un inicio temprano (semanas) de dolor abdominal, diarrea, sangre en las heces, pérdida de peso y tenesmo rectal (presentes en aproximadamente la mitad de los pacientes); menos frecuente es la colitis fulminante, en este caso el paciente presenta un aspecto muy grave, con fiebre elevada y dilatación intestinal particularmente en la zona del colon transversal. Otra manifestación de la amibiasis es el ameboma presente en el 1% de los casos, caracterizado por la presencia de una masa inflamatoria que afecta una porción corta del intestino grueso.¹⁵

Dentro de las manifestaciones extraintestinales de la amibiasis, la más frecuente es el absceso hepático, las complicaciones de éste se producen habitualmente en otros órganos por contigüidad como la amibiasis pleuropulmonar y la amibiasis peritoneal.¹⁵⁻¹⁷

2. 2 Generalidades de *Giardia lamblia*.

Se denomina giardiasis a la infección producida en humanos y otros mamíferos por protozoos flagelados intestinales del género *Giardia*.¹⁸⁻²¹ El principal agente causal es *Giardia duodenalis*, también denominada *G. intestinalis* o *G. lamblia*.¹⁷

La giardiasis es una de las parasitosis más frecuentes a nivel mundial, y es más común en áreas en donde las condiciones sanitarias son inadecuadas.¹⁷⁻¹⁹

En los países en vías de desarrollo, especialmente de Asia, África y Latinoamérica, alrededor de 200 millones de personas presentan giardiasis sintomática y cada año se reportan alrededor de 500,000 casos nuevos.¹⁹

En México, la giardiasis es una de las causas de la enfermedad diarreica aguda, principalmente en niños.² En un estudio seroepidemiológico, se documentó una seroprevalencia del 55.3% para *G. lamblia* en México.²⁰



Los grupos de la población más afectados son los niños pequeños que son generalmente más susceptibles al microorganismo, así como los viajeros internacionales. Su mecanismo de transmisión es a través de agua y/o alimentos contaminados y por vía fecal-oral.^{17,18}

2. 2. 1 Morfología.

Giardia lamblia es un protozoo flagelado microaerófilo, parásito del intestino delgado de los seres humanos. Presenta dos estadios morfológicos que son el trofozoito y el quiste.¹⁷

La entidad patogénica o vegetativa conocida como trofozoito, es piriforme mide de 9 a 20 micras de longitud por 5 a 12 micras de ancho, tiene una cara dorsal convexa y una cara ventral plana, ésta última ocupada en su mayor parte por dos depresiones adyacentes que constituyen un “disco succionador” el cual funciona de manera semejante a una ventosa y mediante el cual el microorganismo se adhiere a las vellosidades del intestino ocasionando los síntomas de la giardiasis. También posee dos núcleos dispuestos a los lados de la línea media y cuatro pares de flagelos situados a una corta distancia del borde anterior de la célula.¹³

El quiste es ovoide, mide de 4 a 10 micras de largo y tiene 4 núcleos, es una forma de resistencia del parásito y constituye su fase infectante debido a que las características de la pared del quiste le permiten sobrevivir en el medio externo aún y cuando se presenten variaciones drásticas de pH y de tipo osmótico, asimismo la eficiencia de la transmisión de *Giardia* depende en forma decisiva de la formación adecuada de la pared del quiste.^{13,15,21}

2. 2. 2 Ciclo de vida.

El ciclo biológico (Figura 2) se inicia con la entrada de quistes por vía oral, en el duodeno se produce la desenquistación mediada por el pH ácido, proteasas intestinales

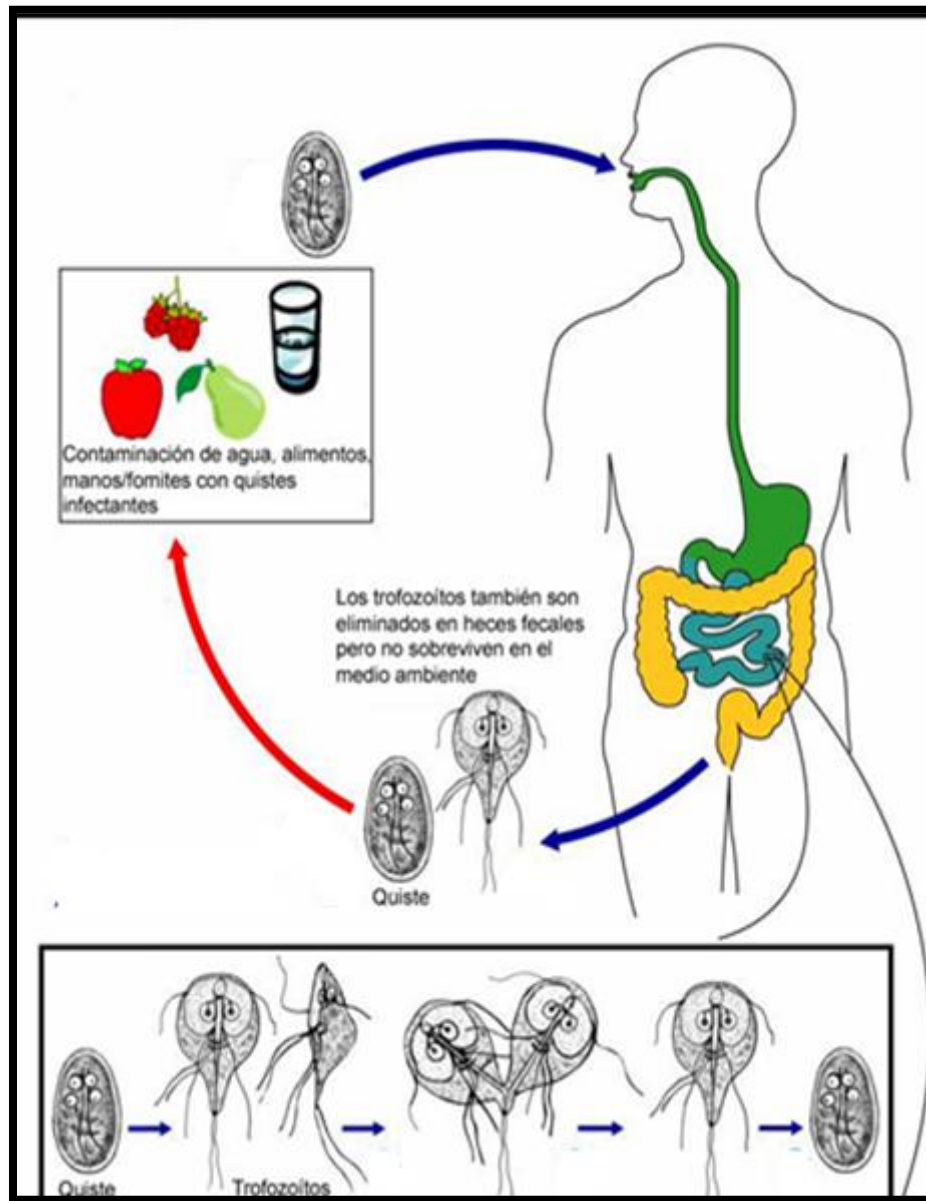


Figura 2. Ciclo biológico de *Giardia lamblia*. Tras ingerir los quistes, en el intestino delgado se lleva a cabo el desenquistamiento que da origen a los trofozoitos que se dividen por fisión binaria. Los trofozoitos y quistes se expulsan en las heces.



y proteasas producidas por el propio parásito. En el intestino se produce la multiplicación de los trofozoitos por división binaria, los trofozoitos se fijan a las microvellosidades del epitelio intestinal mediante el disco succionador. Posteriormente se realiza la enquistación a lo largo del íleon atribuida al descenso de la concentración de sales biliares y a la disminución de la concentración de colesterol, el enquistamiento es un paso vital en el ciclo de vida parasitaria, ya que permite al organismo sobrevivir en el ambiente externo. Finalmente, los quistes salen al medio ambiente a través de las heces pudiendo transmitirse a un nuevo hospedero.^{14,16}

2 .2. 3 Manifestaciones clínicas.

La adquisición de la infección se denomina giardiasis y es considerada altamente contagiosa. A pesar de que la mayoría de las infecciones son asintomáticas, los síntomas varían dentro de un espectro clínico muy amplio, que va desde los casos que presentan diarrea con pocas evacuaciones diarias sin otras manifestaciones importantes, hasta aquellos donde el síndrome de mala absorción es severo.^{15,18,21}

El período de incubación dura en promedio diez días y las molestias más frecuentes son: diarrea, náusea, vómito, dolor en el epigastrio, distensión abdominal y anorexia. Los síntomas pueden desaparecer espontáneamente después de varias semanas y rara vez persisten durante meses.¹⁷

2. 2. 4 Fármacos utilizados en el tratamiento de la giardiasis y la amibiasis.

Hay varios fármacos (Figura 3) ampliamente utilizados en el tratamiento de la giardiasis como son el metronidazol, el tinidazol o el albendazol, que son los de primera elección. El metronidazol y el tinidazol pertenecen al grupo de los 5-nitroimidazoles cuyo mecanismo de acción se basa en la reducción del grupo nitro del fármaco que dañan el ADN del microorganismo. No obstante estos compuestos presentan efectos adversos como náuseas, vómito, diarrea, dolor de cabeza y rara vez provoca neuropatías sensoriales, vértigo, convulsiones y encefalopatía, además en el caso del



metronidazol también se presenta leucopenia, sabor metálico en la boca y se ha informado que es un cancerígeno, teratogénico y mutagénico, aunque esto no ha sido probado clínicamente.^{10,13,22-26}

Por su parte el albendazol pertenece al grupo de los carbamatos bencimidazólicos, es un fármaco eficaz contra varios tipos de protozoos y helmintos, aunque para alcanzar el nivel suficiente de eficacia se requieren dosis múltiples, mientras que las dosis únicas elevadas de metronidazol son una ventaja para el tratamiento. El albendazol tiene baja solubilidad acuosa por lo que su absorción en el tracto gastrointestinal es baja. Sus efectos adversos son náuseas, vómito, dolor abdominal, diarrea, cefalea, menos frecuentes son la leucopenia, exantema y alopecia.^{17,24,25}

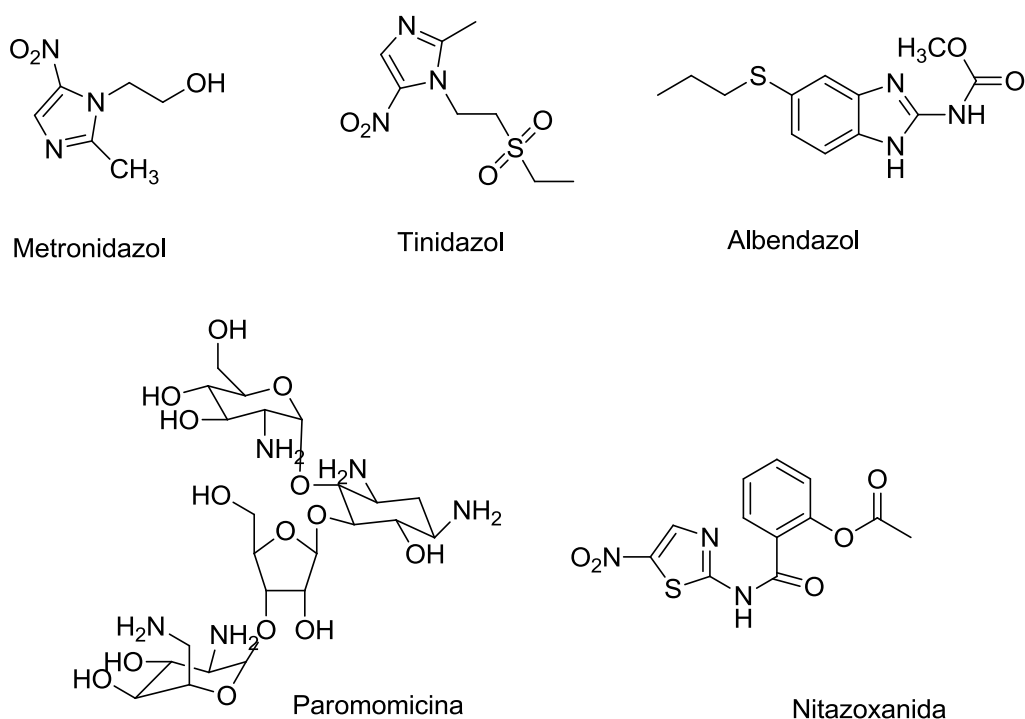


Figura 3. Fármacos utilizados en el tratamiento de la amibiasis y la giardiasis.



También se ha demostrado la utilidad de la paromomicina con una eficacia del 60 al 70%. La paromomicina es un aminoglucósido que inhibe la síntesis de proteínas del microorganismo al interactuar con las subunidades 30S y 50S ribosomales, lo que resulta en una mala lectura de los codones de ARN_m. La diarrea, náuseas, vómito y espasmos son sus principales efectos adversos y al igual que otros aminoglucósidos la absorción sistémica de paromomicina puede causar ototoxicidad y nefrotoxicidad.^{13,17}

La nitazoxanida también se ha propuesto como alternativa terapéutica, la cual aparentemente actúa inhibiendo enzimas clave en el metabolismo anaerobio como la piruvato-ferredoxina oxidoreductasa, ocasionando importantes alteraciones estructurales tanto en la membrana celular como en el citoplasma de los protozoarios. Provoca trastornos gastrointestinales, cefalea e hipotensión.^{17,26}

Para el caso de la amibiasis el tratamiento depende del lugar donde se desarrolla la infección, la infección asintomática es tratada con amebicidas lumbinales como la paromomicina o el yodoquinol que es una 8-hidroxiquinolina, su mecanismo de acción es desconocido, tiene mala absorción y puede causar dolor de cabeza, náuseas, vómito y espasmos abdominales. Con el uso prolongado o dosis superiores a las recomendadas puede provocar neuropatía óptica y periférica.^{13,17,23,25} Con el uso de la paromomicina o el yodoquinol se busca erradicar a las amibas lumbinales y prevenir una subsecuente invasión al tejido así como la diseminación de la infección a través de los quistes.^{22,23}

La enfermedad invasiva intestinal y extraintestinal son procesos aeróbicos por lo que son tratadas con amebicidas tisulares, como los 5-nitroimidazoles (por ejemplo, metronidazol).²²



2. 3 Las plantas como fuente de compuestos para el desarrollo potencial de fármacos.

Las plantas han constituido la base de sofisticados sistemas de medicina tradicional que han existido desde hace miles de años, estos sistemas han dado lugar al descubrimiento de algunos fármacos que se utilizan actualmente en la terapéutica.^{2,27}

El papel que desempeñan las plantas medicinales es sumamente importante, la OMS estimó que en 1985 aproximadamente el 65% de la población del mundo se basó principalmente en medicinas tradicionales de origen vegetal para su atención primaria de salud.²⁷

A pesar de la intensa investigación de la flora terrestre, se estima que sólo el 6% de las aproximadamente 300,000 especies (algunas estimaciones son tan altas como 500,000 especies) de plantas superiores han sido investigados farmacológicamente y sólo un 15% fitoquímicamente.²⁹

Las plantas pueden ser agentes terapéuticos directos o bien puntos de partida para la elaboración de compuestos semisintéticos que se pueden preparar en los intentos de mejorar la solubilidad en agua, su perfil farmacológico y/o toxicológico.³⁰

Los compuestos de origen natural también son modelos de nuevos compuestos totalmente sintéticos debido a que algunas especies de plantas se encuentran en peligro de extinción o los costos de la recolección, extracción y aislamiento pueden resultar demasiado altos para su comercialización. En algunos casos, los compuestos obtenidos de plantas son marcadores taxonómicos para el descubrimiento de nuevas sustancias.^{8,30}

En un estudio reciente³¹ se analizaron las fuentes de nuevos medicamentos en el período comprendido entre enero de 1981 y diciembre de 2010 (Figura 4). Estos compuestos se clasificaron como **N** (un producto natural sin modificar), **ND** (un producto



natural modificado), **S** (un compuesto sintético, no inspirado en los productos naturales), **S ***, **S */NM** (un compuesto sintético con un farmacóforo de producto natural; / NM, indica inhibición competitiva) y **S/NM** (un compuesto sintético que muestra la inhibición competitiva por un sustrato de productos naturales). Por lo tanto, sólo el 36% de los 1073 nuevos fármacos aprobados se pueden clasificar como verdaderamente sintético **S**.

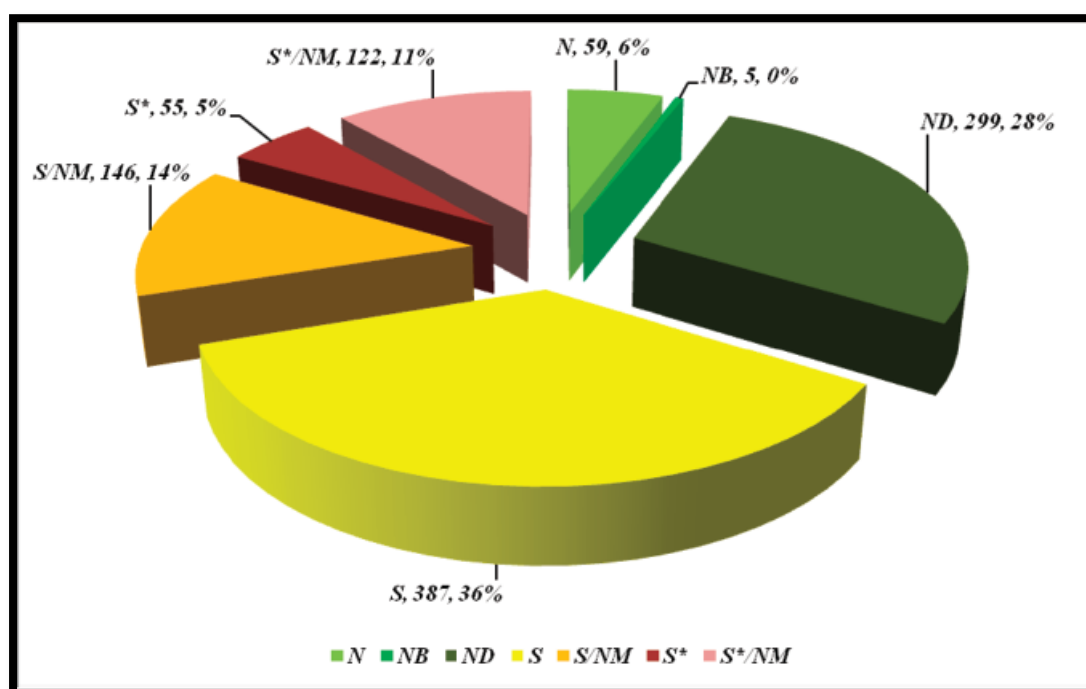


Figura 4. Clasificación de las fuentes de nuevos medicamentos en el período comprendido entre enero de 1981 y diciembre de 2010.³¹

Para el descubrimiento y desarrollo de fármacos antiparasitarios, las plantas juegan un papel muy importante ya que de éstas se han obtenido un gran número de alcaloides, terpenoides y compuestos fenólicos³², entre otros, que presentan actividad antiprotozoaria. Algunos de los ejemplos más importantes de compuestos antiprotozoarios de origen vegetal son la quinina y la artemisinina.^{5,27,31,32}



El aislamiento del alcaloide quinina, de la corteza de la *Cinchona* se reportó en 1820. La corteza de esta planta se ha utilizado durante mucho tiempo por los grupos indígenas de la región amazónica para el tratamiento de fiebres, y fue introducido por primera vez en Europa a principios del siglo XVI para el tratamiento de la malaria. La quinina constituyó la base para la síntesis de los medicamentos comúnmente usados contra la malaria, como son la cloroquina y la mefloquina.²⁷ (Figura 5)

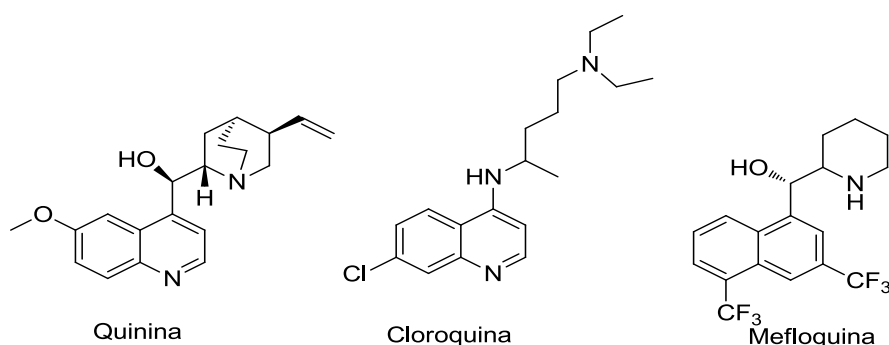


Figura 5. El antimalárico quinina y algunos de sus derivados.

La artemisinina fue aislada en 1971 por científicos chinos de *Artemisia annua* (Asteraceae), una planta que se ha utilizado en la medicina tradicional para el tratamiento de la fiebre y la malaria desde la antigüedad.²⁷

La artemisinina es una lactona sesquiterpénica que contiene un grupo endoperóxido y a diferencia de la mayoría de los antimaláricos, carece de nitrógeno (Figura 6). Muchos análogos de la artemisinina se han sintetizado en los intentos para mejorar su actividad. El grupo carbonilo de la artemisinina, puede ser fácilmente reducido a la dihidroartemisinina, el cual a su vez ha conducido a la preparación de una serie de análogos semisintéticos de primera generación que incluyen el arteméter, arteéter, artesunato de sodio, y el artelinato de sodio.³⁰⁻³²

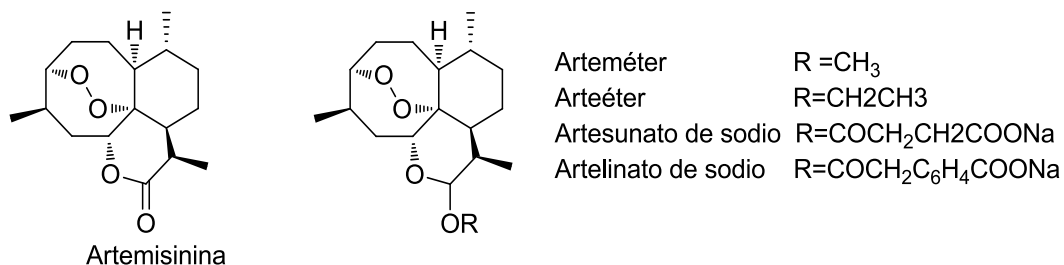


Figura 6. El antimalárico artemisinina y algunos de sus derivados.

2. 3. 1 El papel de la medicina tradicional mexicana en el descubrimiento de compuestos antiprotozoarios.

En todo el territorio nacional, desde la época prehispánica el uso de las plantas medicinales ha estado muy arraigado. Se estima que en México se cuenta con una riqueza vegetal de aproximadamente 26,500 especies, ubicándolo en el cuarto lugar en biodiversidad a nivel mundial, de dichas especies, a cerca de 4000 (15%), se les atribuyen propiedades medicinales.³³

La medicina tradicional mexicana hace uso de una gran variedad de las plantas medicinales para tratar trastornos gastrointestinales como la diarrea y la disentería, que son especialmente frecuentes en zonas rurales del país. Sin embargo, la mayoría de estas especies vegetales no han sido investigadas desde un punto de vista farmacológico para validar su uso.^{6,33}

Con el fin de evaluar y encontrar el(los) compuesto(s) responsable(s) de la actividad biológica atribuida a las plantas, se llevan a cabo estudios de los extractos, fracciones y compuestos puros de las mismas.³³⁻³⁷

Por ejemplo, los extractos de 26 plantas medicinales mexicanas fueron probados por su actividad antiprotozoaria, y se encontró que los extractos de *Chiranthodendron pen-*



tadactylon, *Annona cherimola*, *Punica granatum*, *Dorstenia contrajerva*, *Senna villosa*, *Ruta chalepensis*, y *Geranium mexicanum*, mostraron un efecto antiprotozoario significativo contra *G. lamblia* y *E. histolytica*.^{6,35}

Otro estudio de la actividad antiprotozoaria de *Geranium mexicanum* contra en *E. histolytica* y *G. lamblia* indicó que el extracto, la fracción orgánica y un flavonoide puro, eran activos contra los protozoos.³⁶

Tres flavonoides (kaempferol, tilirósido y (-)-epicatequina) aislados de *Geranium mexicanum*, *Pinetorum cuphea*, *Helianthemum glomeratum* y *Rubus coriifolius*, se sometieron a ensayos³⁷ para demostrar su actividad antiprotozoaria *in vivo*, utilizando una infección experimental de *Giardia lamblia* en ratones hembra. El flavonoide más activo fue la (-) epicatequina, su actividad fue mayor que la del metronidazol y la emetina, los medicamentos utilizados como controles positivos.

2. 4 Género *Decachaeta*

Es un género de plantas de la familia Asteraceae, tribu Eupatorieae, subtribu Hebecliniinae, a la que pertenecen las siguientes especies:³⁸

- *Decachaeta haenkeana* DC.
- *Decachaeta incompta* (DC.) R. M. King & H. Rob.
- *Decachaeta ovandensis* (Grashoff & Beaman) R. M. King & H. Rob.
- *Decachaeta ovatifolia* (DC.) R. M. King & H. Rob.
- *Decachaeta perornata* (Klatt) R. M. King & H. Rob.
- *Decachaeta pyramidalis* (B. L. Rob.) S. D. Sundb., C. P. Cowan & B. L. Turner.
- *Decachaeta scabrella* (B. L. Rob.) R. M. King & H. Rob.
- *Decachaeta thieleana* (Klatt ex Klatt) R. M. King & H. Rob.



2. 4. 1 Química del género *Decachaeta*.

Del género *Decachaeta* se han reportado estudios químicos sólo de cinco especies³⁸⁻⁵⁶ estas son: *Decachaeta haenkeana*, *D. incompta* (cuya composición química se mencionará más adelante), *D. ovatifolia*, *D. scabrella* y *D. thieleana*.

Los tipos de compuestos presentes en las especies del género son:

- Lactonas sesquiterpénicas, principalmente guaianólidas, pero también se han encontrado eudesmanólidas y germacranólidas.
- Glucósidos de flavonoles.
- Flavonoides.
- Ácidos sesquiterpénicos con esqueleto carbonado de guaiano.

*Decachaeta haenkeana*⁴² tiene en su composición flavonoides (Figura 7) entre los que se encuentra la 6, 7, 4'-*O*-trimetilquercetagetina (**1**), spinacetina (**2**), 3-sulfato de 6, 7, 4'-*O*-trimetilquercetagetina (**3**) y el 3-glucósido de eupatolitina (**4**).

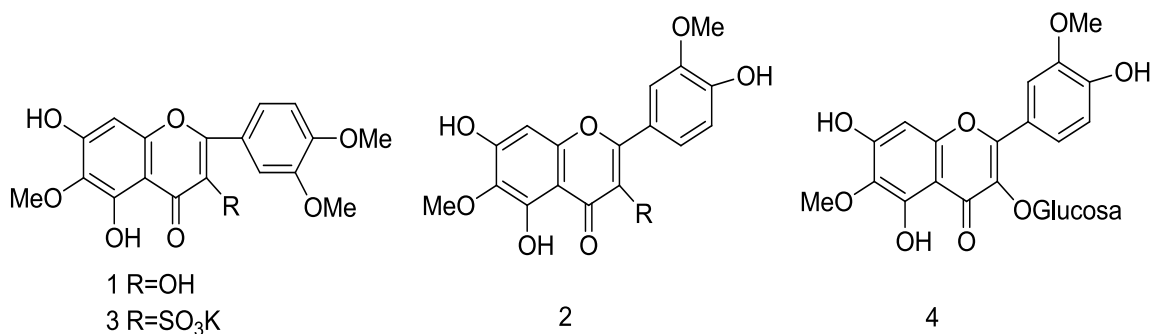


Figura 7. Compuestos aislados de *D. haenkeana*.



De *Decachaeta ovatifolia*^{39, 40} se han aislado la lactona sesquiterpénica pinnatifidina (**5**) así como las lactonas 7α -hidroxisesquiterpénicas: 7α -hidroxicostunólida (**6**), 4α -15-dihidro- 7α -hidroxi-3-desoxizaluzanina C (**7**), 7α -hidroxisantamarina (**8**), 7α -hidroxireynosina (**9**) así como tres flavonas metoxiladas en C-6 que son la 6-metoxiacacetina (**10**), 6-metoxiapigenina (**11**), 6-metoxiapigenina-7-metiléter (**12**) así como glicósidos de flavonoles metoxilados en C-6 identificados como 3-galactósido de patuletina (**13**), 3-glucósido de patuletina (**14**) y 3-glucósido del 6-metoxikaempferol (**15**). (Figura 8)

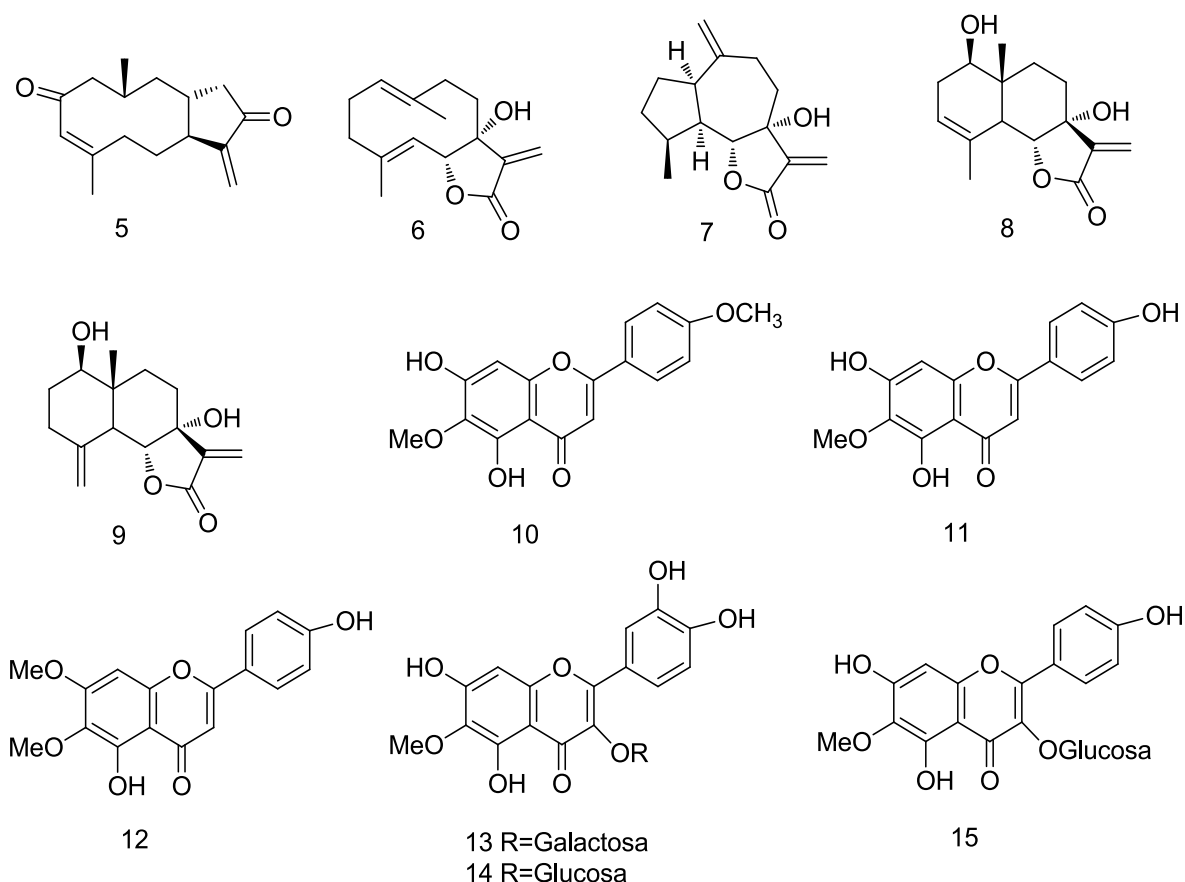


Figura 8. Compuestos aislados de *D. ovatifolia*.



Las lactonas sesquiterpénicas que presenta *Decachaeta scabrella*⁴¹ son del tipo guaianólida, las cuales son la xerantholida (**15**), 8-epixerantholida (**16**), la 11 α -13 dihidroepixerantholida (**17**) y la 11 β -13-dihidroepixerantholida (**18**). También se han aislado de esta planta el ácido pachueloico (**19**) y el ácido 11,13-dihidropachueloico (**20**). (Figura 9)

De *Decachaeta thieleana* se han aislado diferentes guaianólidas^{43,44} entre ellas se encuentra la thieleanina (**21**) que ha sido sometida a diferentes evaluaciones para determinar su actividad citotóxica⁴⁵, antioxidante⁴⁶ y antiinflamatoria.⁴⁶⁻⁴⁸

De esta planta también se han aislado la 4-*epi*-thieleanina (**22**), 11 α -13-dihidrothieleanina (**23**), 2-oxo-1(5)-guaien-*cis*-8,12-ólida (**24**), 4, 5-dehidro-1, 2-dihidro-8-*epi*-thieleanina (**25**) y la decathieleanólida (**26**). (Figura 9)

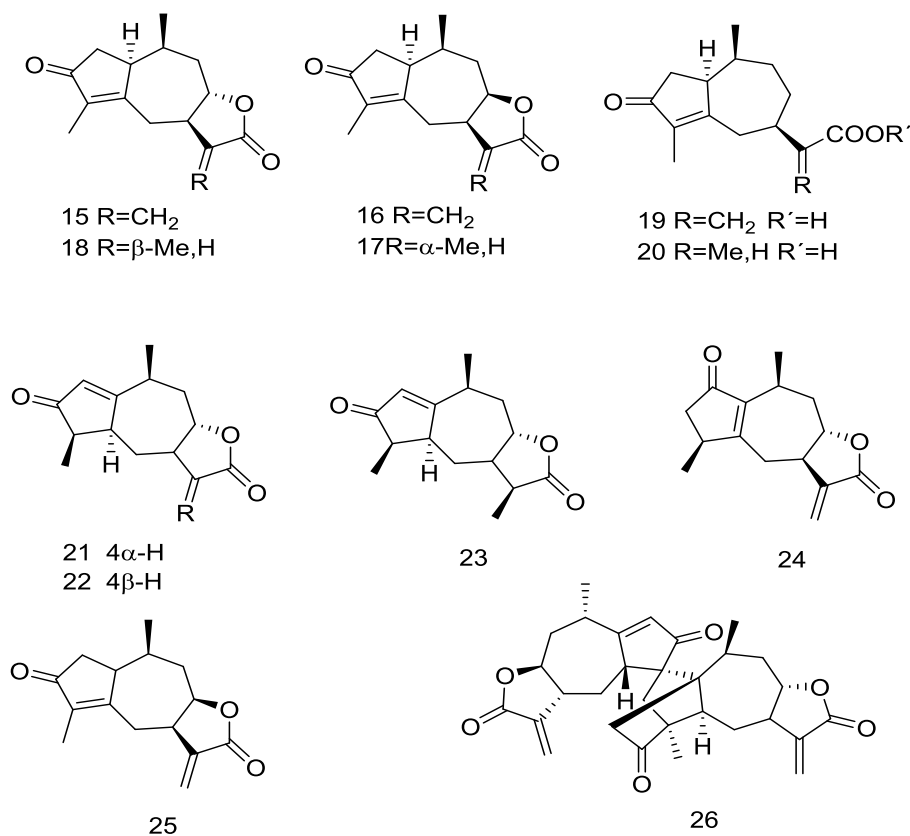


Figura 9. Compuestos aislados de *D. scabrella* y *D. thieleana*.



2. 4. 2 *Decachaeta incompta*.

Decachaeta incompta es una planta herbácea que pertenece a la familia Astareaceae, tribu Eupatorieae, subtribu Hebeccliniiae, subgénero Polydenia.³⁸

En México⁴⁹ (Figura 10) esta especie se encuentra distribuida principalmente en los estados de Oaxaca, Jalisco, Michoacán, Puebla y el Estado de México.

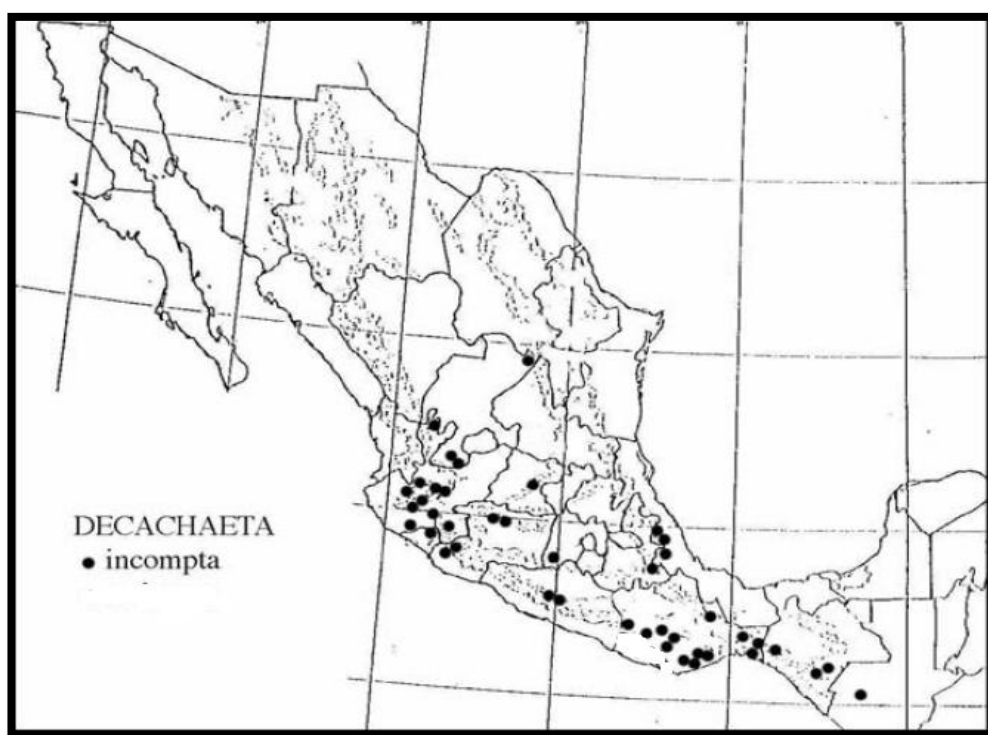


Figura 10. Distribución geográfica de *D. incompta*.⁴⁹

2. 4. 2. 1 Química de *D. incompta*.

Decachaeta incompta, tiene en su composición cuatro lactonas sesquiterpénicas de tipo heliangólida, denominadas incomptinas A-D (Figura 11), estas lactonas fueron aisladas del extracto de diclorometano de las partes aéreas de la planta.⁵⁰⁻⁵²



La incomptina A tiene una fórmula molecular de $C_{17}H_{20}O_5$ y la incomptina B $C_{15}H_{18}O_5$, la incomptina A es el acetato de la incomptina B. Por su parte la incomptina B es el metabolito que se aísla en mayor cantidad de la planta.^{50,52}

Por su parte, las incomptinas C y D son epímeros, difieren entre si por la orientación del grupo acetato en C-3 del anillo de germacrano, y son diferentes de las incomptinas A y B porque carecen de una doble ligadura en la posición C-2 del anillo de germacrano.⁵²

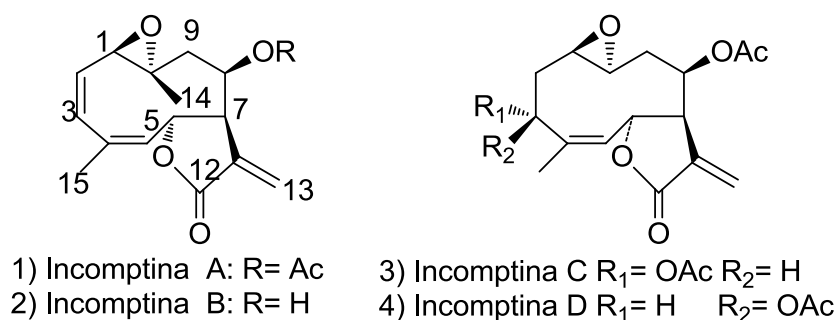


Figura 11. Estructura química de las incomptinas de *D. incompta*.

2. 4. 2. 2 Actividad biológica de *D. incompta*.

Las evaluaciones biológicas de la incomptina B indican que ésta inhibe la germinación de semillas de lechuga var. Parris Island y la formación de raicillas en cebolla y ajo. Respecto a la toxicidad aguda preliminar de la incomptina B, ésta se evaluó en ratones y se obtuvo una DL_{50} entre 100 y 150 mg/kg, la prueba de sensibilidad en piel de conejo, no mostró inflamación ni edema después de 72 horas y la piel se volvió a cubrir de pelo. La incomptina B también presenta una actividad espermaticida a una dosis de 5 μ g/mL.^{50,53}

En un estudio del extracto de CH_2Cl_2 de las hojas de *D. incompta* y las incomptinas A y B, el extracto presentó actividad antiprotozoaria contra *E. histolytica* y *G. lamblia* pero



mostró actividad antibacteriana débil contra *Escherichia coli*, *Shigella sonnei*, y *Shigella flexneri*. La incomptina A resultó ser un compuesto antiamebiano y antigiardias con valores de CI_{50} de 2.6 $\mu\text{g/mL}$ para *E. histolytica* y 18.1 $\mu\text{g/mL}$ para *G. lamblia*. La potencia contra *E. histolytica* fue comparable a la de la emetina (CI_{50} de 1.05 $\mu\text{g/mL}$) pero menor que la del metronidazol (CI_{50} de 0.04 $\mu\text{g/mL}$). La incomptina B mostró débil actividad contra los dos protozoarios usados, sin embargo exhibió actividad contra todas las cepas de bacterias empleadas con concentraciones inhibitorias mínimas (CIM) en el rango de 0.4 a 0.8 mg/mL, su actividad fue superior al cloranfenicol (CIM>1).^{50,51,53}

En otros estudios⁵⁴⁻⁵⁶ se evaluaron las propiedades antidiarreicas de ocho especies de plantas, entre ellas *D. incompta*, usadas en la medicina tradicional para tratar este padecimiento. Para ello se determinó el porcentaje de inhibición de la hiperperistalsis utilizando diferentes modelos farmacológicos. Los resultados indicaron que el extracto de CH_2Cl_2 de *D. incompta*, así como sus metabolitos, incomptinas A y B, son potentes inhibidores de la motilidad intestinal.

Por su parte, las incomptinas C y D sólo han sido evaluadas respecto a su actividad antiprotozoaria contra *G. lamblia* y *E. histolytica*⁵², los valores de CI_{50} están intermedios entre los de las incomptinas A y B como se observa en la Tabla 1.

Tabla 1. Actividad antiprotozoaria de las incomptinas presentes en *D. incompta*.⁵²

Compuestos	CI_{50} $\mu\text{g/mL}$	
	<i>E. histolytica</i>	<i>G. lamblia</i>
Extracto de CH_2Cl_2	132.5(132.9-132.0)	141.4(141.6-141.3)
Incomptina A	2.6(2.7-2.4)	18.1(18.4-18.3)
Incomptina B	137.6(138.3-136.9)	256.7(257.8-255.9)
Incomptina C	82.2(82.6-81.9)	85.0(85.2-84.9)
Incomptina D	69.8(70.0-69.5)	73.4(73.6-73.2)
Metronidazol	0.04(0.1-0.03)	0.21(0.27-0.14)



2. 5 Lactonas sesquiterpénicas.

Las lactonas sesquiterpénicas (LS) constituyen un grupo numéricamente importante de metabolitos secundarios con alrededor de 4,000 estructuras conocidas que se encuentran distribuidas mayoritariamente en la familia Asteraceae.⁵⁷

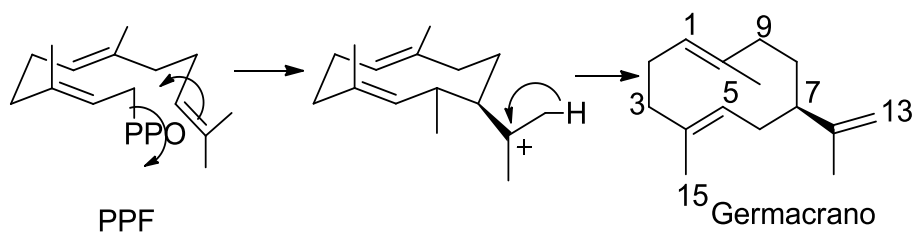
Las LS son una subfamilia de terpenoides, son compuestos incoloros, amargos y de carácter lipofílico. La mayor concentración de lactonas se encuentra en las hojas y cabezas de flores y su porcentaje en la planta puede variar cuantitativamente en cada especie desde el 0.005 al 5 % en peso seco.^{58,60}

Son compuestos de 15 átomos de carbono (prefijo *sesqui*) resultado de la condensación cabeza – cola de tres unidades de isopreno y su consecuente ciclación y oxidación para producir una lactona fusionada, en su nomenclatura se añade el sufijo *ólida*, indicando así el carácter lactónico.^{57,59,62.}

Una característica importante de las LS es la presencia de una 6, 12 o 8, 12 γ -lactona, que en muchos casos contiene un metileno exocíclico conjugado. Otras modificaciones comunes son la incorporación de hidroxilos en forma libre o acilados y el grupo epóxido. Pocas LS forman glicósidos y algunas contienen azufre o halógenos.⁵⁷⁻⁶³

2. 5. 1 Biogénesis del anillo de germacrano de las lactonas sesquiterpénicas.

El anillo de germacrano es el producto de ciclación del pirofosfato de farnesilo (FPP) (Esquema 1).^{57,58}



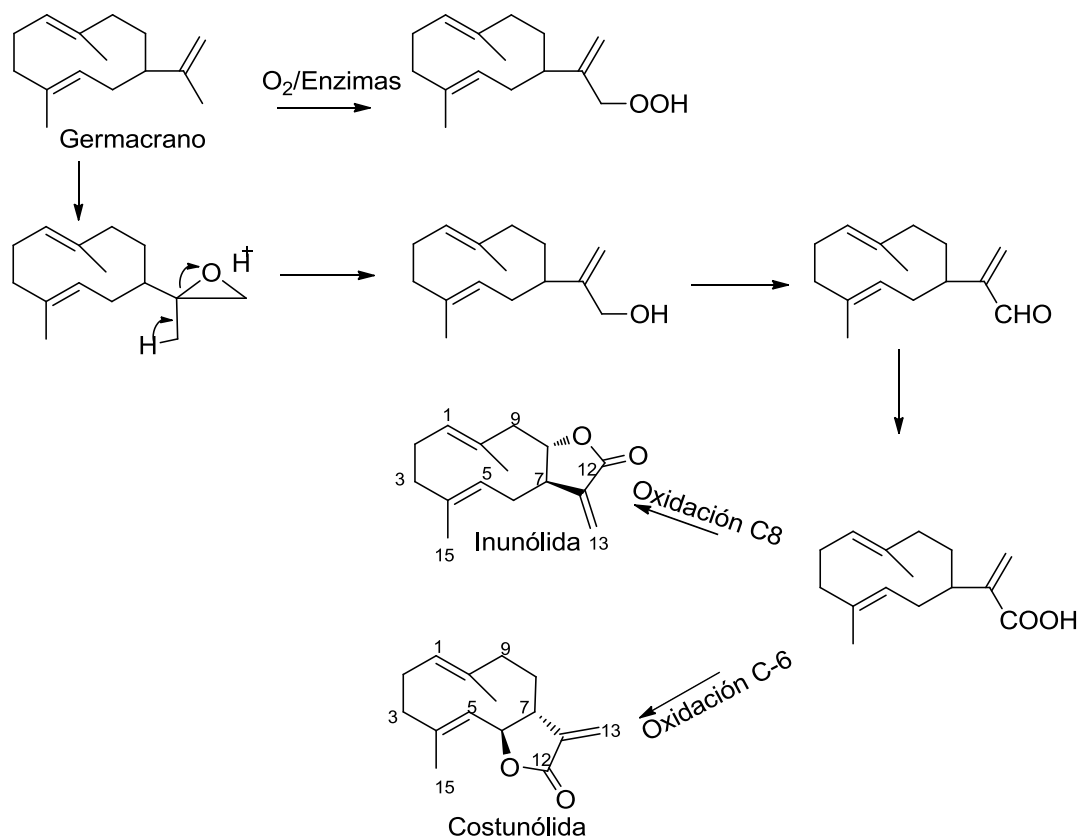
Esquema 1. Biogénesis del esqueleto de germacrano.



2. 5. 2 Biogénesis del anillo de lactona.

Se han sugerido dos posibles rutas biogénicas para la formación del anillo de la lactona de estos sesquiterpenoides.^{61,62}

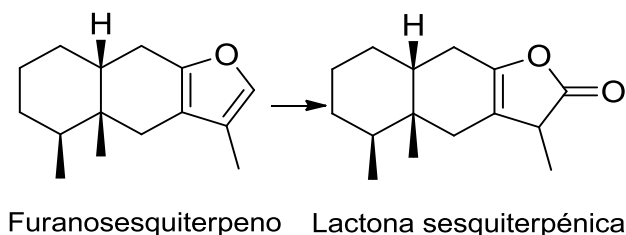
- **La biogénesis de la costunólida y la inunólida** (Esquema 2) es un proceso en el cual a partir del germacrano se llevan a cabo una serie de reacciones de oxidación en C-12 y C-6 o C-8 respectivamente.



Esquema 2. Biogénesis del anillo de lactona por la vía de la costunólida y la inunólida.



- **Biogénesis del anillo de lactona por la vía furanosesquiterpenos** (Esquema 3): Las lactonas sesquiterpénicas comúnmente son derivados de furanosesquiterpenos como resultado de reacciones de autooxidación.

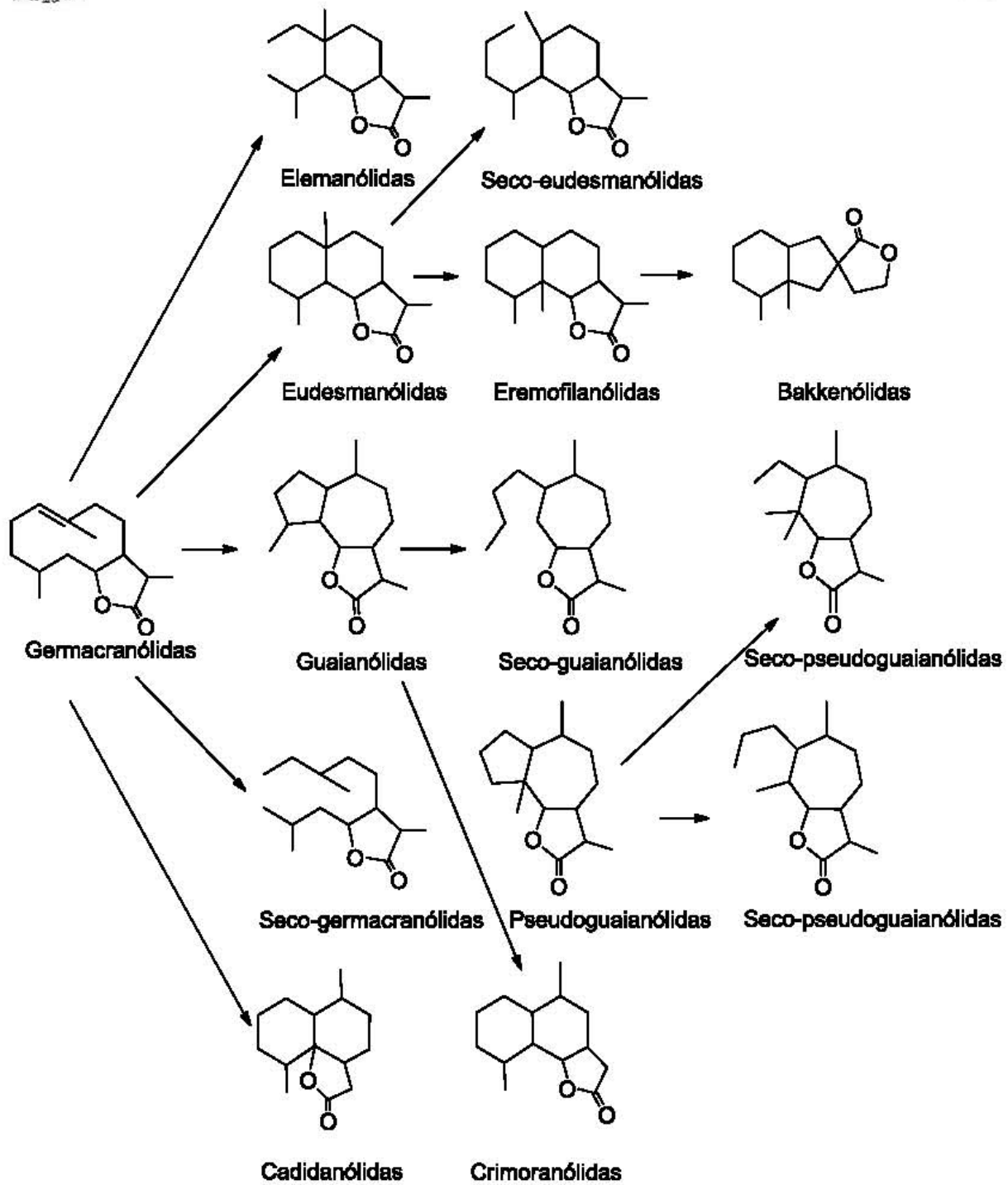


Esquema 3. Biogénesis del anillo de lactona por la vía furanosesquiterpenos.

El primer tipo de lactona sesquiterpénica que se forma a partir del germacrano, es el de las germacrólidas. Estas sustancias son las más numerosas y tomando en cuenta la estereoquímica de las dobles ligaduras C-1 y C-4 se originan cuatro subtipos de compuestos⁵⁷:

- Germacrólidas. Ambas dobles ligaduras *trans-trans*
- Heliangólidas. Doble ligadura C-1 *trans* y C-4 *cis*.
- Melampólidas. Doble ligadura C-1 *cis* y C-4 *trans*.
- *Cis, cis* – germacrólidas. Ambas dobles ligaduras *cis*.

Los principales esqueletos de las LS derivan de la vía de las germacrólidas como se observa en el esquema 4 y presentan diferentes estructuras que dependen de la conformación inicial adoptada por el macrociclo y de la posición de los dobles enlaces que permiten ciclaciones intramoleculares electrofílicas variadas.^{57,61,62}



Esquema 4. Relaciones biogénicas entre las estructuras de las lactonas sesquiterpénicas.



2. 5. 3 Actividad biológica de las LS.

La actividad biológica de las lactonas sesquiterpénicas es variada y comprende desde actividad antifúngica, antihelmíntica, antiprotozoaria, antiinflamatoria, antitumoral, antibacteriana, citotóxica, alergénica hasta genotóxica.⁵⁷⁻⁶⁴

La actividad biológica de estos compuestos es atribuida a la presencia de la α -metilén- γ -lactona⁵⁸⁻⁶⁶ que reacciona por una adición de tipo Michael con los nucleófilos biológicos (los más reactivos son los residuos de cisteína de las proteínas que contienen grupos tiol) alquilándose de forma irreversible.^{45-48,57-65}

La diferencia en la actividad entre las LS se puede explicar por las diferencias en el número de elementos alquilantes, lipofilicidad, la geometría molecular y el entorno químico del grupo sulfhídrido entre otros factores.^{59,60}



2. 6 Modificación molecular de compuestos naturales.

La optimización de la actividad farmacológica de un compuesto es el principal objetivo de su modificación estructural a fin de disponer de fármacos más selectivos y menos tóxicos, con mejor farmacocinética o sin problemas de formulación debidos a una baja solubilidad o a su inestabilidad.

Por otra parte, existe una gran probabilidad de que una molécula obtenida por modificación de un prototipo activo presente propiedades útiles e incluso si no llegan a conseguirse análogos de gran actividad, las correlaciones cualitativas y cuantitativas que pueden establecerse entre las modificaciones estructurales realizadas y los datos de actividad biológica son de gran utilidad para avanzar en el conocimiento de un grupo farmacóforo (porción de la estructura del compuesto que interactúa con su diana biológica y por lo tanto explica la acción biológica a nivel molecular).

2. 6 .1 Modalidades del procedimiento de modificación molecular.

Los cambios en la estructura de un compuesto se pueden realizar por:

Simplificación del prototipo.

Asociación de dos moléculas.

Modificación sistemática (replicación moduladora):

- *Homología y ramificaciones de cadena:* un homólogo de un determinado compuesto es el análogo a este, que resulta de la adición (o sustracción) de un carbono, una cadena o anillo.
- *Introducción de grupos aromáticos.*
- *Apertura o formación de anillos.*
- *Introducción de enlaces múltiple.* Vinilología.
- *Bioisosterismo:* grupos o moléculas que tiene propiedades físicas y químicas semejantes y que producen efectos fisiológicos aproximadamente similares.⁶⁶



3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

Las enfermedades diarreicas causadas por protozoarios son un problema de salud pública en nuestro país y a nivel mundial por lo que es necesario contar con nuevas alternativas terapéuticas seguras y biológicamente más activas que las existentes. En la búsqueda de nuevos compuestos de fuentes naturales se han realizados diversos estudios a la planta *Decachaeta incompta* de donde se han aislado las incomptinas A-D, los compuestos con mayor y menor actividad son las incomptinas A y B, respectivamente, que únicamente difieren por el sustituyente en C-8, bajo la premisa anterior, se planteó lo siguiente ¿Es posible que mediante la modificación estructural del sustituyente en C-8 se mejore la actividad antiprotozoaria de la incomptina A?

4. HIPÓTESIS.

La modificación del sustituyente en C-8 de la estructura de la incomptina B dará origen a moléculas con diferente actividad contra *E. histolytica* y *G. lamblia*, comparada con la incomptina A.



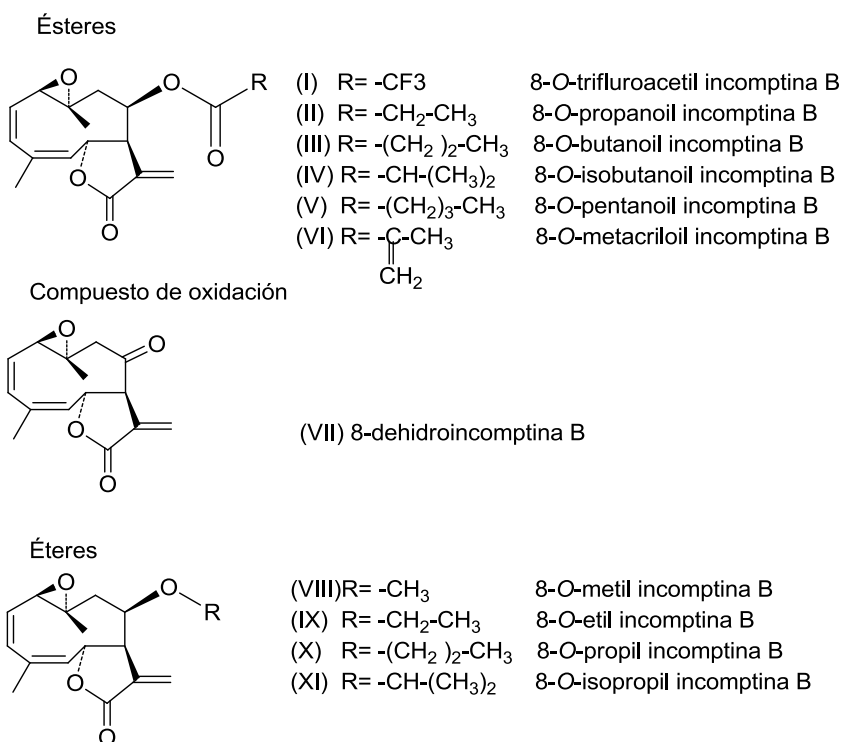
5. OBJETIVOS.

5. 1 Objetivo general:

- Sintetizar derivados de incomptina B y comparar su actividad antiprotozoaria contra *Entamoeba histolytica* y *Giardia lamblia* respecto a la que presenta la incomptina A.

5. 2 Objetivos específicos:

- Sintetizar los siguientes derivados de incomptina B:



- Determinar las propiedades físicas y el rendimiento de los compuestos sintetizados.
- Caracterizar los compuestos sintetizados mediante métodos espectroscópicos (IR, RMN de ¹H y ¹³C) y espectrométricos (Masas).
- Determinar la actividad antiprotozoaria de los compuestos derivados de incomptina B.



6. DESARROLLO EXPERIMENTAL



6. 1 Métodos de separación.

El monitoreo del avance de la reacción y de la purificación de cada compuesto, se hizo por cromatografía en capa fina (CCF) de gel de sílice 60 G UV₂₅₄ (Macherey-Nagel, 20 x 20, 25 μm). La placa se observó por exposición a luz UV (254 nm) y finalmente se reveló con una solución de sulfato cérico 2N y H₂SO₄.

Para la separación del producto de cada reacción se utilizó cromatografía en columna abierta (CC) de gel de sílice (kieselgel 60 G, 90 % < 4.5 μm) con diferentes sistemas de elución que se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2. Sistemas de elución utilizados en CC y CCF.

Sistema	Mezcla de disolventes	Proporción
1	Hexano/Acetato de etilo	75:25
2	Hexano/Acetato de etilo	70:30
3	Hexano/Acetato de etilo	50:50
4	CHCl ₃ / Acetato de etilo	95:5
5	CHCl ₃ / Acetato de etilo	90:10

6. 2 Determinaciones de las constantes físicas, espectroscópicas y espectrométricas.

Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Fisher Johns y se expresan sin corregir. Los espectros en el IR se obtuvieron de un equipo Brucker Tensor 27, la rotación óptica de los compuestos fue determinada en un polarímetro Jasco DIP-360. Los espectros de RMN de ¹H y de ¹³C fueron adquiridos en un espectrómetro Varian Unity 500 y los espectros de masas fueron obtenidos por la técnica electrospray en modalidad positiva (MS-ESI ⁺) en el equipo Bruker Esquire 6000.

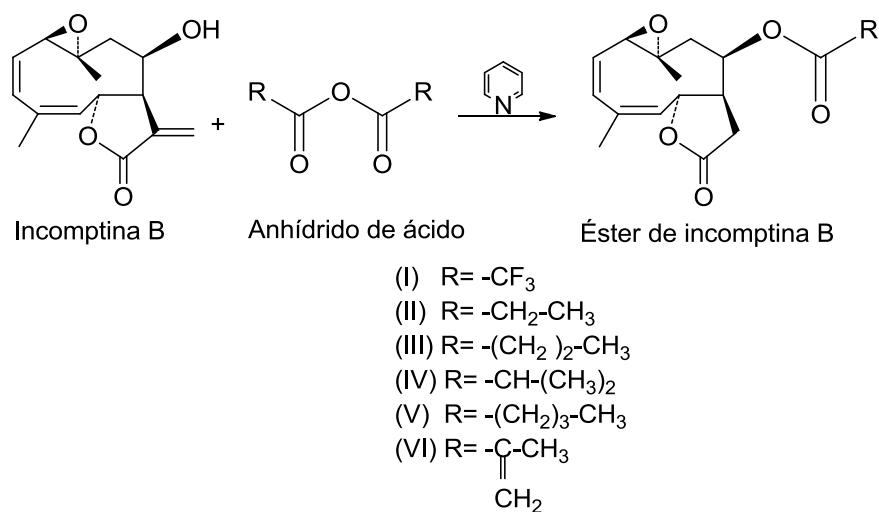


6. 3 Síntesis de derivados de incomptina B

Los derivados de incomptina B que se prepararon fueron; ésteres, un compuesto de oxidación en posición C-8 y éteres, su síntesis se describe a continuación.

6. 3. 1 Síntesis de ésteres de incomptina B.

Con el propósito de observar el efecto del tamaño del sustituyente sobre la actividad antiprotozoaria se realizó la síntesis del compuesto I producto del reemplazo bioisostérico del grupo $-CH_3$ presente en el acetato en C-8 de la incomptina A por el grupo $-CF_3$. Los ésteres homólogos (compuestos II-V) tuvieron el objetivo de poner de manifiesto el efecto de tamaño y lipofilia del sustituyente; y el compuesto VI muestra el efecto estereoelectrónico.



Esquema 5. Síntesis general de ésteres de incomptina B utilizando anhídridos de ácido.



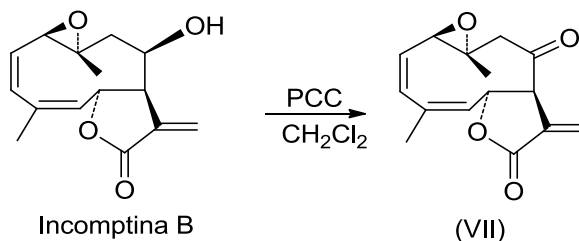
En un matraz de bola de 25 mL se disolvieron 100 mg (0.38 mmol) de incomptina B en piridina (0.2 mL) posteriormente se adicionaron los mL equivalentes a 0.38 mmol del anhídrido en cuestión. La mezcla de reacción se mantuvo a una temperatura de 50°C, con agitación constante durante 24 hrs.

Transcurrido el tiempo de reacción, se agregaron 3 mL de H₂O destilada y 5 mL de AcOEt, posterior a esto la fase orgánica se lavó con tres porciones de 5 mL de HCl 10% cada una y a continuación con tres porciones de 5 mL de una solución saturada de NaHCO₃.

La fase orgánica se concentró al vacío y el residuo se sometió a CC, eluída con el sistema 2. El seguimiento de la separación del producto de interés se llevó a cabo mediante el uso de CCF con el sistema de elución 2. La purificación del producto se realizó mediante recristalización por par de disolventes usando una mezcla de acetona-hexano.

6. 3. 2 Oxidación de la incomptina B en la posición C-8.

La síntesis del producto de oxidación tuvo como propósito observar el efecto que tiene el grado de oxidación del sustituyente en C-8 en la actividad antiprotozoaria sobre *E. histolytica* y *G. lamblia*.



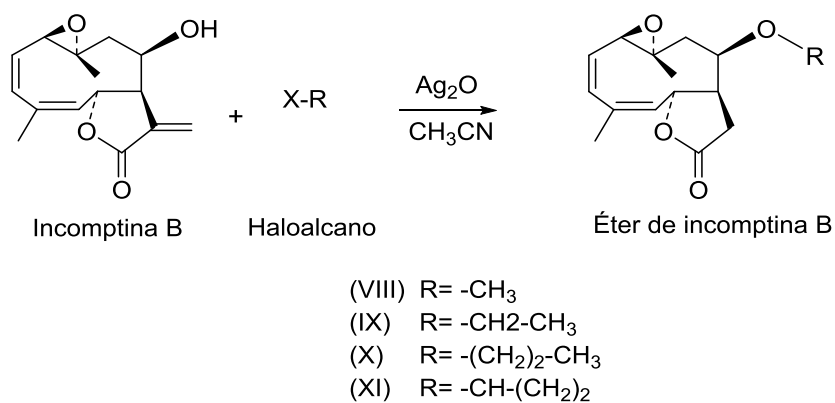
Esquema 6. Síntesis general de la oxidación de la incomptina B con PCC.



En un matraz de bola de 25 mL se agregaron 200 mg (0.76 mmol) de incomptina B y 409 mg (1.9 mmol) de PCC (Clorocromato de piridinio), se disolvieron en 4 mL de CH_2Cl_2 anhidro y la mezcla de reacción se mantuvo a temperatura ambiente con agitación constante durante 4 hrs. Posterior a esto, el crudo de la reacción se hizo pasar a través de una columna de sílice, la cual se lavó con 50 mL de metanol, el disolvente se evaporó a presión reducida y el residuo se recristalizó con una mezcla de CH_2Cl_2 -hexano.

6. 3. 3 Síntesis de éteres de incomptina B.

Los éteres homólogos (compuestos VIII-XI) tendrán el objetivo de poner de manifiesto el efecto del tamaño y lipofilia del sustituyente sobre la actividad antiprotozoaria.



Esquema 7. Síntesis general de éteres de incomptina B utilizando haloalcanos.

En un matraz de bola de 25 mL se disolvieron 200 mg (0.76 mmol) de incomptina B en 10 mL de CH_3CN , posteriormente se agregaron 1.76 g de Ag_2O (7.6 mmol), y en condiciones de agitación constante se adicionó por goteo el haloalcano equivalente a 15.2 mmol. La mezcla de reacción se mantuvo a una temperatura de 60°C durante 36 hrs.



El crudo de la reacción se filtró a través de una columna de celita lavando con el sistema de elución 3 y se concentró al vacío. El residuo obtenido se disolvió en acetona y se sometió a CC utilizando el sistema de elución 2 para los compuestos VIII y IX y el sistema 4 para los compuestos X y XI.

El seguimiento de la separación del producto de interés se llevó a cabo mediante el uso de CCF utilizando el sistema de elución 1 para los compuestos VIII y IX y el sistema 5 los compuestos X y XI. La purificación del producto se realizó mediante recristalización con una mezcla de acetona-hexano.

6. 6 Determinación de la actividad antiprotozoaria.

Entamoeba histolytica HM-1 IMSS se cultivó a 37 °C en medio TYI-S-33 suplementado con 10 % de suero bovino (inactivado con calor). *Giardia lamblia* IMSS: 8909:1 se cultivó en medio TYI-S-33 modificado, suplementado con 10% de suero de ternera y bilis bovina. Los trofozoitos se mantuvieron en condiciones axénicas, para los ensayos se utilizaron trofozoitos en fase *log* de crecimiento. Los ensayos de susceptibilidad *in vitro* se llevaron a cabo incubando trofozoitos de *E. histolytica* (6×10^3) o *G. lamblia* (5×10^4) a 37 °C durante 48 hrs en presencia de los compuestos puros a evaluar, disueltos en DMSO a diferentes concentraciones (2.5-200 $\mu\text{g/mL}$). Después de la incubación se tomó un inóculo de 50 μL de cada tubo y se transfirió en medio fresco para ser incubado durante 48 hrs más en ausencia de compuesto a evaluar.

Cada evaluación incluyó metronidazol y emetina como referencias, un control (medio de cultivo, trofozoitos y DMSO) y un blanco (medio de cultivo). El número final de parásitos se midió con un hemocitómetro y el porcentaje de inhibición del crecimiento de los trofozoitos se determinó por comparación con el control.



Adicionalmente los resultados se confirmaron por el método colorimétrico de producción de formazan: lavando y cultivando los trofozoitos durante 45 min a 37 °C en un buffer salino conteniendo bromuro de 3-[4,5 –dimetiltiazol-2-il]-2,5-difenil tetrazolio y metosulfato de fenazina. El formazan producido durante el ensayo se extrajo y se cuantificó a 570 nm. Cada ensayo se realizó por duplicado y se repitió un mínimo de tres veces. Los datos obtenidos se manejaron por análisis probit y el porcentaje de trofozoitos sobrevivientes se determinó por comparación con el control. Los valores de concentración inhibitoria media (CI_{50}) se obtuvieron de la curva probit versus log de la concentración y posterior análisis de regresión.



7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

Se obtuvieron once derivados de incomptina B cuya caracterización se llevó a cabo mediante la determinación de su punto de fusión, rotación óptica, espectroscopía de infrarrojo, resonancia magnética nuclear de ^1H y ^{13}C , y espectrometría de masas.

En los espectros de IR, RMN de ^1H y de ^{13}C , los derivados presentaron las bandas, señales y desplazamientos químicos correspondientes al esqueleto base de la incomptina B (Tablas 3 y 4). Las señales adicionales que cada derivado presentó fueron consistentes con la estructura esperada y se discuten para cada uno más adelante.

7. 1 Síntesis de ésteres de incomptina B.

La síntesis de los ésteres se llevó a cabo según la metodología descrita en la literatura⁶⁷ para lo cual se utilizaron diferentes anhídridos de ácido (trifluoroacético, propanoico, butanoico, isobutanoico, pentanoico y metacrílico) que reaccionaron con el grupo hidroxilo en C-8 de la incomptina B mediante una sustitución acilnucleofílica en presencia de una base débil como lo es la piridina para dar como producto los compuestos I-VI.

Todos los ésteres presentaron en su espectro en el IR (Espectros 1-6) tres bandas características, una correspondiente a la vibración de estiramiento del enlace C=O de la γ -lactona α,β insaturada cuyos valores oscilaron entre 1754-1762 cm^{-1} , la segunda banda fue para la vibración de estiramiento del enlace C=O del grupo éster unido al C-8 entre 1707 y 1794 cm^{-1} y en un intervalo de 1631-1655 cm^{-1} se observó la banda correspondiente a las dobles ligaduras.

Los desplazamientos químicos de las señales de los compuestos I-V observadas en los espectros de RMN de ^1H y ^{13}C correspondientes al esqueleto base de la incomptina B⁵² fueron similares a los del material de partida (Tablas 3 y 4). En el espectro RMN de ^1H de la incomptina B: la señal correspondiente al protón H-8 aparece como un ddd 5.21 ppm a ($J = 4.5, 3.0, 0.5$ Hz) y la señal del hidrogeno del hidroxilo en C-8 ($\delta_{\text{H}} =$



2.28 ppm, 1H, d, $J = 4.5$ Hz) de la incomptina B no se observa en ninguno de los espectros de los derivados.

Tabla 3. Datos espectroscópicos de RMN de ^{13}C (CDCl_3 125 MHz, $\delta = \text{ppm}$) de incomptina B.⁵²

Posición	Incomptina B
1(CH)	60.5
2(CH)	128.3
3(CH)	132.3
4(C)	135.6
5(CH)	126.3
6(CH)	75.8
7(CH)	50.1
8(CH)	77.0
9(C)	43.0
10(C)	61.2
11(C)	137.2
12(C)	169.2
13(CH ₂)	124.8
14(CH ₃)	19.7
15(CH ₃)	23.7

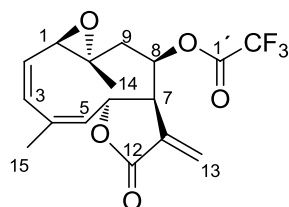


Tabla 4. Datos espectroscópicos de RMN de ^1H (CDCl_3 500 MHz, δ =ppm, J = Hz) de incompitina B.⁵²

Posición	Incompitina B
1(dd)	3.24(7.5, 1.0)
2 α (dd)	5.55(11.5, 7.5)
3 α (d)	6.11(11.5)
5(dq)	5.28(10.5, 1.5)
6(dd)	5.07(11.0, 1.5)
7 (m)	2.83
8 (br s)	4.18
9 α (dd)	1.34(14.5,2.0)
9 β (dd)	2.54(14.5-4.5)
13(dd)	6.39(2.0, 0.5)
13'(d)	5.8(2.0)
14 (s)	1.2
15 (d)	1.88(1.0)



7. 1. 1 Compuesto I. 8-O-trifluoroacetyl incomptina B:

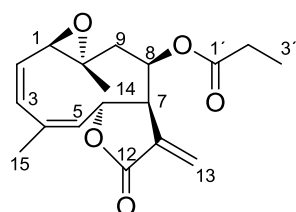


Se obtuvieron 49.5 mg (47.3 %) de un sólido cristalino de color amarillo pálido, con Pf de 177-178 °C y $[\alpha]_D^{25} = -383.8$ (*c* 0.16, CHCl₃). Su fórmula molecular C₁₇H₁₇O₅F₃, fue deducida del ión molecular [M + Na]⁺ de *m/z* 381.1 observado en el espectro de masas ESI⁺ (Espectro 1.1).

En el espectro de RMN de ¹³C (Espectro 1.2) se observan dos señales; a 156.2 y a 81.2 ppm, la primera es característica de un carbono de carbonilo (C-1') y la otra corresponde al C-2' unido a los tres átomos de flúor.

En el espectro de RMN de ¹H (Espectro 1.3) no se observan señales adicionales a las del esqueleto base de incomptina B.

7. 1. 2 Compuesto II. 8-O-propanoil incomptina B:



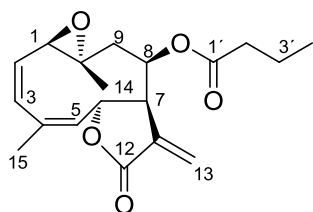
Se obtuvieron 17.4 mg (17.3 %) de un sólido cristalino incoloro con Pf 146-147°C y $[\alpha]_D^{25} = -486.9$ (*c* 0.13, CHCl₃), su fórmula molecular C₁₈H₂₂O₅ y fue consistente con el ión molecular [M + Na]⁺ de *m/z* 341.2 observado en el espectro de masas ESI⁺ (Espectro 2.1).

En el espectro de RMN de ¹³C (Espectro 2.2) se observan tres señales: el C- 3' se asignó a la señal a 9.3 ppm, el C- 2' adyacente al carbonilo se observa a 28.1 ppm y la señal del C-1', correspondiente al carbonilo del éster se encuentra a 173.5 ppm.

En el espectro de RMN de ¹H (Espectro 2.3) a 1.1 ppm se observa una señal triple que integra para tres protones (*J* = 7.5 Hz) esta señal se asignó al metilo 3', cuatro señales cuádruples a 2.30 ppm que integran para dos protones corresponden a los hidrógenos del metileno 2' en un sistema de acoplamiento ABX₃ (*J*_{AB} = 16.5 Hz, *J*_{AX3} = 7.5 Hz, *J*_{BX3} = 7.5 Hz).



7. 1. 3 Compuesto III. 8-O-butanoil incomptina B:

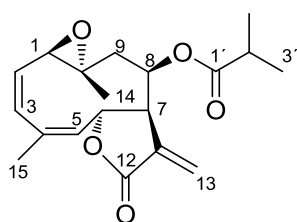


Se obtuvieron 64.3 mg (61.0 %) de un sólido cristalino incoloro con Pf de 103-105°C y $[\alpha]_D^{25} = -475.0$ (*c* 0.24, CHCl₃), su fórmula molecular C₁₉H₂₄O₅ fue consistente con el ión molecular [M + Na]⁺ de *m/z* 355.2 observado en el espectro de masas ESI⁺ (Espectro 3.1).

En el espectro de RMN de ¹³C (Espectro 3.2) la señal del C-4' apareció a 13.6 ppm, las de los carbonos 2' y 3' se observan a 36.2 y 18.2 ppm, respectivamente; la señal del carbonilo C-1' apareció a 173.3 ppm.

En el espectro de RMN de ¹H (Espectro 3.3) a 0.9 ppm se observó una señal triple (2H, *J* = 10.5 Hz) que corresponde al metilo 4', los hidrógenos del metileno 3' aparecen como una señal séxtuple a 1.6 ppm (2H, *J* = 7.5 Hz). Los dos pares de señales triples a 2.25 ppm se asignaron a los hidrógenos del metileno 2' (2H, ABX₂, *J*_{AB} = 16.0, *J*_{AX2} = 7.5, *J*_{BX2} = 7.5 Hz).

7. 1. 4 Compuesto IV. 8-O-isobutanoil incomptina B:

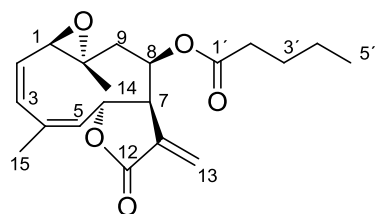


Se obtuvieron 13.6 mg (13.6 %) de un sólido cristalino incoloro con Pf de 143-144°C y $[\alpha]_D^{25} = -617.9$ (*c* 0.14, CHCl₃). El ion molecular [M + Na]⁺ de *m/z* 355.2 observado en el espectro de masas ESI⁺ (Espectro 4.1) fue concordante con la fórmula molecular esperada C₁₉H₂₄O₅.

Cuatro señales en el espectro de RMN de ¹³C (Espectro 4.2) a 19.32, 18.93, 34.6 y 172.16 ppm corresponden a los metilos de los carbonos 3' y 4', al metino C-2' y al del carbonilo C-1', respectivamente. En el espectro de RMN ¹H (Espectro 4.3) las dos señales dobles a 1.13 y 1.11 ppm (3H, *J* = 2.0 Hz) se asignaron a los hidrógenos de los metilos 3' y 4'; la señal séptuple a 2.5 ppm (1H, *J* = 7.0 Hz) corresponde al H-2'.



7. 1. 5 Compuesto V. 8-O-pentanoil incomptina B:



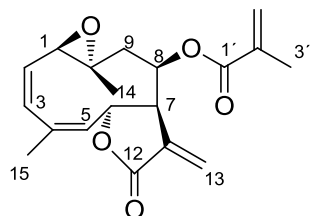
de masas ESI⁺ (Espectro 5.1)

Se obtuvieron 23.6 mg (22.9 %) de un sólido cristalino incoloro con Pf de 66-67°C y $[\alpha]_D^{25} = -475.0$ (*c* 0.24, CHCl₃). La fórmula molecular C₂₀H₂₆O₅ fue consistente con el ión molecular [M + Na]⁺ de *m/z* 369.2 observado en el espectro

En el espectro de RMN de ¹³C (Espectro 5.2) la señal C-5' se observó a 13.6 ppm, los carbonos de los metilenos (2', 3' y 4') se encuentran a 22.1, 26.6 y 34.0 ppm respectivamente y la señal del carbonilo C-1' a 176.12 ppm.

En el espectro de RMN de ¹H (Espectro 5.3), se observó a 0.89 ppm una señal triple (3H, *J* = 7.5 Hz) correspondiente a los hidrógenos del metilo 5', una señal múltiple a 1.27 ppm que integra para dos protones se asignó a los hidrógenos del metileno 4', a 1.54 ppm se observó una señal quintuple (2H, *J* = 7.5 Hz) propia de los hidrógenos del metileno 3'. También se observan dos pares de señales triples (ABX₂) a 2.27 ppm que integra para dos protones asignados a los hidrógenos del metileno 2' (*J*_{AB} = 16.0, *J*_{AX2} = 7.0, *J*_{BX2} = 7.5 Hz).

7. 1. 6 Compuesto VI. 8-O-metacriloil incomptina B:



Se obtuvieron 14.1 mg (13.7 %) de un sólido cristalino incoloro con Pf de 150-152°C y $[\alpha]_D^{25} = -744.0$ (*c* 0.15, CHCl₃), su fórmula molecular C₁₉H₂₂O₅, fue deducida del ión molecular [M + Na]⁺ de *m/z* 353.1, MS-ESI⁺ (Espectro 6.1).

En el espectro de RMN de ¹³C (Espectro 6.2) la señal del C-3' apareció a 18.12 ppm, las señales de los carbonos vinílicos (2' y 4') se observaron a 136.1 y 128.3 ppm respectivamente, y la señal del C- 1' apareció a 165.9 ppm.

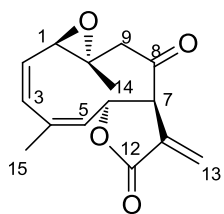


En el espectro de RMN de ^1H (Espectro 6. 3), la señal dd a 1.89 ppm ($J = 1.0, 0.5$ Hz) se asignó a los hidrógenos del metilo 3', dos señales múltiples a 5.6 y 6.11 ppm, que integran cada una para un protón se asignaron a los hidrógenos del metileno 4'.

7. 2 Oxidación de la incomptina B en la posición C-8.

La metodología de la oxidación de la incomptina B (posición C-8) se llevó a cabo de acuerdo a lo reportado en la literatura⁶⁷, para lo cual se utilizó PCC (clorocromato de piridinio), que reaccionó con el hidroxilo libre en C-8 de la incomptina B para dar el producto de oxidación en esta posición.

7. 2 .1 Compuesto VII. 8-dehidroincomptina B:



Se obtuvieron 33.4 mg (13.7 %) de un sólido cristalino amarillo con Pf de 155-157 °C y $[\alpha]_D^{25} = -763.0$ (c 0.12, CHCl_3).

Este compuesto presentó en el IR (Espectro 7) tres bandas características: a 1760 cm^{-1} una banda correspondiente a la vibración de estiramiento del enlace C=O de la γ -lactona α,β insaturada, a 1711 cm^{-1} otra banda se debe a la vibración de estiramiento del enlace C=O del grupo carbonilo en C-8 y en 1647 cm^{-1} se observó la banda de vibración correspondiente al enlace C=C. El ión molecular $[\text{M} + \text{Na}]^+$ de m/z 283.1 observado en el espectro de masas ESI⁺ (Espectro 7.1) coincidió con la fórmula molecular $\text{C}_{19}\text{H}_{24}\text{O}_5$ esperada para este compuesto.

En el espectro RMN de ^{13}C (Espectro 7.2) se observó un desplazamiento de la señal de C-8 a campo bajo ($\delta_{\text{C}} = 202.5$ ppm), característica de un carbonilo de cetona.

En el espectro RMN de ^1H (Espectro 7.3) no está la señal del H-8; por su parte las señales de los hidrógenos 9 α y 9 β aparecen como señales dobles a 3.93 ppm ($J = 1.5$ Hz) y a 2.5 ppm ($J = 11.0$ Hz), respectivamente.



7. 3 Síntesis de éteres de incomptina B.

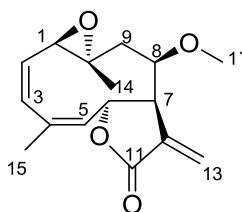
La preparación de los éteres se realizó según la técnica reportada en la literatura⁶⁸ mediante una reacción que es una modificación de la síntesis de Williamson en la que se utiliza óxido de plata como catalizador. El hidroxilo de la incomptina B reaccionó con los haloalcanos (yodometano, yodoetano, yodopropano, y 2-yodopropano) para dar como producto los compuestos VIII-XI.

Todos los éteres presentaron en el IR dos bandas características, una correspondiente a la γ -lactona α,β insaturada cuyos valores oscilaron entre 1741-1759 cm^{-1} , la otra banda se observó en intervalo de 1654-1658 cm^{-1} corresponde a C=C.

En el caso de estos compuestos (VIII-XI) se utilizaron las técnicas de espectrometría de masas de: IE^+ (impacto electrónico), FAB^+ (bombardeo de átomos rápidos) y ESI^+ y ninguna de las tres formas de ionización proporcionó espectros con relación masa carga que indicara la presencia del ión molecular esperado.

Los compuestos VIII-XI en los espectros de RMN de ^{13}C y ^1H presentaron las señales del esqueleto base de la incomptina B (Tablas 3 y 4) ya descritos en la literatura⁵². En el caso de la señal correspondiente al protón en C-8 aparece a 5.21 ppm como un ddd ($J = 4.5, 3.0, 0.5$ Hz) y la señal del hidrógeno del hidroxilo en C-8 ($\delta_{\text{H}} = 2.28, 1\text{H}, \text{d}, J = 4.5$ Hz) de la incomptina B no se observó en ninguno de los espectros de los derivados.

7. 3 .1 Compuesto VIII. 8-O-metil incomptina B:



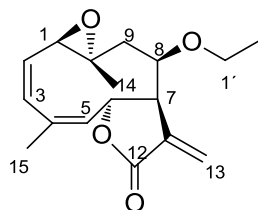
Se obtuvieron 46 mg (61.0 %) de un sólido cristalino incoloro con Pf de 201-203°C. Con $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -518.6(c 0.14, \text{CHCl}_3)$.

En el espectro de RMN de ^{13}C (Espectro 8.1) se observó una señal a 58.00 ppm correspondiente al carbono 1' unido a oxígeno.

En el espectro de RMN de ^1H se observó solo una señal a 3.29 ppm (3H, s) asignado a los hidrógenos del metilo 1'. (Espectro 8.2)



7. 3 .2 Compuesto IX. 8-O-etil incomptina B:

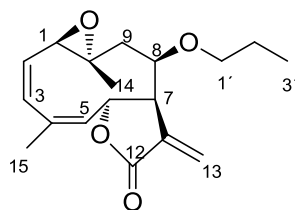


Se obtuvieron 7.5 mg (3.4 %) de un sólido cristalino incoloro con Pf de 138-140 °C. Con $[\alpha]_D^{25} = -523.1$ (c 0.15, CHCl_3).

En el espectro de RMN de ^{13}C , la señal que apareció a 58.0 ppm característica de carbono unido a oxígeno, se asignó al metileno 1', mientras que la señal a 14.11 ppm se asignó al metilo 2'. (Espectro 9.1)

En el espectro de RMN de ^1H (Espectro 9.2) se observó a 1.27 ppm una señal triple que integró para tres protones (3H, $J = 7.0$ Hz) y se asignó al metilo 2'. La señal cuádruple de cuádruples a 4.16 ppm (ABX_3 , $J_{\text{AB}} = 10$, $J_{\text{AX}3} = 7.0$, $J_{\text{BX}3} = 7.0$) se asignó al metileno 1'.

7. 3. 3 Compuesto X. 8-O-propil incomptina B:



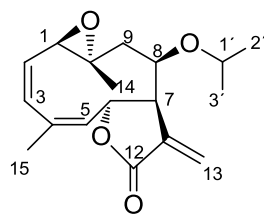
Se obtuvieron 15.1 mg (7.5%) de un sólido cristalino incoloro con Pf de 182-184°C. Con $[\alpha]_D^{25} = -497.5$ (c 0.16, CHCl_3).

En el espectro de RMN de ^{13}C (Espectro 10.1), la señal del metilo 3' y la del metileno 2' aparecieron a 10.0 y 21.8 ppm respectivamente. Por su parte la señal del metileno 1', unido a oxígeno mostró un desplazamiento químico de 70.1 ppm.

En el espectro de RMN de ^1H se observó una señal a $\delta=0.91$ ppm (3H, t, $J = 7.5$ Hz), asignada al metilo 3'. También hay una señal séxtuple a 1.65 ppm (2H, $J = 7.5$ Hz) que corresponde a los hidrógenos del metileno 2'. Dos pares de señales triples (ABX_2) aparecieron a 4.06 ppm (2H, $J_{\text{AB}} = 10$, $J_{\text{AX}2} = 7.0$, $J_{\text{BX}2} = 6.5$ Hz) y se asignaron a los hidrógenos del metileno 1'. (Espectro 10. 2)



7. 3. 4 Compuesto XI. 8-O-isopropil incomptina B:



Se obtuvieron 11.0 mg (6.4 %) de un sólido cristalino incoloro con Pf de 148-150°C. Con $[\alpha]_D^{25} = -465.6$ (c 0.09, CHCl_3).

En el espectro de RMN de ^{13}C se observan tres señales que se asignaron de la siguiente manera: las señales a 21.67 y 21.51 ppm corresponden a los carbonos 2' y 3' de los metilos y la señal del carbono del metino unido a oxígeno apareció a 72.7 ppm. (Espectro 11.1).

En el espectro de RMN de ^1H (Espectro 11.2) se observó una señal un doble de dobles a 1.25 ppm que integra para tres protones ($J = 10.5, 10.5$ Hz) y una señal séptuple a 4.81 ppm (1H, $J = 6.5$ Hz), esta señal se asignó al metino 1'.



7. 4 Resultados de la actividad antiprotozoaria.

Los compuestos preparados tuvieron el propósito de optimizar la actividad antiprotozoaria de la incomptina A, para tal fin, se evaluaron contra *E. histolytica* y *G. lamblia*, ambos protozoarios son causa importante de enfermedades gastrointestinales y son contra los que en estudios previos la incomptina A ha mostrado una actividad biológica significativa.

En los ensayos de evaluación biológica se incluyó el metronidazol como control positivo, por ser éste el fármaco antiprotozoario de primera elección.

Los ésteres obtenidos (compuestos I-VI) presentaron una actividad antiprotozoaria menor que la incomptina A, pero mayor que la incomptina B, además es importante resaltar que todos estos compuestos son más activos contra *E. histolytica* que contra *G. lamblia*. (Tabla 5)

Tabla 5. Actividad antiprotozoaria de los ésteres de incomptina B.

Compuesto	CI ₅₀ (µg/mL)	
	<i>E. histolytica</i>	<i>G. lamblia</i>
I. 8-O-trifluoroacetyl incomptina B	37.7 ± 0.31	43.3 ± 0.25
II. 8-O-propanoil incomptina B	51.6 ± 0.30	68.8 ± 0.35
III. 8-O-butanoil incomptina B	49.1 ± 0.35	51.7 ± 0.46
IV. 8-O-isobutanoil incomptina B	52.7 ± 0.42	62.2 ± 0.25
V. 8-O-pentanoil incomptina B	51.7 ± 0.36	58.3 ± 0.31
VI. 8-O- metacriloil incomptina B	32.7 ± 0.45	44.2 ± 0.78
Incomptina A	2.6 ± 0.15	18.1 ± 0.15
Incomptina B	137.6 ± 0.70	256.7 ± 0.95
Metronidazol	0.04 ± 0.04	0.21 ± 0.07

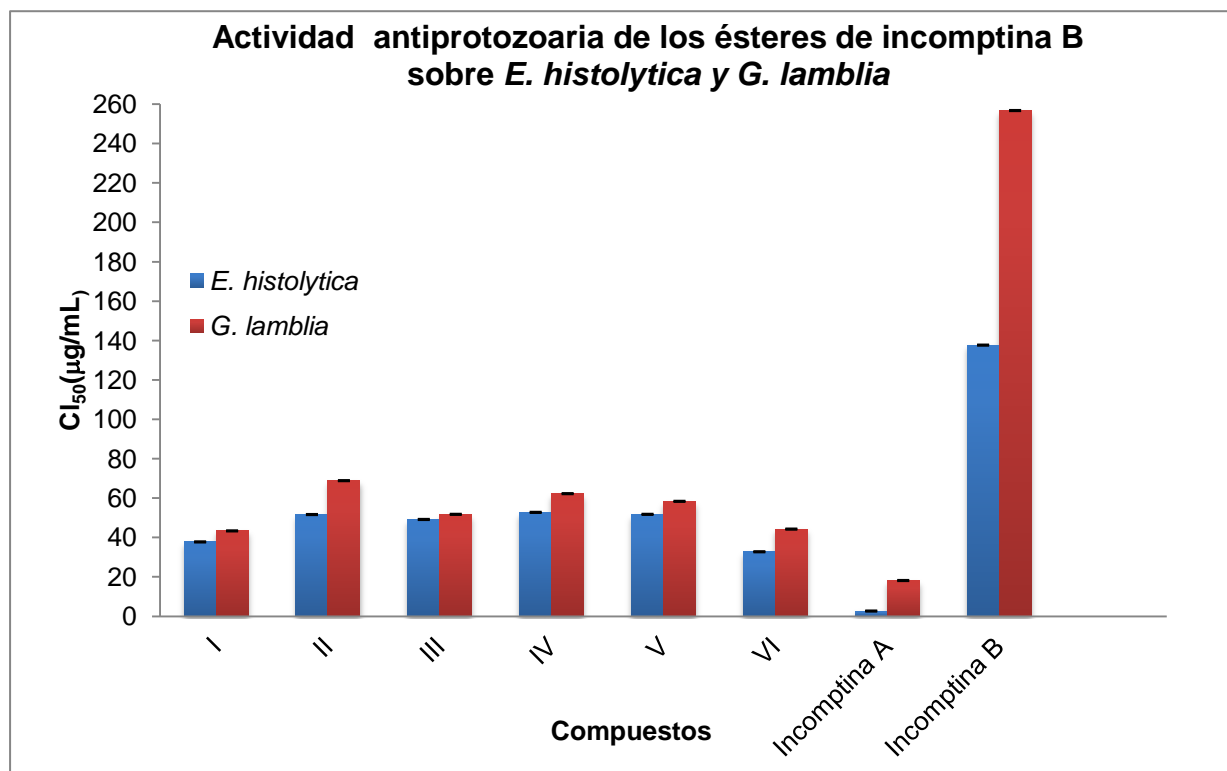
El reemplazo bioisostérico del grupo –CH₃ presente en el acetato en C-8 de la incomptina A por el grupo –CF₃ resultó en un compuesto antiprotozoario (Compuesto I) que fue el más activo de todos los ésteres contra *G. lamblia*.



La actividad de los ésteres homólogos (compuestos II-V) no aumentó respecto a la de incompitina A pero fue superior a la de incompitina B como se muestra en la gráfica 1, lo que permite suponer que con el aumento de tamaño y lipofilia del sustituyente, la actividad biológica no aumenta.

En la actividad antiprotozoaria de los homólogos (compuestos II-V) también se observa el impacto de la ramificación de la cadena sobre la actividad biológica; la 8-O-isobutanoil incompitina B presenta una actividad antiprotozoaria menor que la de su isómero la 8-O-butanoil incompitina B.

De todos los ésteres la 8-O-metacriloil incompitina B (compuesto VI) es la que resultó más activa contra *E. histolytica*, lo que permite sugerir que el efecto estereoelectrónico del doble enlace en el sustituyente podría ser un criterio importante para la actividad antiprotozoaria.



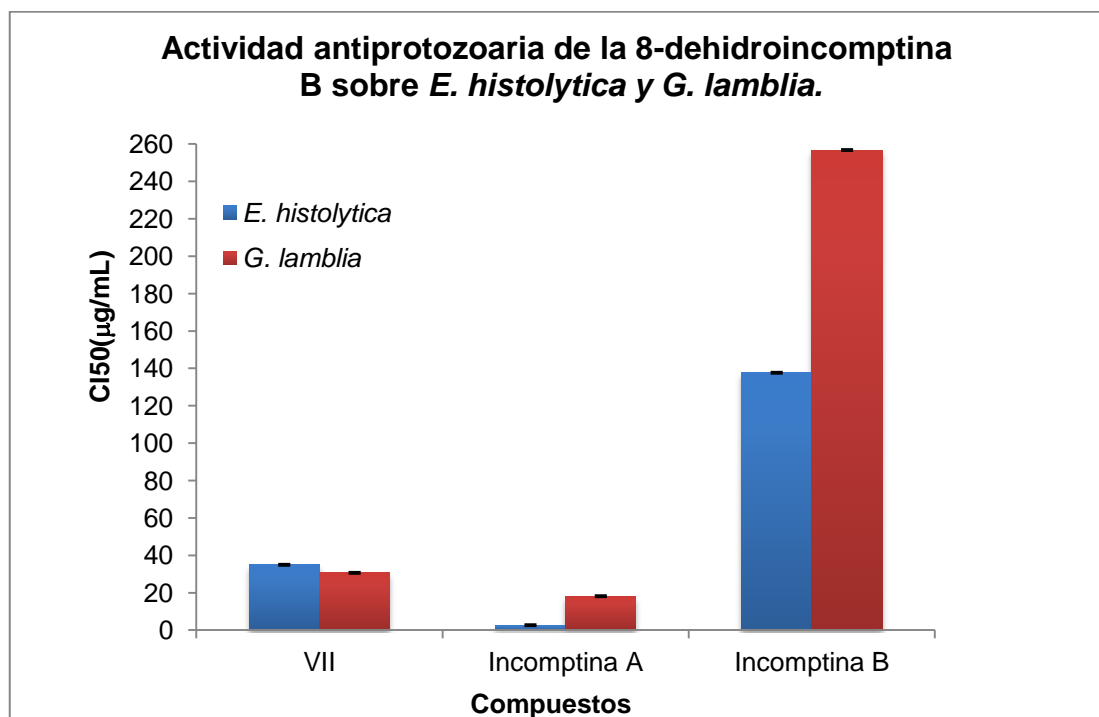
Gráfica 1. Actividad antiprotozoaria de los compuestos I- VI.



La actividad antiprotozoaria de la 8-dehidroincomptina B (compuesto VII), no aumentó respecto a la incomptina A sin embargo sigue siendo mayor que la de la incomptina B como se observa en la tabla 6 y al igual que los ésteres, este compuesto es menos activo contra *G. lamblia* que contra *E. histolytica*. (Gráfica 2)

Tabla 6. Actividad antiprotozoaria del compuesto de oxidación de la incomptina B en la posición C-8.

Compuesto	CI ₅₀ (µg/mL)	
	<i>E. histolytica</i>	<i>G. lamblia</i>
VII.8-dehidroincomptina B	34.9 ± 1.06	30.6 ± 0.31
Incomptina A	2.6 ± 0.15	18.1 ± 0.15
Incomptina B	137.6 ± 0.70	256.7 ± 0.95
Metronidazol	0.04 ± 0.04	0.21 ± 0.07



Gráfica 2. Actividad antiprotozoaria del compuesto VII.

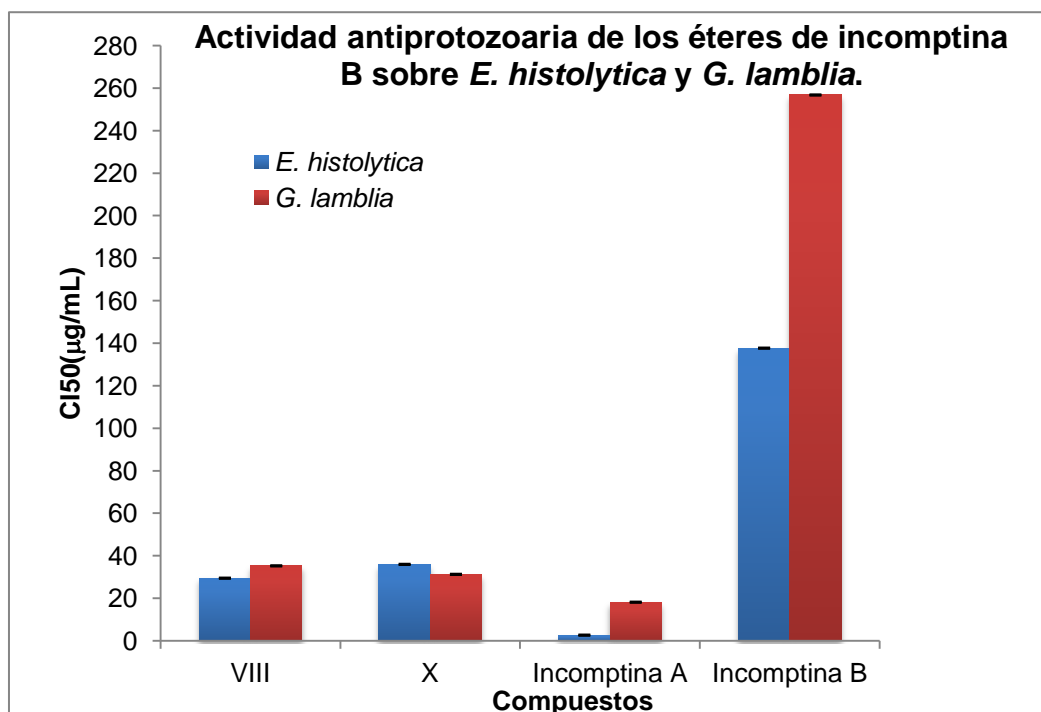


De los cuatro éteres preparados sólo a dos de ellos se les determinó su actividad antiprotozoaria y los resultados se presentan en la tabla 7; ninguno de los estos compuestos superó en actividad a la incomptina A.

La 8-O-metil incomptina B tiene una actividad mayor contra *E. histolytica* pero menor contra *G. lamblia* comparada con la 8-O-propil incomptina B. En ambos casos el tamaño y lipofilia del sustituyente son factores importantes para la actividad biológica. (Gráfica 3)

Tabla 7. Actividad antiprotozoaria de los éteres de incomptina B

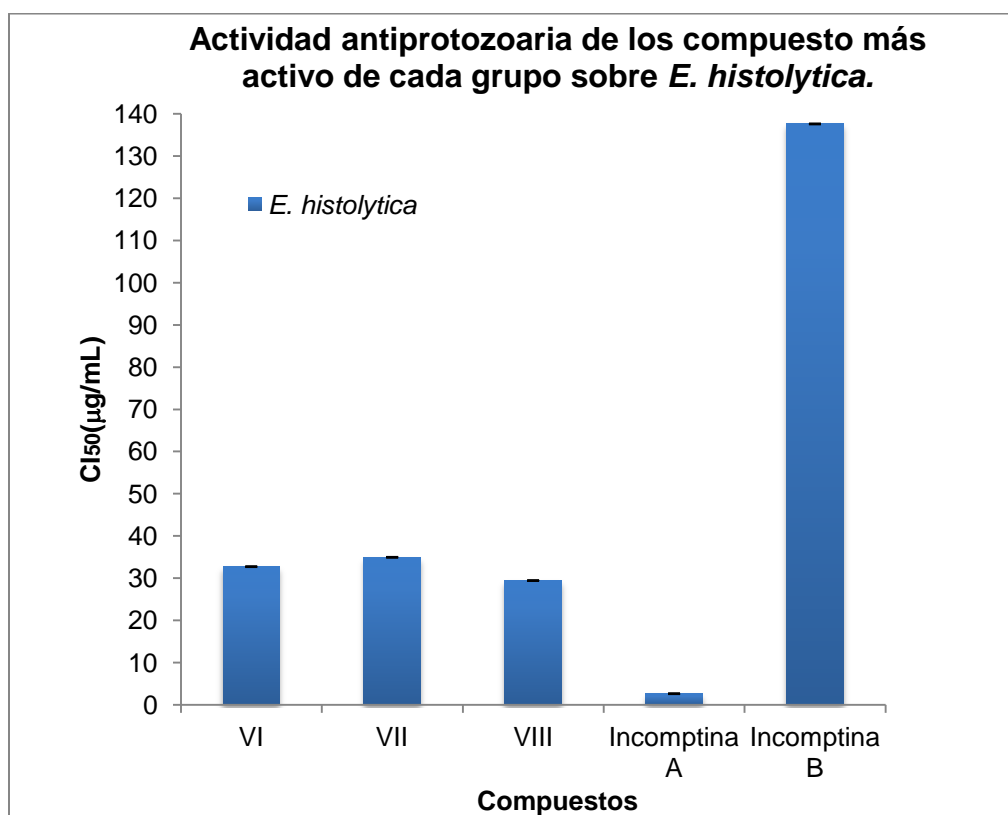
Compuesto	CI ₅₀ (µg/mL)	
	<i>E. histolytica</i>	<i>G. lamblia</i>
VIII. 8-O-metil incomptina B	29.4± 0.31	35.2± 0.35
X. 8-O-propil incomptina B	35.9± 0.50	31.2± 0.50
Incomptina A	2.6 ± 0.15	18.1 ± 0.15
Incomptina B	137.6 ± 0.70	256.7 ± 0.95
Metronidazol	0.04 ± 0.04	0.21 ± 0.07



Gráfica 3. Actividad antiprotozoaria de los éteres de incomptina B.

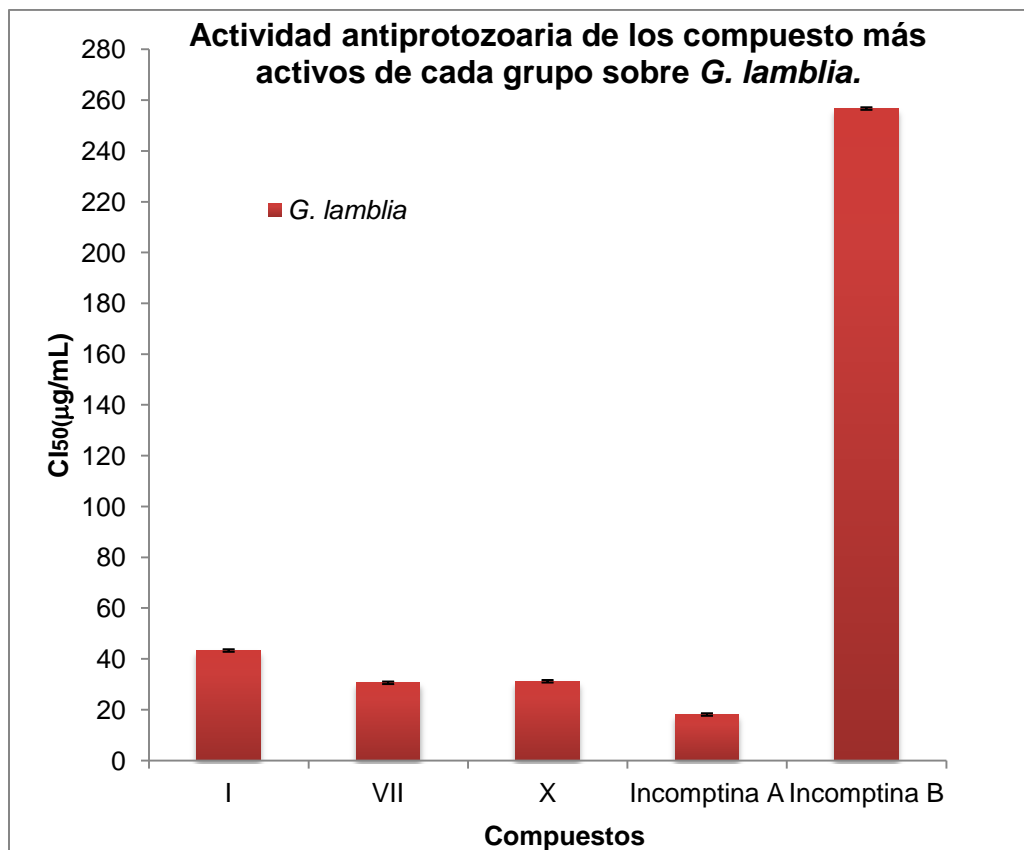


En la gráfica 4 se compara la CI_{50} de los compuestos más activos de cada grupo (ésteres, compuesto de oxidación y éteres de incompitina B) contra *E. histolytica* y es la 8-O-metil incompitina B (compuesto VIII) la que presenta la mayor actividad contra éste microorganismo.



Gráfica 4. Actividad antiamiba de los compuestos VI, VII y VIII.

La CI_{50} de los compuestos más activos de cada grupo contra *G. lamblia* se comparan en la gráfica 5 y en este caso fue la 8-dehidroincompitina B (compuesto VII) la más activa contra este parásito.



Gráfica 5. Actividad anti*giardia* de los compuestos I, VII y X.



8. CONCLUSIONES.

- ✓ Se sintetizaron once derivados de incompina B: seis ésteres, una cetona y cuatro éteres, su caracterización se llevó a cabo mediante la determinación de su punto de fusión, rotación óptica, espectroscopía de infrarrojo, resonancia magnética nuclear de ^1H y ^{13}C , y espectrometría de masas.
- ✓ La actividad antiprotozoaria de todos los derivados evaluados fue menor que la de incompina A por lo que el grupo acetato en C-8 es el sustituyente óptimo para generar la actividad biológica contra *E. histolytica* y *G. lamblia*.
- ✓ Los ésteres producen una actividad antiprotozoaria menor que los éteres y el compuesto de oxidación.
- ✓ Las CI_{50} de los derivados, son menores para *E. histolytica* que para *G. lamblia*.
- ✓ Todos los derivados a excepción de la 8-O-propil presentan una potencia mayor contra *E. histolytica* que contra *G. lamblia*.



9. BIBLIOGRAFÍA.

1. OMS

<http://www.who.int/en/>

Fecha de consulta: 9 de febrero del 2013.

2. SINAVE/DGE/SALUD/Información Epidemiológica de morbilidad, Anuario Ejecutivo 2010.

<http://www.epidemiologia.salud.gob.mx/>

Fecha de consulta: 10 de febrero del 2013.

3. Upcroft, J. A.; Upcroft, P.; Boreham, P. F. L. Drug resistance in *Giardia Intestinalis*. *International Journal for Parasitology*. **1990**, *20*, 489-496.

4. McChesney, J. D.; Venkataraman, S. K.; Henri, J. T. Plant natural products: back to the future or into extinction? *Phytochemistry*. **2007**, *68*, 2015-2022.

5. Tagboto, S.; Townson, S. Antiparasitic properties of medicinal plants and other naturally occurring products. *Advances in parasitology*. **2001**, *50*, 199-295.

6. Calzada, F.; Yépez-Mulia, L.; Aguilar, A. In vitro susceptibility of *Entamoeba histolytica* and *Giardia lamblia* to plants used in Mexican traditional medicine for the treatment of gastrointestinal disorders. *Journal of ethnopharmacology*. **2006**, *108*, 367-370.

7. Lozayola, X.; Aguilar, A.; Camacho, J. R. Encuesta sobre el uso actual de plantas en la medicina tradicional Mexicana. *Revista Médica del IMSS*. **1987**, *25*, 283-291.

8. Phillipson, J. D. Phytochemistry and pharmacognosy. *Photochemistry*. **2007**, *68*, 2960-2972.

9. Anthony, J. P.; Fyfe, L.; Smith, H. Plant active components - a resource for antiparasitic agents? *Trends in parasitology*. **2005**, *21*, 462- 468.

10. Stanley, S. L. Amoebiasis. *The Lancet*. **2003**, *361*, 1025-1034.

11. Brumpt, M. E. Étude sommaire del' <<*Entamoeba dispar*>> n sp Amibe a kystes quadrinucléés, parasite de l'homme. *Bull Acad Méd (Paris)*. **1925**, *94*, 943-952.



12. Ximénez, C.; Morán, P.; Rojas, L.; Valadez, A.; Gómez, A. Reassessment of the epidemiology of amebiasis: state of the art. *Infection, genetics and evolution: journal of molecular epidemiology and evolutionary genetics in infectious diseases*. **2009**, 9, 1023-1032.
13. Biagi, F. Enfermedades parasitarias, 3^a edición, 2004, Editorial El manual Moderno.
14. Caballero-Salcedo, A.; Viveros-Rogel, M.; Salvatierra, B.; Tapia-Conyer, R.; Sepulveda-Amor, J.; Gutiérrez, G.; Ortiz-Ortiz, L. Seroepidemiology of amebiasis in Mexico. *The American journal of tropical medicine and hygiene*. **1994**, 50, 412-419.
15. Pérez-Arellano, J. L.; Carranza-Rodríguez, C.; Vicente-Santiago, B.; Muro, A. Amebosis, giardosis y tricomonosis. *Medicine - Programa de Formación Médica Continuada Acreditado*. **2010**, 10, 3609-3620.
16. M, I.; Clark, C.; Petri Jr, W. Molecular epidemiology of amebiasis; *Infection, genetics and evolution: journal of molecular epidemiology and evolutionary genetics in infectious diseases*. **2008**, 8, 698-707.
17. Minenoa, T.; Avery, M. A. Giardiasis: recent progress in chemotherapy and drug development. *Current pharmaceutical design*. **2003**, 9, 841-855.
18. Wright, S. Amoebiasis and giardiasis. *Medicine*. **2005**, 33, 47-50.
19. Thompson, R. C. A. Giardiasis: Conceptos modernos sobre su control y tratamiento. *Annales Nestlé (Ed. española)*. **2008**, 66, 23-29.
20. Cedillo-Rivera, R.; Leal, A. Y.; Yépez-Mulia, L.; Gómez-Delgado, A.; Ortega-Pierres, G.; Tapia-Conyer, R.; Muñoz, O. Seroepidemiology of giardiasis in Mexico. *The American journal of tropical medicine and hygiene*. **2009**, 80, 6-10.
21. Tay, J.; Lara, R.; Velasco, O.; Gutiérrez, M. Parasitología Médica, 7^a Edición, 2002, Méndez editores.
22. Lima, A. C.; Pacheco, L. B. De amibas y amebiasis: *Entamoeba histolytica*. *Elementos*. **2012**, 87, 13-18.



23. Kappagoda, S.; Singh, U.; Blackburn, B. G. Antiparasitic therapy. *Mayo Clinic proceedings*. **2011**, 86, 561-583.
24. Carranza-Rodríguez, C.; Mateos-Rodríguez, F.; Muro, A.; Pérez-Arellano, J. L. Tratamiento antiparasitario. *Medicine-Programa de formación médica continuada acreditado*. **2010**, 10, 3664-3672.
25. Goihman-yahr, M. Antihelminthic and antiparasitic drugs: Unapproved uses or indications. *Clinics in Dermatology*. **2000**, 18, 113-117.
26. Wiley, J.; Note, E. New drugs for old diseases. Recent Advances in Antiparasitic Chemotherapy. *The antimicrobial Newsletter*. **1986**, 3, 35-45.
27. Cragg, G. M.; Newman, D. J. Natural products: A continuing source of novel drug leads. *Biochimica et biophysica acta*. **2013**, 1830, 3670-3695.
28. Farnsworth, N. R.; Akerele, R. O.; Bingel, A. S.; Soejarto, D. D.; Guo, Z. Medicinal plants in therapy. *Bull World Health Organ*. **1985**, 63, 965-981.
29. Fabricant, D. S.; Farnsworth, N. R.; The value of plants used in traditional medicine for drug discovery. *Environmental health perspectives*. **2001**, 109 Suppl 1, 69-75.
30. Gurib-Fakim, A. Medicinal plants: traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Molecular aspects of medicine*. **2006**, 27, 1-93.
31. Newman, D. J.; Cragg, G. M. Natural products as sources of new drugs over the 30 years from 1981 to 2010. *Journal of natural products*. **2012**, 75, 311-335.
32. Phillipson, J. D.; Wrigh, C. W. Antiprotozoal agents from plant sources. *Planta Medica*. **1991**, 57, S53-S59.
33. Velázquez, C.; Calzada, F.; Torres, J.; González, F.; Ceballos, G. Antisecretory activity of plants used to treat gastrointestinal disorders in Mexico. *Journal of ethnopharmacology*. **2006**, 103, 66-70.
34. Arrieta, J.; Reyes, B.; Calzada, F.; Rivera, R.; Navarrete, A. Amoebicidal and giardicidal compounds from the leaves of *Zanthoxylum liebmannianum*. *Fitoterapia*. **2001**, 72, 295-297.



35. Calzada, F.; Arista, R.; Pérez, H. Effect of plants used in Mexico to treat gastrointestinal disorders on charcoal-gum acacia-induced hyperperistalsis in rats. *Journal of ethnopharmacology*. **2010**, *128*, 49-51.
36. Calzada, F.; Cervantes-Martinez, J. A.; Yépez-Mulia, L. In vitro antiprotozoal activity from the roots of *Geranium mexicanum* and its constituents on *Entamoeba histolytica* and *Giardia lamblia*. *Journal of ethnopharmacology*. **2005**, *98*, 191-193.
37. Barbosa, E.; Calzada, F.; Campos, R. In vivo anti-giardial activity of three flavonoids isolated of some medicinal plants used in Mexican traditional medicine for the treatment of diarrhea. *Journal of ethnopharmacology*. **2007**, *109*, 552-554.
38. King, R. M.; Robinson, H.; *Brittonia*. **1969**, *21*, 275-284.
39. De Luengo, D. H.; Mabry, T. J. 6-methoxyflavonoids from *Decachaeta ovatifolia*. *Journal of Natural Products*. **1986**, *49*, 183-184.
40. De luengo, D. H.; Minski, M.; Gage, D. A.; Mabry, T. J. 7 α -Hydroxy-sesquiterpene lactones from *Decachaeta ovatifolia*. *Phytochemistry*. **1986**, *25*, 1917-1922.
41. Miski, M.; De luengo D. H. Guaiane sesquiterpenes from *Decachaeta scabrella*. *Phytochemistry*. **1986**, *26*, 199-200.
42. Minski, M.; Gage, D. A.; Mabry, T. J. Quercetagenin 6, 7, 4'-trimethyl ether and 3-sulphate from *Decachaeta haenkeana*. *Phytochemistry*. **1985**, *24*, 3078-3080.
43. Alvarado, S.; Ciccio, J.F.; Caldaza, J.; Zabel, V.; Watson, W. H. Thieleanine, a new guaianolide from *Decachaeta thieleana*. *Phytochemistry*. **1979**, *18*, 330.
44. Siedle, B.; García-Piñeres, A. J.; Murillo, R.; Shulte-Mönting, J.; Castro, V.; Rüngeler, P.; Klaass, C. A.; Da Costa, F. B.; Kisiel, W.; Merfort, I. Quantitative Structure-Activity Relationship of Sesquiterpene Lactones as Inhibitors of the Transcription Factor NF- κ B. *Journal Medical Chemistry*. **2004**, *47*, 6042-6054.



45. Taylor, P. G.; Dupuy, O. A.; Bonilla, J.; Murillo, R. Anticancer activities of two sesquiterpene lactones, millerenolide and thieleanin isolated from *Viguiera sylvatica* and *Decachaeta thieleana*. *Fitoterapia*. **2008**, *79*, 428-432.
46. Dupuy, O. A.; Murillo, R.; Bonilla, J. A. Lactonas sesquiterpénicas de las plantas *Viguiera sylvatica* y *Decachaeta thieleana* (Asteraceae) modulan la producción de óxido nítrico y la fagocitosis de macrófagos RAW. *Revista de biología tropical*. **2008**, *56*, 1063-1073.
47. Siedle, B.; Cisielski, S.; Murillo, B.; Löser, B.; Castro, V.; Klaas, C. A.; Hucke, O.; Labahn, A.; Melzig, M. F.; Merfort, I. Sesquiterpene lactones as inhibitors of human neutrophil elastase. *Bioorganic & medicinal chemistry*. **2002**, *10*, 2855-2861.
48. Lindenmeyer, M. T.; Hrenn, A.; Kern, C.; Castro, V.; Murillos, R.; Müller, S.; Laufer, S.; Shulte-Mönting, J.; Siedle, B.; Merfort, I. Sesquiterpene lactones as inhibitors of IL-8 expression in HeLa cells. *Bioorganic & medicinal chemistry*. **2006**, *14*, 2487-2497.
49. Turner, B. L. A new species of *Decachaeta* (Asteraceae: Eupatorieae), from Oaxaca, Mexico. *Phytologia*. **2011**, *93*, 346-350.
50. Guerrero, C.; Taboada, J.; Díaz, J. B.; Oliva, A.; Ortega, A. Incomptinas A y B dos heliangólidas aisladas de *Decachaeta incompta*. Estudio preliminar de las actividades biológicas de incomptina B. *Revista Latinoamericana de Química*. **2004**, *23/4*, 142-147.
51. Calzada, F.; Yépez-Mulia, L.; Tapia-Contreras, A.; Ortega, A. Antiprotozoal and antibacterial properties of *Decachaeta incompta*. *Revista Latinoamericana de Química*. **2009**, *37*, 97-103.
52. Bautista, E.; Calzada, F.; Yépez-Mulia, L.; Chávez-Soto, M.; Ortega, A. Incomptines C and D, two heliangolides from *Decachaeta incompta* and their antiprotozoal activity. *Planta Medica*. **2012**, *78*, 1698-1701.

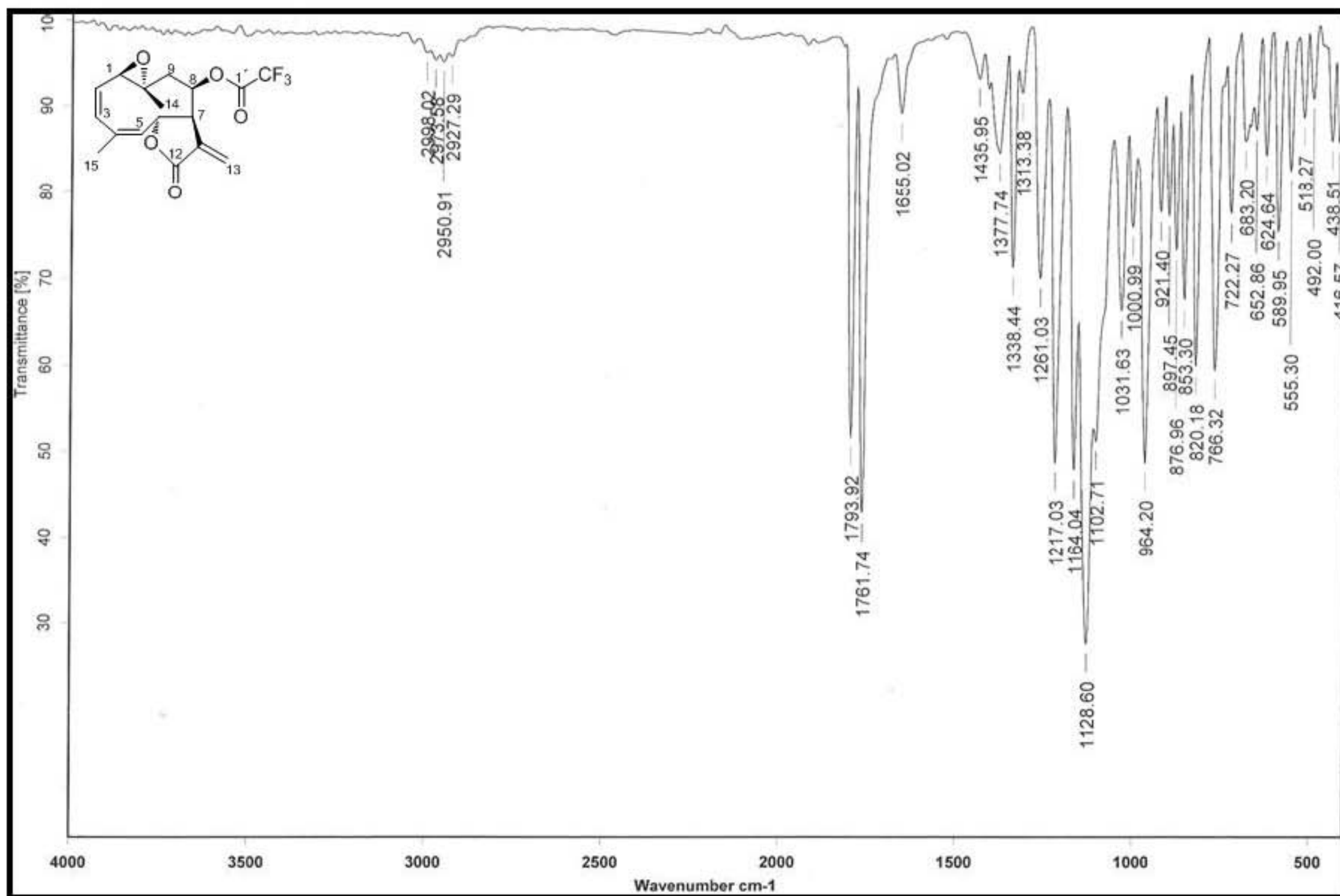


53. Díaz, J. B. Estudios químico de las plantas: *Decachaeta incompta* y frutos de *Juniperus deppeana*. Tesis de Licenciatura, Facultad de Química, UNAM. 1992.
54. Segura, M. Inhibición de la hiperperistalsis inducida con aceite de ricino-carbón activado, por extractos y compuestos puros de ocho especies selectas de la herbolaria mexicana. Tesis de Licenciatura, Facultad de Química, UNAM. 2009.
55. Urbán, R. Estudio de la actividad antipropulsiva de productos derivados de plantas medicinales de la herbolaria Mexicana. Tesis de Licenciatura, Facultad de Química, UNAM. 2009.
56. Espinosa, T. Determinación del potencial antidiarreico de los productos derivados de ocho especies vegetales de la herbolaria mexicana. Usando un modelo de diarrea osmótica inducida con un bolo de lactosa – azul de metileno en rata. Tesis de Licenciatura, Facultad de Química, UNAM. 2009.
57. Bruneton, J. Farmacognosia. Fitoquímica. Plantas medicinales, 3^a Edición, 2001, Editorial Acribia.
58. Rodríguez, E.; Towers, G. H. N.; Mitchell, J. C. Review biological activities of sesquiterpene. *Phytochemistry*. **1976**, *15*, 1573-1580.
59. Ghantous, A.; Gali-Muhtasib, H.; Vuorela, H.; Saliba, N.; Darwiche, N. What made sesquiterpene lactones reach cancer clinical trials? *Drug discovery today*. **2010**, *15*, 668-678.
60. Chaturvedi, D. Sesquiterpene lactones : Structural diversity and their biological activities. *Opportunity, Challenge and Scope of Natural Products in Medicinal Chemistry*. **2011**, *661*, 313-334.
61. Seaman, F. C. Sesquiterpene lactones as taxonomic characters in the Asteraceae. *Botanical Review*. **1982**, *48*, 121-595.
62. Fischer, N. H. Sesquiterpene lactones. *Methods in Plant Biochemistry*. **1991**, *7*, 187-211.

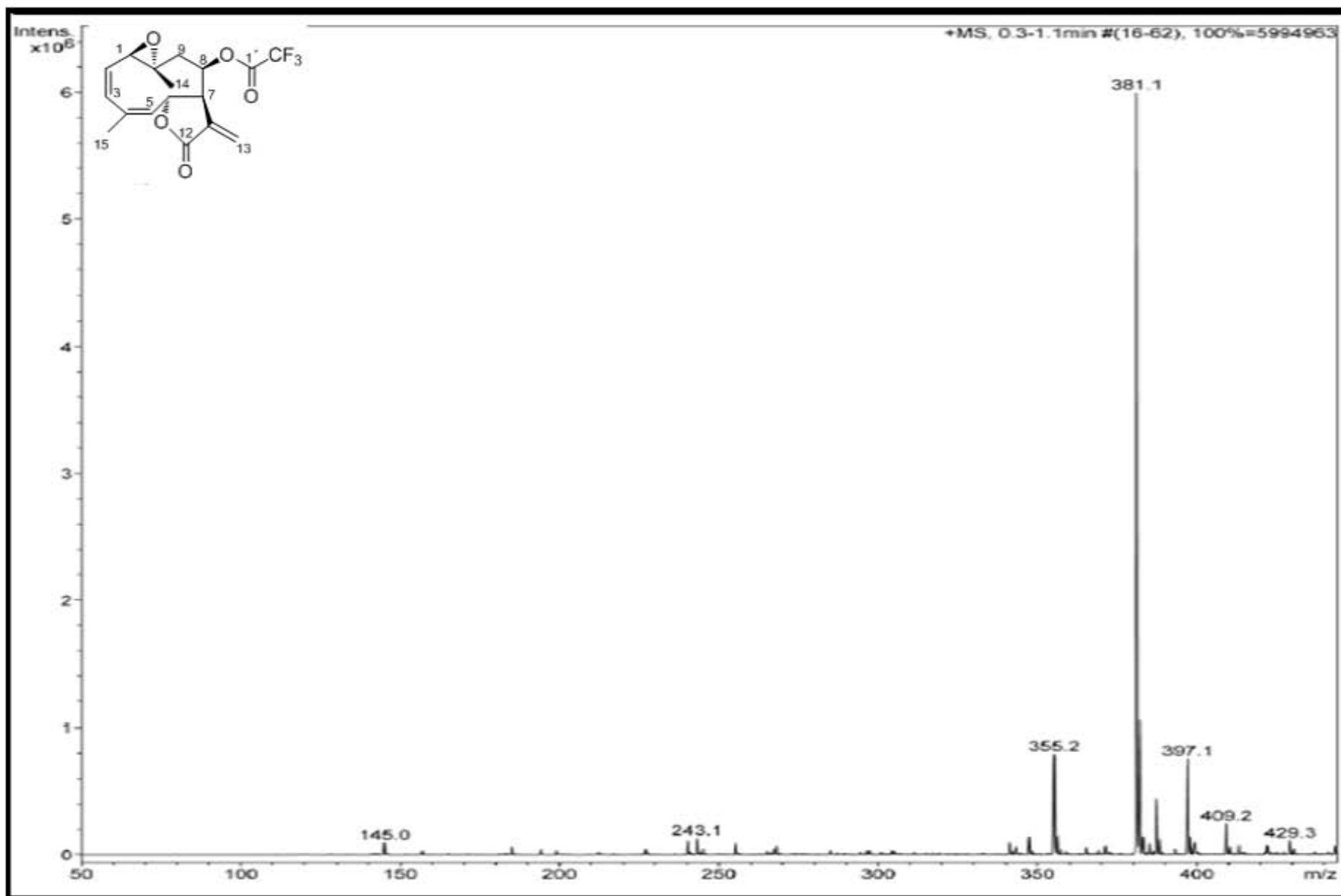


63. Dewick, P. M. *Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach*, 3rd Edition, 2009, John Wiley & Sons.
64. Kuo-Hsiung, L.; Ibuka, T.; Rong-Yang, W.; Geissman, T.A. Structure-antimicrobial activity relationships among the sesquiterpene lactones and related compounds. *Phytochemistry*. **1977**, *16*, 1177-1181.
65. Picman, A. K. Review Article Number 7 Biological Activities of Sesquiterpene Lactones. *Biochemical Systematics and Ecology*. **1986**, *14*, 255-281.
66. Avendaño, C. *Introducción a la química farmacéutica*. 2^a Edición, 2001, McGraw-Hill-Interamericana.
67. Fontana, G.; Savona, G.; Rodriguez, B.; Dersch, C. M.; Rothman, R. B.; Prisinzano, T. E. Synthetic studies on neoclerodane diterpenes from *Salvia splendens*: oxidative modifications of ring A. *Tetrahedron*. **2009**, *65*, 1708-1715.
68. Béguin, C.; Richards, M.; Wang, Y.; Xu, W.; Liu-Chen, L-Y.; Jr, Carlezon, W.; Cohen, B. Synthesis and in vitro evaluation of salvinorin A analogues: effect of configuration at C(2) and substitution at C(18). *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. **2006**, *16*, 4679-4685.

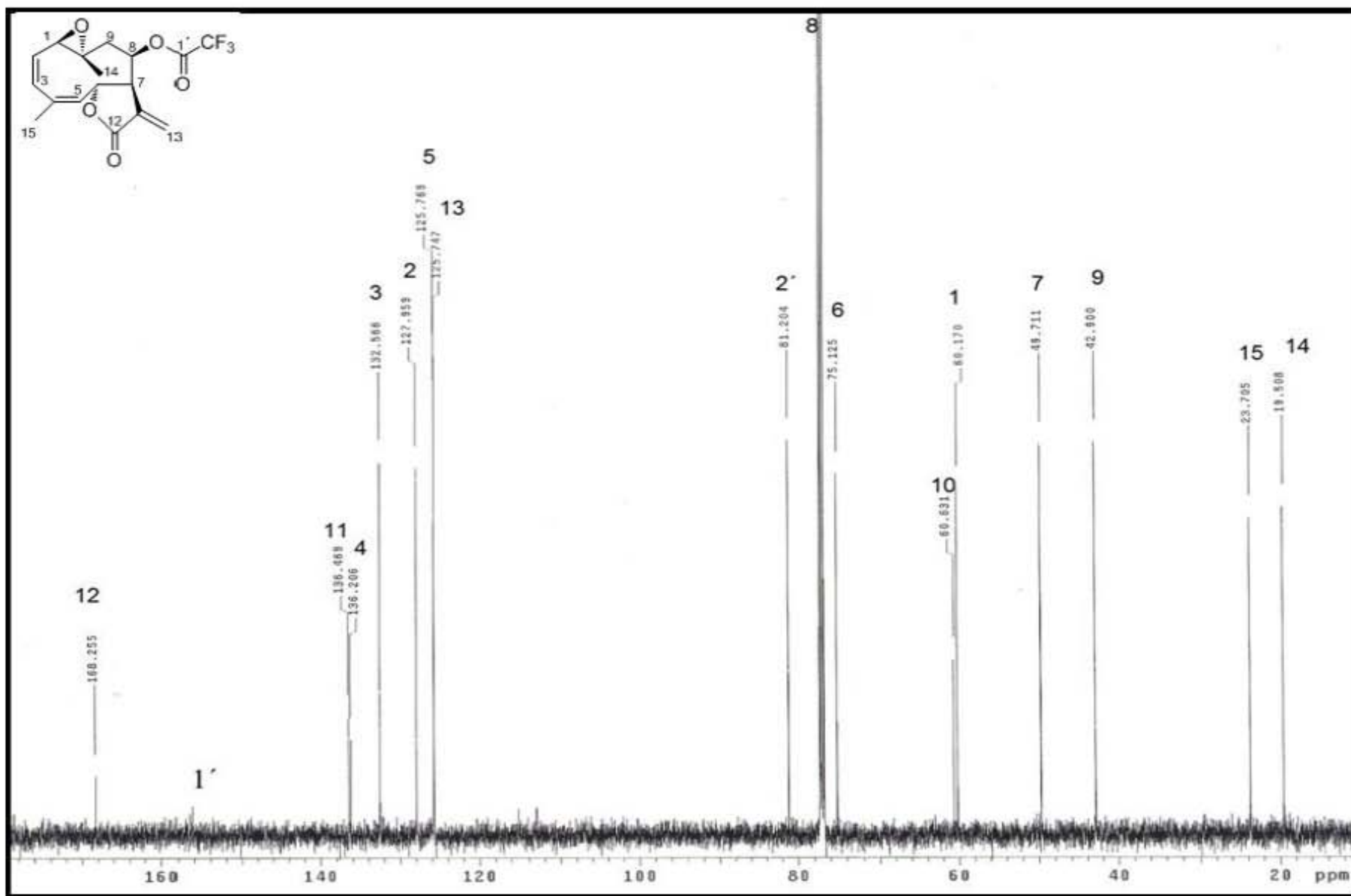
10. ESPECTROS.



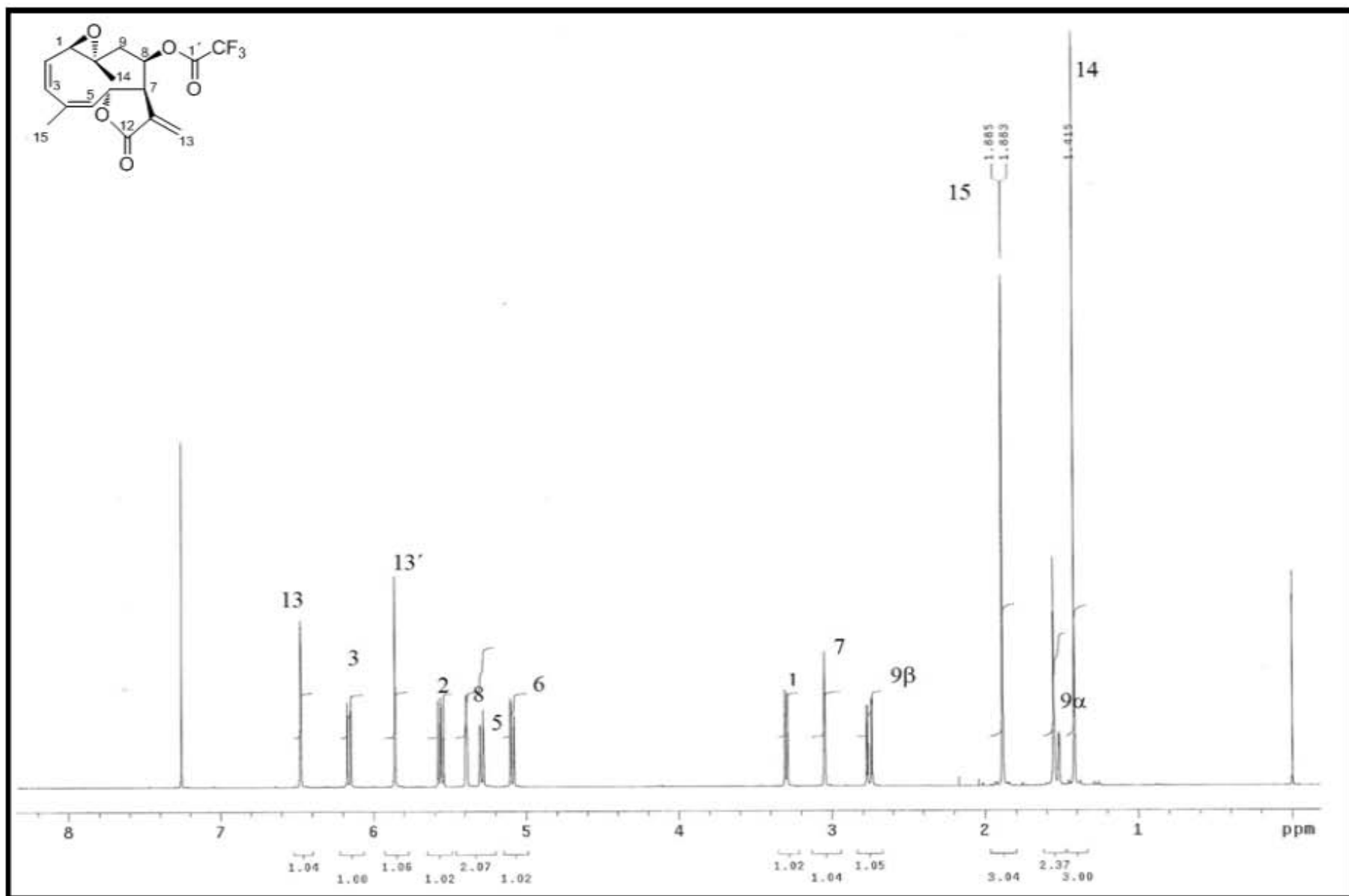
Espectro 1. IR (KBr/pastilla) del Compuesto I. 8-O-trifluoroacetyl incompitina B.



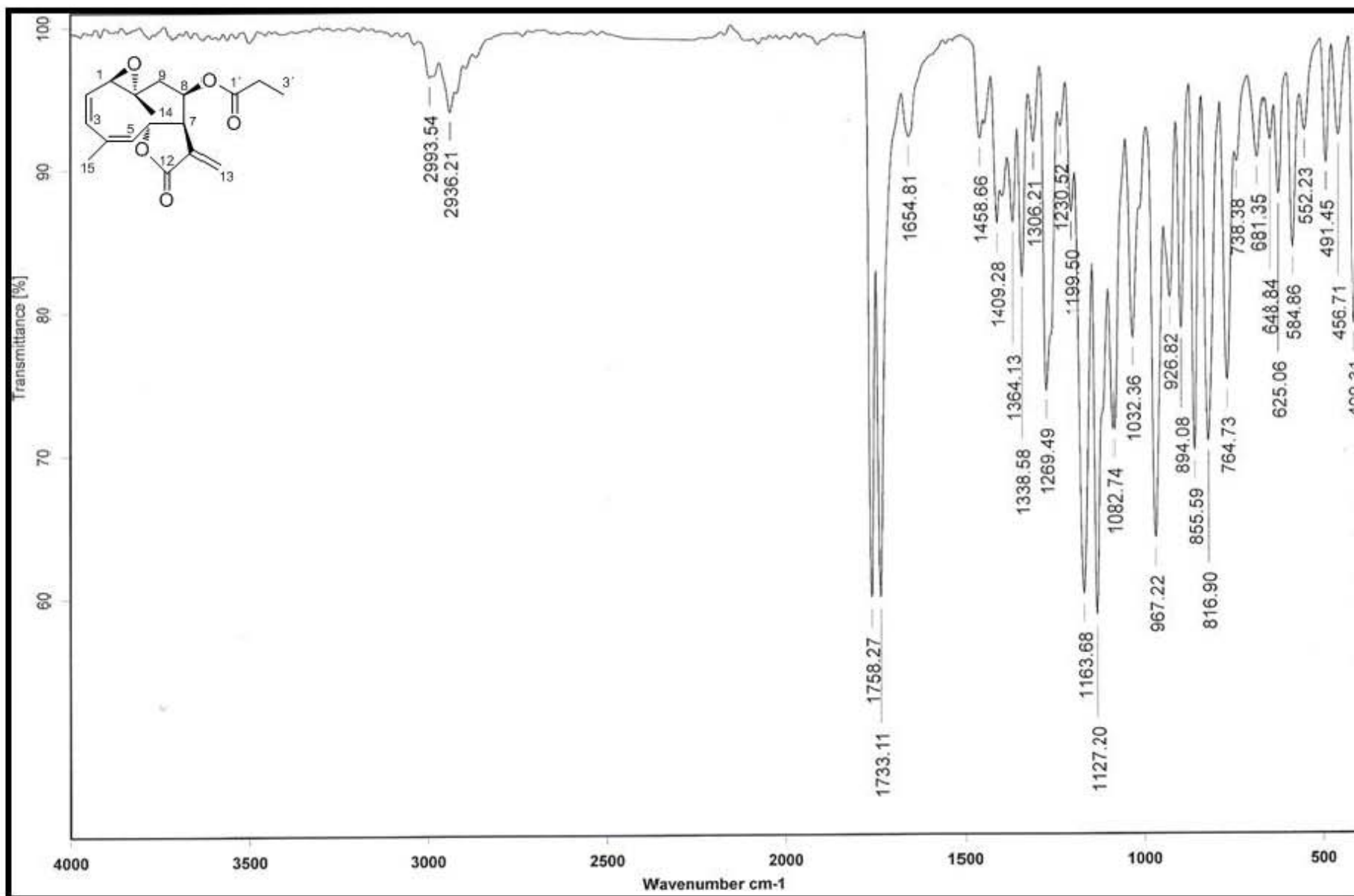
Espectro 1. 1 EM (ESI+) del Compuesto I. 8-O-trifluoroacetyl incompina.



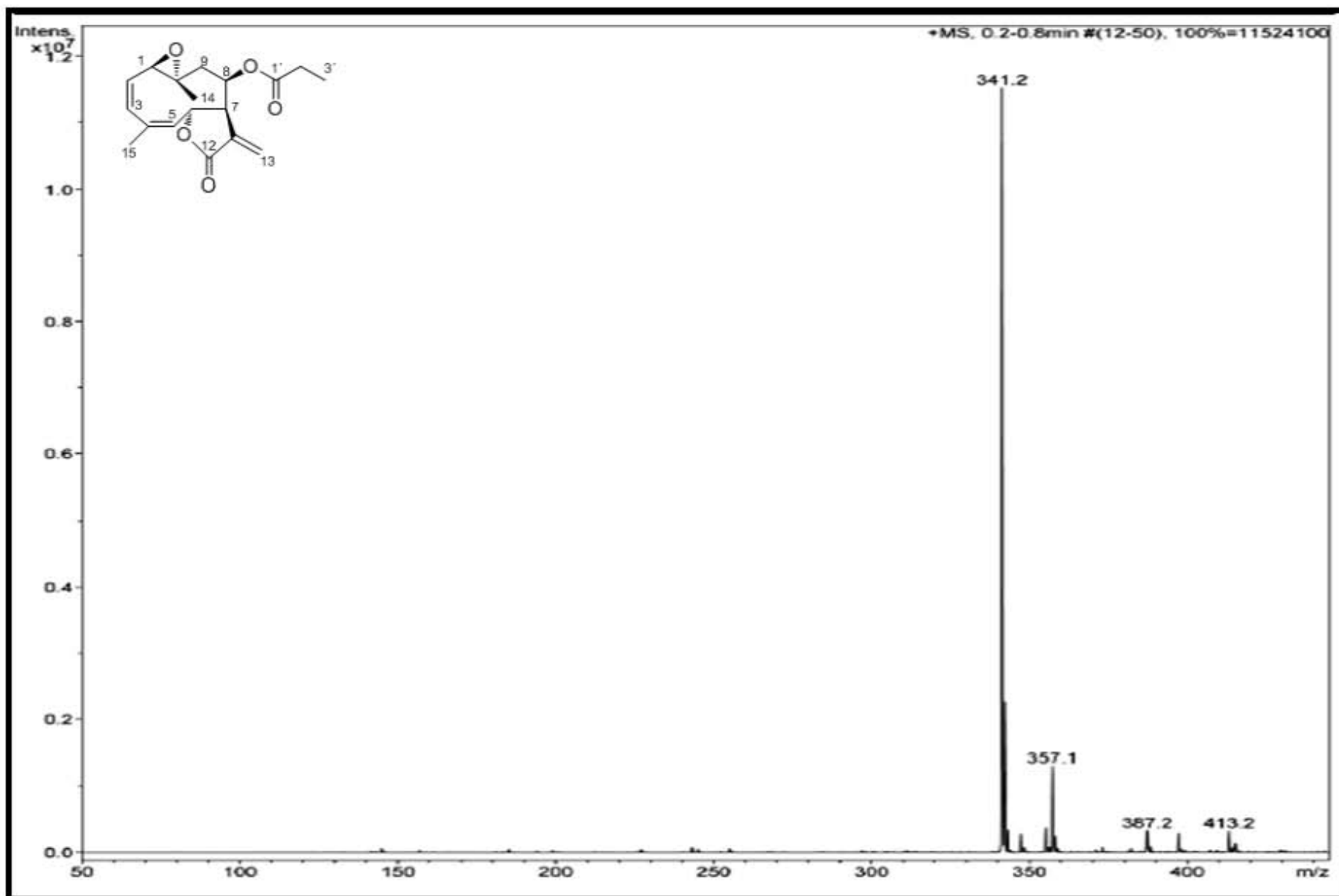
Espectro 1. 2 RMN ¹³C (CDCl₃ 125 MHz) del Compuesto 1. 8-O-trifluoroacetil incomptina B.



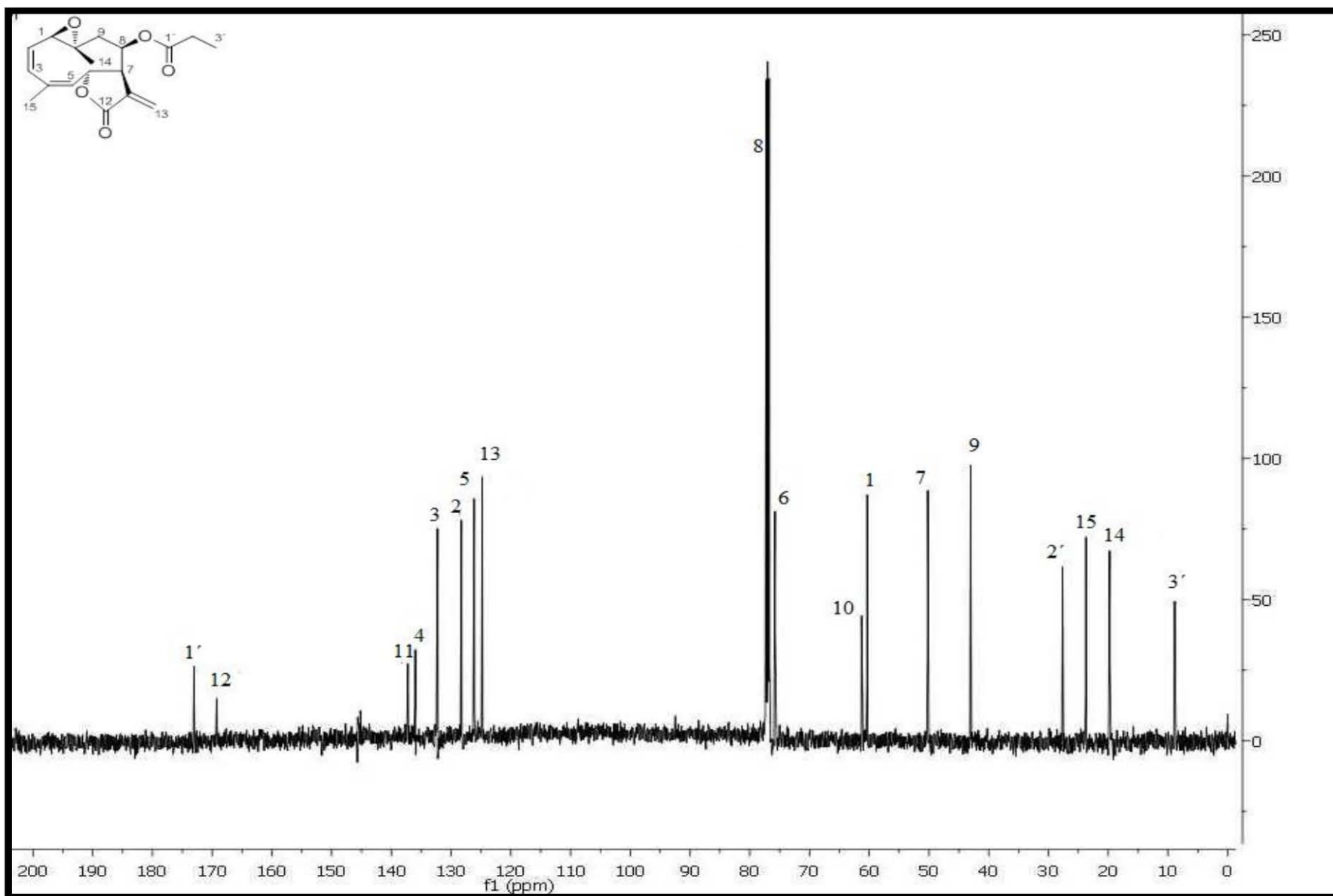
Espectro 1. 3 RMN ¹H (CDCl₃, 500 MHz) del Compuesto I. 8-O-trifluoroacetyl incomptina B.



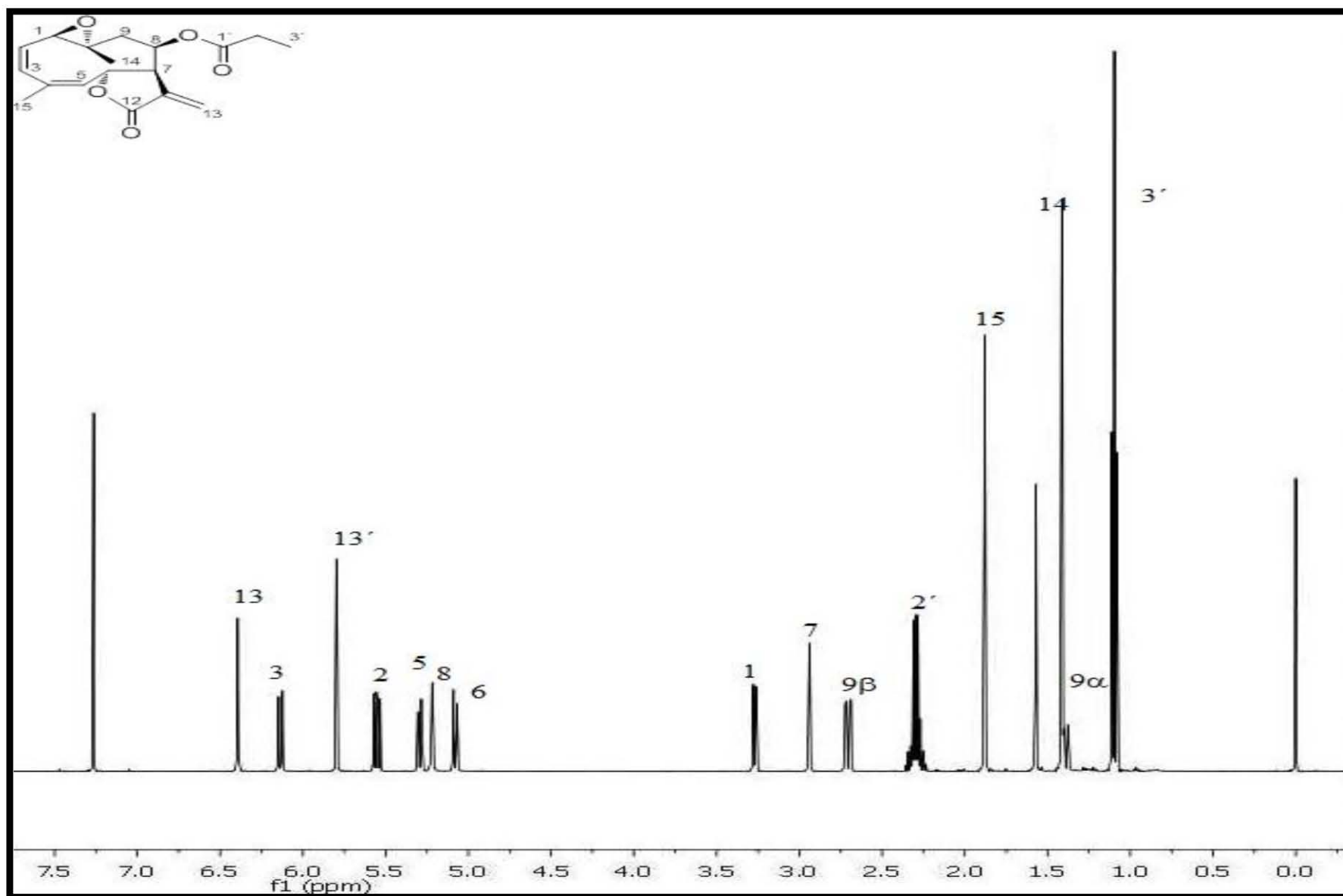
Espectro 2. IR (KBr/pastilla) del Compuesto II. 8-O-propanoil incomptina B.



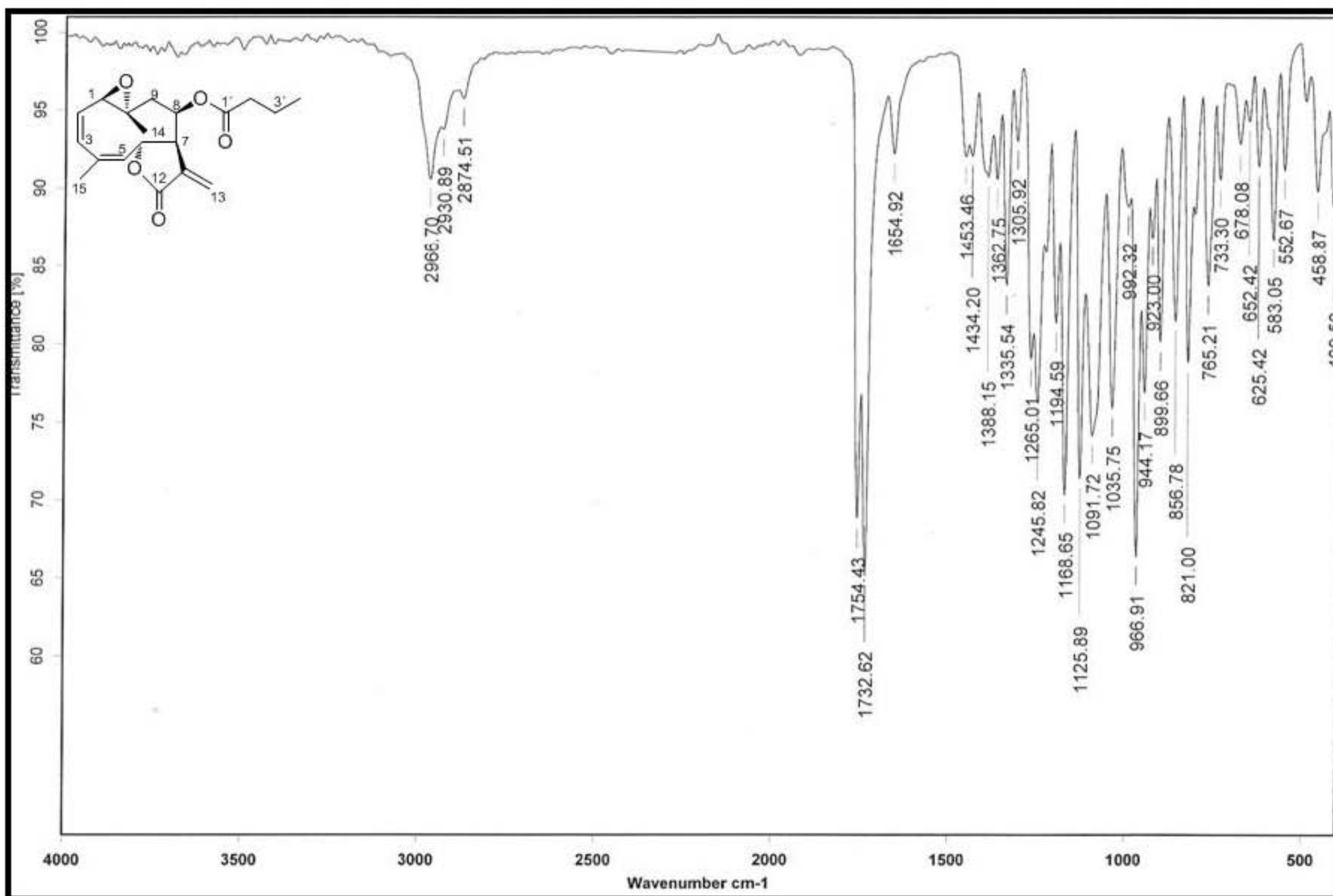
Espectro 2. 1 EM (ESI+) del Compuesto II. 8-O-propanoil incomptina B.



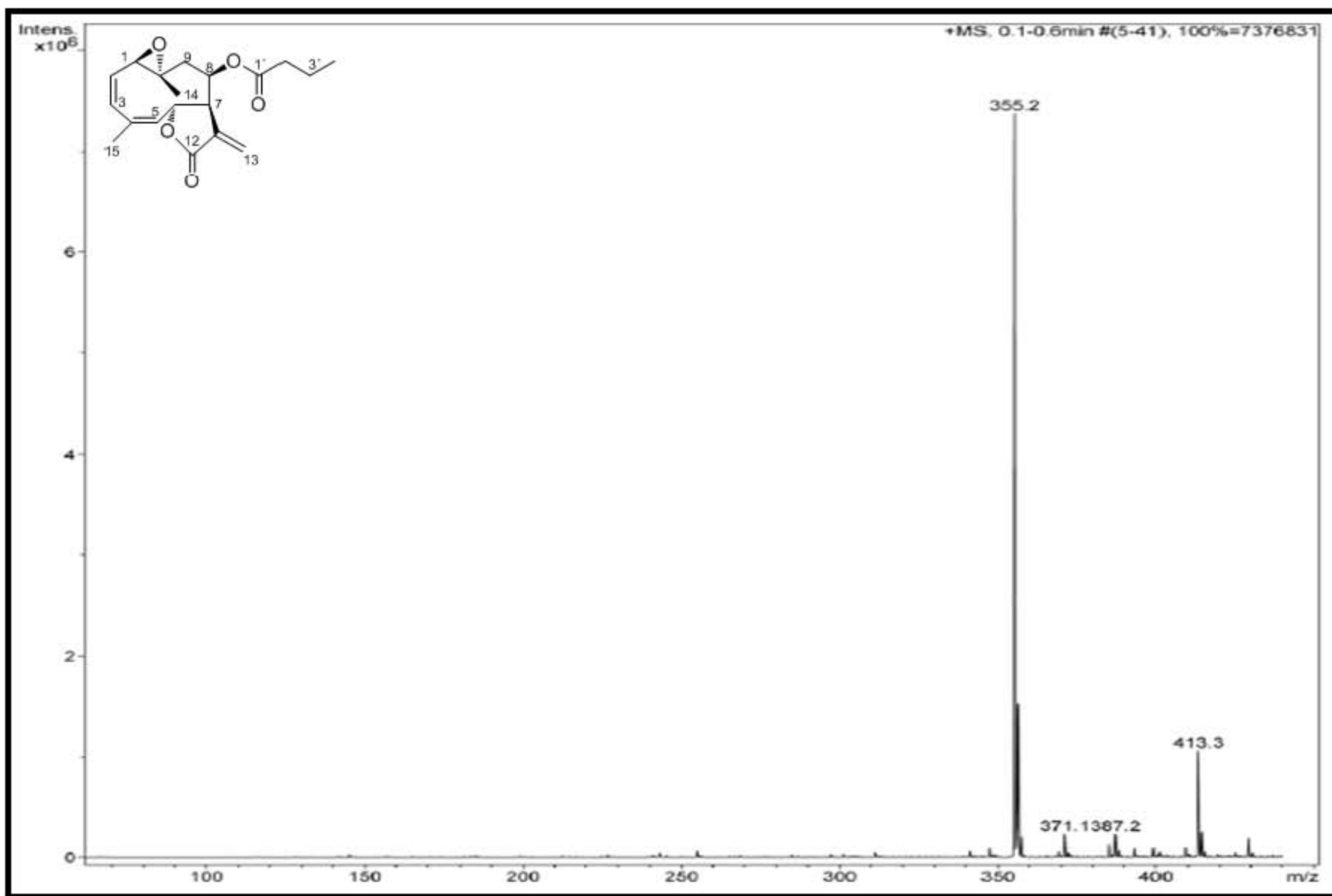
Espectro 2. 2 RMN ^{13}C (CDCl_3 125 MHz) del Compuesto II. 8-O-propanoil incomptina B.



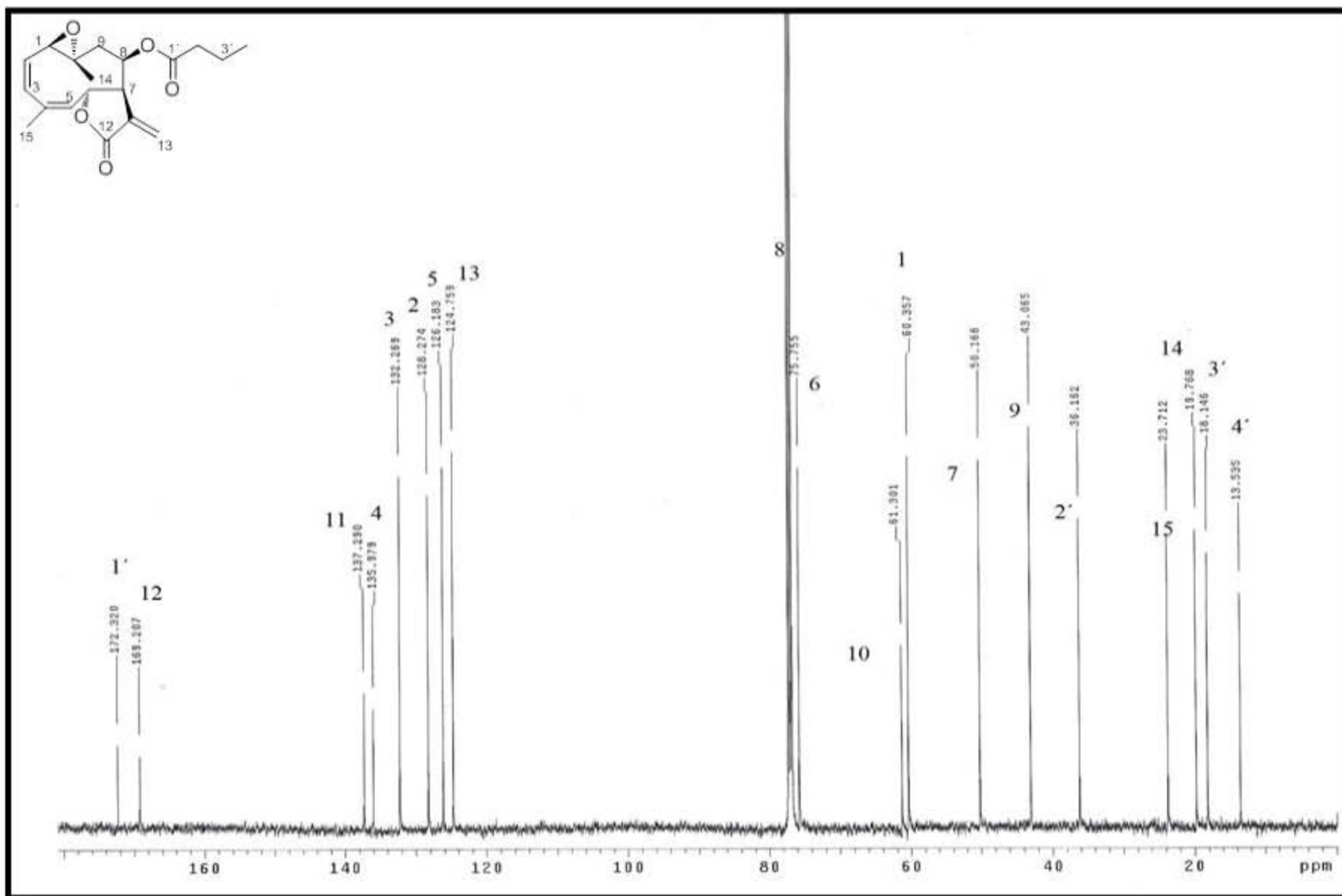
Espectro 2. 3 RMN ¹H (CDCl₃ 500 MHz) del Compuesto II. 8-O-propanoil incomptina B.



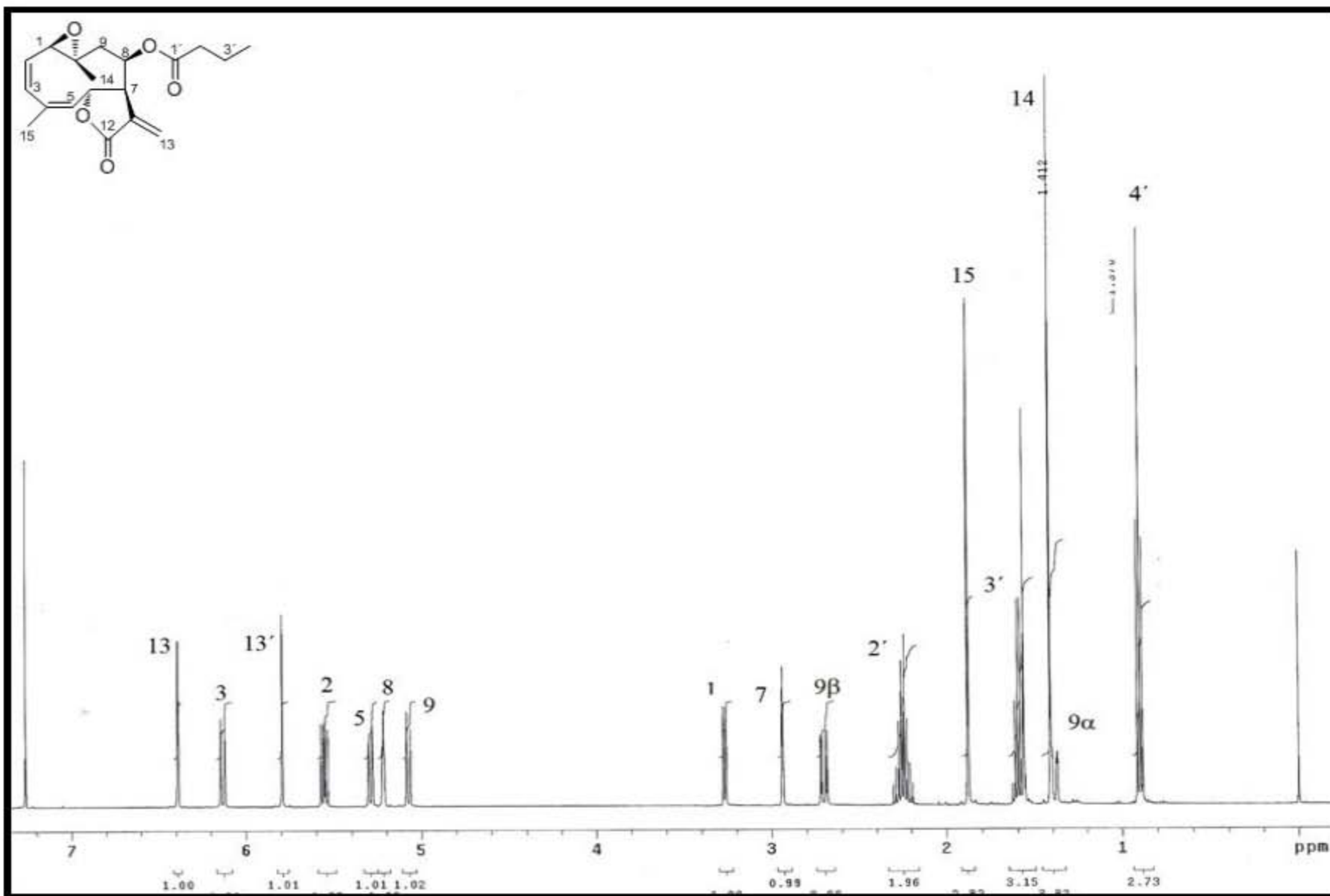
Espectro 3. IR (KBr/pastilla) del Compuesto III. 8-O-butanoil incompitina B.



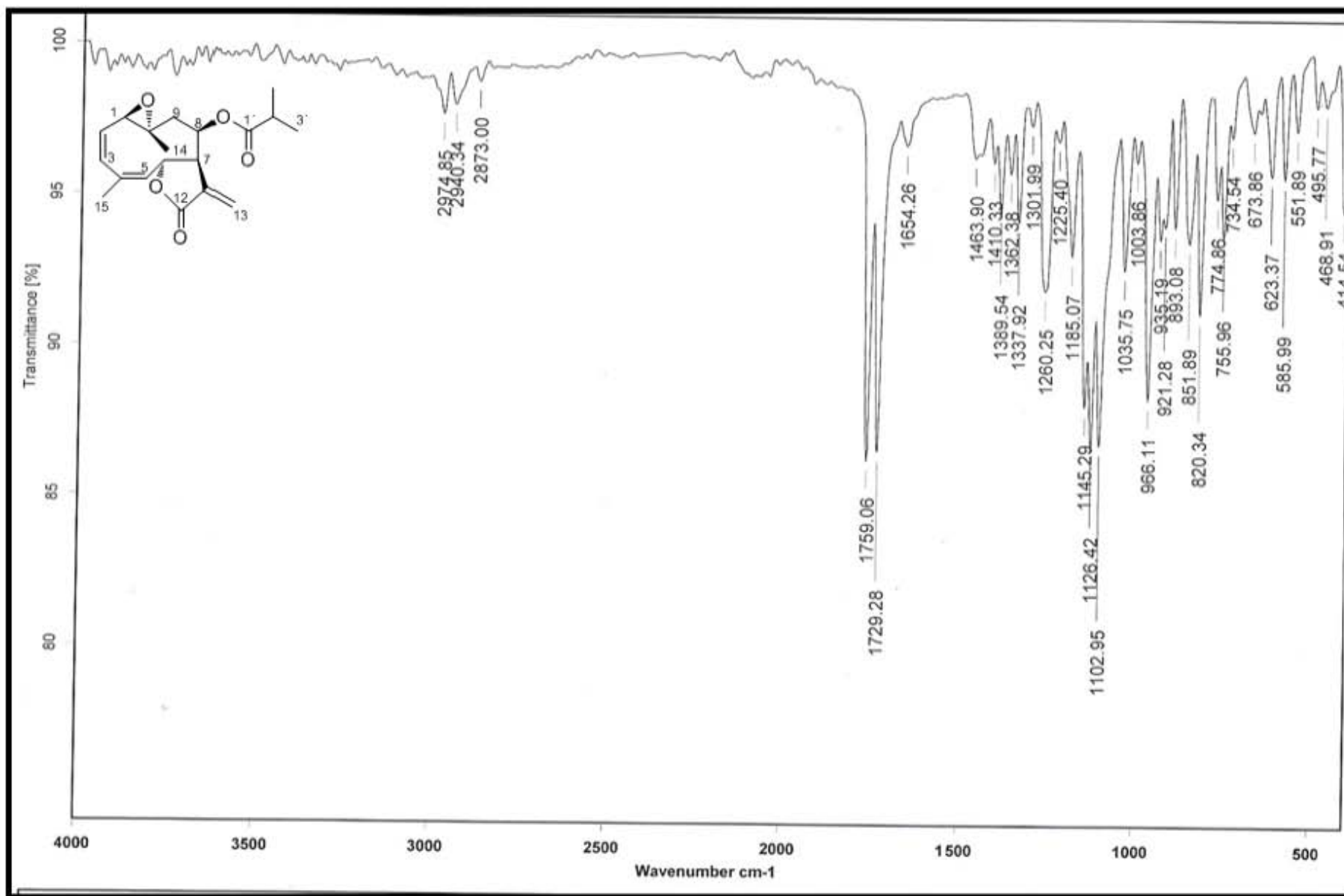
Espectro 3. 1 EM (ESI+) del Compuesto III. 8-O-butanoil incompitina



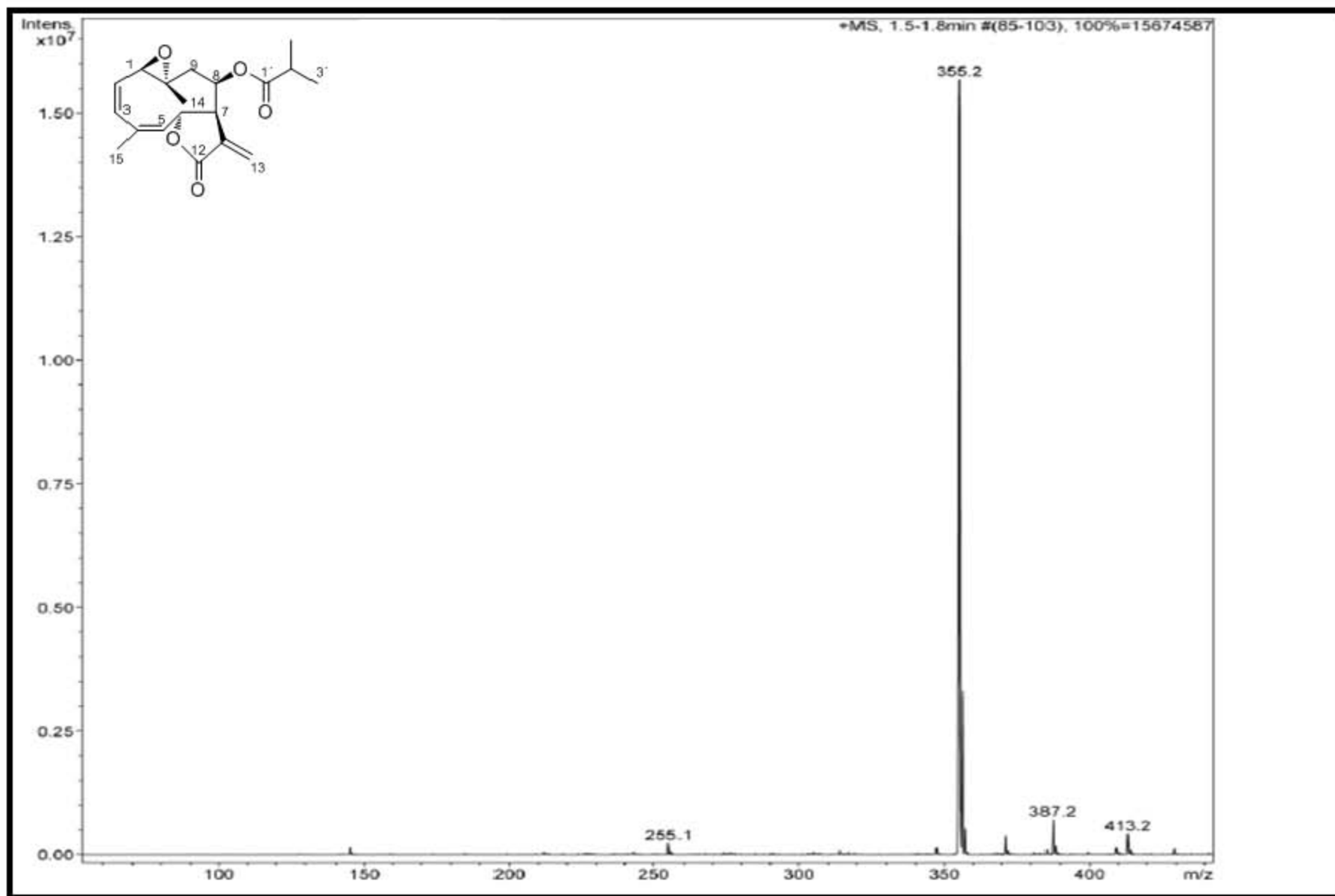
Espectro 3. 2 RMN ^{13}C (CDCl_3 , 125 MHz) del Compuesto III. 8-O-butanoil incompitina B.



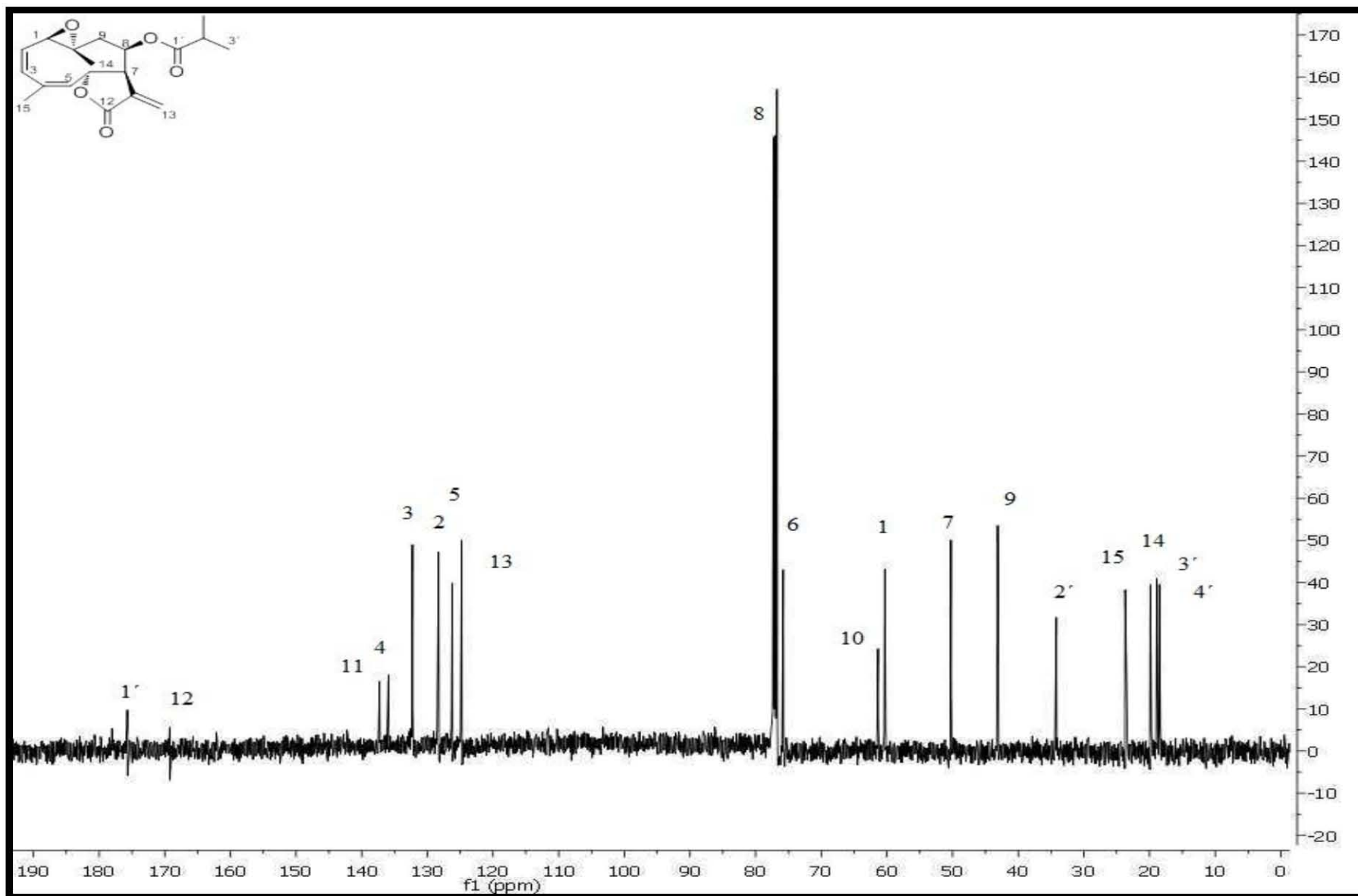
Espectro 3. 3 RMN ¹H (CDCl₃ 500 MHz) del Compuesto III. 8-O-butanoil incomptina B.



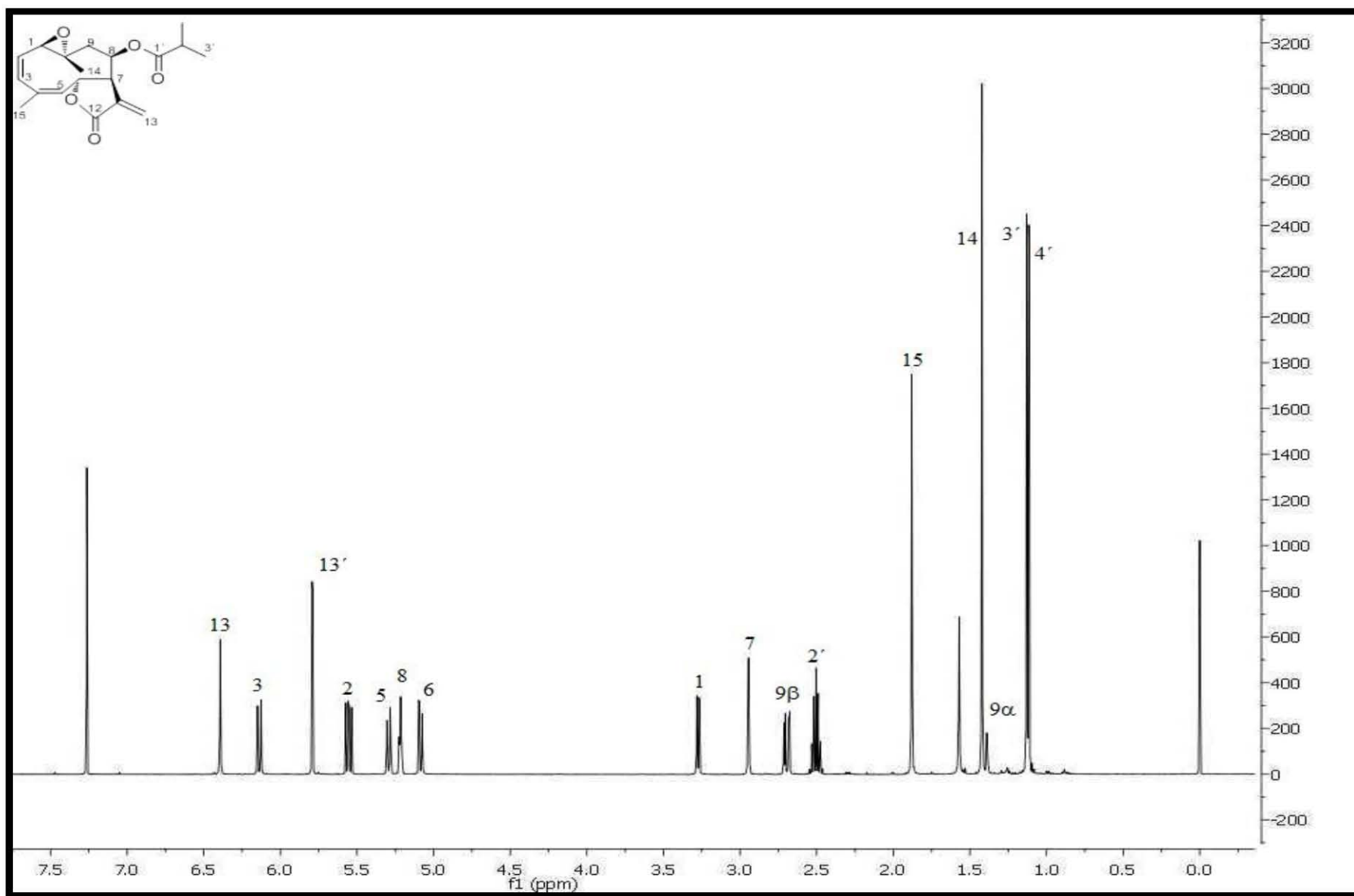
Espectro 4. IR (KBr/pastilla) del Compuesto 8-O-isobutanoil incomptina B.



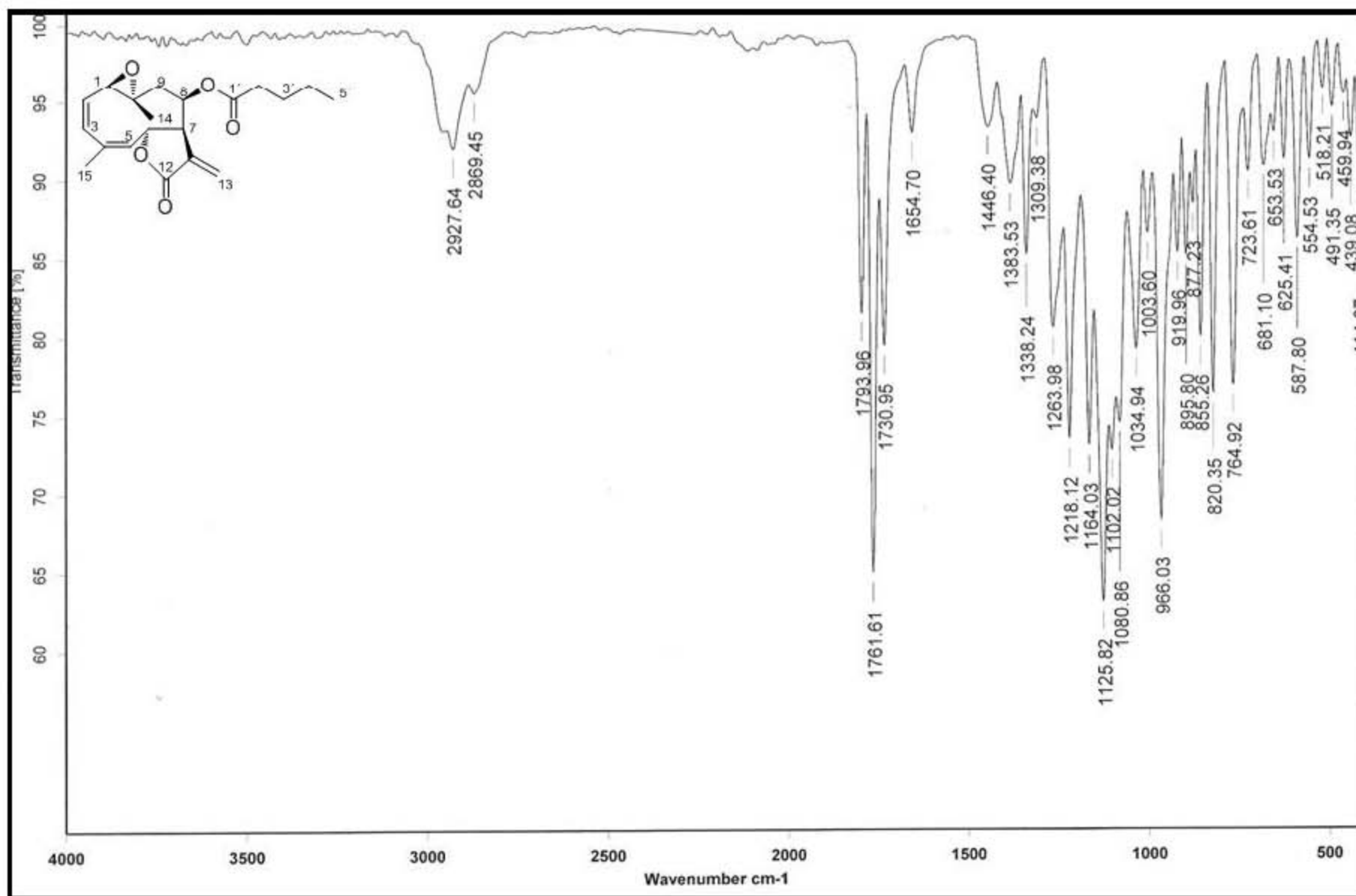
Espectro 4. 1 EM (ESI+) del Compuesto IV. 8-O-isobutanoil incompitina B.



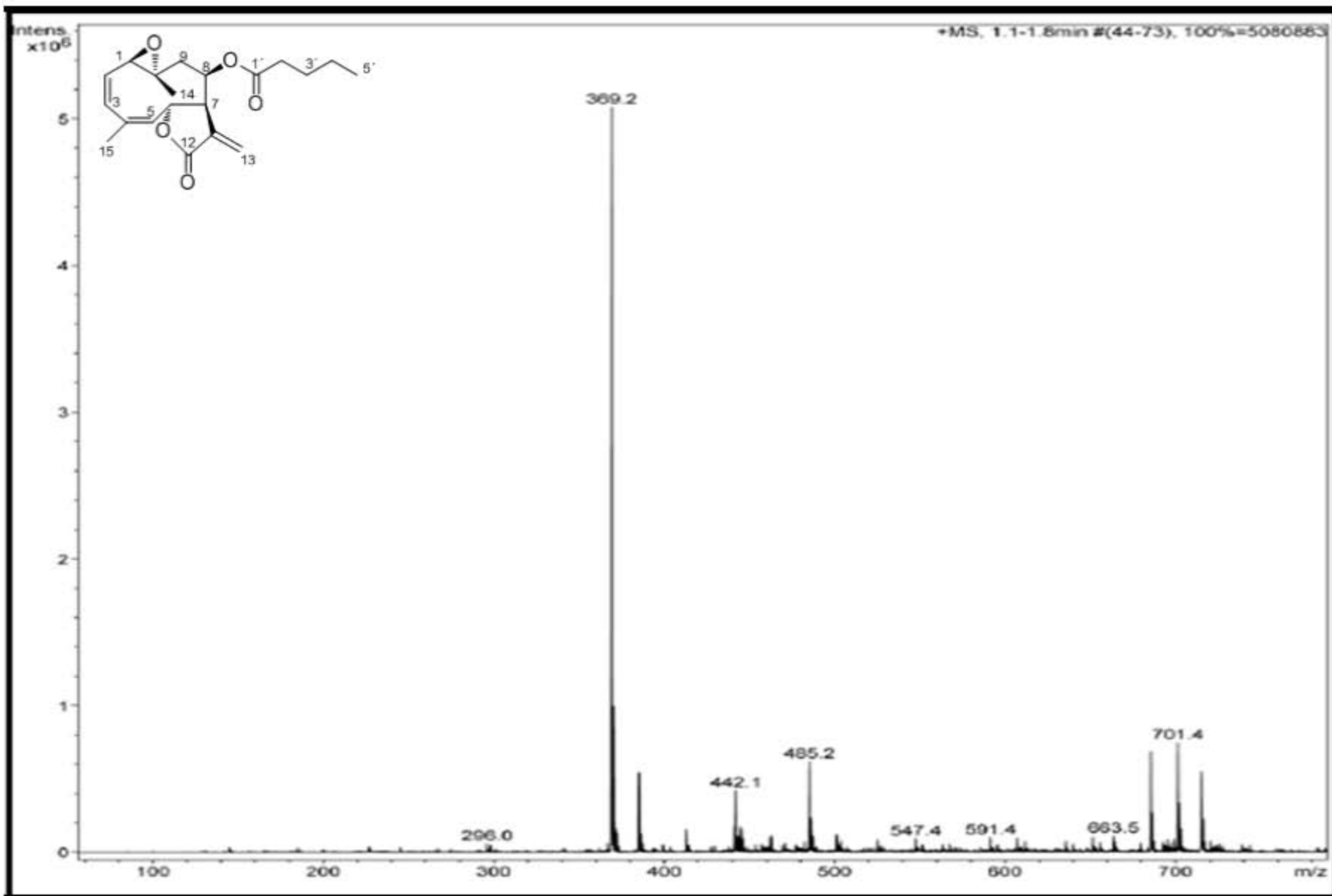
Espectro 4. 2 RMN ^{13}C (CDCl_3 125 MHz) del Compuesto IV. 8-O-isobutanoil incomptina B.



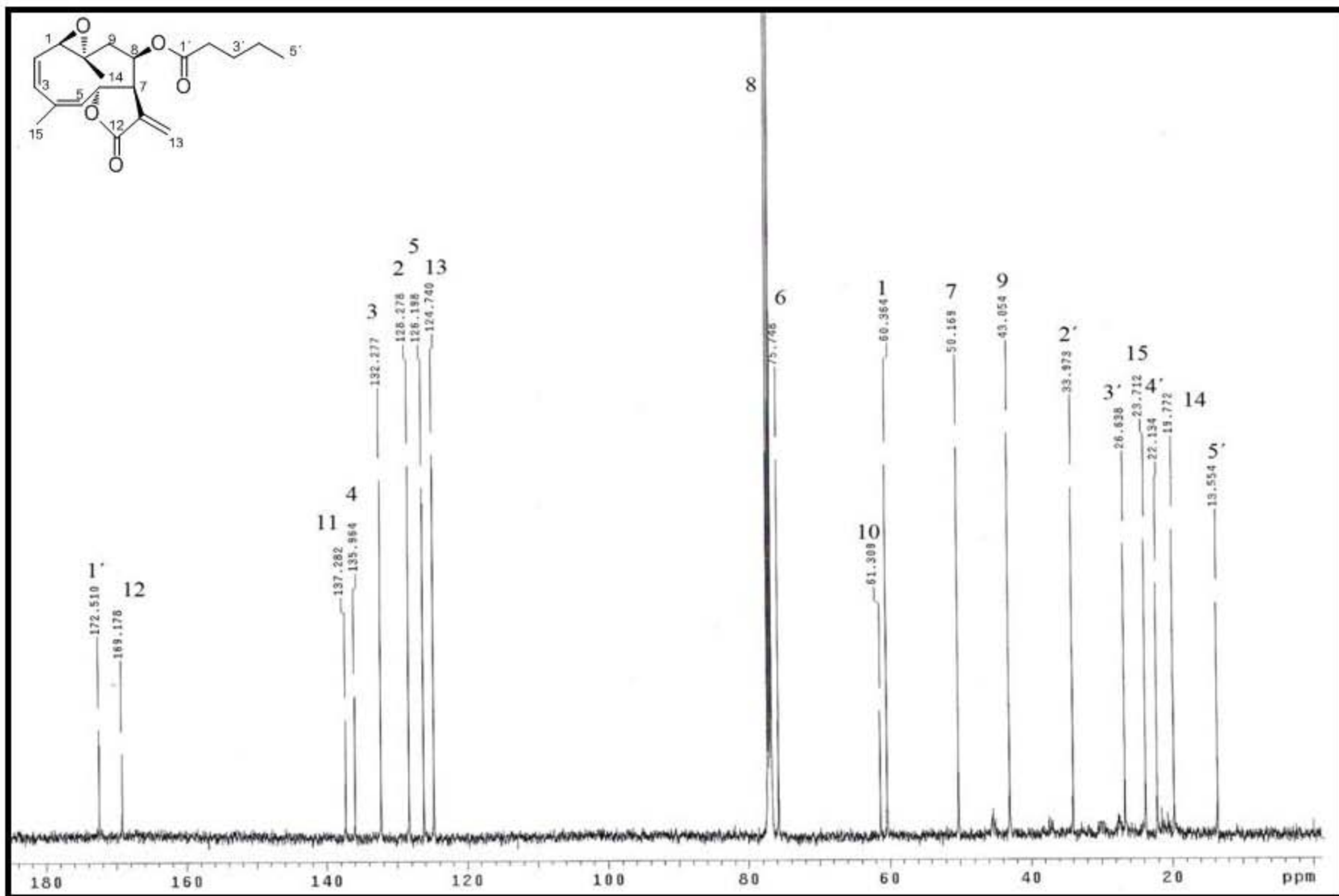
Espectro 4. 3 RMN ¹H (CDCl₃ 500 MHz) del Compuesto IV. 8-O-isobutanoil incomptina B.



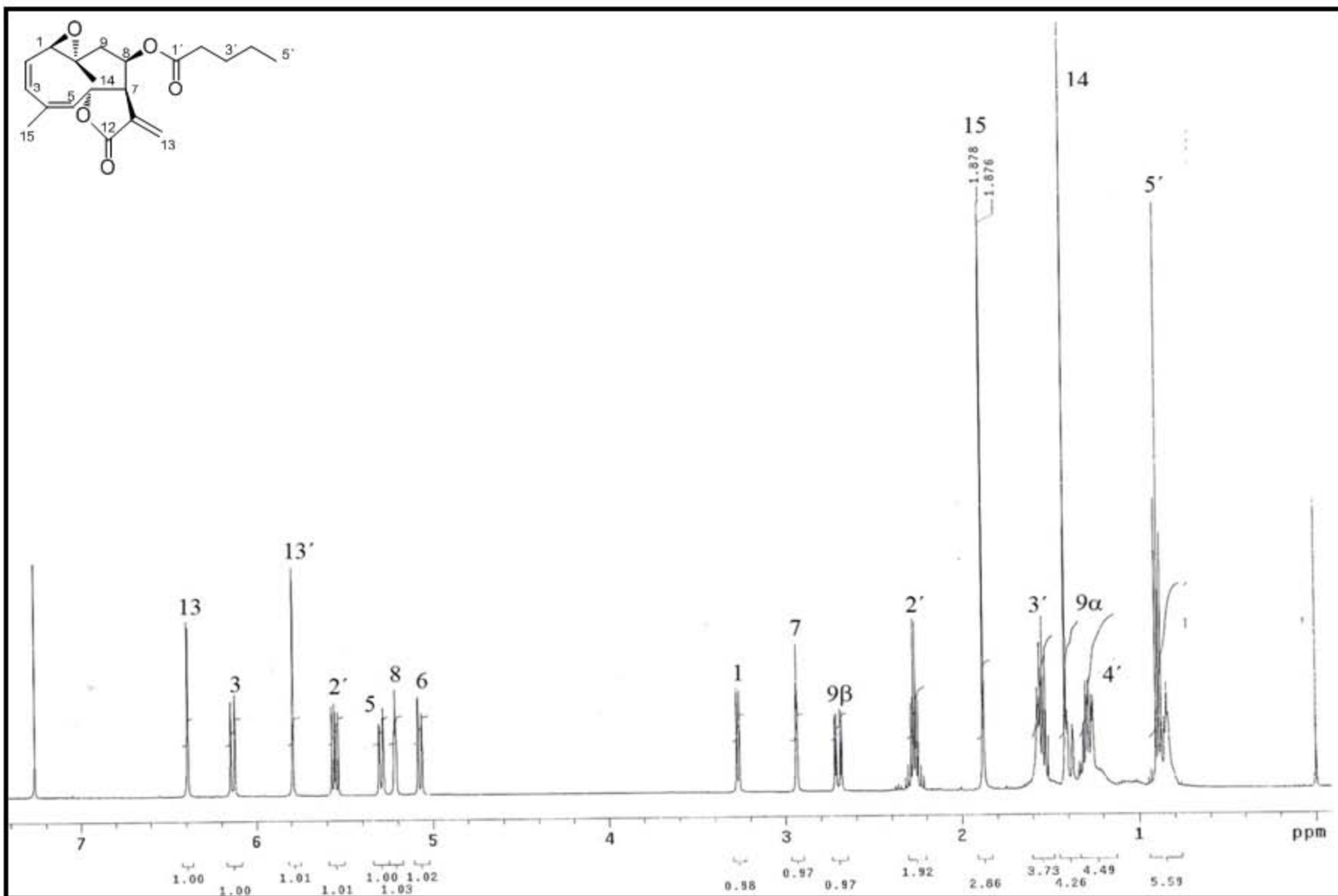
Espectro 5. IR (KBr/pastilla) del Compuesto V. 8-O-pentanoil incomptina B.



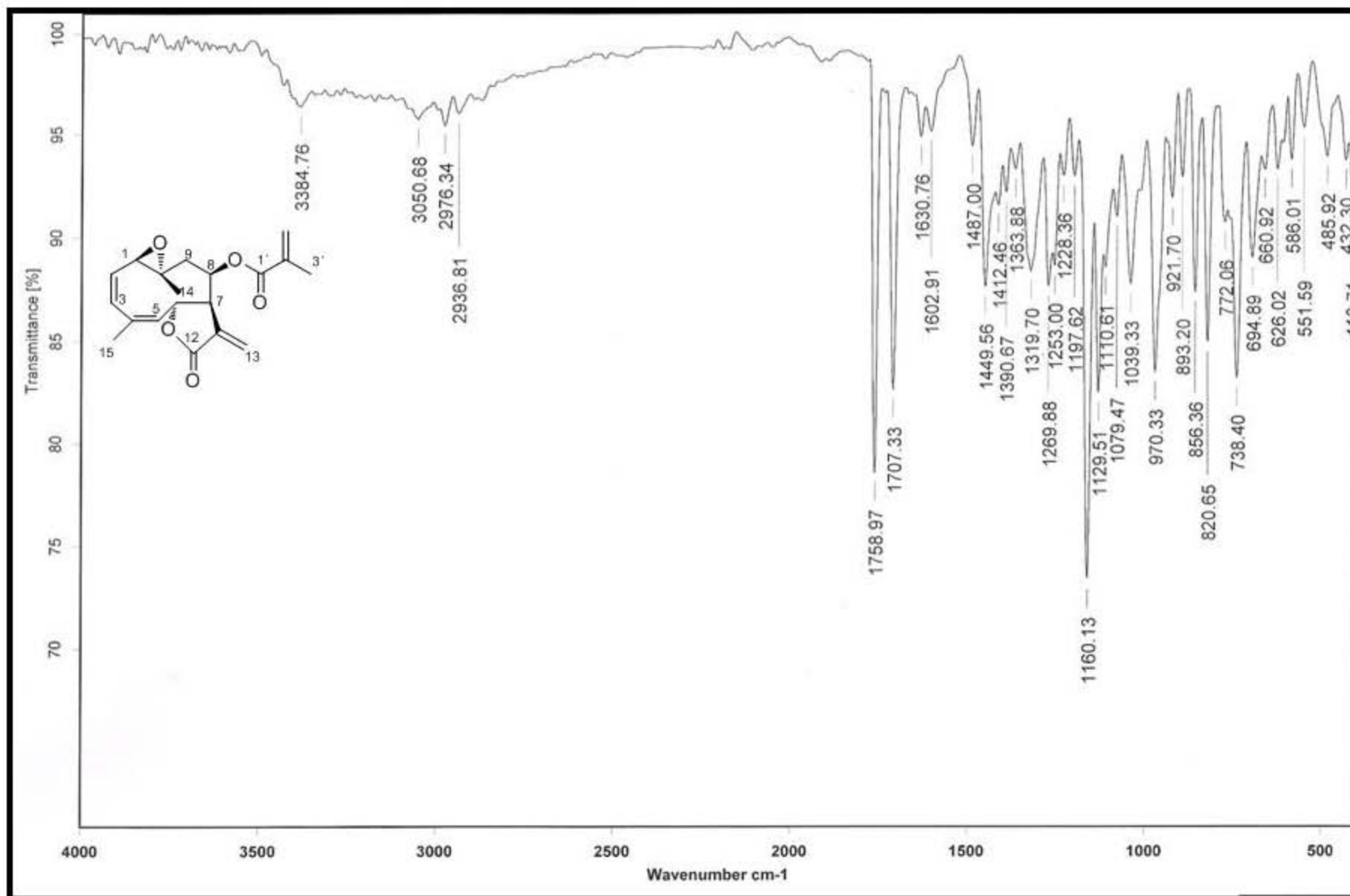
Espectro 5. 1 EM (ESI+) del Compuesto V. 8-O-pentanoil incompitina B.



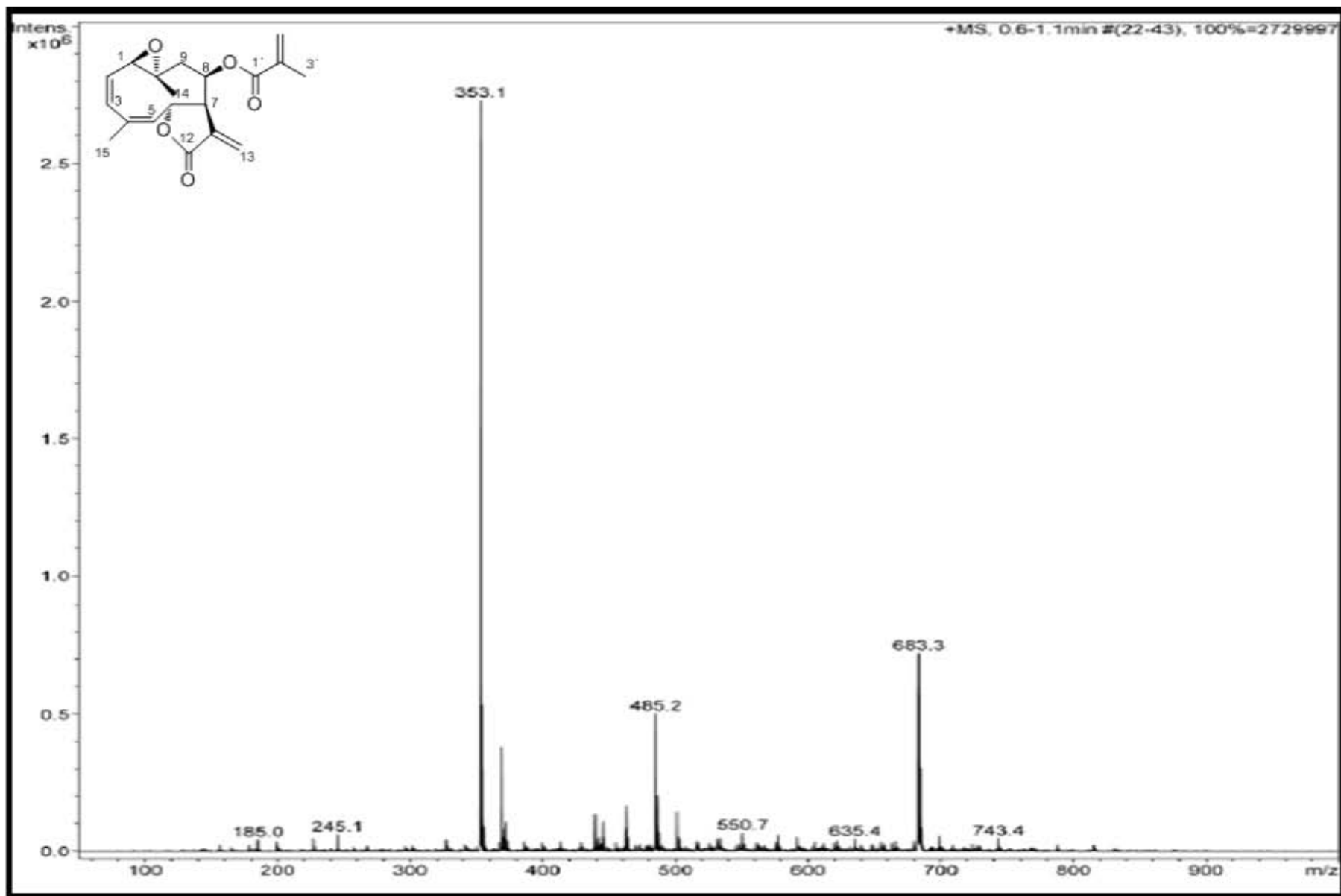
Espectro 5. 2 RMN ¹³C (CDCl₃ 125 MHz) del Compuesto V. 8-O-pentanoil incompitina B..



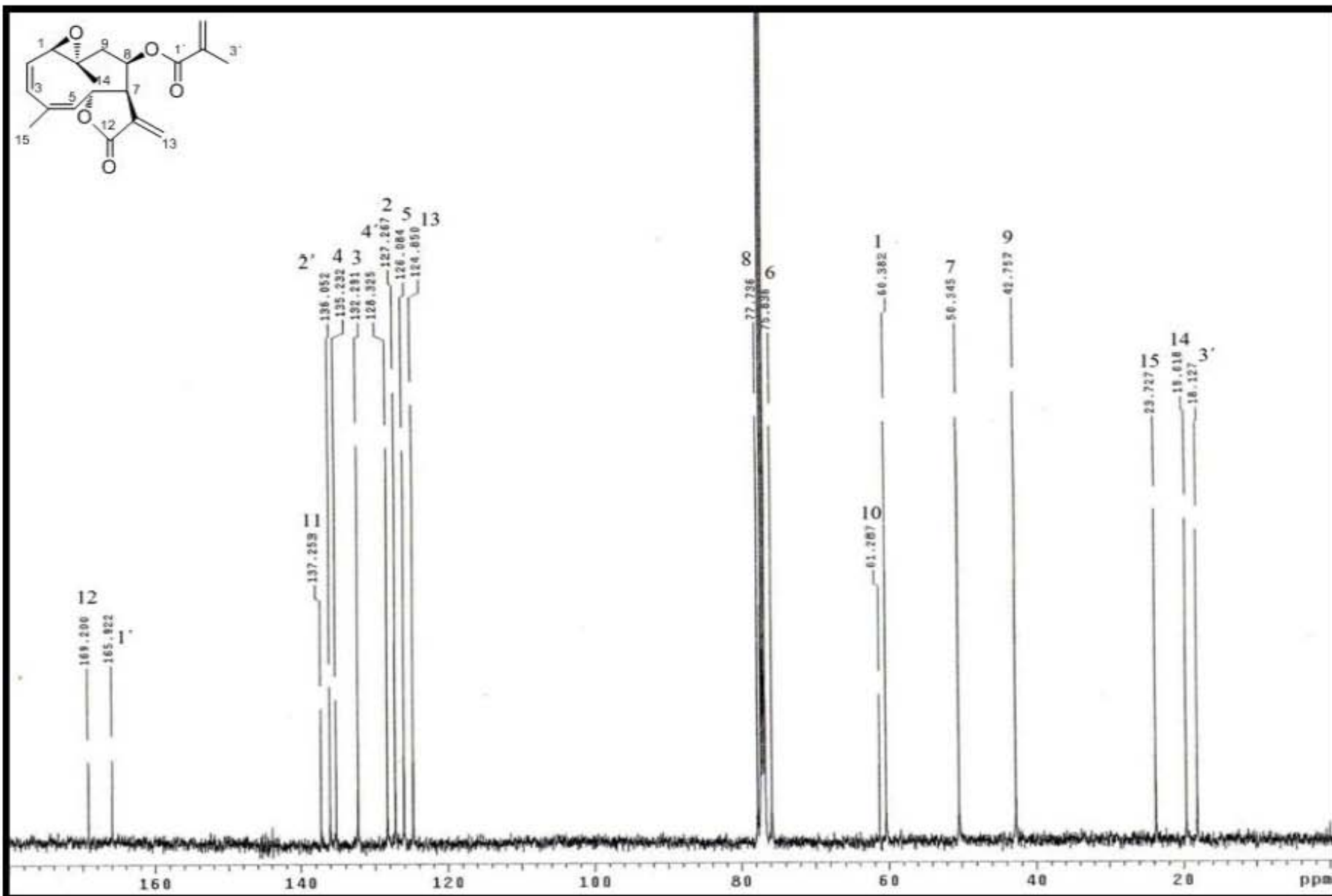
Espectro 5. 3 RMN ^{13}C (CDCl_3 125 MHz) del Compuesto V. 8-O-pentanoil incomptina B.



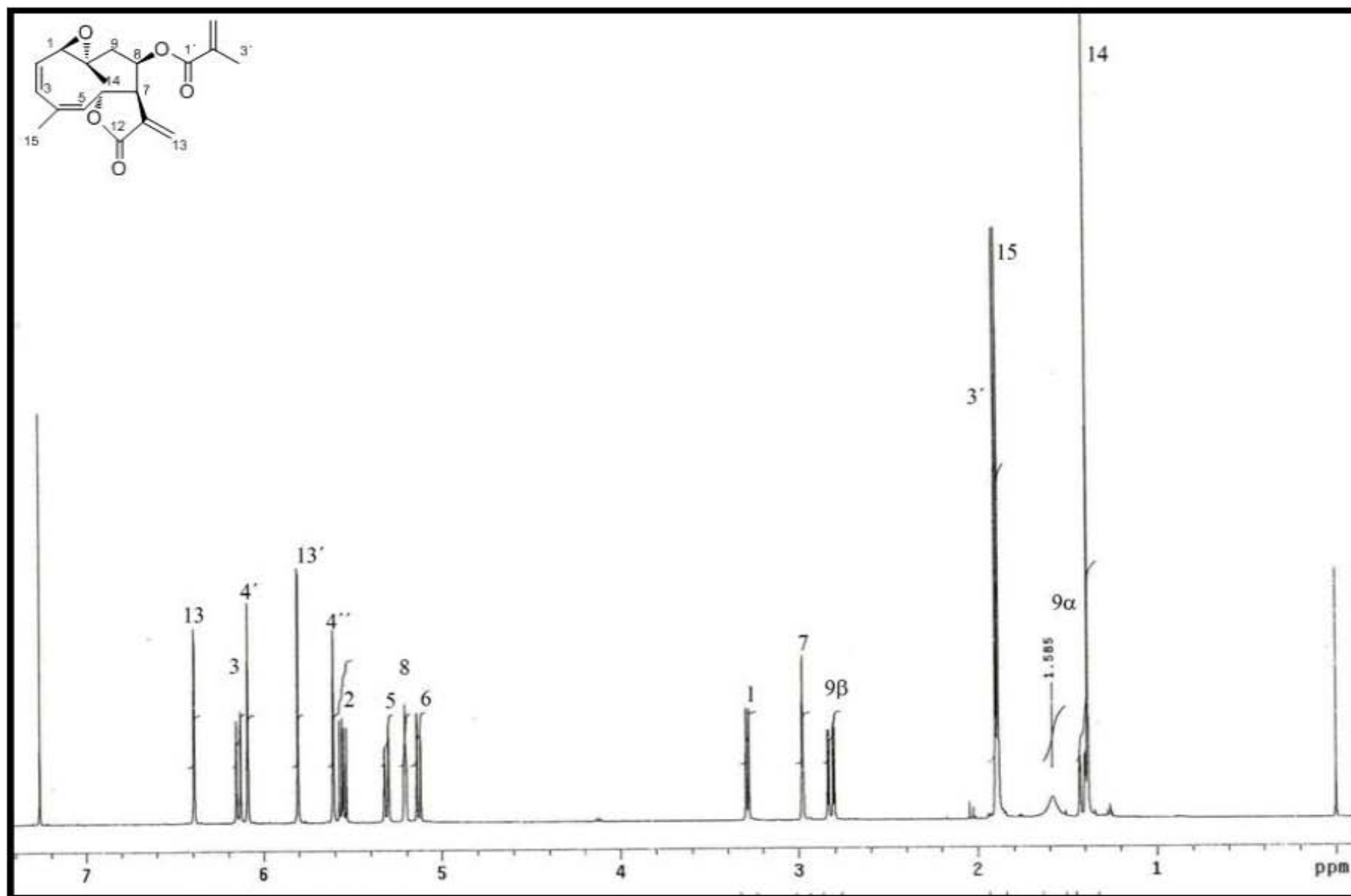
Espectro 6. IR (KBr/pastilla) del Compuesto VI. 8-O-metacriolil incompitina B.



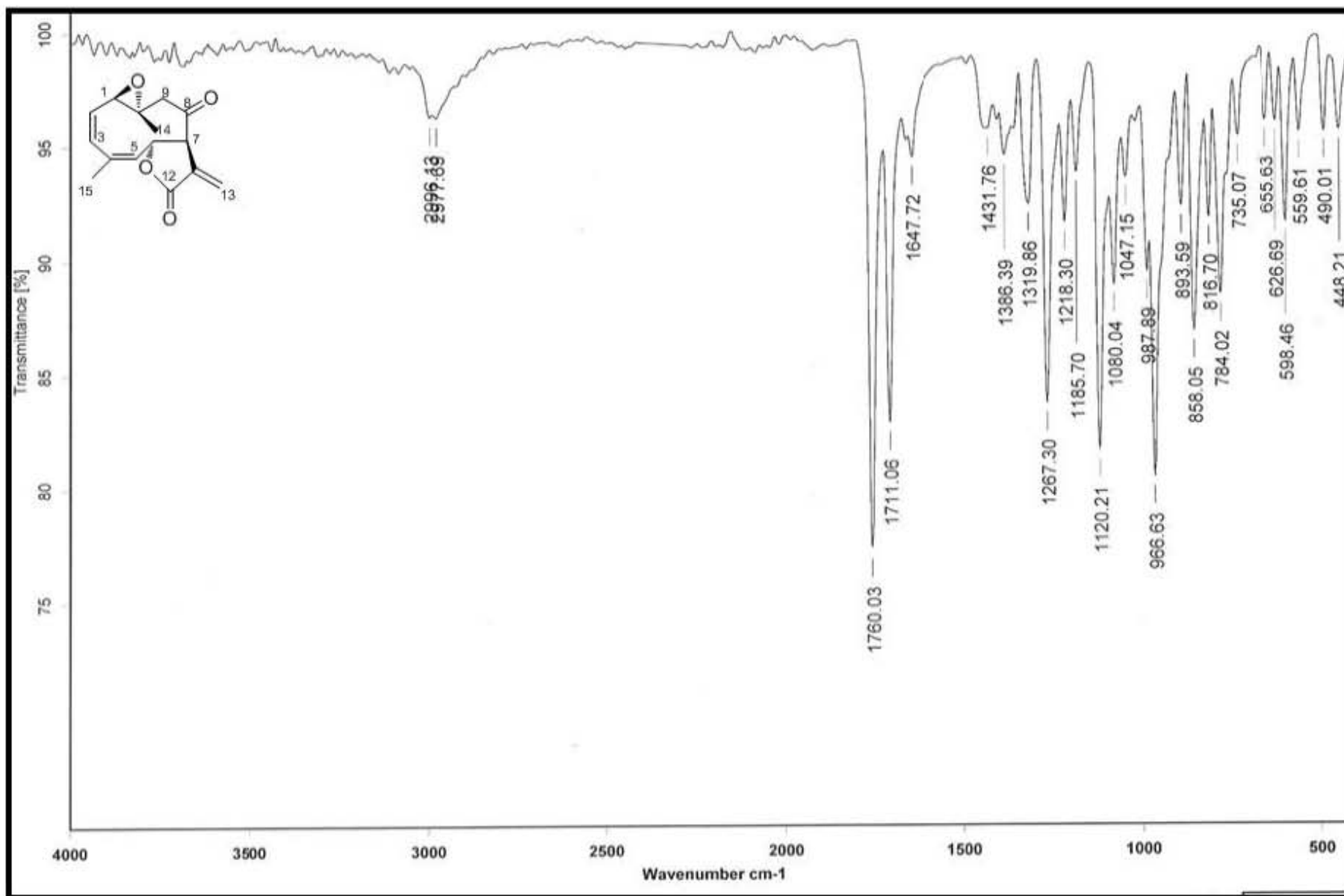
Espectro 6. 1 EM (ESI+) del Compuesto VI. 8-O-metacriloil incomptina B.



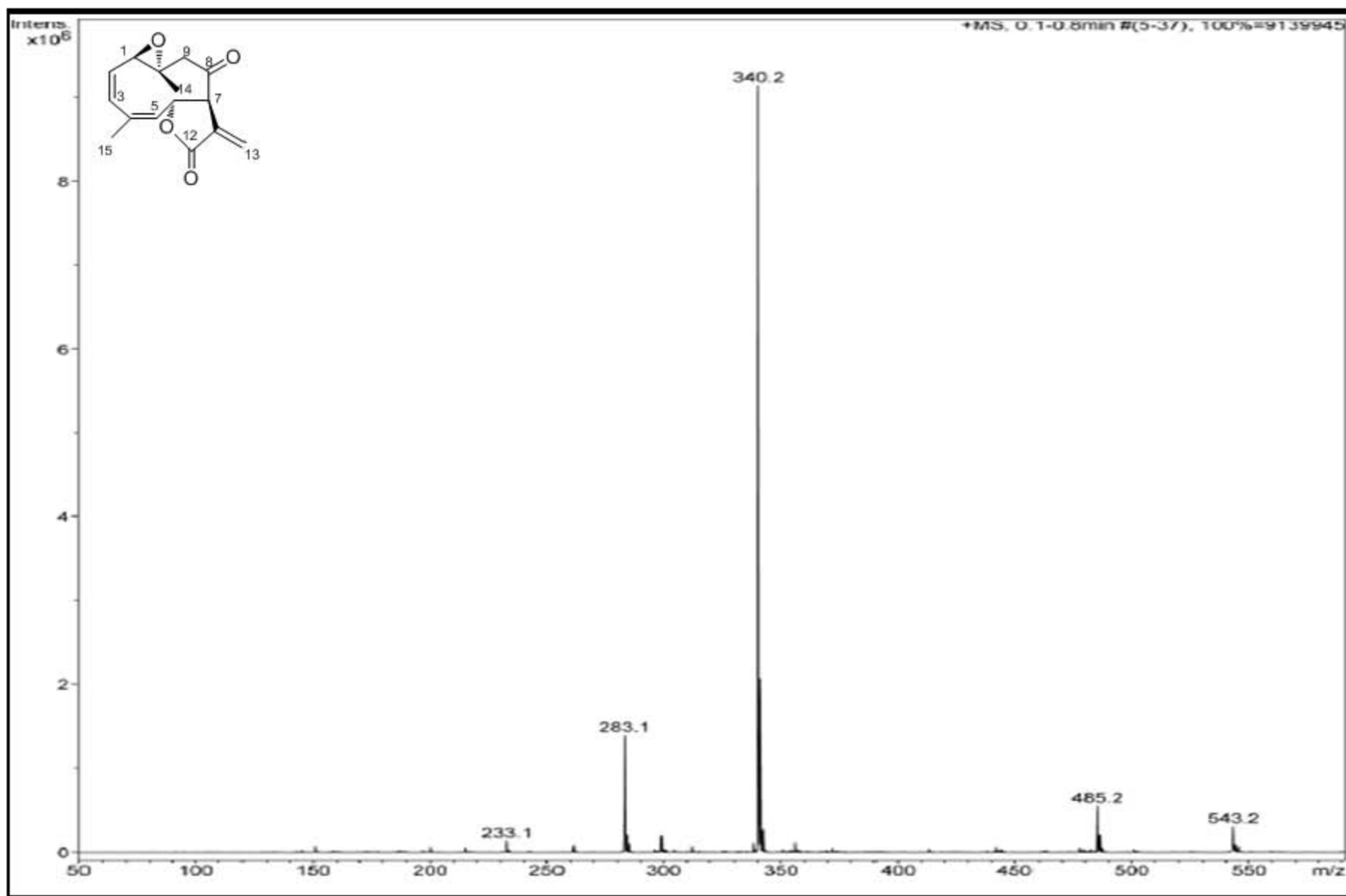
Espectro 6. 2 RMN ¹³C (CDCl₃ 125 MHz) del Compuesto VI. 8-O-metacriloil incomptina B.



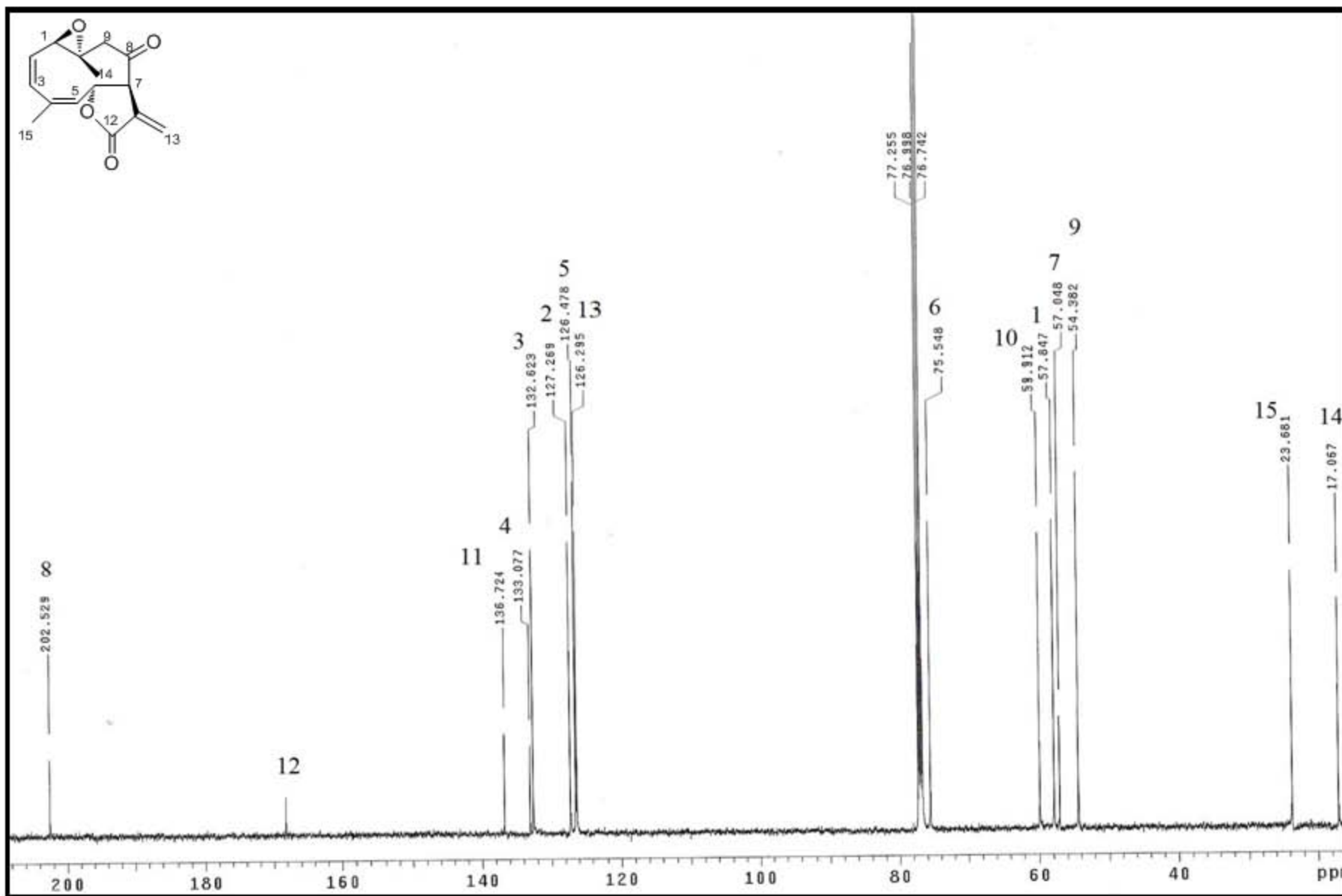
Espectro 6. 3 RMN ¹H (CDCl₃ 500 MHz) del Compuesto VI. 8-O-metacriloyl incompitina B.



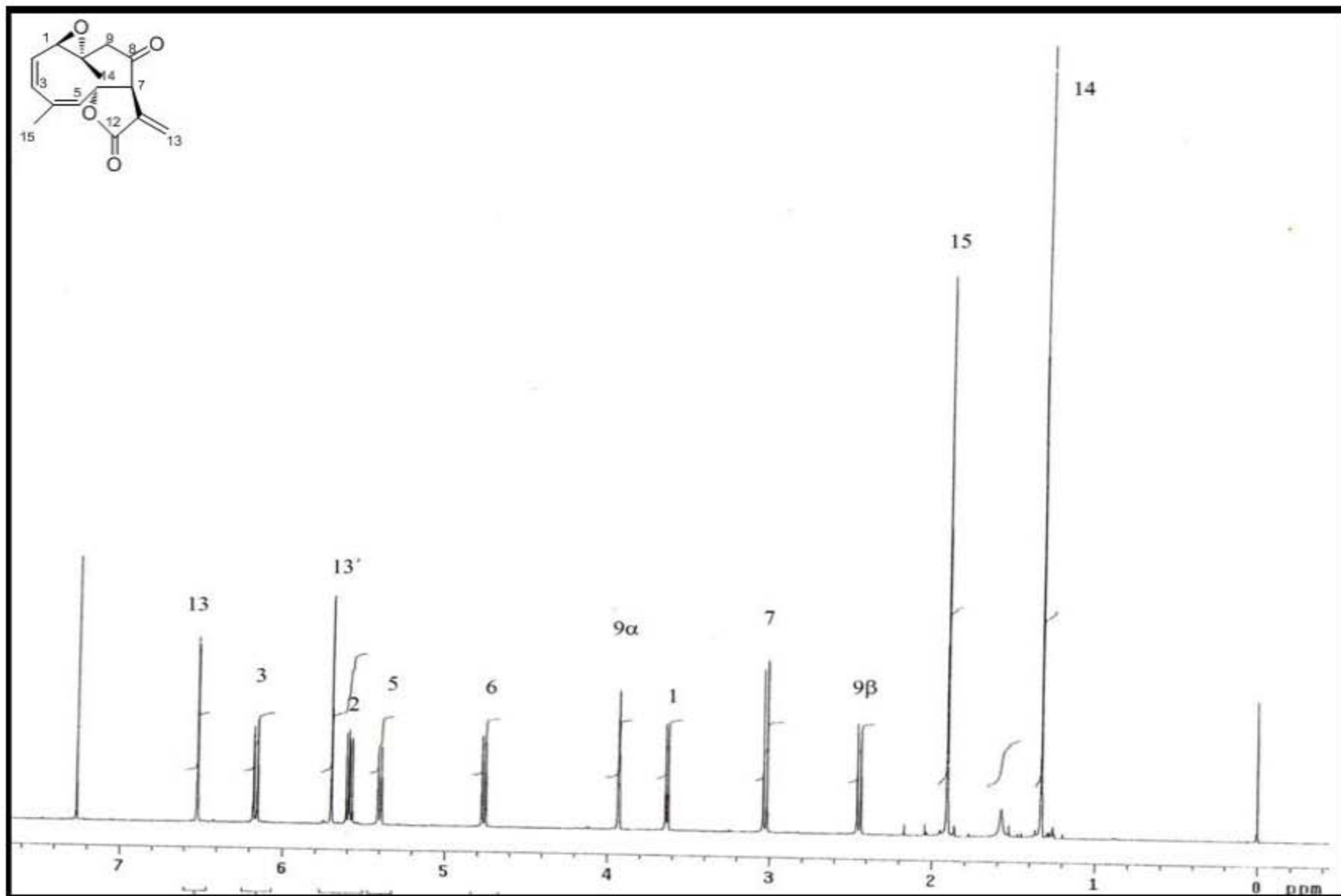
Espectro 7. IR (KBr/pastilla) del Compuesto VII. 8-dehidroincomptina B.



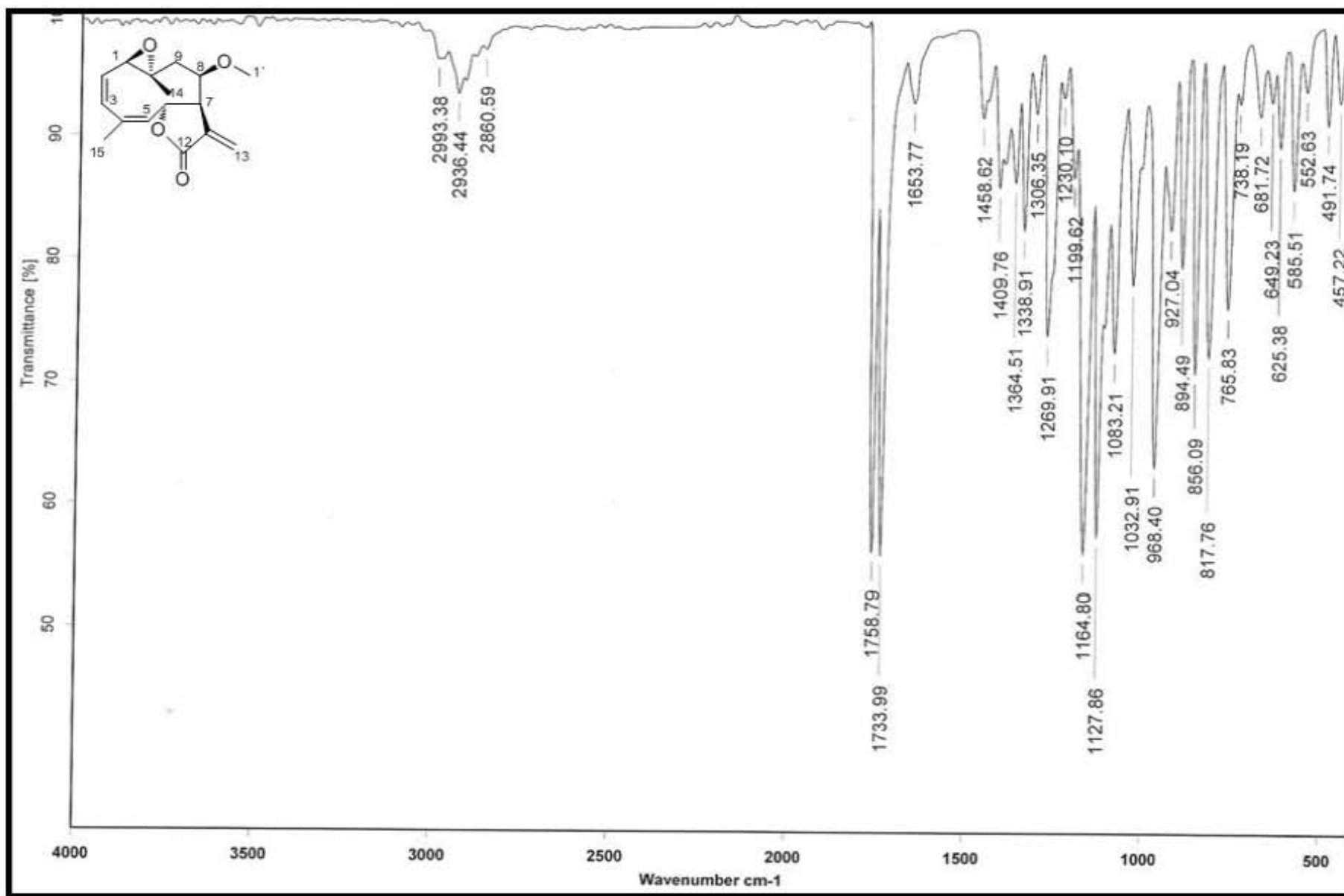
Espectro 7. 1 EM (ESI+) del Compuesto VII. 8-dehidroincomptina B.



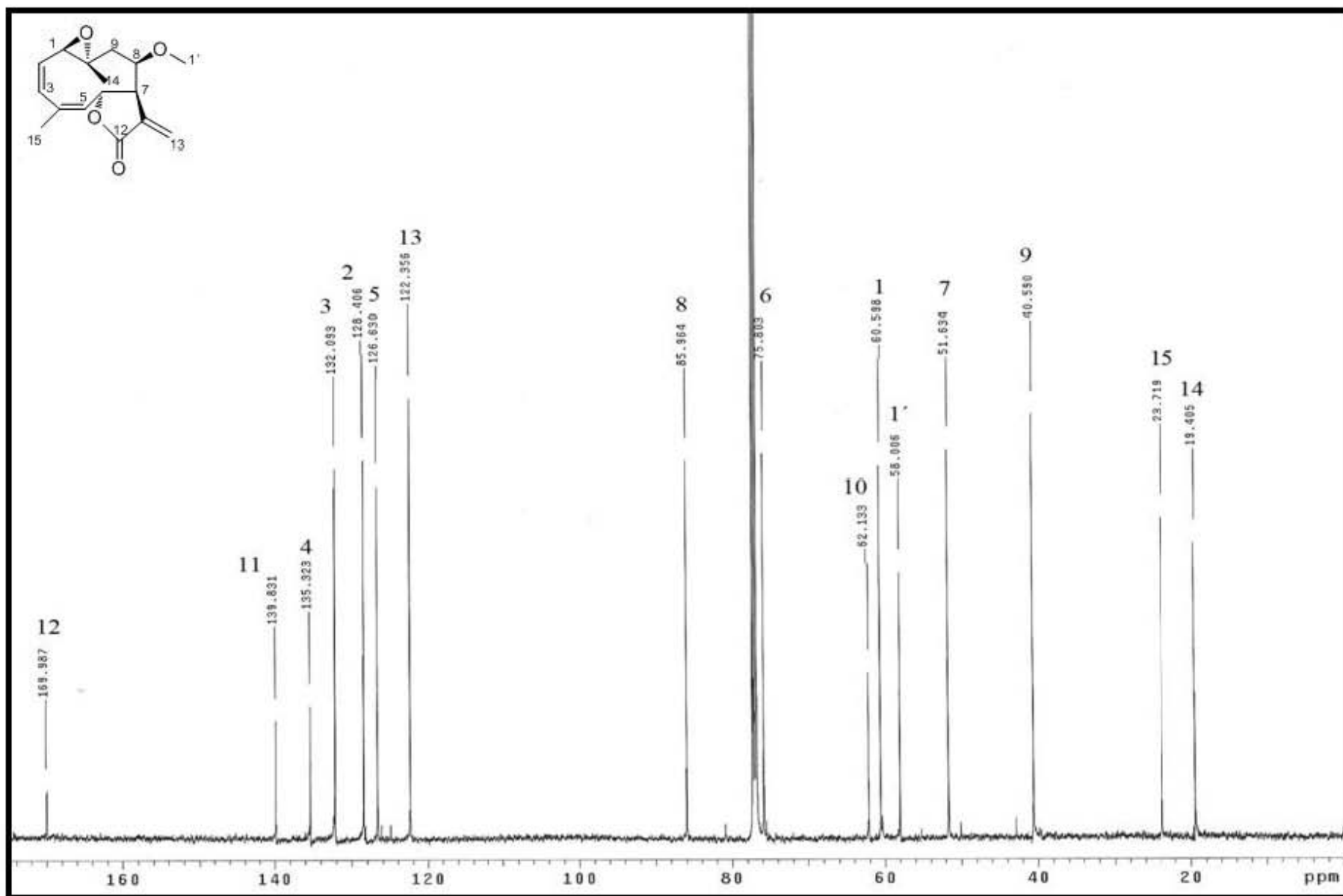
Espectro 7. 2 RMN ^{13}C (CDCl_3 125 MHz) del Compuesto VII. 8-dehidroincomptina B.



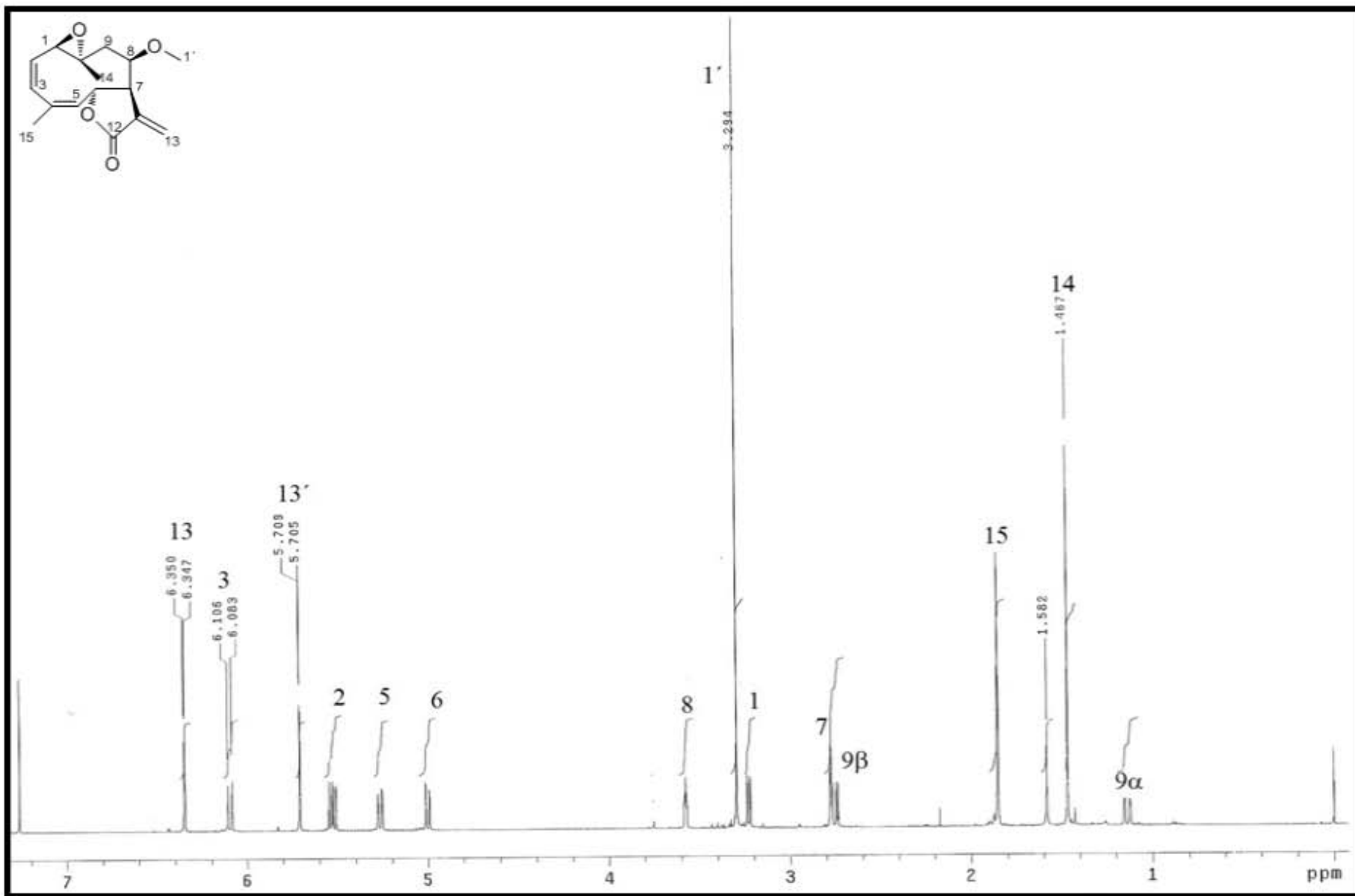
Espectro 7. 3 RMN ^1H (CDCl_3 125 MHz) del Compuesto VII. 8-dehidroincomptina B.



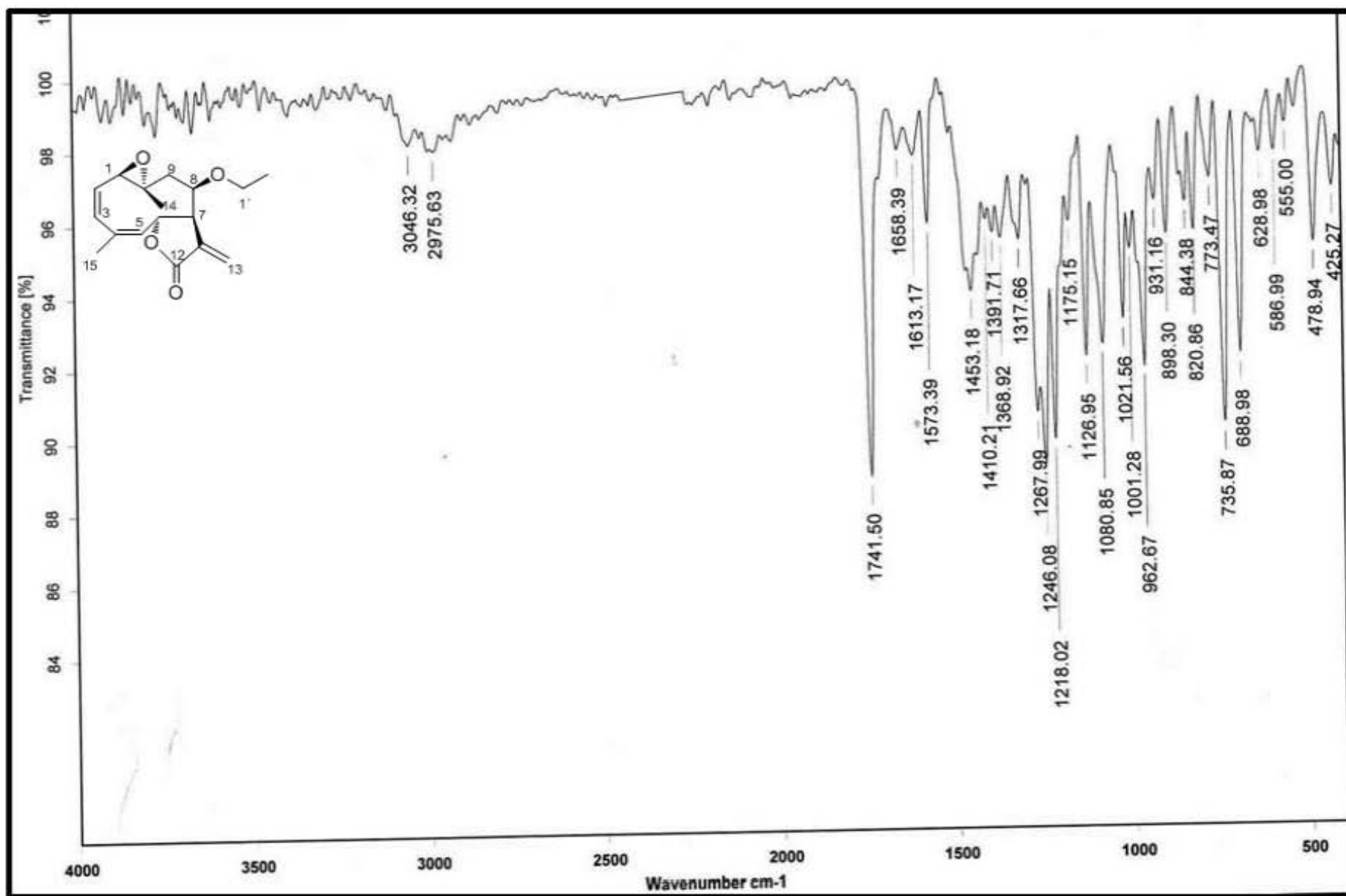
Espectro 8. IR (KBr/pastilla) del Compuesto VIII. 8-O-metil incompitina B.



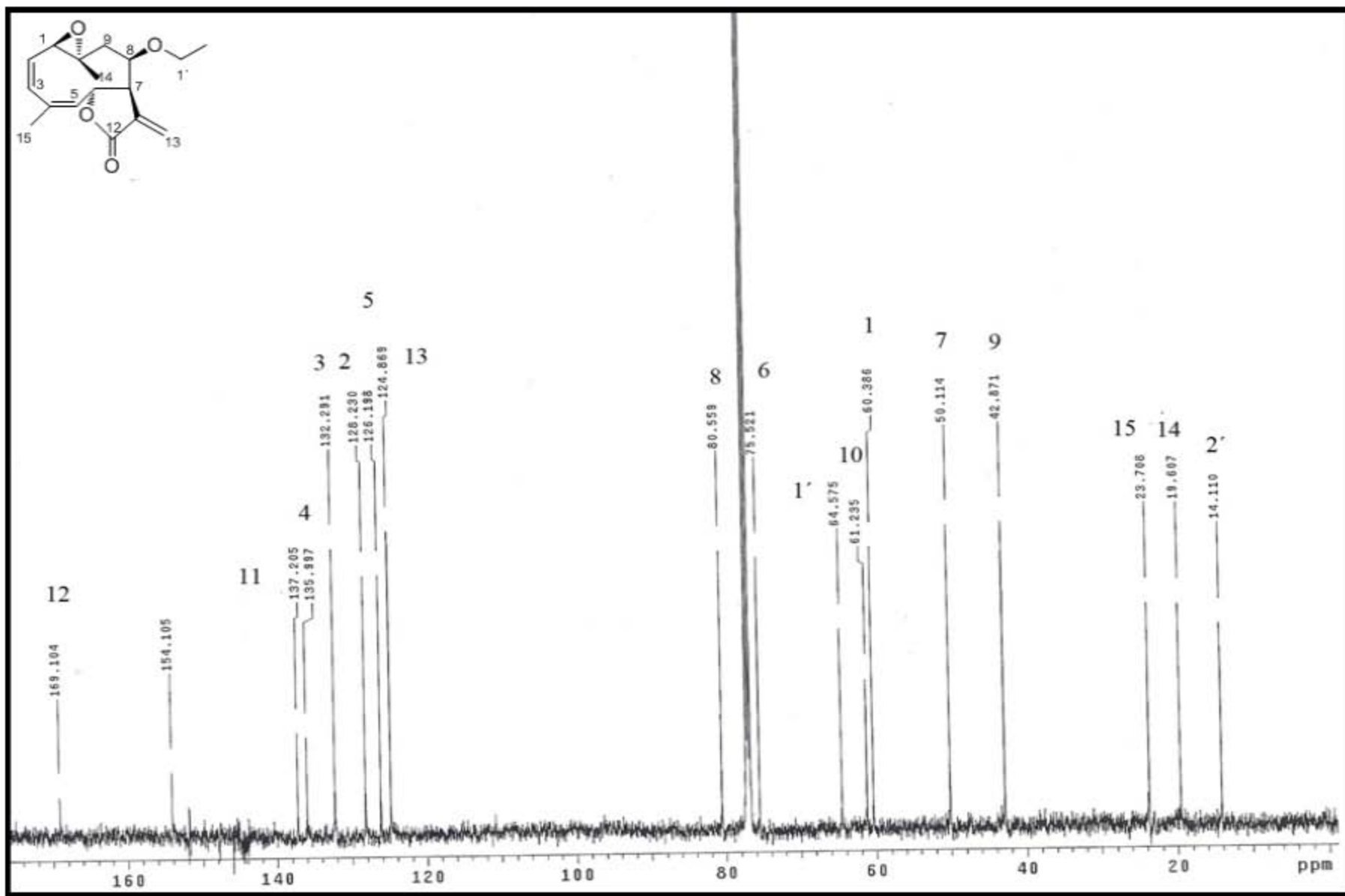
Espectro 8. 1 RMN ^{13}C (CDCl_3 125 MHz) del Compuesto VIII. 8-O-metil incompitina B.



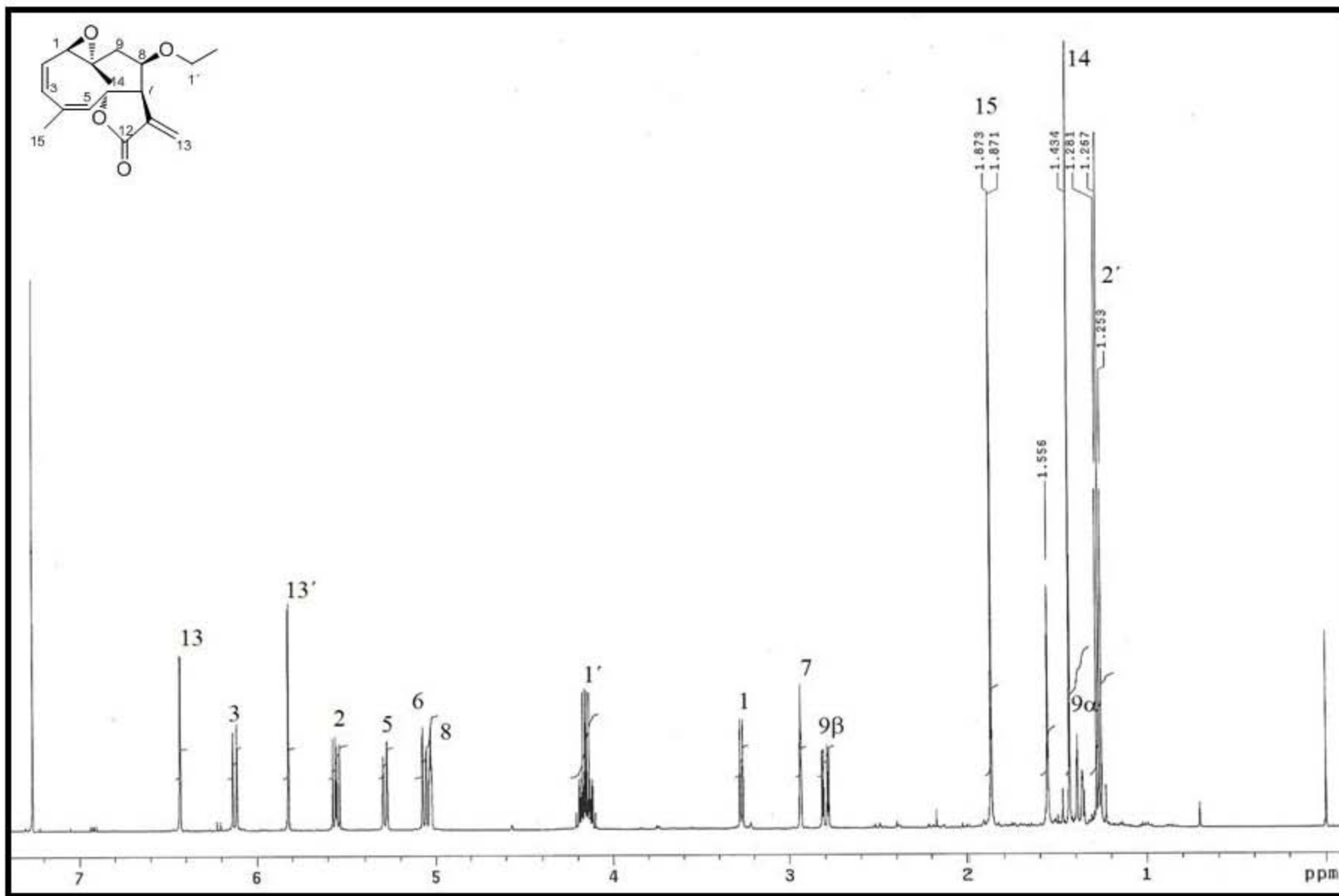
Espectro 8. 2 RMN ¹H (CDCl₃ 500 MHz) del Compuesto VIII. 8-O-metil incomptina B.



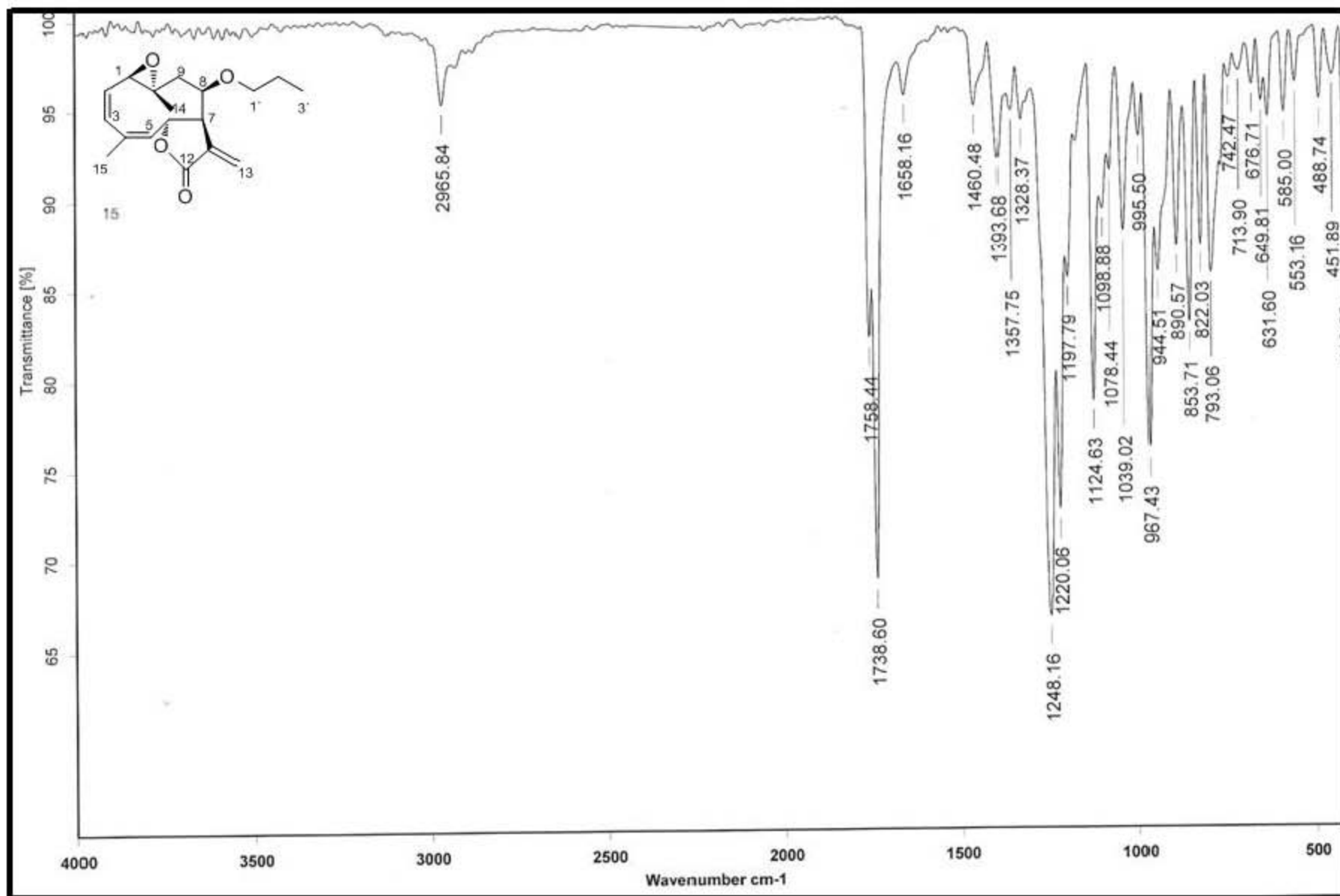
Espectro 9. IR (KBr/pastilla) del Compuesto IX. 8-O-etil incompitina B.



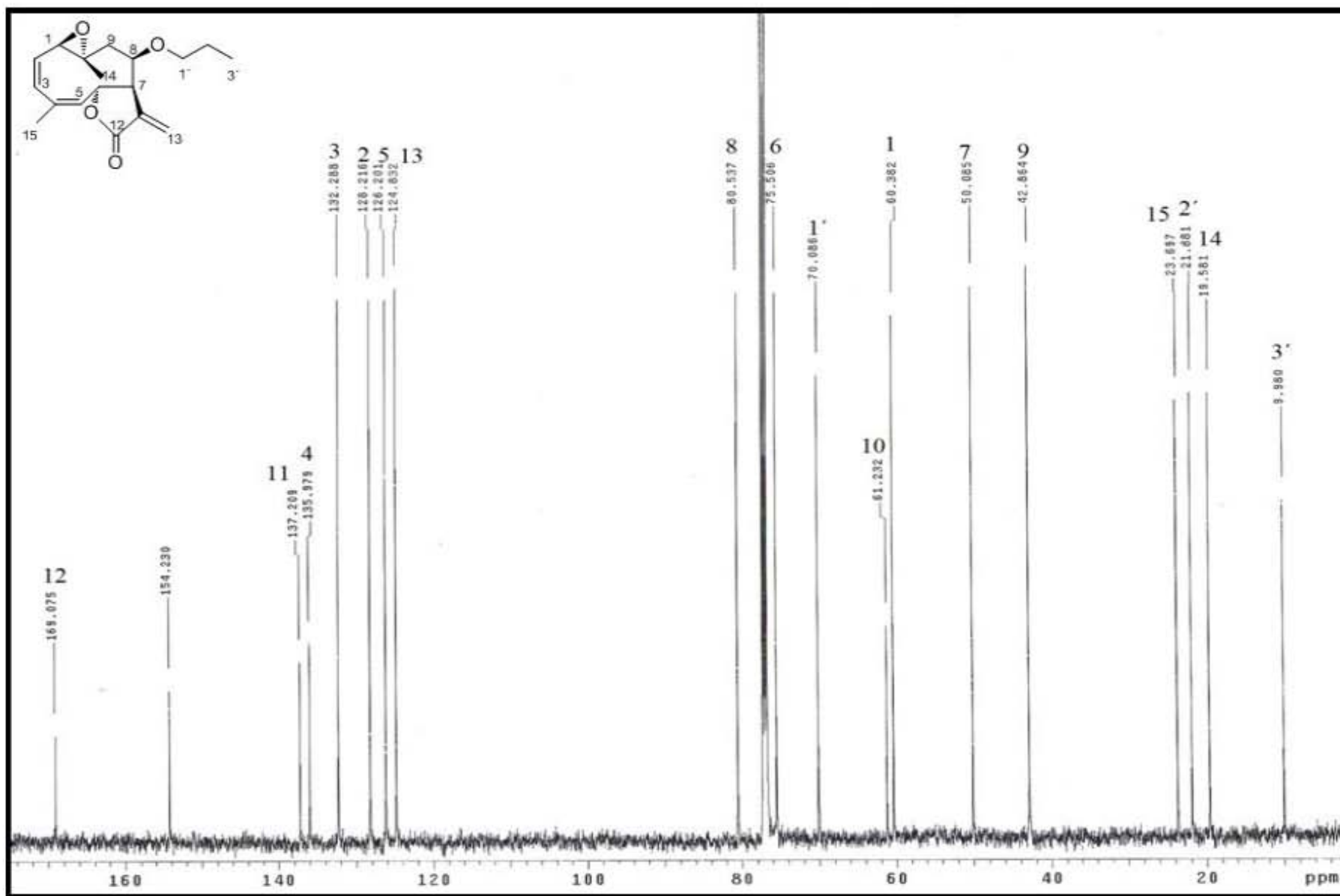
Espectro 9. 1 RMN ^{13}C (CDCl_3 125 MHz) del Compuesto IX. 8-O-etil incompitina B.



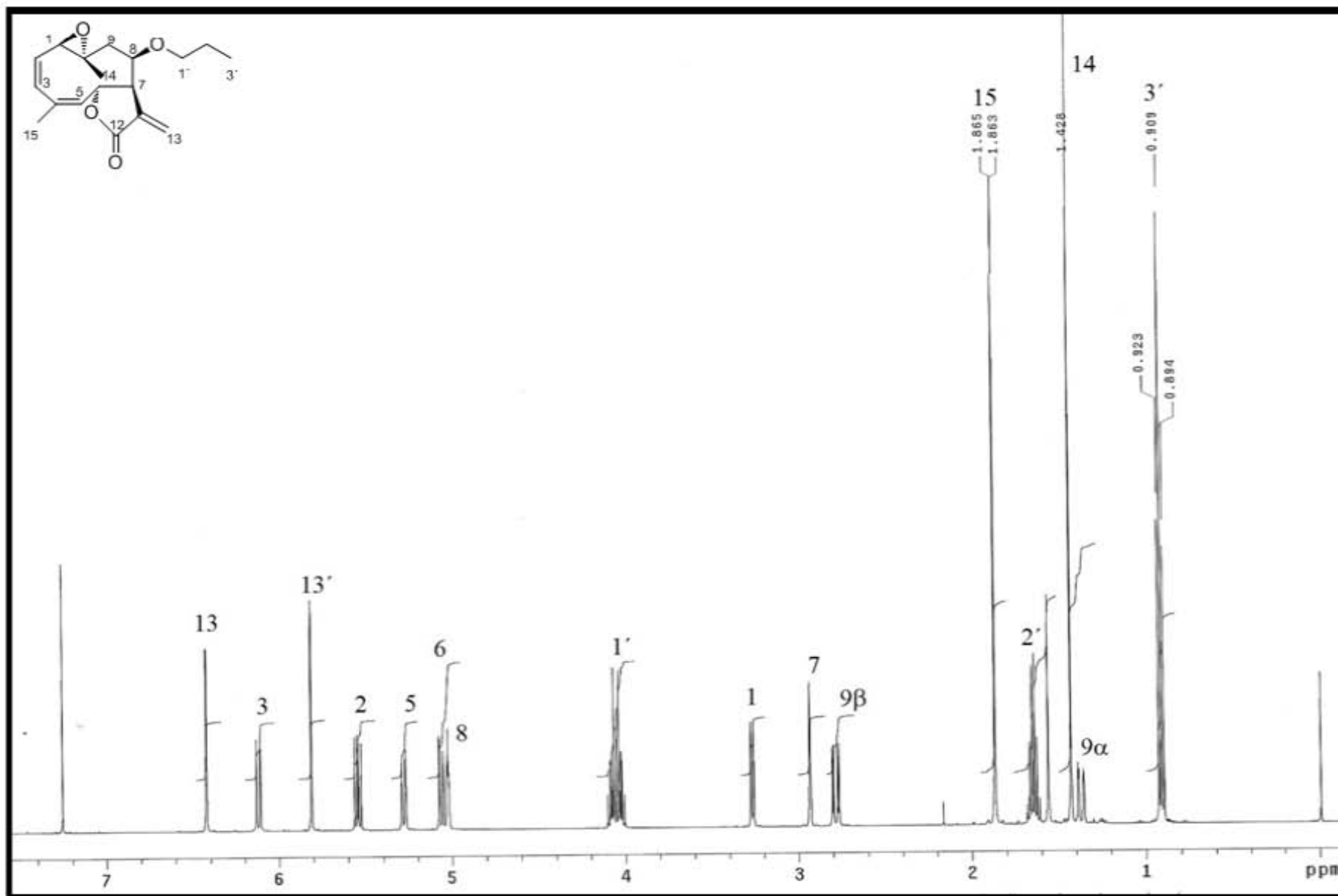
Espectro 9. 2 RMN ^{13}C (CDCl_3 125 MHz) del Compuesto IX. 8-O-etil incompitina B.



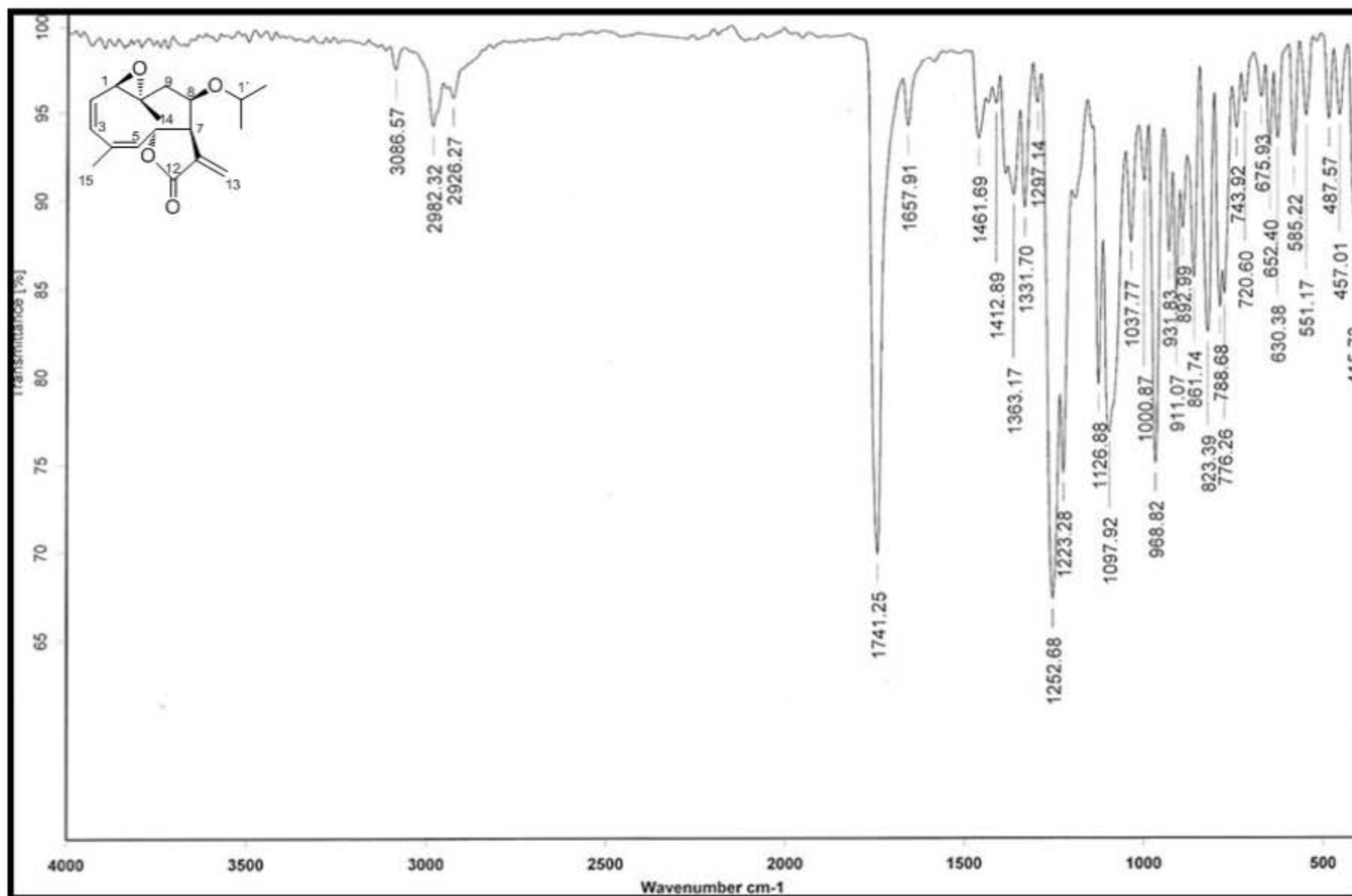
Espectro 10. IR (KBr/pastilla) del Compuesto X. 8-O-propil incompitina B.



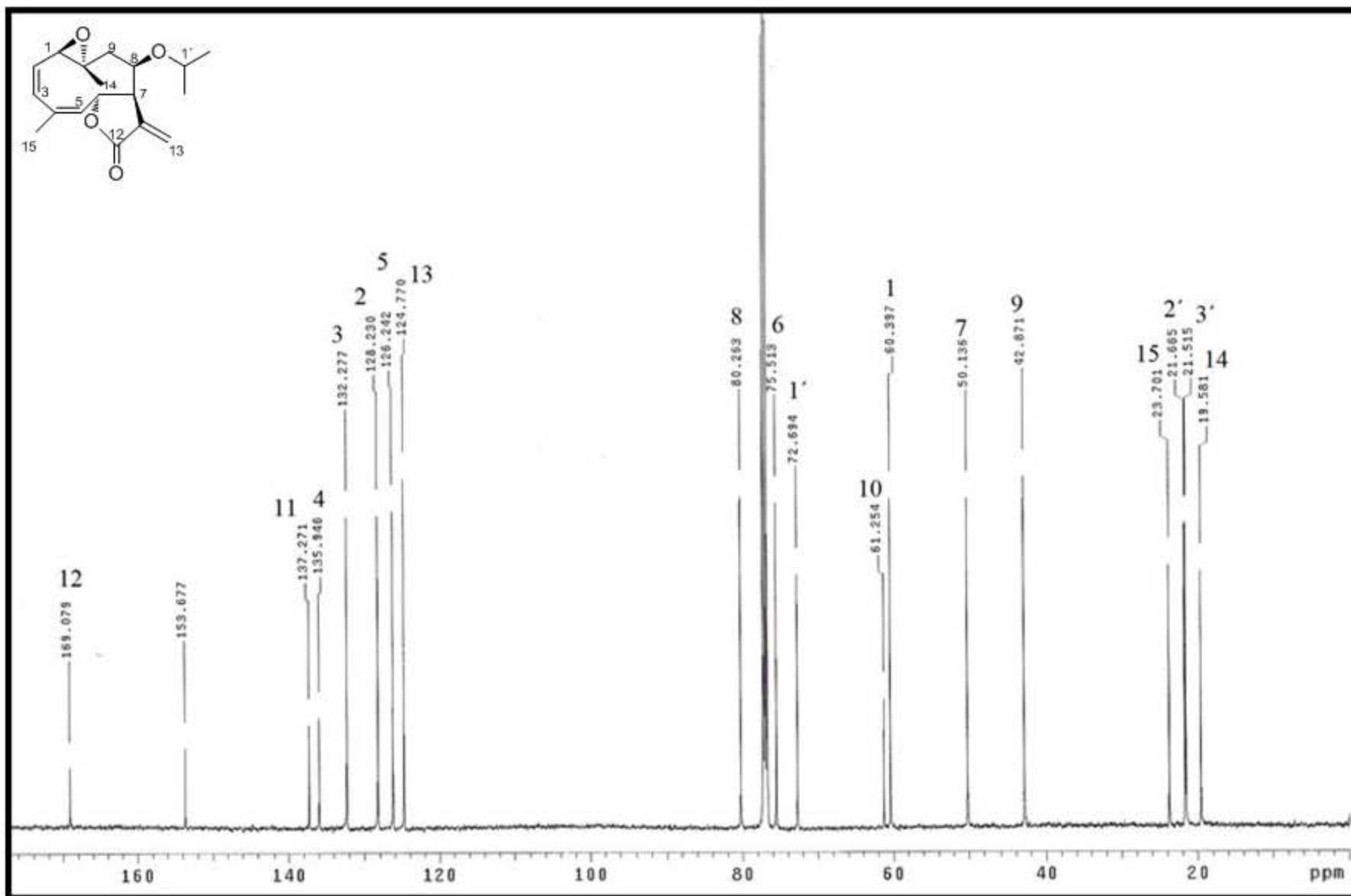
Espectro 10. 1 RMN ^{13}C (CDCl_3 125 MHz) del Compuesto X. 8-O-propil incompitina B.



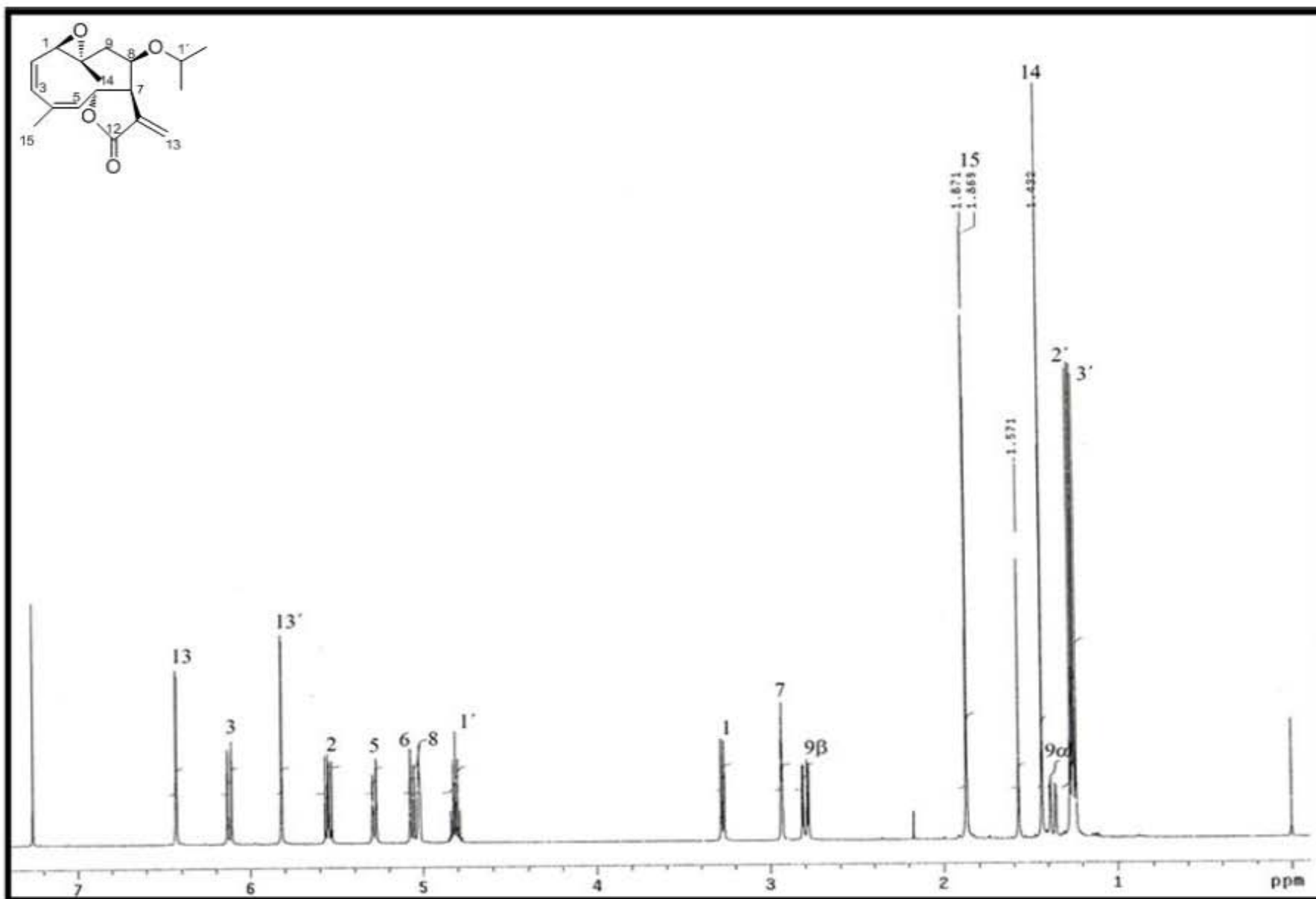
Espectro 10. 2 RMN ^1H (CDCl_3 500 MHz) del Compuesto X. 8-O-propil incompitina B.



Espectro 11. IR (KBr/pastilla) del Compuesto XI. 8-O-isopropil incompitina B.



Espectro 11. 1 RMN ^{13}C (CDCl_3 125 MHz) del Compuesto XI. 8-O-isopropil incompina B.



Espectro 11. 2 RMN ¹H (CDCl₃ 500 MHz) del Compuesto XI. 8-O-isopropil incompitina B.