



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE QUÍMICA

TÍTULO DE TESIS

“Aislamiento de 8-metoxi-9-*O*-angeloil timol, una contribución al estudio químico de la especie medicinal *Hofmeisteria schaffneri* (A. Gray) R.M. King & H. Rob (Asteraceae)”

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

PRESENTA

LAURA CECILIA FLORES BOCANEGRA



MÉXICO, D.F.

AÑO 2011



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:	Dra. Rachel Mata Essayag
Vocal:	Dr. José Fausto Rivero Cruz
Secretario:	Dra. Araceli Pérez Vásquez
Primer suplente:	Dra. Isabel del Carmen Rivero Cruz
Segundo suplente:	Dra. Mabel Clara Fragoso Serrano

LUGAR DONDE SE REALIZÓ LA TESIS:

Laboratorio 124, Departamento de Farmacia, Edificio E, Facultad de Química, UNAM.

ASESOR DEL TEMA:

Dra. Araceli Pérez Vásquez

SUSTENTANTE:

Laura Cecilia Flores Bocanegra

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo de investigación se realizó gracias al apoyo económico de los proyectos DGAPA (PAPIIT *IN-218110-03*) y CONACyT 99395 a cargo de la Dra. Rachel Mata Essayag.

Al CONACYT, por el apoyo otorgado a través de la beca del Sistema Nacional de Investigadores (SNI).

En especial a la Dra. Rachel Mata Essayag, por darme la oportunidad de pertenecer a su grupo de trabajo, y por el apoyo para la realización del presente trabajo.

A mi tutora la Dra. Araceli Pérez Vásquez, por el tiempo dedicado a la realización de este trabajo y por haber compartido conmigo conocimientos valiosos en mi desarrollo profesional.

A los miembros del jurado por la revisión crítica del trabajo escrito.

A los Drs. Robert Bye y Edelmira Linares por proporcionarme el material vegetal para el presente proyecto.

A la Q.B.F. Marisela Gutiérrez (Unidad de Servicios de Apoyo a la Investigación, Facultad de Química, UNAM) por el registro de los espectros de Infrarrojo.

A la M. en C. Georgina Duarte (Unidad de Servicios de Apoyo a la Investigación, Facultad de Química, UNAM) por el registro de los espectros de masas.

A la Dra. Guadalupe Esther Ángeles López, por sus enseñanzas, apoyo incondicional y por brindarme su amistad.

A todos mis compañeros del laboratorio 124, por su apoyo y amistad.

DEDICATORIAS

Primeramente a Dios, por la vida, por mi familia y por poner en mi camino a todas aquellas personas que hicieron posible culminar este ciclo en mi vida.

A mis padres Poncho y Cheva, que han formado la persona que soy ahora, por que siempre me han impulsado a superarme y sobre todo por el gran amor que me han dado toda la vida.

A mi hermana Dulce, por cuidarme, quererme y ser siempre mi mejor compañía.

A Ale, por la inmensa paciencia, por escucharme y apoyarme en momentos difíciles, por hacer más felices mis días y en especial por darme tanto amor.

ÍNDICE

	Página
1. ANTECEDENTES	1
1.1 Familia Asteraceae	1
1.2 Derivados del timol	1
1.3 Genero <i>Hofmeisteria</i>	7
1.4 <i>Hofmeisteria schaffneri</i>	8
2. JUSTIFICACION Y OBJETIVOS	11
3. DESARROLLO EXPERIMENTAL	13
3.1 Procedimientos generales	13
3.1.1 Análisis cromatográficos	13
3.1.2 Determinación de constantes físicas, espectroscópicas y espectrométricas	13
3.2 Material vegetal	14
3.3 Estudio químico del extracto orgánico obtenido a partir de las partes aéreas secas de <i>Hofmeisteria schaffneri</i>	14
3.3.1 Preparación del extracto orgánico	14
3.3.2 Fraccionamiento primario del extracto orgánico	15
3.3.3 Fraccionamiento secundario de la fracción primaria F5	15
3.3.4 Análisis de la fracción secundaria F5-4 : Aislamiento de 8-metoxi-9- <i>O</i> -angeloil timol (29)	15
3.4 Propuesta de síntesis para el angelato de 10-acetoxi-8,9-epoxitimilo (71).	18
3.4.1. Síntesis de 2-benciloxi-4-metilacetofenona (66).	19
3.4.2. Síntesis de 2-benciloxi- ω -bromo-4-metilacetofenona (67).	19
3.4.3 Síntesis de ω -Acetoxi-2-benciloxi-4-metilacetofenona (68).	20
3.5 Búsqueda bibliográfica referente a la especie vegetal en estudio.	21
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	22
5. CONCLUSIONES	31
6. PRESPECTIVAS	32
7. REFERENCIAS	33
8. ANEXO	37

LISTA DE FIGURAS

	Pagina
Figura 1. Distribución geográfica del genero <i>Hofmeisteria</i> .	7
Figura 2. <i>Hofmeisteria schaffneri</i> (A. Gray) R.M. King & H. Rob y su distribución geográfica en México.	10
Figura 3. Aislamiento del compuesto 29 , a partir del extracto orgánico total de <i>H. schaffneri</i> .	17
Figura 4. Propuesta de síntesis del compuesto 22 .	18
Figura 5. Espectro de EM-IE del compuesto 29 .	23
Figura 6. Espectro de RMN- ¹³ C (CDCl ₃ , 125 MHz) para el compuesto 29 .	23
Figura 7. Espectro de RMN- ¹ H (CDCl ₃ , 500 MHz) para el compuesto 29 .	24
Figura 8. Espectro de HSQC para el compuesto 29 .	25
Figura 9. Espectro de HMBC para el compuesto 29 .	25
Figura 10. Propuesta de síntesis del compuesto 22 .	27
Figura 11. Análisis retrosintético para el compuesto 68 .	29
Figura 12. Condiciones ensayadas de la reacción de Wittig para generar 67 .	30
Figura 13. Espectro de UV para el compuesto 29 .	38
Figura 14. Espectro de COSY para el compuesto 29 .	39
Figura 15. Espectro de DEPT para el compuesto 29 .	40

LISTA DE TABLAS

		Página
Tabla 1.	Derivados del timol aislados de especies selectas de la familia Asteraceae.	2
Tabla 2.	Especies perteneciente al género <i>Hofmeisteria</i> y su distribución.	8
Tabla 3.	Agentes cromógenos utilizados para los análisis cromatográficos por CCD.	13
Tabla 4.	Fraccionamiento primario del extracto orgánico de <i>H. schaffneri</i> .	15
Tabla 5.	Fraccionamiento secundario de la fracción primaria F5 .	16
Tabla 6.	Datos de RMN (^1H ; CDCl_3 , 500 MHz y ^{13}C ; 125 MHz) para el compuesto 29 .	24
Tabla 7.	Condiciones de reacción reportadas para la síntesis de 64 .	28
Tabla 8.	Condiciones de reacción ensayadas para la síntesis de 65 .	29

LISTA DE ABREVIATURAS

PTSA	Ácido <i>p</i> -toluensulfónico
CCD	Cromatografía en capa delgada
UV	Ultravioleta
nm	Nanómetros
CCA	Cromatografía en columna abierta
g	Gramos
mL	Mililitros
I ₂	Yodo
KBr	Bromuro de potasio
MHz	Megahertz
CDCl ₃	Cloroformo deuterado
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
EM-IE	Espectrometría de masas – Impacto electrónico
EM-FAB	Espectrometría de masas – Bombardeo de átomos acelerados.
eV	Electronvolts
MeOH	Metanol
CH ₂ Cl ₂	Diclorometano
L	Litro
AcOEt	Acetato de etilo
C ₆ H ₅ CH ₂ Br	Bromuro de bencilo
ACN	Acetonitrilo
KI	Yoduro de potasio
K ₂ CO ₃	Carbonato de potasio
pf	Punto de fusión
°C	Grados centígrados
mmol	Milimoles
AcOH	Ácido acético
DBU	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno
NBS	N-bromosuccinimida
ppm	Partes por millón
h	Horas
CLAE	Cromatografía de Líquidos de Alta Eficiencia
SRFC	Condiciones de reacción libre de disolventes
T	Temperatura
t	Tiempo
PO	Pre-organización

1. ANTECEDENTES

1.1 FAMILIA ASTERACEAE

La familia Asteraceae tiene su mayor centro de diversificación en México, cuenta con alrededor de 3,000 especies identificadas dentro de 314 géneros documentados (Villaseñor, *et al.*, 1990; Balleza y Villaseñor, 2002; Villaseñor, 2003) por lo tanto es una familia de las con mayor cantidad de especies dentro de la flora mexicana. Muchas de estas especies son utilizadas en la medicina tradicional mexicana y como condimentos. Los aceites esenciales de varias especies de esta familia son apreciados por sus propiedades anticepticas y plaguicidas (Shailili *et al.*, 2006).

En relación a su composición química, en general, las asteraceas se caracterizan por tener compuestos de tipo poliacetilenos, flavonoides, alcaloides pirrolizidínicos (los cuales se encuentran restringidos a las tribus Senecioneae y Eupatorieae), cromenos, benzofuranos y lactonas sesquiterpénicas (Pasrreiter, *et al.*, 1998; Proksch y Rodríguez, 1983), siendo estas últimas, los compuestos más representativos de la familia (Chaturvedi, 2011; Zodorn, 2008).

1.2 DERIVADOS DEL TIMOL

Los derivados del timol también constituyen un grupo de compuestos de importancia en la familia Asteraceae. Estos productos poseen funciones oxigenadas incluyendo epóxidos, éteres y ésteres de ácidos de cadena corta (ácidos acético, valérico, tíglico y angélico, por mencionar los más importantes) o dobles ligaduras en la cadena isopropílica del núcleo mentano. La función fenólica puede encontrarse libre, esterificada con los mismos residuos ácidos antes mencionados o, formando éteres. En algunos casos dos unidades de timol se condensan para generar estructuras

más complejas. En otros, el mentano se puede degradar a través de la pérdida de un carbono para formar derivados de tipo nortimol (Tabla 1).

Todos los derivados reportados a la fecha se encuentran restringidos a ocho tribus de la familia Asteraceae: Astereae, Eupatoreae, Gnaphalieae, Heliantheae, Helenieae, Inuleae, Senecioneae y Tageteae (Tabla 1). Esta distribución específica plantea la posibilidad de que puedan ser considerados como marcadores quimiotaxonómicos dentro de esta familia.

Tabla 1. Derivados del timol aislados de especies selectas de la familia Asteraceae.

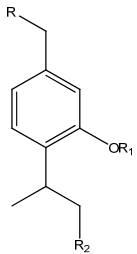
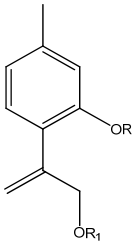
Estructura			Especie
 <p>1: R= H R₁= Tig R₂= OAc 2: R= H R₁= Ang R₂= H 3: R= H R₁= H R₂= OH 4: R= H R₁= Isobutirato R₂= H 5: R= H R₁= Isovalerico R₂= H 6: R= H R₁= H R₁= OAc 7: R= H R₁= Isobutirato R₂= OAc 8: R= Isobutiriloxi R₁= Me R₂= H</p>			<p>-<i>Arnica montana</i> 4 (Weremczuk-Jezyna, <i>et al.</i>, 2011). -<i>Arnica sachalinensis</i> 3, 6 y 7 (Passreiter, <i>et al.</i>, 1998). -<i>Centipeda mínima</i> 3 (Hengxing, <i>et al.</i>, 2007). -<i>Doronicum corsicum</i> 2, 4, 5, y 8 (Paolini, <i>et al.</i>, 2007). -<i>Eupatorium cannabinum</i> 1 (Chen, <i>et al.</i>, 2011). -<i>Eupatorium fortunei</i> 1, 3 (Tori, <i>et al.</i>, 2001; Hai-Xia, <i>et al.</i>, 2006). -<i>Hofmeisteria schaffneri</i> 2, 5 (Pérez-Vásquez, <i>et al.</i>, 2008). -<i>Inula cuspidata</i> 5 (Mathela, <i>et al.</i>, 2008).</p>
 <p>9: R= Isobutanoato R₁= O-Isobutiriloxi 10: R= Tig R₁= H 11: R= Tig R₁= OAc 12: R= H R₁= OAng 13: R= H R₁= 3-Metilbutanoiloxi 14: R= H R₁= OAc 15: R= H R₁= O-Isobutiriloxi 16: R= Isobutanoato R₁= OAc</p>			<p>-<i>Arnica montana</i> 9 (Weremczuk-Jezyna, <i>et al.</i>, 2006). -<i>Arnica sachalinensis</i> 14-16 (Passreiter, <i>et al.</i>, 1998). -<i>Calea nelsonii</i> 16 (Maldonado, <i>et al.</i>, 1991). -<i>Eupatorium cannabinum</i> 12, 13 y 15 (Chen, <i>et al.</i>, 2011). - <i>Eupatorium fortunei</i> 10 y 11 (Tori, <i>et al.</i>, 2001). -<i>Schkuhria multiflora</i> 16 (Bohlmann, <i>et al.</i>, 1980).</p>

Tabla 1. Derivados del timol aislados de especies selectas de la familia Asteraceae. (Continuación)

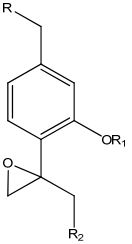
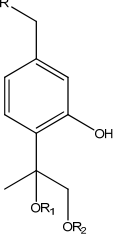
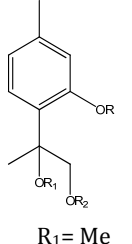
 <p> 17: R=H R₁= Isobutirato R₂= Isobutiriloxi 18: R=H R₁= Isobutirato R₂= 2-Metilbutiriloxi 19: R=H R₁= Isobutirato R₂= 3-Metilbutiriloxi 20: R=H R₁= Tig R₂= OH 21: R=H R₁= Ang R₂= OH 22: R=H R₁= Ang R₂= OAc 23: R=H R₁= Ang R₂= Isobutiriloxi 24: R=H R₁= Isobutirato R₂= OAc 25: R=H R₁= H R₂= OH 26: R=OAc R₁= Isobutirato R₂= O- Isobutiriloxi </p>	<p> <i>-Ageratina glechonophylla</i> 24 (González, <i>et al.</i>, 1989). <i>-Arnica montana</i> 17-19 y 26 (Weremczuk-Jezyna, <i>et al.</i>, 2006). <i>-Arnica sachalinensis</i> 17, 24-26 (Passreiter, <i>et al.</i>, 1998). <i>-Asteriscus pigmaeus</i> 17 (Ahmed, 1992). <i>-Calea nelsonii</i> 24 (Maldonado, <i>et al.</i>, 1991). <i>-Carpesium divaricatum</i> 17 y 18 (Zee, <i>et al.</i>, 1998). <i>-Doronicum corsicum</i> 23 (Paolini, <i>et al.</i>, 2007). <i>-Doronicum hungaricum</i> 22 (Bohlman, <i>et al.</i>, 1980). <i>-Eupatorium fortunei</i> 20 (Tori, <i>et al.</i>, 2001). <i>-Eupatorium glechonophyllum</i> 24 (Delle, <i>et al.</i>, 1984). <i>-Eupatorium kiirunense</i> 22 (Ya-Ching, <i>et al.</i>, 2005). <i>-Eupatorium stoechadosmum</i> 22 (Thi-Diem-Trang, <i>et al.</i>, 1993). <i>-Hofmeisteria schaffneri</i> 21 y 22 (Pérez-Vásquez, <i>et al.</i>, 2008). <i>-Inula ensifolia</i> 26 (Stojakowska, <i>et al.</i>, 2010). <i>-Inula helenium</i> 17, 18 y 26 (Stojakowska, <i>et al.</i>, 2004). <i>-Inula hupehensis</i> 17 y 26 (Zhao, <i>et al.</i>, 2010). <i>-Inula royleana</i> 17 y 18 (Stojakowska, <i>et al.</i>, 2006). <i>-Schkuhria multiflora</i> 24 (Pacciaroni, <i>et al.</i>, 1998). </p>
 <p> 27: R= AcO R₁= H R₂= Isobutiriloxi 28: R= H R₁= Me R₂= H 29: R= H R₁= Me R₂= Ang 30: R= H R₁= Me R₂= Isobutiriloxi 31: R= H R₁= Me R₂= 2-metilbutiriloxi 32: R= H R₁= Et R₂= Isobutiriloxi </p>	<p> <i>- Eupatorium cannabinum</i> 29 (Chen, <i>et al.</i>, 2011) <i>-Eupatorium fortunei</i> 27-32 (Tori, <i>et al.</i>, 2001) <i>-Schizogyne glaberrima</i> 32 (González, <i>et al.</i>, 1986) </p>
 <p> 33: R= Isobutirato R₁= Me R₂= H 34: R= Tig R₁= Me R₂= H 35: R= 3-Metil-2-buteniato R₁= Me R₂= H 36: R= Ac R₁= C₂H₅ R₂= Isobutiriloxi </p>	<p> <i>-Eupatorium fortunei</i> 33-35 (Tori, <i>et al.</i>, 2001). <i>-Schizogyne glaberrima</i> 36 (González, <i>et al.</i>, 1986). </p>

Tabla 1. Derivados del timol aislados de especies selectas de la familia Asteraceae. (Continuación)

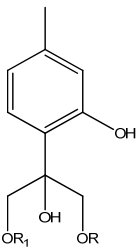
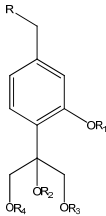
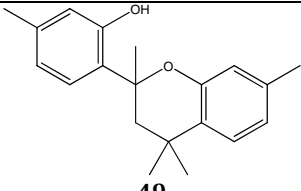
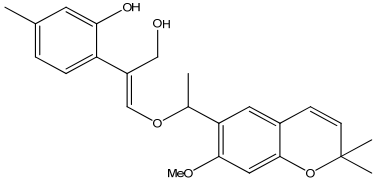
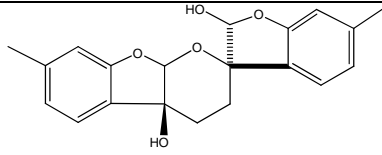
 <p> 37: R= Isobutiriloxi, R₁= Isobutiriloxi 38: R= H, R₁= H 39: R= Ang, R₁= Ac 40: R= Ang, R₁= Ang 41: R= H, R₁= Ang 42: R= H, R₁= Metilbutiriloxi 43: R= Isobutiriloxi R₁= H </p>	<p> <i>-Ageratina glechonophylla</i> 43 (González, <i>et al.</i>, 1989). <i>-Arnica montana</i> 37 (Weremczuk-Jezyna, <i>et al.</i>, 2006). <i>-Centipeda minima</i> 37, 38, 42 y 43 (Hengxing, <i>et al.</i>, 2007). <i>-Eupatorium fortunei</i> 39 (Tori, <i>et al.</i>, 2001) <i>-Hofmeisteria schaffneri</i> 39-41 (Pérez-Vásquez, <i>et al.</i>, 2008) <i>-Inula hupehensis</i> 37 y 38 (Zhao, <i>et al.</i>, 2010). <i>-Schizogyne glaberrima</i> 37 y 43 (González, <i>et al.</i>, 1986) <i>-Schkuhria multiflora</i> 43 (Pacciaroni, <i>et al.</i>, 1998) </p>
 <p> 44: R=H R₁=Tig R₂=H R₃=Ac R₄=H 45: R=O-Isobutirato R₁=H R₂=H R₃=Isobutiriloxi R₄=Ac 46: R=O-Isobutirato R₁=H R₂=H R₃=Isobutiriloxi R₄=H 47: R=O-Isobutirato R₁=H R₂=Me R₃=Isobutiriloxi R₄=H 48: R=H R₁=H R₂=H R₃=Isobutiriloxi R₄=Ac </p>	<p> <i>-Ageratina glechonophylla</i> 48 (González, <i>et al.</i>, 1989). <i>-Calea nelsonii</i> 45-48 (Maldonado, <i>et al.</i>, 1991). <i>-Eupatorium fortunei</i> 44 (Tori, <i>et al.</i>, 2001). </p>
 <p>49</p>	<p><i>-Inula nervosa</i> (Yoshida, <i>et al.</i>, 1995)</p>
 <p>50</p>	<p><i>-Ageratina glechonophylla</i> (González, <i>et al.</i>, 1991)</p>
 <p>51</p>	<p> <i>-Arnica sachalinensis</i> (Passreiter, <i>et al.</i>, 1999). <i>-Hofmeisteria schaffneri</i> (Pérez-Vásquez, <i>et al.</i>, 2008). </p>

Tabla 1. Derivados del timol aislados de especies selectas de la familia Asteraceae. (Continuación)

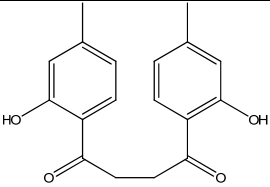
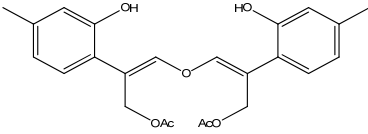
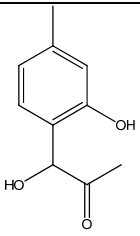
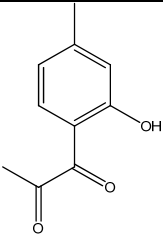
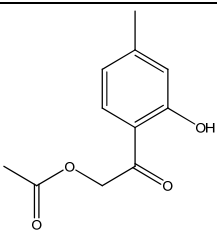
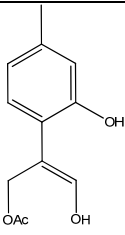
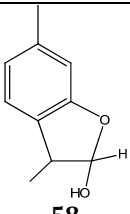
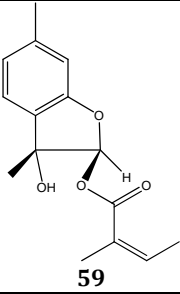
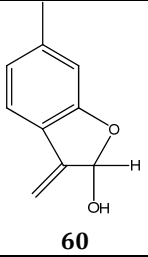
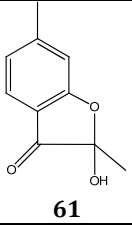
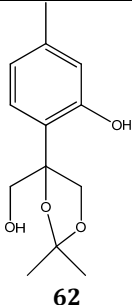
 <p style="text-align: center;">52</p>	<p>-<i>Hofmeisteria schaffneri</i> (Pérez-Vásquez, et al., 2008)</p>
 <p style="text-align: center;">53</p>	<p>-<i>Ageratina glechonophylla</i> (González, et al., 1991)</p>
 <p style="text-align: center;">54</p>	<p>-<i>Eupatorium fortunei</i> (Tori, et al., 2001)</p>
 <p style="text-align: center;">55</p>	<p>- <i>Eupatorium cannabinum</i> (Chen, et al., 2011)</p>
 <p style="text-align: center;">56</p>	<p>- <i>Hofmeisteria schaffneri</i> (Pérez-Vásquez, et al., 2005)</p>
 <p style="text-align: center;">57</p>	<p>- <i>Ageratina glechonophylla</i> (González, et al., 1991)</p>
 <p style="text-align: center;">58</p>	<p>- <i>Eupatorium fortunei</i> (Tori, et al., 2001)</p>

Tabla 1. Derivados del timol aislados de especies selectas de la familia Asteraceae. (Continuación)

 <p style="text-align: center;">59</p>	<p>- <i>Eupatorium cannabinum</i> (Chen, <i>et al.</i>, 2011)</p>
 <p style="text-align: center;">60</p>	<p>- <i>Helenium puberulum</i> (Bohlmann, <i>et al.</i>, 1979) - <i>Neuraleana oaxacana</i> (Bohlmann, <i>et al.</i>, 1978)</p>
 <p style="text-align: center;">61</p>	<p>- <i>Eupatorium cannabinum</i> (Hengxing, <i>et al.</i>, 2008)</p>
 <p style="text-align: center;">62</p>	<p>- <i>Centipeda minima</i> (Liang, <i>et al.</i>, 2007) - <i>Eupatorium glechonophyllum</i> (Delle, <i>et al.</i>, 1984) - <i>Inula helicantus</i> (Huoqiang, <i>et al.</i>, 2009)</p>

Ac: Acetato; Ang: Angelato; Tig: Tiglato

Tabla 2. Especies perteneciente al género *Hofmeisteria* y su distribución*.

Especie	Distribución	Referencia
1. <i>Hofmeisteria anomalochaeta</i> (R.M. King) B.L. Turner	Baja California Sur	Phytologia 63: 416 (1987)
2. <i>Hofmeisteria crassifolia</i> S. Watson	Sonora	Proc. Amer. Acad. Arts 24: 53 (1889)
3. <i>Hofmeisteria dissecta</i> (Hook. & Arn.) R.M. King & H. Rob.	Colima, Guerrero, Jalisco, Nayarit y Sinaloa	Phytologia 12: 466 (1966)
4. <i>Hofmeisteria fasciculata</i> (Benth.) Brandegees.	Baja California, Baja California Sur y Sonora	Repert.Bot.Syst.6:106 (1847)
5. <i>Hofmeisteria filifolia</i> I.M. Johnst.	Baja California Sur	Proc. Calif. Acad. Sci., ser. 4, 12: 1185 (1924)
6. <i>Hofmeisteria gayleana</i> B.L. Turner	Durango y Sinaloa	Phytologia 73(1): 18-20, f. 1(1992)
7. <i>Hofmeisteria gentryi</i> (Wiggins) R.M. King & H. Rob.	ND	Contr. Dudley Herb. 4: 25 (1950)
8. <i>Hofmeisteria laphamoides</i> (J. N. Rose) R.M. King & H. Rob.	Baja California, Baja California Sur y Sonora	Contr. U.S. Natl. Herb. 1: 79 (1890)
9. <i>Hofmeisteria malvaefolia</i> (B.L. Rob. & Greenm.) B.L. Turner	Oaxaca	Phytologia 63: 416 (1982)
10. <i>Hofmeisteria mexiae</i> (B.L. Rob.) B.L. Turner McVaugh	Jalisco y Nayarit	Phytologia 73(1): 21 (1992)
11. <i>Hofmeisteria pluriseta</i> (A.Gray) R.M. King & H. Rob	California, E.U.A	Pacif. Railr. Rep. 4(5): 96, pl. 9 (1857)
12. <i>Hofmeisteria pubescens</i> (S. Watson) B.L. Rob	ND	Proc. Amer. Acad. Arts 24: 54 (1889)
13. <i>Hofmeisteria schaffneri</i> (A. Gray) R.M. King & H. Rob.	Guanajuato, Jalisco y San Luis Potosí	Phytologia 12: 467 (1966)
14. <i>Hofmeisteria sinaloensis</i> H.S Gentry	Sinaloa	Brittonia 6(3): 329 (1948)
15. <i>Hofmeisteria standleyi</i> (S.F. Blake) R.M. King & H. Rob.	Sinaloa y Sonora	Phytologia 12: 467 (1966)
16. <i>Hofmeisteria urenifolia</i> (Hook. & Arn.) Walp.	Chiapas, Colima, Guerrero, Jalisco, Michoacán y Nayarit	Repert. Bot. Syst. 6(1): 106 (1846)

* Tomado de: www.tropicos.org; ND: información no disponible

1.4 HOFMEISTERIA SCHAFFNERI

Hofmeisteria schaffneri (A. Gray) R.M. King & H. Rob (Figura 2) pertenece a la tribu Eupatorieae, familia Asteraceae. Es un arbusto que crece de 25 a 35 cm de alto, generalmente en climas húmedos y cálidos, principalmente a orillas de arroyos. Es originaria de los estados de Guanajuato, Jalisco y San Luis Potosí, aunque también es cultivada en la zona del Valle de México y Michoacán (Figura 2). Se le conoce comúnmente como “ámbar” en el Estado de México y como “Manzanillo australiano” en Michoacán.

Hofmeisteria schaffneri es una especie vegetal de amplio uso en la medicina tradicional mexicana. Se emplea sola o acompañada de toronjiles como agua de uso en el tratamiento de trastornos gastrointestinales o en casos de fiebre y también se utiliza en cataplasmas para tratar heridas en la piel (Pérez-Vásquez, *et al.*, 2005; 2008; 2011 y Ángeles-López, *et al.*, 2010).

Con respecto a su composición química, de las partes aéreas de la planta se ha aislado el ácido angélico, β -sitosterol, la euparina, nueve derivados del timol (**2**, **22**, **23**, **39-41**, **53**, **54** y **58** y el timol mismo (Pérez-Vásquez, *et al.*, 2005; 2008).

También se ha reportado la composición del aceite esencial obtenido por hidrodestilación, el cual se analizó a lo largo de un año, cubriendo la época de floración y no floración de la planta. En este preparado, los metabolitos mayoritarios identificados fueron la hofmeisterina III (**2**) y el isovalerato de timilo (**5**) seguidos del isobutirato de timilo (**4**) y el angelato de 10-acetoxi-8,9-epoxitimilo (**22**).

Por lo que se refiere a la actividad farmacológica de extractos, fracciones y compuestos puros obtenidos de la planta, el aceite esencial y una fracción de diclorometano obtenida de la infusión presentaron una buena actividad antimicrobiana y antinociceptiva.

Algunos compuestos también fueron evaluados pero solo **2** y **22** presentaron actividad antinociceptiva frente al dolor producido por un estímulo térmico (placa caliente); Este último también presentó una actividad antimicrobiana significativa contra *Staphylococcus aureus* y *Bacillus subtilis* (Pérez-Vásquez, *et al.*, 2011; Ángeles-López, *et al.*, 2010).



Figura 2. a) *Hofmeisteria schaffneri* (A. Gray) R.M. King & H. Rob. b) Distribución geográfica en México

2. JUSTIFICACION Y OBJETIVOS.

El presente trabajo forma parte de un estudio multidisciplinario que pretende generar los parámetros de calidad, eficacia y seguridad de plantas mexicanas de amplio uso en la medicina popular de México. Como se indicó en la sección de antecedentes, ya se han realizado estudios químicos conducentes a establecer el perfil químico de *Hofmeisteria schaffneri*, todo ello con miras a la determinación de los perfiles cromatográficos (huellas digitales) y compuestos marcadores de distintos extractos de la planta de utilidad para las pruebas de identidad. Sin embargo, a la fecha no se han caracterizado los compuestos minoritarios, algunos de los cuales podrían servir como marcadores, ya sea en estudios quimiotaxonómicos, o para las pruebas de identidad antes señaladas.

De los compuestos identificados a la fecha, el producto **22** demostró una buena actividad antibacteriana y antiespasmolítica, sin embargo, no se ha podido profundizar en los estudios de estas actividades debido a que no se cuenta con cantidades suficientes. Así mismo, de contar con el estándar sintético es factible desarrollar las pruebas de composición apropiada para la elaboración de productos estandarizados o simplemente para el control de calidad de la droga cruda.

En este contexto, el presente trabajo tiene como objetivo principal, continuar con el estudio químico de la planta *H. schaffneri* con la finalidad de contribuir al conocimiento de la composición química de la misma. Los resultados generados en este proyecto forman parte de la monografía de la droga cruda, la cual en un futuro, podrá integrarse a la Farmacopea Herbolaria de los Estados Unidos Mexicanos. Así mismo se pretende iniciar el proceso de síntesis del producto **22** con la finalidad de contar con los estándares apropiados para el desarrollo de una prueba analítica de utilidad con fines de control de calidad.

Para el cumplimiento del objetivo general se plantearon los siguientes objetivos específicos:

-Aislar al menos uno de los compuestos minoritarios aún no reportado, presente en el extracto orgánico de las partes aéreas de *H. schaffneri*.

-Elucidar su estructura utilizando métodos espectroscópicos y espectrométricos.

-Obtener el intermediario adecuado para la síntesis de **22** mediante una reacción Wittig.

3. DESARROLLO EXPERIMENTAL

3.1 Procedimientos generales

3.1.1 Análisis cromatográficos. Los análisis cromatográficos en capa delgada (CCD) analítica se realizaron sobre placas de aluminio recubiertas con gel de sílice (60 F₂₅₄ Merck KGaA, Alemania) de diferentes dimensiones; estos análisis se realizaron de acuerdo a las técnicas convencionales, utilizando diversos sistemas de elución. Como agentes cromógenos se emplearon solución de sulfato cérico amoniacal, solución metanólica de 2,4-dinitrofenilhidrazina y yodo (Tabla 3). Para desarrollar el color en el caso del sulfato cérico amoniacal y 2,4-dinitrofenilhidrazina fue necesario calentar a 110°C durante un minuto. Adicionalmente la visualización de las placas se realizó con una lámpara de UV (onda corta 254 nm; onda larga 365 nm).

La cromatografía en columna abierta (CCA) se realizó en columnas de vidrio de diferentes capacidades empacadas con gel de sílice (tamaño de partícula 0.063-0.200 mm, Kieselgel 60 Merck KGaA, Alemania).

Tabla 3. Agentes cromógenos utilizados para los análisis cromatográficos por CCD.

Agente revelador	Composición
Sulfato cérico amoniacal	Sulfato cérico amoniacal 12.0 g Ácido sulfúrico 22.5 ml Hielo 350 g
2,4-dinitrofenilhidrazina	2,4-dinitrofenilhidrazina 1g Metanol 100 mL Ácido sulfúrico 1 mL
Yodo	I ₂ 100% sobre gel de sílice

3.1.2 Determinación de constantes físicas, espectroscópicas y espectrométricas. Los puntos de fusión se midieron en un aparato Fischer-Johns y se reportan sin corregir. Los espectros en el infrarrojo se obtuvieron en película o pastilla de KBr en un espectro Perkin Elmer 599. Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear protónica (RMN-¹H) y de carbono-13 (RMN-¹³C) se registraron en

un aparato Varian Unity Inova el cual se operó a una frecuencia de 400 MHz para RMN-¹H y de 100 MHz para RMN-¹³C y Varian Inova de 500 MHz para RMN-¹H y de 125 MHz para RMN-¹³C empleando CDCl₃ como disolvente. Los desplazamientos químicos (δ) se expresan en ppm. Para el procesamiento de los espectros de RMN monodimensionales y bidimensionales se utilizó el programa MestreNova® (versión 6). Los espectros de masas se registraron en un espectrómetro de masas JEOL SX 102 utilizando como método de ionización bombardeo de átomos acelerados (MS-FAB) en modo positivo y como matriz alcohol nitrobenílico (ANB), y por impacto electrónico (MS-IE) acoplado a un cromatógrafo de gases a una energía de ionización de 70 eV. El análisis de rotación óptica se realizó en un Polarímetro Perkin Elmer 343, con CHCl₃ como disolvente, el aparato se operó a 589 nm.

3.2 Material vegetal

Para la preparación del extracto, se utilizaron las partes aéreas de la especie vegetal *Hofmeisteria schaffneri* (A. Gray) R.M. King & H. Rob (Asteraceae) recolectada en San Luis Potosí por los Dres. Edelmira Linares y Robert Bye del Instituto de Biología de la UNAM. Un ejemplar de herbario (Linares & Bye 2678) fue depositado en el herbario nacional (MEXU). El material vegetal fresco se sometió a un proceso de desecación a temperatura ambiente por 8 días, posteriormente se fragmentó en un molino Willey Modelo 4.

3.3 Estudio químico del extracto orgánico obtenido a partir de las partes aéreas secas de *H. schaffneri*.

3.3.1 Preparación del extracto orgánico. El extracto orgánico total se preparo a partir del material vegetal seco y molido (1.5 Kg) por un proceso de maceración durante 7 días, utilizando una mezcla de MeOH-CH₂Cl₂ (1:1) como disolvente. Posteriormente se filtro y el extracto resultante se concentró a presión reducida obteniéndose un total de 340 g de extracto vegetal crudo.

3.3.2 Fraccionamiento primario del extracto orgánico. El extracto integro (340 g) se sometió a una separación vía CCA empacada con 600 g de gel de sílice. Como eluyentes se emplearon mezclas de hexano-CH₂Cl₂ (10:0→0:10) y CH₂Cl₂-MeOH (10:0→0:10) y se recolectaron 250 fracciones de 1L cada una, las cuales se analizaron por CCD combinándose todas aquellas que resultaron cromatográficamente similares. Este proceso generó 9 fracciones primarias (Tabla 4).

Tabla 4. Fraccionamiento primario del extracto orgánico de *H. schaffneri*.

Eluyente	Proporción (%)	Fracciones	Fracciones combinadas	Clave	Peso (g)
Hexano	100	1-45	1-55	F1	15.09
Hexano-CH ₂ Cl ₂	90:10	46-67	56-62	F2	7.32
Hexano-CH ₂ Cl ₂	80:20	68-85	63-77	F3	4.21
Hexano-CH ₂ Cl ₂	60:40	86-94	78-91	F4	13.43
Hexano-CH ₂ Cl ₂	20:80	95-119	92-123	F5	35.76
Hexano-CH ₂ Cl ₂	50:50	120-132	124-155	F6	51.98
Hexano-CH ₂ Cl ₂	30:70	133-142	156-185	F7	55.25
CH ₂ Cl ₂	100	143-168	186-213	F8	67.41
CH ₂ Cl ₂ -MeOH	80:20	169-180	214-250	F9	59.07
CH ₂ Cl ₂ -MeOH	70:30	181-223			
CH ₂ Cl ₂ -MeOH	50:50	224-250			

3.3.3 Fraccionamiento secundario de la fracción primaria F5. La fracción primaria **F5** (13 g) se sometió a un fraccionamiento secundario vía CCA empacada con 200g de gel de sílice. Los eluyentes empleados fueron mezclas de hexano-AcOEt (10:0→20:80). Finalmente se obtuvieron 25 fracciones secundarias combinadas por afinidad cromatográfica (Tabla 5).

3.3.4 Análisis de la fracción secundaria F5-4: Aislamiento de 8-metoxi-9-angeloil timol (29). De la fracción secundaria F5-4 se logró identificar un compuesto mayoritario. Para separar este compuesto, la fracción se analizó por CCD modalidad preparativa (1 placa con aproximadamente 250 mg de muestra), empleando una

mezcla de hexano-AcOEt (85:15). Después de eluir la placa dos veces y procesarla de manera habitual se obtuvieron 54 mg de un aceite amarillo. Posteriormente este aceite se sometió a un segundo análisis por CCD modalidad preparativa (1 placa con 54 mg de muestra), empleando una mezcla de elusión de hexano-AcOEt (95:05); después de eluir tres veces la placa y tratarla de manera habitual se obtuvieron 40 mg del compuesto **29**.

Tabla 5. Fraccionamiento secundario de la fracción primaria **F5**

Eluyente	Proporción (%)	Fracciones	Fracciones combinadas	Clave
Hexano	100	1-9	1-8	F5-1
Hexano-AcOEt	98:02	10-25	9-12	F5-2
Hexano-AcOEt	96:04	26-45	13-14	F5-3
Hexano-AcOEt	92:08	46-73	15-24	*F5-4
Hexano-AcOEt	90:10	74-96	25-27	F5-5
Hexano-AcOEt	85:15	97-132	28-34	F5-6
Hexano-AcOEt	80:20	133-152	35-42	F5-7
Hexano-AcOEt	70:30	153-184	43-46	F5-8
Hexano-AcOEt	50:50	185-195	47	F5-9
Hexano-AcOEt	20:80	196-210	48-54	F5-10
			55	F5-11
			56-68	F5-12
			69	F5-13
			70-92	F5-14
			93	F5-15
			94-110	F5-16
			111-122	F5-17
			123	F5-18
			124-129	F5-19
			130-137	F5-20
			138-142	F5-21
			143-150	F5-22
			151-158	F5-23
			159-166	F5-24
			167	F5-25

*Peso de fracción **F5-4** = 458 mg

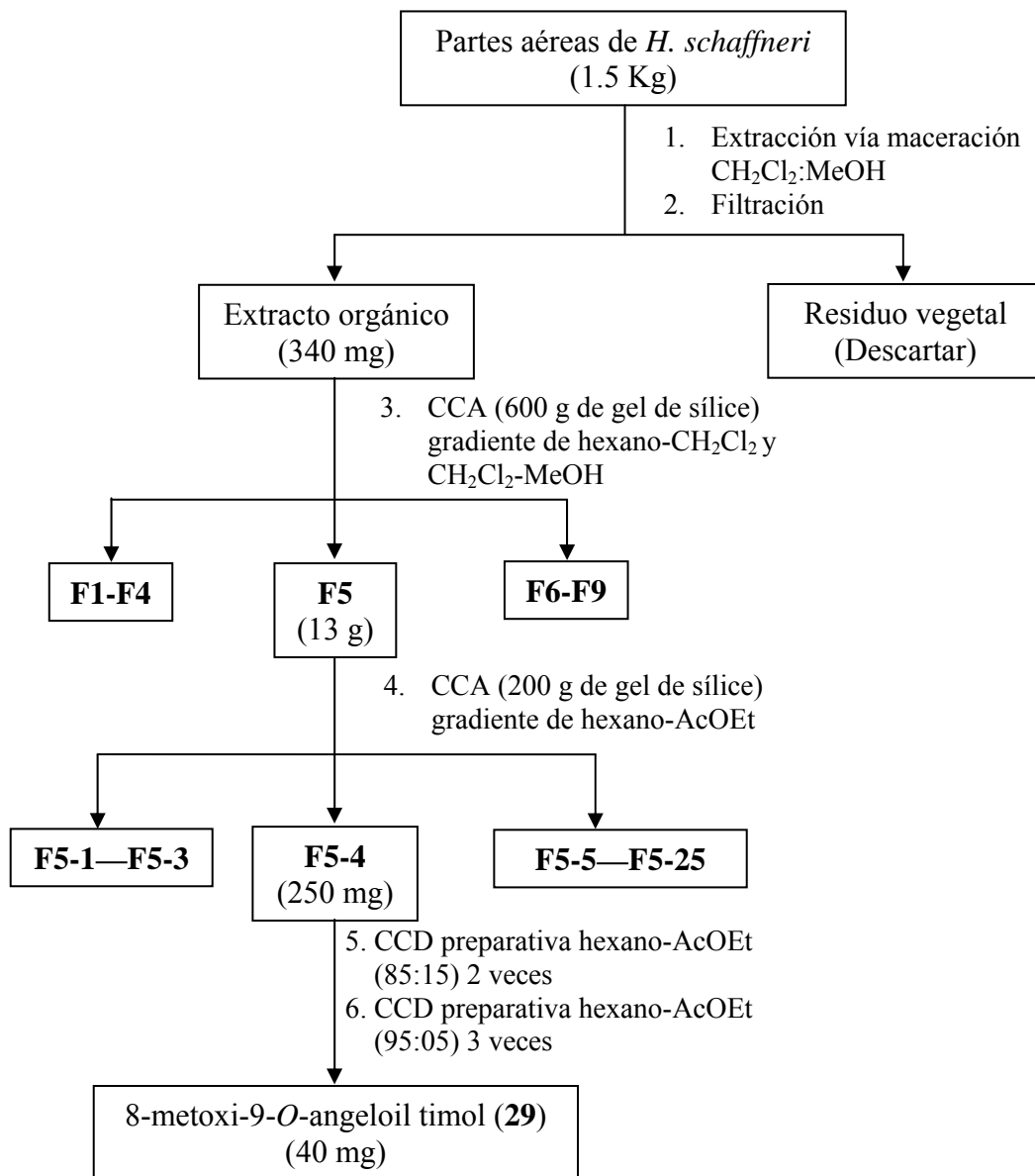


Figura 3. Aislamiento del compuesto **29**, a partir del extracto orgánico total de *H. schaffneri*.

3.4 Propuesta de síntesis para el angelato de 10-acetoxi-8,9-epoxitimilo (22).

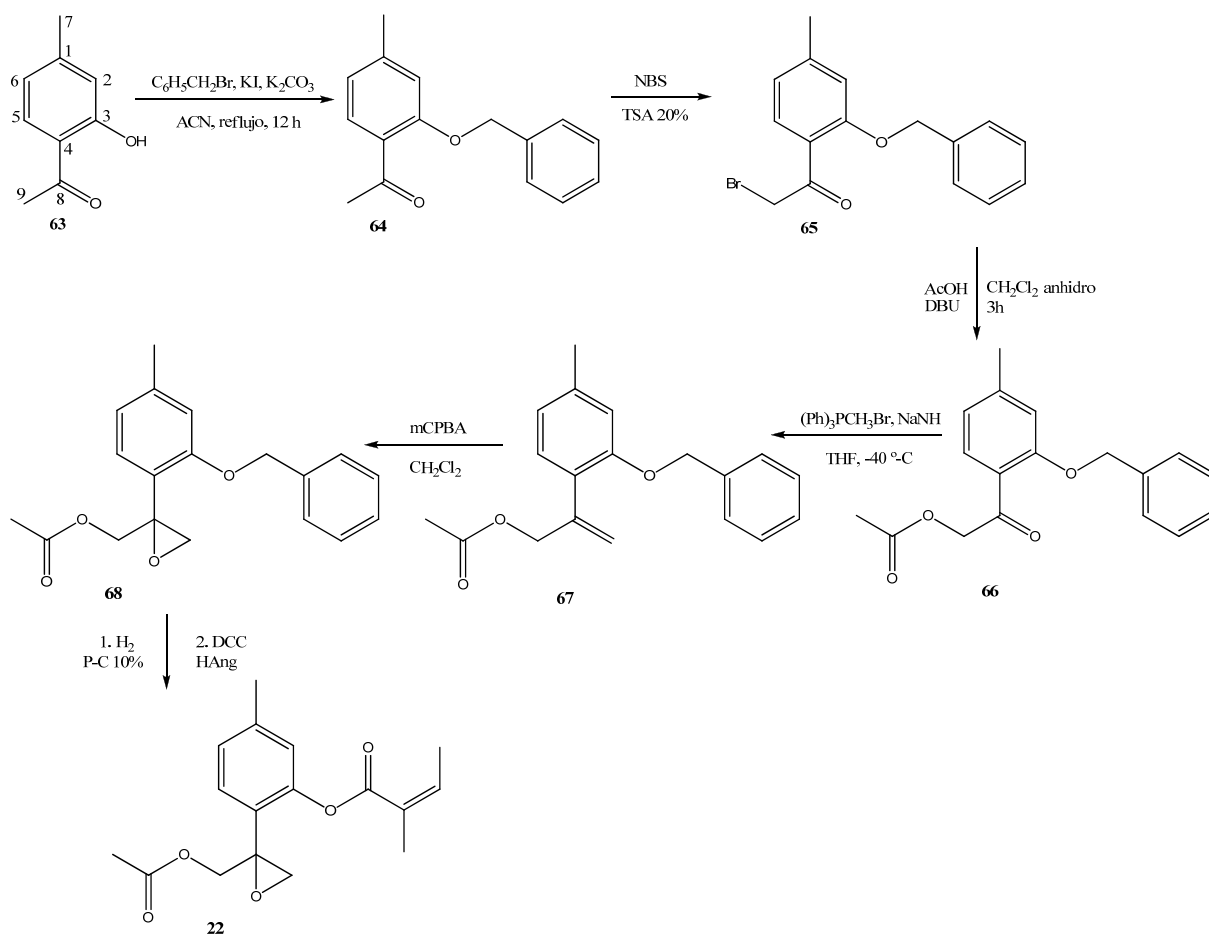
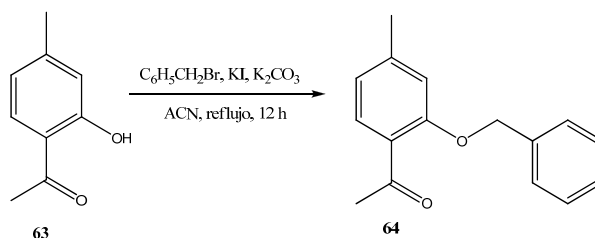


Figura 4. Propuesta de síntesis del compuesto 22.

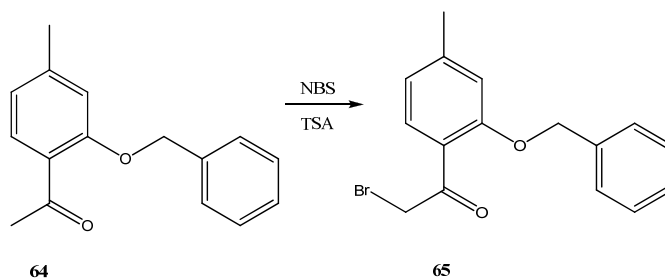
3.4.1 Síntesis de 2-benciloxi-4-metilacetofenona (64).



A un matraz bola de 500 mL provisto de una parrilla de calentamiento y un agitador magnético, se agregaron 5.0 g de 2-hidroxi-4-metilacetofenona (33.333 mmol), 6.27 g de bromuro de bencilo (36.666 mmol) y 100 mL de ACN. Posteriormente se adicionó 1.15 g de KI (6.93 mmol) y 9.30 g de K_2CO_3 (67.29 mmol) y la mezcla de reacción se mantuvo en agitación a 70 °C por 12 h. Una vez pasado este tiempo, la mezcla se filtró sobre celita, y las aguas madres resultantes se concentraron a presión reducida. El crudo de reacción obtenido se sometió a una cromatografía en columna abierta utilizando hexano-AcOEt (9:9:0.1→0:10) para obtener finalmente 7.38 g de 2-benciloxi-4-metilacetofenona (99.5% de rendimiento) de un sólido vítreo blanco (64).

2-Benciloxi-4-metilacetofenona (64). p.f 53 °C; UV (CH_2Cl_2) λ_{max} (log ϵ) 252 (4.19), 301 (3.8), 305 (3.82) nm; IR ν_{max} (KBr) 2947, 1660, 1604, 1408, 1254, 1170, 997, 698 cm^{-1} .

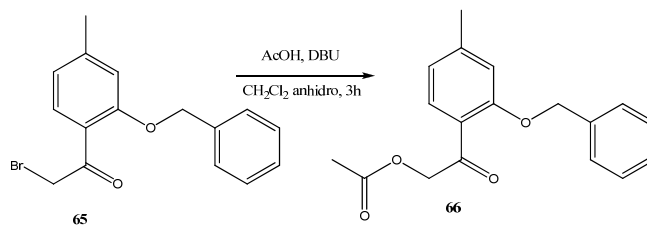
3.4.2 Síntesis de 2-benciloxi- ω -bromo-4-metilacetofenona (65).



En un mortero de porcelana con capacidad de 145 mL se colocaron 2.1 g de 2-benciloxi-4-metilacetofenona (8.333 mmol), 1.5 g de NBS (8.45 mmol) y 0.2 g de ácido *p*-toluensulfónico (TSA, 1.163 mmol) y se molieron durante 25 minutos a temperatura ambiente. Pasado este tiempo, la mezcla triturada se colocó en un matraz bola de 50 mL y se calentó hasta fundición (*c.a* 80 °C) durante 10 minutos. Posteriormente se adicionaron 15 mL de H₂O_{dd} y se extrajo con CH₂Cl₂ (15 mL x 3). La fase orgánica resultante se seco sobre Na₂SO₄ y se concentro *in vacuo*. Una vez obtenido el crudo de reacción, este se recristalizó con MeOH para dar 1.5 g de 2-benciloxi- ω -bromo-4-metilacetofenona (**65**) (70 % de rendimiento).

2-Benciloxi- ω -bromo-4-metilacetofenona (65**).** p.f 84 °C; IR (KBr) ν_{\max} 1676, 1601, 1494, 1418, 1267, 1180, 1119, 991 cm⁻¹.

3.4.3 Síntesis de ω -Acetoxi-2-benciloxi-4-metilacetofenona (**66**).



En un matraz bola de dos bocas de 50 mL provisto de un aparato de agitación magnética y un embudo de adición se colocaron 0.6 g de DBU (3.95 mmol) y 2 mL de CH₂Cl₂ anhidro y se mantuvieron en agitación y en atmósfera de N₂ por 10 minutos. Posteriormente se adicionaron 0.2 g de ácido acético (3.82 mmol) previamente disueltos en 2 mL de CH₂Cl₂ anhidro. Esta mezcla se mantuvo bajo atmósfera de N₂ a temperatura ambiente y en agitación por 30 minutos. Posteriormente se adicionaron 1.3 g de 2-benciloxi- ω -bromo-4-metilacetofenona (3.76 mmol) previamente disueltos en 5 mL de CH₂Cl₂ anhidro. La reacción se mantuvo en agitación y a temperatura ambiente durante 3 horas. Después de este tiempo, el crudo de reacción se concentro

in vacuo y se purificó por CCA utilizando gel de sílice (35 g) y mezcla de elución CH₂Cl₂-hexano (9:1), para obtener 0.9 g de ω -Acetoxi-2-benciloxi-4-metilacetofenona (**66**) (80% de rendimiento).

ω -Acetoxi-2-benciloxi-4-metilacetofenona (66). p.f 73 °C; UV (CH₂Cl₂) λ_{\max} (log ϵ) 253 (4.14), 308 (3.7) nm; IR (KBr) ν_{\max} 1735, 1678, 1605, 1404, 1236, 1172, 815 cm⁻¹.

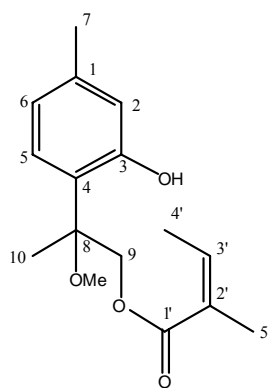
3.5 Búsqueda bibliográfica.

La búsqueda bibliográfica se realizó en las bibliotecas digitales científicas Scopus, ScienceDirect, Bi-Di UNAM, TesiUNAM, SerieUNAM, MOBOT, Science Finder, Reaxis y textos especializados en el tema.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El siguiente trabajo describe, en primer lugar, el aislamiento del compuesto natural **29** el cual se aisló del extracto orgánico CH₂Cl₂:MeOH (1:1). La elucidación de su estructura se realizó utilizando métodos espectroscópicos y espectrométricos (espectrometría de masas y polarimetría). Los resultados de estos análisis s

presentan a continuación.



29

El compuesto **29** se aisló como un aceite cristalino soluble en CH₂Cl₂. La fórmula molecular del compuesto se estableció como C₁₆H₂₂O₄ con base en el análisis de su espectro de masas en donde se encontró el ión molecular en una relación de *m/z* de 278.

En el espectro de RMN protónica se aprecia el patrón típico de un grupo fenilo 1,3,4-trisustituido, característico del anillo aromático del timol y sus derivados. También se detecta la presencia de un residuo de angelato (Nathan, *et al.*, 1984) y un grupo metoxilo los cuales presentan correlación en el HMBC con los carbonos en la posición 8 y 9 respectivamente.

En el infrarrojo se observan bandas características para los siguientes grupos funcionales: hidroxilo en 3334, ésteres en 1719 y para anillo aromático en 1629, 1454 cm⁻¹.

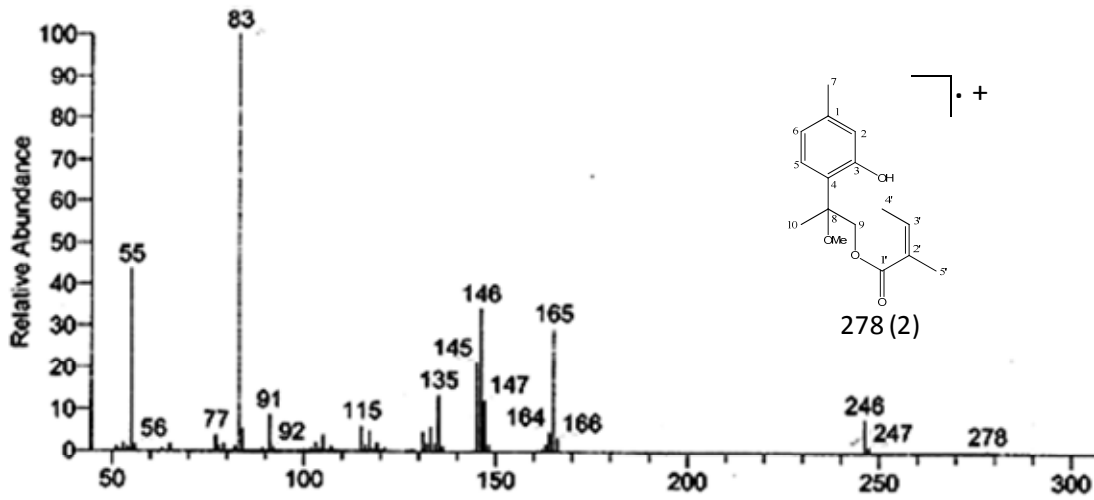


Figura 5. Espectro de EM-IE del compuesto 29

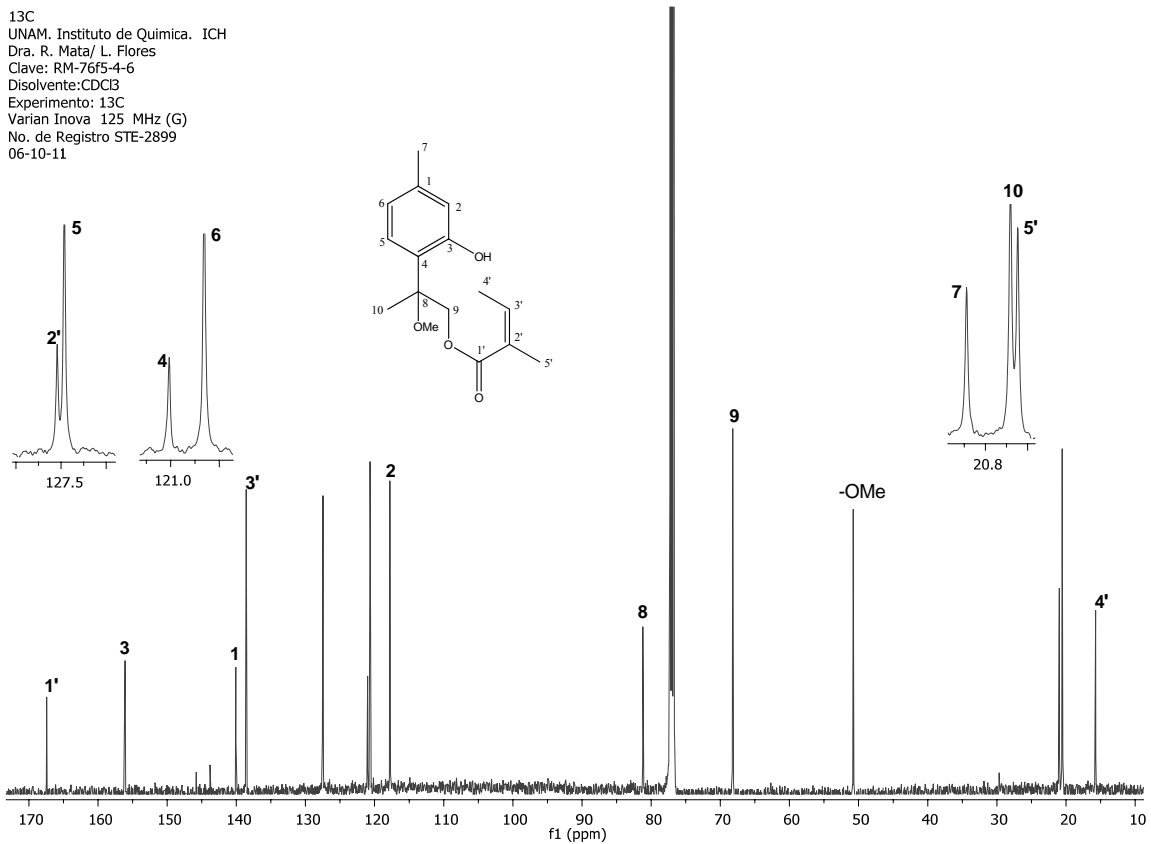


Figura 6. Espectro de RMN-C¹³ (CDCl₃, 125 MHz) para el compuesto 29.

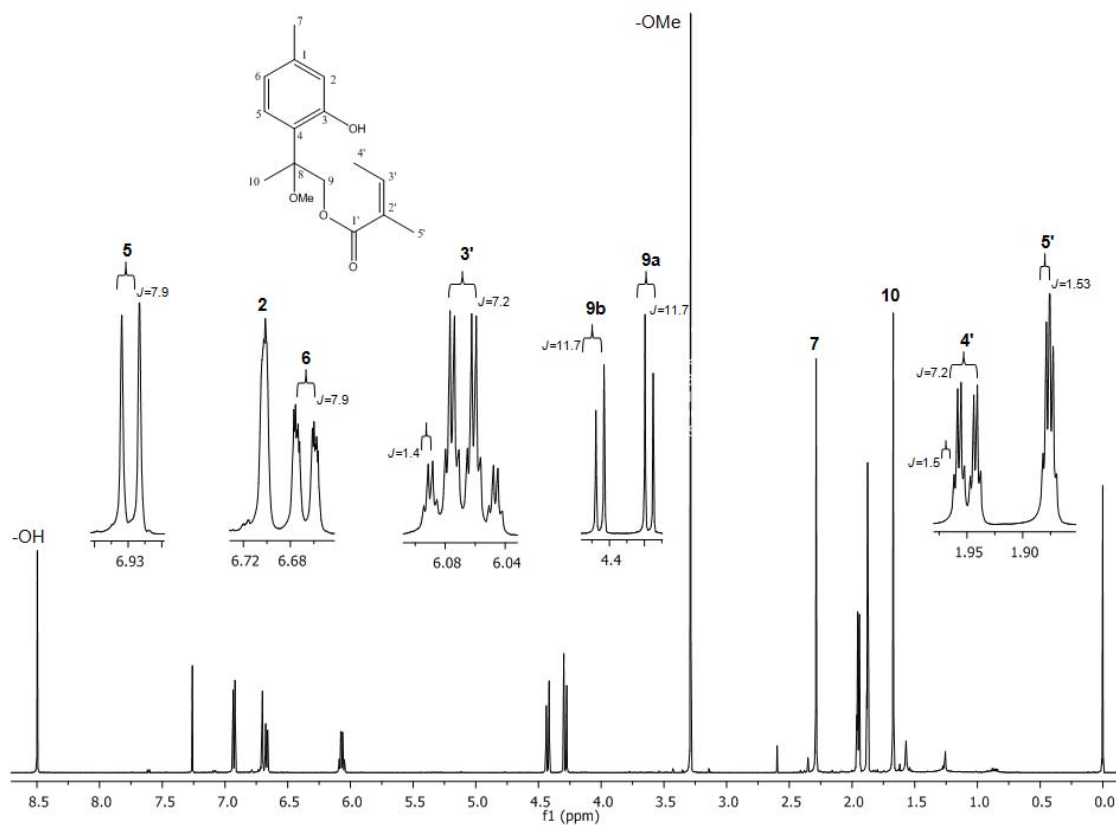


Figura 7. Espectro de RMN- ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) para el compuesto 29.

Tabla 6. Datos de RMN (^1H ; 500 MHz y ^{13}C ; 125 MHz) para el compuesto 29.

No.	δ_{C} ppm	δ_{H} (J en Hz) ppm	DEPT
1	140.1	-	Cq
2	117.8	6.70 sa	CH
3	156.1	-	Cq
4	121.0	-	Cq
5	127.5	6.93 dd (7.9)	CH
6	120.7	6.67 d (7.9)	CH
7	21.0	3.29 s	CH_3
8	81.2	-	Cq
9	68.2	a: 4.29 d (11.7) b: 4.43 d (11.7)	CH_2
10	20.6	1.67 s	CH_3
1'	167.4	-	Cq
2'	127.5	-	Cq
3'	138.6	6.07 qq (7.2)	CH
4'	15.7	1.95 dq (7.2)	CH_3
5'	20.5	1.88 dd	CH_3
OMe	50.8	3.29 s	CH_3
OH	-	8.50 s	-

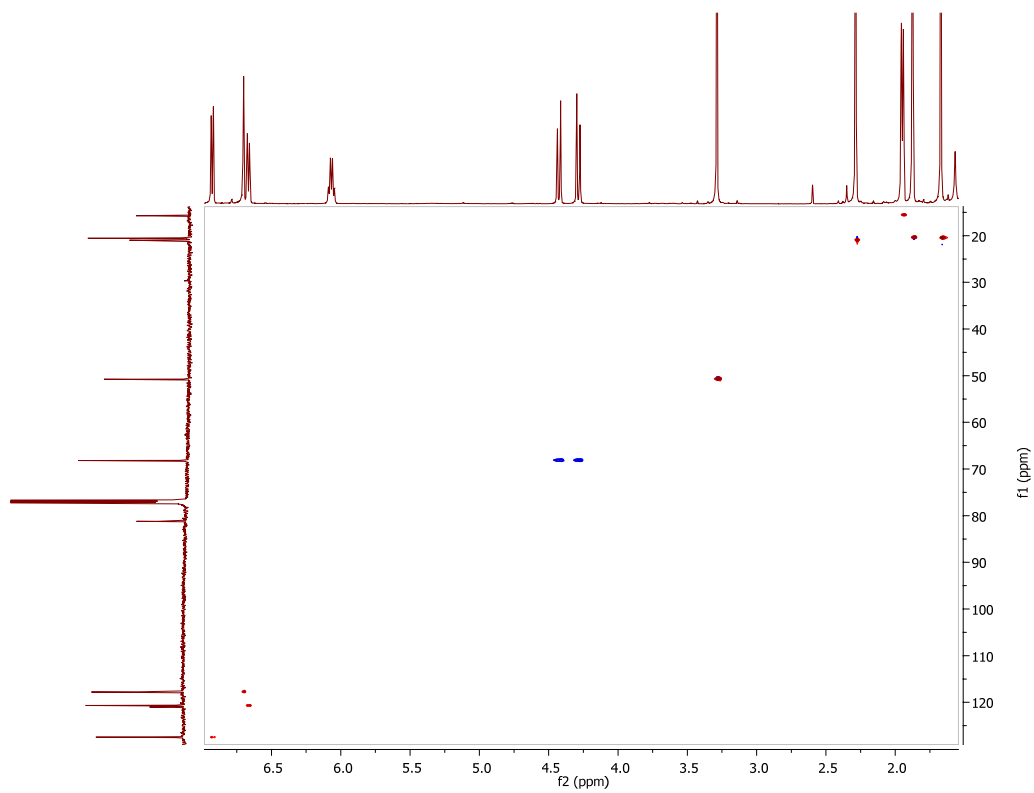


Figura 8. Espectro de HSQC para el compuesto **29**

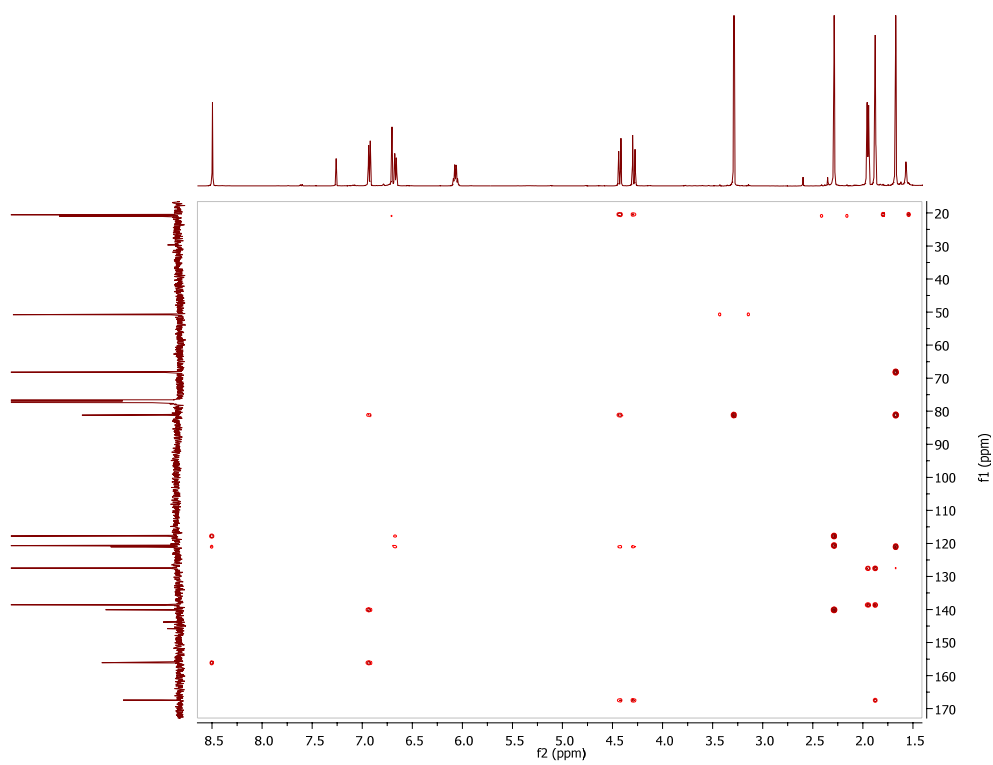


Figura 9. Espectro de HMBC para el compuesto **29**

Con base en los resultados presentados se puede concluir que la estructura de **29** corresponde al 8-metoxi-9-angeloil timol.

Por lo que respecta a los resultados de polarimetría, el compuesto presentó una rotación específica de -0.006. Un valor muy similar ($[\alpha]_D^{200}$; c 0.97, CHCl₃) presentó este mismo compuesto aislado por primera vez de *E. fortunei* (ver tabla 1: Tori, *et al.*, 2001). En esa ocasión los autores analizaron el compuesto por Cromatografía de Líquidos de Alta Eficiencia (CLAE) utilizando una columna quirál (quiracel OD-H) y detectaron que **29** existe como mezcla racémica, lo que hace suponer que podría ser un artefacto formado durante el aislamiento con el uso de metanol (Tori, *et al.*, 2001). Este mismo compuesto también ha sido reportado para las partes aéreas de *E. cannabinum*, en las cuales, los autores también reportan el uso de metanol como disolvente de extracción (Chen, *et al.*, 2011).

Otro de los objetivos planteados del siguiente proyecto consistió en la síntesis del angelato de 8,9-epoxi-10-acetoxitimilo (**22**) uno los principios activos de *H. schaffneri* (Angeles-López, *et al.*, 2010; Pérez-Vásquez, *et al.*, 2011).

La ruta de síntesis que se planteó se esquematiza en la Figura 10 y esta tiene como estrategia principal una reacción de Wittig. Los resultados obtenidos se presentan y discuten a continuación.

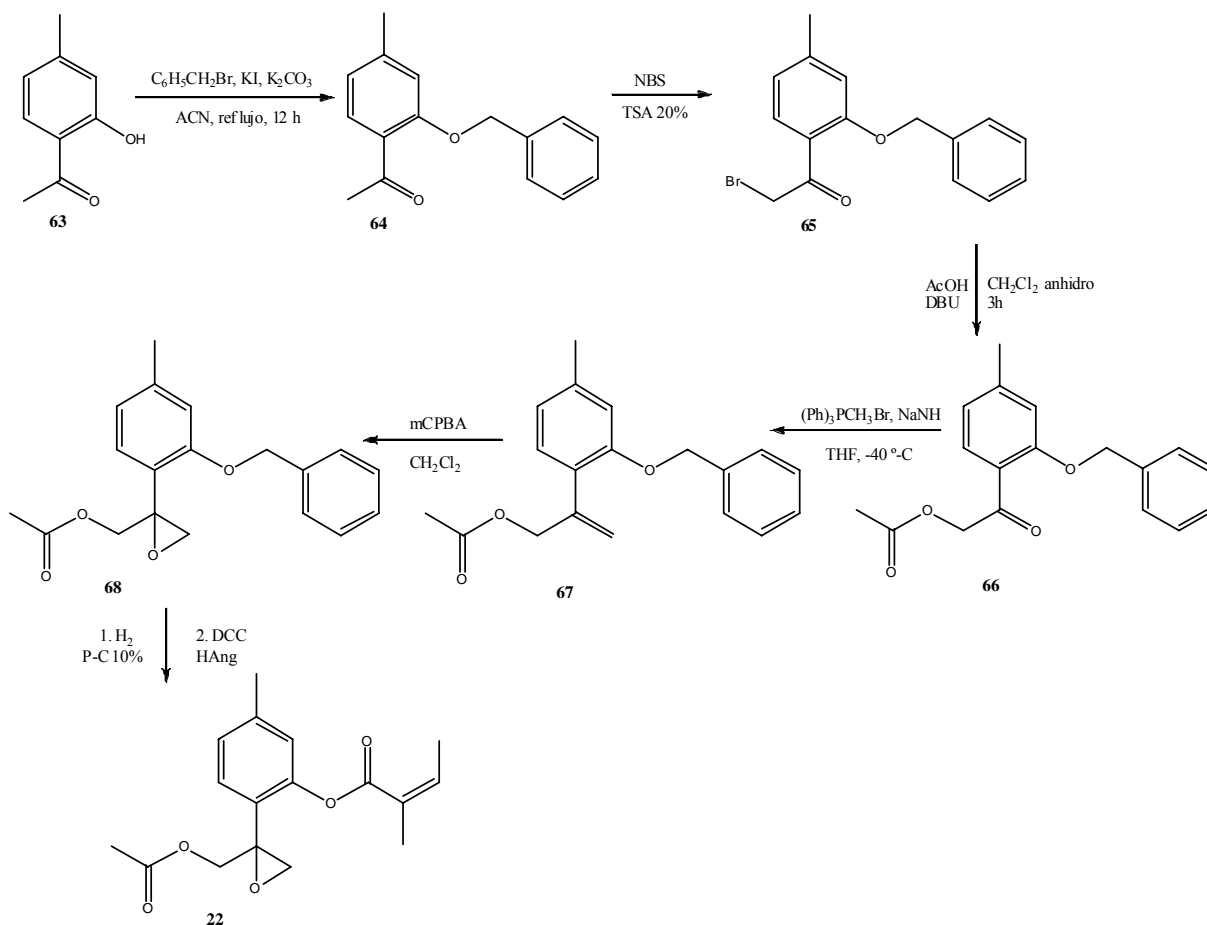
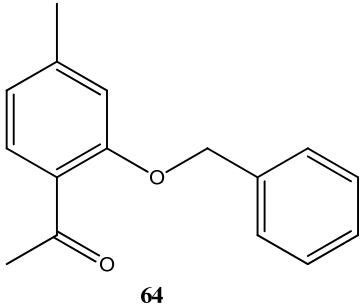


Figura 10. Propuesta de síntesis del compuesto **22**

La síntesis inicia con la protección del grupo hidroxilo del fenol **63**, esto con la finalidad de aumentar la regioselectividad en la bromación hacia la posición α al carbonilo. Se utilizó como grupo protector el bencilo y como disolvente ACN y la reacción solo duró 8 horas, además de que no se trabajó bajo condiciones anhidras (Wang *et al.*, 2006). Anteriormente, Pérez-Vásquez y colaboradores y Montiel y colaboradores (Pérez-Vásquez, *et al.*, 2005; Montiel *et al.*, 2010) ya habían reportado la síntesis del compuesto **64** en condiciones de reacción muy similares, pero con rendimientos menores al obtenido en este ensayo (Tabla 7).

Tabla 7. Condiciones de reacción reportadas para la síntesis de **64**.

 64	
Rendimiento (%)	Condiciones y referencias
^a 99.5	^b C ₆ H ₅ CH ₂ Cl, KI, K ₂ CO ₃ , en ACN, t=8 h, T=70 °C (condiciones ensayadas en este trabajo)
90.0	C ₆ H ₅ CH ₂ Br, KOH en THF, t=12 h, T=20 °C, N ₂ . (Montiel, <i>et al.</i> , 2010)
83.9	C ₆ H ₅ CH ₂ Br, KI, K ₂ CO ₃ en acetona, t=120 h, T=25 °C, N ₂ . (Pérez-Vásquez, <i>et al.</i> , 2005)

^aPromedio de todas las repeticiones, ^badaptadas de Wang, *et al.*, 2006.

Para generar el intermediario bromado **65** se realizó una halogenación bajo condiciones de reacción libre de disolvente (SRFC). Las reacciones SRFC son un avance importante en la realización de síntesis ecológicas en las cuales ya no existe la presencia de disolventes orgánicos volátiles y se disminuye la generación de residuos tóxicos. Se utilizó como reactivo halogenante a la NBS ya que en general, las transformaciones promovidas con *N*-halosuccinimidas pueden ser controladas con diferentes condiciones de reacción, ya sea con catalizadores, moduladores, disolventes o con SRFC. Se utilizó ácido *p*-toluensulfónico (PTSA) como catalizador ácido (Pravst, *et al.*, 2008) e inicialmente los reactivos se mezclaron totalmente moliéndolos en un mortero, pero para que la reacción procediera se debió calentar a temperatura de fundición (Tabla 8) ya que según Pravst y colaboradores (Pravst, *et al.*, 2008) esta reacción procede vía un reconocimiento molecular, previa a una preorganización (PO) de los reactivos utilizados. El tiempo de fundición también fue decisivo en la reacción ya que conforme avanza el tiempo, va aumentando la cantidad de producto dibromado, por lo que el tiempo de fundición establecido fue de 15 minutos.

Tabla 8. Condiciones de reacción ensayadas para la síntesis de **65**.

Proporción (%) de TSA	T(°C) de molienda	t(h) de fundición	T (°C) de fundición	Rendimiento
10	Ambiente	3h	20 °C	No procedió
10	20 °C	3h	20 °C	Bromación en el anillo
20	Ambiente	10 min	80 °C	56%
20	Ambiente	15 min	80 °C	70%

Una vez obtenido el compuesto **65**, el último paso que se realizó en este proyecto fue la síntesis del derivado esterificado **64**. Este se realizó utilizando DBU y ácido acético para finalmente obtener de manera cuantitativa el producto esterificado **66**.

Es importante mencionar que se intentó sintetizar el producto **67** para primeramente generar el intermediario **68** y posteriormente generar el epóxido (**22**). Para esto, se planteó la síntesis del intermediario **67** mediante condiciones de reacción de una síntesis de Wittig, aunque también existen reportadas otras rutas de síntesis que podrían ser una buena opción para la obtención del intermediario **67** (Figura 11).

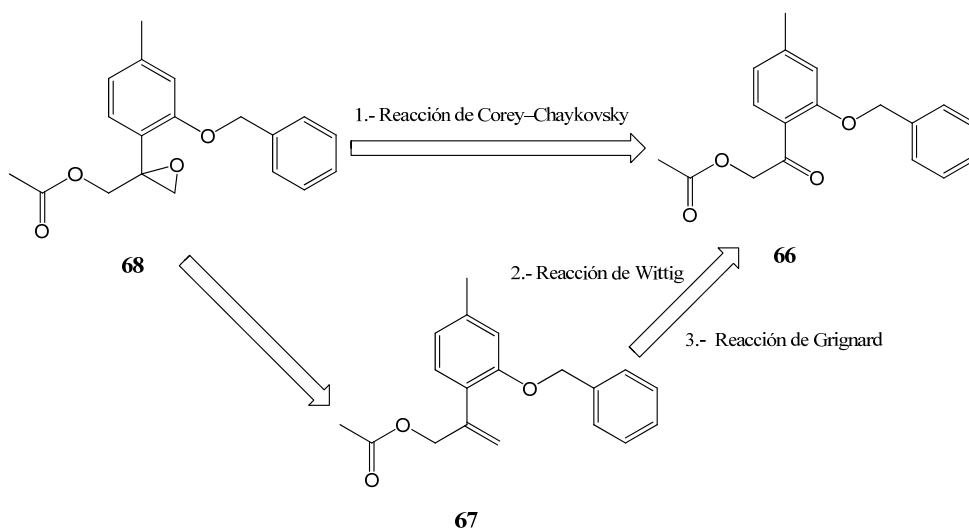


Figura 11. Análisis retrosintético para el compuesto **68**

De todas las condiciones de reacción reportadas para realizar una reacción de Wittig ninguna tuvo éxito para la generación del producto deseado (Figura 12). Posiblemente, uno de los inconvenientes sea la presencia del éster de acetato en la posición 9 del compuesto **66** ya que tal vez reacciona en la etapa inicial con el NaNH.

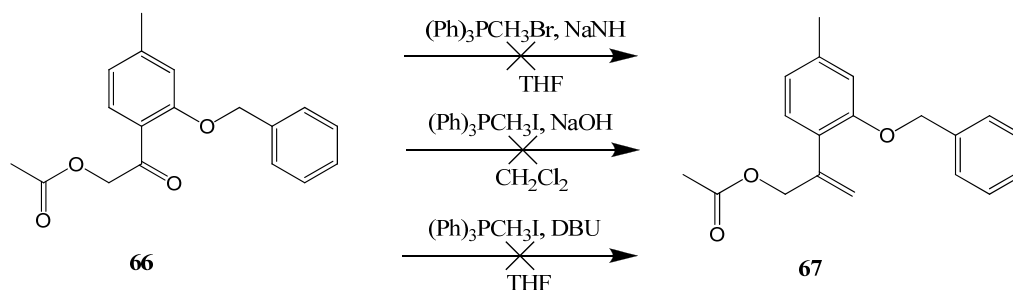


Figura 12. Condiciones ensayadas de la reacción de Wittig para generar **67**.

5. CONCLUSIONES

-El estudio químico de una de las fracciones primarias mayoritarias obtenida a partir del extracto orgánico de las partes aéreas de *H. schaffneri* condujo a la obtención del compuesto **29**, el cual se caracterizó mediante la aplicación de métodos espectroscópicos y espectrométricos. Este compuesto se logró aislar con muy buen rendimiento y representa el décimo derivado del timol que se reporta para la especie.

-Se logró avanzar en la síntesis del compuesto **22** para lo cual se realizó una protección del grupo fenol, una bromación y una acetilación. Todas las reacciones fueron optimizadas y representan el 50 % del total de toda la secuencia sintética planteada.

6. PERSPECTIVAS

- Evaluar la actividad antimicrobiana y antinociceptiva del compuesto **29**.
- Completar la síntesis del compuesto **22** ensayando una reacción de Grignard y/o una de Corey-Chaykovsky.

7. REFERENCIAS

- Ahmed A. (1992).** Farnesol and thymol derivatives from *Asteriscus pygmeus*. *Journal of Natural Products* **55**, 824-827.
- Angeles-López G., Pérez-Vásquez A., Hernández-Luis F., Déciga-Campos M., Bye R., Linares E., Mata R. (2010).** Antinociceptive affect of extracts and compounds from *Hofmeisteria schaffneri*. *Journal of Ethnopharmacology* **131**, 425-432.
- Balleza J.J. y Villaseñor J. L. (2002).** La familia Asteraceae en el estado de Zacatecas (México). *Acta Botánica Mexicana* **59**, 50-69.
- Bohlmann F., Natu A.A., Kerr K. (1978).** Naturally occurring terpene derivatives. Part 185. Thymol derivatives from *Neurolaena* species. *Phytochemistry* **18**, 489-490.
- Bohlmann F., Jakupovic J. (1979).** Naturally occurring terpene derivatives. Part 163. Two new sesquiterpene lactones and a new sesquiterpene acid from *Helenium puberulum*. *Phytochemistry* **18**, 131-133.
- Bohlmann F., Dhar A.K. (1980).** New thymol derivatives from *Doronicum hungaricum*. *Phytochemistry* **19**, 1850-1852
- Bohlmann F., Jakupovic J., Robinson H., King R.M. (1980).** Naturally occurring terpene derivatives. New diterpenes from *Schkuhria* species. *Phytochemistry* **19** 881-884.
- Chen J.J., Yun-Chen T., Tsong-Long H., Tai-Chi W. (2011).** Tymol, Benzofuranoid, and Phenylpropanoid Derivatives: Anti-inflammatory Constituents from *Eupatorium cannabinum*. *Journal Natural Products* **74**, 1021-1027.
- González G.A., Bermejo B.J., Estevez R.F. Yanes H.A., Espiñeira J., Joseh-Nathan P. (1986).** Thymol derivatives from *Schizogyne gleberrima*. *Phytochemistry* **25**, 2889-2891.
- González G.A., Bermejo B.J., Yanes H.A., Diaz J., Rodriguez E.M. (1989).** Chromenes and benzofurans from *Ageratina glechonophylla*. *Phytochemistry* **28**, 2520-5222
- González G.A., Hernandez Y.C., Bermejo B.J. (1992).** Thymol derivatives and a chromene from *Ageratina glechonophylla*. *Phytochemistry* **31**, 714-716.
- Hai-Xia J., Ya L., Jing P., Kun G. (2006).** Terpenoids from *Eupatorium fortunei* Turcz. *Helvetica Chimica Acta* **89**, 558-566.
- Hai-Xia J., Liu Q., Gao K. (2008).** Benzofuran derivatives from *Eupatorium fortunei*. *Natural Product Research* **22**, 937-941.
- Hengxing L., Bao F., Dong X., Tan R., Zhang C., Lu Q., Cheng Y. (2007).** Antibacterial thymol derivatives isolated from *Centipeda minima*. *Molecules* **12**, 1606-1613.

- Herz W.**, (2001). Chemistry of the Eupatoriinae. *Biochemical Systematics and Ecology* **29**, 1115–1137.
- Huoqiang H.**, Ninghua T., Guangzhi Z., Changjiu J., Hongjin H., Junju X., Yumei Z. (2009). New cytotoxic thymol derivatives from *Inula helianthus-aquatica* (compositae). *Yunnan Zhiwu Yanjiu* **31**, 190-192
- Kruk I.**, Michalska T., Lichszteid K., Kladna A., Aboul-Enein H. Y. (2000). The effect of thymol and its derivatives on reactions generating reactive oxygen species. *Chemosphere* **41**, 1059-1064.
- Maldonado E.**, Márquez L. C., Ortega A. (1992). A thymol derivative from *Calea nelsonii*. *Phytochemistry* **31**, 2527-2528.
- Mathela C.S.**, Tiwari, A., Padalia, R.C., Chanotiya, C.S. (2008). Chemical composition of *Inula cuspidata* C.B. Clarke. *Indian Journal of Chemistry* **47B**, 1249-1253.
- Monache G.D.**, Monache F.D., Becerra J., Silva M., Menichini F. (1984). Thymol derivatives from *Eupatorium glechonophyllum*. *Phytochemistry* **23**, 1947-1950.
- Montiel L.E.**, Zepeda L.G., Tamariz J. (2010). Efficient total synthesis of racemic bisabolane sesquiterpenes curcuphenol and xanthorrhizol starting from substituted acetophenones. *Helvetica Chimica Acta* **93**, 1261-1273.
- Nathan J.P.**, Wesener J.R., Günther H. (1984). A two-dimensional NMR study of angelic and tiglic acid. *Organic Magnetic Resonance* **22**, 190-191
- Pacciaroni A.**, Sosa V., Espinar L., Obertij. (1988). Acyl glucopyranosides and other constituents from *Schkuhria multiflora*. *Anales de la Asociacion Quimica Argentina* **86**, 256-260
- Paolini J.**, Muselli A., Bernardini A.F., Bighelli A., Casanova J., Costa J., (2007). Thymol derivatives from essential oil of *Doronicum corsicum* L. *Flavour and Fragrance Journal* **22**, 479-487
- Passreiter C.M.**, Matthiesen U., Willuhn G. (1998). 10-acetoxi-9-cloro-8,9-dehidrothymol and further thymol derivatives from *Arnica sachalinensis*. *Phytochemistry* **49**, 777-781.
- Passreiter C.M.**, Willuhn G., Weber H., Schleifer K-J. (1999). A dimeric thymol derivative from *Arnica sachalinensis*. *Tetrahedron* **55**, 2997-3006.
- Pérez-Vásquez A.**, Reyes A., Linares E., Bye R., Mata R. (2005). Phytotoxins from *hormeisteria schaffneri*: Isolation and syntesis of 2'-(2''-hidroxy-4''-methylphenyl)-2'-oxoethyl acetate. *Journal of Natural Products* **68**, 959-962.

- Pérez-Vásquez A.**, Linares E., Bye R., Cerda-García-Rojas C., Mata R. (2008). Phytotoxic activity and conformational analysis of thymol analogs from *Hofmeisteria schaffneri*. *Phytochemistry* **69**, 1339-1347.
- Pérez-Vásquez A.**, Capella S., Linares E., Bye R., Angeles-López G., Mata R. (2010). Antimicrobial activity and chemical composition of the essential oil of *Hofmeisteria schaffneri*. *Pharmacy and Pharmacology* **63**, 579-586.
- Pravst I.**, Zupan M., Stavber S. (2008). Halogenation of ketones with N-halosuccinimides under solvent-free reaction conditions. *Tetrahedron* **64**, 5191-5199.
- Proksch P.**, Wollenweber E., Rodriguez E. (1983). Flavonoides from the leaf resin of *Hymeoclea salsola* T. & G. (Asteraceae). *Z Naturforsch* **38**, 668- 669.
- Romo de Vivar A.**, Perez-Castorena A.L. Arciniegas A., Villasenor J.L. (2007). Secondary metabolites from Mexican species of the tribe Senecioneae (Asteraceae). *Journal of the Mexican Chemical Society* **51**,160-172.
- Sareedenchai, V.**, Zidorn C. (2010). Flavonoids as chemosystematic markers in the tribe Cichorieae of the Asteraceae. *Biochemical Systematics and Ecology* **38**, 935-957.
- Shailili M.**, Moreno M., Crescente O.E.V., Ortiz S.M. y Quintero M. (2006). Composición Química y actividad tóxica del aceite esencial de *Simsia pudescens*. *Interciencia* **31**, 745-747.
- Stojakowska A.**, Malarz J., Kisiel W. (2004). Thymol derivatives from a root culture of *Inula helenium*. *Journal of Biosciences* **59**, 606-608.
- Stojakowska A.**, Michalska K., Malarz J. (2006). Simultaneous quantification of eudesmanolides and thymol derivatives from tissues of *Inula helenium* and *I. royleana* by reversed-phase high-performance liquid chromatography. *Phytochemical Analysis* **17**, 157-161.
- Stojakowska A.**, Malarz J., Zubek S., Turnau K., Kisiel W. (2010). Terpenoids and phenolics from *Inula ensifolia*. *Biochemical Systematics and Ecology* **38**, 232-235
- Takashi Y.**, Kazuko M., Guangxin H. (1995). Inulavosin, a new thymol dimer with piscicidal activity from *Inula nervosa*. *Heterocycles* **41**, 1923-1926.
- Thi-Diem-Trang N.** (1993). New acetophenone and thymol derivatives from *Eupatorium stoechadosmum*. *Planta Medica* **59**, 480-481.
- Tori M.**, Ohara Y., Nakashima K., Sono M. (2001). Thymol derivatives from *Eupatorium fortunei*. *Journal of Natural Products* **64**, 1048-1051.

- Villaseñor J. L. (1990).** The genera of Asteraceae endemic to Mexico and adjacent regions. *Aliso* **12**, 685-692.
- Villaseñor J. L. (2003).** Diversidad y distribución de las Magnoliophyta de México. *Interciencia* **28**, 160-167
- Waizel-Bucay J., Waizel-Haiat S. (2009).** Antitussive plants used in Mexican traditional medicine. *Pharmacognosy Reviews* **3**, 22-36.
- Wang C., Liu J., Ji Y., Zhao J., Li L., Zhang H. (2006).** Total Synthesis of (±)-Paeonilide. *Organic Letters* **8**, 2479-2481.
- Weremczuk-Jeżyna I., Kisiel W., Wysokinska H. (2006),** Thymol derivatives from hairy roots of Arnica Montana. *Plant Cell Reports* **25**, 993-996.
- Weremczuk-Jeżyna I., Wysokinska H., Kalemba D. (2011).** Constituents of the essential oil from hairy roots and plant roots of *Arnica montana*. *Journal Essent Oil Research* **23**, 91-97.
- Ya-Ching S., Kuang-Liang L., Yao-Haur K., Ashraf T.K. (2005).** Cytotoxic sesquiterpene lactones from *Eupatorium kiirunense*. *Journal Natural Products* **68**, 745-750.
- Yoshida T., Mori K., He G. (1995).** Inulavosin, a New Thymol Dimer with Piscicidal Activity from *Inula nervosa*. *Heterocycles* **41**, 1923-1926.
- Zee O.P., Kim D.K., Lee K.R. (1998).** Thymol derivatives from *Carpesium divaricatum*. *Archives Pharmaceutical Research* **21**, 618-620.
- Zhao J., Li Y., Liu Q., Gao K. (2010).** Antimicrobial activities of some thymol derivatives from the roots of *Inula hupehensis*. *Food Chemistry* **120**, 512-516.
- Zidorn C. (2008).** Sesquiterpene lactones and their precursors as chemosystematic markers in the tribe Cichorieae of the Asteraceae. *Phytochemistry* **69** 2270-2296.

8. ANEXOS

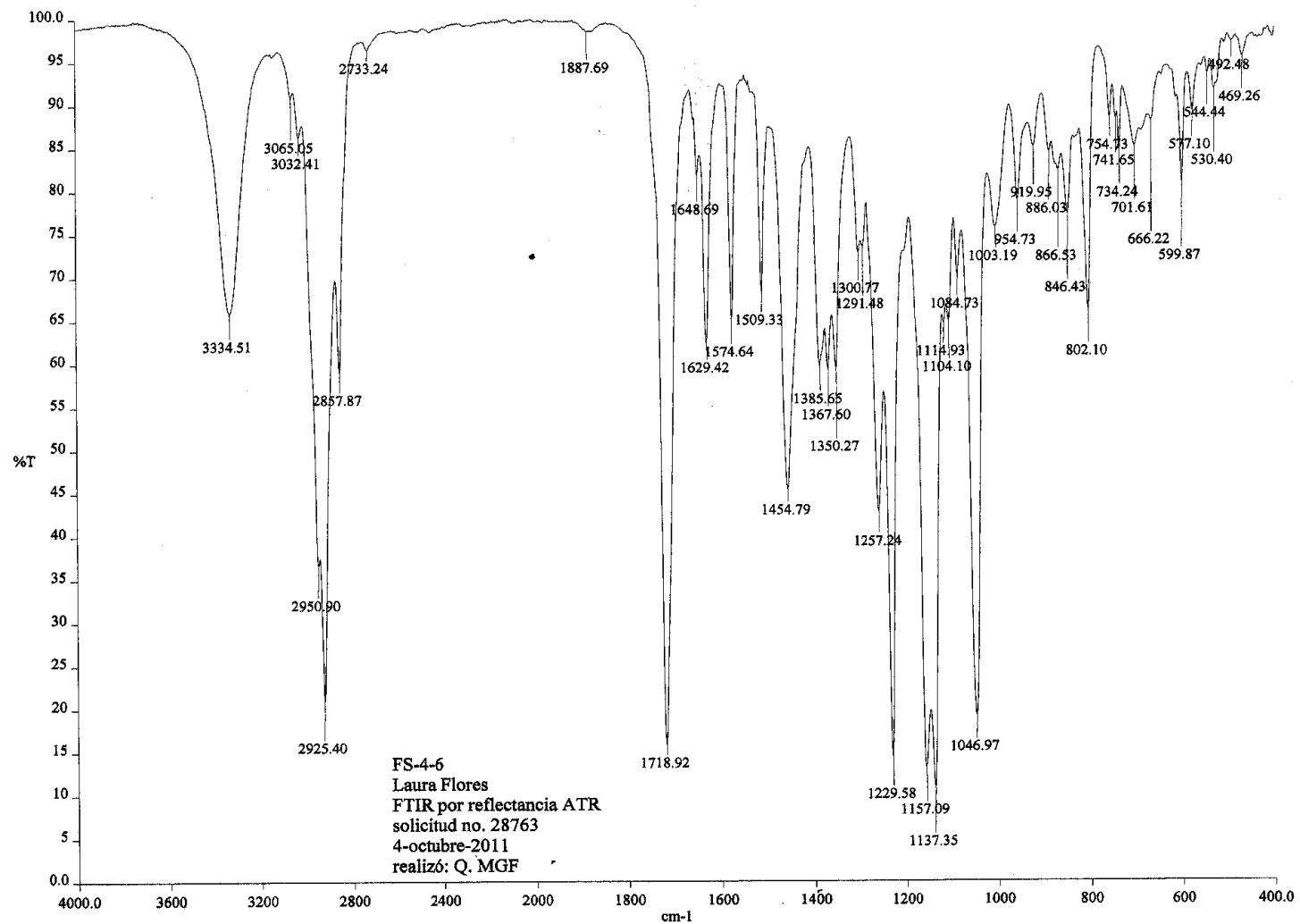


Figura 13. Espectro de UV para el compuesto 29

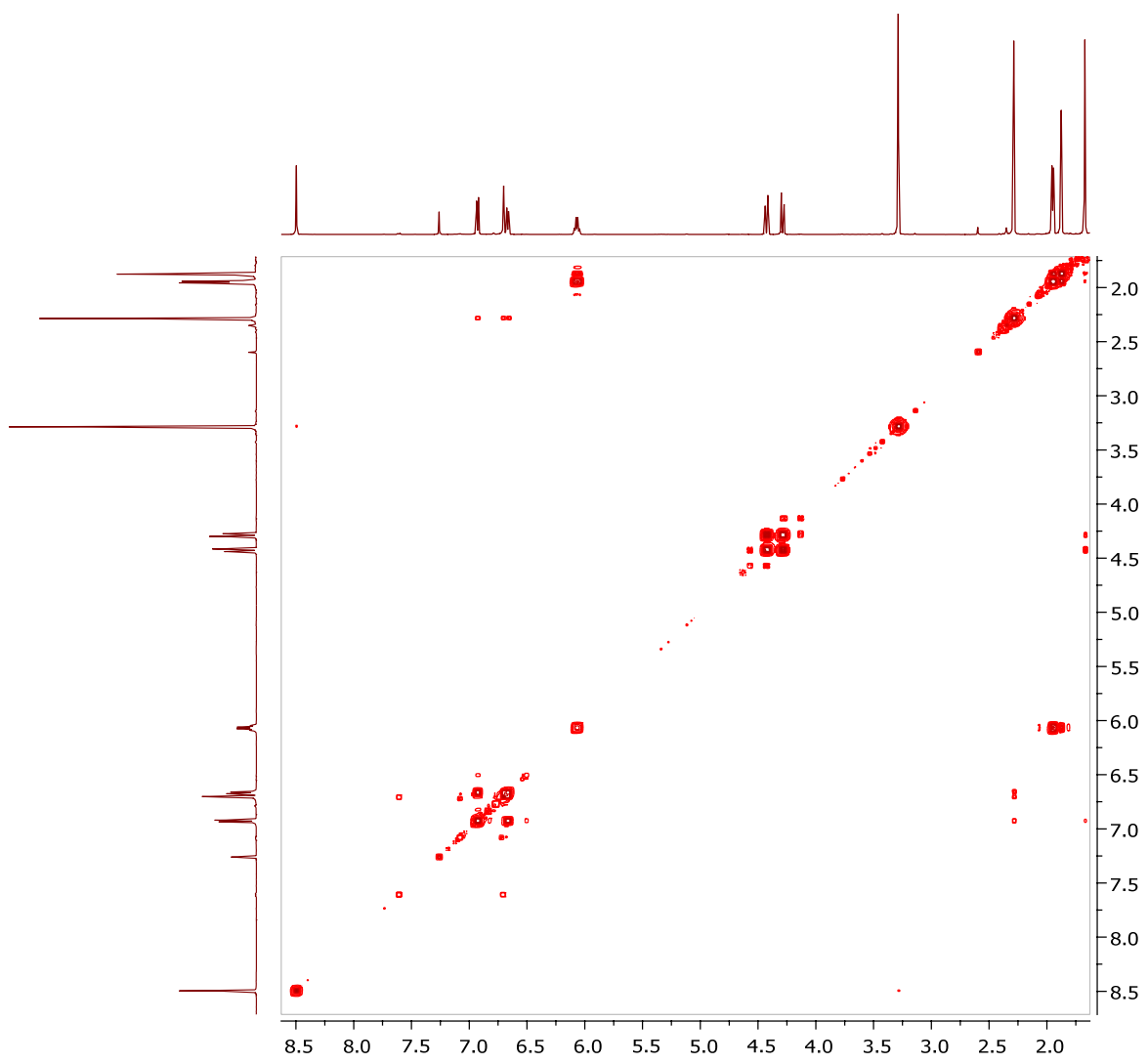


Figura 14. Espectro de COSY para el compuesto **29**

DEPT 135
UNAM. Instituto de Química. ICH
Dra. R. Mata/ L. Flores
Clave: RM-76f5-4-6
Disolvente: CCl₃
Experimento: DEPT
Varian Inova 125 MHz (G)
No. de Registro STE-2899
06-10-11

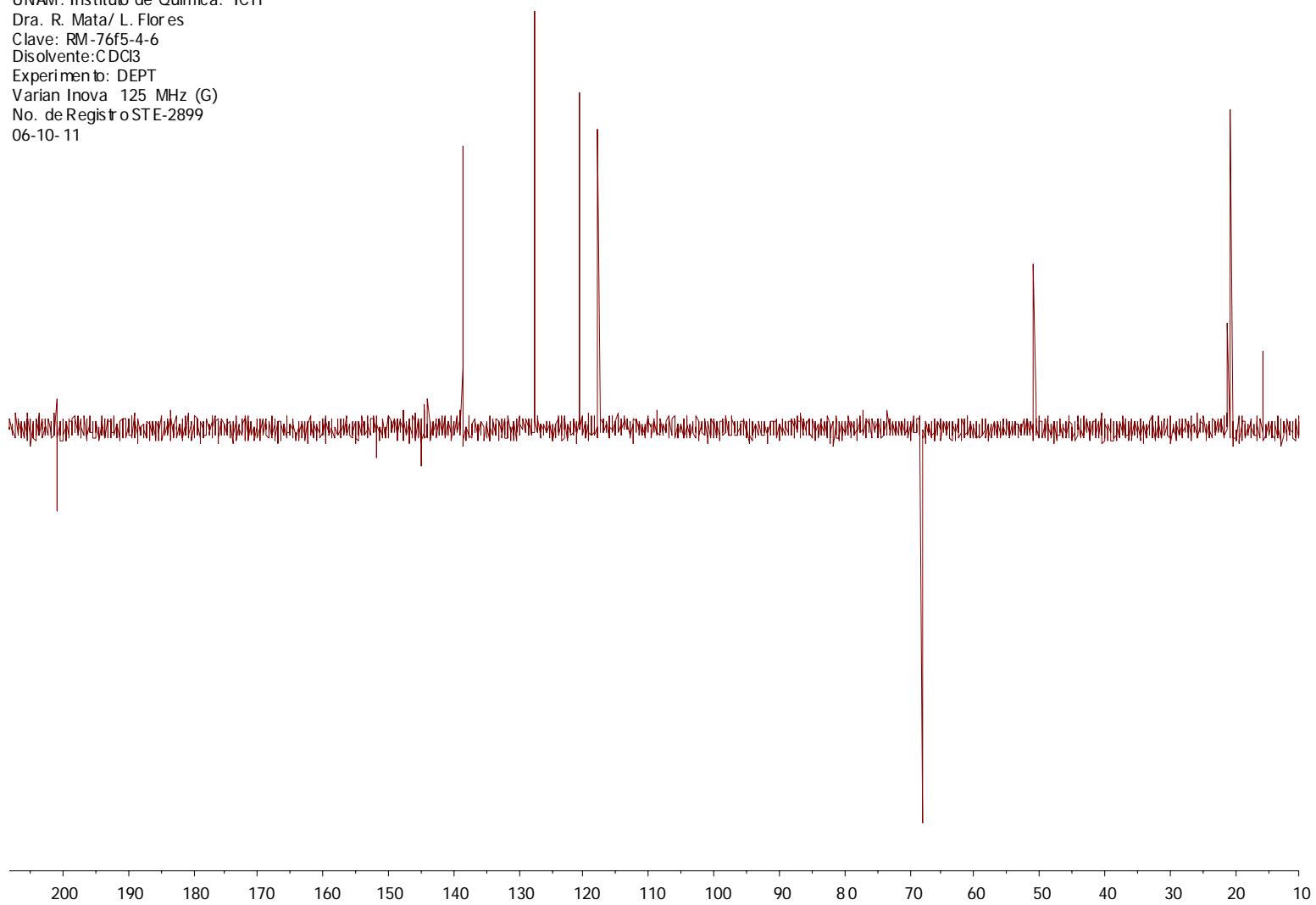


Figura 15. Espectro de DEPT para el compuesto 29