



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DEL ESTADO DE HIDALGO**

INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA
ÁREA ACADÉMICA DE QUÍMICA
DOCTORADO EN QUÍMICA

**Estudio químico de la parte aérea de *Stevia
pilosa* y *Stevia tomentosa*. Obtención de
derivados de crisina**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

DOCTOR EN QUÍMICA

P R E S E N T A:

M. en Q. ALEJANDRO VALDEZ CALDERÓN

ASESOR:

DR. J. JESÚS MARTÍN TORRES VALENCIA



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO
INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA

DIRECCIÓN

M. en C. Julio César Leines Medécigo
Director de Administración Escolar
Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo
P R E S E N T E

Por este conducto le comunico que el jurado asignado al pasante del Doctorado en Química, **Alejandro Valdez Calderón**, quien presenta el trabajo "Estudio químico de la parte aérea de *Stevia pilosa* y *Stevia tomentosa*. Obtención de derivados de crisina", después de revisar el trabajo en reunión de sinodales, ha decidido autorizar la impresión del mismo, una vez realizadas las correcciones que fueron acordadas.

A continuación se anotan las firmas de conformidad de los integrantes del jurado:

PRESIDENTE: Dr. José Roberto Villagómez Ibarra (AAQ)

SECRETARIO: Dra. Susana Rojas Lima (AAQ)

VOCAL: Dr. J. Jesús Martín Torres Valencia (AAQ)

SUPLENTE: Dr. Juan Antonio Gayosso De Lucio (ICSA)

Sin otro particular, reitero a Usted la seguridad de mi atenta consideración.

ATENTAMENTE
"Amor, Orden y Progreso"

Mineral de la Reforma, Hgo. a 24 de noviembre de 2014

Dr. Orlando Avila Pozos
Director del ICBI
avilap@uaeh.edu.mx



EMPRESA
SOCIALMENTE
RESPONSABLE

Ciudad Universitaria Carretera Pachuca – Tulancingo
Km. 4.5. s/n Col. Carboneras C.P. 42184
Mineral de la Reforma, Hidalgo. México.
Tel: (771)7172000 ext. 2230, 2231



AGRADECIMIENTOS:

A DIOS por darme la oportunidad de seguir en este camino a veces tan difícil pero mayormente maravilloso como la vida misma.

A mis padres María de Lourdes y Manuel por todo el amor que me han demostrado siempre y su apoyo incondicional en todas las decisiones de mi vida. Son mi mas grande ejemplo de superación.

Especial agradecimiento a mi esposa Lluvia Mayra gracias por estar siempre a mi lado apoyándome mis logros son nuestros logros porque jamás lo habría logrado sin ti. TE AMO.

A mis hermanos Jorge y Manuel que también son grandes amigos les agradezco el apoyo que me han mostrado siempre y por enseñarme que la honestidad y el trabajo diario es el único camino.

A mis sobrinos Brenda Paola y Jorge Alejandro por el simple hecho de estar en mi vida y hacerme sentir un amor tan especial que me hace mostrarles el mejor ejemplo cada día.

A mi cuñada Martha, mi suegra, Manu, mis abuelos y familia en general que me han demostrado su solidaridad y cariño siempre.

A todos mis amigos en general por compartir mis alegrías pero sobre todo mis tristezas.

A mis profesores y compañeros en general del CIQ por sus valiosas enseñanzas y gratos momentos.

A los Doctores Susana Rojas Lima, Roberto Villagómez Ibarra y Juan Gayosso de Lucio por ser parte de mi comité tutorial a lo largo del doctorado y por tomarse el tiempo de revisar mi trabajo de tesis.

Especial agradecimiento al Doctor J. Martín Torres Valencia primeramente por aceptarme en su equipo de trabajo y por ser un excelente director en el proyecto desarrollado. Ha sido un gran ejemplo como investigador pero sobre todo agradezco su amistad, el apoyo brindado en todo momento y el ejemplo que ha sido para conducirme de una buena manera en la vida.

SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS

$[\alpha]_D$	Rotación específica
$^{\circ}\text{C}$	Grados Celsius
AcOEt	Acetato de etilo
^{13}C	Carbono 13
C	Concentración
CC	Cromatografía en columna
CCF	Cromatografía en capa fina
CDK	Quinasas dependientes de ciclinas
Cm	Centímetro
COSY	Correlation Spectroscopy
DCV	Dicroísmo circular vibracional
DMSO- d_6	Dimetilsulfóxido deuterado
EtOH	Etanol
fig.	Figura
g	Gramo
h	Hora
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Coherence
Hz	Hertz
IR	Infrarrojo
L	Litro
LPS	Lipopolisacárido
Me	Metilo
MeOH	Metanol
mg	Miligramo
MHz	Megahertz
ml	Mililitro
Mm	Milímetro
Mmol	Milimol
p.f.	Punto de fusión
Ppm	Partes por millón
R_f	Factor de retención
RMN	Resonancia magnética nuclear
TMS	Tetrametilsilano
λ_{max}	Longitud de onda máxima

ÍNDICE

	Página
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Importancia biológica de los productos naturales	1
1.1.1. Actividad biológica de las flavonas	4
2. ANTECEDENTES	7
2.1 Género <i>Stevia</i>	7
3. OBJETIVO	12
4. JUSTIFICACIÓN	13
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	14
5.1 Colecta, identificación de la especie y obtención de extractos	14
5.1.1. Extracto hexánico de la parte aérea de <i>Stevia pilosa</i>	15
5.1.2. Extracto clorofórmico de la parte aérea de <i>Stevia pilosa</i>	15
5.1.2.1. Parte hexánica del extracto clorofórmico de la parte aérea de <i>S. pilosa</i>	16
5.1.2.2. Parte CHCl ₃ del extracto clorofórmico de la parte aérea de <i>S. pilosa</i>	23
5.2. Obtención y caracterización de la epazoyucina (8) aislada del extracto CHCl ₃ de la parte aérea de <i>S. tomentosa</i>	35
5.3. Síntesis de derivados de crisina	39
5.3.1. Preparación de las 7-O-bromo-alkil-crisinas (9a-9e)	39
5.3.2. Preparación de las 7-O-[(piridin-2-il-tio)-alkil]-crisinas (10a-10e)	55
5.3.3. Preparación de las 7-O-[[[(trifluorometil)-piridin-2-il)-tio)-alkil]-crisinas (11a-11e)	76

5.4. Estudio del extracto CHCl ₃ de <i>Acacia Schaffneri</i>	92
6. CONCLUSIONES	93
7. PARTE EXPERIMENTAL	95
7.1. Generalidades	95
7.2. Desarrollo Experimental	97
7.2.1. Aislamiento de metabolitos secundarios de la parte aérea de <i>S. pilosa</i>	97
7.2.2. Síntesis de derivados de crisina	101
8. REFERENCIAS	109
9. ANEXOS	115

1. INTRODUCCIÓN

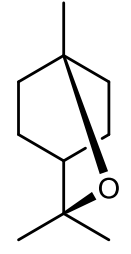

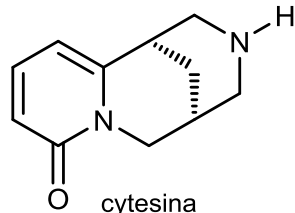
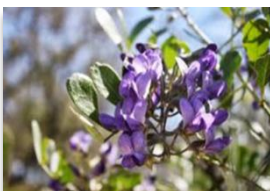
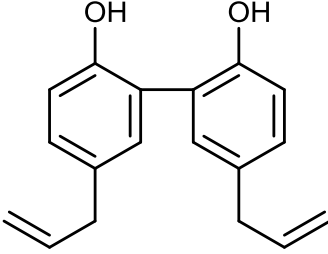

1.1. Importancia biológica de los productos naturales

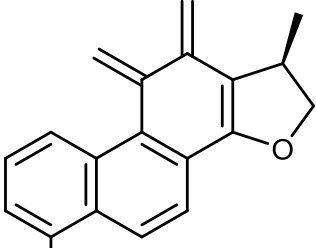

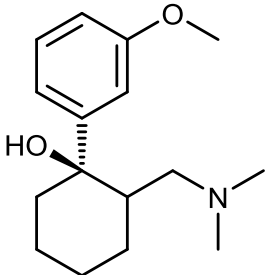

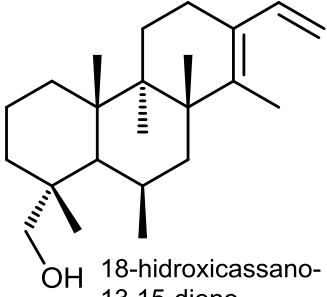

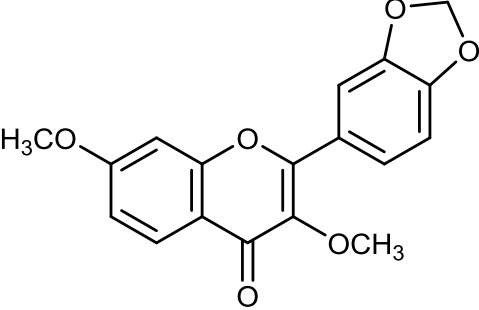

En la actualidad, se ha renovado el interés por los efectos benéficos de productos naturales para la prevención de enfermedades crónico-degenerativas. Se estima que el 80% de la población mundial depende predominantemente de los productos naturales de plantas que se venden como hierbas, comida, suplementos o drogas. Alrededor del 50% de los medicamentos más vendidos en Europa están basados en productos naturales o derivados, por lo que se han convertido en algo muy interesante para los investigadores de ciencias biológicas ya que muchos poseen estructuras únicas en espera de ser aislados e identificados (Zhu et al., 2007).

La medicina tradicional o herbolaria se refiere al uso de plantas medicinales para el tratamiento de enfermedades, y a lo largo de la historia ha estado estrechamente relacionado con el desarrollo de las culturas (Romo de Vivar, 2006).

Los estudios químicos y biológicos sobre especies empleadas en medicina tradicional han permitido contar con sustancias promisorias para el tratamiento de varias enfermedades, como las crónico-degenerativas, entre la cuales se encuentran la diabetes, el cáncer, la inflamación, Alzheimer, Parkinson y Huntington, así como las causadas por parásitos, bacterias, hongos y virus. Ejemplos de productos naturales bioactivos y sus fuentes se muestran en la siguiente tabla.

Tabla 1.1. Ejemplos de productos naturales con actividad biológica relevante y plantas de donde se han aislado.

Producto natural	Actividad biológica	Planta donde se encuentra
 <p>1, 8- cineol</p>	Inhibidor de la acetilcolinesterasa utilizada para el tratamiento de Alzheimer (Williams et al., 2011)	 <p><i>Salvia lavandulifolia</i></p>
 <p>cytesina</p>	Actividad dopaminérgica contra mal de Parkinson (Joyner y Cichewicz, 2011)	 <p><i>Sophora secundiflora</i></p>
 <p>magnolol</p>	Actividad contra cáncer de próstata induciendo la apoptosis (Dong y Jiang, 2011)	 <p><i>Magnolia officinalis</i></p>

 <p>15, 16- dihidrotanshinona I</p>	<p>Actividad antiinflamatoria en microglías activadas por LPS (Joyner y Cichewicz, 2011)</p>	 <p>Salvia miltiorrhiza</p>
 <p>tramadol</p>	<p>Efecto analgésico comprobado con el test de la formalina (Boumendjel et al., 2013)</p>	 <p>Nauclea latifolia</p>
 <p>18-hidroxicassano-13,15-dieno</p>	<p>Actividad contra <i>Tripanozoma cruzi</i> (enfermedad de Chagas) (Izumi et al., 2011)</p>	 <p>Myrospermum frutescens</p>
 <p>desmetoxi-kanugina</p>	<p>Actividad contra <i>Mycobacterium tuberculosis</i> (García et al., 2012)</p>	 <p>Datura indica</p>

1.1.1. Actividad biológica de las flavonas

Los flavonoides son polifenoles fitoquímicos de bajo peso molecular, derivados del metabolismo secundario de las plantas y juegan un papel importante en diversos procesos biológicos. Son componentes de una amplia variedad de frutas, verduras y de bebidas como el té, el café, la cerveza, y el vino. Se pueden clasificar en varias clases entre las que se encuentran las flavonas (Shing et al., 2014).

Las flavonas son productos naturales de tipo de benzopirano y constituyen un importante grupo de oxiheterociclos presentes en frutas y vegetales (Verma y Pratap, 2012).



Figura 1.1. Estructura general de las flavonas.

Entre las actividades biológicas descritas para las flavonas y algunos de sus derivados se encuentran su efecto antialérgico, antiasmático, antidiabético, antiestrogénico, antiinflamatorio, antimalárico, antimicrobial, antioxidante, antitumoral, antiulceroso, cardiovascular, citotóxico, neuroprotector, los cuales dependen de su naturaleza y posición de los sustituyentes en el esqueleto (Verma y Patrap, 2012).

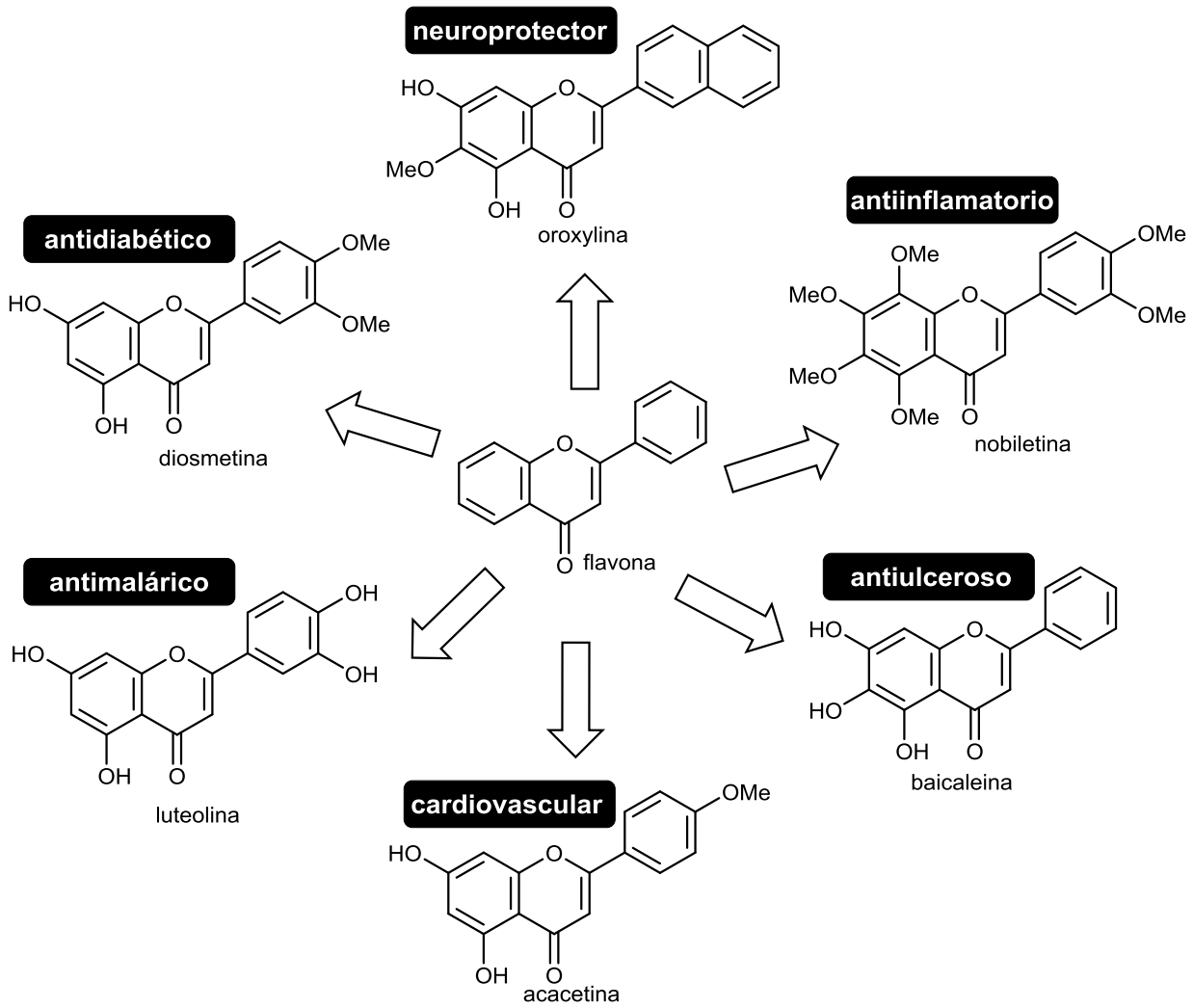


Figura 1.2. Ejemplos de flavonas y algunas de sus actividades biológicas descritas (Shing et al., 2014).

Algunas flavonas han servido de materia prima para preparar derivados interesantes como es el caso de la quercetina que al tratarse con germanio forma el complejo metálico denominado germanio-quercetina el cual presentó una actividad citotóxica importante (Zhai et al., 2012).

También se tienen ejemplos de flavonas sintéticas con una actividad biológica relevante. Tal es el caso del derivado semisintético flavopiridol (alvocidib) el cual fue el primer inhibidor de enzimas CDK en someterse a ensayos clínicos contra distintos tipos de cáncer (Ahn et al., 2007).

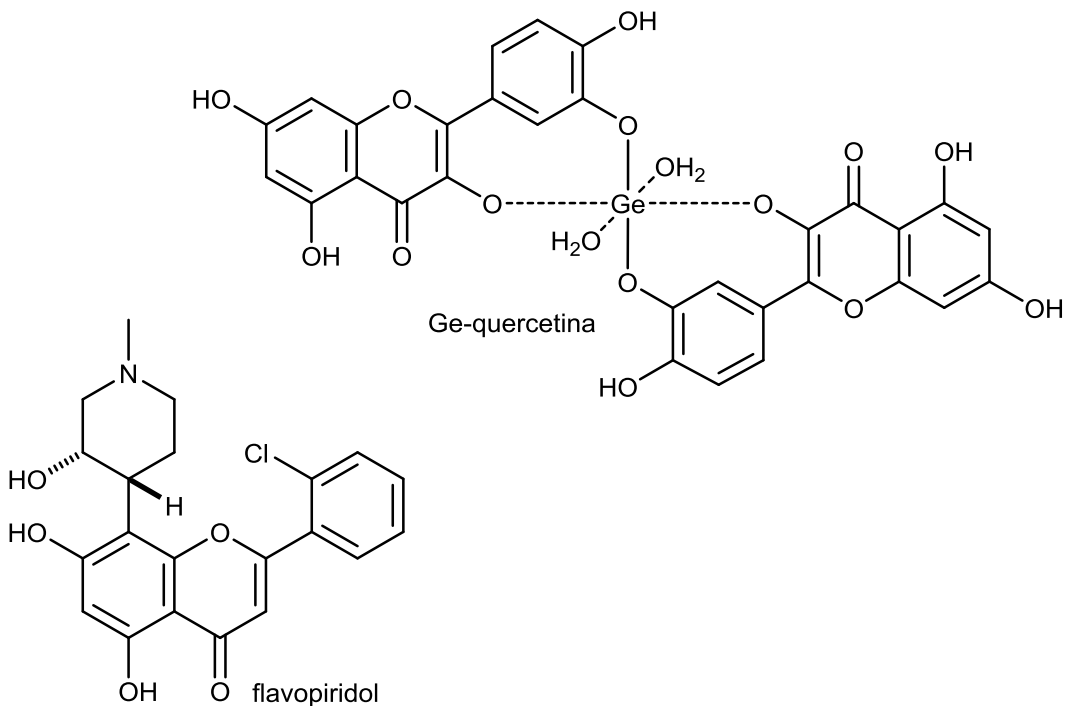


Figura 1.3. Compuestos con esqueleto de flavona que han presentado actividad citotóxica relevante.

2. ANTECEDENTES

2.1. Género *Stevia*

Las especies del género *Stevia* constituyen una fuente rica de moléculas biológicamente activas en las que se incluyen lactonas sesquiterpénicas, triterpenos y flavonoides con efecto antimicrobial, antifúngico, antioxidante, antiinflamatorio, anticarcinogénico y pro-apoptótico (Cerde-García-Rojas y Pereda Miranda, 2002). Por ejemplo, los flavonoides **hispidulina** y **santina** (Fig. 2.1) identificados en *S. organoides*, los cuales poseen importante actividad citotóxica (Nepal et al., 2013) y antifúngica (Omosa et al., 2014).

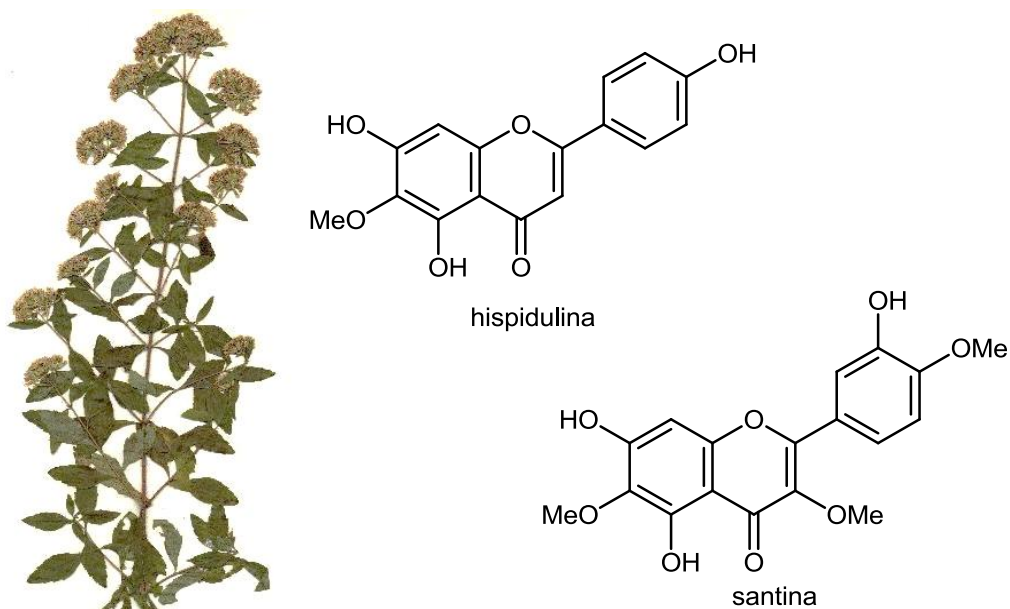


Figura 2.1. Imagen de *Stevia organoides* y estructura de sus principales flavonoides con relevante actividad biológica.

Se conocen más de 300 especies de *Stevia* en el continente Americano, desde el sureste de los Estados Unidos de América hasta el norte de Argentina. En México se han descrito al menos 80 de estas plantas, y en el estado de Hidalgo han reportado unas 21 especies, entre ellas *S. pilosa* y *S. tomentosa*. En un estudio previo de la parte aérea de *S. pilosa* se reportó la lactona sesquiterpénica conocida como leukodina (Martínez et al., 1988), mientras que en otro estudio llevado a cabo en nuestro grupo de trabajo se describió la composición química del extracto hexánico de su raíz, de donde se caracterizaron varios derivados del longipineno (Fig. 2.2) (Álvarez-García et al., 2005).

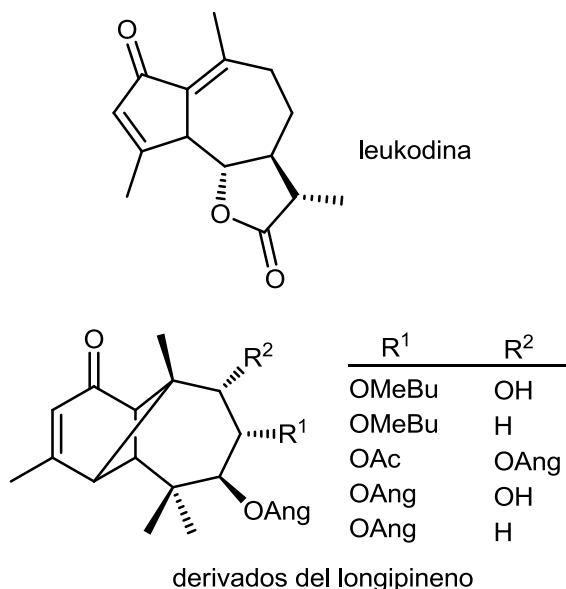


Figura 2.2. Imagen de *Stevia pilosa*, estructura de la leukodina aislada de su parte aérea y estructura de los derivados del longipineno aislados de sus raíces.

Stevia tomentosa también ha sido explorada en nuestro grupo de trabajo. En un estudio llevado sobre las raíces de la planta se describió el aislamiento de la valeranona (Fig. 2.2), un sesquiterpeno tipo eudesmano reordenado que posee actividad relajante del músculo liso, y que también se ha identificado en *Valeriana officinalis* (Torres-Valencia et al., 2004). De la parte aérea y de las raíces se aislaron derivados del bisaboleno, β -cariofileno, derivados del longipineno, triterpenos como los acetatos de dammarenilo y lupeólo, así como compuestos flavonoides (Fig. 2.3), los cuales poseen actividad antiinflamatoria importante (Valdez-Calderón et al., 2011).

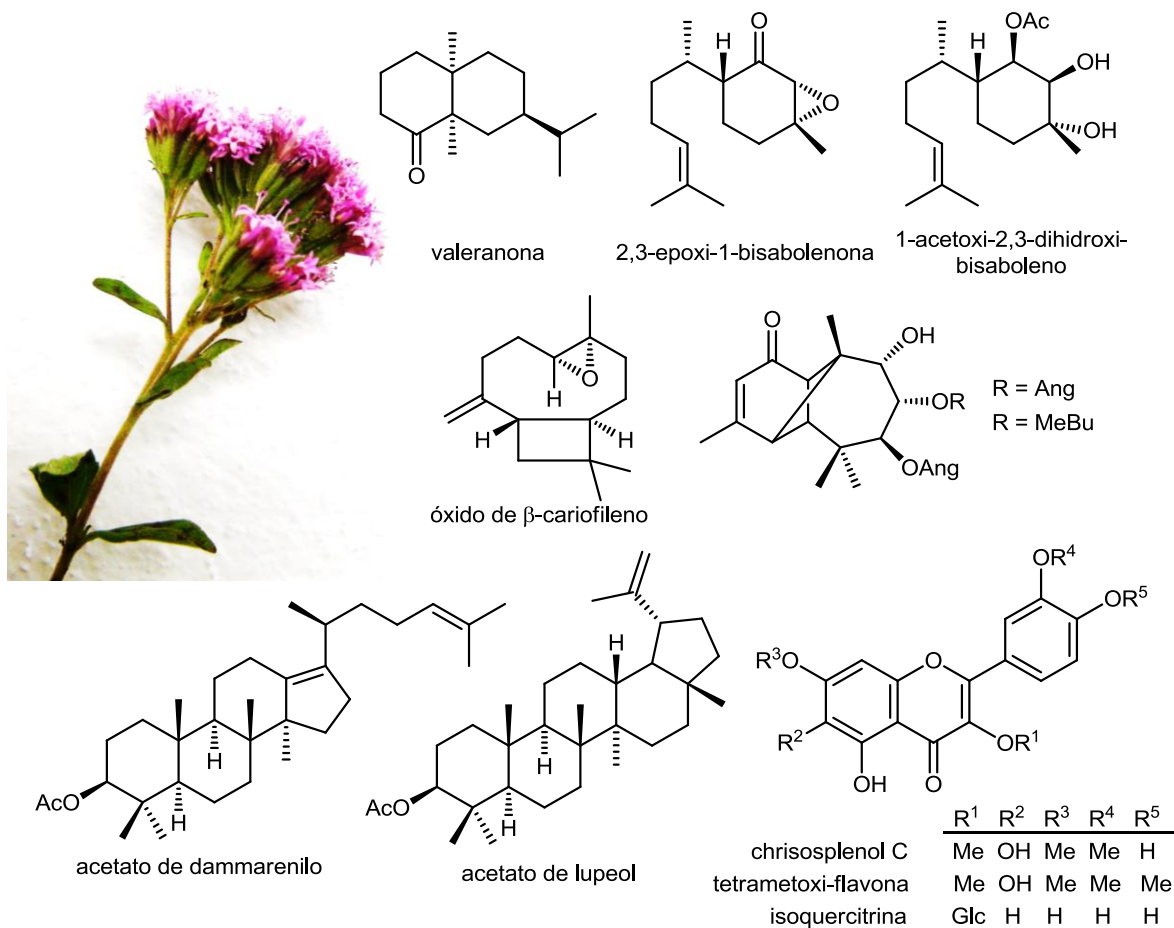


Figura 2.3. Imagen de *Stevia tomentosa* y estructura de los metabolitos aislados.

El acetato de dammarenilo aislado de las raíces de *Stevia tomentosa* es el derivado acetilado del triterpeno conocido como isotirucalol (Fig. 2.4) que posee actividad antiinflamatoria comparable con la indometacina (Akhisa et al., 1997), un fármaco que se prescribe actualmente como antiinflamatorio.

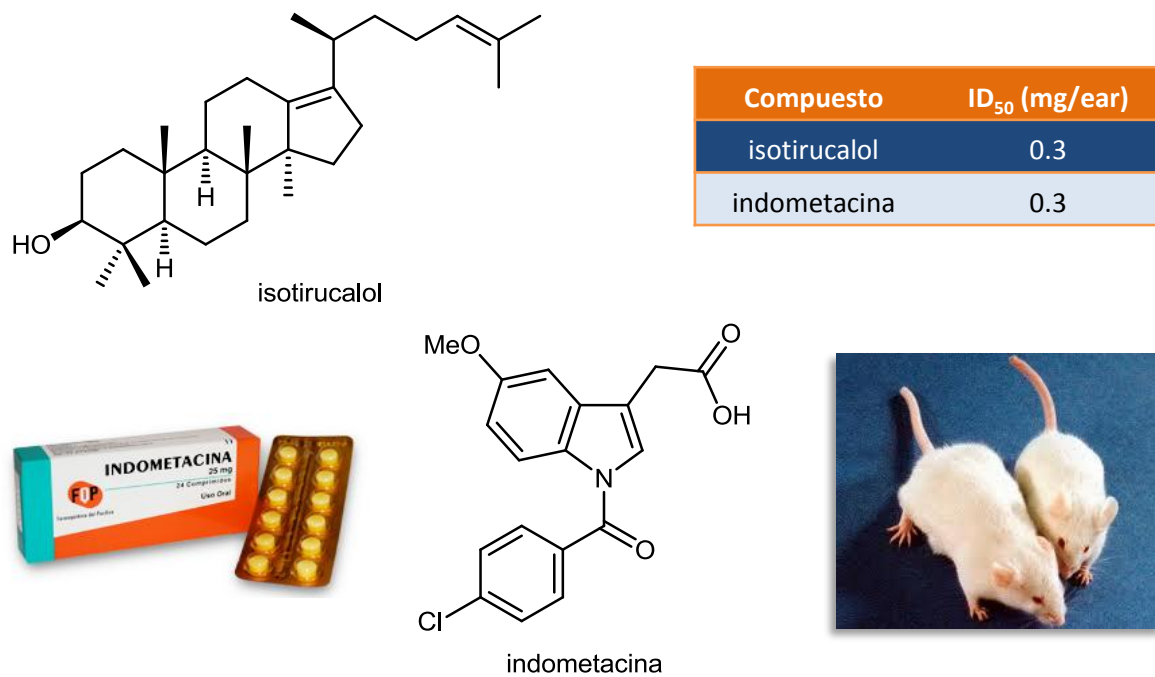


Figura 2.4. Estudio antiinflamatorio comparativo entre el isotirucalol y la indometacina.

En este trabajo se complementó el estudio químico de la parte aérea de *Stevia pilosa* y de las raíces de *Stevia tomentosa*. En adición, se participó en el aislamiento y caracterización de algunos metabolitos de *Acacia schafferi*, con la finalidad de complementar su estudio químico. En una investigación previa de *A. schaffneri*,

llevada a cabo por nuestro grupo, del extracto hexánico de la parte aérea se aislaron los diterpenos denominados *seco-oxacassanos* (Fig. 2.5) los cuales son raros en la naturaleza (Manríquez-Torres et al., 2011).

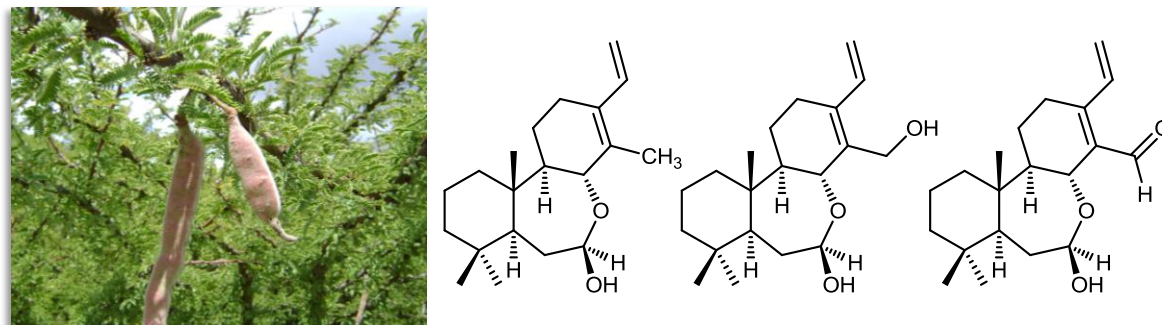


Figura 2.5. Imagen de *Acacia schaffneri* y estructura de los metabolitos *seco-oxacassanos* aislados de su parte aérea.

3. OBJETIVO

Llevar a cabo un estudio químico de especies del género *Stevia*, basado en el aislamiento de sus principales metabolitos secundarios por medio de métodos cromatográficos y obtener derivados de crisina que favorezcan la obtención de compuestos metálicos siendo caracterizados todos los compuestos mediante técnicas espectroscópicas y difracción de rayos-X, con la finalidad de contribuir al conocimiento de productos naturales y derivados que puedan tener un uso potencial para el tratamiento de la inflamación y el cáncer.

4. JUSTIFICACIÓN

En épocas recientes, la química de los productos naturales se ha enfocado a la obtención de principios activos promisorios para el tratamiento de enfermedades crónico-degenerativas como el cáncer, la inflamación, diabetes y enfermedades neurodegenerativas (Alzheimer, Parkinson, Huntington). En particular nuestro grupo de trabajo se enfoca en la investigación de plantas que se dan en la región, ayudando al conocimiento de su composición química y en la búsqueda de metabolitos secundarios con posible actividad antiinflamatoria y/o anticancerosa.

Las especies de *Stevia* crecen de manera abundante en el estado de Hidalgo y de acuerdo a su estudio se sabe que producen flavonoides y lactonas sesquiterpénicas, compuestos con importante actividad biológica, por lo que los resultados de este trabajo podrían contribuir al conocimiento de metabolitos secundarios con posible efecto farmacológico.

En adición se decidió la obtención de derivados de flavonoides con la finalidad de aportar nuevas sustancias con potencial actividad antiinflamatoria y anticancerígena

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Colecta, identificación de la especie y obtención de los extractos

Los especímenes de *Stevia pilosa* (Fig. 5.1) se colectaron en la comunidad de Real del Monte, municipio de Mineral del Monte, en el estado de Hidalgo, en agosto-septiembre de 2011 y agosto-septiembre del 2012, respectivamente. Un ejemplar de esta planta se envió al Herbario del Centro de Investigaciones Biológicas del Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería de la UAEH, donde el M. en C. Manuel González Ledesma identificó la especie. La planta se dejó secar a la sombra y se dividió en sus partes aéreas y raíces. Se obtuvieron los extractos de hexano, CHCl_3 , AcOEt y MeOH de forma secuencial de estas partes mediante reflujo por 6 horas o maceración por 7 días.



Figura 5.1. Imágenes de *Stevia pilosa*.

5.1.1. Extracto hexánico de la parte aérea de *Stevia pilosa*

La parte aérea de *S. pilosa* se sometió a reflujo con hexano por 6 horas, seguido por filtración y concentrado en el rotaevaporador para obtener el extracto correspondiente, el cual se sometió a separación mediante cromatografía en columna usando hexano y mezclas de hexano-AcOEt. Las fracciones se analizaron por RMN-¹H en donde sólo se pudo identificar material graso. Este estudio se realizó debido a un reporte previo de *S. pilosa* (Martínez et al., 1988) de donde obtuvo una guayanólida de nombre leukodina. El procedimiento anterior no condujo a la identificación de dicha guayanólida.

5.1.2. Extracto clorofórmico de la parte aérea de *S. pilosa*

La parte aérea de *S. pilosa* se sometió a maceración con CHCl₃ por 7 días, seguido por filtración y concentrado en el rotaevaporador para obtener el extracto correspondiente, el cual se trató siguiendo un procedimiento conocido para la obtención selectiva de lactonas sesquiterpénicas (Hernández et al., 1997), de la manera siguiente. El extracto se disolvió en EtOH, se calentó a 60 °C, se adicionó H₂O y se llevó temperatura ambiente. Posteriormente, se hicieron lavados con hexano y CHCl₃, las fases orgánicas se concentraron y se juntaron para obtener una parte hexánica y otra parte de CHCl₃.

5.1.2.1. Parte hexánica del extracto clorofórmico de la parte aérea de *Stevia pilosa*

El extracto hexánico se sometió a separación cromatográfica usando la técnica de cromatografía rápida en gel de sílice y hexano, mezclas de hexano-AcOEt, CHCl₃, mezclas de CHCl₃-MeOH y MeOH como eluyente en orden creciente de polaridad.

Las fracciones eluidas con hexano-AcOEt (9:1, 4:1 y 7:3) se juntaron y mediante cromatografías sucesivas utilizando mezclas de hexano-AcOEt (17:5 y 4:1) se obtuvo un sólido de color blanco.

En su espectro de ¹H (Fig. 5.3, Tabla 5.1) presentó señales características en 5.28 y 5.24 ppm de protón vinílico, señales simples anchas en 4.67 y 4.56 ppm típicas de doble enlace, en 4.50 ppm una señal múltiple para un protón base de éster. Se observó otra señal múltiple en 2.37 ppm, y cercano a 2.1 ppm se apreciaron 2 señales características de grupos metilo de aceto. Entre 1.7 y 0.7 ppm se observaron las señales típicas de los metilos terciarios. La comparación de sus datos espectroscópicos con los descritos condujo a identificar una mezcla de los triterpenos **acetato de α-amirina (1)**, **acetato de β-amirina (2)** y **acetato de lupeol (3)** (Fig. 5.2).

Dicha mezcla se purificó por cromatografía en columna empleando gel de sílice impregnado con AgNO₃, logrando obtener el compuesto **3**. Su espectro de ¹H se muestra en la fig. 5.4 y sus datos en la tabla 5.1.

Los **acetatos de α -amirina, β -amirina y lupeol** son compuestos conocidos y se les ha descrito diversas actividades biológicas, entre ellas la antiinflamatoria en el caso del compuesto **3** (Lucetti et al., 2010).

De la cromatografía de las fracciones eluidas con hexano-AcOEt (9:1 y 4:1) utilizando CHCl_3 se obtuvo un aceite transparente. El análisis de sus datos físicos y espectroscópicos, principalmente RMN de ^1H , permitió la identificación del **óxido de β -cariofileno (4)** (Fig. 5.2). En su espectro de RMN de protón (Fig. 5.5, Tabla 5.2) se observó en 4.97 ppm y 4.85 ppm señales anchas que integraron para un protón típicas de un doble enlace exocíclico y los cuales se identificaron para H-13 y H-13'. En 2.87 ppm se apreció una señal doble de dobles característica de un hidrógeno base de epóxido (H-5) que presentó constantes de acoplamiento de 10.6 y 4.4 Hz e integró para un protón. En 2.61 ppm se observó señal cuádruple con constante de acoplamiento de 10.0 Hz que se asignó a H-9. En 1.18 ppm se observó una señal simple que integró para tres protones, típica para metilos de base de epóxido (Me-12). Los metilos geminales Me-14 y Me-15 se apreciaron como señales simples en 0.98 ppm y 0.96 ppm, respectivamente. Sus datos se compararon con los de una muestra auténtica obtenida en nuestro grupo de trabajo permitiéndonos corroborar la estructura del compuesto. Estudios recientes de este compuesto han probado cierta genotoxicidad en pruebas realizadas en bacterias y células madre (Di Sotto et al., 2013).

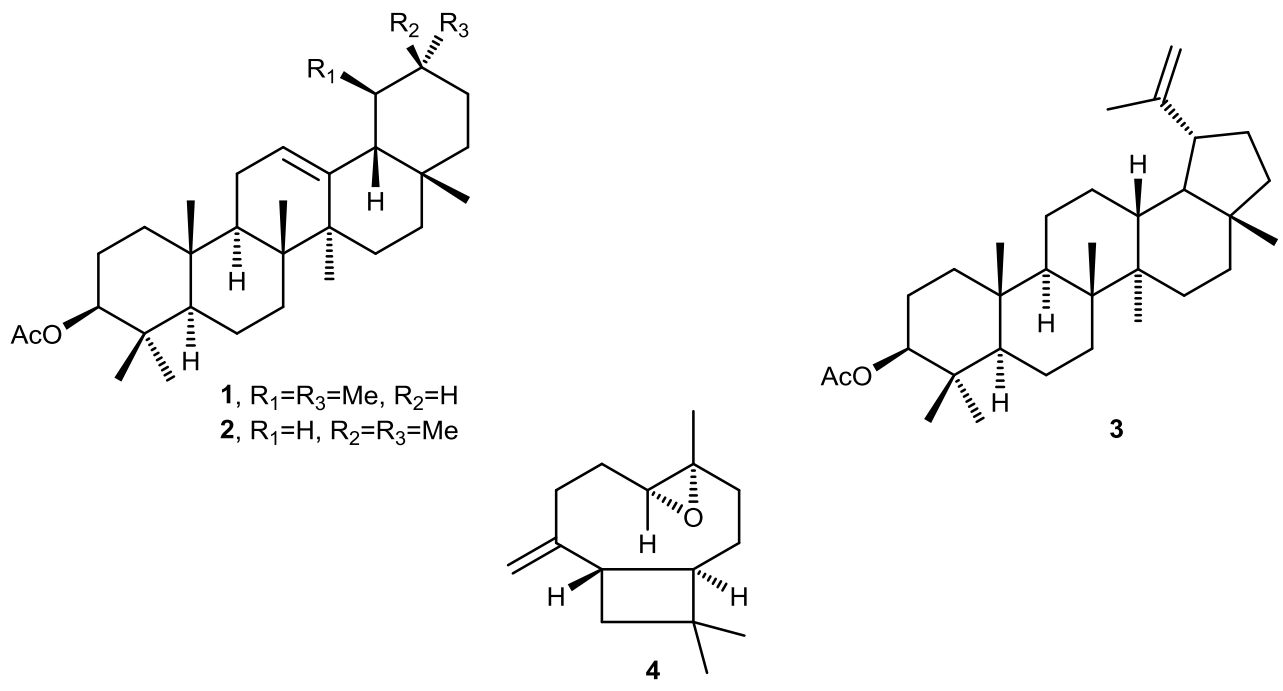


Figura 5.2. Terpenos identificados en la parte hexánica del extracto $CHCl_3$ de *S. pilosa*.

Tabla 5.1. Datos de RMN de 1H de los triterpenos 1, 2 y 3.

Posición	Compuesto, ^1H m (J en Hz)					
	1	1, lit*	2	2, lit*	3	3, lit**
3	4.50 m	4.51 m	4.50 m	4.50 m	4.50 m	4.47 dd (12.8, 4.4)
12	5.24 sa	5.24 sa	5.28 sa	5.28 sa	-	-
19	-	-	-	-	2.37 m	-
23	0.86 s	0.88 s	0.86 s	0.88 s	0.86 s	0.85 s
24	0.93 s	0.91 s	0.93 s	0.91 s	0.86 s	0.84 s
25	0.84 s	0.83 s	0.84 s	0.83 s	1.04 s	1.03 s
26	0.94 s	0.94 s	0.94 s	0.94 s	0.85 s	0.83 s
27	1.14 s	1.17 s	1.14 s	1.17 s	0.80 s	0.79 s
28	0.83 s	0.83 s	0.83 s	0.83 s	0.95 s	0.94 s
29 29'	1.15 d (6.2)	1.12 d (6.1)	0.91 s	0.91 s	4.67 sa 4.56 sa	4.69 sa 4.57 sa
30	0.72 d (6.0)	0.70 d (6.7)	0.88 s	0.89 s	1.70 s	1.69 s
AcO	2.10 s	2.10 s	2.10 s	2.10 s	2.05 s	2.05 s

Tabla 5.2. Datos de RMN de ^1H del óxido de β -cariofileno (4).

Posición	¹ H m (J en Hz)	¹ H m (J en Hz), lit***	Posición	¹ H m (J en Hz)	¹ H m (J en Hz), lit***
1	1.75 t (10.0)	1.76 t (10.0)	9	2.61 c (10.0)	2.61 c (10.0)
2	1.41 m	1.32 m	10	1.68 m	1.55-1.72 m
2'	1.65 m	1.55-1.72 m	10'	1.63 m	
3	0.93 m	0.95 m	12	1.18 s	1.20 s
3'	2.08 m	2.10 dt (12.5, 3.5)			
5	2.87 dd (10.6, 4.4)	2.87 dd (10.6, 4.1)	13	4.97 sa	4.97 sa
6	2.25 m	2.25 m	13'	4.85 sa	4.85 sa
6'	1.33 m	1.42 m	14	0.98 s	1.00 s
7	2.33 m	2.34 m	15	0.96 s	0.98 s
7'	2.11 m	2.11 t (12.4)			

*Furukawa et al., 2002; **Jamal et al., 2008; ***Thebtaranonth 2006
s = simple, sa = simple ancha, d = doble, dd = doble de dobles, dt = doble de triples, t = triples, c = cuádruple, m = múltiple

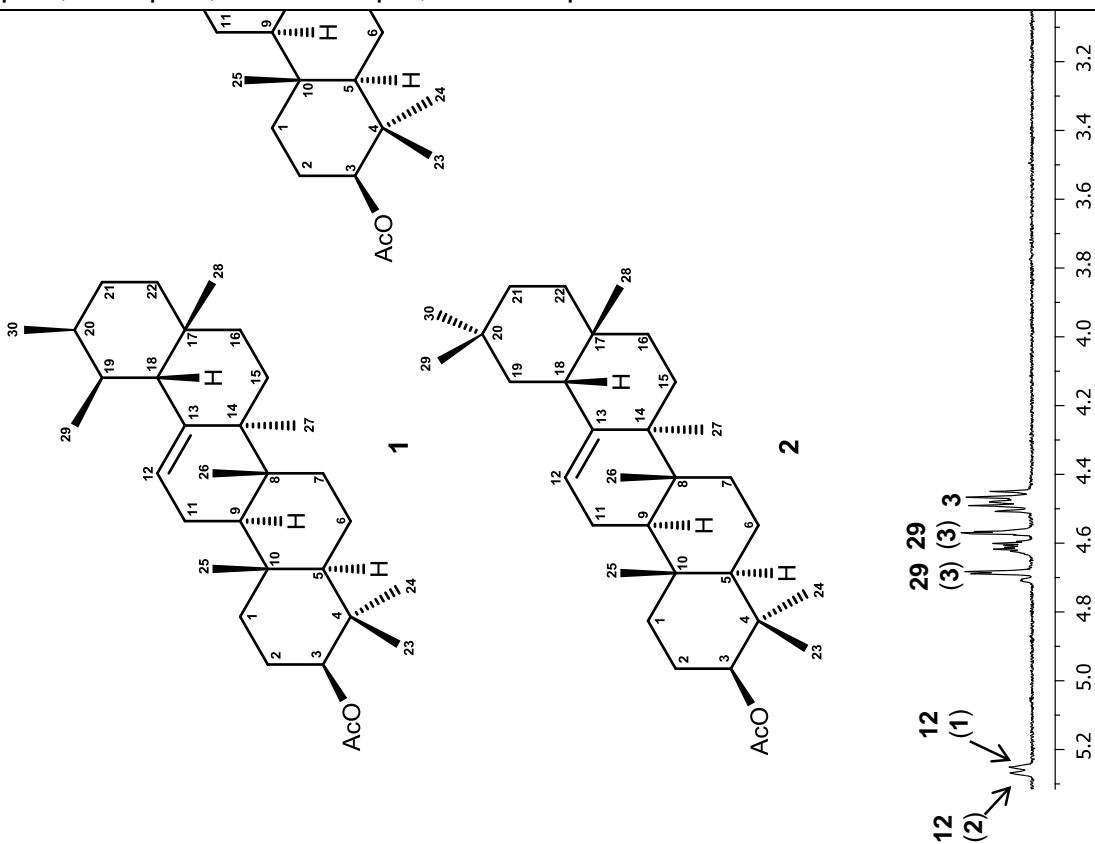


Figura 5.3. Espectro de RMN de ¹H (400 MHz) de la mezcla de los triterpenos 1, 2 y 3 en CDCl₃

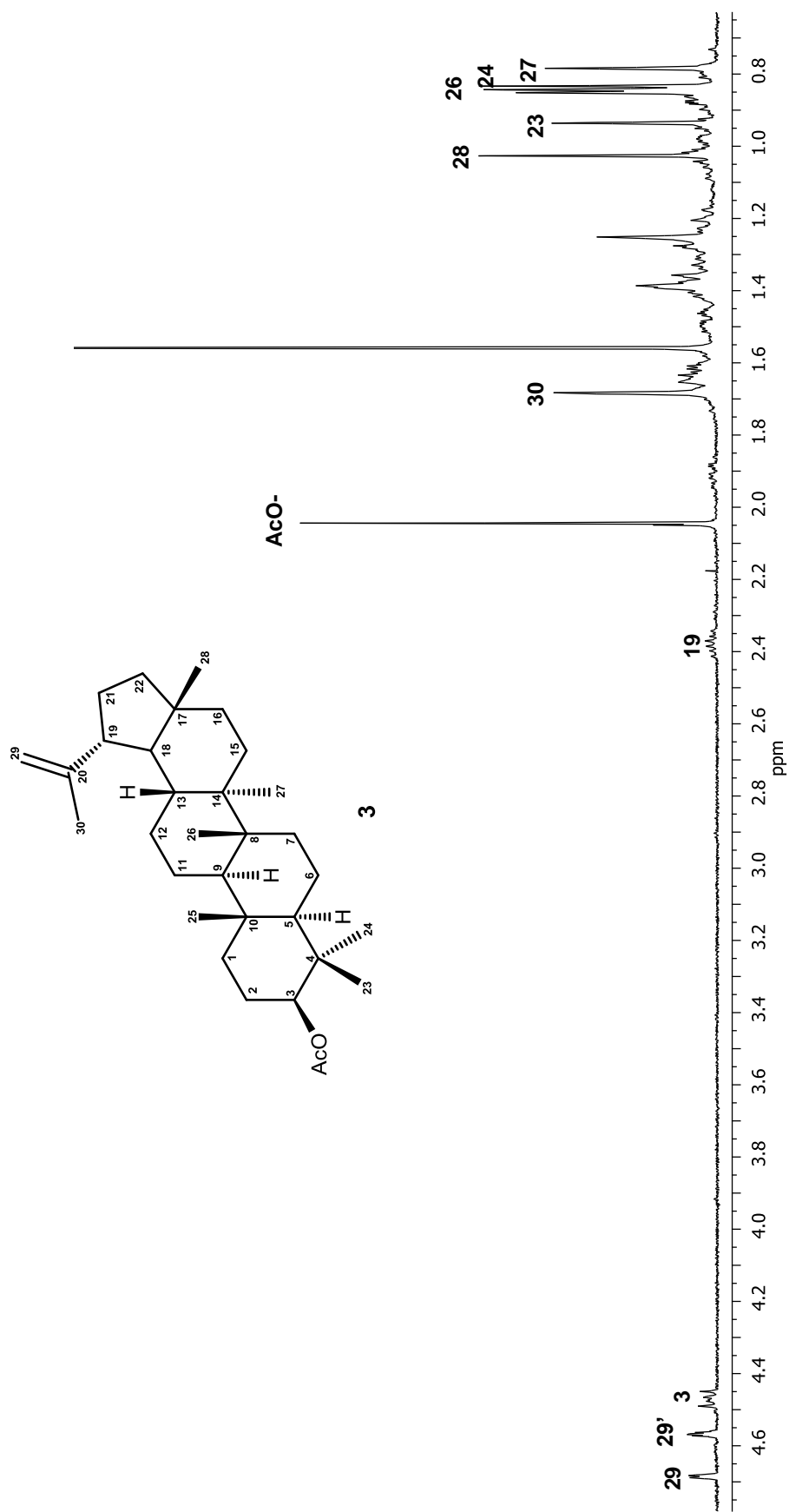


Figura 5.4. Espectro de RMN de ¹H (400 MHz) del acetato de lupeol (3) en CDCl₃

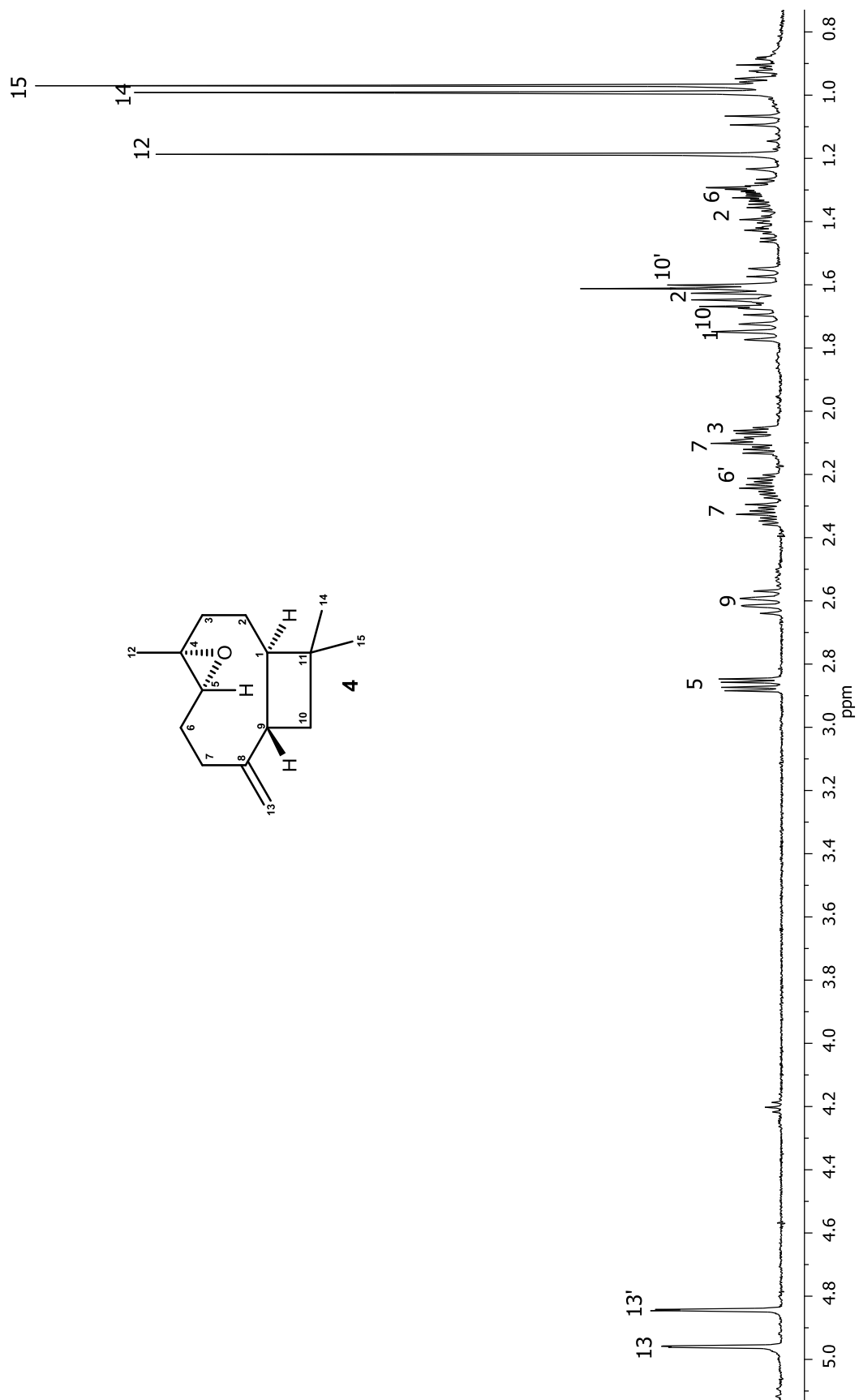


Figura 5.5. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) del óxido de β -cariofileno (4) en CDCl_3

5.1.2.2. Parte CHCl_3 del extracto clorofórmico de la parte aérea de

Stevia pilosa

La separación mediante cromatografía en columna de la parte CHCl_3 del extracto CHCl_3 , se realizó con hexano, mezclas de hexano-AcOEt, CHCl_3 , mezclas de CHCl_3 -MeOH y MeOH como eluyente. Las fracciones obtenidas con hexano-AcOEt (9:1) presentaron en RMN señales típicas para la mezcla de los triterpenos β -sitosterol y estigmasterol. Las fracciones de mayor polaridad eluidas con hexano-AcOEt (4:1 y 7:3) se juntaron y recromatografiaron con CH_2Cl_2 y mezclas de CH_2Cl_2 -acetona (9:1 y 4:1) de donde se obtuvo un sólido de color amarillo que se cristalizó con CHCl_3 -MeOH. A los cristales se les agregó MeOH y se filtraron para obtener los cristales la parte soluble en MeOH. El espectro de RMN de protón en DMSO-d_6 (Fig. 5.7, Tabla 5.3) de los cristales mostró una señal simple ancha en 13.05 ppm que integró para un protón, y que es característica de un protón de hidroxilo en C-5 de un sistema de flavonoide. En 8.03 y 7.11 ppm se observaron dos señales dobles típicas de protones de un anillo aromático *para*-disustituído que integraron para dos protones cada una y presentaron acoplamientos *orto* entre si. En 6.87 y 6.62 ppm se observaron dos señales simples que hicieron suponer la presencia de otros 2 hidrógenos aromáticos. Adicionalmente, se apreciaron dos señales simples en 3.86 ppm y 3.76 ppm, características de grupos metoxilo.

En el espectro de ^{13}C , en DMSO-d_6 (Fig. 5.8, Tabla 5.4), se observaron 15 señales para 17 carbonos, entre ellas la señal característica para carbono de un carbonilo en 182.6 ppm, entre 165 y 150 ppm aparecieron 5 señales típicas de carbonos

aromáticos base de oxígeno, además entre 65 y 55 ppm se identificaron 2 señales para carbonos de metoxilo.

En el espectro HMBC en DMSO-d₆ (Fig. 5.9), se observaron las correlaciones del protón de hidroxilo en C-5 con las señales de carbono en 153.2, 132.0 y 104.7 ppm, por lo que éstas se asignaron a los carbonos 5, 6 y 10, correspondientemente. En el caso de C-6 presentó correlación con la señal de uno de los grupos metoxilo en 3.75 ppm del espectro de protón, permitiendo ubicar este grupo en la posición 6. La señal del otro grupo metoxilo en 3.86 ppm presentó correlación con el carbono en 162.7 (C-4'), por lo que se ubicó en esta posición. Después de analizar la espectroscopía y compararla con datos descritos se concluyó que se trataba de la **pectolinarigenina (5)** (Fig. 5.6), un flavonoide conocido y que ha sido aislado de algunas plantas como *Cirsium chanroenicum* el cual mostró efecto antiinflamatorio (Lim et al., 2008) y larvicida contra el vector del dengue (Muthu et al., 2012).

La parte soluble en MeOH se purificó en gel de sílice utilizando mezclas de hexano-AcOEt (7:3, 3:2, 1:1, 2:3 y 3:7) de donde se obtuvo más **pectolinarigenina**, así como otro compuesto en forma de polvo amarillo que hizo suponer su naturaleza flavonoide.

Su espectro de RMN de ¹H en DMSO-d₆ (Fig. 5.10, Tabla 5.3) mostró una señal simple en 13.07 ppm característica de un protón de hidroxilo en C-5 de un flavonoide, tres señales en 7.62 (dd, *J* = 8.5 y 2.1 Hz), 7.52 (d, *J* = 2.1 Hz) y 7.09 ppm (d, *J* = 8.5 Hz) típicas de un anillo aromático trisustituído. En 6.92 y 6.62 ppm se apreciaron dos señales características de protones aromáticos que integraron para un protón cada una. Finalmente, en 3.85, 3.82 y 3.75 ppm se observaron tres señales simples que integraron para 3 protones cada una y que fueron típicas de grupos metoxilo.

Su espectro de RMN de ^{13}C en DMSO-d_6 (Fig. 5.11, Tabla 5.4) mostró 18 señales para carbonos, entre las que se identificó en 182.5 ppm una señal característica del carbonilo en C-4 de un flavonoide, entre 165 y 145 ppm se observaron 6 señales para carbonos aromáticos base de oxígeno, así como otras 8 señales más típicas de carbonos aromáticos. En adición, se observaron tres señales de carbonos de metoxilo en 60.3, 56.1 y 56.0 ppm. Al comparar los espectros de ^1H y de ^{13}C de este compuesto **5**, resultó evidente que se trataba de un flavonoide de la misma naturaleza, excepto que en este caso presenta una sustitución adicional de un grupo metoxilo en el anillo B. Esto se corroboró mediante el experimento HMBC (Fig. 5.12), en donde se apreciaron la mayoría de las correlaciones esperadas, como por ejemplo las del protón de hidroxilo en C-5 que mostró 3 correlaciones con las señales de carbono en 153.1, 131.8 y 104.6 ppm que se asignaron a C-5, C-6 y C-10, respectivamente. Los grupos metoxilo se ubicaron en las posiciones 6, 3' y 4', debido a las correlaciones observadas de las señales de protón en 3.80, 3.89 y 3.86 ppm con las señales de carbono en 131.7 (C-6), 149.3 (C-3') y 152.4 (C-4') ppm, correspondientemente. Después de analizar sus datos físicos y espectroscópicos y compararlos con los de la literatura se concluyó que se trata de la flavona conocida como **eupatilina (6)** (Fig. 5.6), la cual ha sido encontrada en diversas plantas, como es el caso de la *Artemisia albida* (Suleimenov et al., 2005) y recientemente se le ha descrito importante actividad hipoglicémica contra diabetes (Anaya et al., 2014).

La recrystalización del compuesto **6** por medio de difusión utilizando CHCl_3 -hexano (1:10) nos permitió obtener cristales adecuados para difracción de rayos-X y corroborar su estructura (Fig. 5.6).

Por otro lado, las fracciones que se obtuvieron con mezclas de hexano-AcOEt (3:2, 1:1 y 3:7) se juntaron y se purificaron en gel de sílice usando CHCl₃-MeOH (8:2). En este proceso se obtuvo un sólido de color amarillo, que, de acuerdo a la comparación de sus datos de RMN de ¹H (Fig. 5.13, Tabla 5.3) con los de la **pectolarigenina** y la **eupatilina**, coincidieron con la flavona denominada **hispidulina (7)** (Fig. 5.6). El compuesto **7** se ha aislado de *S. organoides* (Cerde-García y Pereda-Miranda, 2002).

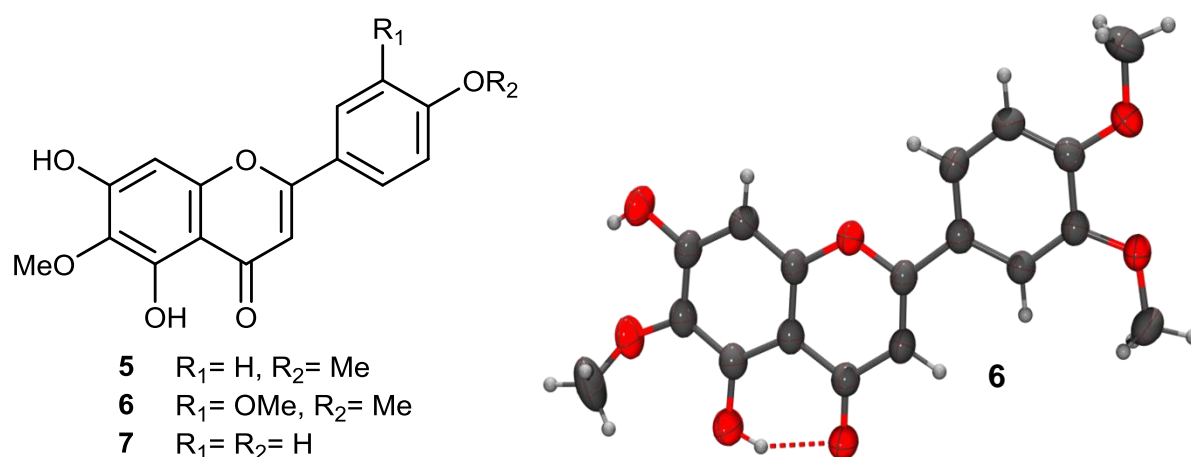


Figura 5.6. Flavonas aisladas de *S. pilosa* y estructura de rayos-X del compuesto **6**.

Tabla 5.3. Datos de RMN de ¹H de las flavonas **5**, **6** y **7**.

Posición	Compuesto δ en ppm, <i>m</i> (<i>J</i> en Hz)		
	5	6	7
3	6.87 s	6.92 s	6.79 s
8	6.62 s	6.62 s	6.60 s
2'	8.03 d	7.52 d (2.1)	7.93 d (8.8)
3'	7.11 d	-	6.93 d (8.8)
5'	7.11 d	7.09 d (8.5)	6.93 d (8.8)
6'	8.03 d	7.62 dd (8.5, 2.1)	7.93 d (8.8)

6-OMe	3.76 s	3.75 s	-
3'-OMe	-	3.85 s	-
4'-OMe	3.86 s	3.82 s	3.75 s
C5-OH	13.05 sa	13.07 sa	13.09 s

s= simple, sa= simple ancha, d= doble, dd= doble de dobles.

Tabla 5.4. Datos de RMN de ^{13}C de los flavonoides **5** y **6**.

Posición	5	6
2	163.4	163.3
3	103.1	103.3
4	182.2	182.2
5	152.8	152.8
6	131.4	131.6
7	157.4	157.3
8	94.4	94.4
9	152.5	152.5
10	104.2	104.2
1'	122.9	122.9
2'	128.4	109.2
3'	114.6	149.0
4'	162.3	152.1
5'	114.6	111.5
6'	128.4	119.9
6-OMe	60.0	60.0
3'-OMe	-	55.8
4'-OMe	55.6	55.7

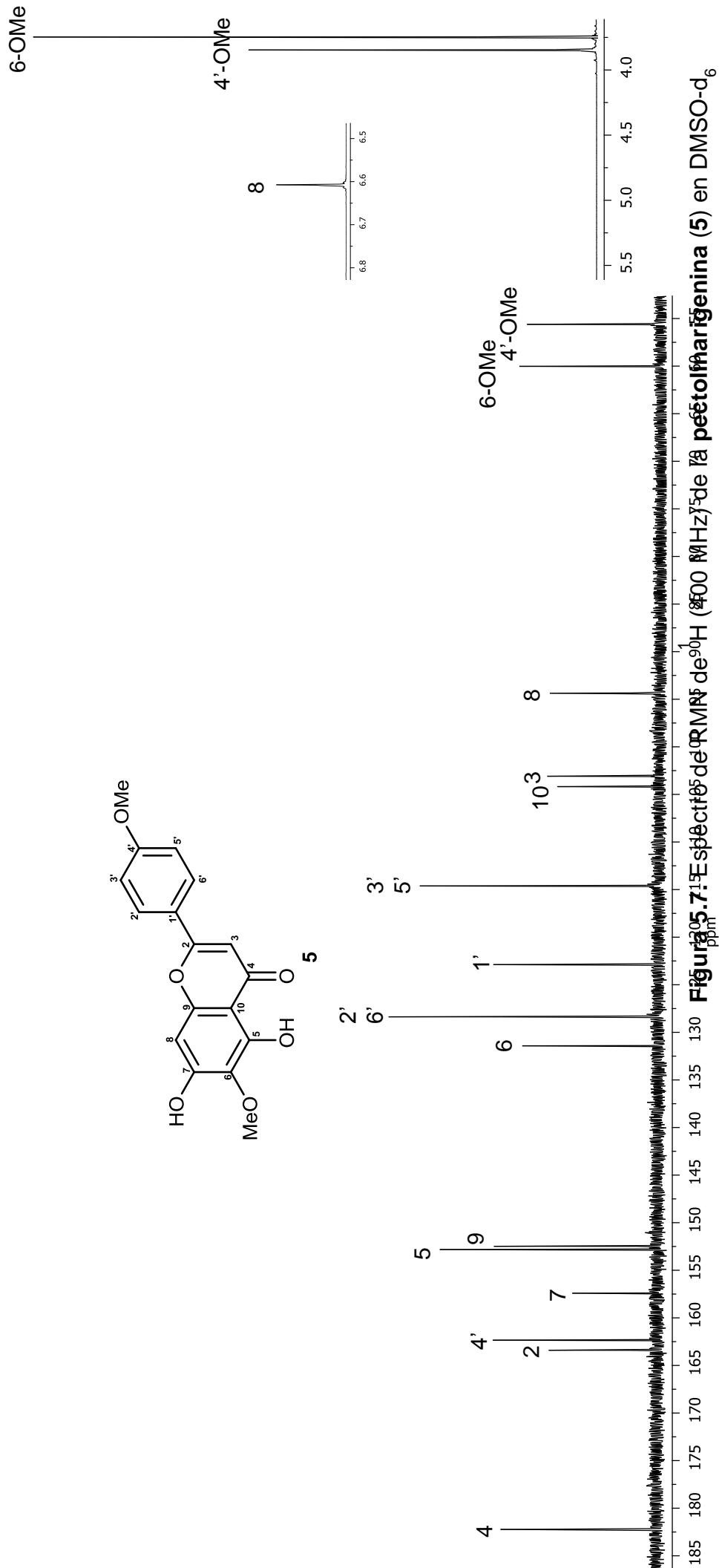


Figura 5.8. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) de la **pectolinarigenina (5)** en DMSO-d_6

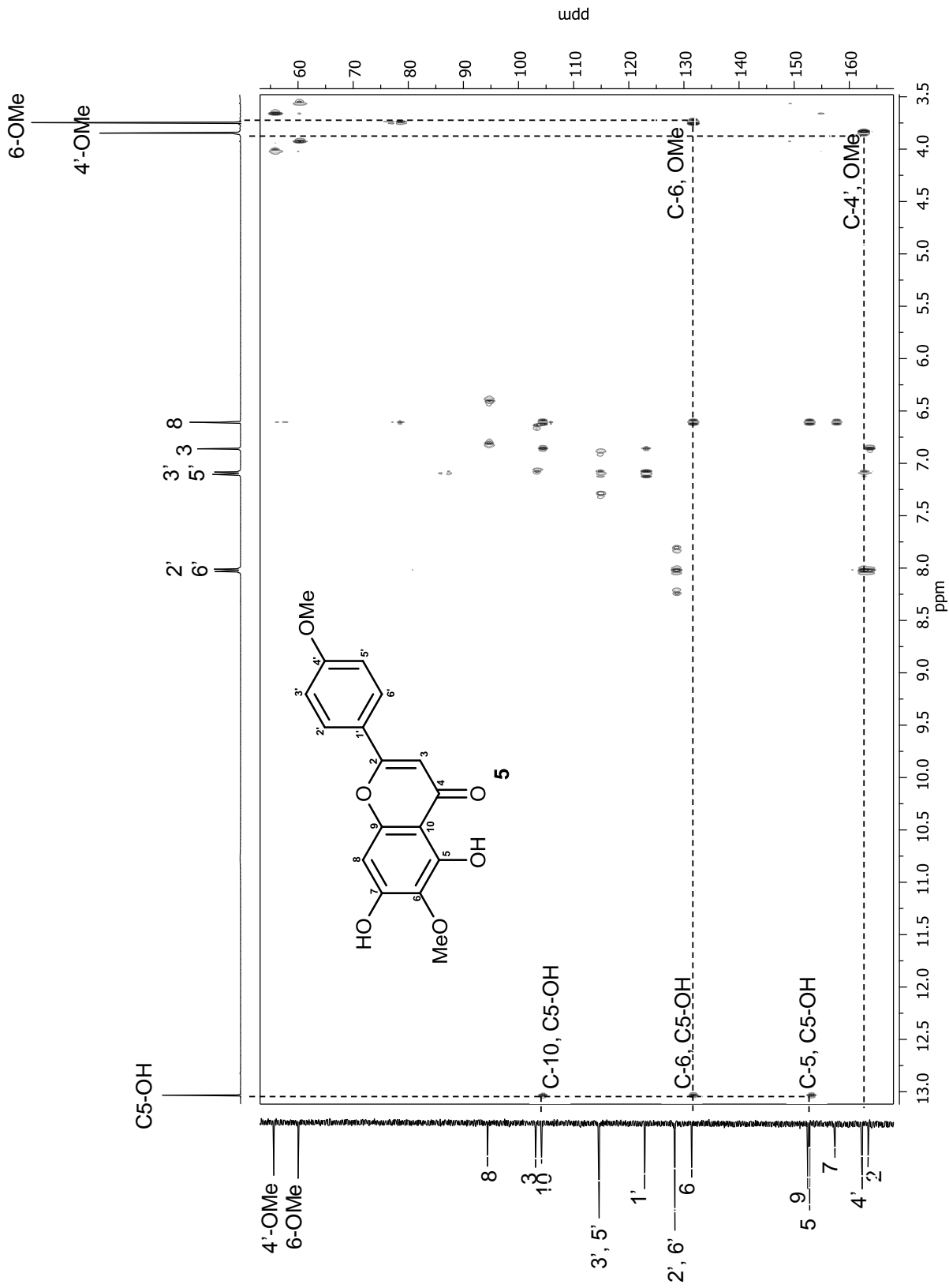


Figura 5.9. Espectro de RMN de HMBC de la pectolinarigenina (5) en DMSO-d₆

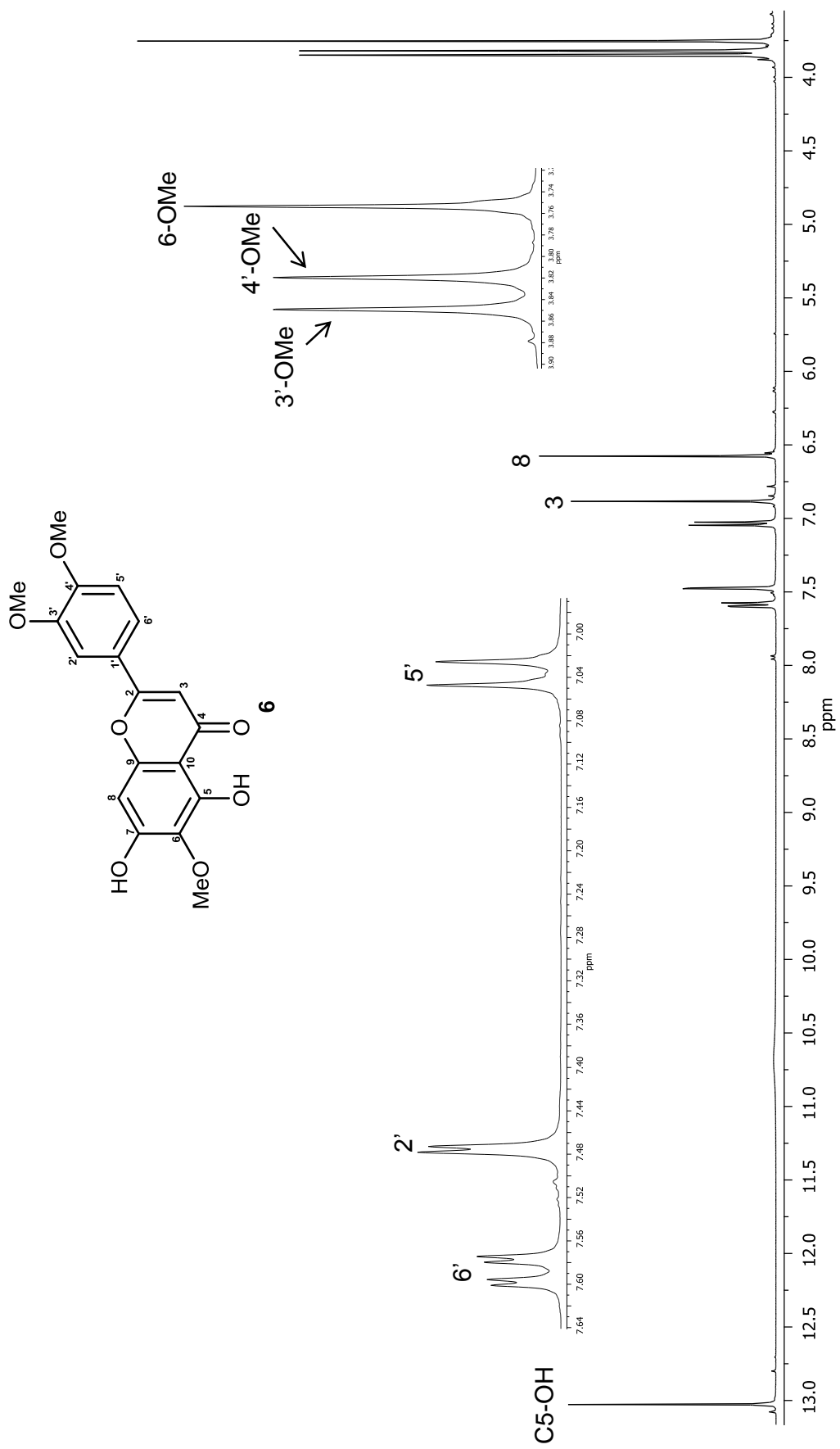


Figura 5.10. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) de la eupatiliina (6) en DMSO-d_6

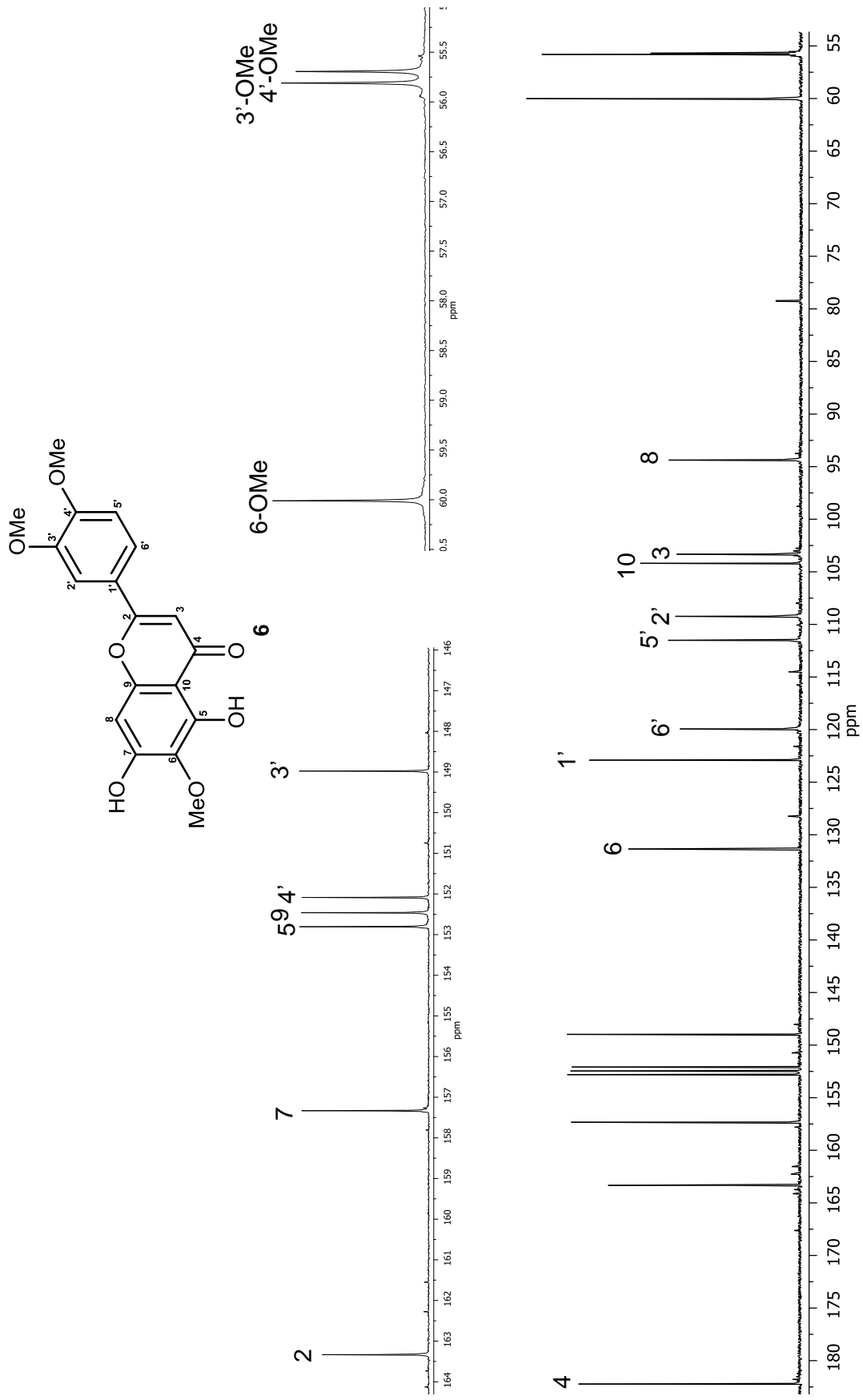


Figura 5.11. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) de la eupatiolina (6) en DMSO-d_6

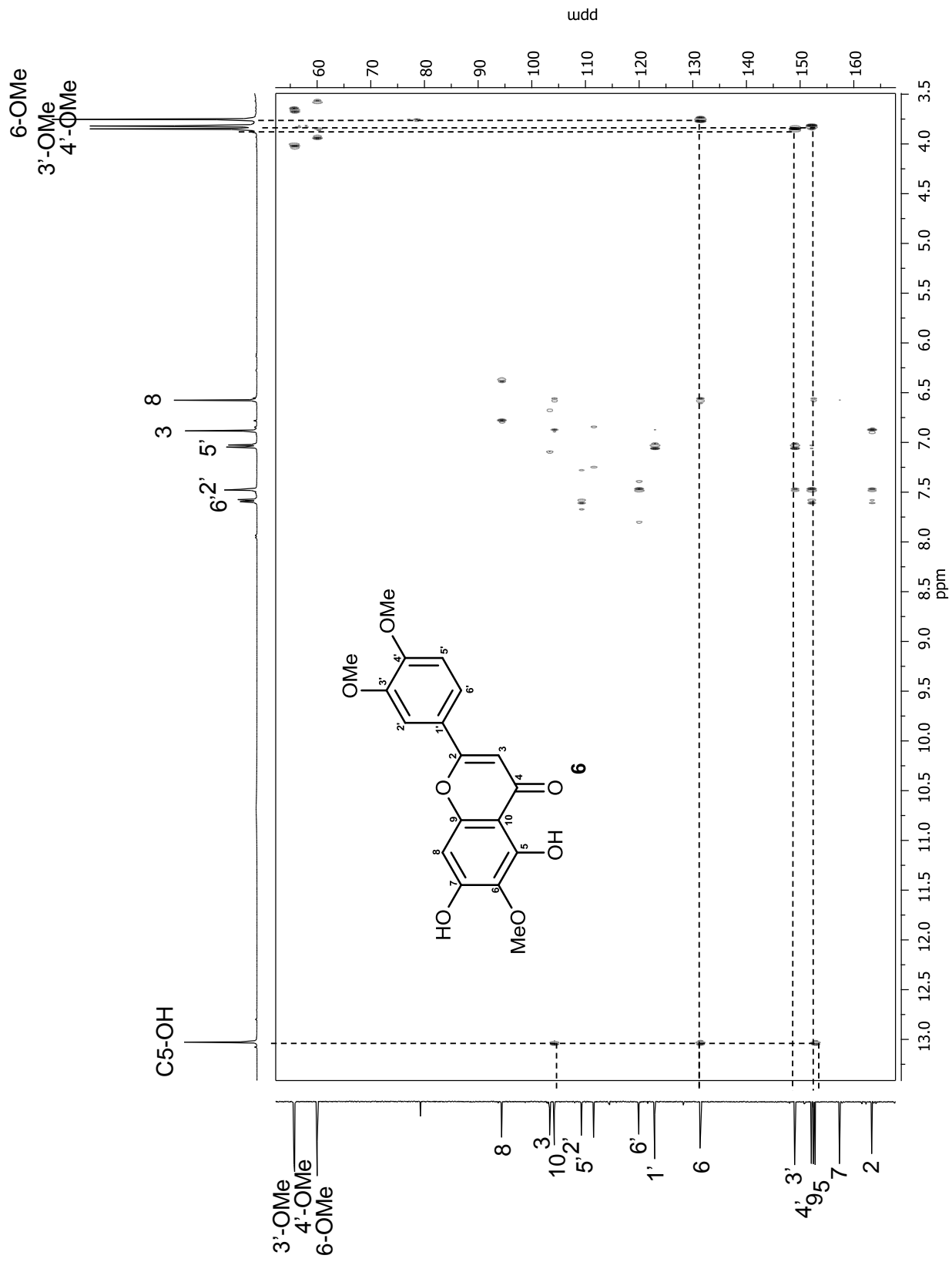


Figura 5.12. Espectro de RMN de HMBC de la eupatilina (6) en DMSO-d₆

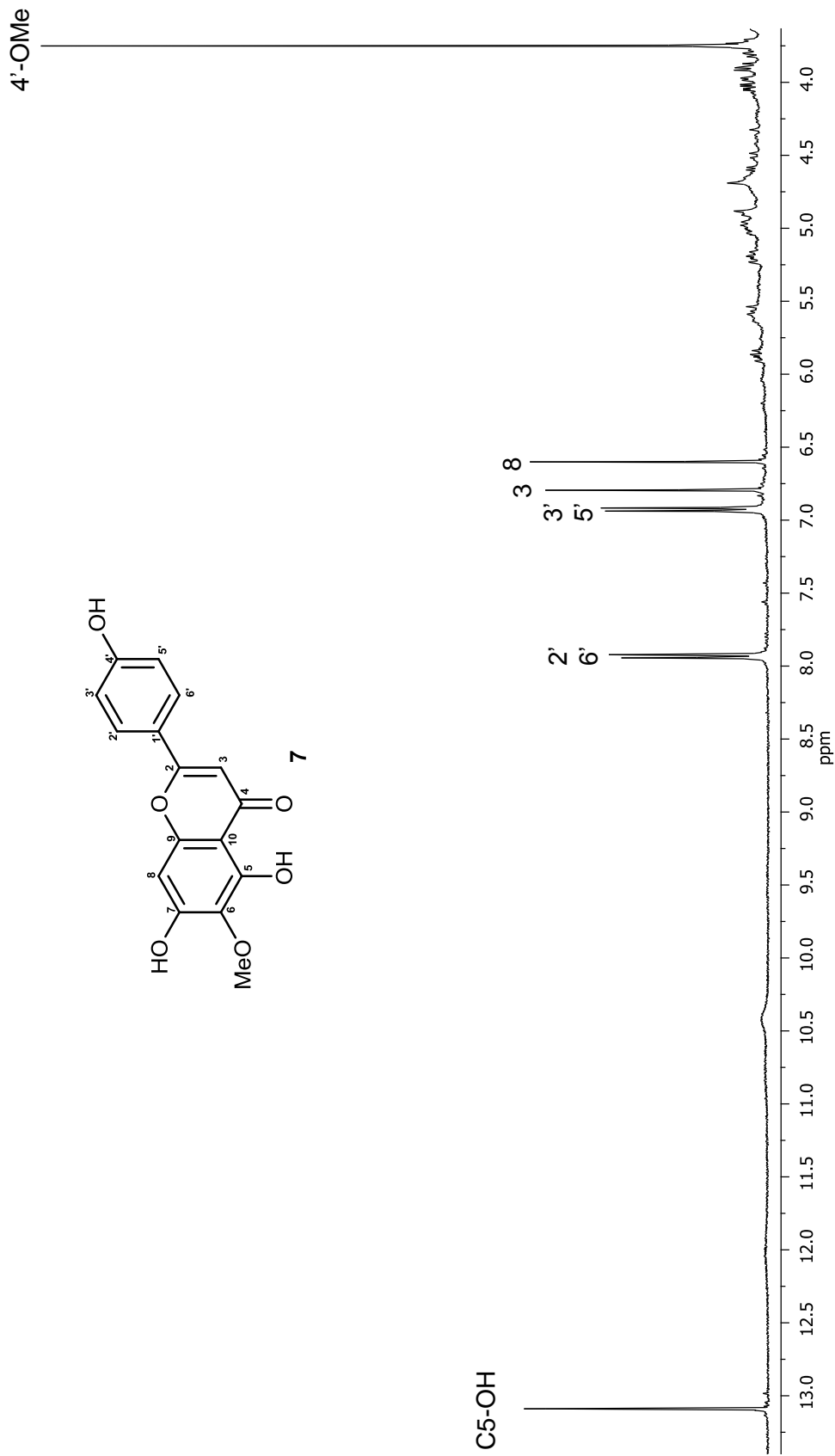


Figura 5.13. Espectro de RMN de ^1H (400MHz) de la hispidulina (7) en DMSO-d_6

5.2. Obtención y caracterización de la epazoyucina (8) aislada del extracto CHCl₃ de la parte aérea de *S. tomentosa*

El extracto CHCl₃ de la parte aérea de *S. tomentosa* se trató de la misma forma que el de *S. pilosa*. La fase clorofórmica obtenida se pasó por CC y las fracciones eluidas con CHCl₃ y CHCl₃-MeOH (9:1) se juntaron y recromatografiaron utilizando CHCl₃ y mezclas de CHCl₃-MeOH (19:1) para tener un sólido ligeramente amarillo, que al purificarlo generaron cristales blancos en forma de agujas. El resultado de sus datos físicos y espectroscópicos condujo a la estructura que se muestra en la fig. 5.14, y que correspondió a la nueva lactona sesquiterpénica que se nombró como **epazoyucina (8)**. Este es el primer caso de una guayanólida que posee dos grupos epóxido, y es el primer sesquiterpeno que contiene dos epóxidos en un anillo de 5 miembros, y además con un arreglo *syn* (Valdez-Calderón et al., 2013).

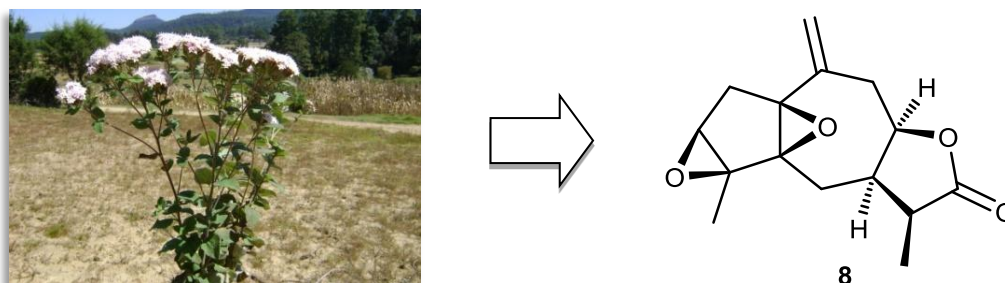


Figura 5.14. Estructura de la nueva guayanólida aislada de *S. tomentosa*.

Una parte de la **epazoyucina (8)** se envió a la Universidad de Sevilla donde se le realizaron pruebas de citotoxicidad en líneas celulares de colon, pulmón y piel en células sanas y cancerígenas por medio del método de sulforodamina B (SRB) el cual es un ensayo utilizado para determinar si un compuesto o producto tendrá efectos sobre células vivas; el compuesto fue prácticamente inactivo. Otra cantidad de esta lactona se destinó para determinar su espectro de dicroísmo circular vibracional (DCV), con la finalidad de confirmar su configuración absoluta.

El DCV es una técnica que se ha utilizado con mucho éxito para determinar la configuración absoluta de metabolitos secundarios de origen vegetal, por ejemplo los diterpenos tipo verticileno (Cerde-García-Rojas et al., 2005). Esta técnica espectroscópica consiste en la diferencia de absorción de la radiación infrarroja circularmente polarizada a la derecha e izquierda por parte de enantiómeros de una sustancia quiral. Se grafica esta diferencia originando un espectro que se compara con el obtenido mediante cálculos de teoría de funcionales de la densidad (DFT) para uno de los enantiómeros, cuya configuración absoluta es establecida por uno mismo al construir la molécula que se alimentará al cálculo.

Para la epazoyucina, el estudio se inició con el cálculo de la distribución conformacional utilizando el protocolo Monte Carlo y Mecánica Molecular. Este cálculo condujo a 6 confórmeros cuyo rango de energía relativa fue de 0–5 kcal/mol. Estos confórmeros se llevaron a un cálculo de energía (single point, 0 K) usando DFT y al nivel de teoría B3LYP/6-31G(d), seguido por una optimización de geometría y cálculo de frecuencias (IR y DCV) a 298 K para los primeros 2 confórmeros (Fig 5.15), cuyo rango de energía osciló entre 0–3 kcal/mol, usando el nivel de teoría

B3PW91/DGDZVP2. Los dos conformeros se muestran en la Fig. 5.14, donde uno de ellos, epazoyucina A, contribuye con el 96.66% a la población conformacional. Es decir, la molécula prácticamente existe en un sólo conformero, teniendo cierta movilidad en el anillo de siete miembros, particularmente en la zona del doble enlace exocíclico, como se puede ver en el conformero menos estable, epazoyucina B.

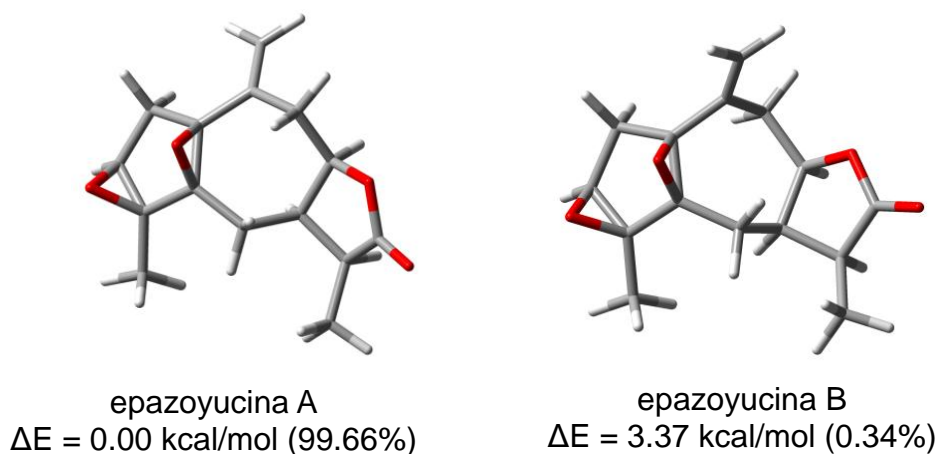


Figura 5.15. Conformeros que contribuyen mayormente en la estructura de la epazoyucina.

El compuesto **8** cristalizó de forma adecuada para un estudio de difracción de rayos-X con la utilización de una fuente de emisión de cobre. El resultado de este análisis se muestra en la fig. 5.16.

Cabe hacer notar, que el conformero más estable encontrado mediante este procedimiento es muy parecido a la estructura de rayos-X del producto natural, lo cual da confianza en los cálculos teóricos.

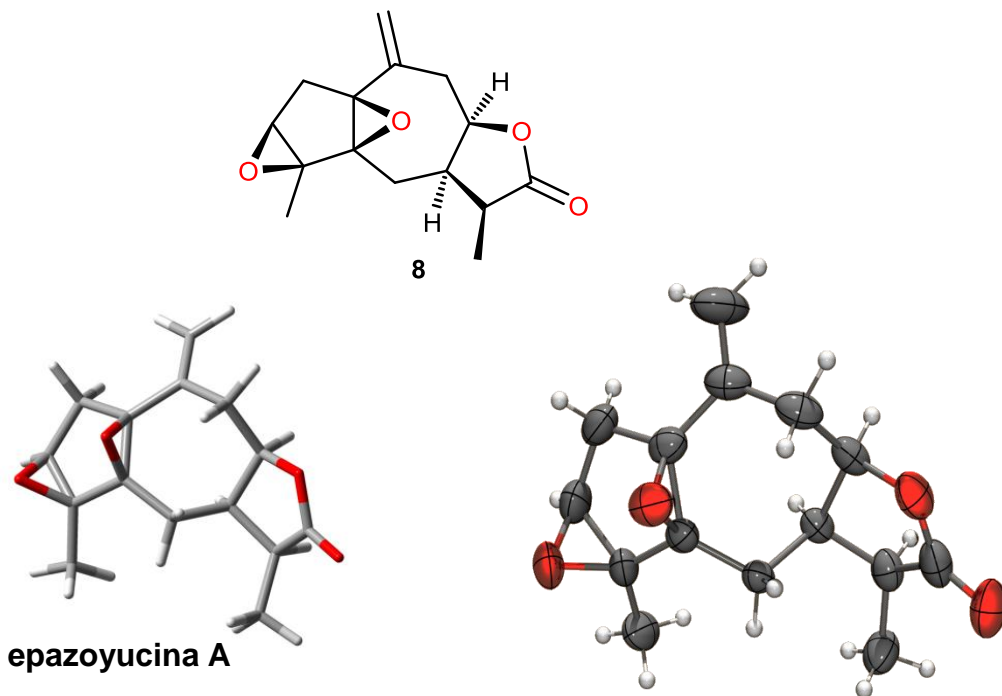


Figura 5.16. Estructura de difracción de rayos-X de la **epazoyucina (8)**.

5.3. Síntesis de derivados de crisina

5.3.1. Preparación de las 7-O-bromo-alquil-crisinas (9a-9e)

Con la intención de obtener derivados de flavonas con posible actividad biológica se consiguió de manera comercial el flavonoide crisina, el cual posee actividad antioxidante, antiviral, antidiabética, antiansiolítica, anticancerígeno, entre otras (Xing et al., 2003). Así, crisina (1 mmol) se hizo reaccionar con una serie de dibromo alcanos (5 mmol) y carbonato de potasio (2 mmol) en acetona a reflujo por 24 horas (Fig. 5.17). Transcurrido el tiempo, el producto de la reacción se filtró y se evaporó el disolvente obteniendo un sólido que se purificó mediante cromatografía en columna (CC) para dar las 7-O-bromoalquil crisinas (**9a-9e**), que se caracterizaron por RMN de ^1H y ^{13}C , y en algunos casos por rayos-X.

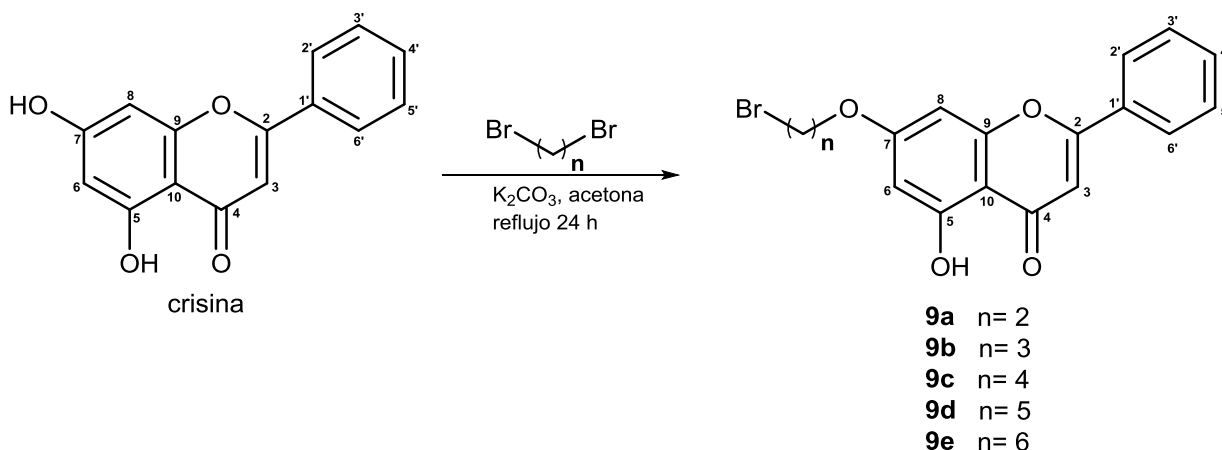


Figura 5.17. Obtención de 7-O-bromoalquil crisinas.

Como ejemplo de la caracterización por RMN se describe el caso de **9a**.

El compuesto **9a** se obtuvo al agregar el 1,2-dibromoetano en las condiciones mencionadas anteriormente. El producto de reacción se purificó por CC (gel de sílice)

utilizando como eluyente mezclas de hexano, hexano-AcOEt (9:1, 4:1 y 7:3) y acetato de etilo. De las fracciones eluidas con hexano-AcOEt (9:1) se obtuvieron cristales de color amarillo en forma de placas. Su espectro de RMN de protón en CDCl_3 (Fig. 5.19, Tabla 5.5) mostró una señal simple ancha en 12.71 ppm que integró para un protón, y que es característica del protón de hidroxilo en C-5 de un sistema de flavonoide. En 7.84 y 7.50 ppm se observaron dos señales múltiples que integraron para 2 y 3 protones típicas para H-2', H-6' y H-3', H-4', H-5' del anillo B. En 6.62 ppm se presentó una señal simple que integró para un protón y se identificó como H-3. Dos señales dobles en 6.47 y 6.32 ppm con una constante de acoplamiento de 2.2 Hz que hicieron suponer la presencia de los 2 hidrógenos aromáticos en posición *meta* etiquetados como H-8 y H-6. Se apreciaron dos señales triples en 4.32 ppm y 3.65 ppm con constante de acoplamiento de 6.2 Hz ubicadas para OCH_2 y BrCH_2 presentes en la cadena alifática de la estructura.

En el espectro de ^{13}C , en CDCl_3 (Fig. 5.20, Tabla 5.6), se observaron 15 señales para 17 carbonos, entre ellas la señal característica para carbono de un carbonilo en 182.5 ppm, entre 165 y 155 ppm aparecieron 4 señales típicas de carbonos aromáticos base de oxígeno para los carbonos en posición 2, 7, 5 y 9; de 135 a 90 ppm se observaron 10 señales para los carbonos aromáticos restantes y C-3. Adicionalmente, en 68.1 y 28.4 ppm se apreciaron las señales para el carbono unido a oxígeno (OCH_2) y el carbono unido a bromo (BrCH_2) de la cadena alifática.

El espectro HMBC en CDCl_3 (Fig. 5.21) presentó todas las correlaciones esperadas, siendo la más importante la del carbono C-7 con la señal triple para OCH_2 , con lo que

se comprobó que está presente la cadena alifática en la estructura y las correlaciones con H-6 y H-8 que corroboraron la posición 7.

Los espectros para los compuestos **9b-9e** se describen en las figuras 5.22-5.29 y en las tablas 5.5-5.6.

Como se mencionó, todos los compuestos de la serie **9a-9e** después de ser purificados se obtuvieron como cristales de color amarillo. Los compuestos **9a-9c** y **9e** son compuestos conocidos utilizados como intermediarios para la obtención de aminoalquil crisinas (Babu et al., 2006; Hu et al., 2011; Li et al., 2009); en el caso de **9d** se reporta por primera vez. Los derivados **9a**, **9c** y **9e** presentaron cristales adecuados para difracción de rayos-X (Fig. 5.18), los cuales no habían sido descritos.

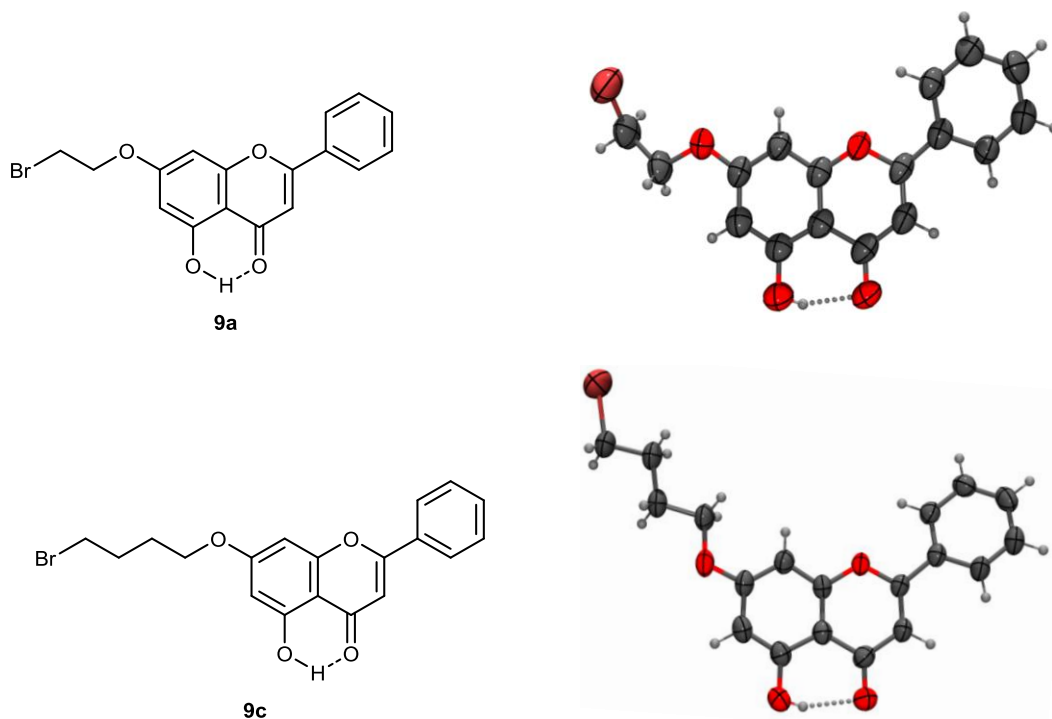


Figura 5.18. Estructuras químicas y de rayos-X de **9a**, **9c** y **9c**.

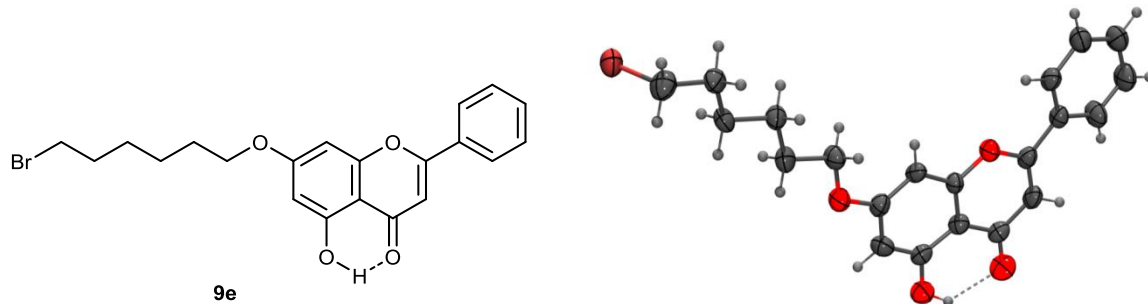


Figura 5.18 (continuación). Estructuras químicas y de rayos-X de **9a**, **9c** y **9e**.

Tabla 5.5. Datos de RMN de ^1H (400 MHz) de **9a-9e**, en CDCl_3 .

Posición	Compuesto				
	δ en ppm, <i>m</i> (<i>J</i> en Hz)				
	9a	9b	9c	9d	9e
3	6.62 s	6.67 s	6.66 s	6.64 s	6.65 s
6	6.32 d (2.2)	6.37 d (2.2)	6.34 d (2.2)	6.33 d (2.2)	6.35 d (2.2)
8	6.47 d (2.3)	6.52 d (2.2)	6.48 d (2.2)	6.47 d (2.2)	6.48 d (2.2)
2'	7.84 m	7.88 m	7.87 m	7.86 m	7.87 m
3'	7.51 m	7.54 m	7.53 m	7.52 m	7.53 m
4'	7.51 m	7.54 m	7.53 m	7.52 m	7.53 m
5'	7.51 m	7.54 m	7.53 m	7.52 m	7.53 m
6'	7.84 m	7.88 m	7.87 m	7.86 m	7.87 m
OH	12.71 sa	12.72 sa	12.71 sa	12.70 sa	12.70 sa
OCH ₂	4.32 t (6.2)	4.19 t (5.8)	4.07 t (6.0)	4.02 t (6.2)	4.02 t (6.4)
BrCH ₂	3.65 t (6.2)	3.61 t (6.3)	3.50 t (6.0)	3.45 t (6.7)	3.43 t (6.7)
OCH ₂ CH ₂	-	2.36 q (6.1)	1.99 m	1.84 m	1.83 m
BrCH ₂ CH ₂	-	-	2.08 m	1.94 m	1.91 m
OCH ₂ CH ₂ CH ₂	-	-	-	1.63 m	1.52 m
BrCH ₂ CH ₂ CH ₂	-	-	-	-	1.52 m

s= simple, sa= simple ancha, t= triple, c= cuádruple, m= múltiple

Tabla 5.6. Datos de RMN de ^{13}C (100 MHz) de **9a-9e**, en CDCl_3 .

Posición	Compuesto				
	9a	9b	9c	9d	9e
2	164.2	164.1	164.1	164.0	164.0
3	106.1	105.9	105.8	105.7	105.7
4	182.6	182.6	182.6	182.6	182.6
5	162.4	162.3	162.3	162.2	162.2
6	98.6	98.8	98.7	98.6	98.7
7	164.0	164.3	164.9	165.0	165.2
8	93.4	93.2	93.2	93.1	93.2
9	157.8	157.9	157.9	157.8	157.9
10	106.0	106.0	106.0	105.9	105.9
1'	132.0	132.0	132.0	131.9	131.9
2'	126.4	126.4	126.4	126.3	126.4
3'	129.2	129.2	129.2	129.2	129.2
4'	131.2	131.4	131.4	131.4	131.4
5'	129.2	129.2	129.2	129.2	129.2
6'	126.4	126.4	126.4	126.3	126.4
OCH ₂	68.2	66.0	67.6	68.3	68.5
BrCH ₂	28.4	29.0	33.4	33.7	33.9
OCH ₂ <u>CH</u> ₂	-	32.0	29.4	28.2	28.9
BrCH ₂ <u>CH</u> ₂	-	-	27.7	32.5	32.7
OCH ₂ CH ₂ <u>CH</u> ₂	-	-	-	24.8	25.3
BrCH ₂ CH ₂ <u>CH</u> ₂	-	-	-	-	28.0

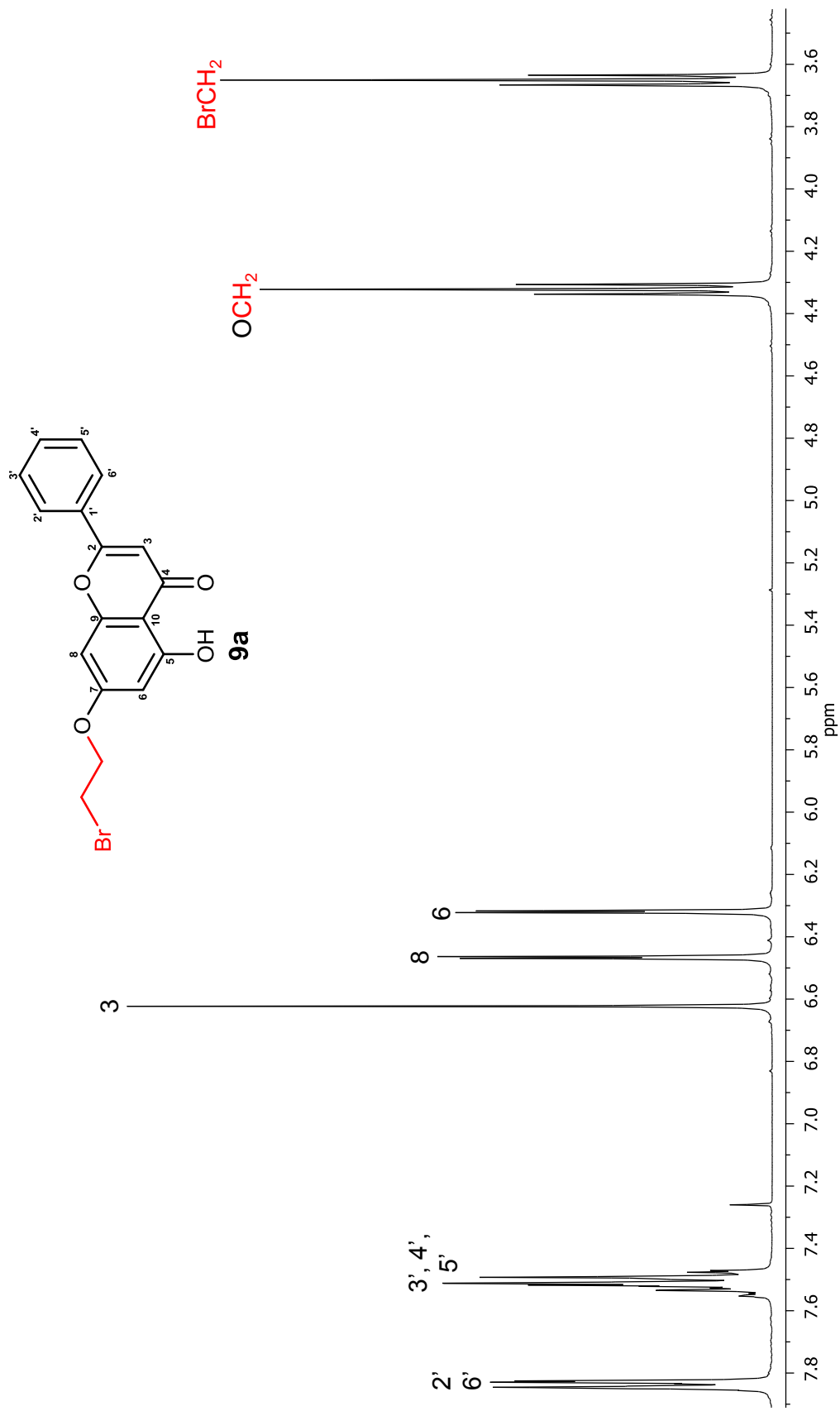


Figura 5.19. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) de la 7-O-(2-bromoetil)-crisina (**9a**) en CDCl_3

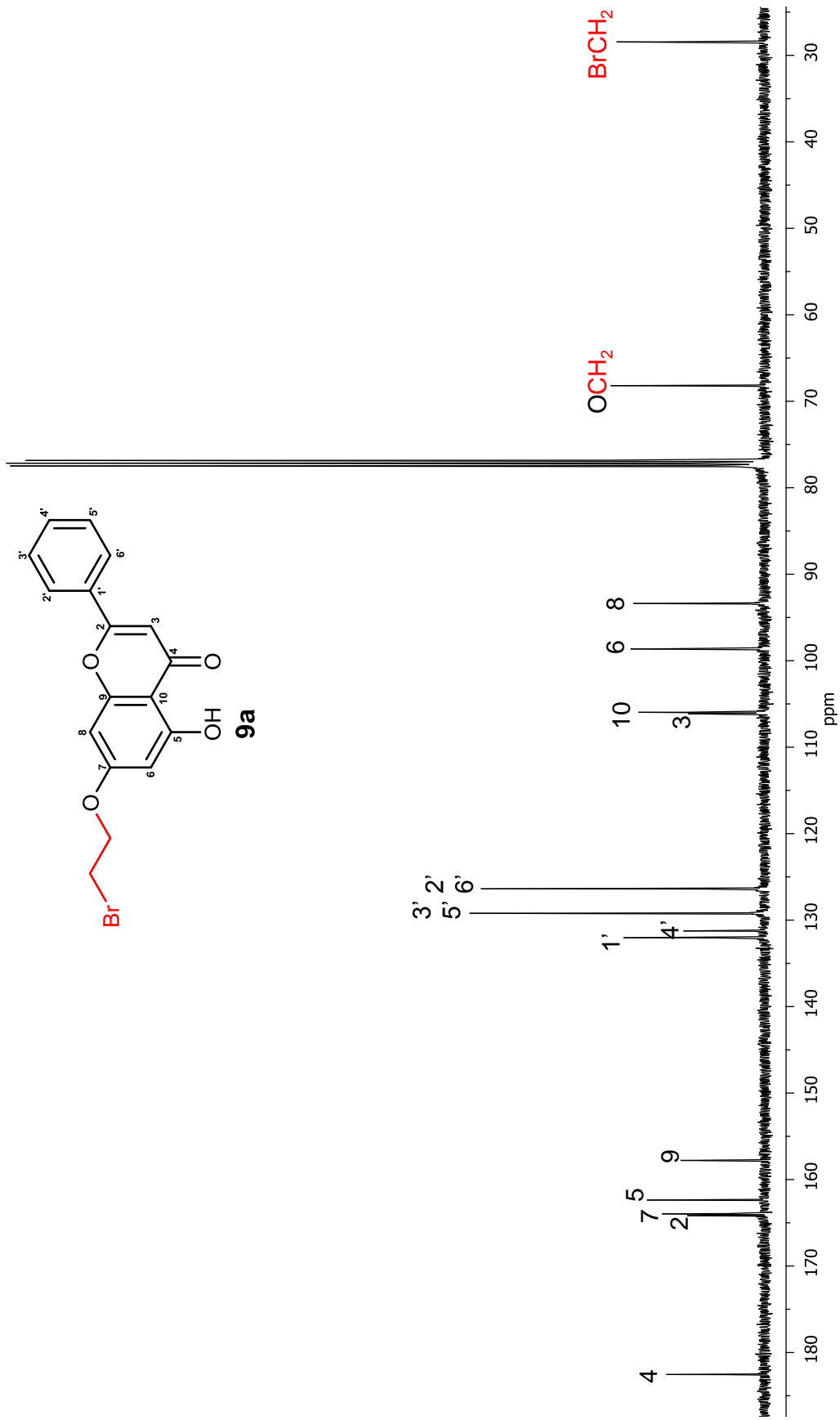


Figura 5.20. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) de la 7-O-(2-bromoetil)-crisina (9a) en CDCl_3

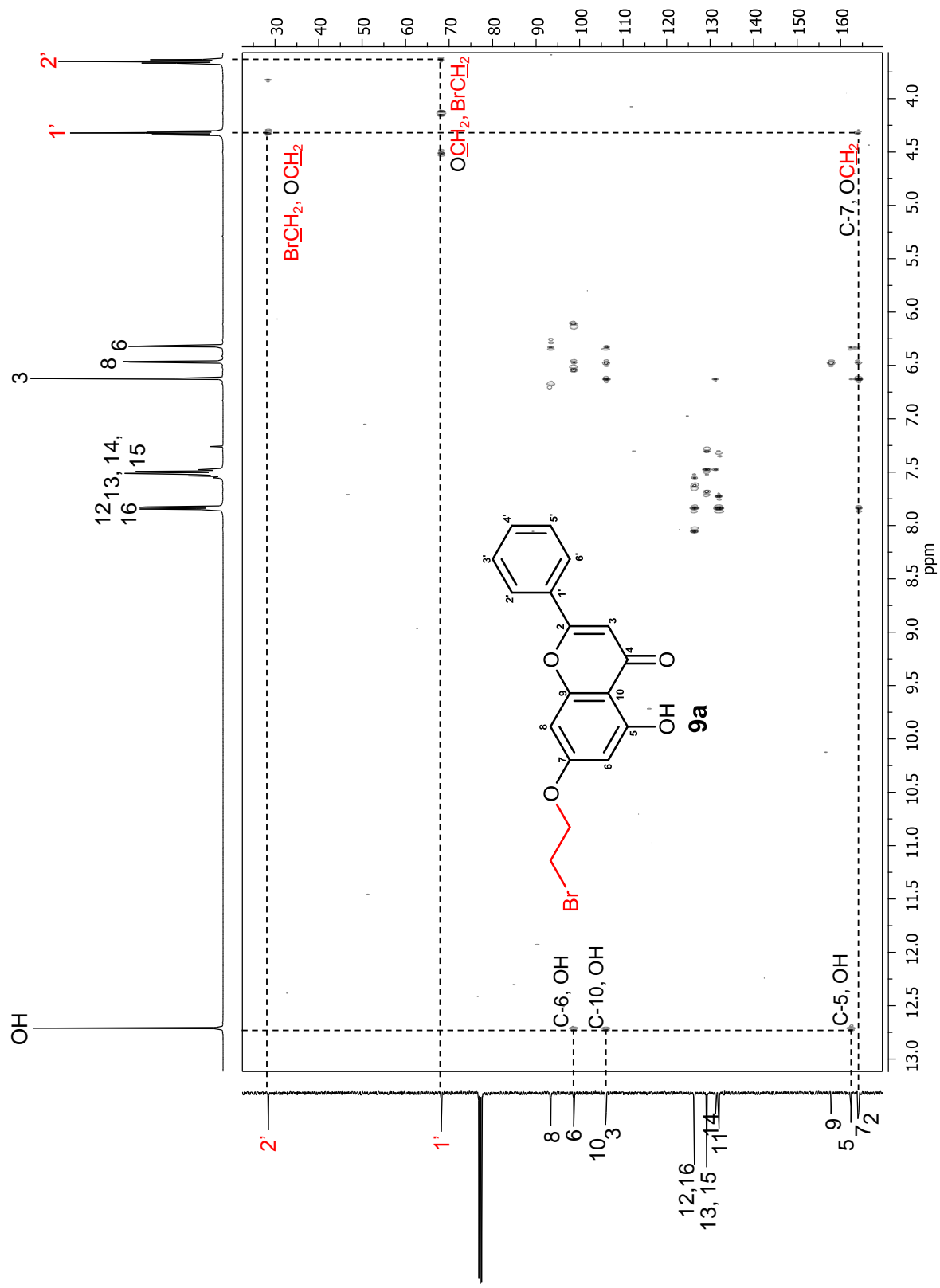


Figura 5.21. Espectro de RMN-HMBC de la 7-O-(2-bromoetil)-crisina (9a) en CDCl₃

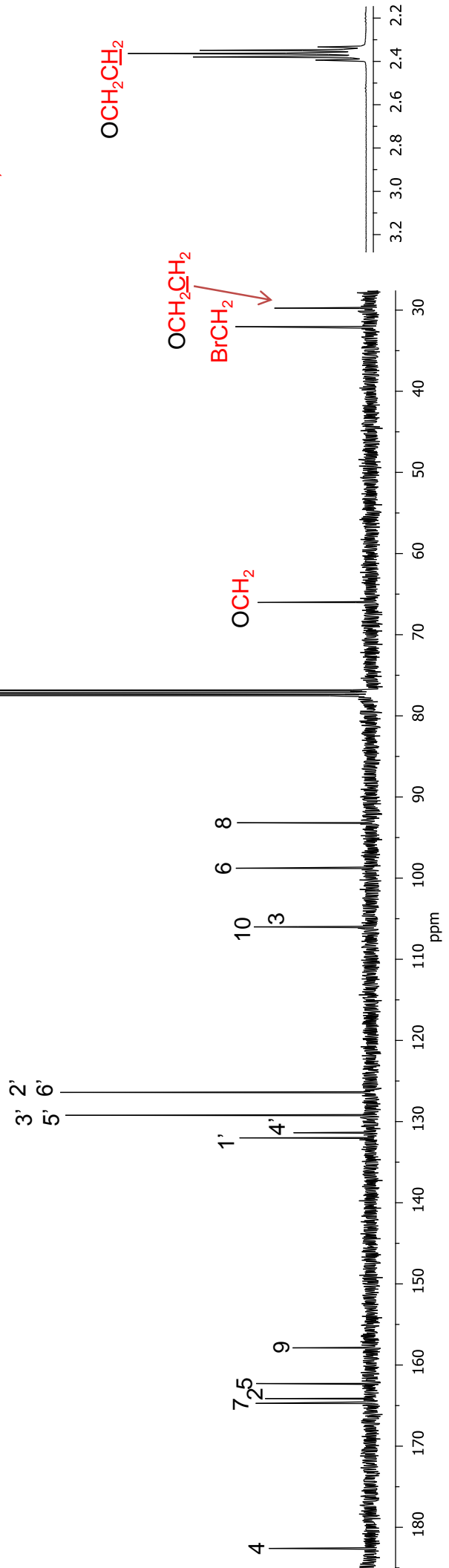
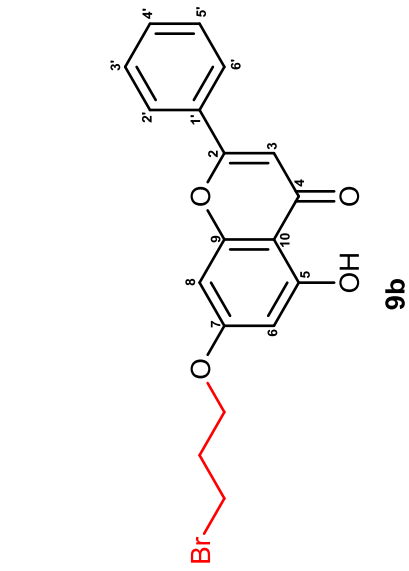


Figura 5.23. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) de la 7-O-(3-bromopropil)-crisina (**9b**) en CDCl_3

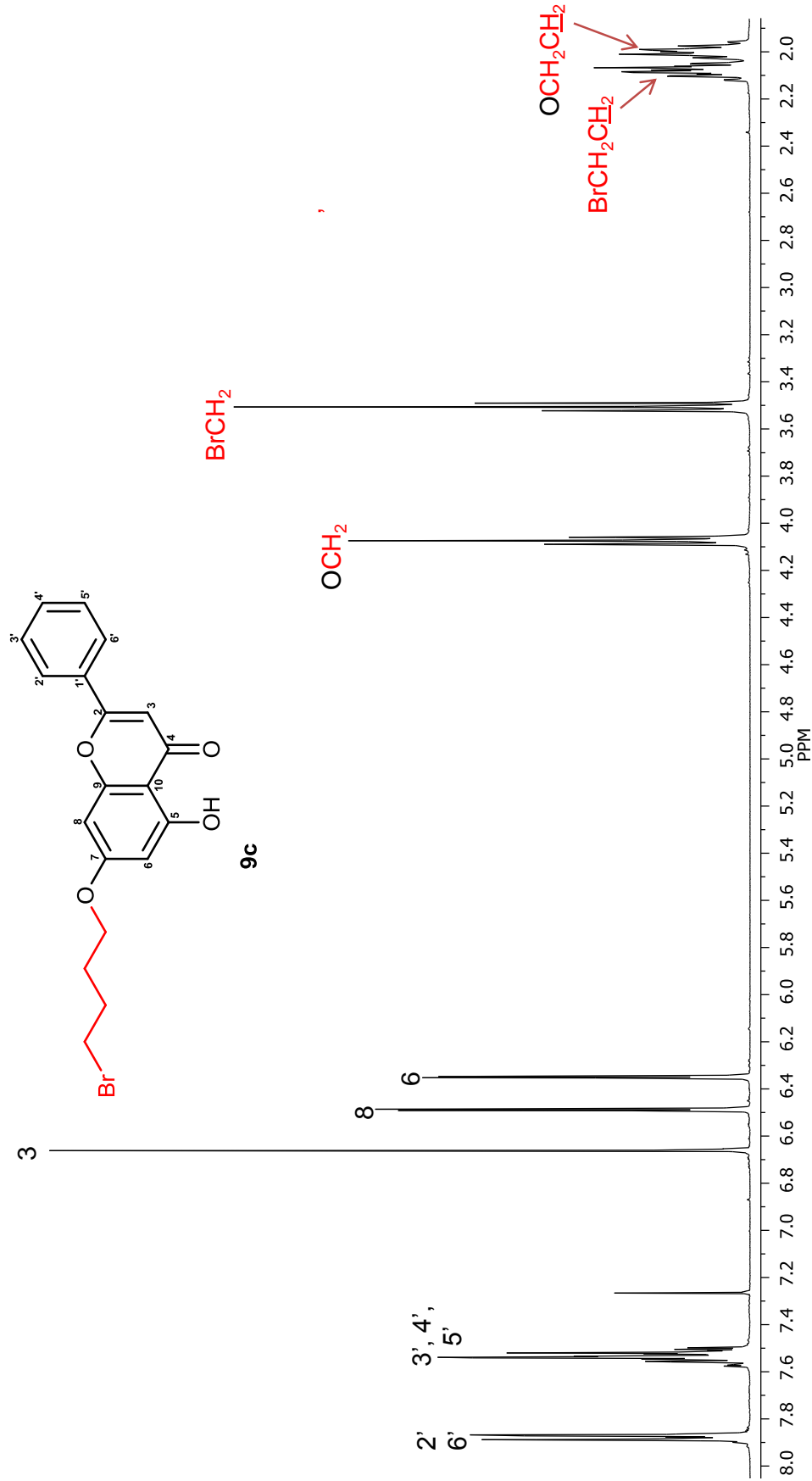


Figura 5.23. Espectro de RMN de ^{13}C de la 7-O-(3-bromopropil)-crisina (**9b**) en CDCl_3

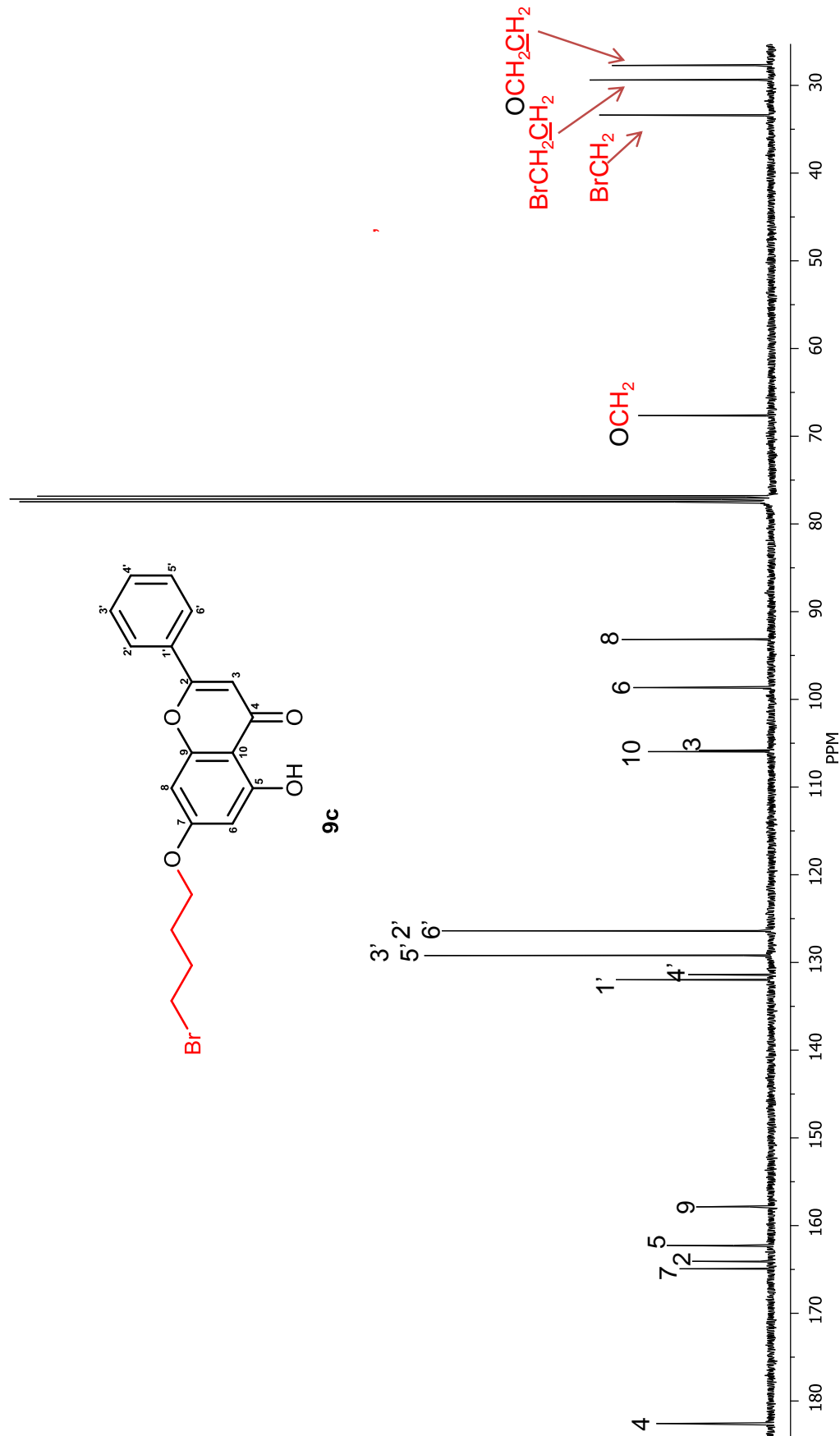


Figura 5.24. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) de la 7-O-(4-bromobutil)-crisina (**9c**) en CDCl_3
Figura 5.23. Espectro de RMN de ^{13}C de la 7-O-(3-bromopropil)-crisina (**9b**) en CDCl_3

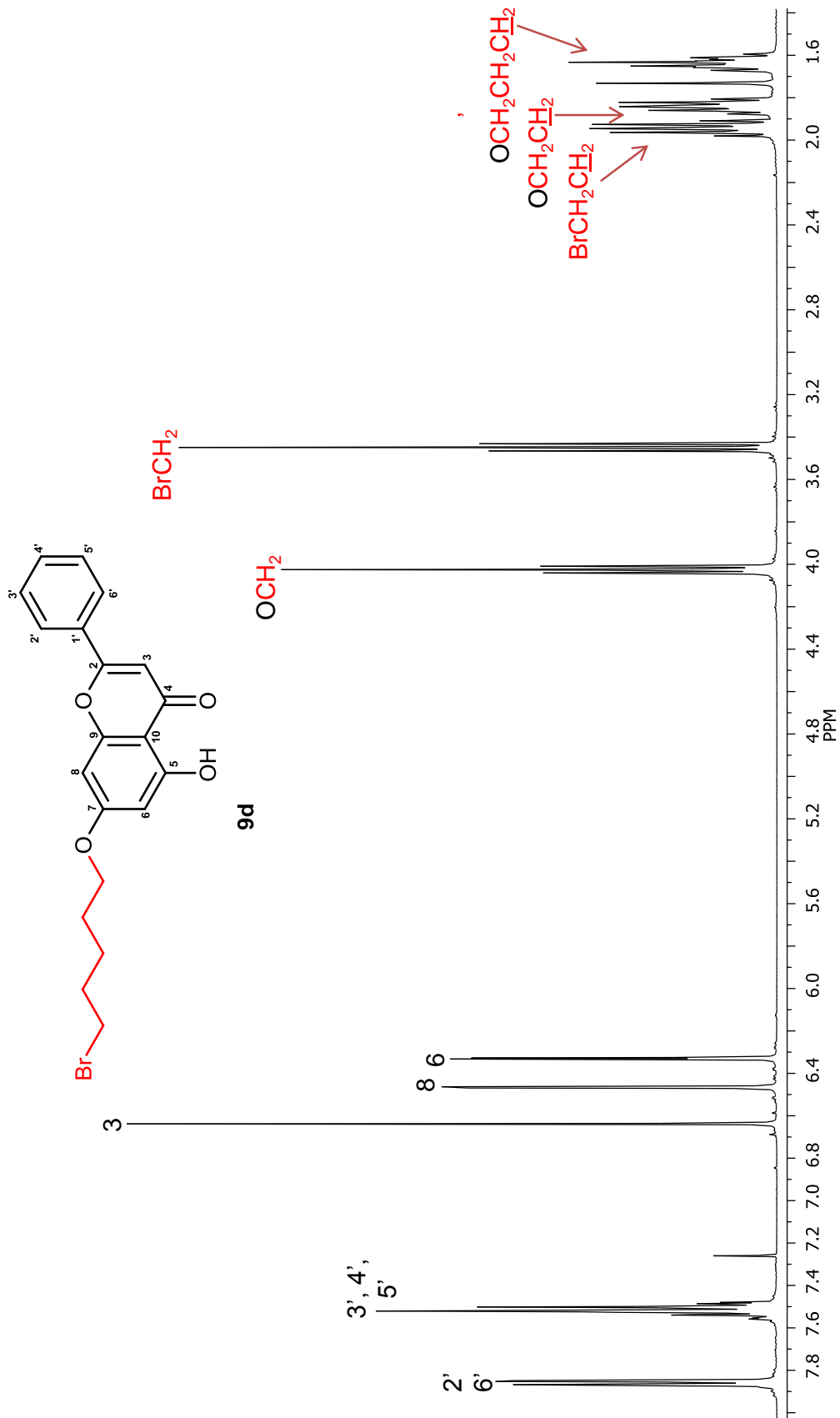


Figura 5.25. Espectro de RMN de ¹³C (100 MHz) de la 7-O-(4-bromobutil)-crisina (**9c**) en CD
Figura 5.23. Espectro de RMN de ¹³C de la 7-O-(3-bromopropil)-crisina (**9b**) en CD

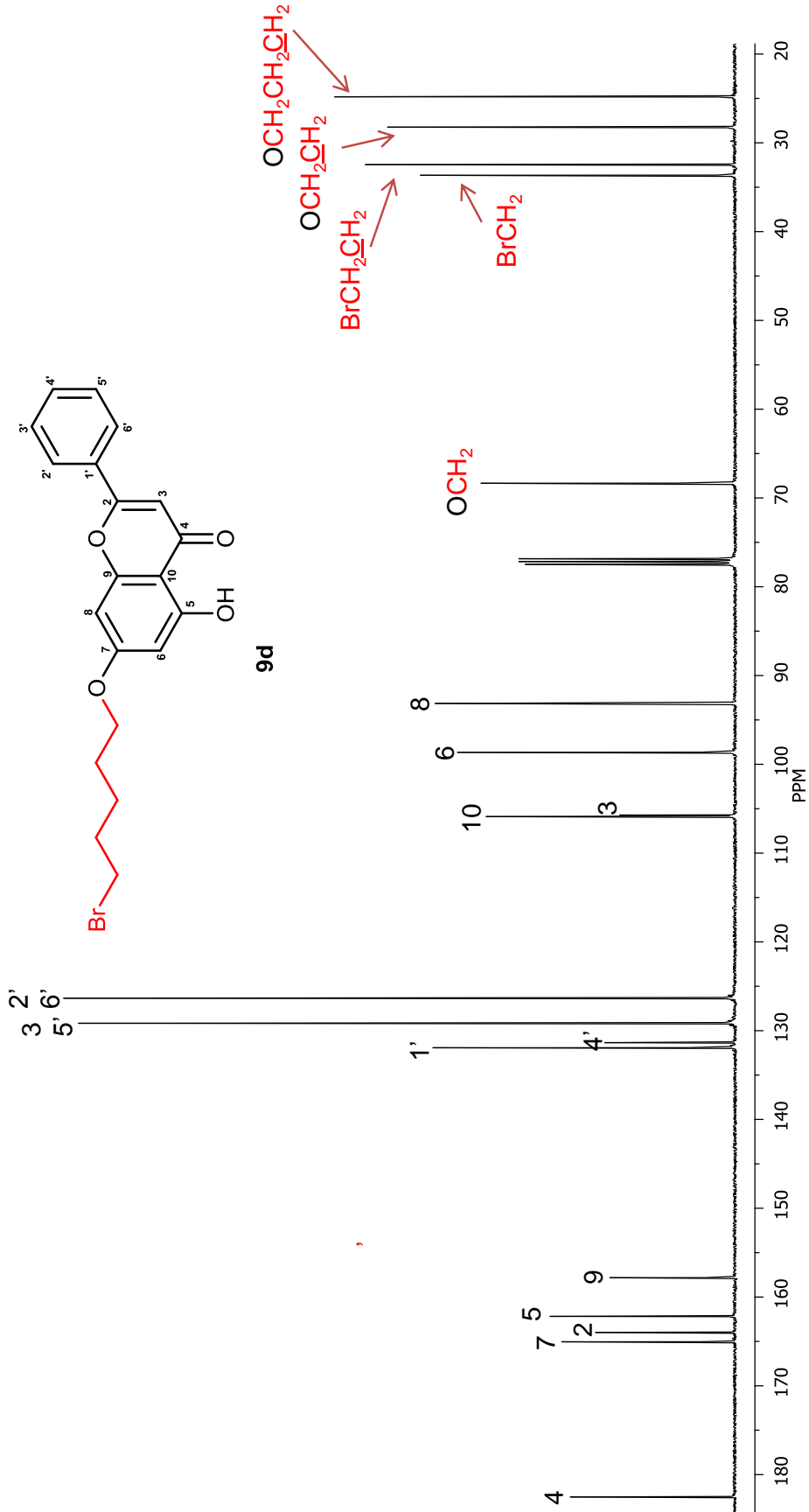


Figura 5.26. Espectro de RMN de ¹H (400 MHz) de la 7-O-(5-bromopentil)-crisina (**9d**)
Figura 5.23. Espectro de RMN de ¹³C de la 7-O-(3-bromopropil)-crisina (**9b**)

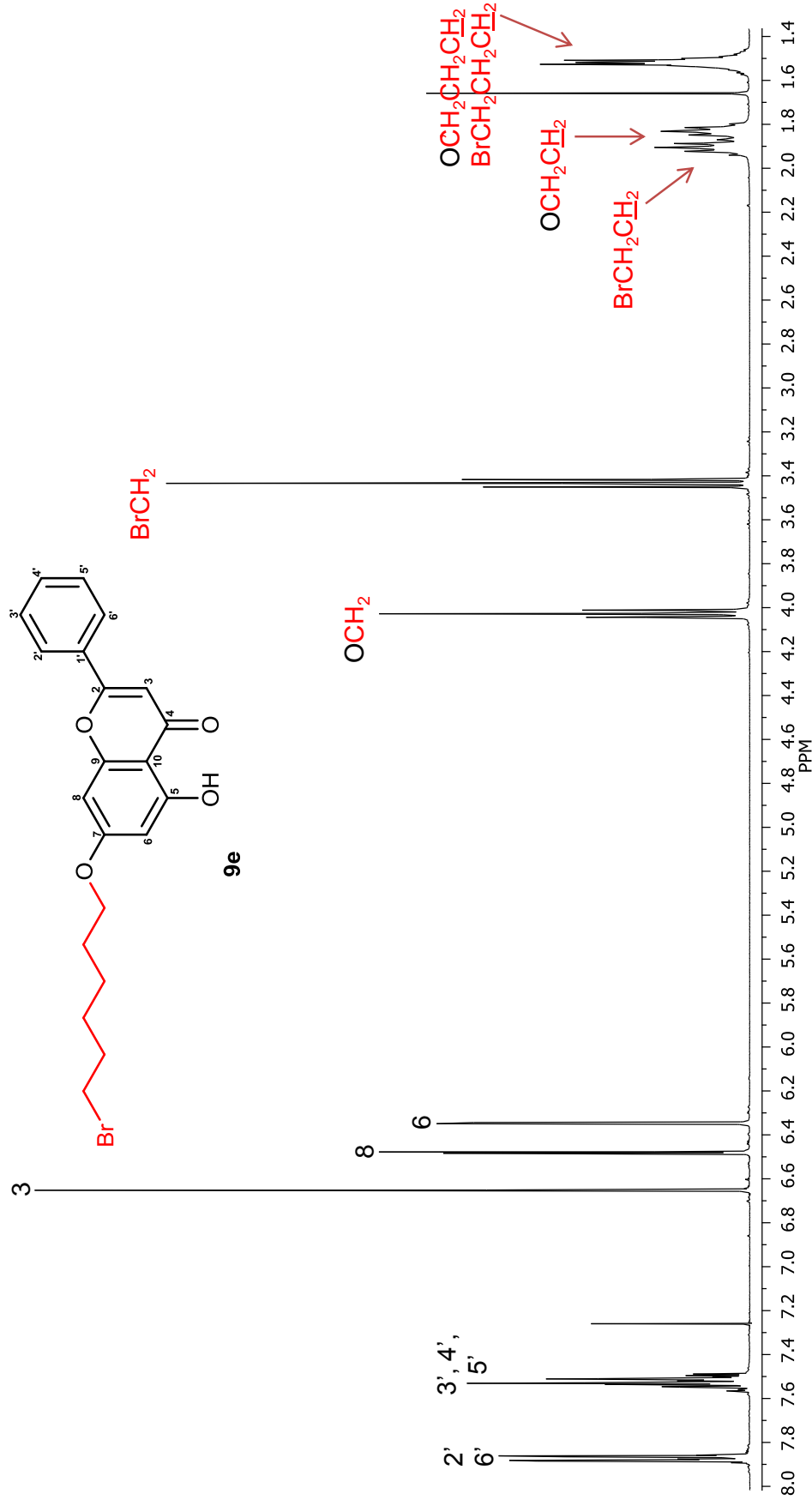


Figura 5.27. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) de la 7-O-(5-bromopentil)-cri

Figura 5.23. Espectro de RMN de ^{13}C de la 7-O-(3-bromopropil)-crisi

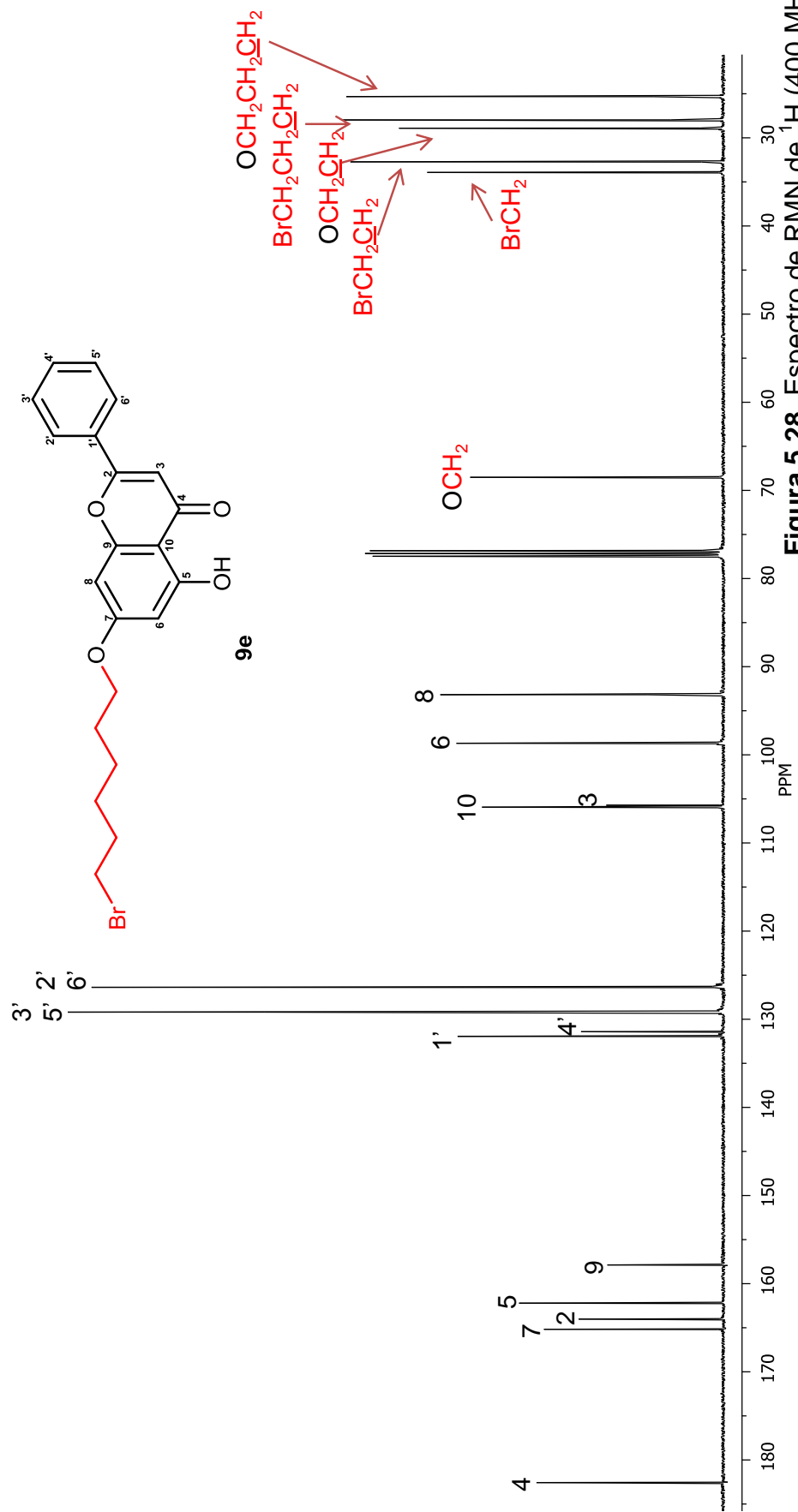


Figura 5.28. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) de la 7-O-(6-bromohe

^{13}C (100 MHz) de la 7-O-(6-bromohexil)-crisina (**9e**) en CDCl_3

Figura 5.23. Espectro de RMN de ^{13}C de la 7-O-(3-bromoprop

5.3.2. Preparación de las 7-O-[(piridin-2-il-tio)-alquil] crisinas (10a-10e)

Cada uno de los compuestos de la serie **9a-9e** (1 mmol) se hicieron reaccionar con la 2-mercaptopiridina (1 mmol) y carbonato de potasio (2 mmol) en tolueno a reflujo por 48 horas (Fig. 5.30). Transcurrido el tiempo, el producto de la reacción se filtró y se evaporó el disolvente. En cada caso se obtuvo un sólido que se purificó por CC para obtener los compuestos **10a-10e**.

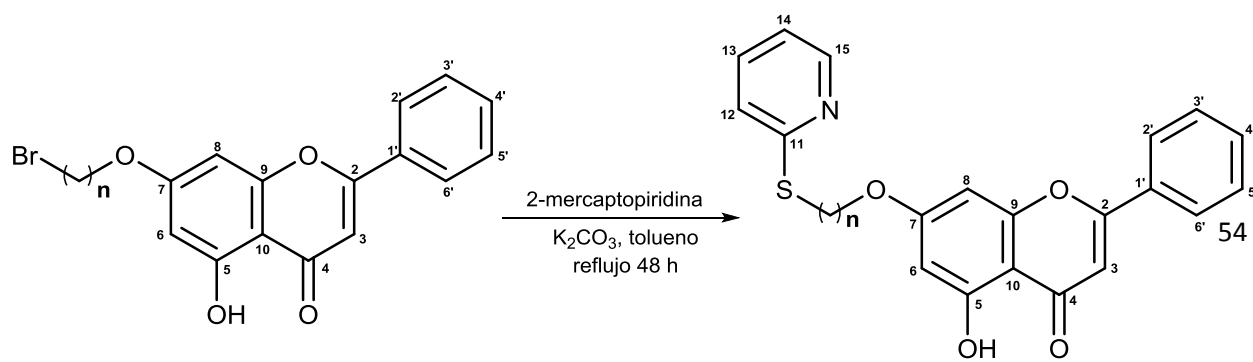
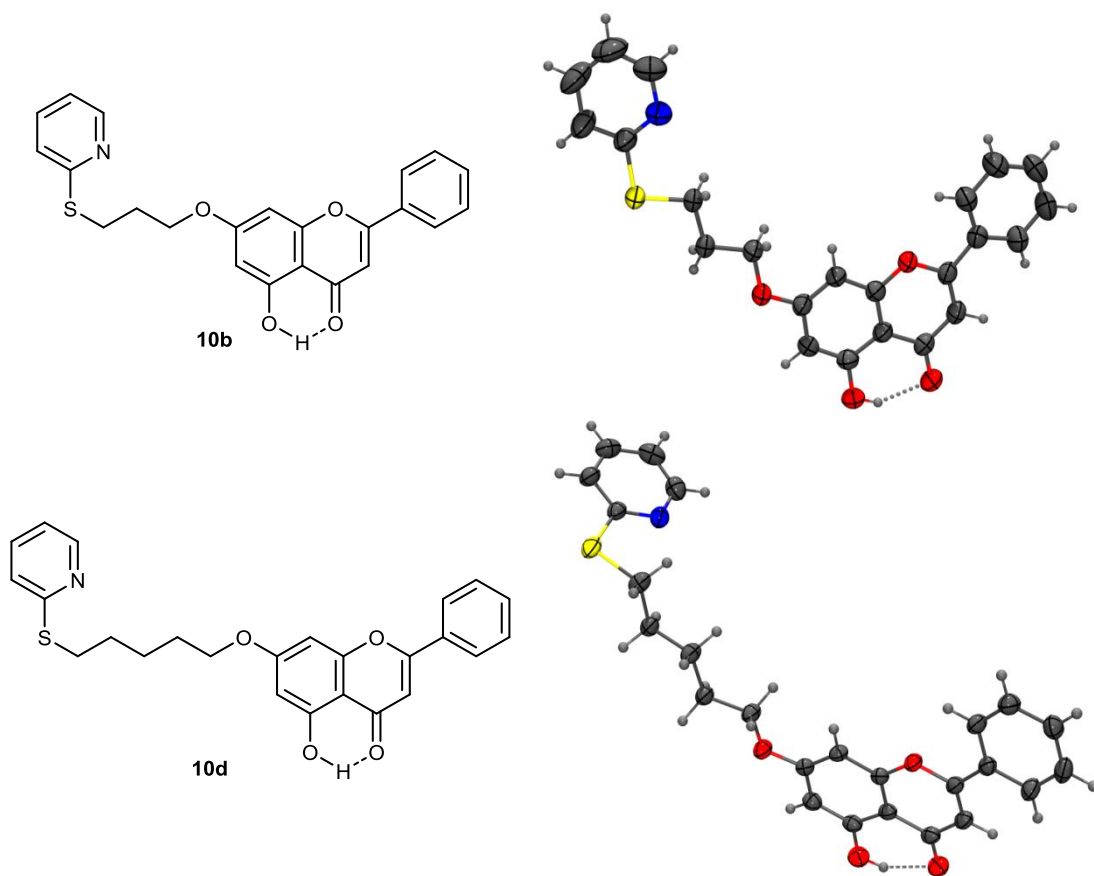


Figura 5.30. Condiciones de reacción para la obtención de los compuestos **10a-10e**.

Los compuestos de esta serie se cristalizaron por el método de evaporación lenta utilizando CHCl_3 o tolueno y por difusión usando mezclas de CHCl_3 -MeOH (10:1) y CHCl_3 -hexano (10:1) obteniendo cristales amarillos en forma de placas y filamentos de los cuales los compuestos **10b** y **10d-e** fueron adecuados para difracción de rayos-X (Fig. 5.31). En el caso de **10e** se observaron dos confórmeros en la celda cristalina.



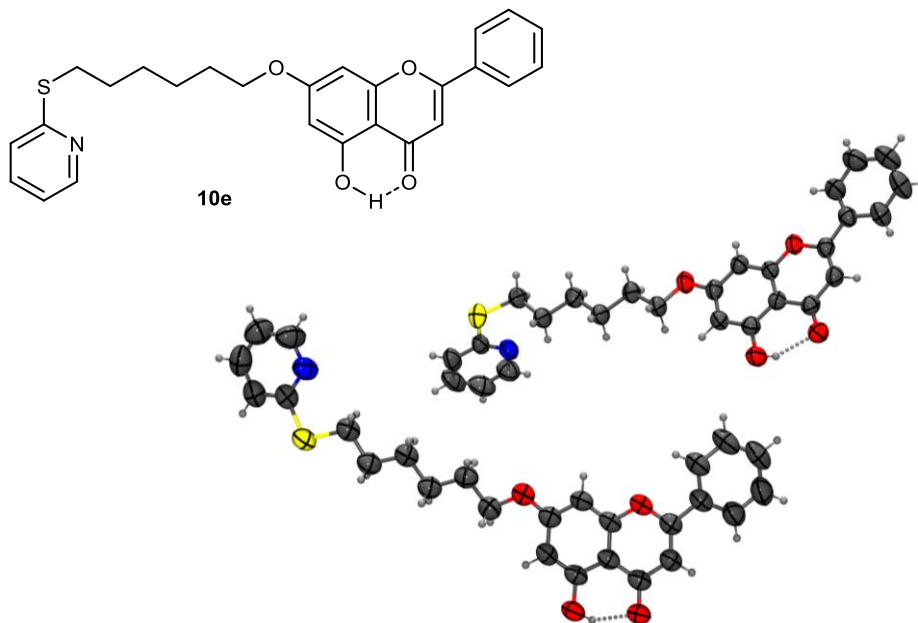


Figura 5.31. Estructuras químicas y de rayos-X de **10b**, **10d** y **10e**.

Debido a la similitud estructural de los compuestos de la serie, a continuación se describe la caracterización del compuesto **10b** a manera de ejemplo.

El compuesto **10b** se obtuvo con las condiciones mencionadas anteriormente. El producto de reacción se pasó por CC (gel de sílice) utilizando como eluyente mezclas de hexano-acetato de etilo (9:1, 4:1 y 7:3). De las fracciones eluidas con hexano-AcOEt (4:1) se obtuvieron cristales de color amarillo.

Su espectro de RMN de protón en CDCl_3 (Fig. 5.34, tabla 5.7) mostró la señal simple ancha en 12.71 ppm característica del protón de hidroxilo en C-5. En 8.42 ppm se observó una señal doble de doble de dobles con $J = 4.9, 1.8$ y 0.9 que integró para 1 protón y se etiquetó como H-15 parte del anillo de piridina. En 7.88 ppm se presentó una señal múltiple que integró para dos protones que se identificaron como H-2' y H-

6'. Alrededor de 7.54 ppm se observó otra señal múltiple que integró para 3 protones debido a los protones H-3', H-4' y H-5'. Entre 7.50 y 6.90 ppm se observaron las señales restantes para los protones del anillo de piridina (H-12, H-13 y H-14). El protón en la posición 12 se apreció como una señal doble de dobles con acoplamientos *orto* (7.5 Hz) y *meta* (1.8 Hz); H-13 se observó como una señal doble de triples con constantes de acoplamiento 8.1 y 0.9 Hz, mientras que H-14 presentó una señal doble de doble de dobles con constantes de acoplamiento de 7.3, 4.9 y 1.0 Hz. Los protones en posición 3, 8 y 6 se observaron como señales simple, doble y doble ($J = 2.2$ Hz) en 6.67, 6.51 y 6.37 ppm respectivamente. Las señales de la cadena alifática se observaron en 4.19, 3.37 y 2.25 ppm para las posiciones OCH₂, OCH₂CH₂ y SCH₂. Para los protones de carbono unido a oxígeno y azufre se observó una señal triple con una constante de acoplamiento de 6.0 Hz para cada uno. En el caso de los protones en la posición OCH₂CH₂ se presentó una señal quintuple con una constante de acoplamiento de 6.6 Hz.

El espectro COSY (Fig. 5.35) corroboró las asignaciones para los protones del anillo de piridina y la cadena alifática en la estructura. Para el protón en la posición 15 se observó una señal doble de doble de dobles en 8.42 ppm con acoplamientos *orto* (4.9 Hz), *meta* (1.8 Hz) y *para* (0.9 Hz) y presentó una correlación con un protón en 6.97 ppm de multiplicidad doble de doble de dobles (7.3, 4.9 y 1.0 Hz) y que se etiquetó como H-14. Este protón presentó correlación con H-13 (td, $J = 7.5$ y 1.8 Hz). A su vez H-13 correlacionó con H-12 que se identificó en 7.19 como una señal doble de triples

(8.1 y 0.9 Hz). Para el caso de la cadena alifática se corroboró la posición OCH_2CH_2 al observarse las correlaciones con OCH_2 y SCH_2 .

En el espectro de ^{13}C , en CDCl_3 (Fig. 5.36, Tabla 5.8), se observaron 21 señales, entre ellas la señal característica para carbono de un carbonilo en 182.5 ppm, entre 165 y 155 ppm aparecieron señales típicas de carbonos aromáticos base de oxígeno para las posiciones 2, 7, 5 y 9. En este mismo rango se presentó una señal para C-11 en 158.5 ppm que se encuentra unido a nitrógeno y a azufre. El carbono aromático base de nitrógeno se observó en 149.5 ppm (C-15). Para la región entre 140-90 ppm se identificaron 11 señales para los carbonos 12, 13 y 14 del anillo de piridina, los carbonos aromáticos restantes y C-3. Adicionalmente, entre 70 y 25 ppm se apreciaron las señales para los carbonos de metilenos presentes en el compuesto.

Su espectro HSQC (Fig. 5.37) mostró las correlaciones esperadas, entre ellas las señales para los carbonos del anillo de piridina. Partiendo de los protones asignados se corroboró su respectivo carbono en 149.5 (C-15), 135.9 (C-13), 122.4 (C-12) y 119.5 ppm (C-14). Otro aspecto importante fue la asignación para el carbono en posición OCH_2CH_2 ya que se asignó inequívocamente en 28.9 ppm, siendo el único caso en los derivados **10b-10e** donde uno de los carbonos alifáticos presentes en la estructura se encuentra a frecuencias mas altas que el carbono sp^3 unido al azufre de la 2-mercaptopiridina.

El espectro HMBC (Fig. 5.38-5.39) mostró correlación del protón de la cadena alifática en posición OCH_2 con C-7 a tres enlaces y la de SCH_2 a tres enlaces con el carbono unido a nitrógeno y a azufre en posición 11, con lo que se comprobó la conectividad de la crisina con la cadena alifática (de tres carbonos) y esta a su vez con la 2-mercaptopiridina.

La evidencia espectroscópica de los derivados **10a** y **10c-10e** se muestran en las figuras 5.32-5.33, 5.40-5.45 y en las tablas 5.7-5.8.

Tabla 5.7. Datos de RMN de ^1H (400 MHz) de **10a-10e** en CDCl_3 .

Posición	Compuesto				
	δ en ppm, <i>m</i> (<i>J</i> en Hz)				
	10 ^a	10 ^b	10 ^c	10 ^d	10 ^e
3	6.65 s	6.67 s	6.65 s	6.59 s	6.64 s
6	6.51 d (2.2)	6.37 d (2.2)	6.34 d (2.2)	6.29 d (2.2)	6.34 d (2.2)
8	6.66 d (2.2)	6.51 d (2.2)	6.47 d (2.2)	6.42 d (2.2)	6.47 d (2.2)
2'	7.87 m	7.88 m	7.87 m	7.82 m	7.86 m
3'	7.53 m	7.54 m	7.53 m	7.49 m	7.52 m
4'	7.53 m	7.54 m	7.53 m	7.49 m	7.52 m
5'	7.53 m	7.54 m	7.53 m	7.49 m	7.52 m
6'	7.87 m	7.88 m	7.87 m	7.82 m	7.86 m
OH	12.69 sa	12.71 sa	12.71 sa	12.69 sa	12.70 sa
OCH_2	4.33t (6.9)	4.19 t (6.0)	4.07 t (6.0)	3.98 t (6.3)	4.01 t (6.4)

SCH ₂	3.58 t (7.0)	3.37 t (6.0)	3.26 t (6.3)	3.19 t (6.7)	3.19 t (6.7)
OCH ₂ CH ₂	-	2.25 q (6.6)	1.92 m	1.78 m	1.76 m
SCH ₂ CH ₂	-	-	1.97 m	1.83 m	1.82 m
OCH ₂ CH ₂ CH ₂	-	-	-	1.62 m	1.52 m
SCH ₂ CH ₂ CH ₂	-	-	-	-	1.52 m
12	7.22 dd (8.1, 1.0)	7.19 dd (8.1, 0.9)	7.17 dd (8.1, 0.9)	7.15 dt (8.1, 1.0)	7.16 dt (8.1, 1.0)
13	7.49 td (7.4, 1.8)	7.46 td (7.5, 1.8)	7.47 td (7.3, 1.8)	7.43 td (7.4, 1.8)	7.45 td (7.4, 1.9)
14	7.03 m (7.2 , 4.9, 0.9)	6.97 ddd (7.3, 4.9, 1.0)	6.97 ddd (7.2, 4.9, 0.9)	6.94 ddd (7.3, 5.0, 1.0)	6.96 ddd (7.4, 5.0, 1.1)
15	8.51 ddd (4.9, 1.8, 0.9)	8.42 ddd (4.9, 1.8, 0.9)	8.42 ddd (4.9, 1.8, 0.9)	8.41 ddd (4.9, 1.9, 0.9)	8.42 ddd (4.9, 1.8, 0.9)

s = simple, sa = simple ancha, d = doble, dd =doble de dobles, ddd = doble de doble de dobles, dt = doble de triples, t = triple, td = triple de dobles, q = quíntuple, m = múltiple

Tabla 5.8. Datos de RMN de ¹³C (100 MHz) de **10a-10e** en CDCl₃.

Posición	Compuestos				
	10a	10b	10c	10d	10e
2	164.7	164.9	165.0	165.0	165.2
3	105.9	105.9	105.8	105.6	105.9
4	182.5	182.5	182.4	182.3	182.5
5	162.2	162.1	162.1	162.0	162.1
6	99.0	98.6	98.6	98.6	98.7
7	164.0	163.9	163.9	163.7	163.9
8	93.4	93.1	93.1	92.9	93.1
9	157.9	157.8	157.7	157.6	157.8
10	105.8	105.7	105.6	105.5	105.6
1'	131.4	131.3	131.2	131.1	131.4

2'	126.3	126.3	126.2	126.2	126.3
3'	129.2	129.1	129.0	129.0	129.1
4'	131.9	131.8	131.8	131.8	131.9
5'	129.2	129.1	129.0	129.0	129.1
6'	126.3	126.3	126.2	126.2	126.3
11	157.6	158.5	158.9	159.2	159.4
12	122.5	122.4	122.3	122.2	122.3
13	136.2	135.9	135.9	135.8	135.9
14	119.8	119.5	119.3	119.2	119.3
15	149.6	149.5	149.4	149.4	149.5
OCH ₂	67.5	66.9	68.0	68.4	68.6
SCH ₂	28.1	26.4	29.5	29.7	30.0
OCH ₂ CH ₂	-	28.1	26.0	28.5	28.9
SCH ₂ CH ₂	-	-	28.1	29.1	29.3
OCH ₂ CH ₂ CH ₂	-	-	-	25.2	25.6
SCH ₂ CH ₂ CH ₂	-	-	-	-	28.6

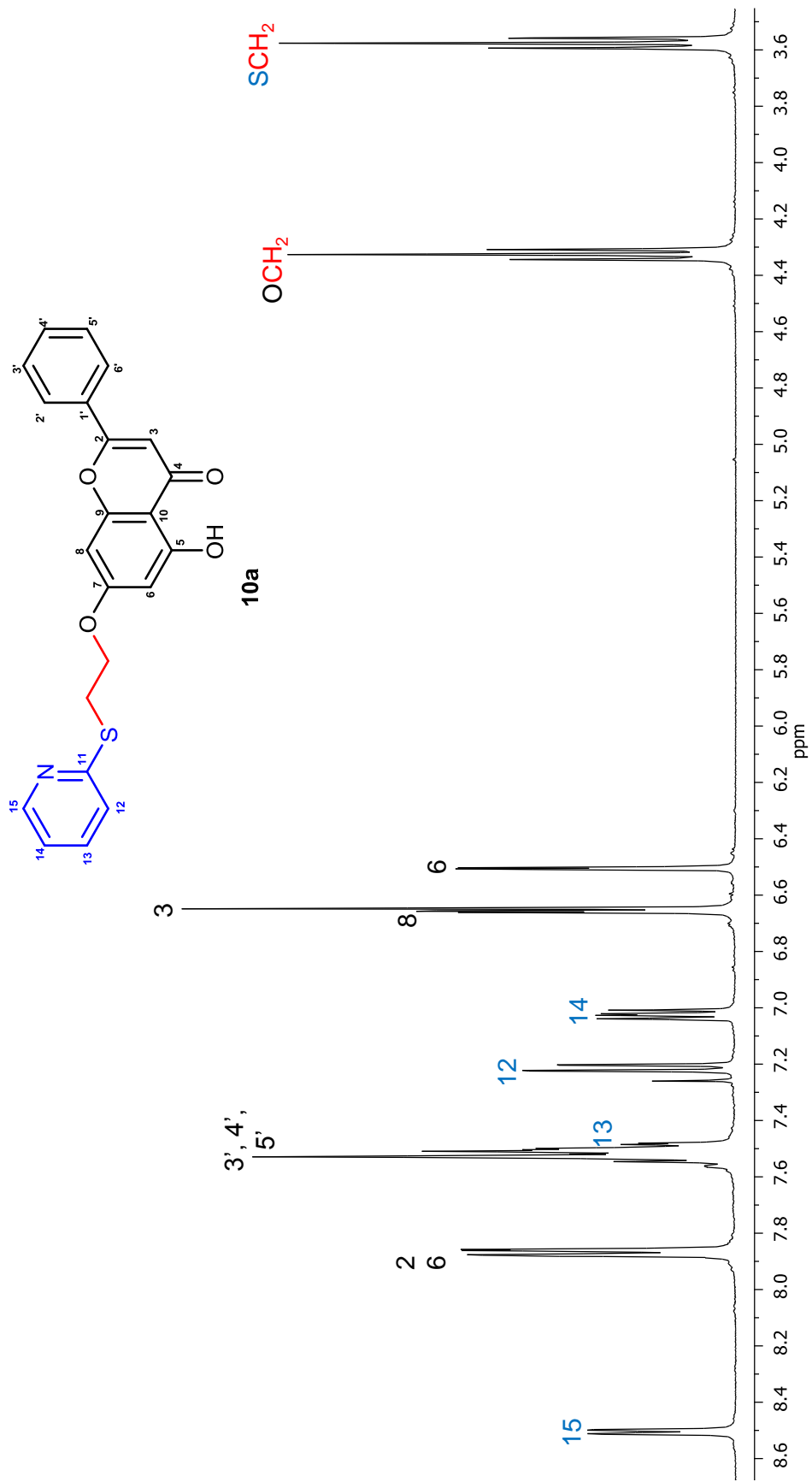


Figura 5.32. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) de la 7-O-[2-(piridin-2-il-tio)-etil]-crisina (**10a**) en CDCl_3

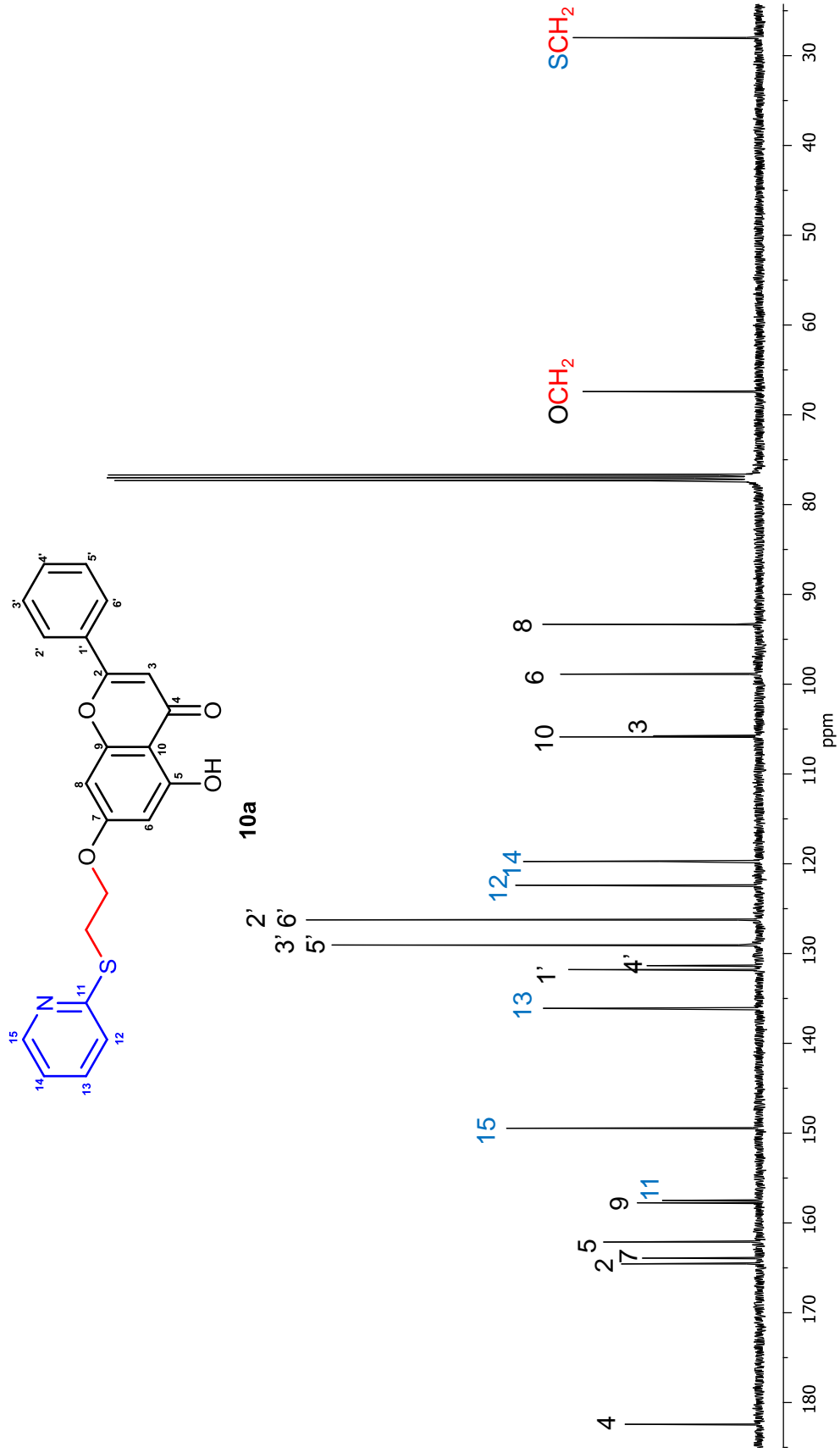


Figura 5.33. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) de la 7-O-[2-(piridin-2-il-tio)-etil]-crisina (**10a**) en CDCl_3

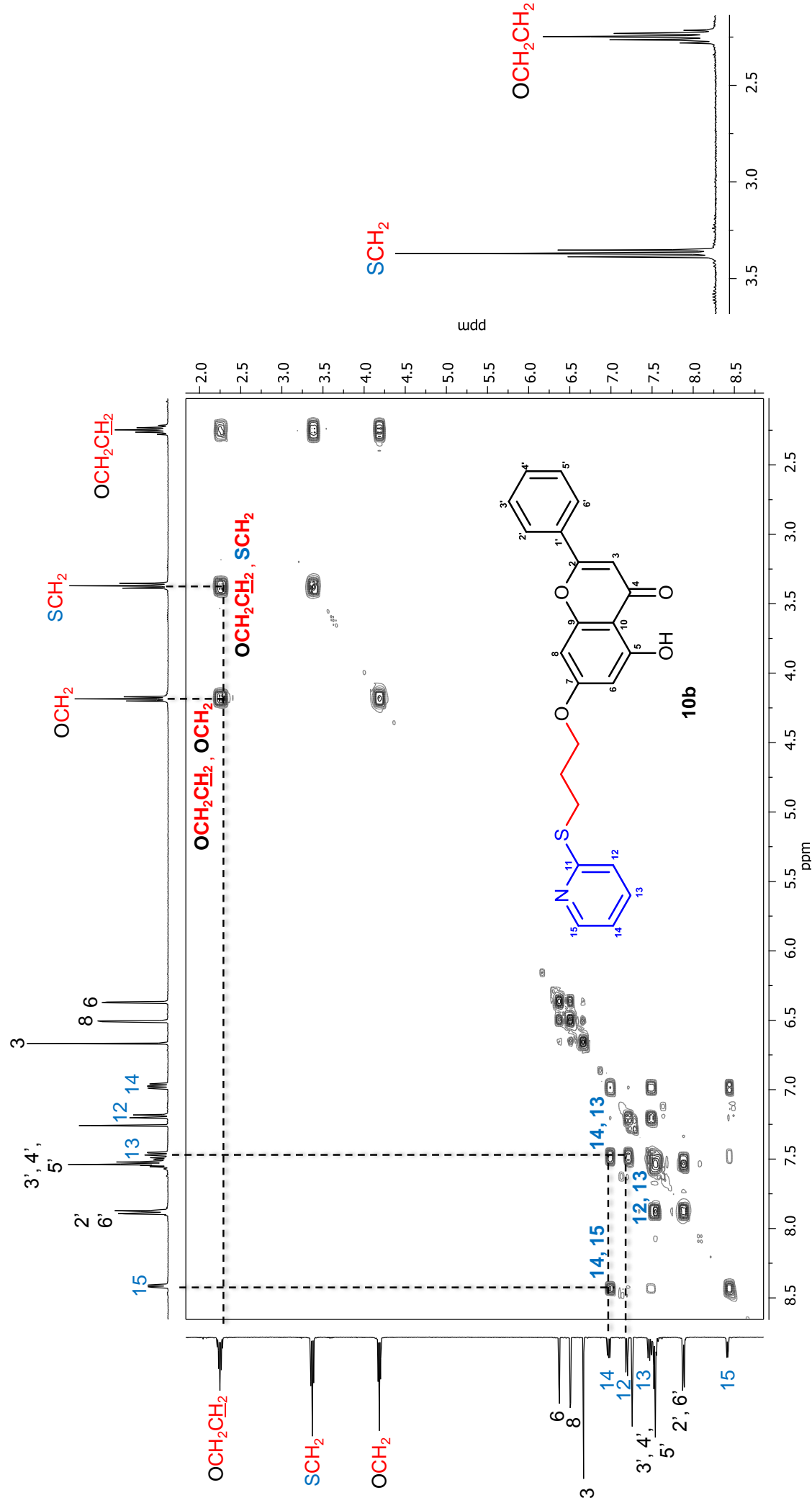
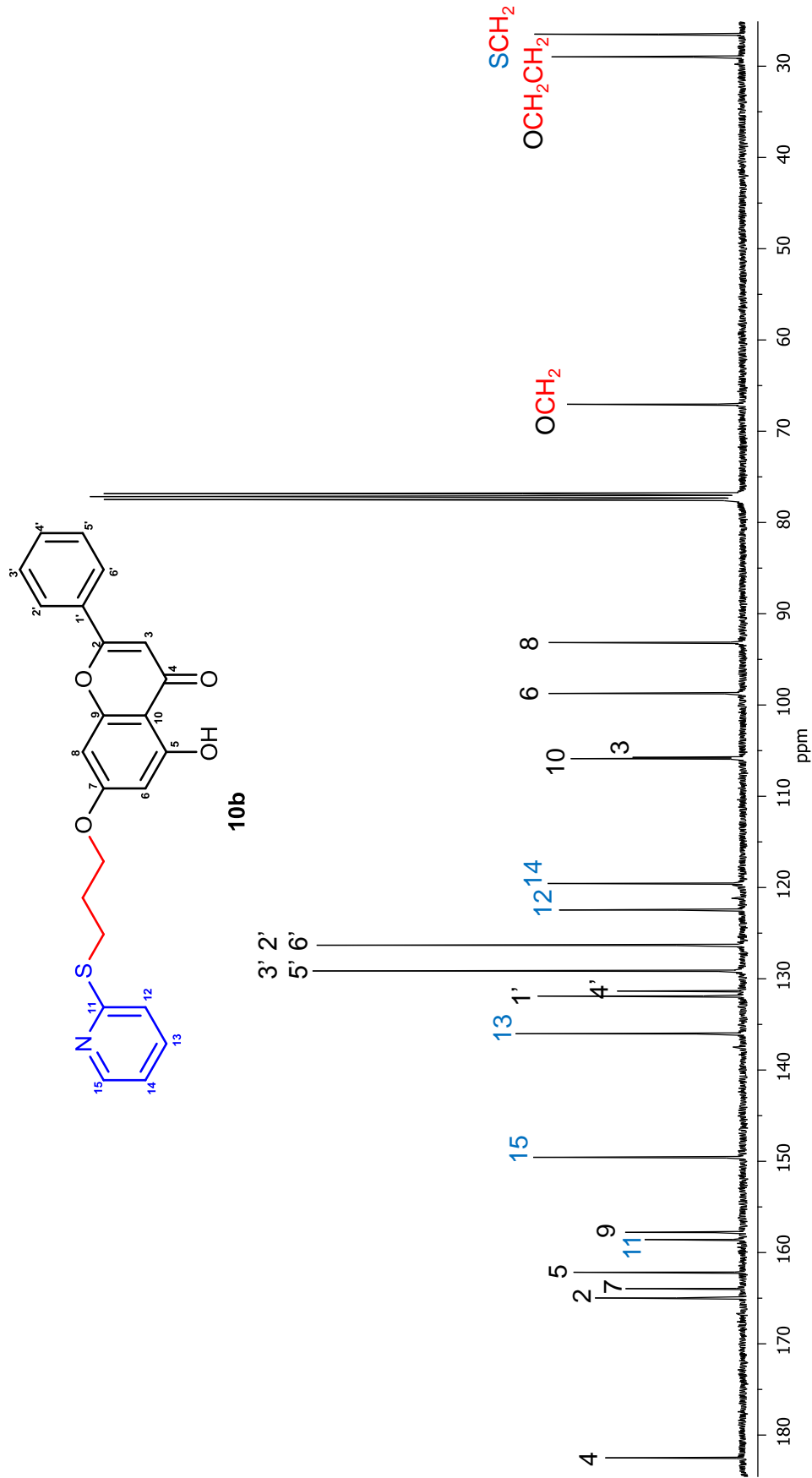


Figura 5.35. Espectro de RMN-COSY de la 7-O-[3(piridin-2-il-tio)-propil]-crisina (**10b**) en CDCl_3



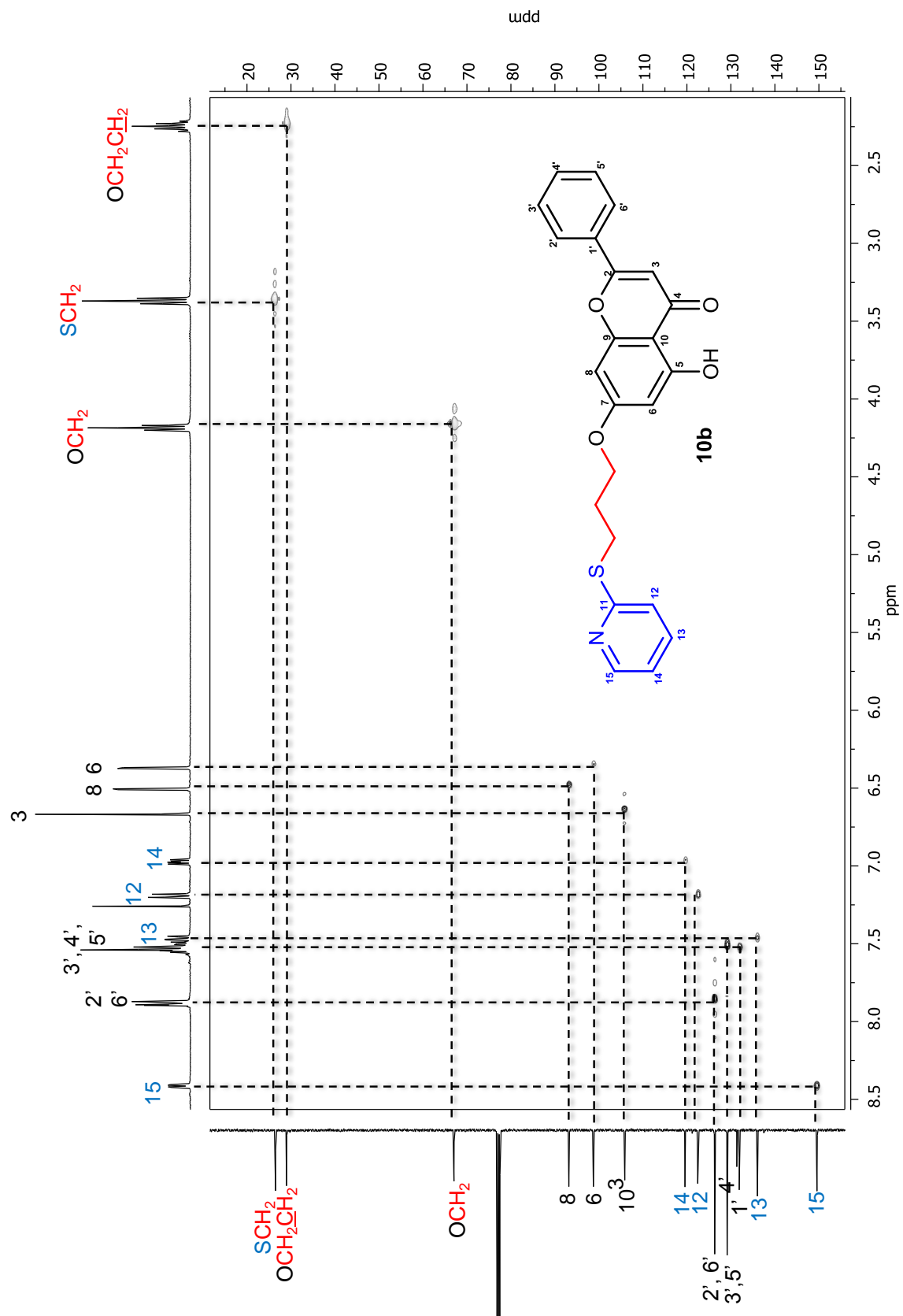


Figura 5.37. Espectro de RMN-HSQC de la 7-O-[3(piridin-2-il-tio)-propil]

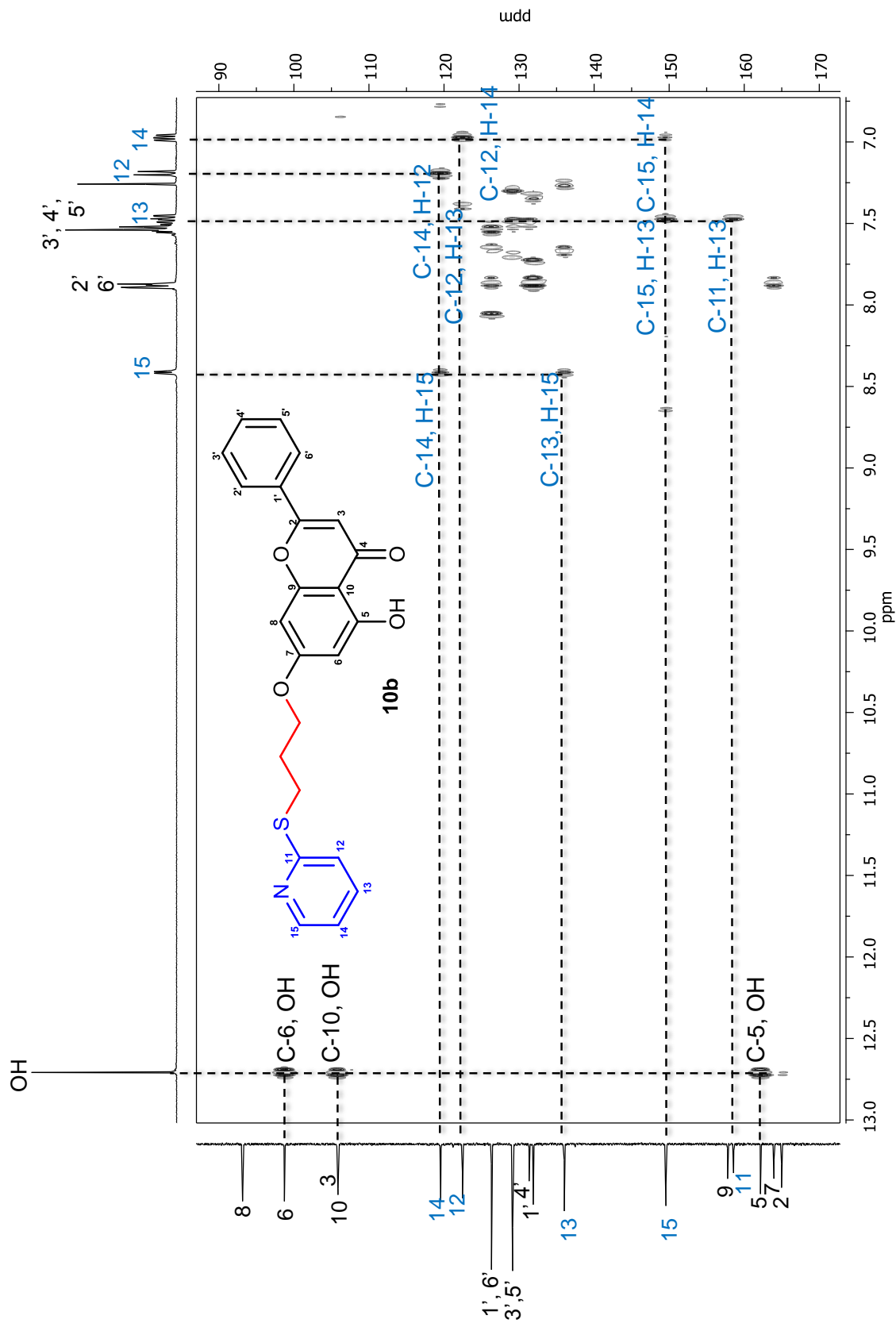
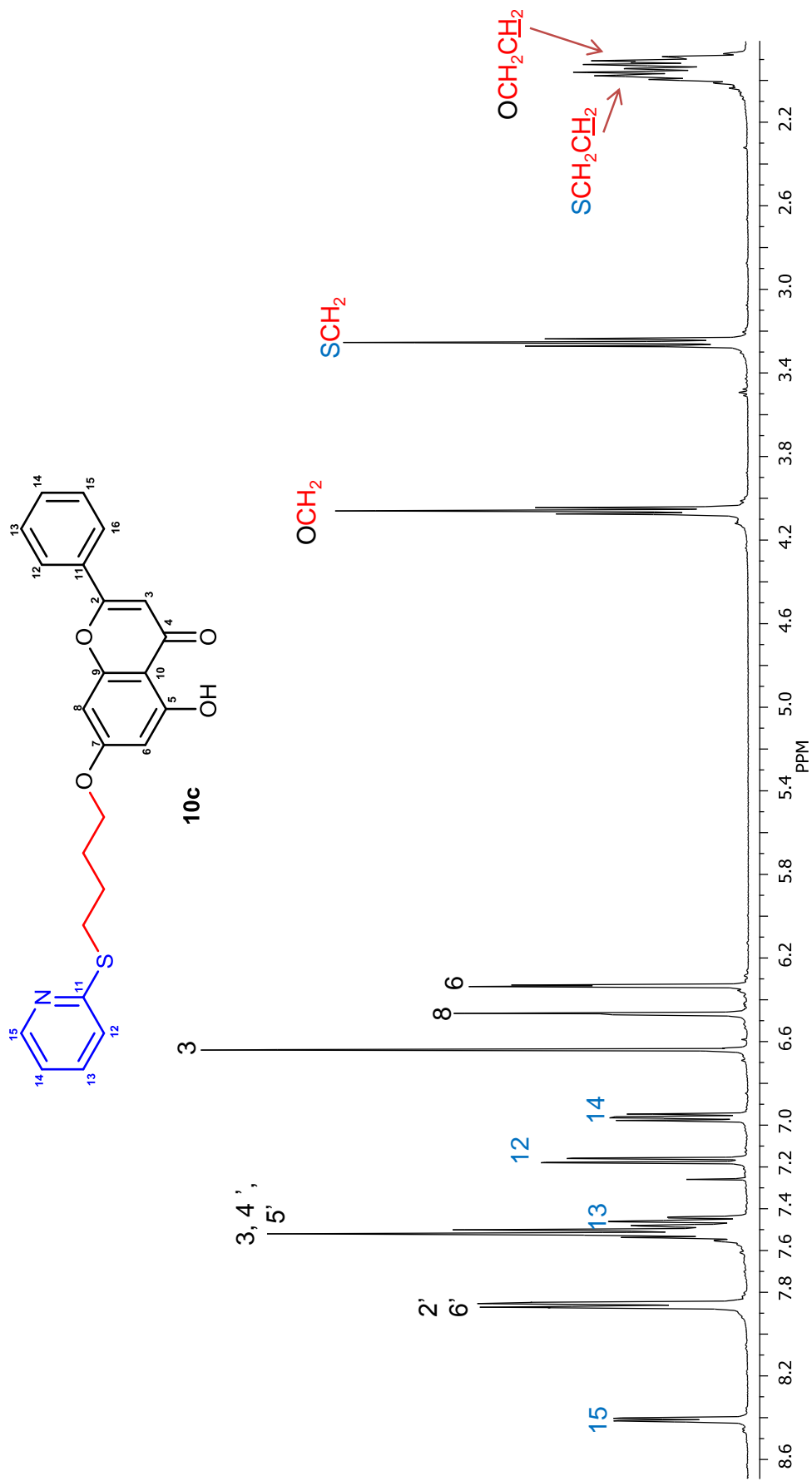


Figura 5.39. Espectro de RMN-HMBC de la 7-O-[3(piridin-2-il-tio)-propil]-c



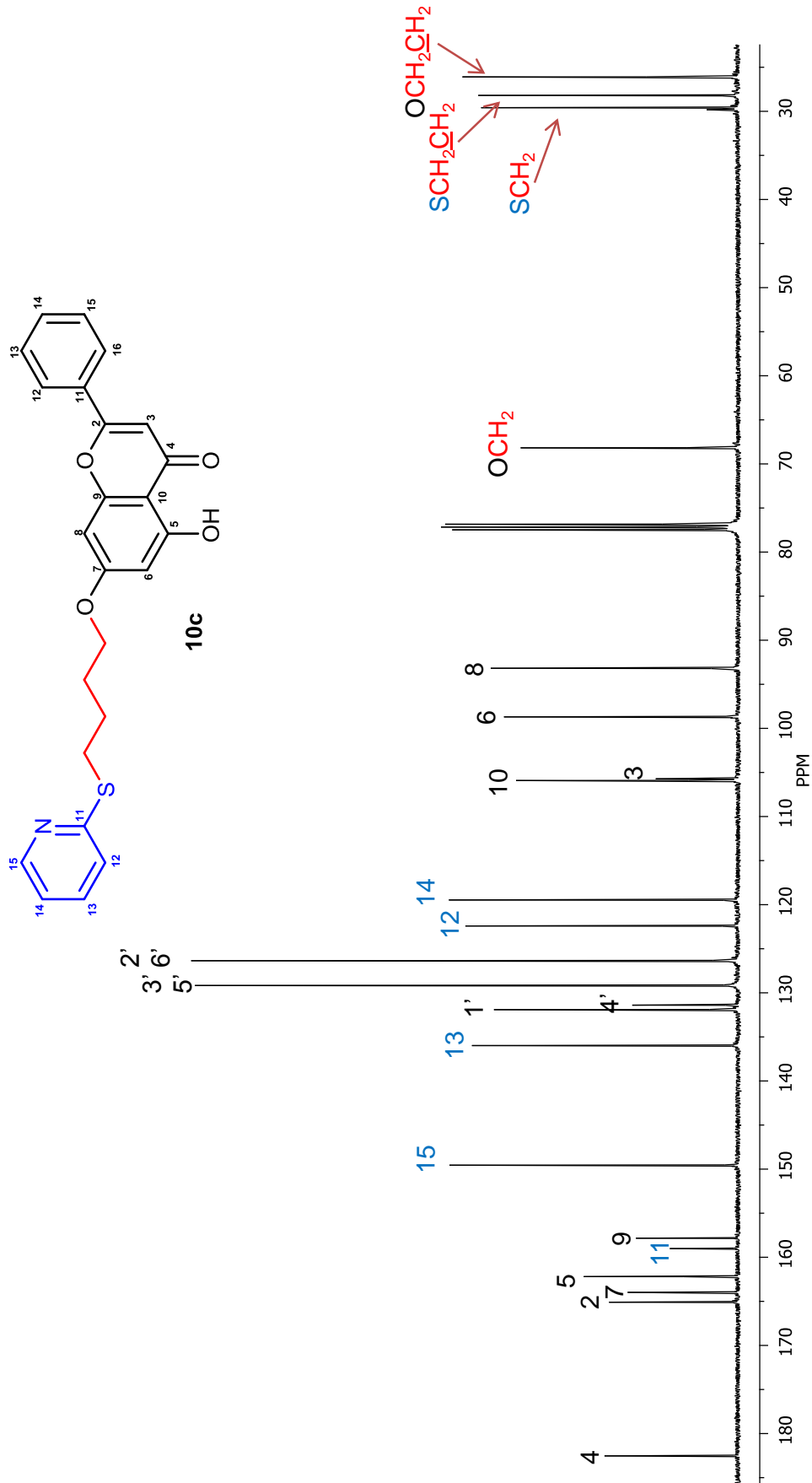


Figura 5.40. Espectro de RMN de ¹H (400 MHz) de la 7-O-[4(piridin-2-il-tio)-butil]

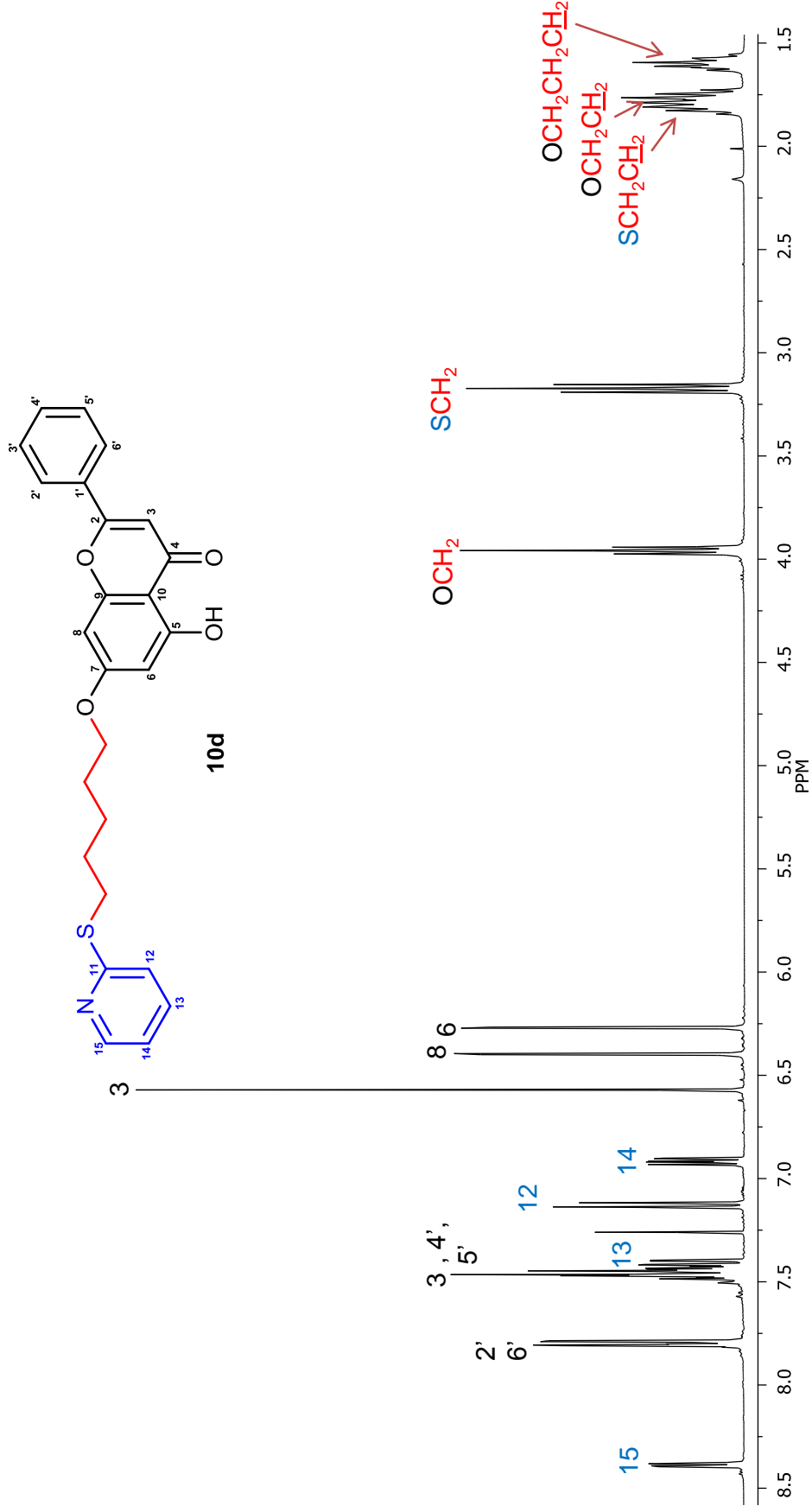


Figura 5.41. Espectro de RMN de ¹³C (100 MHz) de la 7-O-[4(piridin-2-il-tio)-butil]

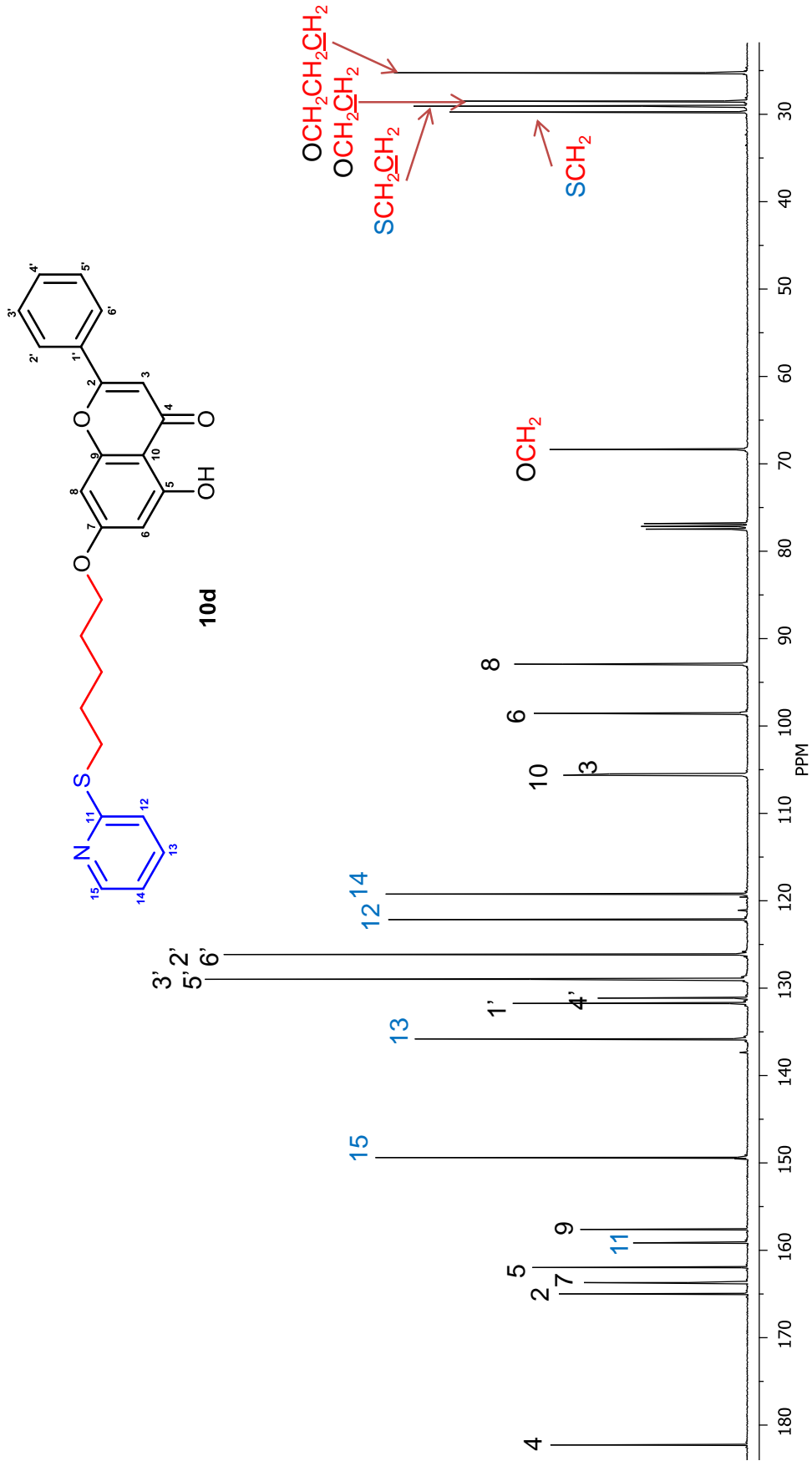


Figura 5.42. Espectro de RMN de ¹H (400 MHz) de la 7-O-[5(piridin-2-il-tio)-pentil]-c

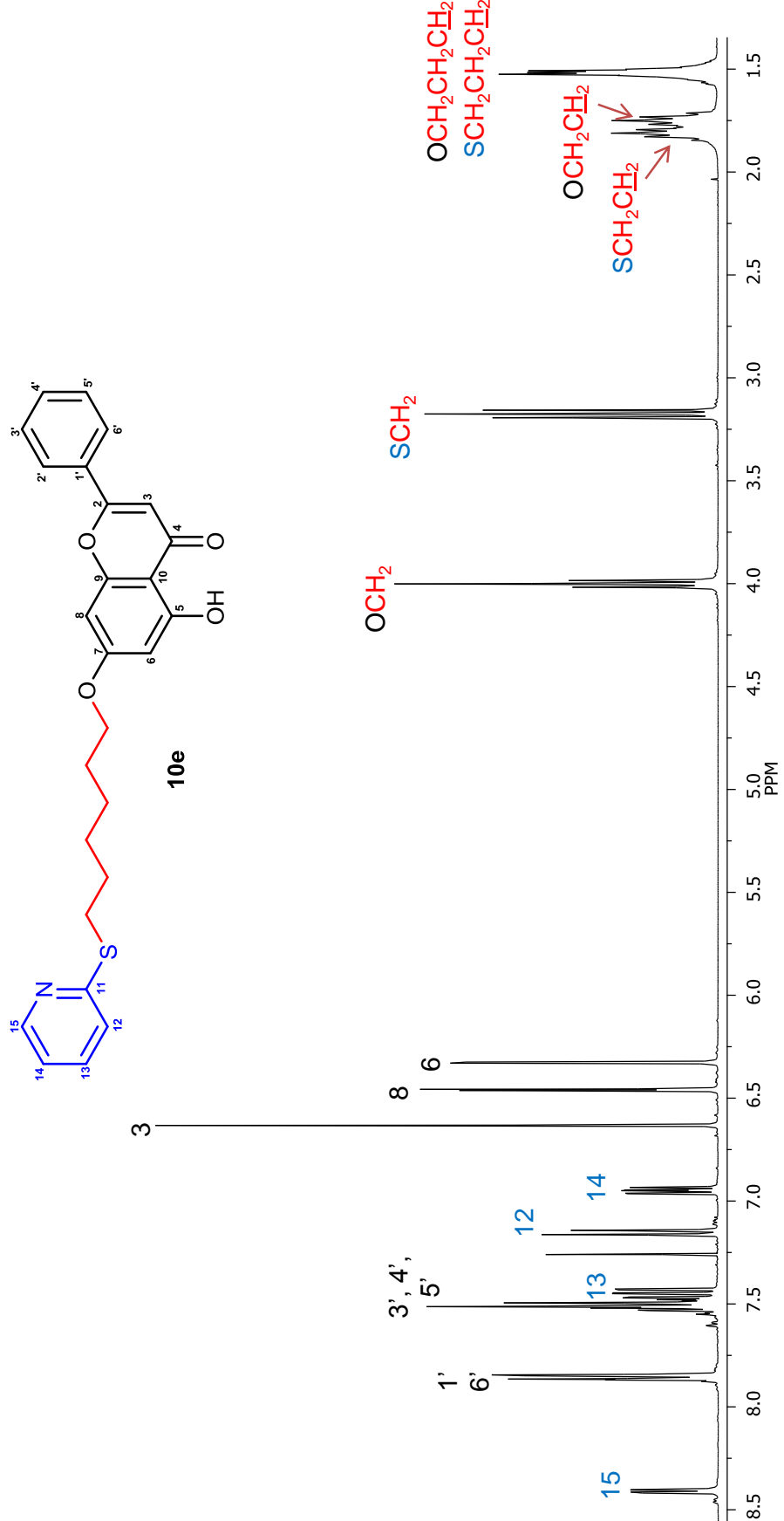


Figura 5.43. Espectro de RMN de ¹³C (100 MHz) de la 7-O-[5(piridin-2-il-tilo)-pentil]-

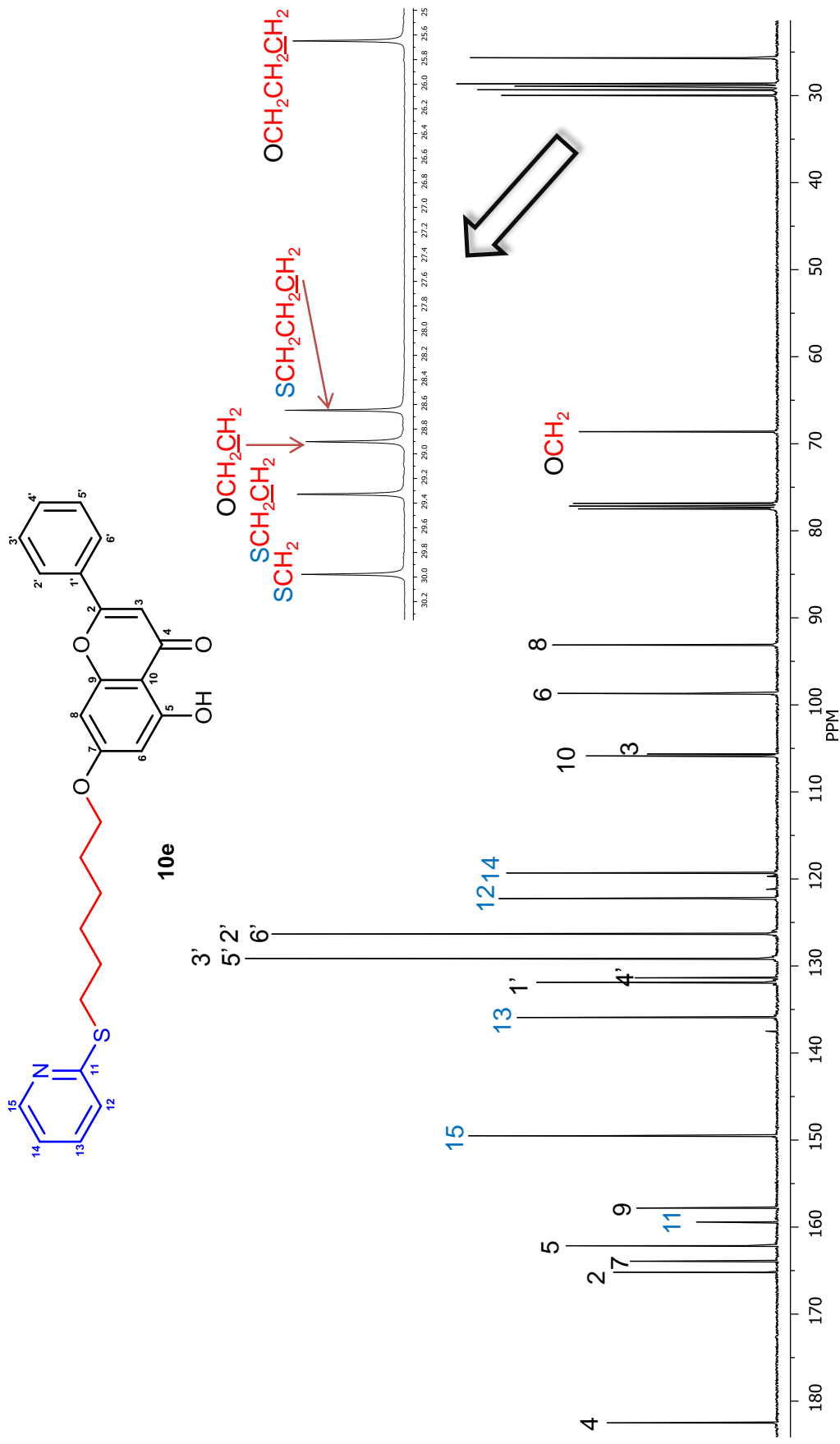


Figura 5.44. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) de la 7-O-[6(piridin-2-il-tio)-hexil]-c

5.3.3. Obtención de las 7-O-[[((5-trifluorometil) piridin-2-il)-tio] alquil] crisinas (11a-11e)

Cada uno de los compuestos de la serie **9a-9e** (1 mmol) se hicieron reaccionar con la 2-mercapto-5-trifluorometilpiridina (1.25 mmol), empleando carbonato de potasio (2 mmol) y acetona a reflujo por 48 horas (Fig. 3). Transcurrido el tiempo, el producto de la reacción se filtró y se evaporó el disolvente. El sólido obtenido se purificó mediante CC con mezclas de hexano-AcOEt (19:1) y (9:1) para obtener los compuestos **11a-11e** (Fig. 5.46) como sólidos amarillos.

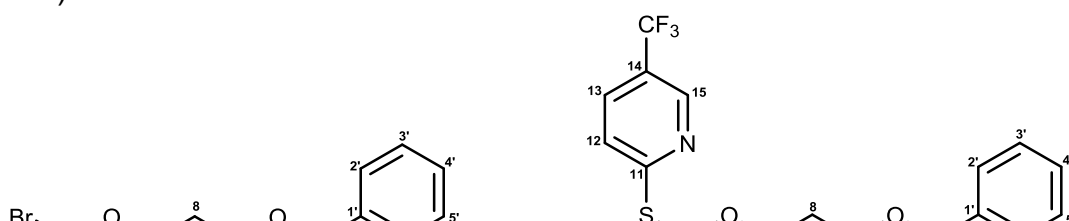


Figura 5.46. Condiciones de preparación de los compuestos **11a-11e**.

La serie de los compuestos **11a-11e** obtenida en forma de sólidos amarillos se cristalizó por medio de evaporación lenta utilizando tolueno o cloroformo o por difusión con mezclas de hexano- CHCl_3 (9:1). De todos los cristales sólo los del compuesto **11a** fueron idóneos para obtener su difracción por rayos-X, con la peculiaridad de que se obtuvo su solvato (Fig. 5.47).

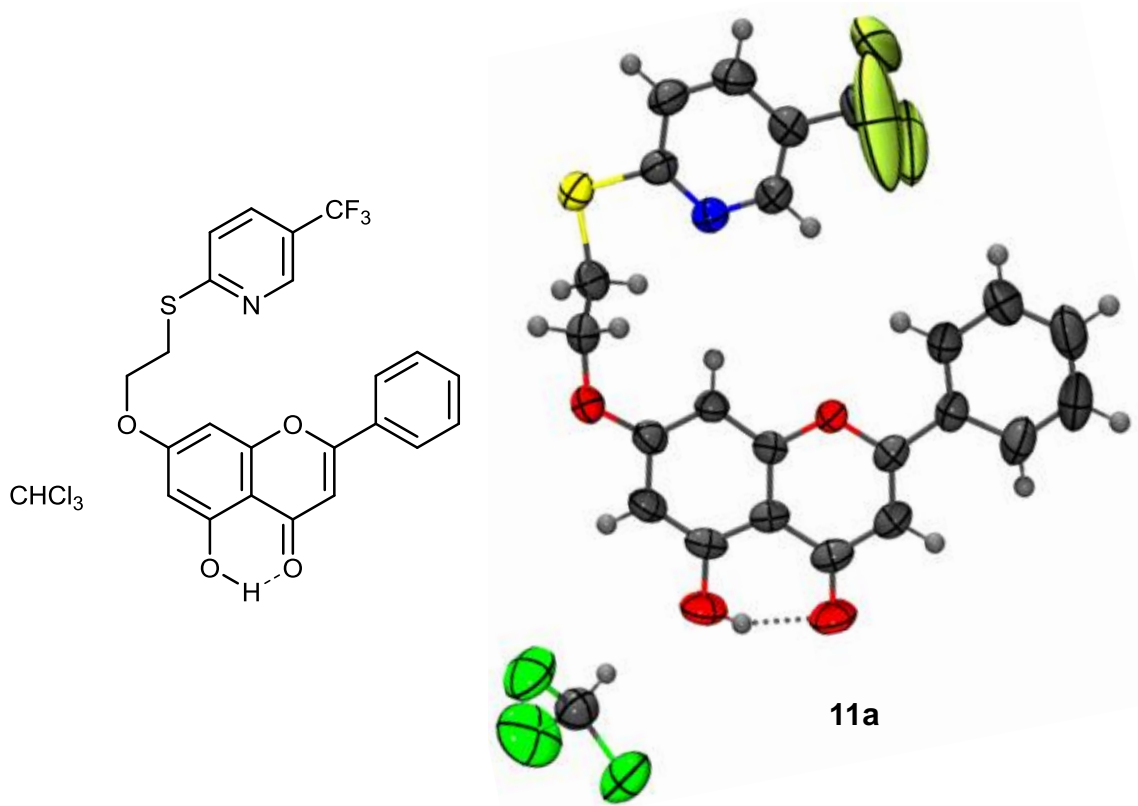


Figura 5.47. Estructura de difracción de rayos-X del solvato de cloroformo de la 7-O-{2[(5(trifluorometil)-piridin-2-il)-tio]-etil}-crisina **11a**.

Como en los casos anteriores, los compuestos se caracterizaron mediante RMN de ^1H y ^{13}C en 1D y 2D, con la característica de que en los espectros de ^1H la señal correspondiente a H-14 en la serie **10a-10e** no está presente en los derivados **11a-11e**, que ha sido sustituido por el grupo CF_3 .

Los carbonos presentes de la trifluorometil-piridina presentaron acoplamiento con el fluor; tal es el caso del carbono del CF_3 el cual se observó en 122.1 ppm como una señal cuádruple de 33.4 Hz. En 146.2 y 132.5 se apreciaron señales cuádruples para los carbonos en posición 15 y 13, con constantes de acoplamiento a 4.2 y 3.3 Hz, respectivamente. Para el caso de C-11 se encontró una señal cuádruple en 164.0 ppm teniendo una constante de acoplamiento de 1.2 Hz por acoplamiento a 4 enlaces con el fluor. Los carbonos restantes en el anillo de piridina en las posiciones 14 y 12 tuvieron desplazamientos de 122.4 y 121.7 ppm.

Tabla 5.9. Datos de RMN de ^1H (400 MHz) en **11a-11e** en CDCl_3 .

s= simple, sa= simple ancha, d= doble, q= quintuple, m= múltiple

Tabla 5.10. Datos de RMN de ^{13}C (100 MHz) de **11a-11e** en CDCl_3 .

Posición	Compuestos					
	δ en ppm, m (J en Hz)					
	11a	11b	11c	11d	11e	
2	164.0	164.1	163.9	164.0	164.0	
3	105.9	106.0	105.8	106.0	105.9	
4	182.4	182.6	182.4	182.6	182.5	
5	162.1	162.3	162.1	162.2	162.1	
6	99.0	98.7	98.5	98.7	98.7	
7	164.4	164.9	164.9	165.2	165.2	
8	93.1	93.2	93.1	93.2	93.2	
9	157.8	157.9	157.7	157.8	157.9	66 s
10	105.8	105.9	105.6	105.7	105.7	d(2.2)
1'	131.3	131.4	131.3	131.4	131.4	d(2.2)
2'	126.2	126.4	126.2	126.4	126.4	87 m
3'	129.1	129.2	129.1	129.2	129.2	53 m
4'	131.9	132.0	131.8	131.9	131.9	53 m
5'	129.1	129.2	129.1	129.2	129.2	53 m
6'	126.2	126.4	126.2	126.4	126.4	87 m
11	162.7 c (1.2)	163.8 c (1.4)	164.0 c (1.4)	164.4 c (1.4)	164.6 c (1.5)	71 sa
12	122.0	121.9	121.7	121.7	121.7	d(8.4)
13	132.9 c (3.3)	132.7 c (3.4)	132.5 c (3.3)	132.6 c (3.3)	132.5 c (3.3)	d(8.4) 66 s
14	122.5	122.6	122.4	122.6	122.6	t (6.4)
15	146.2 c (4.2)	146.4 c (4.3)	146.2 c (4.2)	146.3 c (4.2)	146.3 c (4.3)	t (6.7) 77 m
CF_3	122.8 c (33.1)	122.4 c (33.2)	122.2 c (34.1)	122.2 c (33.0)	122.1c (33.0)	83 m 53 m
OCH_2	66.7	66.9	68.0	68.4	68.6	53 m
SCH_2	28.0	26.6	29.4	29.9	30.0	
OCH_2CH_2	-	28.9	25.9	28.6	28.9	
SCH_2CH_2	-	-	28.1	29.0	29.2	
$\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$	-	-	-	25.4	25.7	
$\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$	-	-	-	-	28.6	

c= cuádruple

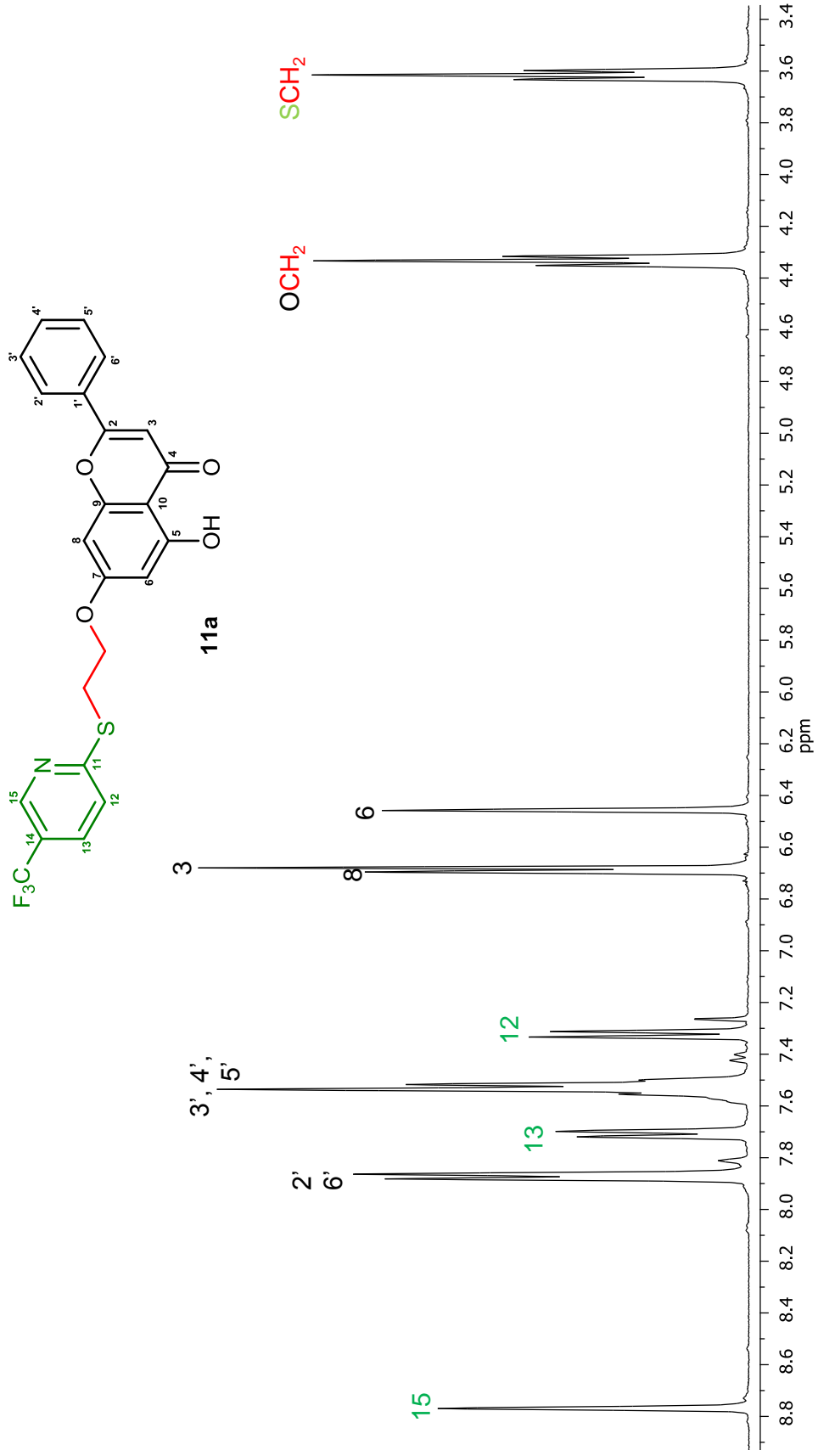


Figura 5.48. Espectro de RMN de ¹H de la 7-O-{2[(5(trifluorometil)-piridin-2-il)-tio]-etil} -crisina (11a) en CDCl₃.

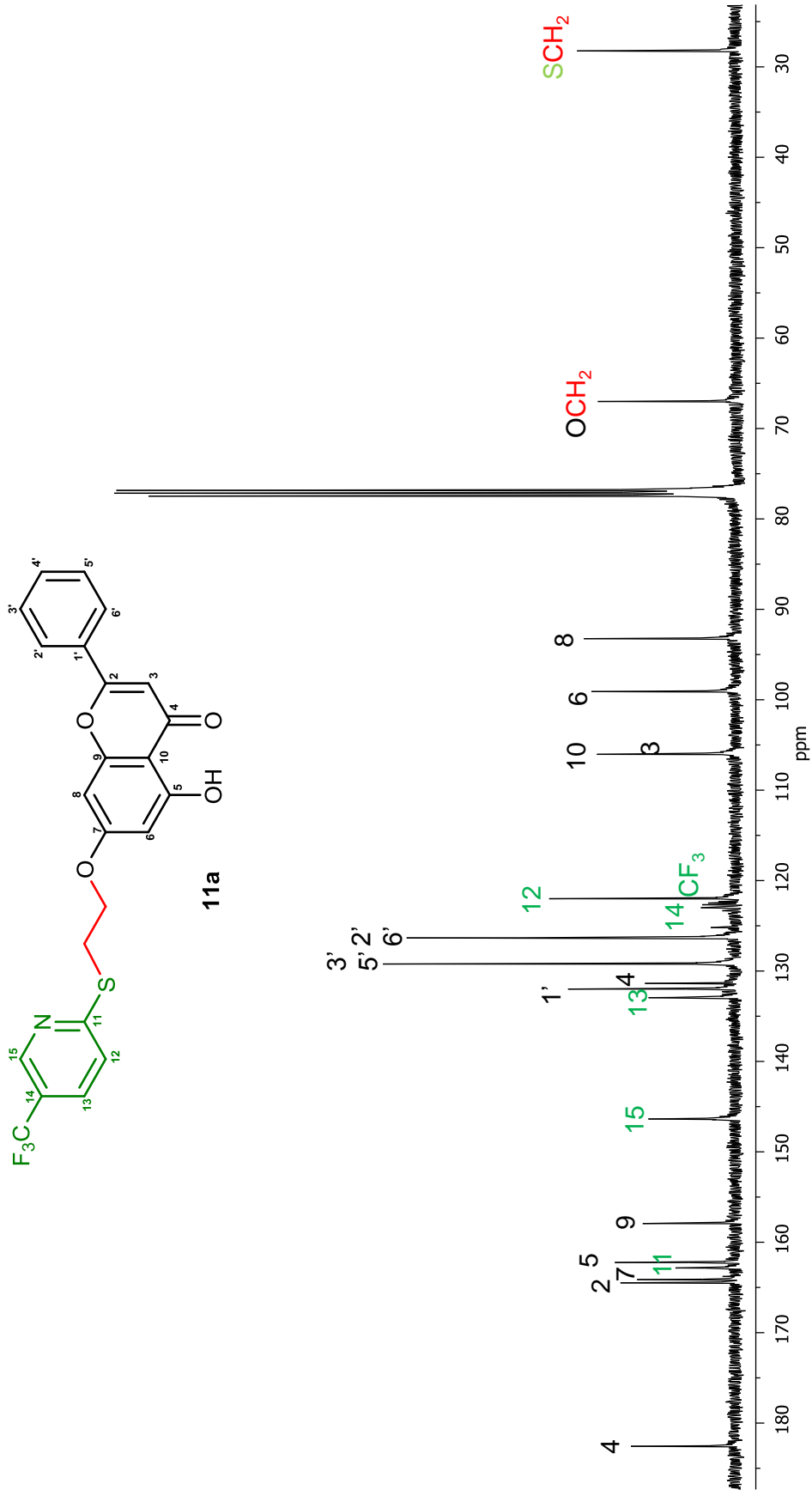


Figura 5.49. Espectro de RMN de ^{13}C de la 7-O-{2[(5(trifluorometil)-piridin-2-il)-tio]-etil}-crisina (11a) en CDCl_3 .

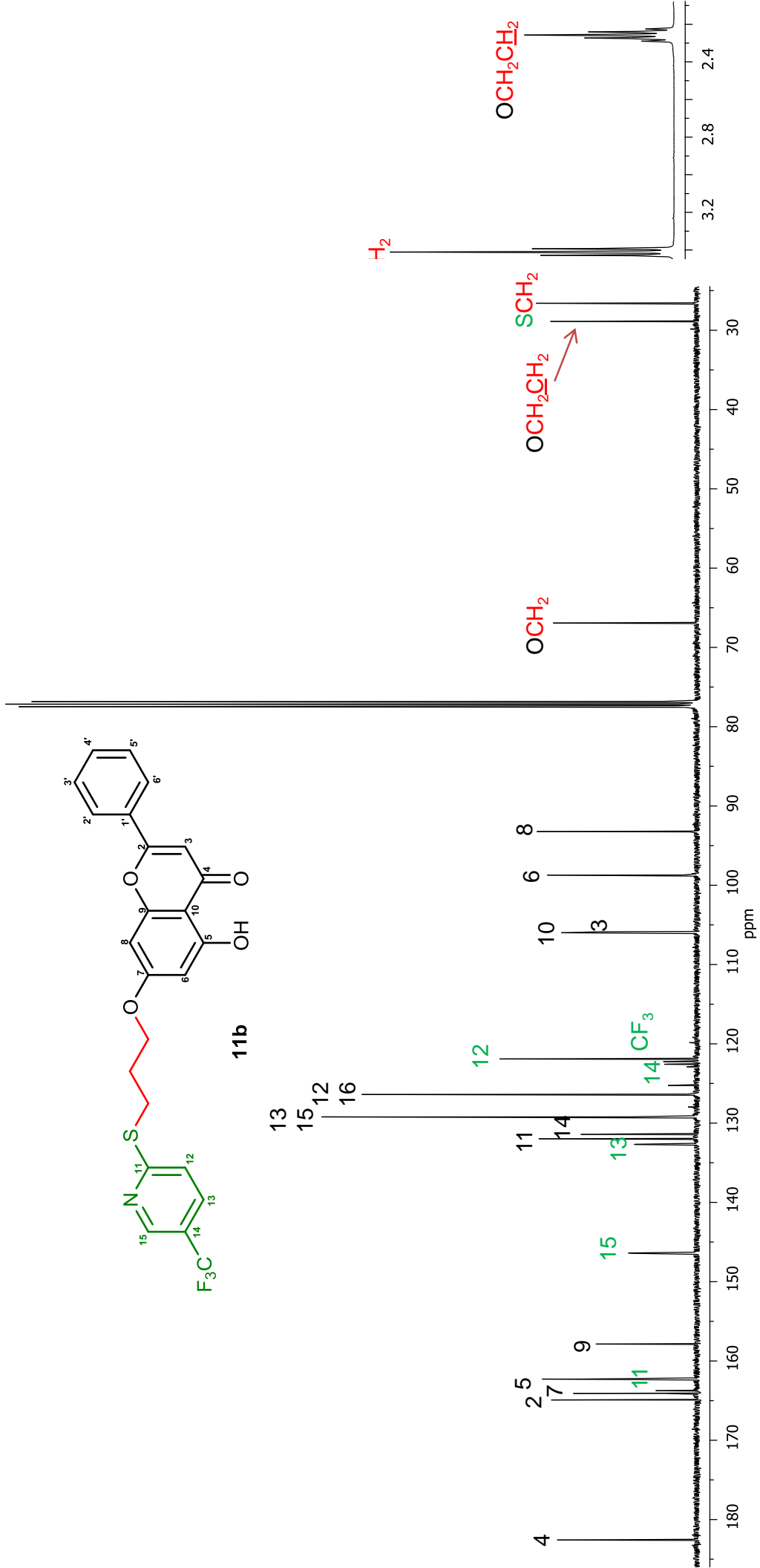


Figura 5.51. Espectro de RMN de ^{13}C de la 7-O- $\{3[(5(\text{trifluorometil})\text{-piridin-2-il})\text{-tio}]\text{-propil}\}$ -
crisina (11b) en CDCl_3 .

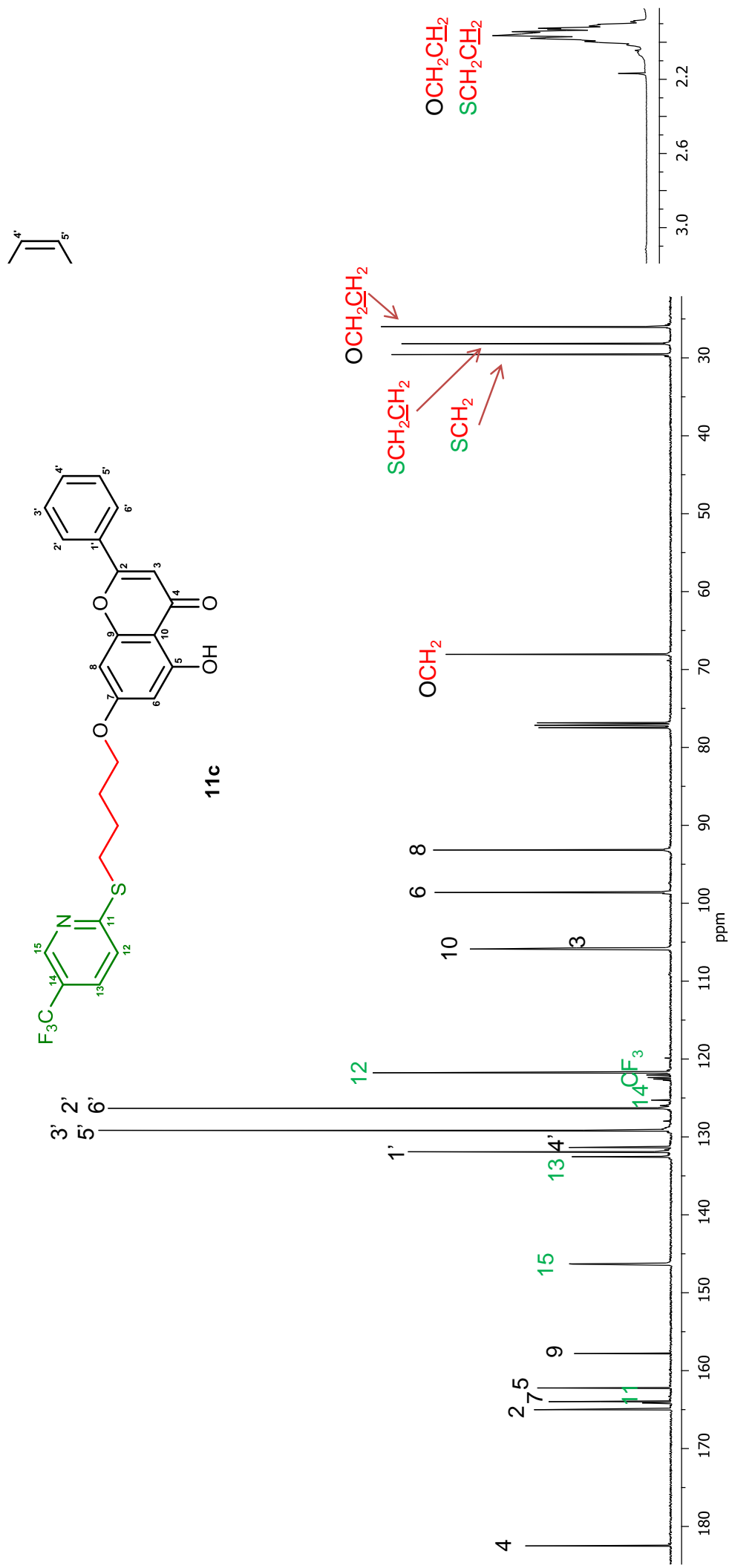
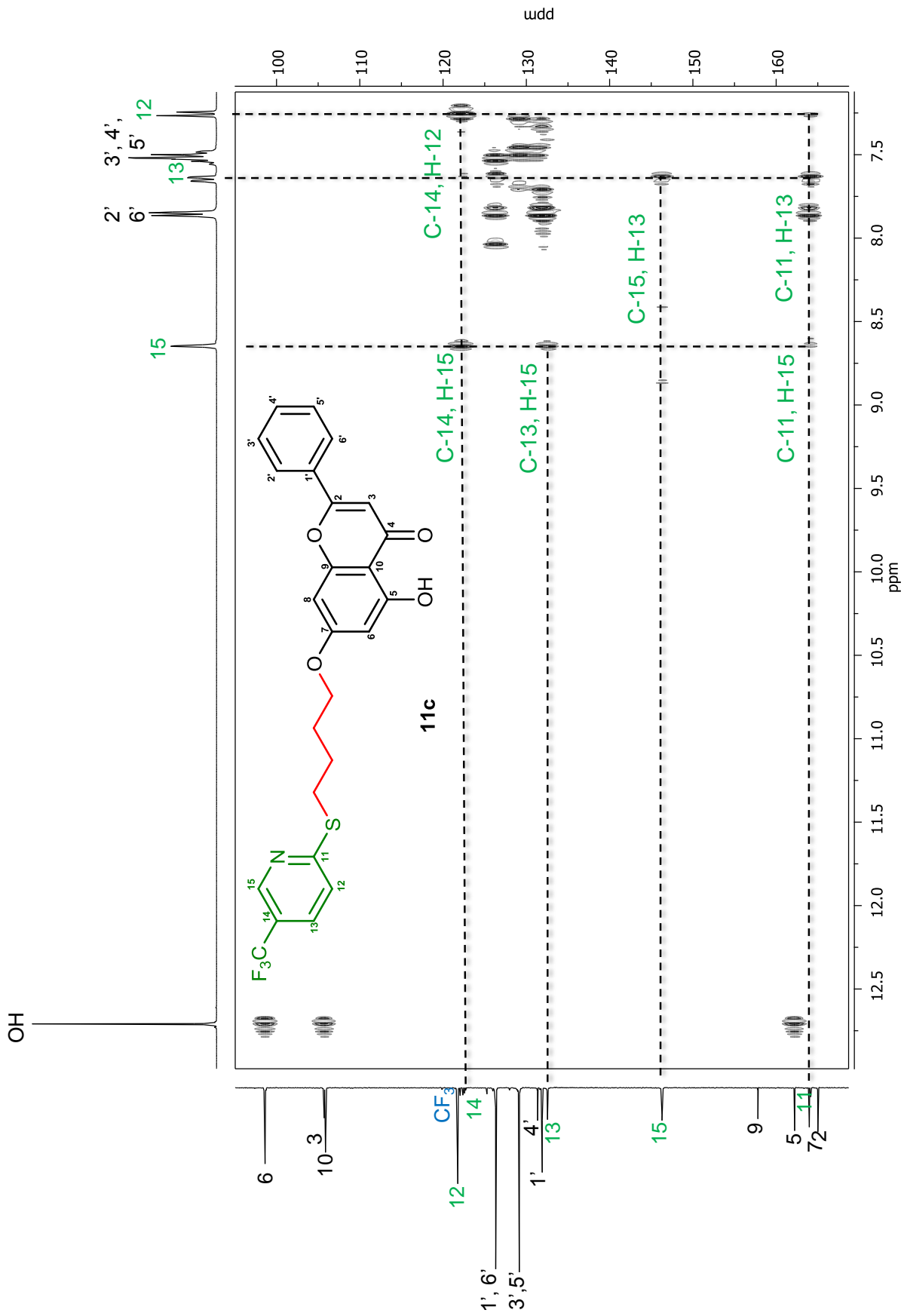


Figura 5.52. Espectro de RMN de ^1H de la 7-O-[4[(5(trifluorometil)-piridin-2-il)-tio]-butil] - crisina (11c) en CDCl_3 .

Figura 5.53. Espectro de RMN de ^{13}C de la 7-O-{4[(5(trifluorometil)-piridin-2-il)-tio]-butirato}crisina (**11c**) en CDCl_3 .



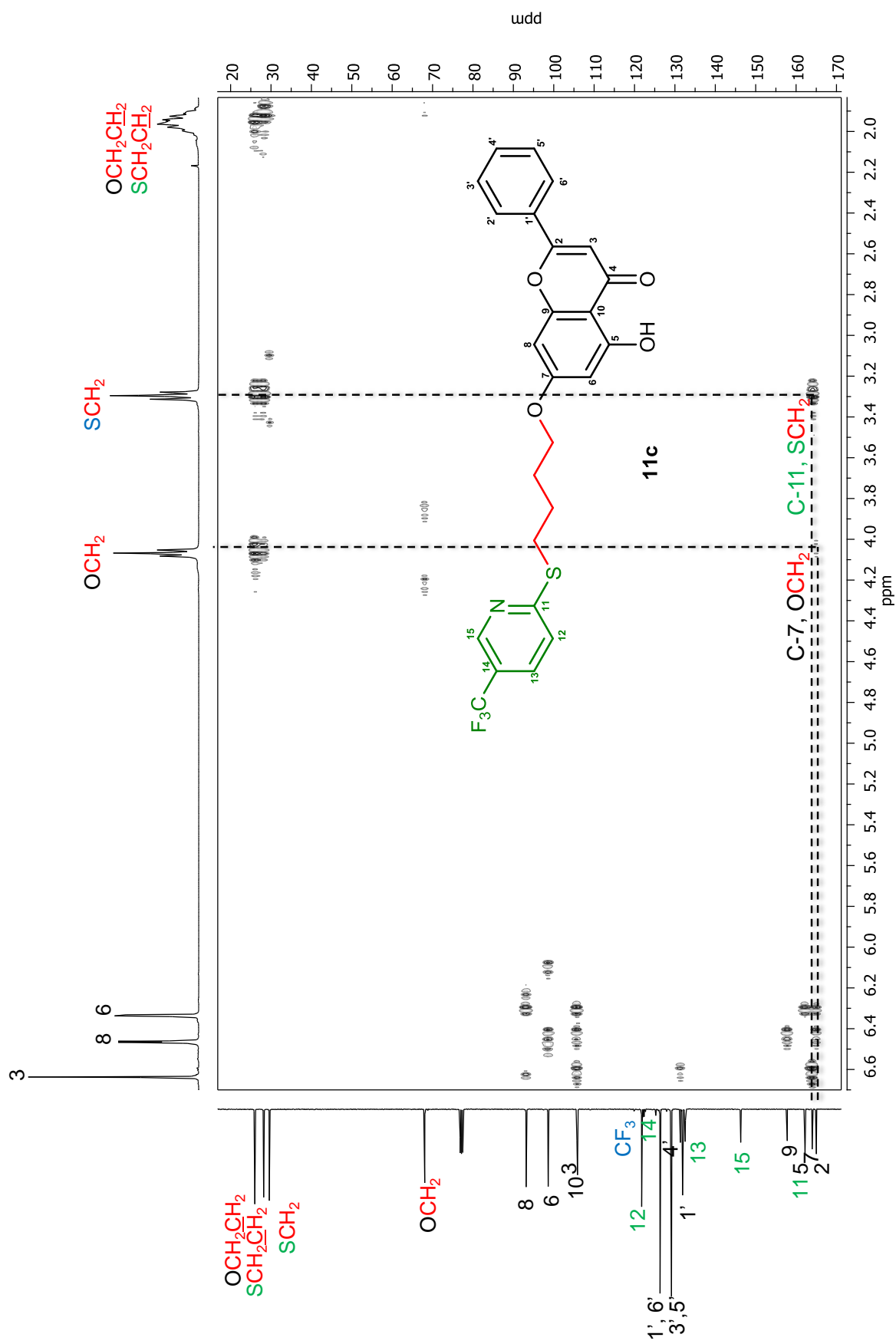


Figura 5.55. Espectro de RMN-HMBC de la 7-O-([5(trifluorometil)-piridin-2-il]-tio]-butil} - crisina (11c) en CDCl_3 .

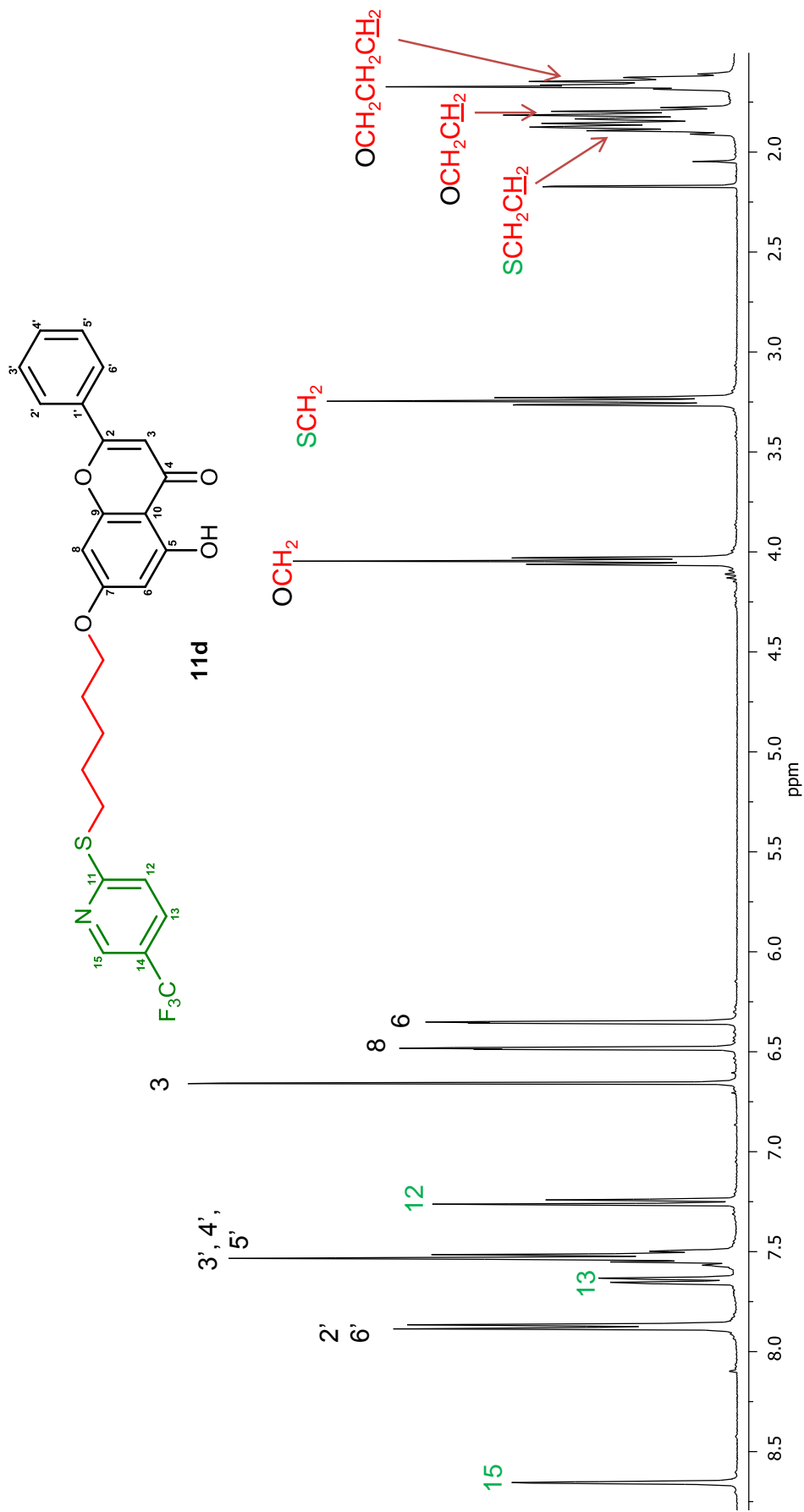


Figura 5.56. Espectro de RMN de ¹H de la 7-O-{5[(5(trifluorometil)-piridin-2-il)-tio]- pentil} - crisina (11d) en CDCl₃.

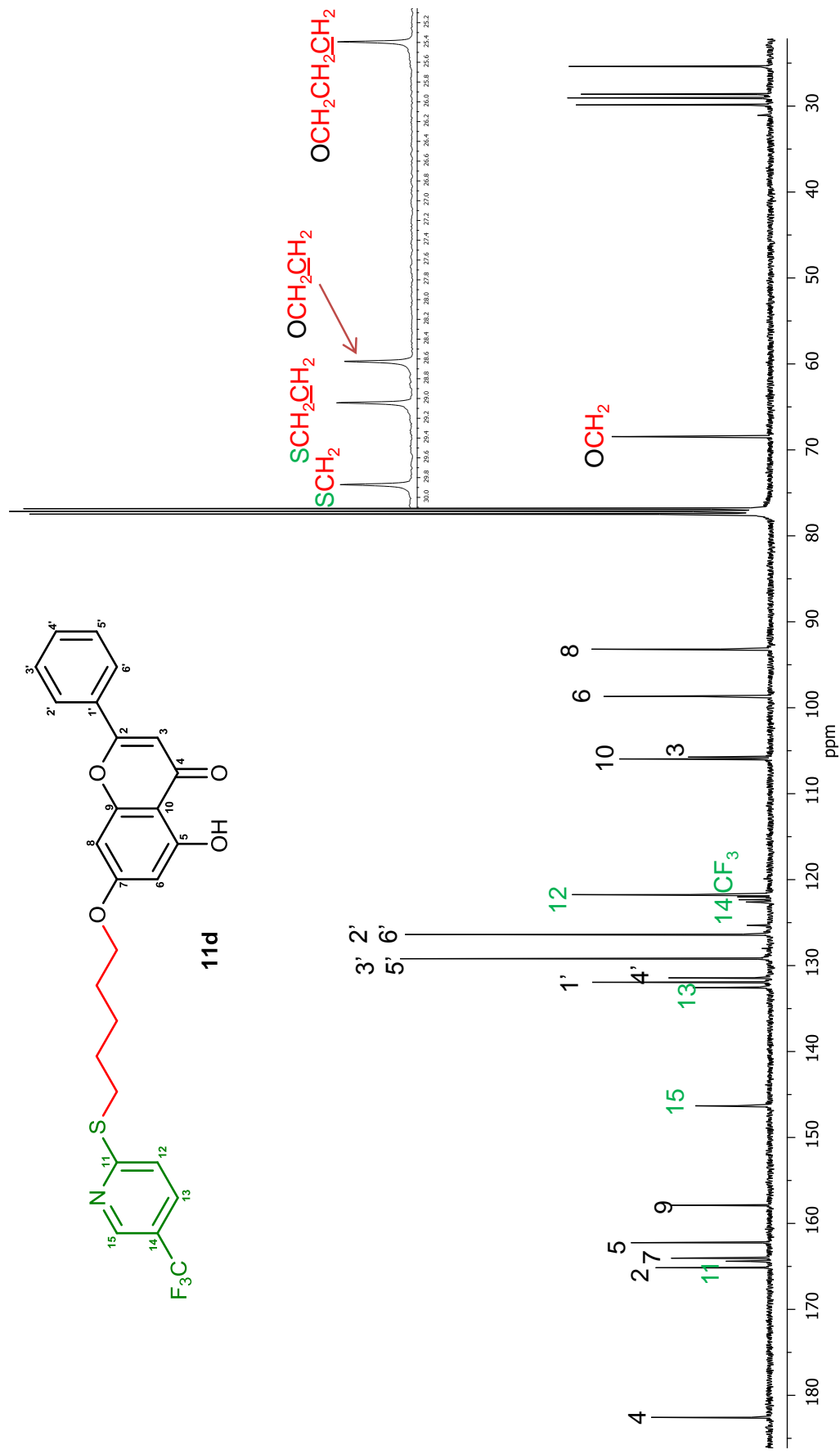


Figura 5.57. Espectro de RMN de ^{13}C de la 7-O-{5[(5(trifluorometil)-piridin-2-il)-tio]-pentil} -
crisina (**11d**) en CDCl_3 .

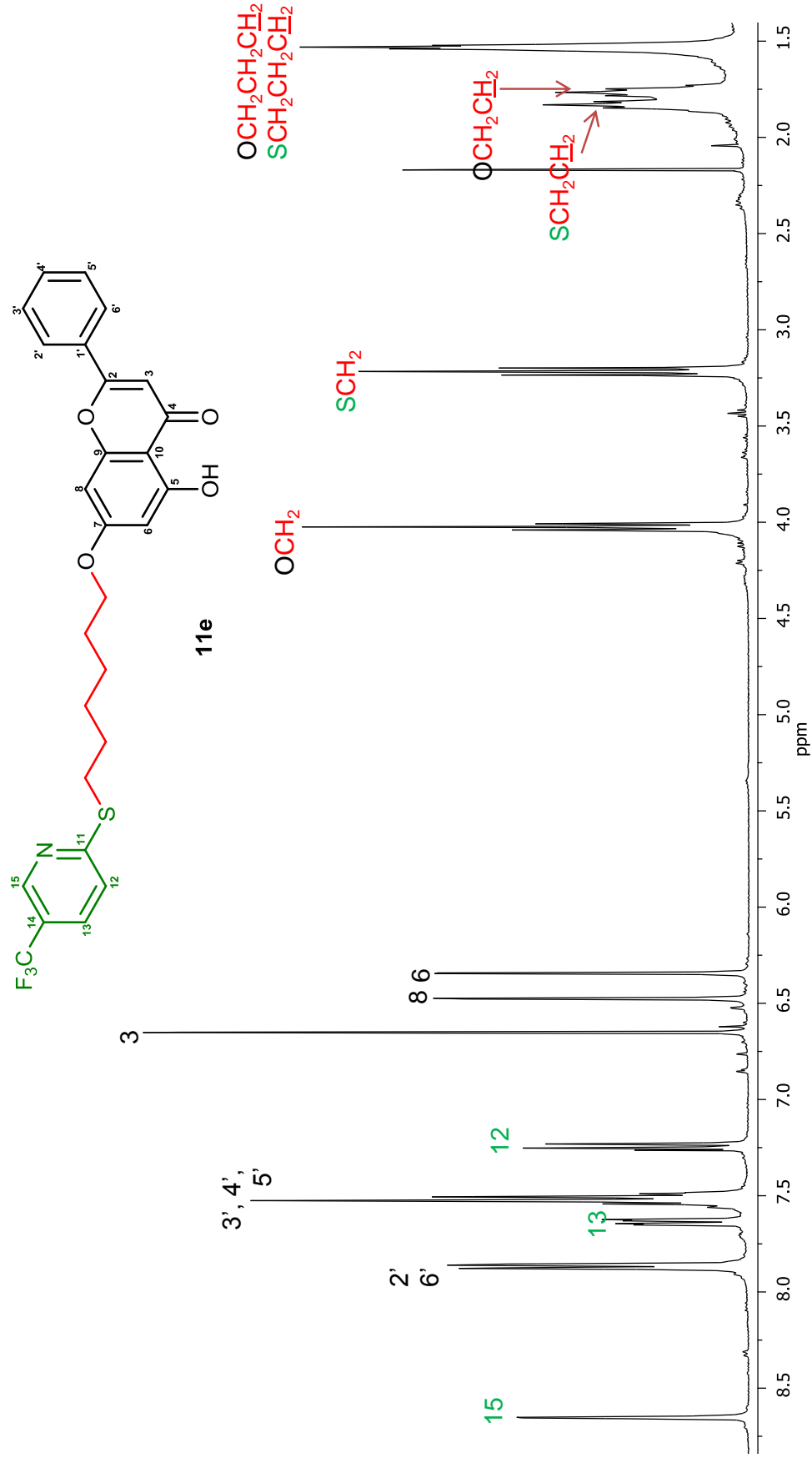


Figura 5.58. Espectro de RMN de ^1H de la 7-O-{6[(5(trifluorometil)-piridin-2-il)-tio]-hexil} -
crisina (**11e**) en CDCl_3 .

Estudio del extracto clorofórmico de *A. schaffneri*

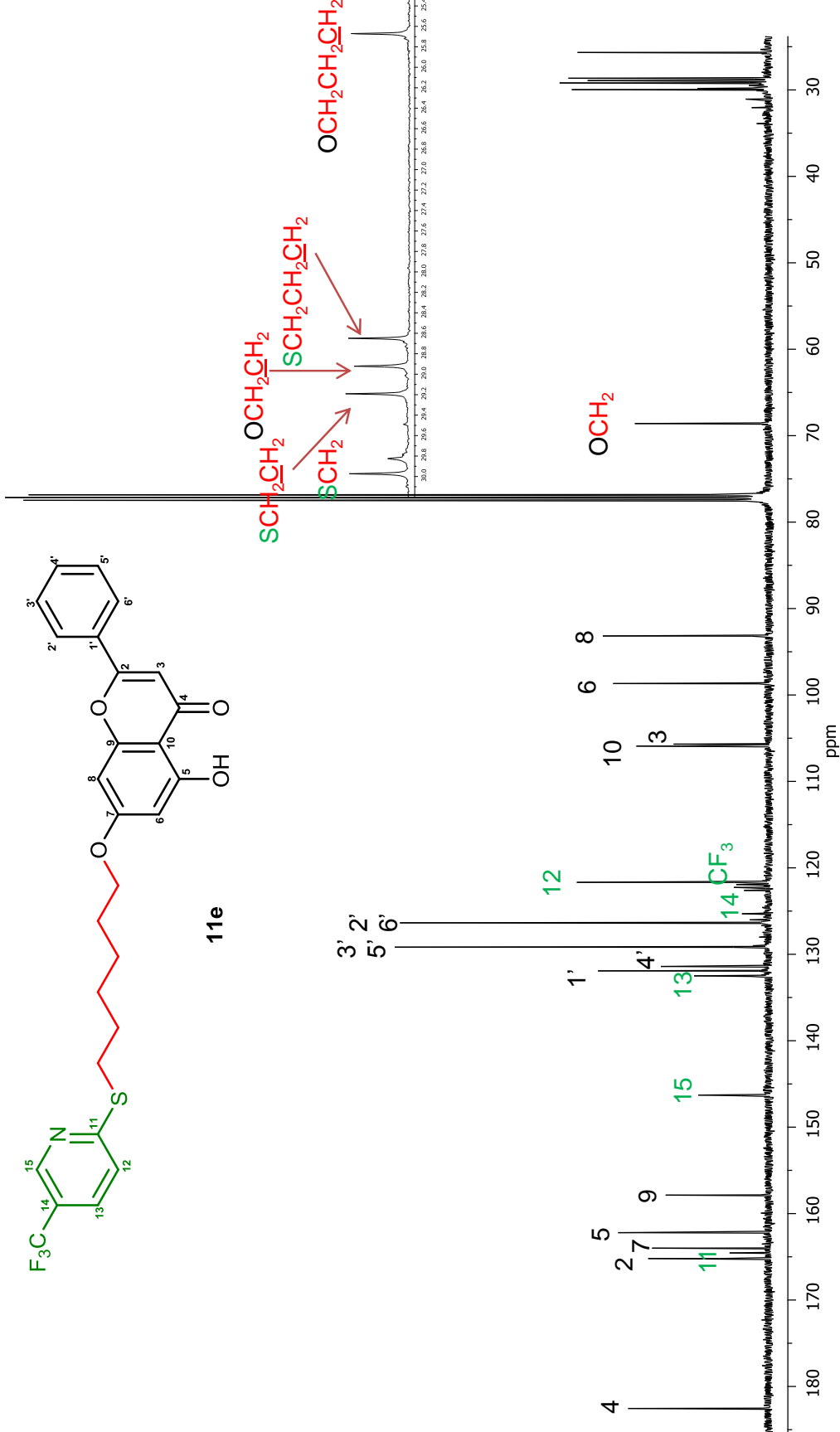


Figura 5.59. Espectro de RMN de ^{13}C de la 7-O-[6[5(trifluorometil)-piridin-2-il]-tio]- hexil} - crisina (**11e**) en $CDCl_3$.

5.4.

En un estudio previo de la parte aérea de *Acacia schaffneri* (Manríquez-Torres, 2012) se evidenció la presencia de compuestos polifenólicos, los cuales son de nuestro interés en el grupo. Entonces se decidió llevar a cabo un procedimiento para la obtención de este tipo de compuestos, para lo cual se colectó la especie en el municipio de Zempoala, Hidalgo en abril del 2012. La parte aérea seca y molida se extrajo con CHCl_3 mediante maceración por 48 horas, filtrado y concentrado en el rotavapor para obtener el extracto correspondiente. Una parte del mismo se sometió a separación mediante cromatografía en columna en gel de sílice usando hexano y mezclas de hexano-AcOEt, AcOEt y AcOEt-acetona para obtener luteonina, quercetina y el ácido gálico (Fig. 5.6), los cuales se caracterizaron mediante sus datos espectroscópicos y comparación con muestras auténticas (Manríquez-Torres 2012).

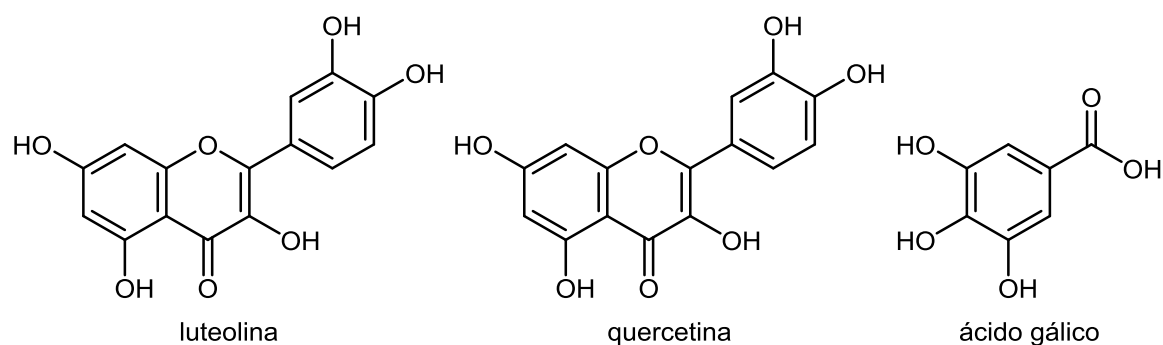


Figura 5.6. Estructura de los principales compuestos polifenólicos encontrados en la parte aérea de *Acacia schaffneri*.

Parte de este trabajo se publicó en el volumen 15 de *Organic Letters* del 2013 (Manríquez-Torres et al., 2013) (ver Supporting Information de esta publicación).

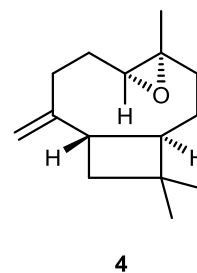
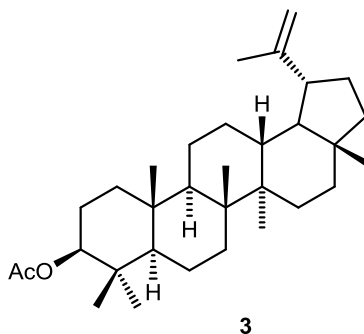
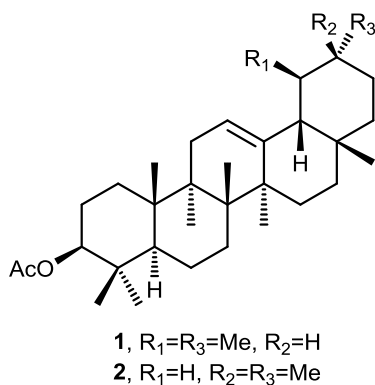
6. CONCLUSIONES

La separación cromatográfica del extracto de CHCl_3 de la parte aérea de *S. pilosa* condujo al aislamiento los triterpenos **1**, **2** y **3**, del sesquiterpenos **4** y de los flavonoides **5**, **6** y **7**. Los compuestos **5** y **6** se describen por primera vez para el género *Stevia*.

Del extracto CHCl_3 de la parte aérea de *S. tomentosa* se obtuvo la **epazoyucina (8)** una lactona sesquiterpénica novedosa a la que por medio de cálculos de DCV y estudios de difracción de rayos-X se logró determinar su configuración absoluta.

Se sintetizaron los derivados de crisina **9a-9e**, **10a-10e** y **11a-11e** de los cuales los compuestos **9d** y las series **10a-10e** y **11a-11e** se describen por primera vez. Su caracterización se llevó a cabo por RMN de ^1H , ^{13}C y por rayos-X en algunos casos.

Los resultados de este trabajo contribuyen al conocimiento de los metabolitos secundarios presentes en la parte aérea de *Stevia pilosa* y en la síntesis de derivados de productos naturales los cuales representan sustancias promisorias para el tratamiento de enfermedades como el cáncer y la inflamación.



7. PARTE EXPERIMENTAL

7.1. Generalidades

Las separaciones cromatográficas se llevaron a cabo empleando gel de sílice FLUKA 0.040-0.063 mm (230-400 mesh ASTM) y Sephadex LH-20 en columnas de vidrio de 1, 1.5, 2 y 3 cm de diámetro interno por 40 y 60 cm de largo. La separación por placa se realizó en cromatofolios de gel de sílice sobre aluminio de 2.5 x 5 cm.

Las rotaciones ópticas se determinaron con un polarímetro Perkin- Elmer 341 utilizando como disolvente cloroformo.

La determinación de los puntos de fusión se realizó en un equipo BUCHI melting point B-450 digital en tubos capilares abiertos.

Los espectros de infrarrojo se obtuvieron con un espectrómetro Perkin-Helmer Spectrum Gx por transformada de Fourier en disolución en CHCl_3 utilizando celdas de yoduro de cesio (CsI) y los valores se expresan en cm^{-1} .

Los espectros Raman se adquirieron en un espectrofotómetro GX NIR FT-RAMAN.

Los espectros de masa se determinaron en un espectrómetro de masa Hewlett-Packard 5989-A, acoplado a un cromatógrafo de gases Hewlett-Packard 5890 series II, impacto electrónico a 70 eV.

Los espectros de ^1H a 400 MHz y de ^{13}C a 100 MHz, así como los espectros COSY, HSQC y HMBC se determinaron en un equipo Varian mercury 400, usando como disolvente CDCl_3 y DMSO-d_6 teniendo como referencia interna TMS.

Las estructuras de rayos-X se determinaron utilizando un difractor Gemini de Agilent, con lámpara de Mo y Cu, con detector Atlas

Para el caso de la molécula **epazoyucina (8)** la molécula se construyó utilizando el programa Spartan 04 para posteriormente llevar a cabo un análisis de distribución conformacional utilizando el método Monte Carlo con mecánica molecular en este mismo programa. Luego se hizo una optimización de la geometría con teoría de funcionales de la densidad (DFT) primeramente a single point (0 K) usando B3LYP/6-31G*, seguido por optimización a temperatura ambiente utilizando B3LYP/ DGDZVP. Finalmente se calculó el espectro de dicroísmo circular vibracional (DCV) teórico mediante la ponderación de los mínimos energéticos obtenidos.

7.2. Desarrollo Experimental

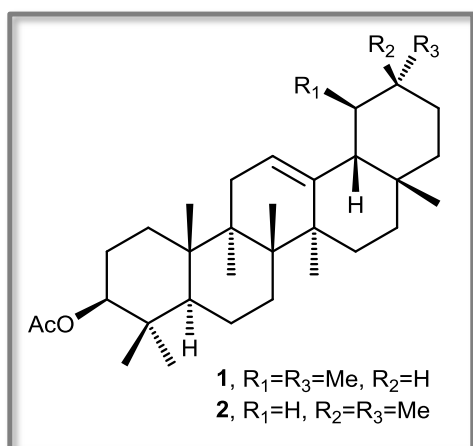
7.2.1. Aislamiento de metabolitos secundarios de la parte aérea de *S.*

Pilosa

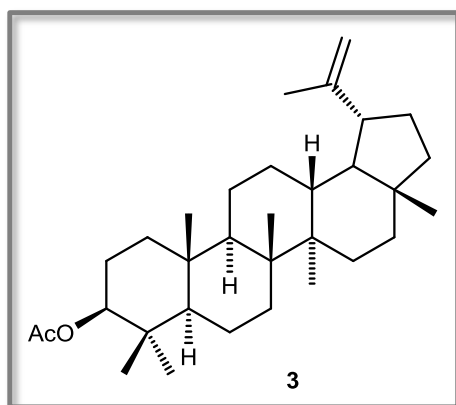
Los especímenes de *Stevia pilosa* se colectaron en la comunidad de Real del Monte, municipio de Mineral del Monte, en el estado de Hidalgo, en agosto-septiembre de 2011 y agosto-septiembre de 2012, respectivamente. Un ejemplar de esta planta se envió al Herbario del Centro de Investigaciones Biológicas del Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería de la UAEH, donde el M.C. Manuel González Ledesma identificó la especie. La planta se dejó secar a la sombra y se dividió en sus partes aéreas y raíces. Se obtuvieron los extractos de hexano, CHCl_3 , AcOEt y MeOH de forma secuencial de estas partes mediante reflujo por 6 horas o maceración por 7 días.

La parte aérea de *S. pilosa* (500 g) se sometió a maceración con CHCl_3 (4 L) por 7 días, seguido por filtración y concentrado en el rotaevaporador para obtener el extracto correspondiente (26 g), el cual se trató siguiendo un procedimiento conocido para la obtención selectiva de lactonas sesquiterpénicas (Hernández et al., 1997), de la manera siguiente. El extracto se disolvió en EtOH (250 mL), se calentó a 60 °C, se adicionó H_2O (150 mL) y se llevó temperatura ambiente. Posteriormente, se hicieron lavados con hexano (3 x 400 mL) y CHCl_3 (3 x 400 mL), las fases orgánicas se concentraron y se juntaron para obtener 5 g de la parte hexánica y 11 g de la parte de CHCl_3 . El extracto hexánico se sometió a separación cromatográfica usando la técnica de cromatografía rápida en gel de sílice y obteniendo fracciones gruesas (250 mL) etiquetadas como A-O con los siguientes disolventes: hexano (A), mezclas de hexano-AcOEt 19:1 (B), 9:1 (C), 4:1 (D) 7:3 (E), 3:2 (F), 1:1 (G), CHCl_3 (H), mezclas de CHCl_3 - MeOH 19:1 (I), 9:1 (J), 4:1 (K) 7:3 (L), 3:2 (M), 1:1 (N) y MeOH (O).

Las fracciones C-E se juntaron y mediante cromatografías sucesivas utilizando mezclas de hexano-AcOEt (17:5 y 4:1) se obtuvo una mezcla de triterpenos que por medio de cromatografía en columna en gel de sílice impregnado con AgNO₃ se logró obtener la mezcla de los compuestos **1-2** y el triterpeno **3**.

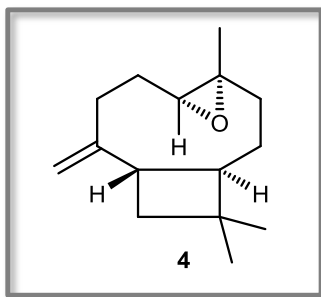


Acetato de α - β -amirina (1-2). Sólido blanco (13 mg, 0.26 %), RMN de ¹H (Fig. 5.3, Tabla 5.1).



Acetato de lupeol (3). Sólido blanco (8 mg, 0.16 %), [α]_D = +17.5 (c 0.1, CHCl₃). RMN de ¹H (Fig. 5.4, Tabla 5.1).

Al seguir con las cromatografías de las fracciones D-E utilizando CHCl₃ se obtuvo un aceite transparente identificado como el compuesto óxido de β -cariofileno (**4**).



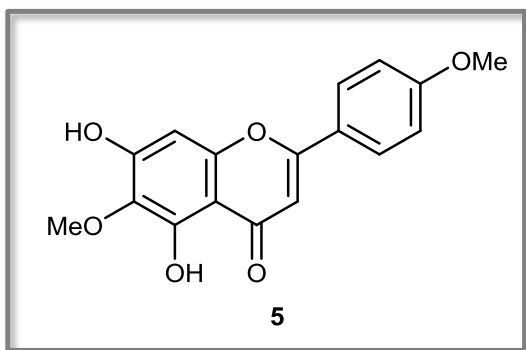
Óxido de β - cariofileno (4). Sólido blanco (7 mg, 0.14%), p.f.= 61-63°C, $[\alpha]_D = -15.8^\circ$ (c=0.2, CHCl₃), RMN de ¹H y ¹³C (Fig. 5.5 ,Tabla 5.2).

La separación de la fase CHCl₃ del extracto CHCl₃ se realizó por medio de cromatografía en columna de donde primeramente se obtuvieron fracciones gruesas (250 mL) con hexano (A) mezclas de hexano-AcOEt 19:1 (B), 9:1 (C), 4:1 (D) 7:3 (E), 3:2 (F), 1:1 (G), CHCl₃ (H), mezclas de CHCl₃- MeOH 19:1 (I), 9:1 (J), 4:1 (K) 7:3 (L), 3:2 (M), 1:1 (N) y MeOH (O), mezclas de hexano-AcOEt (4:1, 7:3, 3:2, 1:1, 3:7) y AcOEt como eluyente. Las fracciones D y E se juntaron y recromatografiaron con CH₂Cl₂ y mezclas de CH₂Cl₂-acetona (9:1 y 4:1) de donde se obtuvo un sólido de color amarillo, el cual se cristalizó en CHCl₃-MeOH. A los cristales se les agregó MeOH y se filtraron obteniendo por un lado los cristales y por el otro la parte soluble en MeOH.

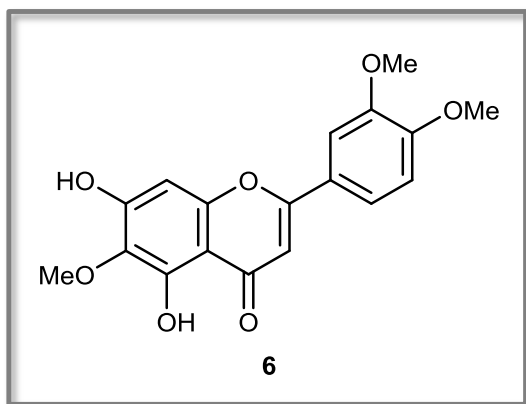
Después del análisis físico y espectroscópico de los cristales el compuesto se identificó como la **pectolinarigenina (5)**; en el caso de la parte soluble en MeOH se obtuvo el compuesto **5** en adición del flavonoide **eupatilina (6)** que se cristalizó de la misma manera que la **pectolinarigenina**.

Por otro lado, las fracciones F, G y H se juntaron y se purificaron en gel de sílice usando CHCl₃-MeOH (4:1). Por este procedimiento se obtuvo un sólido de color amarillo, que, de acuerdo a la comparación de sus datos físicos y espectroscópicos y

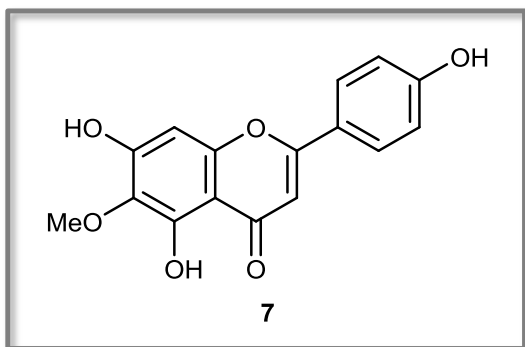
comparándolos con los de la **pectolinarigenina** y la **eupatilina**, coincidieron con la flavona denominada **hispidulina** (7).



Pectolinarigenina (5). Cristales amarillos en forma de agujas (129 mg, 1.17%), p. f.= 217-219 °C. RMN de ^1H , ^{13}C y HMBC (Fig. 5.7-5.9, Tabla 5.3-5.4).



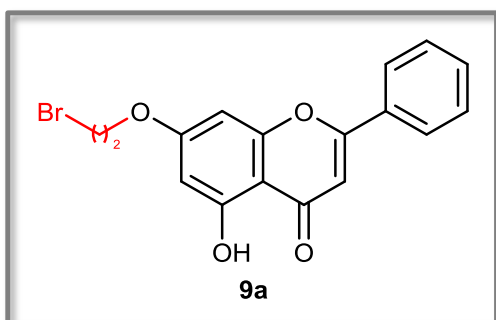
Eupatilina (6). Cristales amarillos en forma de agujas (82 mg, 0.74%), p.f.= 235- 237 °C. RMN de ^1H , ^{13}C y HMBC (Fig. 5.10-5.12, Tabla 5.3-5.4).



Hispidulina (7). Sólido amarillo (3 mg, 0.027 %), p.f.= 285-287°C. RMN de ^1H (Fig. 5.13, Tabla 5.3).

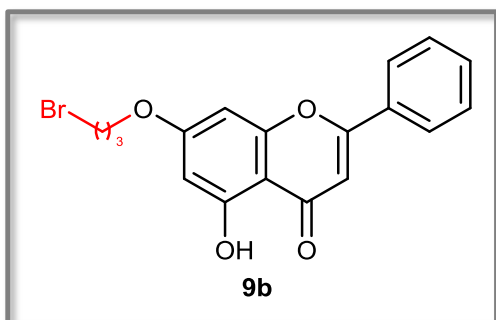
7.2.2. Síntesis de derivados de crisina

Los derivados bromados (**9a-9e**) se sintetizaron a partir de crisina (1 g, 3.93 mmol) la cual se hizo reaccionar con los dibromo-alcanos correspondiente en relación 1:5, en presencia de carbonato de potasio (1.09 g, 7.86 mmol) utilizando como disolvente acetona (50 mL) a reflujo por 24 horas. La suspensión resultante se filtró y el disolvente se evaporó. El sólido obtenido se purificó mediante cromatografía en columna en gel de sílice utilizando mezclas de hexano-AcOEt y CHCl_3 para dar las respectivas 7-O-bromoalquil crisinas **9a-9e** como sólidos de color amarillo.



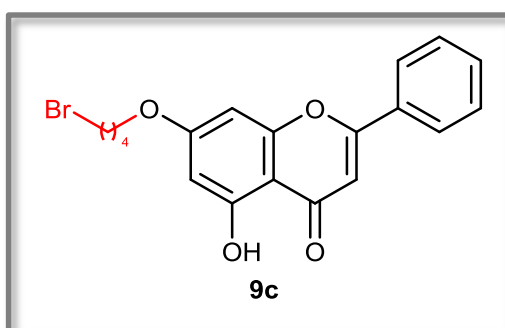
7-O-[2-(bromo)-etil]-crisina (9a). La crisina se hizo reaccionar con el 1,2-dibromoetano (1.68 mL, 19.6 mmol). El producto se purificó por CC usando hexano-AcOEt (4:1) para obtener **9a** como cristales amarillos (1.32 g, 93.3%), p.f.=

161-163 °C. RMN de ^1H y ^{13}C (Fig. 5.19-5.21, Tabla 5.5-5.6).



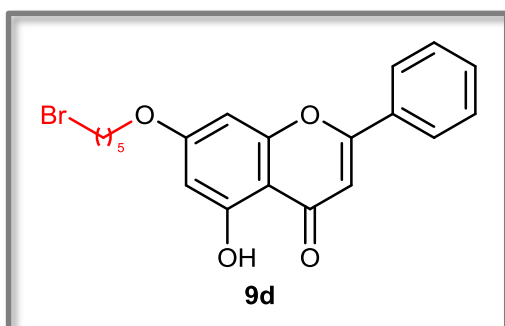
7-O-[3-(bromo)-propil]-crisina (9b). La crisina se hizo reaccionar con el 1,3-dibromopropano (1.99 mL, 19.6 mmol). El producto se purificó por CC usando hexano-AcOEt (9:1) para obtener a **9b** como un sólido amarillo (1.40 g, 94.5%). P.f.=

143-145 °C. RMN de ^1H y ^{13}C (Fig. 5.22-5.23, Tabla 5.5-5.6).



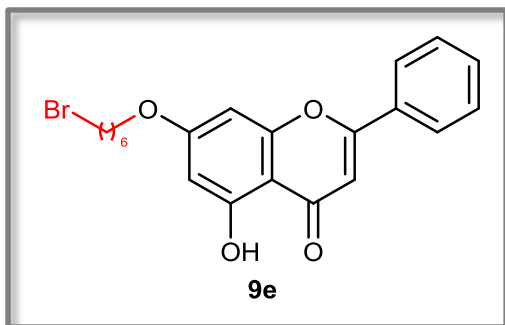
7-O-[4-(bromo)-butil]-crisina (9c). La crisina se hizo reaccionar con el 1,4-dibromobutano (2.18 mL, 19.6 mmol). El producto se purificó por CC usando hexano-AcOEt (9:1) para obtener a **9c** como cristales amarillos (1.39 g, 90.7%), p.f.=

132-134 °C. RMN de ^1H y ^{13}C (Fig. 5.24-5.25, Tabla 5.5-5.6).



7-O-[5-(bromo)-pentil]-crisina (9d). La crisina se hizo reaccionar con el 1,5-dibromopentano. El producto se purificó por CC usando hexano-AcOEt (19:1) para obtener a **9d** como cristales amarillos (1.48 g, 93.2%). ν_{max} IR (cm^{-1} , KBr):

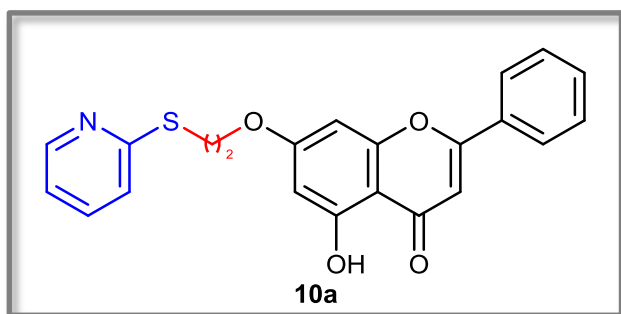
3448 br (O-H), 3066 w ($\text{C-H}_{\text{aromáticos}}$), 2927 st ($-\text{CH}_2-$) 1664 st (C=O); Raman: 3073 w ($\text{C-H}_{\text{aromáticos}}$), 2900 w ($-\text{CH}_2-$), 1604 st (C=O); p.f.= 122-124 °C; RMN de ^1H y ^{13}C (Fig. 5.26-5.27, Tabla 5.5-5.6).



7-O-[6-(bromo)-hexil]-crisina (9e). La crisina se hizo reaccionar con el 1,6-dibromohexano (3.02 mL, 19.6 mmol). El producto se purificó por CC usando hexano-AcOEt (19:1) para obtener a **9e** como cristales amarillos (1.50 g, 91.2%), p.f.=

115-117 °C. RMN de ^1H y ^{13}C (Fig. 5.28-5.29, Tabla 5.5-5.6).

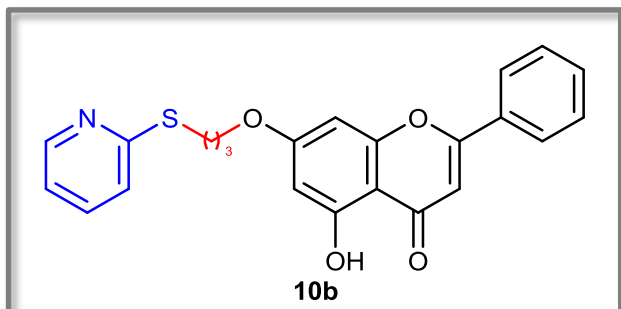
La preparación de los compuestos **10a-10e** se realizó a partir de los derivados bromados **9a-9e**, los cuales se hicieron reaccionar con la 2-mercaptopiridina en relación 1:1.25, en presencia de carbonato de potasio, utilizando como disolvente tolueno (50 mL) a reflujo por 48 horas. La suspensión resultante se filtró y el disolvente se evaporó con ayuda de un rotaevaporador. El sólido obtenido se purificó mediante cromatografía en columna en gel de sílice utilizando como eluyente mezclas de hexano-AcOEt y CHCl_3 para dar cada una de las 7-O- [(piridin-2-il-tio) -alquil]- crisinas **10a-10e** como sólidos de color amarillo.



7-O-[2-(piridin-2-il-tio)-etil]-crisina (10a). El compuesto **9a** (500 mg, 1.38 mmol) se hizo reaccionar con la 2-mercaptopiridina (192 mg, 1.72 mmol) y

carbonato de potasio (381mg, 2.76 mmol). De la purificación por CC en hexano-AcOEt (4:1) se obtuvo **10a** como un sólido amarillo (456 mg, 84.1%). P.f.= 120-122 °C; u_{max} IR (cm^{-1} , KBr): 3448 br (O-H), 3062 w (C-H aromáticos), 2920 w ($-\text{CH}_2-$)-1660 st (C=O),

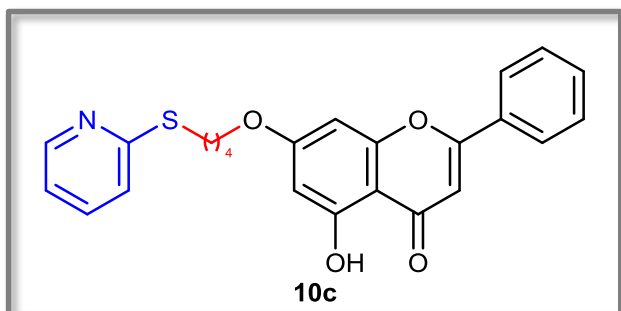
1621 st (C=N); Raman: 3069 w (C-H_{aromáticos}), 1611 st (C=O); RMN de ¹H y ¹³C (Fig. 5.32-5.33, Tabla 5.7-5.8).



7-O-[3-(piridin-2-il-tio)-propil]-crisina

(10b). El compuesto **9b** (500 mg, 1.33 mmol) se hizo reaccionar con la 2-mercaptopiridina (184 mg, 1.66 mmol) y carbonato de potasio (367 mg, 2.66

mmol). De la purificación por CC en hexano- AcOEt (4:1) se aisló **10b** como cristales amarillos (442 mg, 82.0%), p.f.= 105-107 °C; ν_{\max} IR (cm⁻¹, KBr): 3434 br (O-H), 3066 w (C-H_{aromáticos}), 2966 w (-CH₂-), 1660 st (C=O), 1614 st (C=N); Raman: 3073 w (C-H_{aromáticos}), 1607 st (C=O); RMN de ¹H, COSY, ¹³C, HSQC y HMBC (Fig. 5.34-5.39, Tabla 5.7-5.8).

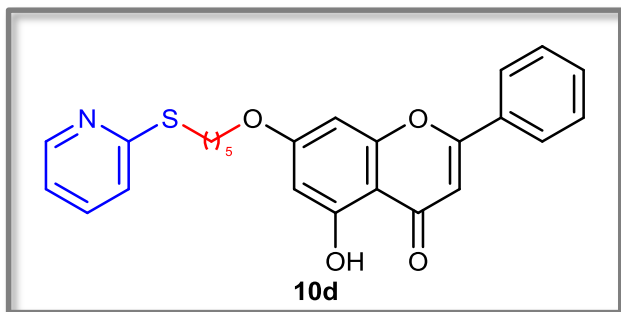


7-O-[4-(piridin-2-il-tio)-butil]-crisina

(10c). El compuesto **9c** (500 mg, 1.28 mmol) se hizo reaccionar con la 2-mercaptopiridina (178 mg, 1.60 mmol) y carbonato de potasio (353 mg, 2.56

mmol). El producto se purificó por CC en hexano- AcOEt (9:1) para obtener a **10c** como un sólido amarillo (468 mg, 86.8 %), p. f.= 100-102 °C; ν_{\max} IR (cm⁻¹, KBr): 3455 br (O-H), 3076 w (C-H_{aromáticos}), 2924 st (-CH₂-), 1660 st (C=O), 1611 st (C=N); Raman:

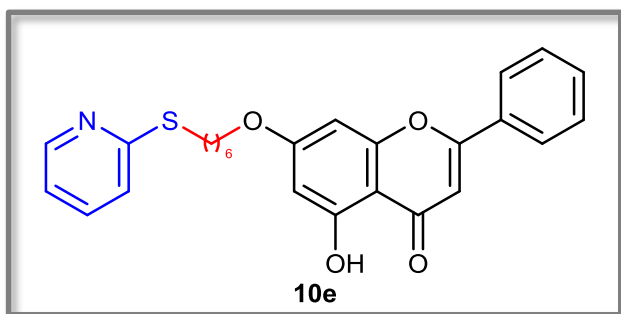
3076 w (C-H_{aromáticos}), 2927 w (-CH₂-), 1604 st (C=O); RMN de ¹H y ¹³C (Fig. 5.40-5.41, Tabla 5.7-5.8).



7-O-[5-(piridin-2-il-tio)-pentil]-crisina

(10d). El compuesto **9d** (500 mg, 1.24 mmol) se hizo reaccionar con la 2-mercaptopiridina (172 mg, 1.55 mmol) y carbonato de potasio (342 mg, 2.48

mmol). De la purificación por CC utilizando hexano-AcOEt (9:1) se obtuvo a **10d** como cristales amarillos (451 mg, 83.9 %), p.f.= 94-96 °C; u_{\max} IR (cm⁻¹, KBr): 3462 br (O-H), 3062 w (C-H_{aromáticos}), 2956 st (-CH₂-), 1664 st (C=O), 1611 st (C=N); Raman: 3058 w (C-H_{aromáticos}), 2910 w (-CH₂-), 1611 st (C=O); RMN de ¹H y ¹³C (Fig. 5.42-5.43, Tabla 5.7-5.8).

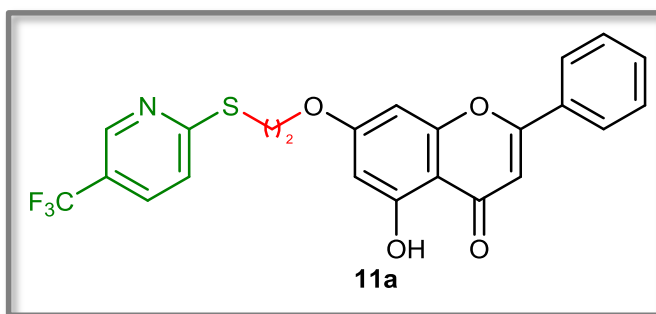


7-O-[6-(piridin-2-il-tio)-hexil]-crisina

(10e). El compuesto **9e** (500 mg, 1.12 mmol) se hizo reaccionar con la 2-mercaptopiridina (155 mg, 1.40 mmol) y carbonato de potasio (309 mg, 2.24

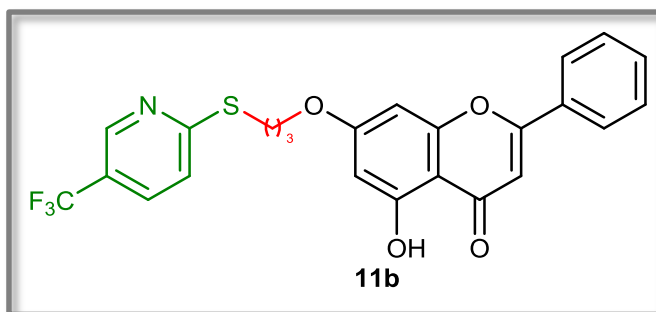
mmol). El producto se purificó por CC usando hexano-AcOEt (19:1) para obtener a **10e** como un sólido amarillo (472 mg, 88.2 %), p.f.= 103-105 °C. u_{\max} IR (cm⁻¹, KBr): 3066 w (C-H_{aromáticos}), 2949 st (-CH₂-), 1653 st (C=O), 1618 st (C=N); Raman: 3069 w (C-H_{aromáticos}), 2917 w (-CH₂-), 1611 st (C=O); RMN de ¹H y ¹³C (Fig. 5.44-5.45, Tabla 5.7-5.8).

La síntesis de los compuestos **11a-11e** se realizó a partir de los derivados bromados **9a-9e** los cuales se hicieron reaccionar con la 2-mercapto-5-trifluorometil-piridina en relación 1:1.25, en presencia de carbonato de potasio utilizando como disolvente acetona a reflujo por 48 horas. La suspensión resultante se filtró y el disolvente se evaporó con ayuda de un rotaevaporador. El sólido obtenido se purificó mediante cromatografía en columna en gel de sílice utilizando como eluyente mezclas de hexano-AcOEt y CHCl_3 para obtener las 7-O-[[[(5-trifluorometil)-piridin-2-il)-tio]-alquil]-crisinas **11a-11e** como sólidos de color amarillo.



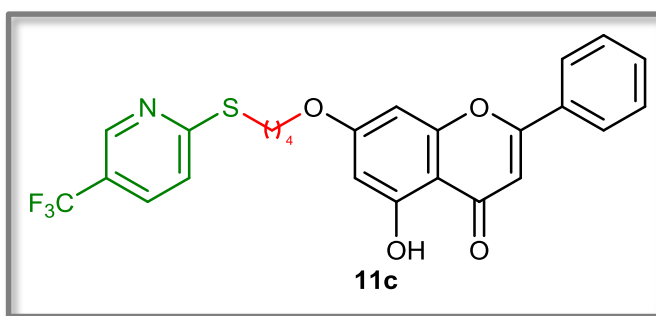
7-O-2-[[[(5-trifluorometil)-piridin-2-il)-tio]-etil]-crisina (11a). El compuesto **9a** (500 mg, 1.38 mmol) se hizo reaccionar con la 2-mercapto-5-trifluorometil-piridina (308 mg, 1.72

mmol) y carbonato de potasio (381mg, 2.76 mmol). Su purificación se hizo por CC usando hexano-acetato de etilo (9:1) obteniendo a **11a** como cristales amarillos (558 mg, 87.8%). Punto de fusión= 140-142 °C; IR u_{max} (cm^{-1} , KBr): 3441 br (O-H), 3073 w ($\text{C-H}_{\text{aromáticos}}$), 2920 w ($-\text{CH}_2-$), 1657 st (C=O), 1621 st (C=N); Raman: 3073 w ($\text{C-H}_{\text{aromáticos}}$), 2934 w ($-\text{CH}_2-$), 1611 st (C=O); RMN de ^1H y ^{13}C (Fig. 5.48-5.49, Tabla 5.9-5.10).



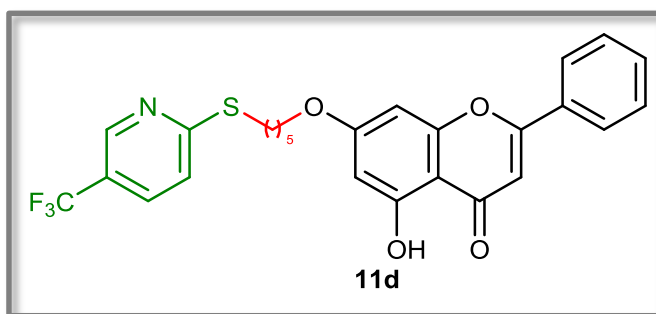
7-O-3-[[[(5-trifluorometil)-piridin-2-il)-tio]-propil]-crisina (11b). El

compuesto **9b** (500 mg, 1.33 mmol) se hizo reaccionar con la 2-mercapto-5-trifluorometil-piridina (297 mg, 1.66 mmol) y carbonato de potasio (367 mg, 2.66 mmol). Su purificación se hizo por CC usando hexano-AcOEt (9:1) para obtener a **11b** como un sólido amarillo (515 mg, 81.9%). Punto de fusión= 160-162 °C; IR ν_{\max} (cm^{-1} , KBr): 3434 br (O-H), 3066 w ($\text{C-H}_{\text{aromáticos}}$), 2942 w ($-\text{CH}_2-$), 1664 st (C=O), 1618 st (C=N); Raman: 3073 w ($\text{C-H}_{\text{aromáticos}}$), 2934 w ($-\text{CH}_2-$), 1607 st (C=O); RMN de ^1H y ^{13}C (Fig. 5.50-5.51, Tabla 5.9-5.10).



7-O-4-((5-trifluorometil)-piridin-2-il)-tio]-butil)-crisina (11c). El

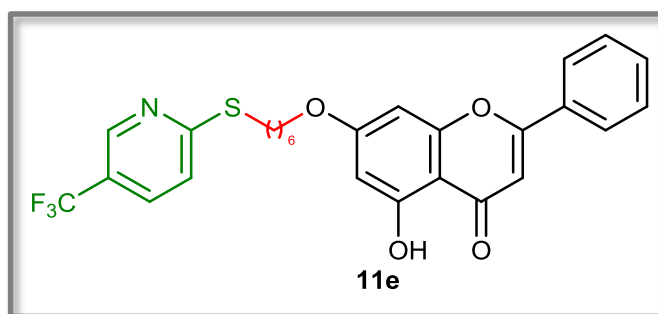
compuesto **9c** (500 mg, 1.28 mmol) se hizo reaccionar con la 2-mercapto-5-trifluorometil-piridina (286 mg, 1.60 mmol) y carbonato de potasio (353 mg, 2.56 mmol). La purificación se hizo por CC usando hexano-AcOEt (19:1) para obtener a **11c** como un sólido amarillo (550 mg, 88.0 %). Punto de fusión= 148-150 °C; IR ν_{\max} (cm^{-1} , KBr): 3437 br (O-H), 3080 w ($\text{C-H}_{\text{aromáticos}}$), 2924 st ($-\text{CH}_2-$), 1667 st (C=O), 1621 st (C=N); Raman: 3080 w ($\text{C-H}_{\text{aromáticos}}$), 2924 w ($-\text{CH}_2-$), 1604 st (C=O); RMN de ^1H , ^{13}C y HMBC (Fig. 5.52-5.55, Tabla 5.9-5.10).



7-O-5-((5-trifluorometil)-piridin-2-il)-tio]-pentil)-crisina (11d). El

compuesto **9d** (500 mg, 1.24 mmol)

se hizo reaccionar con la 2-mercapto-5-trifluorometil-piridina (277 mg, 1.55 mmol) y carbonato de potasio (342 mg, 2.48 mmol). La purificación se hizo por CC usando hexano-AcOEt (19:1) para obtener a **11d** como un sólido amarillo (529 mg, 85.2 %). Punto de fusión= 134-136 °C; IR ν_{\max} (cm⁻¹, KBr): 3448 br (O-H), 3073 w (C-H aromáticos), 2959 st (-CH₂-), 1660 st (C=O), 1611 st (C=N); Raman: 3076 w (C-H_{aromáticos}), 2913 w (-CH₂-), 1604 st (C=O); RMN de ¹H y ¹³C (Fig. 5.56-5.57, Tabla 5.9-5.10).



7-O-6[[(5-trifluorometil)-piridin-2-il]-tio]-hexil]-crisina (11e). El

compuesto **9e** (500 mg, 1.12 mmol) se hizo reaccionar con la 2-mercapto-5-trifluorometil-piridina (250 mg, 1.40

mmol) y carbonato de potasio (309 mg, 2.24 mmol). La purificación se hizo por CC usando hexano-AcOEt (19:1) para obtener a **11e** como un sólido amarillo (539 mg, 87.4 %). Punto de fusión= 143-145 °C. IR ν_{\max} (cm⁻¹, KBr): 3437 br (O-H), 3069 w (C-H aromáticos), 2927 st (-CH₂-), 1660 st (C=O), 1607 st (C=N); Raman: 3076 w (C-H_{aromáticos}), 2913 w (-CH₂-), 1604 st (C=O); RMN de ¹H y ¹³C (Fig. 5.58-5.59, Tabla 5.9-5.10).

8. REFERENCIAS

- Ahn YM, Vogeti L, Liu CJ, Santhapuram HKR, White JM, Vasandani V, Mitscher LA, Lushington GH, Hanson PR, Powel DR, Himes RH, Roby KF, Ye Q, Gerog GI, **2007**. Dessing, synthesis, and antiproliferative and CDK2-cyclin. A inhibitory activity of novel flavopiridol analogues. *Bioorganic and Medicinal Chemistry* 15, 702-713.
- Akisha T, Yasukawa K, Kimura Y, Takase S, Yamanouchi S, Tamura T, **1997**. Triterpene alcohols from Camellia and Sasanqua oils and their anti-inflammatory effects. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 45, 2016-2023.
- Alvarez-García R, Torres-Valencia M, Román LU, Hernández-Hernández JD, Cerda-García-Rojas CM, Joseph-Hathan P, **2005**. Absolute configuration of the – methylbutyryl residue in longipinen derivatives from *Stevia pilosa*. *Phytochemistry* 66, 639-642.
- Anaya-Eugenio GD, Rivero CI, Rivera CJ, Mata R, **2014**. Hypoglycemic properties of some preparations and compounds from *Artemisia ludoviciana* Nutt. *Journal of Etnofarmacology* 155, 416-425.
- Babu KS, Babu TH, Srinivas PB, Kishore KH, Murthy USN, Kao JM, **2006**. Synthesis and biological evaluation of novel C (7) modified chrysin analogues as antibacterial agents. *Bioorganic and Medicinal Chemistry* 16, 221-224.
- Boumendjel A, Taiwe GS, Bum EN, Chabrol T, Beney C, Sinniger V, Haudecoeur R, Marcourt L, Challal S, Queiroz EF, Suard F, Le-Borgne M, Lomberget T, Depaulis A, Lavaud C, Robins R, Wolfender JL, Bonaz B, De Waard M, **2013**. Occurrence

of the synthetic analgesic tramadol in an African medicinal plant. *Angewandte Chemie International Editions* 52, 11780-11784.

Cerda-García-Rojas CM, Hernández-Hernández JD, Román-Marín LU, Joseph-Nathan P, 2005. Verticillanes derivatives from *Bursera suntui* and *Bursera kerberi*. *Journal of Natural Products* 68, 1598-1602.

Cerda-García RC, Pereda MR. The phytochemistry of *Stevia*: a general survey, the genus *Stevia*, Chapter 5. Edited by Douglas Kinghorn, University of Illinois at Chicago, Taylor & Francis Inc. New York, USA, **2002**, pp. 86-118.

Di Sotto A, Maffei F, Hrelia P, Castelli F, Sarpietro MG, Mazzanti G, **2013**. Genotoxicity assessment of β -caryophyllene oxide. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 66, 264-268.

Dong FY, Jiang RW, **2011**. Research progress of the natural products against prostate cancer. *Chinese Journal of Natural Medicines* 9, 81-89.

Furukawa S, Takagi N, Ikeda T, Ono M, Nafady AM, Nohara T, Sugimoto H, Doi S, Yamada H, 2002. Two novel long-chain alkanolic acid esters of lupeol from alecrim-propolis. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 50 (3), 449-450.

García A, Bocanegra-García V, Palma-Nicolás GP, Rivera G, **2012**. Recent advances in antitubercular natural products. *European Journal of Natural Medicines* 49, 1-23.

Hernández ZNJ, Hernández LR, Catalán CAN, Gedris TE, Herz W. Guayanolides and germacradienolides from *Stevia sanguínea*. *Phytochemistry* **1997**, 46, 721-727.

- Hu K, Wang W, Cheng H, Pan SS, Ren J, 2011. Synthesis and cytotoxicity of novel chrysin derivatives. *Medicinal and Chemistry Research* 20, 838-846.
- Izumi E, Ueda-Nakamura T, Filho BPD, Veiga Junior BF, Nakamura CV, **2011**. Natural products and Chagas' disease: a review of plant compounds studied for activity against *Trypanozoma cruzi*. *Natural Products Report* 28, 809-823.
- Jamal AK, Yaacob W.A. Din LB, **2008**. A chemical study on *Phyllanthus reticulatus*. *Journal of Physical Science* 19(2), 45-50.
- Joyner PM, Cichewicz RH, **2011**. Bringing natural products into the fold-exploring the therapeutic lead potencial of secondary metabolites for the treatment of protein-misfolding-related neurodegenerative diseases. *Natural Products Report* 28, 26-47.
- Li HQ, Shi L, Li QS, Liu PG, Luo Y, Zhao J, Zhu HL, **2009**. Synthesis of C (7) modified chrysin derivatives designing to inhibit β -keto-acyl carrier protein synthase III (FaBH) as antibiotics. *Bioorganic and Medicinal Chemistry* 17, 6264-6269.
- Lim H, Son KH, Chang HW, Bae K, Kang SS, Kim HP. Anti-inflammatory activity of pectolarigenin and pectolarin isolated from *Cirsium chanroenicum*. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* **2008**, 31, 2063-2067.
- Lucetti DL, Lucetti ECP, Bandeira MAM, Veras HNH, Silva AH, Leal LK, Lopes AA, Alves VC, Silva GS, Brito GA, Viana GB, **2010**. Anti-inflammatory effect and possible mechanism of action of lupeol acetate isolated from *Himatanthus drasticum* (Mart.) Plumel. *Journal of Inflammation* 7:60.

- Manríquez-Torres J. Principios activos antiinflamatorios y anticancerígenos de *Acacia schaffneri*. Tesis de Doctorado. Área Académica de Química, Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Pachuca, Hidalgo, **2012**.
- Manríquez-Torres JJ, Torres-Valencia JM, Gómez-Hurtado MA, Motilva V, García-Mauriño S, Ávila J, Talero E, Cerda-García-Rojas, Joseph-Nathan P, **2011**. Absolute configuration of 7,8-seco-7,8-oxacassane diterpenoids from *Acacia schaffneri*. *Journal of Natural Products* 74, 1946-1951.
- Manríquez-Torres JJ, Torres-Valencia JM, Velázquez-Jiménez R, Valdez-Calderón A, Alvarado-Rodríguez JE, Cerda-García-Rojas, Joseph-Nathan P, **2013**. A macrocyclic dimeric terpene with a C₂ symmetry axes. *Organic Letters* 15, 4658-4661.
- Martínez VM, Muñoz ZA, Joseph-Nathan P, **1988**. Conformational analysis of achillin and leukodin. *Journal of Natural Products* 51, 221-228.
- Muthu C, Reegan AD, Kingsley S, Ignacimuthu S, **2012**. Larvicidal activity of pectolinarigenin from *Clerodendrum phlomidis* L. against *Culex quinquefasciatus* Say and *Aedes aegypti* L. (*Diptera: Culicidae*). *Parasitology Research* 111, 1059-1065.
- Nepal M, Choi HJ, Choi BY, Yang MS, Chae J, Li L, Soh Y, **2013**. Hispidulin attenuates bone resorption and osteoclastogenesis via the RANKL- induce NF- κ B and NFATc1 pathways. *European Journal of Pharmacology* 715, 96-104.

Omosa LK, Amugune B, Ndunda B, Milugo TK, Heydenreich M, Yenesew A, Midiwo JO, **2014**. Antimicrobial flavonoids and diterpenoids from *Dodonaea angustifolia*. *South African Journal of Botany* 91, 58-62.

Romo de Vivar R. A. Química de la Flora Mexicana. Investigaciones en el Instituto de Química UNAM, Sociedad Química de México. México D. F. **2006**.

Shing M, Kaur M, Silakari O, **2014**. Flavones: an important scaffold for medicinal chemistry. *European Journal of Medicinal Chemistry* 84, 206-239.

Suleimenov EM, Smagulova FM, Morozova OVRaldugin VA, Bagryaskaya IY, Galitov YV, Yamovoy VI, Adekenov SM, **2005**. Sesquiterpene lactones and flavonoids *Artemisia albida*. *Chemistry of Natural Compounds* 41, 689-691.

Thebtarabnonth C, Thebtarabnonth Y, Wanauppathamkul S, Yuthabong T, **1995**. Antimalarial sesquiterpenes from tubers of *Cyperus rotundus*: structure of 10,12-peroxycalamenene, a sesquiterpene endoperoxide. *Phytochemistry* 40(1), 125-128.

Torres-Valencia M, Melédez-Rodríguez M, Álvarez-García R, Cerda-García-Rojas CM, Joseph-Nathan P, **2004**. DFT and NMR parametrized conformation of valeranone. *Magnetic Resonance in Chemistry* 42, 898-902.

Valdez-Calderón A. Estudio químico de *Stevia tomentosa*. Tesis de Maestría. Área Académica de Química, Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Pachuca, Hidalgo, **2011**.

Valdez-Calderón A, Torres-Valencia JM, Manríquez-Torres JJ, Velázquez-Jiménez R, Gómez-Hurtado MA, Román-Marín LU, Hernández-Hernández JD, Cerda-

García-Rojas CM, Joseph-Nathan P, **2011**. A new bisabolene from *Stevia tomentosa*. *Natural Product Communications* 9, 1225-1228.

Valdez-Calderón A, Torres-Valencia JM, Manríquez-Torres JJ, Velázquez-Jiménez R, Gómez-Hurtado MA, Román-Marín LU, Hernández-Hernández JD, Cerda-García-Rojas CM, Joseph-Nathan P, **2013**. An unusual diepoxyguaianolide from *Stevia tomentosa*. *Tetrahedron Letters* 54, 3286-3289.

Verma AK, Pratap R, **2012**. Chemistry of biologically important flavones. *Tetrahedron* 68, 8523-8538.

Williams P, Sorribas A, Howes MJ, **2011**. Natural products as a source Alz-Heimer's drug leads. *Natural Products Report* 28, 48-77.

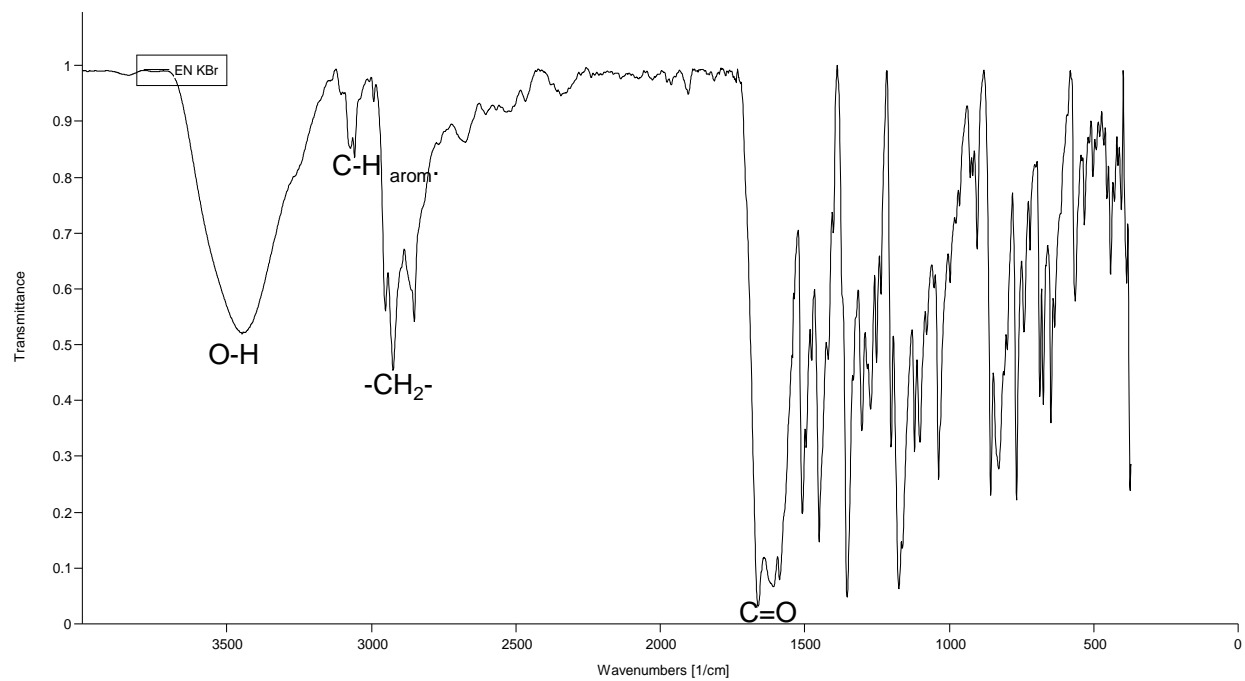
Xing Z, Wei-Dong M, Yang-Yan Z, Jian-Guo C, Feng-Ling Q, **2003**. Synthesis and anticancer effect of chrysin derivatives. *Bioorganical and Medicinal Chemistry Letters* 13, 881-884.

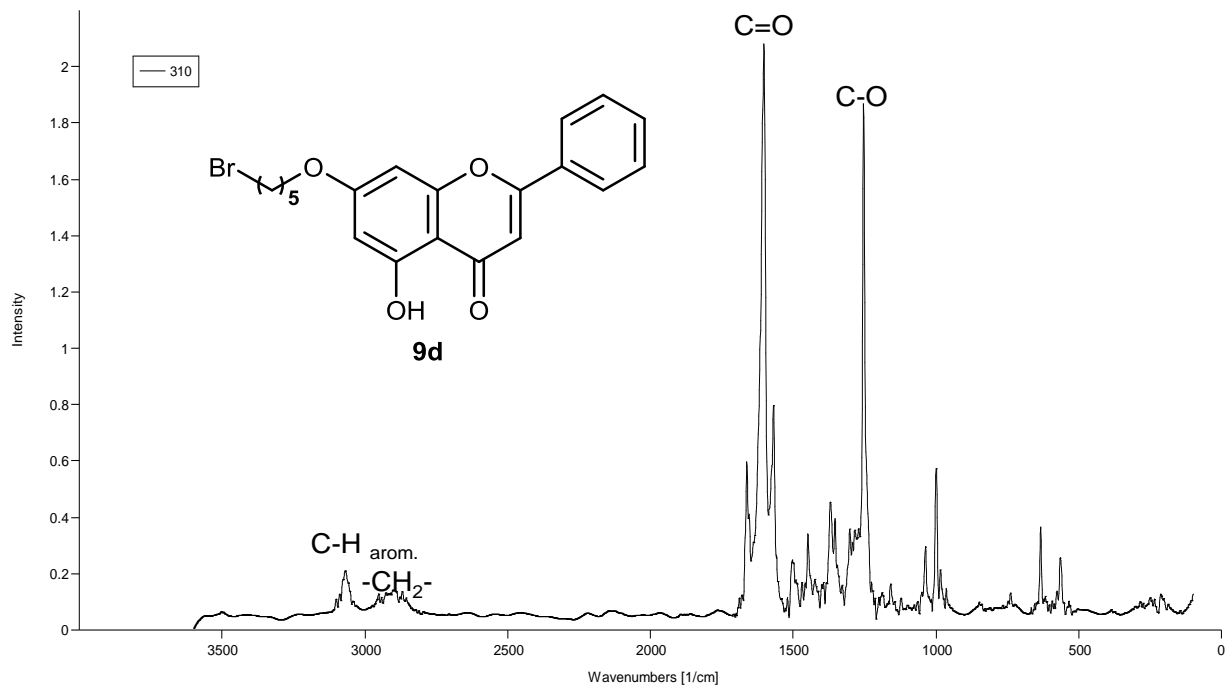
Zhai G, Zhu W, Duan Y, Qu W, Yan Z, **2012**. Synthesis, Characterization and Antitumor Activity of the Germanio-Quercetin Complex. *Main Group Metal Chemistry* 35, 103-109.

Zhu YZ, Tan BK, Bay BH. Natural Products. Essential Resources for Human Survival, World Scientific John Wiley & Sons, New Jersey, USA, **2007**.

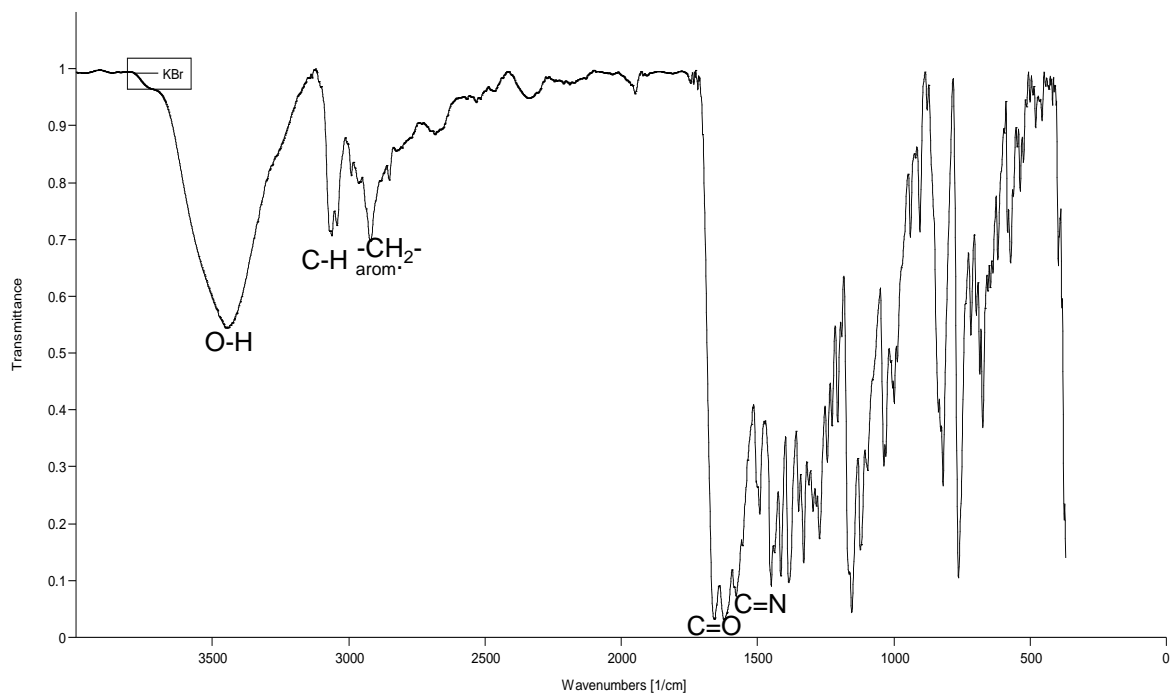
9. ANEXOS

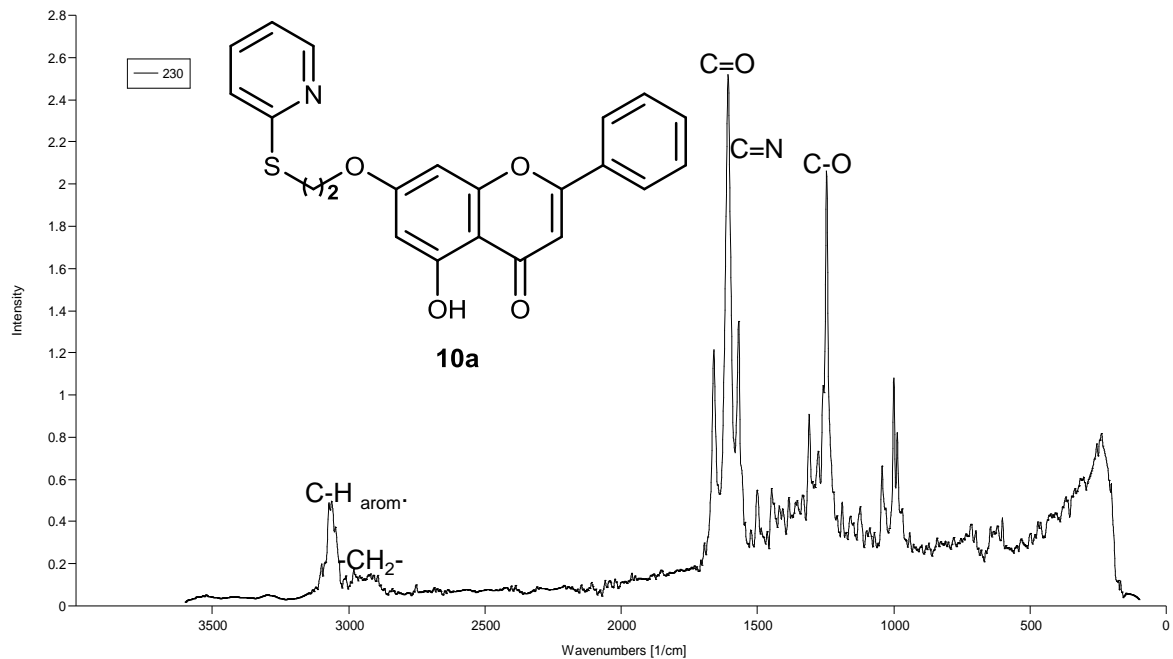
Espectro de IR (arriba) y Raman (abajo) para el compuesto **9d**.



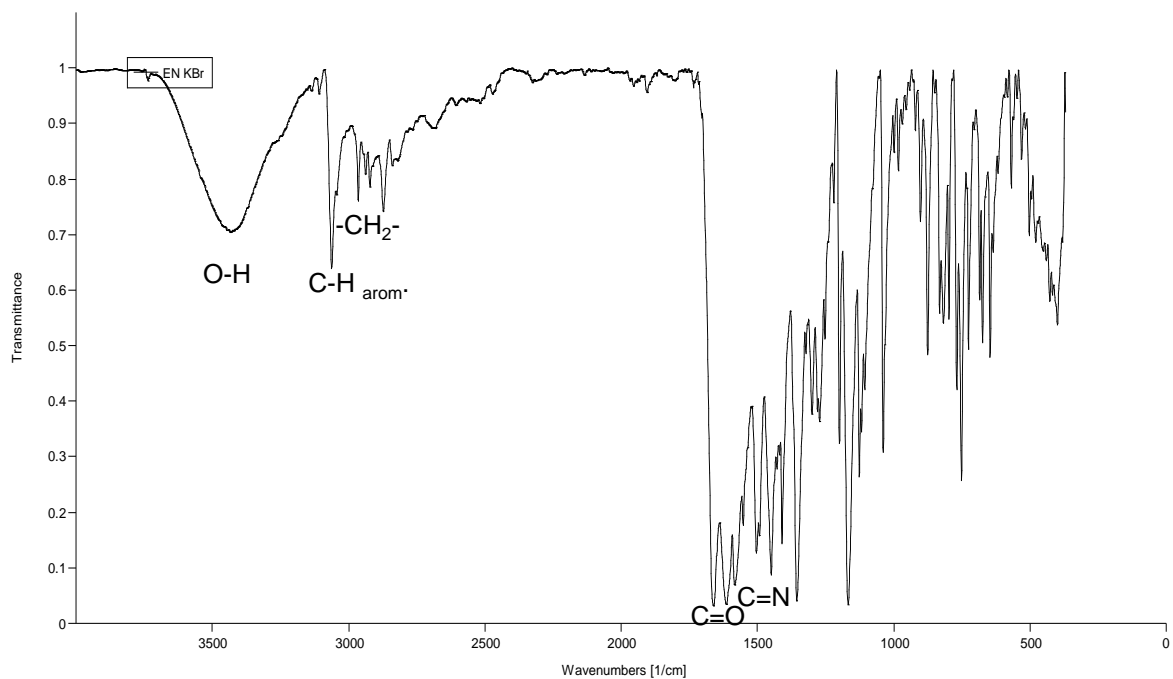


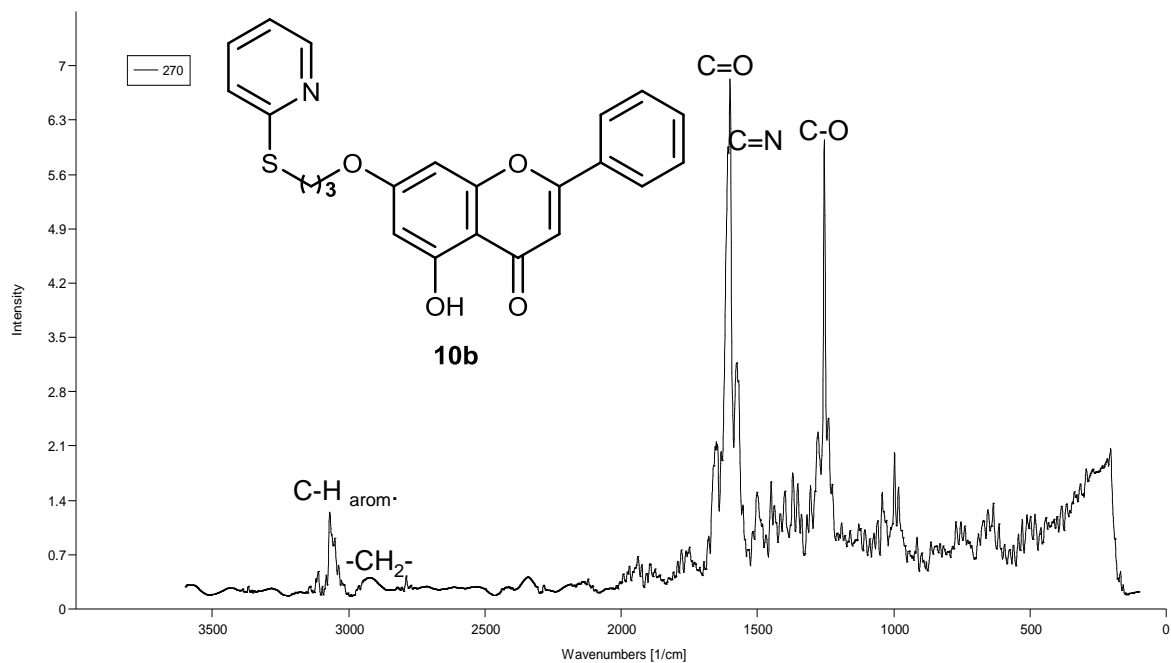
Espectro de IR (arriba) y Raman (abajo) para el compuesto **10a**.



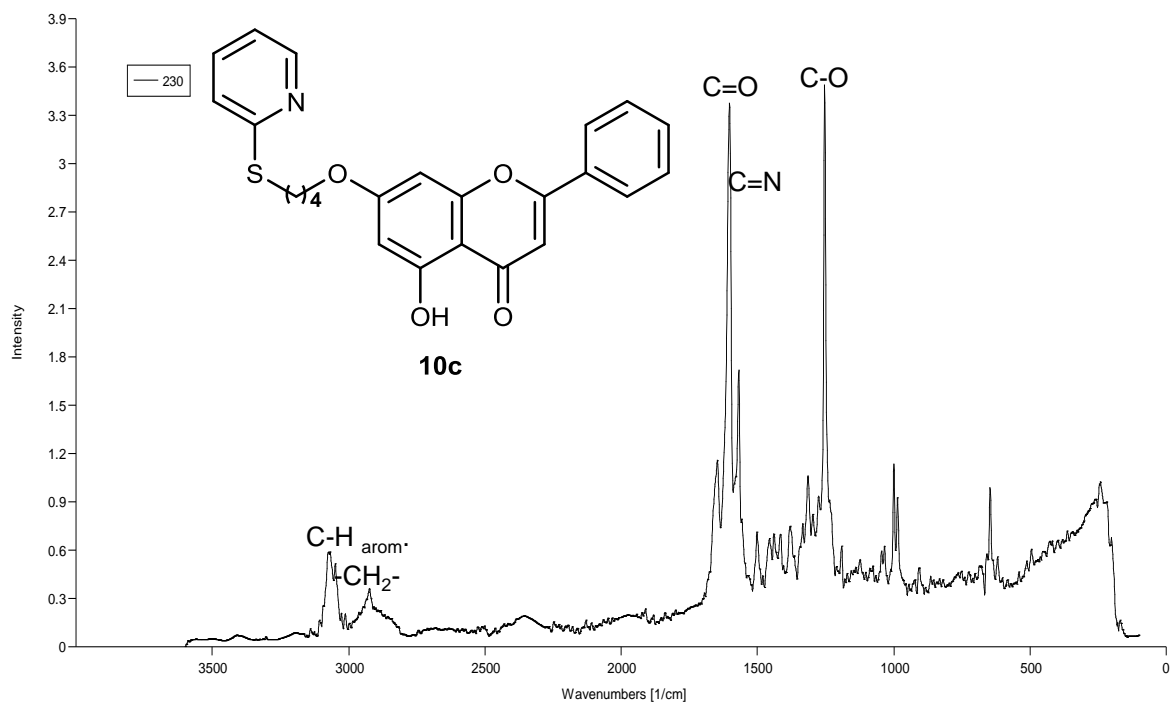
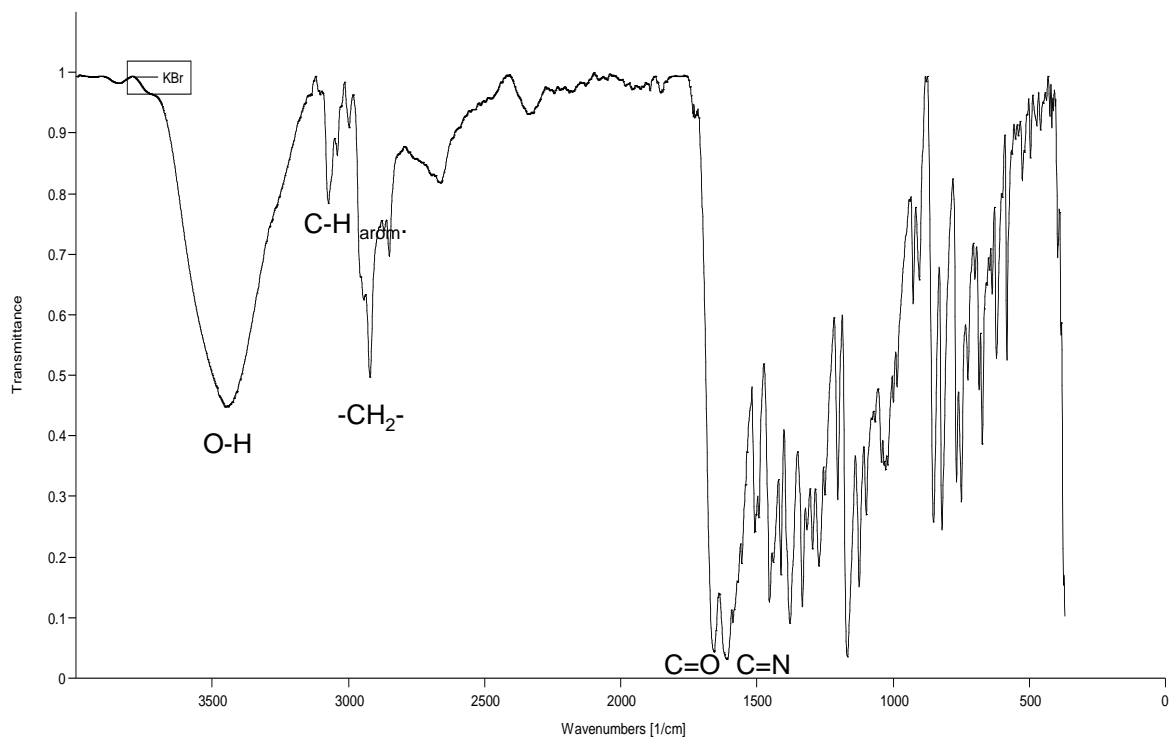


Espectro de IR (arriba) y Raman (abajo) para el compuesto **10b**.

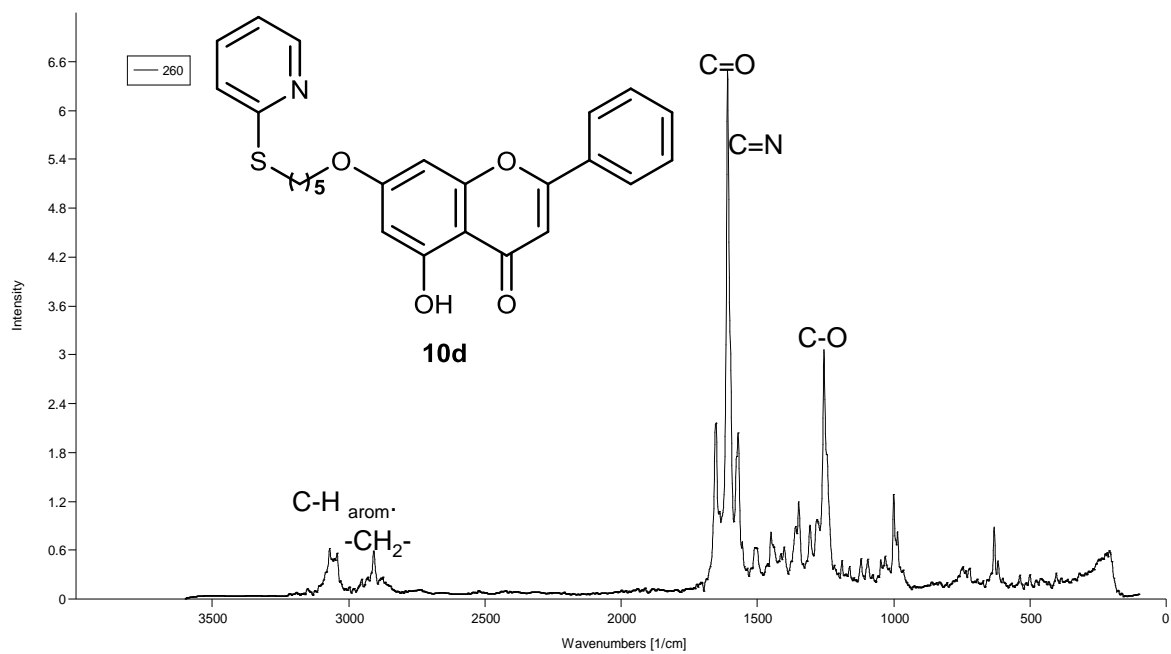
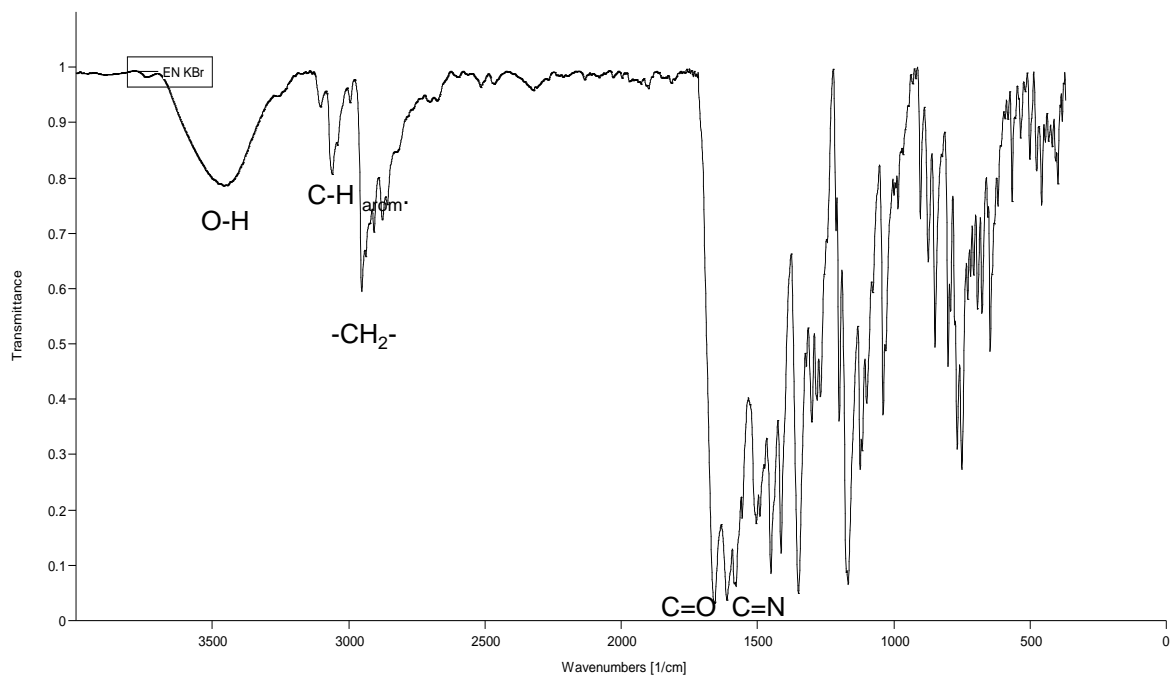




Espectro de IR (arriba) y Raman (abajo) para el compuesto **10c**.



Espectro de IR (arriba) y Raman (abajo) para el compuesto **10d**.



Espectro de IR (arriba) y Raman (abajo) para el compuesto **10e**.

