FENILPROPANOS C6-C3 EN LA SÍNTESIS SOSTENIBLE DE NUEVAS MOLÉCULAS TIPO (NEO) LIGNANOS, AGENTES CON POTENCIAL ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y ANTITUMORAL

DIEGO ROLANDO MERCHÁN ARENAS



LABORATORIO DE QUÍMICA ORGÁNICA Y BIOMOLECULAR ESCUELA DE QUÍMICA UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER BUCARAMANGA 2010

FENILPROPANOS C6-C3 EN LA SÍNTESIS SOSTENIBLE DE NUEVAS MOLÉCULAS TIPO (NEO) LIGNANOS, AGENTES CON POTENCIAL ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y ANTITUMORAL

Autor

DIEGO ROLANDO MERCHÁN ARENAS, Químico

Trabajo de Grado Para Optar el Título de Máster en Ciencias Químicas

Director

VLADIMIR V. KOUZNETSOV PhD, DSc



LABORATORIO DE QUÍMICA ORGÁNICA Y BIOMOLECULAR ESCUELA DE QUÍMICA UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER BUCARAMANGA 2010

Dedicatoría

A mí Esposa Síndy Johanna Lozano Verjel y mí Híja Dafne Shaiel Merchán Lozano, ustedes son las verdaderas merecedoras de los frutos de mís esfuerzos... Las amo.

AGRADECIMIENTOS

Cordialmente presento mis agradecimientos y reconocimientos a todas aquellas personas que van a mi lado, esculpiendo mi forma de ser, como persona y como científico. Con aprecio agradezco a:

Mi Jefe, el Doctor Vladimir Kouznetsov por su lucha incansable en la formación de científicos Químicos de altísimo nivel y por creer día a día que mi aporte al Laboratorio de Química Orgánica y Biomolecular y a la ciencia en Colombia llegará a ser importante. Jefe, debe reconocer que he mejorado mucho desde aquel seminario que tuve que repetir, lo admiro con el deseo de conseguir al menos un porcentaje de lo que usted ha logrado.

La Doctora Elena Stashenko expreso mis agradecimientos, respeto y admiración. Gracias por confiar en mi trabajo y permitirme involucrarme en el fabuloso mundo de CENIVAM, convirtiéndome en uno de los tantos favorecidos económicamente, debido a su labor. De igual forma, por parte de los integrantes del LQOBio, agradecemos por su colaboración en el desarrollo de nuestros trabajos de investigación.

El Doctor Francisco Arvelo, director del Laboratorio de Biología Celular de la Universidad Central de Caracas, Venezuela, por el desarrollo científico realizado en conjunto con el Dr. Vladimir. Los bioensayos antitumorales realizados a nuestras moléculas, arrojaron resultados relevantes con nivel de publicación internacional.

La Dra. Patricia Escobar, directora del Centro de Investigación en Enfermedades Tropicales, CINTROP, de la Universidad Industrial de Santander, por el estudio contra protozoos realizados para las moléculas sintetizadas.

La Dra. Leonor Yamile Vargas, gracias por todos los aportes a mi formación (entre comentarios, regaños y enseñanzas) y desarrollo de este trabajo en el estudio de inhibición de la enzima AChE. Gracias por sus consejos, personales, científicos y por confiarme labores, que reconozco, no le permitiría a cualquiera que las llevara a cabo.

Al candidato a Doctor Amner Muñoz, compañero de viajes y caminatas en Chile y Perú. Gracias por su colaboración en los estudios antioxidantes y su aporte certero en la interpretación de mis análisis cromatográficos, me fueron de gran ayuda.

A mi madre Martha Ruth Arenas Ordoñez y mis hermanos Jair, Stefanny y Camilo, gracias por su apoyo inmensurable en cada una de las etapas de mi vida. Yo sé que puedo contar con ustedes.

A Fercho, Villabo, César y Piru, gracias por hacer las horas de laboratorio más amenas e interesantes, con cada uno de sus triunfos e inconvenientes. Espero que las tertulias científicas en la cafetería sigan siendo parte de nuestra formación profesional.

A todos mis compañeros de la selección de fútbol UIS, en especial a Varela, Heber, Peña, Roco, Cebo, Arias y Guillo. Momentos inolvidables.

RESUMEN

TÍTULO: FENILPROPANOS C₆-C₃ EN LA SÍNTESIS SOSTENIBLE DE NUEVAS MOLÉCULAS TIPO (NEO) LIGNANOS, AGENTES CON POTENCIAL ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y ANTITUMORAL¹

AUTOR: Diego Rolando Merchán Arenas²

PALABRAS CLAVES: 1,2,3,4-Tetrahidroquinolinas, diisoeugenol, química verde, fenilpropanos, eugenol, aceite esencial, *Eugenia caryophyllus*, ácido sulfúrico soportado, antioxidante, antitumoral.

El trabajo desarrollado recopila información sobre algunos sistemas moleculares conocidos como lignanos y las unidades que los constituyen, los fenilpropanos (C₆-C₃). Teniendo presente la importancia biológica de estos compuestos naturales (lignanos y fenilpropanos), se estudió su arquitectura molecular y planteó, según el análisis retrosintético, la herramienta de síntesis idónea para su obtención. Vía reacciones $S_N 2$ se obtuvieron los ésteres y éteres (iso) eugenólicos, con rendimientos superiores al 90 %. Por otro lado, bajo condiciones básicas de reacción (NaOH) y empleando formaldehido, se realizó la hidroximetilación del eugenol y la obtención de un nuevo derivado 1,3-dioxano (<u>13</u>).

Las cicloadiciones [3+2] y [4+2], reacción de Diels-Alder, fueron empleadas en la síntesis de lignanos carbo- heterociclos. De igual forma se implementaron parámetros de reacción medioambientalmente amigables, introduciendo el PEG 400 y catalizadores heterogéneos (SiO₂-O-SO₃H). Por otro lado, se llevó a cabo por primera vez la síntesis de heterolignanos aril-naftalénicos y dímeros indánicos del isoeugenol, empleando el aceite esencial de clavo como precursor. Se obtuvieron un total de 13 moléculas (hetero) carbociclos con rendimientos entre el 40 y el 90 %. Su completa caracterización estructural fue elucidada empleando espectroscopia IR, CG-EM y ¹H, ¹³C RMN 1D y 2D.

Los compuestos sintetizados fueron evaluados contra cuatro tipos de líneas celulares cancerígenas, obteniendo un heterolignano líder en estudios anticancerígeno ($\underline{28}$) con un IC₅₀ = 8.0 µM contra células de cáncer de mama (MCF-7). Por otro lado, el y-diisoeugenol y el 1,3-dioxano demostraron un alto potencial antioxidante con un valor de TEAC = 2.6 y 2.4, respectivamente, superior a los compuestos de referencia BHA, BHT y vitamina E. De igual forma al evaluar tres derivados acilados de los eugenoles ante protozoos flagelados, se encontró que el *p*-nitrobenzoato de eugenilo ($\underline{9}$) presenta un IC₅₀ = 6.92 µM contra *T. cruzi* (forma epimastigote) y 8.64 µM contra *L. chagasi* (forma promastigote), valores destacables para ser un compuesto líder en estudios biomédicos.

¹ Trabajo de Investigación de Maestría

² Universidad Industrial de Santander, Escuela de Química, Laboratorio de Química Orgánica

y Biomolecular, Director Vladimir Kouznetsov.

ABSTRACT

TITLE: PHENYLPROPANOID COMPOUNDS C_6-C_3 IN THE SUSTAINABLE SYNTHESIS OF NEW MOLECULES TYPE (NEO) LIGNANS, AGENTS WITH POTENTIAL ANTITUMORAL AND ANTIOXIDANT ACTIVITY^{*}

AUTHOR: Diego Rolando Merchán Arenas³

KEYWORDS: 1,2,3,4-Tetrahydroquinolines, diisoeugenol, green chemistry, phenylpropanes, eugenol, essential oil, *Eugenia caryophyllus*, sulfuric support acid, antioxidant, antitumoral.

Our research collects information about some molecular systems called lignans and its moieties the phenylpropanes (C₆-C₃). Due to the biological importance of its natural compounds (lignans and phenylpropanes), we studied its molecular architecture and we stablished the best synthetic tool, according to the retrosynthetic analysis. Through SN2 reactions were obtained the (iso) eugenolic esthers and ethers, with more than 90 % yield. On the other hand, employing basic conditions (NaOH) and formaldehyde, we carry out the hydroximethylation of the eugenol and the synthesis of a new 1,3-dioxane derivative (<u>13</u>).

The [3+2] and [4+2] cycloadditions (the Diels-Alder reaction), were used for the synthesis of carbo- heterocycles lignans. The same way, we implement eco-friendly reaction parameters as the PEG 400 and heterogeneous catalyst (SiO₂-O-SO₃H). On the other hand, the clove bud essential oil was hydrodistillated and used innovatively as precursor in the synthesis of aryl-naphtalenics heterolignans and indane dimers of the isoeugenol. 13 Molecules were obtained ((hetero) carbocycles) between the 40 and 90 % yield. Its structural characterization was performance employing IR spectroscopy, GC-MS y ¹H, ¹³C NMR 1D y 2D.

The synthetized compounds were tested against four diferent carcinogenic cell line, resulting a heterolignan compound, leader in antitumoral research (**28**) with IC₅₀ = 8.0 μ M against cancer cell of breast (MCF-7). Other compounds, the y-diisoeugenol and the 1,3-dioxane derivative, showed them a high antioxidant capacity with a TEAC value of 2.6 and 2.4, respectively. Its TEAC value was higher than BHA, BHT and vitamine E, reference compounds. The same way, three eugenol acylated derivatives showed excellent values of cytotoxicity against flagellateds protozoo. The eugenyl *p* nitrobenzoate (**9**) showed an IC₅₀ = 6.92 μ M to *T. cruzi* (epimastygote) and 8.64 μ M against *L. chagasi* (promastygote), its values of inhibition in the preliminary screening showed a new lead compound against trypanosomiasis and chagas diseases.

^{*} Magister Research Project

³ Universidad Industrial de Santander, Escuela de Química, Laboratorio de Química Orgánica y Biomolecular, Director Vladimir Kouznetsov.

CONTENIDO

INTRODUCCIÓN

Pág.

	4
1. ESTADO DEL ARTE	4
1.1. FENILPROPANOIDES PRESENTES EN LA NATURALEZA	4
1.1.1. Propiedades biológicas de los fenilpropanos y fenoles naturales	7
1.2. LOS LIGNANOS COMO ENSAMBLAJES DE UNIDADES C6-C3	10
1.2.1. Presencia natural e importancia biológica 1.2.2. Estrategias sintéticas en la obtención de lignanos y neolignanos	10 11
1.2.3. Derivados (neo) lignánicos del eugenol, anetol y sus análogos estructurales 1.2.4. Aza análogos (neo) lignánicos de los fenilpropanos	12 16
1.3. REACCIÓN DE DIELS-ALDER 1.3.1. Reacción aza Diels-Alder	18 19
1.4. DERIVADOS MENORES DE LOS FENILPROPANOS	20
1.5. DERIVADOS PRENILADOS DE LOS FENILPROPANOS Y SUS CROMANOS	22
1.6. HACIA LA QUÍMICA VERDE 1.6.1. Transformaciones químicas de productos	25
naturales 1.6.2. Optimización de parámetros de reacción hacia	25 26
procesos mas impios	20
2. OBJETIVOS	29
2.1. GENERAL	29
2.2. ESPECÍFICOS	29
3. PARTE EXPERIMENTAL	30
3.1. SÍNTESIS FÁCIL DE O-DERIVADOS DEL EUGENOL E ISOEUGENOL	31

3.1.1. O·Alquilación del eugenol e isoeugenol	31
3.1.2. O-Acilación del eugenol e isoeugenol	34
3.2. HIDROXIMETILACIÓN DEL EUGENOL E	
ISOFUGENOL BAJO CONDICIONES DE CATÁLISIS	
	96
2.9.1. Cirtuin della duratione til server eller	00
3.2.1. Sintesis del hidroximetil eugenol y	
1,3-dioxano-isoeugenol	36
3.3. REDUCCIÓN DEL EUGENOL BAJO PARÁMETROS	
DE QUÍMICA VERDE	37
331 Síntesis del dihidroeugenol	37
	31
2 Λ ΟΡΤΕΝΟΙΌΝ ΠΕ ΟΛΤΑΙ ΙΖΑΠΟΡΕς	
3.4. ODIENCION DE CATALIZADORES	0.0
SUPURIADUS	38
3.4.1. Obtención de ácido clorosultónico soportado	
en sílice	38
3.4.2. Obtención de ácido perclórico soportado	
en sílice	39
3.4.3. Obtención de dieterato trifluoruro de boro	
soportado en sílice	39
344 Obtención de alúmina impregnada con	00
VOU al 10 % m/m	40
KOH al 10 % p/p	40
3.5. SINTESIS DEL Y-DIISOEUGENOL, Y-DIISOHOMO-	
GENOL Y Y-METANETOL BAJO CONCEPTOS DE	
QUÍMICA VERDE	40
3.5.1. Síntesis de dímeros carbocíclicos del	
trans-anetol. trans-isoeugenol v trans-metil-	
isoeugenol empleando novedosos medios de	
rogación	40
Teaccion	40
3.6. SINTESIS DE 1,2,3,4 TETRAHIDROQUINOLINAS,	
AZA-ANALOGOS DE NEOLIGNANOS PRESENTES	
EN LA <i>Myristica fragrans</i> Y LA <i>Machilus thumbergii</i>	43
3.6.1. Síntesis de aza-análogos de neolignanos	43
3.7. HIDRODESTLACIÓN DE FRUTOS SECOS DE	
CLAVO (Eugenia carvonhvllus)	47
3.7.1 Obtanción de aceita asancial de frutos	11
florelos socos de eleve	47
norales secos de ciavo	47
3.8. TRANSFORMACIONES QUIMICAS DEL ACEITE	
ESENCIAL DE CLAVO	49
3.8.1. Isomerización del eugenol y el aceite esencial	
de clavo bajo condiciones básicas de reacción	49
3.8.2. Metilación del aceite esencial isomerizado	50
3.8.3. Dimerización del AE de clavo con alto contenido de	eeugenol
v metileugenol	50
y memergenor	00
3 8 4 DINLESIS DE AZA-ANALOGOS DE NEOLIGNANOS	

Derivados del AE de clavo	52
3.9. ESTUDIOS DE ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE GRUPOS SELECCIONADOS DEL PANEL DE MOLÉCULAS OBTENIDAS	55
3.9.1. Estudio de inhibición <i>in vitro</i> de la acetilcolinesterasa (AChE) como diana de interés en el tratamiento terapéutico	~ ~
contra el Alzheimer 3.9.2. Evaluación de la actividad antioxidante (AO) de los derivados fenólicos del isoeugenol y el aceite esencial de	55
frutos secos de clavo	56
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	57
4.1. SÍNTESIS FÁCIL DE O-DERIVADOS DEL	
EUGENOL E ISOEUGENOL	57
4.1.1. O-Alquilación del eugenol e isoeugenol	57
4.1.2. O-Acilación del eugenol e isoeugenol	64
4.2. HIDROXIMETILACIÓN DEL EUGENOL E	
BÁSICA	70
4 2 1 Hidroximetilación del eugenol	70
4.2.2. Hidroximetilación del isoeugenol	74
4.3. REDUCCION DEL EUGENOL BAJO PARAMETROS DE QUÍMICA VERDE	80
4.4. OBTENCIÓN DE CATALIZADORES	
SOPORTADOS	83
4.4.1. Obtención del ácido sulfúrico soportado en gel de Sílice	83
4.4.2. Obtención del ácido perclórico soportado en gel de sílice	84
soportado en gel de sílice	85
4.4.4. Obtención de alúmina impregnada con KOH al 10 %	87
4.5. SINTESIS DEL Y-DIISOEUGENOL, Y-DIISOHOMOGENOL Y Y-METANETOL BAJO CONCEPTOS DE QUÍMICA	00
VERDE	89
4.6. SÍNTESIS DE 1,2,3,4-TETRAHIDROQUINOLINAS, AZA-ANÁLOGOS DE NEOLIGNANOS PRESENTES	
EN LA <i>Myristica fragrans</i> Y LA <i>Machilus thumbergii</i>	101
4.7. HIDRODESTILACIÓN DE FRUTOS SECOS DE CLAVO (<i>Eugenia caryophyllus</i>)	111

4.7.1. Análisis de la composición química del AE de	
frutos secos de clavo	112
4.8. TRANSFORMACIONES QUÍMICAS DEL ACEITE	
ESENCIAL DE CLAVO	114
4.8.1. Isomerización del eugenol y el aceite esencial de	
clavo bajo condiciones básicas de reacción	114
4.8.2. Metilación, cicloadiciones [3+2] y [4+2] del aceite	
esencial de clavo isomerizado	116
4 Ο ΕΣΤΙΠΙΟΣ ΝΕ ΛΟΤΙΛΙΝΑΝ ΒΙΟΙ ΌΩΙΟΛ ΝΕ ΩΡΙΙΡΟΣ	
4.9. ESTODIOS DE ACTIVIDAD BIOLOGICA DE GROFOS SELECCIONADOS DEL PANEL DE MOLÉCIILAS	
OBTENIDAS	119
4.9.1. Estudio de inhibición <i>in vitro</i> de la	-
acetilcolinesterasa (AChE) como diana de interés	
en el tratamiento terapéutico contra el Alzheimer	119
4.9.2. Evaluación de la actividad antioxidante (AO)	
de los derivados fenólicos del isoeugenol y el aceite esencial	
de frutos secos de clavo, ensayo de decoloración del	
catión-radical ABTS+·	123
4.9.3. Estudios de bioactividades realizados en	
conjunto con otros laboratorios de investigación	125
5 CONCLUSIONES	128
	140

6. BIBLIOGRAFÍA

130

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema	Pág.
1. Análisis retrosintético en la obtención de podofilotoxina.	11
2. Reacción de Heck aplicada a la síntesis de lignanos.	12
3. Hemisíntesis de lignanos.	12
4. Síntesis del salvinal a partir del isoeugenol.	14
5. Síntesis de derivados del estragol.	14
6. Síntesis del <i>r</i> -1-etil- <i>t</i> -2-metil- <i>c</i> -3-(2,4,5-trimetoxifenil)- 4,5,7-trimetoxiindano.	15
7. Dimerización del anetol a metanetol.	15
8. Obtención del α-diisoeugenol empleando TFA como catalizador.	16
9. Síntesis de aza análogos de los lignanos.	17
10. Obtención de las dihidro[indolin-3,2'-quinolina]-2-onas.	17
11. Síntesis de aza-lignanos y benzofuranoles, derivados del eugenol y anetol.	18
12. Regioselectividad en la reacción de DA.	18
13. Estereoespecificidad de la reacción de DA, demostración experimental.	19
14. Posibles vías para la reacción de Diels-Alder concertada.	19
15. Imino DA multicomponente promovida por BiCl ₃ para la obtención de THQ.	20
16. Nitración del eugenol e isoeugenol.	21
17. Esterificación del eugenol.	21
18. Alilación de fenoles sustituidos, incluyendo el eugenol.	22
19. Análogos prenilados del propóleo.	23
20. Derivados isoprenos del artepillin C.	23

21.	Reacciones de O- y Caril prenilación.	24
22.	Síntesis de octahidroacridinas con AE de citronela.	25
23.	Síntesis de THQ, partiendo del AE de anís.	26
24.	Isomerización del 2-buteno.	27
25.	Isomerización del eugenol a isoeugenol.	28
26.	Reacción global para la O-alquilación de eugenoles.	57
27. bin	Mecanismo propuesto para la reacción de sustitución nucleofílica nolecular ($S_N 2$) en la obtención de éteres derivados del eugenol.	58
28.	Posible ruta de fragmentación para el metileugenol.	61
29.	O-acilación y O- <i>p</i> -nitrobenzoilación del isoeugenol y eugenol.	65
30.	Posibles vías de reacción para la acilación de los eugenoles.	65
31.	Posible vía de fragmentación para el acetato de eugenilo.	68
32 .	Síntesis del hidroximetil eugenol.	70
33.	Posible mecanismo para la reacción de o-hidroximetil eugenol.	71
34.	Posible vía de fragmentación para el compuesto <u>12</u> .	73
35.	Síntesis del hidroximetil isoeugenol.	74
36 .	Síntesis del hidroximetil isoeugenol.	78
37.	Posible mecanismo de reacción para la obtención del 1,3-dioxano.	79
38.	Reacción global de la hidrogenación catalítica del eugenol.	80
39 .	Propuesta mecanística para la hidrogenación del eugenol.	80
40 .	Generación del ion tropilio en la fragmentación del dihidroeugenol.	82
41.	Obtención del SiO ₂ -OSO ₃ H.	83
42 .	Reacción global HClO ₄ /SiO ₂ .	85
43.	Reacción global propuesta para la obtención de BF3·OEt2/SiO2.	86
44.	Obtención de alúmina impregnada con KOH, 10 % KOH/Al ₂ O ₃ .	87

45. Síntesis de γ-diisoeugenol, <u>15</u> , a partir del isoeugenol comercial.	90
46. Síntesis de γ-diisohomogenol, <u>16</u> , a partir del metilisoeugenol.	92
47. Síntesis del metanetol <u>17</u> , a partir del anetol comercial.	99
48. Síntesis de heterolignanos en diferentes parámetros de reacción.	101
49. Síntesis de una nueva serie de aza neolignanos (<u>18-25</u>).	102
50 . Posible mecanismo para la obtención de heterolignolidos (<u>18</u> 25).	103
51. Ruta de fragmentación propuesta para el isoeugenol.	113
52. Isomerización del eugenol a isoeugenol en condiciones básicas.	115
53. Reacciones realizadas para el aceite isomerizado.	116
54. Principio químico del método de Ellman para la evaluación de inhibición enzimática de la AChE.	120
55. Obtención del catión-radical ABTS+•.	123
56. Reacción del ABTS ⁺⁻ con una sustancia AO.	124

LISTA DE FIGURAS

Figura	Pág.
1. Algunas unidades fenilpropanoides C ₆ -C ₃	4
2. Fuentes naturales del estragol y el <i>trans</i> -anetol.	5
3 . Fuentes naturales del eugenol y el <i>trans</i> -isoeugenol.	6
4. EROs generadas en la mitocondria posterior a la respiración.	7
5. Agentes AO naturales y sintéticos.	8
6. Lignanos presentes en linaza.	10
7. Fenilpropanoides precursores principales en la (bio) síntesis de lignanos.	13
8. Lignanos aislados de la <i>Machilus thumbergii</i> , relación estructural con los eugenoles.	13
9. Lignanos, dímeros de algunas unidades fenilpropanos.	14
10 . Posibles arilindanos estereoisómeros de los fenilpropanos: α (1,2- <i>cis</i> -2,3- <i>trans</i>), β (1,2- <i>cis</i> -2,3- <i>cis</i>), γ (1,2- <i>trans</i> -2,3- <i>trans</i>) y δ (1,2- <i>trans</i> -2,3- <i>cis</i>).	15
11. Aza análogos de lignanos.	16
12 . Derivados del eugenol e isoeugenol.	21
13. Derivados prenilados presentes en el propóleo.	22
14. Estructura del artepillin C.	23
15. Derivados prenilados naturales.	24
16. Cromanos y benzofuranos prenilados del propolis.	24
17. Derivados O-alquilados obtenidos en condiciones de S _N 2.	31
18. Derivados O-acilados obtenidos en condiciones de básicas.	34
19. Montaje para la hidroximetilación.	36
20. Montaje para la reducción del eugenol.	37

21 . Montaje para la obtención del SiO ₂ -OSO ₃ H.	38
22 . Montaje para la obtención del HClO ₄ -SiO ₂ .	39
23. Montaje para la obtención del SiO ₂ -BF _{3.}	39
24 . Montaje para la obtención de 10 % KOH/Al ₂ O ₃ .	40
25 . Montaje para la cicloadición del diisoeugenol, diisohomogenol y metanetol.	40
26 . Montaje empleado en la cicloadición [4+2] entre aldiminas y <i>trans</i> -isoeugenol.	43
27. Montaje convencional de hidrodestilación.	47
28. Montaje empleado en isomerización del eugenol.	49
29. Montaje empleado en la metilación del eugenol.	50
30. Montaje empleado en la dimerización del aceite del AE de clavo.	50
31 . Montaje empleado en la cicloadición [4+2] entre aldiminas y AE de clavo isomerizado.	52
32. Lector UV-Vis VersaMax 2000.	56
33 . Perfil energético para una reacción que sigue el mecanismo S_N2 .	58
34 . Espetro IR para el eugenolato de metilo.	59
35. Corriente iónica total (CIT) del metileugenol.	60
36 . Espectro de masas para el metileugenol a 70 eV (IE).	61
37 . Espectros de masas para el prenil, bencil-eugenol a 70 eV (IE).	62
38 . Espectro ¹ H RMN del prenileugenol, 400 MHz, CDCl ₃ .	63
39 . Espectro IR para el eugenolato de acetilo.	66
40. Perfil cromatográfico para el acetato de eugenilo (<u>10</u>).	67
41. Espectro de masas del acetato de isoeugenilo.	68
42 . Espectro ¹ H RMN del acetato de eugenilo (<u>10</u> , 400 MHz, CDCl ₃ .	69
43 . Espectro IR para el hidroximetil eugenol <u><i>12</i></u> .	72

44 . CIT para el estudio CG-EM del <i>o</i> hidroximetil eugenol (<u>12</u>).	72
45. Espectro de masas del <i>o</i> -hidroximetileugenol.	73
46 . Espectro ¹ H RMN del <i>o</i> -hidroximetileugenol (<u>12</u>) 400 MHz, CDCl ₃ .	74
47 . Espectro IR para el producto obtenido <u><i>13</i></u> .	75
48. CIT obtenida para el compuesto <u><i>13</i></u> .	76
49 . Espectro de masas del compuesto <u>13</u> .	76
50. Región aromática del producto <u>13</u> .	77
51. Espectro ¹ H RMN obtenido para el producto <u><i>13</i></u> 400 MHz, CDCl ₃ .	78
52. Posible esteroquímica para el racemato <u>13</u> .	79
53. CIT del dihidroeugenol <u>14</u> .	81
54. Espectro de masas para el dihidroeugenol.	81
55. Espectro ¹ H RMN del dihidroeugenol <u>14</u> , 400 MHz, CDCl ₃ .	82
56. Espectro IR para el ASS.	84
57. Espectro IR para el HClO4/SiO2.	85
58. Espectro IR del catalizador sólido BF3·OEt2/SiO2.	86
59 . Espectro IR del sólido obtenido 10 % KOH/Al ₂ O ₃ .	87
60 . Perfil de difracción (DRX), método polvo, obtenido para el sistema 10 % KOH/Al ₂ O ₃ .	88
61. Correlación de intensidades entre el sólido, 10 % KOH/Al ₂ O ₃	89
62 . Espectro IR para el diisohomogenol <u>16</u> .	92
63. Perfil cromatográfico del diisohomogenol.	93
64. Espectro de masas del diisohomogenol.	93
65. Espectro de ¹ H RMN para el <i>r</i> -1-etil- <i>c</i> -3-(4,5-dimetoxiphenyl)-5,6- dimetoxi- <i>t</i> -2-metilindane (<u><i>12</i></u>).	94
66 . Conformación γ (1,2- <i>trans</i> -2,3- <i>trans)</i> , para la mezcla racémica <u>16</u> .	95
67. Correlación entre los espectros de ¹³ C y DEPT-135 para el	

y-diisohomogenol.	96
68. Correlación heteronuclear ¹³ C y ¹ H para el γ-diisohomogenol, 400 MHz, CDCl ₃ .	97
69. Posibles confórmeros del dímero cíclico <u>16</u> .	97
70. Acoplamiento vecinal entre los protones H ^B y H ^A con el protón H ^C del comfórmero <u>16a</u> .	98
71. Perfil cromatográfico del metanetol.	99
72. Espectro de masas del metanetol.	100
73 . Unidad monomérica en polímeros de β-metilestirenos.	100
74. Espectro IR del heterolignano <u>18</u> .	104
75. Perfil cromatográfico del aza-neolignano <u>18</u> .	105
76. Espectro de masas de 2-fenil-4-(4-hidroxi-3-metoxi)-3-metil-3,4- metilendioxi-1,2,3,4-tetrahidroquinolina (<i><u>18</u></i>).	106
77 . Espectro de ¹ H RMN para el heterolignano, 2-(3,5-dimetoxifenil)- 4-(4-hidroxi-3-metoxi)-3-metil-3,4-metilendioxi-1,2,3,4-tetrahidroquinolina (<i>23</i>).	107
78. Acoplamiento heteronuclear HSQC para el heterolignano, 2- (3,5-dimetoxifenil)-4-(4-hidroxi-3-metoxi)-3-metil-3,4-metilendioxi-1,2,3,4- tetrahidroquinolina (<i>23</i>).	108
79. Acoplamiento heteronuclear a largo alcance HMBC para el heterolignano, 2-(3,5-dimetoxifenil)-4-(4-hidroxi-3-metoxi)-3-metil-3,4- metilendioxi-1,2,3,4-tetrahidroquinolina (<i>23</i>).	108
80 . Interacciones H/C a largo alcance, según HMBC para el compuesto <u>23</u> .	109
81. Acoplamiento <i>aa</i> entre los protones 2-H/3-H y 3-H/4-H de <u>23</u> .	110
82. CIT del AE de brotes florales secos de clavo (<i>Eugenia caryophyllus</i>).	112
83. Espectro de masas del eugenol a 70 eV.	113
84. Posible intermediario de la cicloadición [4+2].	117
85 . Espectro ¹ H RMN de 8-nitro-4-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-3-metil- 2-(2-nitrofenil)-1,2,3,4-tetrahidroquinolina <u><i>28</i></u> .	118
86. Curva de inhibición del Trolox®.	123

LISTA DE TABLAS

Tabla	Pág.
1. Sistemas catalíticos empleados en la isomerización del 2-buteno.	28
 Propiedades físico-químicas de los derivados O-alquilados de los eugenoles. 	59
3. Bandas de IR características para los éteres derivados de los eugenoles.	60
4. Caracteres en CG-EM para los éteres <u>1-7</u> .	62
5. Registros espectrales ¹ H RMN para los derivados <u>1-7</u> .	64
6. Propiedades físico-químicas de los derivados O-acilados de los eugenoles.	66
7. Absorciones en IR características para los ésteres de los eugenoles.	67
8. Propiedades fisicoquímicas observadas en CG-EM para los ésteres eugenólicos.	69
9. Desplazamientos químicos de ¹ H RMN para los derivados <u>8-11</u> .	70
10. Comparación de los parámetros utilizados en el proceso de dimerizaci MeCN y PEG-400 para la obtención del producto <u>15</u> .	ón en 91
11. Resultados de los parámetros evaluados para la reacción de DA.	102
12. Parámetros fisicoquímicos para los heterolignanos obtenidos.	103
13. Características espectrales de IR para las moléculas (<u>18-25</u>).	105
14. Registros espectrales en ¹ H RMN de los aza-análogos (<u>18-23</u>).	110
15. Componentes principales del AE de frutos secos de clavo.	113
16. Resultados de conversión y selectividad para la isomerización.	115
17. Carbo- y heterociclos sintetizados con AE clavo y sus rendimientos.	117
18. Valores de IC ₅₀ (μg/mL y μM) para los derivados menores de (iso) eugenol.	121
19. Concentración y porcentaje de inhibición para los heterolignanos evaluados.	122

20. Valores de TEAC obtenidos para todos los compuestos analizados.	124
21 . Resultados preliminares obtenidos en ensayos antitumorales (IC $_{50}$, μ M).	125
22. Valores de IC ₅₀ e IC ₉₀ (μ M) contra <i>T. cruzi</i> y <i>L. chagasi</i> , para tres derivados acilados fenilpropánicos.	127

INTRODUCCIÓN

La naturaleza, fuente principal de compuestos interesantes desde el punto de vista fármaco-biológico, se exhibe como un modelo biosintético imitable en el desarrollo de estructuras moleculares de difícil acceso. Casi todos estos compuestos derivan de la actividad metabólica de las especies vegetales que contribuye a la formación de productos naturales secundarios, los cuales a su vez juegan un rol fundamental en los procesos de defensa y reproducción. Todas estas características y el continuo desarrollo investigativo basado en el aislamiento, identificación y caracterización de productos naturales, mantiene el interés de los químicos hacia los componentes presentes en las plantas y, por tanto, los convierte en objeto de importancia para el continuo desarrollo científico y tecnológico.

Metabolitos secundarios de la ruta del ácido shikímico, son moléculas importantes para el desarrollo de la planta. Estos casi siempre presentan arquitectura molecular muy compleja. Sin embargo unidades moleculares más sencillas, pero no menos importantes como los fenoles y las unidades fenilpropanoides, son obtenidos gracias a algunas transformaciones bioquímicas originadas de dicha ruta metabólica. De tal forma que proporcionan finalmente estructuras ejemplares para la protección, reproducción y fisionomía de la planta. Ahora estos compuestos se han convertido en importantes bloques de construcción en el desarrollo hemisintético moderno.

Mezclas complejas de metabolitos secundarios, como los aceites esenciales, se encuentran presentes en una amplia diversidad de especies aromáticas y se pueden clasificar químicamente como quimiotipos definidos, gracias a la presencia mayoritaria de componentes fenilpropanos, tipo C₆-C₃. Especies químicas como el eugenol, isoeugenol, estragol, anetol, safrol, isosafrol, entre otras, proveen a las plantas aromáticas y medicinales de propiedades organolépticas, físico-químicas y biológicas sobresalientes. De igual forma, los compuestos fenólicos naturales como el guayacol, timol, carvacrol, vainillina e isovainillina, presentes en gran proporción en los aceites esenciales, se prestan como objetos de estudio en el desarrollo de nuevos agentes con propiedades antioxidantes. Todas estas bondades de los componentes químicos de los aceites esenciales argumenta la evolución investigativa de los productos naturales de la flora Colombiana y su impacto en la economía.

Otro aspecto de importancia apunta hacia las características estructurales de los metabolitos secundarios, los cuales además de proporcionar actividades relevantes desde el punto de vista biológico permiten ampliar la variedad molecular y desarrollar estrategias sintéticas a través de su hemisíntesis. Las transformaciones químicas potenciales sobre los grupos funcionales activos, como el anillo aromático, el grupo hidroxilo fenólico y la cadena alquenílica (en el caso de los fenilpropanos), permiten aumentar la complejidad estructural de estos bloques de construcción que a su vez se destacan por su carácter natural renovable, de fácil acceso y en algunas ocasiones inocuo. Por tanto, el desarrollo sintético entorno a estos componentes naturales se vuelve cada vez más interesante e importante, conduciendo a la obtención de estructuras con prominente interés fármaco-biológico.

En principio, en nuestra investigación desarrollada durante los dos últimos años se vislumbran las potenciales aplicaciones sintéticas de algunos componentes naturales, en especial los fenoles y los fenilpropanos. Se enfatiza en el diseño de nuevas metodologías para la construcción de moléculas con fragmentos moleculares interesantes, derivadas de las unidades C6-C3, así como la implementación de nuevos parámetros que involucren el uso de medios de reacción inofensivos, la disminución de consumo energético y rutas de mayor viabilidad económica. De este modo, nuestro estudio apunta hacia la aplicación de la química verde en la síntesis clásica y moderna. Reacciones de cicloadición [3+2], catalizadas por ácidos de Lewis y de Brönsted, aril-alquilaciones de Friedel-Crafts y O-alquilaciones (acilaciones), son importantes herramientas presentes en este estudio hacia la consecución de los objetivos trazados, teniendo como finalidad la obtención de análogos de lignanos y sus derivados moleculares obtenidos, buscando la aplicación directa hacia la química medicinal como esencia del Laboratorio de Química Orgánica y Biomolecular.

En este documento final se describe a su vez la versatilidad de nuestra investigación, empleando la naturaleza como un modelo imitable, como fuente natural renovable y como un sistema biótico del cual no debemos abusar. Los productos obtenidos contienen núcleos y detalles estructurales de moléculas anteriormente aisladas de las plantas. El precursor líder que nos brinda todas las características estructurales necesarias para incluirlo en la ruta sintética, es obtenido de una fuente natural bastante bondadosa debido a su existencia en un alto porcentaje. Por último, las herramientas sintéticas empleadas se encuentran dentro de los objetivos principales de la química sintética moderna, debido a sus ofrecimientos ecológicos.

Este trabajo obtuvo mérito científico durante el desarrollo de su fase experimental. Un artículo fue publicado en la revista internacional especializada en síntesis orgánica, *Tetrahedron Letters*, titulado: **"First green protocols for the large-scale preparation of y-diisoeugenol and related dihydro(***1H***)indenes via formal [3+2] cycloaddition reactions"**. En este se destaca la importancia del isoeugenol en la síntesis de derivados dihidro(*1H***)indanos**, empleando condiciones verdes de reacción al obtener hasta 5 g de producto (Kouznetsov, V. and Merchan, D. *Tetrahedron Lett.*, **2009**, 50, 1546-1549).

Por otro lado, el potencial antitumoral de los heterolignanos obtenidos mostró resultados relevantes, los cuales fueron compilados en un artículo sometido a revisión en la revista, *Archiv der Pharmazie*. Este lleva como título: "4-Hydroxy-3-metoxyphenyl substituted 3-methyl-tetrahydroquinoline derivatives as new potential antitumoral agents obtained through imino Diels-Alder reactions". (Kouznetsov, V.; Merchan, D.; Arvelo, F.; Bello, J.; Sojo, F. and Muñoz, A. *Archiv der Pharmazie*, 10 de diciembre de 2009 (*submitted online*)).

De igual forma, los resultados parciales del trabajo fueron expuestos en congresos de carácter nacional e internacional. Se presentaron los trabajos titulados, "Síntesis del ydiisoeugenol y y-diisohomogenol a partir del aceite esencial de frutos secos de clavo" (modalidad póster) y "Aceite esencial de frutos secos de clavo como precursor en la síntesis de nuevos modelos aza-neolignánicos" (modalidad ponencia oral), en el X Congreso Colombiano de Fitoquímica, realizado en la ciudad de Popayán del 9 al 12 de Junio de 2009. Nuestro trabajo también se dio a conocer en el ámbito internacional, presentándose dos trabajos; uno llevó como título: "Síntesis diaestereoselectiva del y-diisoeugenol en condiciones verdes y su completa caracterización espectral" (modalidad póster), en el *Congreso Iberoamericano de Química "75 Años de la Sociedad Química del Perú" - XXIV Congreso Peruano de Química*, realizado en Cusco, Perú del 13 al 17 de octubre de 2008. A su vez, el trabajo titulado, "Evaluation of cation-radical ABTS⁺ scavenging capacity of (iso)eugenol and y-diisoeugenol, clove dry fruits essential oil components" (modalidad póster), fue presentado en el congreso *Free radicals and antioxidants in Chile 2009, VI Meeting of SFRBM South American Group.* Este se llevó a cabo entre el 27 y 30 de septiembre de 2009, Santiago de Chile.

En resumen este desarrollo investigativo que se presenta como trabajo de investigación de Maestría en Química, generó hasta el momento dos artículos, dos ponencias internacionales y dos ponencias nacionales.

1. ESTADO DEL ARTE

La naturaleza se encarga de proporcionar los elementos necesarios para combatir las afecciones patológicas que atentan día tras día con el funcionamiento de diversos organismos vivientes. Con esto y gracias al vasto conocimiento que se tiene de la obtención de productos naturales de importancia, se indaga continuamente sobre los recursos naturales existentes para el desarrollo científico e industrial en el Mundo y en nuestro país. Colombia ocupa el cuarto lugar en de Sur América, el séptimo en América y la posición 25 en el mundo, hablando de extensión, después de Australia, Brasil y China, y posee una posición importante geográficamente. Estas razones lo posicionan como uno de los 12 países más ricos en biodiversidad, los cuales aportan el 70 % de la diversidad a nivel mundial.¹

Los productos naturales extraídos de plantas aromáticas y medicinales, hacen parte de un amplio campo de estudio en nuestro país. Sin embargo, su desarrollo hemisintético ha sido muy pobre, lo cual llevó al LQOBio y el CENIVAM, a enfocarse en la transformación de algunos compuestos naturales como los fenilpropanos.

1.1. FENILPROPANOIDES PRESENTES EN LA NATURALEZA

Los fenilpropanoides son unidades moleculares que presentan en su estructura un fragmento alquílico compuesto por tres átomos de carbono, unido a una unidad fenílica o arílica (C₆-C₃). De estas estructuras se pueden destacar compuestos como el estragol (1), anetol (2), eugenol (3), isoeugenol (4), metileugenol (5), safrol (6) e isosafrol (7) (Fig. 1).



Figura 1. Algunas unidades fenilpropanoides C₆-C₃.

Estos componentes han establecido algunas características importantes de las especies vegetales que los contienen. Dentro de las principales propiedades de la planta atribuidas a estos componentes se encuentra el carácter odorífero, dándole tonos especiales a los aceites esenciales y extractos obtenidos de diversas partes de la planta. De estas unidades, centraremos la atención en las de mayor ocurrencia a nivel natural, los anisoles y los eugenoles.

Los anisoles 1 y 2, ocurren en la naturaleza haciendo parte del metabolismo de diversas plantas de las cuales se destacan el hinojo, *Foeniculum vulgare* Mill,

obtieniéndose un 13 % de extracto del material vegetal utilizado. La identificación de los componentes presentes, mostraron la presencia del *trans*-anetol y estragol en un 4.7 % y 65.3 %, respectivamente en las semillas.² De igual forma el *trans*-anetol ha sido usado como marcador en la clasificación de algunos cultivos de *Piper betle* L., estableciendo quimiotipos clave en el estudio de los aceites esenciales.³ Entre todas las caracterizaciones químicas realizadas a especies aromáticas, se encontró al *Illicium verum* Hook. F. o anis estrellado como el mayor portante de *trans*-anetol. Esta planta contiene en sus semillas entre un 89-92 % de *trans*-anetol, al realizar la extracción de su AE con CO₂ en condiciones supercríticas, obteniendo un 9.8 % de rendimiento de extracción.⁴



Figura 2. Fuentes naturales del estragol y el *trans* anetol.

Estudios recientes han propuesto nuevas fuentes naturales para el *trans*-anetol, tal es el caso de una planta herbácea originaria del norte de Brasil, la *Croton zehntneri* Pax et Hoff, conocida también como canela de cunha. El rendimiento de extracción fue del 4.3 % y la cantidad de anetol en el aceite fue de 73.6 %.⁵ De igual forma el estragol puede ser obtenido de especies aromáticas, destacándose la *Artemisia dracunculus* L. o tarragon de invierno y el *Ocimun basilicun* L. o albahaca, con un porcentaje del 60-75 % y del 20-43 %, respectivamente⁶ (Fig. 2).

En adición a la presencia de los anisoles en organismos vegetales, algunas especies tropicales biosintetizan moléculas análogas con el mismo esqueleto molecular en cada una de sus estructuras. Estos compuestos denominados eugenoles, el eugenol, isoeugenol, dihidroeugenol y metileugenol, se exhiben en la naturaleza haciendo parte de aceites y extractos vegetales. El eugenol se encuentra en gran proporción en el aceite esencial del clavo, *Eugenia caryophyllus*, con un 76.8 % de la composición total

del aceite, el cual se obtiene en rendimientos superiores al 12 %.⁷ Otras fuentes vegetales minoritarias de eugenol presentan cantidades bajas en comparación con el clavo, la *Juniperus oxycedrus* mostró en su *cade oil* 870 mg/Kg de eugenol y 730 mg/Kg de isoeugenol, los cuales según este estudio, contribuyen en la interacción dinámica, fruto-insectos.⁸



Figura 3. Fuentes naturales del eugenol y el trans-isoeugenol.

De igual forma, algunas plantas florales como *Randia matudae*, presentan un 8,8 % de *trans*-isoeugenol en su aceite esencial⁹ y la *Petunia hybrida*, exhibe el isoeugenol como componente principal en su aroma floral emitida durante el día.¹⁰ Una fuente poco conocida de isoeugenol, son las cáscaras de lulo (*Solanum vestissimum* D.) con un rango de concentración entre 1000-2000 µg/Kg de *trans*-isoeugenol.¹¹ En proporciones similares se encuentra presente las moléculas reducidas y metiladas del eugenol e isoeugenol (dihidroeugenol y metileugenol), sobresaliendo especies como la *Anemopsis californica*, comúnmente conocida como yerbamansa originaria de Norte América.¹² Ésta contiene un 57 % de metileugenol como su componente mayoritario. Para el dihidroeugenol no se han encontrado fuentes relevantes en la naturaleza y sus registros sintéticos son escasos. De las plantas comunes en las que se ha identificado esta molécula con características odoríferas importantes son el eucalipto *Eucalyptus globulus*¹³ y la planta *Juniperus drupacea* L.¹⁴ (Fig. 3).

La atención de los investigadores hacia estos sistemas fenilpropanos se fundamenta en el interés industrial por los productos con alto carácter natural. Una evidencia es el empleo de isoeugenol en cantidades específicas en cosméticos, jabones, lociones, detergentes y otros tópicos con características odoríferas dominantes.¹⁵ Otras industrias, como la farmacéutica, dirigen sus estudios de unidades C₆-C₃ y sus derivados hacia la búsqueda de nuevas aplicaciones medicinales, encontrando resultados favorables que mantienen el auge por estos sistemas.

1.1.1. Propiedades biológicas de los fenilpropanos y fenoles naturales

Existen una amplia gama de moléculas naturales y sintéticas que contienen en sus estructuras elementos propios de los fenilpropanos y fenoles, presentando alternativas preliminares hacia un estudio de sus propiedades biomédicas, que podrían ser atribuidas en mayor proporción al arreglo estructural proporcionado por eugenoles, anetoles y fenoles. En algunos estudios recientes estas unidades han presentado actividades fármaco-biológicas propias. Los ensayos biológicos quizá más estudiados apuntan a la obtención de nuevos agentes antioxidantes debido al continuo aumento de especies reactivas al oxígeno tanto en el ambiente como en los alimentos metabolizados por el organismo, los cuales contribuyen de forma marcada con la muerte celular y, por ende, con el envejecimiento.

Actividad antioxidante

El estrés oxidativo asociado al envejecimiento acelerado y al desarrollo de enfermedades que afectan a la población mundial, se convierte día a día en reto para los investigadores. El desarrollo continuo de investigaciones en torno al estrés oxidativo, debido a sus efectos en el organismo, trae consigo la búsqueda de nuevos agentes que puedan prevenir dicha actividad metabólica.

La acción oxidativa en los organismos se genera gracias a que se rompe un equilibrio entre los agentes conocidos como prooxidantes y los antioxidantes (AO). Un aumento de los agentes prooxidantes, generalmente conocidos como especies reactivas de oxígeno (ERO), conlleva a desórdenes y deterioro celular. Estas especies son producidas por la célula, más específicamente por la mitocondria debido al metabolismo aerobio (Fig. 4).



Figura 4. EROs generadas en la mitocondria posterior a la respiración.

Estas especies reactivas de oxígeno, al no estar estabilizadas por agentes antioxidantes, afectan las biomoléculas. Afecciones a metabolitos primarios como proteínas, lípidos y ácidos nucléicos, pueden causar daños fisiológicos generando enfermedades causales de gran parte de la mortandad en el mundo. La generación de las EROs se debe a diversos factores como el ambiente oxidativo,¹⁶ el exceso de ejercicio, el humo del cigarrillo y desórdenes alimenticios que no incluyen alimentos que puedan incrementar el nivel de agentes AO en el organismo.

De igual forma las sustancias que se ven opacadas por las EROs en el estrés oxidativo, los antioxidantes, juegan un papel importante al evitar el deterioro tisular y la aparición de enfermedades debido a los prooxidantes. La forma de acción principalmente se debe a la estabilización, la cual se puede dar de las siguientes formas:

- Barriendo especies reactivas de oxígeno usando enzimas o por reacción química directa.
- Impidiendo o retardando las EROs.
- Reparando el daño del sustrato.
- Destruyendo moléculas que han sufrido daño y reparándolas por unas sanas.

Existen AO de tipo sintético como el butilhidroxianisol (BHA), butilhidroxitolueno (BHT), *ter*-butilhidroquinona y los galatos. Otros antioxidantes de tipo natural, hacen referencia básicamente a los carotenos y vitaminas C y E. Estos pueden ser encontrados en frutas como la guayaba, la naranja, el mango entre otras y hortalizas como la zanahoria.



Figura 5. Agentes AO naturales y sintéticos.

Debido a la poca eficiencia de los AO actuales, su constante búsqueda ha permitido el desarrollo de una amplia variedad de métodos para evaluar la capacidad antioxidante de compuestos, tanto naturales como sintéticos. Algunos de estos métodos se basan en la formación de una especie cromógena en su forma de catión-radical y posterior acción del secuestrador de esta especie, el potencial agente AO.

Entre los métodos más conocidos están los ensayos de decoloración de los radicales 1,1difenil-2-picril-hidracilo (DPPH)¹⁷ y el ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6sulfónico¹⁸ (ABTS). Otras metodologías basadas en la detección de especies reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS), poder antioxidante reduciendo iones férricos (FRAP) y capacidad de absorción del oxígeno radical (ORAC), han sido utilizadas.¹⁹

Los eugenoles han demostrado ser compuestos importantes en los estudios de esta bioactividad. Según algunos análisis *in vitro*, empleando el método del DPPH, se encontró que tanto el eugenol, como el aceite esencial de clavo, presentaron fuerte actividad antioxidante, encontrando valores de IAA (índice de actividad antioxidante, un parámetro novedoso en estudios de antioxidantes) de 10.46 para eugenol y 9.00 para su aceite, a una concentración de 76.89 µg/mL de DPPH.²⁰ Igualmente, se ha estudiado la actividad que presenta el isoeugenol sobre el DPPH, con una eficiencia antirradical de 1.2, mayor que todos los compuestos análogos valorados demostrando su alto potencial protector ante los radicales libres.²¹ En términos globales para estos componentes fenólicos, su acción como agente antioxidante radica principalmente en su grupo hidroxilo y el aporte del doble enlace en posición *para*⁻ del anillo, como fue determinado en un estudio realizado para diferentes moléculas análogas.²²

Los quimiotipos relativos a eugenoles y anisoles son usados comúnmente en medicina alternativa, y sus usos etnobotánicos se encuentran bien documentados. Como fundamento de este hecho, se mantiene el interés tanto por los aceites de estas especies aromáticas como de sus componentes mayoritarios, encontrando resultados sobresalientes y recientes de sus bio-aplicaciones. El aceite esencial de la Eugenia *carvophyllata* actúa de forma efectiva contra algunas cepas de hongos causantes de daños en las manzanas durante su almacenamiento (B. cinerea, M. fructigena, P. expansum and P. vagabunda).23 Este aceite también demostró poseer actividad larvicida contra el mosquito Ochlerotatus caspius causante de picaduras agudas y, por ende, de molestias para los humanos.²⁴ A su vez, uno de los aceites esenciales con alto contenido de eugenol, de la especie Syzygium aromaticum L., presentó cierta actividad tipanocida frente a las dos formas del Trypanosoma cruzi, epimastigote y tripomastigote.²⁵ Otro aceite importante en el descubrimiento de nuevos agentes antibacterianos, corresponde al extraído de las partes aéreas de la Daucus carota L. obtenido en su etapa de florecimiento. Dicho aceite presenta como componente principal el (E)-metilisoeugenol.²⁶ De igual forma, se hace mención en la literatura química sobre los componentes mayoritarios de estos aceites, el eugenol, su isómero el isoeugenol y sus derivados O-metilados, los cuales ratifican lo inspeccionado en las mezclas naturales, presentando aún mayor espectro biológico. De la amplia gama de actividades biológicas del eugenol, se destacan su acción antibacteriana,27 antifúngica,²⁸ y anticancerígena.²⁹ Por otro lado, el isoeugenol demuestra la importancia que poseen estos fenilpropanos en la naturaleza, actuando como repelente³⁰ y fungicida.³¹

Cambiando un poco la perspectiva estructural, en ausencia del hidroxilo fenólico en la unidad C_6 - C_3 , se puede observar a los anisoles como potenciales agentes biológicamente activos y de igual forma se expresa en la literatura la función terapéutica de los extractos y aceites con alto contenido de anetol o estragol. El fitocomplejo de *Foeniculum vulgare* Mill., mostró un comportamiento relevante como protector del efecto de agregación plaquetaria, conociendo que su mayor contribuyente a la mezcla compleja es el anetol.³² Por otro lado, el aceite esencial de una de las plantas con mayor contenido de estragol, la *Tagetes lucida* (Tarragon mexicano), presentó propiedades como bactericida y antimicótico.³³ Como se mencionó para los aceites esenciales ricos en eugenoles, se logra atribuir una gran mayoría de las propiedades de los aceites a los componentes mayoritarios. Por tanto, los químicos encaminados al desarrollo de nuevas moléculas bioactivas, proponen día a día nuevos modelos sintéticos para estudios biológicos. Esto, priorizando en las modificaciones estructurales de algunos metabolitos secundarios en búsqueda potencializar sus propiedades químicas y biológicas.

1.2. LOS LIGNANOS COMO ENSAMBLAJES DE UNIDADES C6-C3

1.2.1. Presencia natural e importancia biológica

Al igual que los fenilpropanoides, los lignanos son estructuras presentes en la naturaleza, productos del metabolismo secundario de algunas plantas, destacándose en principio, partes de la planta como las hojas y frutos. Diversidad de especies vegetales incluyen dentro de sus productos metabólicos estos compuestos, dentro de las cuales sobresale el *Linum album*, de la familia Linaceae, que biosintetizan algunos lignanos importantes como la podofitoloxina (9), lariciresinol (12), matairesinol (13) y α/β -peltatin (11 y 10, respectivamente) (Fig. 6).³⁴



Figura 6. Lignanos presentes en linaza.

Como se puede observar en la figura, los lignanos por definición, son estructuras moleculares, compuestas por unidades de ensamblaje de fenilpropanos. Algunos de ellos incluyen motivos funcionales como la unidad anisil presente en el anetol y estragol y la unidad guayacoil, característica de los eugenoles.³⁵ Así como en la linaza, diversidad de especies naturales contienen dentro de sus productos metabólicos tanto a los lignanos como neolignanos, sobre los cuales se observa una gran diversidad estructural definida. Plantas como la *Nectandra megapotamica* (Spreng), originaria de Brasil central, contienen oxolignanos en el extracto de sus hojas que proporcionan cierta actividad tripanocida.³⁶ Otros metabolitos secundarios lignánicos fueron igualmente aislados de la *Brassica Fructiculosa*, empleándolos como herbicidas.³⁷ En

general, la presencia de los (neo) lignanos es bastante amplia y como ejemplo de los componentes más representativos se encuentra la podofilotoxina (9). Esta toxina obtenida también a partir de la Podophyllum peltatum, familia Berberidaceae, contiene un amplio espectro de actividad y fue inicialmente empleada ante enfermedades venéreas y como antiviral.³⁸ Otras acciones biológicas de los lignanos han sido estudiadas, clasificándolos como anticancerígenos, antiinflamatorios, antimicrobianos, antirreumáticos, antioxidantes, antifúngicos, entre otros.³⁹ De igual forma, debido a su importancia y su amplia distribución natural, se han empleado técnicas de separación e identificación como cromatografía en sus diferentes versiones y cromatografía acoplada a detector de masas para su identificación en diversos tejidos vegetales.⁴⁰ A pesar de diversidad molecular y difusión en la naturaleza de este tipo de moléculas, los rendimientos de extracción son bajos en la mayoría de los casos y la elevada cantidad de componentes en la mezcla, son considerados como los principales inconvenientes hacia su obtención natural. Por esta razón, se han empleado infinidad de metodologías sintéticas para acceder a estructuras lignánicas, naturales e inclusive se han implementado ciertas transformaciones a componentes extraídos, buscando potencializar alguna actividad biológica específica.⁴¹

1.2.2. Estrategias sintéticas en la obtención de lignanos y neolignanos

Las metodologías empleadas en la síntesis de (neo) lignanos, adquieren importancia gracias a sus posibles acciones biológicas. Sin embargo, los andamiajes necesarios para la construcción sintética reflejan la dificultad implícita en el diseño metodológico, el cual, a su vez, está enmarcado en la presencia de heterociclos oxigenados, centros quirales, anillos carbocíclicos hasta de ocho miembros y diarilbutenos como características estructurales. Debido a la complejidad para acceder a estos sistemas, se establecen algunos análisis por retrosíntesis. Un ejemplo del beneficio retrosintético, se vislumbra en la síntesis total de la podofilotoxina reportada recientemente (Esquema 1).⁴²



Esquema 1. Análisis retrosintético en la obtención de podofilotoxina.

Diversos lignanos derivados han sido reportados empleando rutas sintéticas clásicas y modernas, como la reacción de Diels-Alder, aportando a la extensa librería de este tipo de estructuras.⁴³ Otra metodología empleada en la construcción de lignanos, en este caso furánicos (**14** y **15**), es la reacción de Heck.⁴⁴



Esquema 2. Reacción de Heck aplicada a la síntesis de lignanos.

De la misma forma, algunas transformaciones químicas sencillas han sido material de estudio hacia modificaciones hemisintéticas de lignanos.



Esquema 3. Hemisíntesis de lignanos.

Lignanos conocidos como el hidroximatairesinol (16), han sido empleados en la obtención de análogos lignanos, también estudiados gracias a sus propiedades biológicas como fitoestrógenos, el (-)-matairresinol (17), (-)-enterolactona (20) y (-)-enterodiol (21)⁴⁵ (Esquema 3). En términos generales, la obtención de lignanos se fundamenta en la oxidación suave de la cadena propenílica o el grupo hidroxilo de las unidades fenólicas C₆-C₃, empleando reacciones enzimáticas o catalizadores oxidantes débiles como FeCl₃, Ag₂O, K₃Fe(CN)₆, entre otros. De las moléculas obtenidas por métodos sintéticos se destacan aquellas que provienen de precursores fenilpropanos sencillos, conformando algunas veces unidades diméricas exclusivas para cada sistema aril-propeno.

1.2.3. Derivados (neo) lignánicos del eugenol, anetol y sus análogos estructurales

Compuestos naturales provenientes de plantas aromáticas son los principales precursores de una amplia variedad de estructuras (neo) lignánicas. Desde un principio se estableció como hipótesis la formación de la lignina por medio de unidades C_6 - $C_{3.46}$ Esta proposición inicial implanta la relación de estructuras de mayor complejidad a nivel natural con los fenilpropanos. Moléculas como el eugenol (**3**),

isoeugenol (4), estragol (1), anetol (2), la asarona (20), los alcoholes sinapílico (21), coniferílico (22) y cumárico (23), el aldehído cinámico (24) y los ácidos cinámico (25), caféico (26) y *p*-cumárico (27), son los principales precursores (Fig. 7) en la formación de lignanos tanto naturales como sintéticos.⁴⁰



Figura 7. Fenilpropanoides precursores principales en la (bio) síntesis de lignanos.

Varios lignanos naturales, incluidos dentro de los productos secundarios biosintéticos de la *Machilus thumbergii*, presentan de forma clara motivos estructurales de las unidades C₆-C₃ en mención. Ejemplos de esto son el ácido meso-dihidroguaiarético, un difenilbutano (**28**), el isoguaiacin, una tetralina (**29**), el licarin A y el (-)-acuminatin, - los dos benzofuranos (**30** y **31**). Estos compuestos mostraron actividad anticancerígena ante la línea celular HL-60 y una potente actividad antioxidante³⁸ (Fig. 8).



Figura 8. Lignanos aislados de la Machilus thumbergii, relación estructural con los eugenoles.

La tetralina (29) fue sintetizada por Titouani y colaboradores en bajos rendimientos (20 %).⁴⁷ De igual forma, los benzofuranoles fueron introducidos como productos de interés sintético, donde sirvieron como intermedios de reacción en la síntesis de un producto natural conocido como el salvinal (32),⁴⁸ extraído de la *Myristica fragans*.⁴⁹



Esquema 4. Síntesis del salvinal a partir del isoeugenol.

Otras unidades C₆-C₃, como el isosafrol también han sido precursores ideales en la síntesis de lignanos mediante una reacción promovida por ácidos Brönsted, como el H_2SO_4 obteniendo bajos rendimientos vía cicloadición catiónica [3+2]⁵⁰ (Esquema 5).



Esquema 5. Síntesis de derivados del estragol.

El diseño sintético de los lignanos es poco documentado debido a la complejidad para alcanzar dichos modelos estructurales. Algunos de los lignanos de orden sintético más inmediatos, son las unidades diméricas de la asarona (34), el isoeugenol (35), el anetol (36), y el isosafrol (37) (Fig. 9). Estos compuestos resultaron tener actividad antioxidante y antiinflamatoria.⁵¹



Figura 9. Lignanos, dímeros de algunas unidades fenilpropanos.

De los dímeros arilindanos, el derivado de la asarona y el dímero del anetol, el metanetol, se encuentran presentes a nivel natural, siendo extraídos de fuentes naturales como la *Accorus calamus* y la esponja *Spheciospongia vesparia*.⁵² Estas moléculas presentan una disposición espacial definida debido a que cada una de ellas contiene tres centros quirales, permitiendo que los sustituyentes sean dispuestos de forma diferente en el espacio. Cada uno de los estereoisómeros posibles (α , β , γ , y δ) han sido obtenidos (Fig. 10).



Figura 10. Posibles arilindanos estereoisómeros de los fenilpropanos: α (1,2-*cis*-2,3-*trans*), β (1,2-*cis*-2,3-*cis*), γ (1,2-*trans*-2,3-*trans*) y δ (1,2-*trans*-2,3-*cis*).

La síntesis de algunas de estas unidades estructurales se ha llevado a cabo empleando diversas metodologías y parámetros de reacción convencionales como ácidos de Brönsted (H_2SO_4 , HCl o CF_3COOH) y solventes que presentan cierto grado de toxicidad para los organismos vivos (CH_2Cl_2 , $CHCl_3$). Según los reportes, el dímero de la asarona (**38**) ha sido obtenido por catálisis ácida favoreciendo la formación del isómero racémico γ , por dos métodos diferentes, con H_2SO_4 y con catalizadores heterogéneos, ácido molibdeno-fosfórico (MPA) y tunsteno-fosfórico (TPA)⁵³ (Esquema 6).



Esquema 6. Síntesis del 1-etil-2-metil-3-(2,4,5-trimetoxifenil)-4,5,7-trimetoxiindano.

De igual forma, los dímeros de nuestros compuestos fenilpropanos de interés, han sido obtenidos. El β racemato del metanetol fue sintetizado inicialmente por MacMillan y colaboradores en 1969 ⁵⁴ y estudios sintéticos más recientes empleando catalizadores heterogéneos (hetero-poliácidos (HPA)), favorecieron la obtención del y isómero (**39**)⁵⁵ (Esquema 7).



Esquema 7. Dimerización del anetol a metanetol.

Otro compuesto que se destaca por su funcionalidad estructural y la gran variedad de aplicaciones es el dímero del isoeugenol. Este compuesto fue observado por primera vez por Puxeddu en 1909 y su síntesis ha sido reportada posteriormente, empleando ácidos de Lewis como el $\text{FeCl}_{3^{56}}$ y ácidos Brönsted como el TFA^{57} como catalizadores. Este último demostró ser diastereoselctivo hacia el racemato a (**40**) (Esquema 8).



Esquema 8. Obtención del a diisoeugenol empleando TFA como catalizador.

Las aplicaciones del diisoeugenol se extienden desde su uso farmacéutico, como precursor del fármaco tofizopam, una benzodiazepina empleada como ansiolítico⁵⁸, hasta su contribución protectora en perfumes, actuando como antioxidante en concentraciones hasta del 10 % de la mezcla.⁵⁹ De igual forma, se han llevado a cabo estudios sobre su capacidad antiinflamatoria.⁵⁰ Estos compuestos se encuentran en el marco de referencia de estructuras importantes a nivel científico e industrial. Por tanto, su estudio continúa en los intereses de líneas de investigación en química orgánica, química medicinal, bioquímica, entre otras.

1.2.4. Aza análogos (neo) lignánicos de los fenilpropanos

Las principales transformaciones empleadas en la obtención de derivados de los fenilpropanos, involucran la introducción de heteroátomos en la estructura. Comúnmente se encuentran oxolignanos como los benzofuranos y los dioximetilenanálogos de la podofilotoxina. Sin embargo, la ausencia del átomo de nitrógeno es una de las características más notables en estas moléculas. Por tanto, en función de suplir esta necesidad, se han obtenido algunos ejemplos que mantienen un patrón estructural de lignano y además presenta el heteroátomo de N en su esqueleto. Estos son el azatoxin (41), un componente anticancerígeno, inhibidor de la topoisomerasa II^{60} , el GL331 (42) y TOP-53 (43), los cuales se encuentran en ensayos clínicos avanzados.⁴²



Figura 11. Aza análogos de lignanos.

Estas estructuras que incluyen el núcleo tetrahidroquinolínico se mantienen como moléculas líderes en estudios contra células cancerígenas. Un ejemplo es el estudio de nuevas 1-imidazolil(alquil)-quinolinas e isoquinolinas. De este estudio se encontró que la 5-(2-imidazol-1-iletil)-7,8-dihidroquinolina y su análogo saturado, presentaron valores de IC₅₀ = 0.29 μ M y IC₅₀ = 0.68 μ M como inhibidores duales de tromboxano A₂ sintasa.⁶¹

Reacciones recientemente reportadas, implican la introducción del heteroátomo de nitrógeno en estructuras donde se involucra la presencia de unidades fenilpropanos. Se han empleado algunas herramientas como la reacción de aza Diels-Alder (DA) (Esquema 9), en su forma intra- e intermolecular en la síntesis de algunos análogos lignánicos aril-naftaleno, estructuras quinolínicas con rendimientos hasta del 90 %.



Esquema 9. Síntesis de aza análogos de los lignanos.

De igual forma se han generado estructuras interesantes sobre las cuales se incluyen elementos fenilpropanoides y anillos heterocíclicos como el indol y la tetrahidroquinolina. En dicho trabajo se reportó la obtención de nuevos modelos heterocíclicos (44) por medio de la reacción de DA promovida por BF₃·OEt₂⁶² (Esquema 10).



Esquema 10. Obtención de las dihidro[indolin-3,2'-quinolina]-2-onas.

Otras reacciones hacia la obtención de derivados fenilpropanos fueron estudiadas, comprobando la capacidad de estos alquenos para actuar en reacciones convencionales. Un estudio realizado por Kouznetsov y colaboradores en el LQOBio, revela la obtención de análogos aza-lignánicos (**46**) y benzofuranos (**45**), en condiciones suaves y disolventes novedosos como el PEG-400.⁶³


Esquema 11. Síntesis de aza-lignanos y benzofuranoles, derivados del eugenol y anetol.

Los estudios realizados hacia la introducción de motivos estructurales, como el átomo de nitrógeno y unidades C₆-C₃, como el eugenol y anetol, fundamentan el empleo de estos precursores naturales para la obtención de moléculas con mayor complejidad. Por otro lado, se destaca la robustez de la metodología sintética imino DA, la cual fue empleada en el diseño de estos aza lignanos. Por tanto se mantiene nuestro interés en el desarrollo de nuevos prospectos fármaco-biológicos, con estructuras derivadas de los fenilpropanos y así continuar empleando rutas sintéticas como la reacción de DA.

1.3. REACCIÓN DE DIELS-ALDER

La reacción de Diels (1876-1952)-Alder (1902-1958) es una de las metodologías más utilizadas en síntesis orgánica.⁶⁴ Esta herramienta sintética ha sido empleada exhaustivamente para la obtención de una extensa librería de compuestos con propiedades físico-químicas y fármaco-biológicas importantes, merecedora del premio Nobel en 1950 y de más de 17000 artículos desde su descubrimiento.⁶⁵ Esta reacción ocurre por intermedio de dos precursores, el dieno y un dienófilo, que poseen en su estructura cuatro y dos electrones π respectivamente, por tanto, se considera una reacción de cicloadición [4+2]. Esta metodología adquiere gran relevancia al mostrar regio- y estéreo-selectividad; sus bondades en cuanto a su regio-control se afirman en estudios recientes donde el producto muestra una preferencia significativa por el isómero obtenido en posición *para-* (47) que por el isómero *meta-* (48), con una relación de hasta 95:5 respectivamente⁶⁶ (Esquema 12).



Esquema 12. Regioselectividad en la reacción de DA.

Cuando el dienófilo presenta una conformación *cis* o *trans*, el producto generado mantiene esta configuración. Esta particularidad fue estudiada por Houk en 1976, empleando como reactivos el 1,1,4,4-tetradeuterio-1,3-butadieno y el *cis* o *trans*-1,2-dideuterioetileno⁶⁷ (Esquema 13).



Esquema 13. Estereoespecificidad de la reacción de DA, demostración experimental.

Gran variedad de estudios han sido enfocados hacia el comportamiento mecanístico de esta reacción, para la cual se ha planteado un estado de transición (ET) hexacíclico concertado, uno birradical y otro ET zwitterión.⁶⁸ En el mecanismo de dos pasos cuando el cierre del anillo ocurre más rápido que la posible rotación en el ET, la reacción tiene lugar estéreo-específicamente.⁶⁹ Además de la evidencia experimental, estos mecanismos fueron estudiados por métodos teóricos, Becke3LYP DFT⁷⁰ y "*complete-active-space self-consistent field*" (CASSCF),⁷¹ para el etileno y el butadieno, mostrando la existencia de dos estados dentro del mecanismo concertado, denominados sincrónico, en el cual la intensidad de formación en los dos nuevos enlaces es la misma y asincrónico, donde una de las interacciones entre los átomos enlazantes es mayor (Esquema 14).



Esquema 14. Posibles vías para la reacción de Diels-Alder concertada.

Usualmente, la reacción ocurre por la fuerte interacción entre el orbital ocupado de más alta energía (HOMO) del dieno y el orbital desocupado de menor energía del dienófilo (LUMO),⁷² recibiendo el nombre de reacción DA de demanda normal de electrones. Cuando dienófilos más reactivos, con grupos donadores de electrones (GDE), reaccionan con dienos pobres en electrones debido a la presencia de grupos atractores de electrones (GAE) en su estructura, ésta recibe el nombre de reacción de DA de demanda inversa de electrones. Una de las formas clásicas de DA de demanda inversa es la reacción de aza DA.

1.3.1. Reacción de aza Diels-Alder

La reacción aza (imino) Diels-Alder ha concebido una amplia variedad de trabajos científicos, gracias a la disponibilidad de precursores y las condiciones suaves de reacción.⁷³ Esta variante de la cicloadición fue la desarrollada por Povarov⁷⁴ con bases de Schiff (iminas) -dienos electro deficientes y dienófilos "ricos" en densidad electrónica- catalizada por ácidos próticos o AL. Se cree, que el mecanismo de esta reacción ocurre mediante un intermediario iónico, con una etapa final que corresponde a una sustitución electrofílica de un ión carbenio.⁷⁵

Según la experiencia que se tiene en el LQOBio en la construcción de heterociclos nitrogenados, se han alcanzado avances importantes en el desarrollo de algunas metodologías, incluyendo la reacción de imino DA empleada en su versión multicomponente, -generando una nueva serie de tetrahidroquinolinas (THQ), 2-aril, 4-(2-oxo-pirrolidinil) sustituidas, donde se empleó como dienófilo activado la N-vinilpirrolidona con benzaldehídos y anilinas. En dicho trabajo se utilizó BiCl₃ como catalizador en CH₃CN durante 14 horas a temperatura ambiente para la construcción de las respectivas THQ (49)⁷⁶ (Esquema 15).



Esquema 15. Reacción imino DA multicomponente promovida por BiCl₃ para la obtención de THQ.

Trabajos más recientes incluyen los fenilpropanos como motivos estructurales de moléculas existenten en la base de datos molecular del LQOBio.^{61, 62} Las THQ continúan siendo un modelo biológico atractivo para la búsqueda de nuevos agentes farmacológicos. Recientemente se reportó la síntesis de una amplia diversidad de estructuras tertrahidroquinolínicas, donde se demuestra el alcance metodológico de la reacción de imino DA empleada. Algunas moléculas demostraron su capacidad para actuar como antifúngicos contra varios hongos dermatofitos, apuntando hacia las virtudes biológicas de este farmacóforo.⁷⁷ Esta reacción ha sido una herramienta valiosa en la consecución de novedosas series de compuestos tanto de heterociclos como de carbociclos. Sin embargo, otras transformaciones más sencillas sobre los fenilpropanos, implican el uso de sustituciones nucleofílicas, electrofílicas aromáticas y reducciones de dobles enlaces C=C, con el objetivo de encontrar nuevos modelos estructurales con alto carácter natural.

1.4. DERIVADOS MENORES DE LOS FENILPROPANOS

Una gran variedad de estructuras moleculares importantes tanto química como biológicamente, han sido modificadas con un propósito, determinar el rol de cada motivo estructural en su acción farmacocinética o farmacodinámica. Es por esto que se han generado diversificaciones de unidades fenilpropanoides, en función de valorar estas variaciones. Algunos estudios se han llevado a cabo, introduciendo disciplinas como síntesis orientada a la diversidad, DOS (*Diversity Oriented Synthesis*), encontrando resultados alentadores a través de rutas convencionales. Ciertas derivatizaciones de estos sistemas implican la introducción de heteroátomos en el sistema C₆-C₃. Este es el caso de la obtención anticipada de seis nuevos derivados del eugenol e isoeugenol, empleando agentes halogenantes como Cl₂, Br₂ y NBS⁷⁸ (Fig. 12).



Figura 12. Derivados del eugenol e isoeugenol.

En otros reportes se demostró la potencial actividad del anillo y su capacidad para ser modificado a través de reacciones de sustitución electrofílica aromática. De este modo se obtuvieron las versiones nitradas del (iso) eugenol, influenciadas fuertemente por la presencia de sus dos grupos activantes, El -OH y el -OMe. Esto con el fin de evaluar su poder inhibitorio ante el crecimiento de una línea de células humanas cancerígenas⁷⁹ (Esquema 16).



Esquema 16. Nitración eisomerización del eugenol.

Por otro lado, se han propuesto transformaciones químicas empleando el eugenol como un nucleófilo atractivo hacia la obtención de una gran diversidad de ésteres análogos (48) (Esquema 17). Estos fueron evaluados ante la diana conocida como 15lipooxigenasa, enzima causante de enfermedades cancerígenas y problemas cardiovasculares. Los resultados obtenidos fueron prominentes, encontrando valores de inhibición hasta de 17 nM.⁸⁰



Esquema 17. Esterificación del eugenol.

Otras reacciones de O-alquilación también fueron realizadas. En este caso se empleó como agente alquilante el bromuro de alilo (Esquema 18). Realizando esta transformación química, se valoró el efecto sobre la toxicidad de los compuestos obtenidos.⁸¹



Esquema 18. Alilación de fenoles sustituidos, incluyendo el eugenol.

Los elementos estructurales introducidos en una molécula con propiedades físicas, químicas y biológicas sobresalientes son motivo de interés investigativo. Estas unidades fenilpropanos se exhiben con gran diversidad en otras fuentes naturales.

1.5. DERIVADOS PRENILADOS DE LOS FENILPROPANOS Y SUS CROMANOS

Las sustancias naturales provenientes del metabolismo de las abejas han sido un objeto de estudio en medicina alternativa. Además, es bien sabido que los productos en apicultura son fuente alimenticia en muchos países debido al contenido de productos naturales con propiedades favorables para el organismo. Uno de los productos que ha llamado la atención de los investigadores es el propóleo, una sustancia que se genera gracias a la necesidad de supervivencia de la especie. Una amplia gama de actividades biológicas ha sido atribuida a familias de compuestos. Dependiendo del tipo de propóleo se han identificado flavonas, flavanonas, ácidos fenólicos y sus ésteres, benzofenonas, terpenos y algunos esteroles. Sin embargo, un patrón común en muchas de las estructuras de la mezcla natural, es la presencia de un grupo prenilo, haciendo parte de las moléculas activas⁸² (Fig. 13).



Figura 13. Derivados prenilados presentes en el propóleo.

Otras estructuras con carácter de fenilpropano fueron identificadas en el propóleo, se trata de los derivados del ácido cinámico. Estas moléculas han presentado propiedades como agentes antioxidantes, anticancerígenos, antimicrobianos y antiinflamtorios.⁸³ Una de las estructuras más destacables es el artepillin C (**49**), el cual ha demostrado ser un potente agente anticancerígeno contra líneas celulares de leucemia⁸⁴ (Fig. 14).



Figura 14. Estructura del artepillin C.

Debido a la importancia del artepillin C, se han analizado una gran variedad de compuestos con alta analogía estructural. Un estudio teórico-práctico sobre compuestos extraídos del propóleo proporcionó nuevos modelos sintéticos (Esquema 19) para posteriores estudios anticancerígenos.⁸⁵



Esquema 19. Análogos prenilados del propóleo.

Otras metodologías sintéticas apuntan hacia la síntesis de análogos fenilpropanos y sus derivados prenilados (Esquema 20). En este caso se emplean las reacciones de sustitución electrofílica, usando unidades de isopreno, compuestos con potencial actividad inhibitoria de la peroxidación de lípidos⁸⁶ (método de ABTS).



Esquema 20. Derivados isoprenos del artepillin C.

Atendiendo a generalidades de estudios sobre los prenil-derivados, un compuesto activo puede mejorar su acción biológica al incorporar un grupo prenil, geranil o farnesil en la arquitectura molecular. Gran diversidad de estructuras ciclo-oxigenadas, presentan estos detalles estructurales y han sido encontradas en fuentes naturales. Esta razón mantiene el interés químico y farmacológico sobre estos agentes. Compuestos como preniloxi-alcaloides (**50**) y preniloxi-fenilpropanoides (**51**) son estudiados como antivirales.⁸⁷ Otras estructuras de interés como los lignanos también presentan unidades prenilo en su estructura⁸⁸ (**52**) (Fig. 15).



Figura 15. Derivados prenilados naturales.

Esto evidencia la existencia de gran variedad de farmacóforos con el grupo prenilo haciendo parte de sus estructuras. También se han identificado algunos derivados cromanos (**54**) y benzofuranos (**55**)⁸⁹ (Fig. 16).



Figura 16. Cromanos y benzofuranos prenilados del propolis.

Debido a la importancia química y farmaceútica de estos compuestos, se han desarrollado diversidad de métodos sintéticos para acceder a derivados tanto Oprenilados como Caril-prenilados⁹⁰ (Esquema 21).



Esquema 21. Reacciones de O- y Caril prenilación.

El desarrollo científico entorno a estos compuestos ha demostrado el porqué se mantienen como objeto de estudio reciente. De igual forma, la labor incansable de los químicos orgánicos por obtener información de los fenilpropanos, lignanos y sus derivados generan gran variedad de herramientas para su obtención. Sin embargo, uno los aspectos negativos se hacen notar. El empleo de reactivos comerciales, disolventes con efectos adversos tanto para la salud como para el medio ambiente, catalizadores con alto poder de contaminación y altos consumos energéticos, disminuyen el interés del mundo hacia estas investigaciones. Por esta razón, el LQOBio se encamina en el empleo de parámetros de reacción acordes con los principios de la química sostenible.

1.6. HACIA LA QUÍMICA VERDE

El continuo avance en la construcción de moléculas con aplicaciones fármacobiológicas, en alimentos, en cosmética y en nuevos materiales, demanda el uso de reactivos peligrosos, disolventes comunes con efectos adversos y la producción de desechos indeseables. Es por esto que la química verde impone 12 principios que se deberían siempre tener presentes para el desarrollo científico en esta ciencia.⁹¹

El desarrollo de métodos sintéticos que impliquen la inclusión de nuevos parámetros inofensivos para el ser humano o al medio ambiente, se constituye como uno de los retos más abordados en los últimos años. Involucrar catalizadores sólidos y materiales que puedan ser renovables es una de las alternativas para cumplir con el objetivo de generar menos desechos en procesos de síntesis y aprovechar los productos naturales renovables en el diseño de moléculas más complejas.

1.6.1. Transformaciones químicas de productos naturales

Una de las estrategias para el desarrollo de nuevos compuestos con aplicaciones biomédicas es el trabajo semi-sintético. En estos trabajos se visualizan las modificaciones a estructuras encontradas en la naturaleza y que han presentado acción biológica tanto *in vitro* como *in vivo*. Algunas metodologías sintéticas han sido empleadas en la modificación estructural de productos naturales.⁹²

Por otro lado, ciertos compuestos reconocidos en la literatura han expresado su importancia, incluso con pequeñas modificaciones de su estructura. La podofilotoxina se encuentra dentro de los productos naturales de mayor modificación y aplicación biológica⁵⁸⁻⁶⁰ como producto aislado y caracterizado para ser modificado por herramientas en síntesis orgánica.

Como una gran novedad en el campo de las transformaciones químicas de productos naturales se han introducido los aceites esenciales (AE) como materiales de partida en química orgánica. Inicialmente, se reportó la implementación del aceite de citronela en la síntesis de octahidroacridinas⁹³ (Esquema 22).



Esquema 22. Síntesis de octahidroacridinas con AE de citronela.

De igual forma, el aceite de citronela, obtenido de la *Cymbopogon nardus*, se ha empleado en la obtención del (-)-isopulegol. Este es considerado el precursor principal

en la obtención industrial del (-)-mentol, componente fundamental en la industria cosmética, farmacéutica y alimentaria.⁹⁴

Un estudio más reciente demuestra el empleo de AE obtenido de la semilla de anís estrellado, en la síntesis de tetrahidroquinolinas (THQ). De este aceite vegetal se aprovecha el alto contenido del componente principal, el anetol (Esquema 23).⁹⁵



Esquema 23. Síntesis de THQ, partiendo del AE de anís.

Estos estudios demuestran la importancia del empleo de la naturaleza como fuente de precursores en síntesis orgánica. De igual forma se observa la viabilidad de modificar los componentes principales de extractos y aceites provenientes de las plantas.

1.6.2. Optimización de parámetros de reacción hacia procesos más limpios

Incluir material renovable en el desarrollo de nuevas estructuras orgánicas es una línea de investigación reconocida, ligada a los principios de la química verde. Sin embargo, otra forma de influir en el efecto adverso al medio ambiente es disminuir los tiempos de reacción, emplear la menor cantidad de energía en los procesos sintéticos y evitar generar desechos. Esto último se puede lograr, disminuyendo los pasos del procedimiento a seguir e incluso empleando solventes y catalizadores que puedan ser recuperables sin perder su actividad química.

El uso de disolventes convencionales como el MeCN, PhMe, THF, DMF, MeOH, (Me)₂CO, CH₂Cl₂, CHCl₃, entre otros, continúa siendo uno de los mayores defectos de los estudios sintéticos. Disolventes como los líquidos iónicos han despertado el interés de los químicos, al parecer debido a sus propiedades físicas favorables como medio de reacción y a su inocuidad.⁹⁶ Sin embargo, estos sistemas orgánicos tienen en contra sus altos costos. Recientemente se han introducido otros nuevos medios de reacción. Los (poli) etilenglicoles (PEG's), se destacan por ser disolventes empleados como "vehículos" en la introducción de medicamentos al organismo, lo cual concuerda con su carácter inofensivo.⁹⁷ Los PEG's han demostrado su capacidad para actuar como fase líquida en una amplia variedad de reacciones, incluyendo sustituciones, oxidaciones y reducciones.⁹⁸ Estos compuestos presentan masas promedio desde los 200 hasta 20000 Da, siendo el PEG-1000 y el PEG-2000, los más empleados en síntesis orgánica.⁹² El LQOBio, comprometido con la química sostenible, implementó el PEG-400 como medio de reacción por primera vez, en la reacción de imino DA, obteniendo resultados sobresalientes.⁶¹

El empleo de recursos renovables como los productos naturales, disolventes con carácter inocuo y disminución de demanda energética en las metodologías empleadas cobra mayor importancia día tras día. Sin embargo, el empleo de catalizadores halogenados, con metales de transición persistentes en la naturaleza y difícilmente recuperables, se mantiene como limitante en los diseños sintéticos. Una alternativa importante en las reacciones promovidas por catalizadores son los catalizadores heterogéneos. Materiales soportados como SiO_2 -OSO₃H,⁹⁹ HClO₄-SiO₂¹⁰⁰ e incluso los PEG's, PEG-6000¹⁰¹ son usados en el desarrollo de metodologías sostenibles en síntesis orgánica. Por esta razón se buscó en este trabajo disminuir riesgos generales empleando técnicas modernas y que apuntan al cumplimiento de los principios de la química verde.

Adicional al uso de catalizadores soportados, los cuales se comportan como ácidos de Brönsted o ácidos de Lewis, se avanza en el empleo de catalizadores sólidos de carácter básico. Estos catalizadores básicos sólidos adquieren una amplia ventaja sobre las bases líquidas empleadas en síntesis, convirtiéndose en la opción más viable a emplear como agentes catalíticos. Su fácil manejo, recuperabilidad, estabilidad con el ambiente, entre otras cualidades, impulsan su uso e influyen en la necesidad de diseñar nuevos y mejores sólidos básicos.

Una de las metodologías para medir la fuerza básica es la remoción de un protón ácido de un precursor. Este factor de medición es empleado en una molécula sencilla como el 2-buteno, buscando la isomerización por medio de la remoción del protón (Esquema 24).¹⁰²

→ + B⁻ → / + BH

Esquema 24. Isomerización del 2-buteno.

Algunas bases en solución y catalizadores sólidos han sido empleadas en este tipo de catálisis, logrando altos porcentajes de conversión y relaciones de isómeros (Tabla 1).

0:	Parámetros		() ()	
Sistema catalítico	Temperatura (K)	Tiempo (h)	Conversion (%)	
KNH ₂ /Al ₂ O ₃	573	1	91.3	
K(NH ₃)/Al ₂ O ₃	423	1	89.4	
KNO ₃ /Al ₂ O ₃	873	3	90.7	
KOH/ Al ₂ O ₃	673	3	86.0	
CaO	1073	3	89.8	
MgO	873	3	84.9	
KY	773	3	< 0.1	

Tabla 1. Sistemas catalíticos empleados en la isomerización del 2-buteno.¹⁰³

Algunos de estos sistemas y soluciones de bases como KOH, NaOH, entre otras, también se han utilizado en las transformaciones químicas de algunos productos naturales. Tal es el caso de la isomerización del isoeugenol, el cual presenta una cadena propenílica del tipo 2,3-DB. Inicialmente se emplearon soluciones básicas de

KOH 4M en la obtención de isoeugenol.¹⁰⁴ Otros estudios más recientes aprovechan las propiedades químicas de sales de metales de transición como el tricloruro de rodio (III) RhCl₃ (catalizador) y en alcohol amílico, donde se alcanza hasta un 99 % de conversión. El eugenol también puede ser isomerizado a isoeugenol, llevando a cabo una migración del doble enlace del fragmento propenílico hacia la posición conjugada con el anillo bencénico. Esto se logra empleando hidrotalcitas (compuestos que en su composición tienen metales diferentes con diferente estado de oxidación), como catalizadores que conciben conversiones hasta del 75 %, en razón 15:85 *cis/trans.* Las temperaturas de 200°C en disolventes polares como medio de reacción, permiten que el producto finalmente adquiera un mayor valor agregado (Esquema 25).



Esquema 25. Isomerización del eugenol a isoeugenol.

Otra metodología empleada en la reacción de isomerización de fenilpropanos incluye el uso de KOH soportado en Al₂O₃. En este caso se alcanza conversiones hacia el isoeugenol hasta del 97 % y una selectividad del 79 %.¹⁰⁵

2. OBJETIVOS

2.1. GENERAL

Ampliar la quimioteca de compuestos del LQOBio, sintetizando nuevos derivados de los fenilpropanos naturales (eugenoles y anetoles), (neo) lignanos, aza (neo) lignanos, y sus análogos menores como prototipos moleculares de interés para la evaluación de su actividad antitumoral y antioxidante. En este último, empleando el método del ABTS.

2.2. ESPECÍFICOS

- Desarrollar transformaciones químicas convencionales como reducciones, Cacilaciones, O-acilaciones y O-metilaciones en los sistemas fenilpropanos de interés.
- Realizar la hidrodestilación del AE de frutos secos de clavo adquirido en el mercado local, bajo condiciones convencionales de calentamiento.
- Obtener los catalizadores heterogéneos, soportados, SiO₂-OSO₃H, HClO₄-SiO₂ y PEG-OSO₃H para emplearlos en las reacciones posteriores como elementos catalíticos recuperables y amigables al ambiente.
- Realizar la isomerización del eugenol comercial y el aceite esencial obtenido, empleando condiciones básicas de reacción.
- Sintetizar los dímeros del isoeugenol, metil-isoeugenol y anetol vía reacción de cicloadición [3+2], empleando los soportes catalíticos obtenidos previamente.
- Emplear la metodología de imino DA en la síntesis de derivados aza (neo) lignanos, análogos de compuestos naturales obtenidos de la *Mirystica fragans*.
- Obtener los derivados prenilados del eugenol, análogos estructurales del Artepillin C, como moléculas valuartes en los posteriores bioensayos.
- Realizar la evaluación de la actividad antioxidante, empleando el método de ABTS y estudiar la inhibición de la acetilcolinesterasa como diana de interés en el tratamiento del Alzheimer.
- Preparar nuevas muestras para estudios de bioensayos de actividad antitumoral.

3. PARTE EXPERIMENTAL

Materiales y reactivos

Todos los materiales de partida empleados para cada uno de los experimentos fueron de grado para síntesis y se usaron sin purificación previa. Los proveedores comerciales fueron: ALDRICH, MERCK Y MALLINCKRODT.

Monitoreo y purificación

El comportamiento de la reacción fue supervisado mediante cromatografía en capa fina (CCF), sobre cromato-placas de Silufol UV₂₅₄ de 0.25 mm de grosor, reveladas en una cámara de luz UV de 254 nm y en yodo. La purificación de cada una de las moléculas obtenidas se llevó a cabo por cromatografía en columna (CC), utilizando como soporte gel de sílice 60 (0.063-0.200 mm) y como eluyentes mezclas pertinentes de éter de petróleo/acetato de etilo en aumento gradual de polaridad.

Optimización de solventes

Los solventes usados en cada reacción fueron llevados a condiciones anhidras; el acetonitrilo fue puesto a reflujo durante 4 h sobre tamiz molecular de 1 Å y fue destilado sobre tamiz molecular de 4 Å; el PhMe fue puesto en un montaje de Schlenck, asegurando la atmósfera N₂ y puesto a reflujo con sodio y benzofenona como indicador. Se obtuvo el tolueno seco en el embudo con regulación de presión. El metanol se secó preparando, 2.5 g de Mg con un cristal de yodo por cada 500 mL de MeOH, para ser puesto a condiciones de reflujo durante la decoloración y dos horas adicionales para poder finalmente ser destilado sobre tamiz molecular de 4 Å. La acetona fue puesta a reflujo con KMnO₄ para eliminar el alcohol presente y posteriormente se destiló y se pasó a través de alúmina básica para eliminar los posibles residuos. Finalmente, se guardó sobre tamiz molecular de 4 Å.

Equipos empleados

Los puntos de fusión se determinaron en un fusiómetro FISHER-JOHNS; la elucidación de las estructuras moleculares se estableció mediante métodos instrumentales. Los espectros de infrarrojo (IR) se realizaron en el equipo INFRALUM FT con transformada de Fourier; la toma de espectros de resonancia magnética nuclear (RMN) ¹H y ¹³C, se realizó en un espectrómetro BRUKER 400 y BRUKER 300, utilizando cloroformo deuterado (CDCl₃) y dimetil sulfóxido deuterado (DMSO-D₆) como solventes y como estándar interno se empleó tetrametilsilano (TMS); el cromatograma de gases y el espectro de masas fueron registrados en un cromatógrafo de gases HP 5890A Serie II acoplado a un detector selectivo de masas HP 5972 con ionización por impacto de electrones (70 eV); los ensayos de actividad antioxidante e inhibición de la AChE fueron realizados en un lector UV-vis, VERSAmax, microplate reader, Molecular Device.

3.1. SÍNTESIS FÁCIL DE O-DERIVADOS DEL EUGENOL E ISOEUGENOL

3.1.1. O-Alquilación del eugenol e isoeugenol



Figura 17. Derivados O-alquilados obtenidos en condiciones de S_N2.

Metodología General

Se mezclaron en un balón de 100 mL de dos bocas, el precursor fenilpropano (eugenoles) junto con la base, en dilución de DMF a temperatura ambiente con posterior aumento de la temperatura. Se adicionó el respectivo haluro de alquilo a través de un goteo continuo con un embudo de adición. Se ajustó la agitación vigorosa y el calentamiento. El transcurso de las reacciones fue monitoreado por medio de cromatografía en capa fina (CCF). La masa de reacción se lavó con KOH y se extrajo con AcOEt (2x30 mL). La fase orgánica se drenó en Na₂SO₄ anhidro y fue concentrada al vacío. La purificación se realizó por CC, empleando gel de sílice como soporte y como eluentes mezclas pertinentes de éter de petróleo:acetato de etilo, 100:1.



Metileugenol (1).

Se adicionó 1.0 g (6.75 mmol) de eugenol junto con una solución de NaOH al 15 % en acetona. Por último se adicionaron 1.75 g (12.36 mmol) de MeI en dilución de acetona a través de un goteo continuo. Después de la agitación a temperatura ambiente durante 12 h, según CCF, se extrajo y se purificó para obtener

1.14 g de un aceite amarillo, Rto. 95 %; IR (Película delgada): 2981-2831 (VCHn), 1146

(vco) cm⁻¹; ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 2.10-2.16 (2H, d, J = 6.5 Hz, γ CH₂), 3.75 (3H, s, OCH₃), 3.80 (3H, s, OCH₃), 5.02-5.10 (2H, d, J = 6.9 Hz, α CH₂), 6.03-6.15 (1H, m, β CH), 6.76 (1H, d, J = 8.0 Hz, 6-H), 6.80-6.83 (1H, dd, J = 8.0, 1.7 Hz, 5-H), 6.86 (1H, d, J = 1.7 Hz, 3-H); CG-EM (EI) ($t_R = 8.77$ min), m/z (%): 178 (100, M⁺⁺), 163 (40), 107 (45).



O-Metalileugenol (2).

Se mezclaron en un reactor de Schlenck con atmósfera de nitrógeno, 1.0 g (6.1 mmol) de eugenol y 0.3 g (12.2 mmol) de NaH en solución de DMF anhidra y agitación constante durante 10 min. Por último se adicionaron 1.7 g (9.15 mmol) de cloruro de metalilo. Esto a través de un goteo continuo con un

embudo de regulación de presión. Posterior al tratamiento y purificación se obtuvieron 1.1 g de un aceite transparente. Rto. 80 %; IR (película delgada): 3082-2844 (VCHn), 1141 (VCO) cm⁻¹; ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 1.83 (3H, s, CH₃), 3.34 (2H, d, J = 6.7 Hz, α CH₂), 3.87 (3H, s, OCH₃), 4.50 (2H, s, CH_{2Ma}), 5.0 (1H, br. s, =CH_{2Ma}), 5.05-5.12 (3H, m, YCH₂ y =CH_{2Ma}), 5.91-6.03 (1H, m, 6CH), 6.70 (1H, d, J = 8.1 Hz, 5-H), 6.73 (1H, br. s, 3-H), 6.82 (1H, d, J = 8.1 Hz, 6-H); CG-EM (EI) ($t_R = 11.71$ min), m/z (%): 218 (50, M⁺⁺), 163 (100), 103 (40).



Bencileugenol (3).

Se mezclaron en un balón de dos bocas, 1.0 g (6.1 mmol) de isoeugenol y 3.61 g (18.3 mmol) de K_2CO_3 en dilución de acetona anhidra durante 20 min. Posteriormente se adicionaron 3.14 g (18.3 mmol) de BrBn en dilución a través de un embudo con regulación de presión. Se mantuvo en

agitación a reflujo durante 8 h. Posterior a la purificación se obtuvieron 3.10 g de un aceite transparente. Rto. 88 %; IR (KBr): 1150 (vco) cm⁻¹; ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 3.34 (2H, s, γ CH₂), 3.89 (3H, s, OCH₃), 5.09 (2H, m, α CH₂), 5.14 (2H, s, CH₂), 5.96 (1H, m, β CH₂), 6.67 (1H, dd, J = 8.5, 1.8 Hz, 5-H), 6.75 (1H, d, J = 1.8 Hz, 3-H), 6.82 (1H, d, J = 8.5 Hz, 6-H), 7.31 (1H, d, J = 7.2 Hz, 4-H_{Bn}), 7.37 (2H, 't', J = 7.2 Hz, 3-H_{Bn} y 5-H_{Bn}), 7.45 (2H, d, J = 7.3 Hz, 2-H_{Bn} y 6-H_{Bn}); ¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 146.5, 137.4, 133.3, 128.9, 128.6, 128.4, 128.3, 127.7, 127.2, 125.84, 120.4, 115.6, 114.4, 112.5, 71.2, 55.9, 39.8; CG-EM (EI) ($t_R = 19.57$ min), m/z (%): 254 (20, M⁺⁺), 163 (25), 91 (100).



O-Prenileugenol ($\underline{4}$).

Se mezclaron en un reactor de Schlenck con atmósfera de nitrógeno, 0.5 g (3.0 mmol) de eugenol y 1.26 g (9.15 mmol) de K₂CO₃ en dilución de DMF anhidra durante 20 min. Posteriormente se adicionaron 0.82 g (6.1 mmol) de BrPre en dilución a través de un embudo con regulación de presión. Se

mantuvo en agitación a 70 °C durante 8 h. Posterior a la purificación se obtuvieron 0.50 g de un aceite amarillo. Rto. 70 %; IR (película delgada): 3076-2827 (v_{CHn}), 1138 (v_{CO}) cm⁻¹; ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 1.73 (3H, s, CH₃), 1.77 (3H, s, CH₃), 3.34 (2H, d, J = 6.7 Hz, α CH₂), 3.86 (3H, s, OCH₃), 4.56 (2H, d, J = 6.7 Hz, OCH₂), 5.04-

5.13 (2H, m, γ CH₂), 5.50-5.57 (1H, m, 6CH), 5.92-6.03 (1H, m, CH), 6.68-6.74 (2H, m, 3-H y 5-H), 6.82 (1H, d, J = 7.74 Hz, 6-H); CG-EM (EI) (t_R = 13.18 min), m/z (%): 232 (1, M⁺⁺), 164 (100), 149 (40).



Metilisoeugenol (<u>5</u>).

Se mezcló 1.0 g (6.75 mmol) de eugenol junto con una solución de NaOH al 15 % en acetona. Por último se adicionaron 1.75 g (12.36 mmol) de MeI en dilución de acetona a través de un goteo continuo. Después de la agitación a temperatura ambiente durante 12 h, según CCF, se extrajo y se purificó para obtener 1.15 g de aceite

amarillo, Rto. 96 %; IR (película delgada): 2979-2834 (V_{CHn}), 1148 (V_{CO}) cm⁻¹; ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 1.83-1.89 (3H, dd, J = 1.6 Hz, CH₃), 3.85 (3H, s, OCH₃), 3.88 (3H, s, OCH₃), 6.05-6.15 (1H, m, 6CH), 6.30-6.37 (1H, dd, J = 1.5 Hz, α CH), 6.76 (1H, d, J = 8.2 Hz, 5-H), 6.82-6.87 (1H, dd, J = 1.8 Hz, 3-H), 6.89 (1H, d, J = 1.7 Hz, 6-H); CG-EM (EI) ($t_R = 8.60$ min), m/z (%): 178 (100, M⁺⁺), 163 (30), 147 (32).



O-Metalilisoeugenol (6).

Se mezclaron en un reactor de Schlenck con atmósfera de nitrógeno, 1.0 g (6.1 mmol) de eugenol y 0.3 g (12.2 mmol) de NaH en solución de DMF anhidra y agitación constante durante 10 min. Por último, se adicionaron 1.7 g (9.15 mmol) de cloruro de metalilo. Esto a través de un goteo continuo con

un embudo de regulación de presión. La reacción se mantuvo durante 10 h a 70 °C. Posterior al tratamiento y purificación se obtuvieron 1.1 g de un aceite transparente. Rto. 75 %; IR (Película delgada): $3082(_{CH=CH2})$, $2844 (_{VCHn})$, $1141 (_{VCO}) \text{ cm}^{-1}$. ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 1.83 (3H, s, CH₃), $3.00 (2H, d, J = 6.8 \text{ Hz}, \alpha \text{CH}_2)$, $3.87 (3H, s, \text{OCH}_3)$, $4.50 (2H, s, \text{CH}_{2Ma})$, $5.2 (1H, \text{ br. s}, =\text{CH}_{2Ma})$, $5.05 \cdot 5.12 (3H, m, \text{YCH}_2 \text{ y} =\text{CH}_{2Ma})$, $5.90 \cdot 6.00 (1H, m, \text{ BCH})$, $6.70 (1H, d, J = 8.0 \text{ Hz}, 5 \cdot \text{H})$, $6.74 (1H, \text{ br. s}, 3 \cdot \text{H})$, $6.82 (1H, d, J = 8.0 \text{ Hz}, 6 \cdot \text{H})$; CG-EM (EI) ($t_R = 13.82 \text{ min}$), m/z (%): 218 (50, M⁺⁺), 163 (100), 103 (40).



Bencilisoeugenol (∂).

Se mezclaron en un balón de dos bocas, 2.0 g (12.2 mmol) de isoeugenol y 5.12 g (36.6 mmol) de K_2CO_3 en dilución de acetona anhidra durante 20 min. Posteriormente se adicionaron 6.27 g (36.6 mmol) de BrBn en dilución a través de un embudo con regulación de presión. Se mantuvo en

agitación a reflujo durante 8 h. Posterior a la purificación se obtuvieron 3.10 g de un sólido blanco, Pf. 59-60 °C. Rto. 90 %; IR (KBr): 2947(v_{CHn}), 1581(v_{CC}), 1150 (v_{CO}); ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 1.86-1.90 (3H, dd, J = 1.48 Hz, CH₃), 3.91 (3H, s, OCH₃), 5.16 (2H, s, CH_{2Bn}), 6.07-6.17 (1H, m, 8CH), 6.31-6.38 (1H, d, J = 1.5 Hz, α CH), 6.80-6.83 (2H, br. s, 5-H y 6-H), 6.93 (1H, s, 3-H), 7.29-7.34 (1H, d, J = 7.2 Hz, 4-H_{Bn}), 7.34-7.40 (2H, "t", J = 7.2 Hz, 3-H_{Bn} y 5-H_{Bn}), 7.34-7.40 (2H, d, J = 7.2 Hz, 2-H_{Bn} y 6-H_{Bn}); CG-EM (EI) ($t_R = 19.84$ min), m/z (%): 254 (10, M⁺⁺), 163 (50), 91 (100).

3.1.2. O-Acilación del eugenol e isoeugenol



Figura 18. Derivados O-acilados obtenidos en condiciones de básicas.

Metodología General

Se mezclaron en un balón de 100 mL de dos bocas el (iso)eugenol y la trietilamina, en dilución de tolueno anhidro y con agitación constante. Después de 10 min, se adicionó el cloruro de acilo a través de un goteo continuo, empleando un embudo de adición con regulación de presión. La adición de los reactivos se realizó a -5 °C con posterior ascenso de temperatura hasta 25 °C. Posterior a 2 h de reacción (según lo indicado por CCF), se neutralizó la reacción y se extrajo con AcOEt (2x30 mL). La fase orgánica se drenó sobre NaSO₄ anhidro y fue concentrada al vacío. Por último, se llevó a cabo la purificación por CC, empleando como soporte gel de sílice y como fase móvil mezclas pertinentes de éter de petróleo:acetato de etilo (80:1) con aumento gradual de polaridad.



Acetato de eugenilo (ϑ).

Se adicionaron 1.0 g (6.09 mmol) de eugenol junto con 2.55 mL (18.4 mmol) de Et_3N en dilución de PhMe anhidro, en agitación constante. Seguido se adicionaron 1.3 mL (18.4 mmol) de cloruro de acilo en goteo continuo y la reacción transcurrió en 2 horas. Después de la purificación se obtuvo un líquido transparente de

olor característico. Rto, 95 %; IR (KBr): 1765 ($v_{C=0}$), 1603 ($v_{C=C}$) cm⁻¹; ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 2.31 (3H, s, CH₃), 3.38 (2H, d, J = 6.7 Hz, γ CH₂), 3.82 (3H, s, OCH₃), 5.08-5.16 (2H, m, α CH), 5.91-6.03 (1H, m, β CH), 6.79 (2H, m, 5-H y 3-H), 6.96 (1H, d, J = 8.0 Hz, 6-H); ¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 169.0, 150.7, 138.8, 137.9, 122.5, 120.6, 116.0, 114.2, 112.7, 55.7, 39.9, 20.5; CG-EM (EI) ($t_R = 11.18$ min), m/z (%): 206 (5, M⁺⁺), 164 (100), 149 (40).



*p*Nitrobenzoato de eugenilo (*9*). Se adicionaron 1.0 g (6.09 mmol) de eugenol junto con 2.55 mL (18.4 mmol) de Et_3N en dilución de PhMe anhidro, en agitación constante. Seguido se adicionaron 3.4 g (18.4 mmol) de cloruro de *p* nitrobenzoilo en goteo continuo y la reacción transcurrió en 2 horas. Después de la purificación se obtuvo un sólido amarillo. Pf. 79 °C; Rto. 95 %; IR (KBr):

1743 (v_{C=O}), 1604 (v_{C=C}), 1528, 1346 (v_{NO2}) cm⁻¹; ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 6.68 (2H, d, J = 6.7 Hz, γ CH₂), 3.81 (3H, s, OCH₃), 5.13 (2H, m, α CH₂), 5.97 (1H, m, β CH), 6.83 (1H, d, J = 8.0 Hz, 5-H), 6.86 (1H, s, 3-H), 7.08 (1H, d, J = 8.0 Hz, 6-H), 8.32-8-40 (4H, m, todos los H_{Bz}); ¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 162.9, 150.8, 150.7, 139.8, 139.6, 139.4, 137.7, 136.9, 134.9, 131.3, 123.6, 122.3, 120.7, 116.2, 112.8, 55.8, 40.1; CG-EM (EI) ($t_R = 24.89$ min), m/z, (%): 313 (10, M⁺⁺), 150 (100), 104 (10).



Acetato de isoeugenilo (<u>10</u>). Se adicionaron 2.0 g (12.18 mmol) de isoeugenol junto con 5.1 mL (36.54 mmol) de Et₃N en dilución de PhMe anhidro, en agitación constante. Seguido se adicionaron 2.87 g (36.54 mmol) de cloruro de acilo en goteo continuo y la reacción transcurrió en 2 horas. Después de la purificación se obtuvo un sólido blanco brillante de olor característico: Acetato de

isoeugenilo (<u>10</u>). Rto. 90 %; IR (KBr): 1765 (vc=0), 1600 (vc=c) cm⁻¹; ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 1.87-1.89 (3H, dd, J = 6.6, 1.3 Hz, CH₃), 2.31 (3H, s, COCH₃), 3.84 (3H, s, OCH₃), 6.48-6.24 (1H, m, 6CH), 6.35-6.40 (1H, dd, J = 15.8, 1.3 Hz, α CH), 6.88-6.91 (1H, dd, J = 7.7, 1.6 Hz, 5-H), 6.9 (1H, d, J = 1.4 Hz, 3-H), 6.96 (1H, d, J = 8.11 Hz, 6-H); CG-EM (EI) ($t_R = 11.18$ min), m/z (%): 206 (5, M⁺⁺), 164 (100), 149 (40).



p-Nitrobenzoato de isoeugenilo (<u>11</u>). Se adicionaron 2.0 g (12.18 mmol) de isoeugenol junto con 5.1 mL (36.8 mmol) de Et₃N en dilución de PhMe anhidro, en agitación constante. Seguido se adicionaron 6.8 g (36.8 mmol) de cloruro de *p*-nitrobenzoilo en goteo continuo y la reacción transcurrió en 2 horas. Después de la purificación se obtuvo un sólido amarillo: *p*-nitrobenzoato de isoeugenilo

(<u>11</u>). Pf. 79 °C; Rto. 98 %; IR (KBr): 1743 (vc=0), 1604 (vc=c), 1528, 1346 (vN02) cm⁻¹; ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 3.30 (3H, d, J = 6.4 Hz, CH₃), 3.80 (3H, s, OCH₃), 4.51 (1H, m, α CH₂), 5.47 (1H, m, β CH), 6.13 (1H, d, J = 8.0 Hz, 5-H), 6.29 (1H, s, 3-H), 7.00 (1H, d, J = 8.0 Hz, 6-H), 8.21-8.29 (4H, m, todos los H_{Bz}); ¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 162.8, 150.7, 139.5, 137.6, 136.2, 133.1, 130.3, 123.6, 123.3, 121.6, 121.0 117.3, 112.0, 53.7, 41.1; CG-EM (EI) ($t_R = 24.89$ min), m/z (%): 313 (10, M⁺⁺), 150 (100), 104 (10).

3.2. HIDROXIMETILACIÓN DEL EUGENOL E ISOEUGENOL BAJO CONDICIONES DE CATÁLISIS BÁSICA

3.2.1. Síntesis del hidroximetil eugenol y 1,3-dioxano-isoeugenol



Figura 19. Montaje para la hidroximetilación.

Metodología general¹⁰⁶

En un balón de 100 mL de dos bocas, se mezclaron el (iso) eugenol y la solución acuosa de NaOH al 8 % en agitación vigorosa y durante cinco minutos. Posteriormente se adicionó el formaldehído por medio de un goteo continuo y se ajustó la temperatura a 50 °C. La reacción se mantuvo en calentamiento durante 15 h, según lo indicado por CCF. Se neutralizó con AcOH al 20 % y se extrajo con CH₂Cl₂. La fase orgánica se drenó sobre Na₂SO₄ y fue concentrada al vacío. La purificación se realizó empleando cromatografía en columna con mezclas pertinentes de éter de petróleo:acetato de etilo con aumento gradual de polaridad (10:1).



Hidroximetil eugenol (12).

Se adicionaron 2.0 g (12.2 mmol) de eugenol junto con una solución al 8 % con 0.98 g (24.4 mmol) de NaOH en 13.0 mL de H_2O . Posteriormente se adicionaron 2 mL de la mezcla $CH_2O/MeOH$ (28 %) en agitación y se ajustó la temperatura a 50 °C. Posterior a 5 h de reacción, según lo indicado por CCF, se

trató el crudo y después de la purificación se obtuvieron 1.08 g de aceite amarillo. Rto. 54 %; IR (película delgada): 3436 (VHO), 1150 (VCO) cm⁻¹; ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 2.7 (1H, s, OH), 3.31 (2H, d, J = 6.7 Hz, γ CH₂), 3.86 (3H, s, OCH₃), 4.70 (2H, s, CH₂), 5.06 (2H, m, aCH), 5.93 (2H, m, 8CH), 6.17 (1H, s, OH), 6.65 (1H, br. s, 3-H), 6.66 (1H, br. s, 5-H);); ¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 146.5, 142.0, 137.6, 131.5, 126.2, 120.6, 115.5, 110.7, 61.7, 56.0, 39.8; CG-EM (EI) ($t_R = 13.72$ min), m/z (%): 194 (40, M⁺⁻), 176 (100), 147 (50).

OCH₃ OH OCH₃ OCH

2-Metoxi-4-(5-metil-1,3-dioxan-4-il)fenol (13).

Se mezclaron 1.0 g (6.09 mmol) de eugenol junto con con una solución al 8 % con 0.98 g (24.4 mmol) de NaOH en 13.0 mL de H₂O. Posteriormente se adicionaron 2 mL de la mezcla CH₂O/MeOH (28 %) en agitación y se ajustó la temperatura a 50 °C. Posterior a 5 h de reacción, según lo indicado por CCF, se

trató el crudo y después de la purificación se obtuvieron 0.88 g de Aceite transparente. Rto. 57 %; IR (película delgada): 3435 (v_{OH}), 1150 (v_{CO}) cm⁻¹; ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 0.59 (3H, d, J= 6.7 Hz, CH₃), 2.02-2.16 (1H, m, 6CH), 3.38 (2H, 't', J= 11.2 Hz 3'-H), 3.89 (3H, s, OMe), 4.04 (1H, d, J= 9.9 Hz, aCH), 4.09-4.13 (1H, dd, J=11.5, 4.5 Hz, 3'-H), 4.82 (1H, d, J= 6.3 Hz, 2'-H), 5.19 (1H, d, J= 6.3 Hz, 2'-H), 6.80 (1H, dd, J= 8.1, 1.6 Hz, 5-H), 6.89 (1H, d, J= 8.1 Hz, 6-H), 6.90 (1H, d, J= 1.6 Hz, 3-H); ¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 146.7, 145.6, 131.5, 120.7, 114.3, 113.8, 109.3, 94.1, 86.0, 72.97, 55.9, 36.4; CG-EM (EI) (t_R = 14.13 min), m/z, (%): 224 (10, M⁺⁺), 152 (100), 137 (5).

3.3. REDUCCIÓN DEL EUGENOL BAJO PARÁMETROS DE QUÍMICA VERDE

3.3.1. Síntesis del dihidroeugenol



Figura 20. Montaje para la reducción del eugenol.



Dihidroeugenol (14).

Se vertieron 2.0 g (12.2 mmol) de eugenol en un balón de dos bocas en solución de MeOH anhidro (10 mL) con agitación. Posteriormente se adicionaron 0.12 g de Pd/C junto con la solución a temperatura ambiente. Se estableció la purga de hidrógeno y se

cerró el sistema. Se mantuvo la agitación durante la noche, se filtró el catalizador y el filtrado se concentró a presión reducida, obteniendo un aceite transparente, después de CC con una mezcla éter de petróleo: acetato de etilo (100:1), se obtuvo un aceite transparente. Rto, 90 %; IR (película delgada): 3445 (VCOH) cm⁻¹; ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 0.94-0.99 (3H, t, J = 7.3 Hz, CH₃), 1.58-1.59 (2H, sextet, β CH₂), 2.51-2.59 (2H, 't', J = 7.9 Hz, α CH₂), 3.89 (3H, s, OCH₃), 5.54 (1H, s, OH), 6.70 (1H, d, J = 7.5 Hz, 5-H), 6.71 (1H, s, 3-H), 6.86 (1H, d, J = 7.9 Hz, 6-H); CG-EM (IE) ($t_R = 8.34$ min), m/z (%): 166 (20, M⁺⁺), 137 (100), 122 (10). Este procedimiento fue realizado de

igual forma empleando como medio el PEG 400. La extracción se realizó con CH_2Cl_2 (2x30 mL). La fase orgánica se drenó sobre Na_2SO_4 y fue concentrada al vacío. La purificación se realizó empleando cromatografía en columna con mezclas pertinentes de éter de petróleo/acetato de etilo con aumento gradual de polaridad (100:1). El dihidroeugenol fue obtenido con un rendimiento del 93 %.

3.4. OBTENCIÓN DE CATALIZADORES SOPORTADOS

3.4.1. Obtención de ácido clorosulfónico soportado en sílice



Figura 21. Montaje para la obtención del SiO₂-OSO₃H.

Metodología

Se adicionaron 10 g de SiO₂ en un balón de 100 mL, se adaptó un embudo de adición con regulación de presión, al cual se ajustó una salida salida en la parte superior, conduciendo los gases hacia una trampa de agua. A través del embudo de adición se vertieron 2.2 mL de ácido ClSO₃H, en un periodo de tiempo de 20 min. Bajo agitación vigorosa, produciendo una cantidad apreciable de vapores de HCl. Se obtuvieron 13.6 g de sólido de color blanco (pH aproximado de 2 unidades). Esta metodología fue empleada inicialmente por Zolfigol⁹⁹. Su caracterización se llevó a cabo por espectroscopía infrarroja y se comparó con el reportado anteriormente en la literatura.⁹⁹ IR (KBr): 3425 (VCOH), 1652 (SiOSi), 1196 (S(=O)2), 1103 (S(=O)2), 717 (SO) cm⁻¹. 3.4.2. Obtención de ácido perclórico soportado en sílice



Figura 22. Montaje para la obtención del HClO₄-SiO₂.

Metodología

En un balón de 100 mL se mezclaron 19.0 g de SiO_2 con 30 mL de éter etílico. La dispersión se mantuvo en agitación durante 10 min. Posteriormente se adicionó una solución acuosa al 70 % (p/p) de ácido HClO₄. La mezcla se mantuvo en agitación durante la noche. Por último se evaporó el solvente y se secó durante 24 h a 110 °C. Se obtuvo un sólido de color blanco, el catalizador fue analizado por IR. IR (KBr): 3336 (VCOH), 1651 (SiOSi), 1905 (Cl=O), 1103 (S(=O)2), 785 (SO) cm⁻¹, datos reportados anteriormente.⁹⁸

3.4.3. Obtención de dieterato trifluoruro de boro soportado en sílice



Figura 23. Montaje para la obtención del SiO₂-BF_{3.}

Metodología

Se emplearon 1.5 g de SiO₂, mezclados con 10 mL de metanol anhidro en agitación vigorosa, posteriormente se adicionaron 2 mL de BF₃·OEt₂ en dilución de MeOH. La reacción se mantuvo en agitación y a temperatura ambiente durante una hora. Se obtuvo un sólido blanco húmedo, el cual fue puesto en un desecador durante un día. El sólido fue usado sin posterior purificación y activación. IR (KBr): 3271 (VCOH), 1651 (SiOSi), 1108 (BF3), 749 (SO) cm⁻¹, datos reportados anteriormente.¹⁰⁷

3.4.4. Obtención de alúmina impregnada con KOH al 10 % p/p



Figura 24. Montaje para la obtención de 10 % KOH/Al₂O₃.

Metodología

Se mezclaron 5 g de Al₂O₃ con 15 mL de H₂O posteriormente se adicionaron 0.5 g de KOH en dilución acuosa. Se agitó vigorosamente durante 30 min. La dispersión se dispuso en una estufa a 110 °C durante la noche sin posterior activación a temperaturas elevadas, obteniendo 5.6 g de sólido blanco, aparentemente, de mayor área superficial.

3.5. SÍNTESIS DEL _Y-DIISOEUGENOL, _Y-DIISOHOMOGENOL Y _Y-METANETOL BAJO CONCEPTOS DE QUÍMICA VERDE

3.5.1. Síntesis de dímeros de fenilpropanos, empleando novedosos medios de reacción



Figura 25. Montaje para la cicloadición del diisoeugenol, diisohomogenol y metanetol.

Metodología general

Previo a la adición del reactivo de partida, se llevó a cabo una succión en el reactor mediante una bomba de vacío durante 10 min, posteriormente se estableció la atmósfera inerte en el sistema mediante una purga de N_2 . Se agregó 1.00 g (6.10

mmol) de *trans*-isoeugenol en dilución con 10 mL de MeCN anhidro y luego se adicionaron 0.86 g (6.10 mmol) de $BF_3 \cdot OEt_2$ en dilución (10 mL de MeCN). Se estableció una temperatura de 60 °C en el medio de reacción con agitación constante. El monitoreo de la reacción se realizó por medio de CCF y la purificación se realizó por medio de CC empleando gel de sílice como soporte y como eluentes mezclas pertinentes de éter de petróleo: acetato de etilo, con aumento gradual de la polaridad. La reacción se llevó a cabo empleando un novedoso solvente en reacciones de cicloadición como el PEG 400. De igual forma también se emplearon diferentes catalizadores heterogéneos, logrando optimizar las condiciones de reacción en hacia la aplicación de los principios de la química verde.



1-Etil-3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-6-metoxi-2-metilindan-5-ol (diisoeugenol) (<u>15</u>).

Partiendo de 1.00 g de *trans*-isoeugenol (6.09 mmol) y 0.86 g de BF₃ OEt_2 (0.61 mmol), en 20 mL de MeCN anhidro, después de 10 horas y media, se obtuvieron 0.78 g (2.39 mmol) de una mezcla racémica, *cis*-trans-diisoeugenol; sólido blanco; Pf. 184-186 °C; Rto. 78 %; IR (KBr): 3487 (VOH), 2962 (VCH), 1265 (VCOC), cm⁻¹; ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 0.97

 $(3H, t, J = 7.3 Hz, CH_3), 1.03 (3H, d, J = 6.9 Hz, 2 \cdot CH_3), 1.31 \cdot 1.44 (1H, m, CH_2), 1.65 \cdot 1.05 \cdot 1$ 1.75 (1H, m, CH₂), 2.40-2.51 (1H, m, 2-H), 2.85-2.95 (1H, m, 1-H), 3.73 (1H, d, J = 9.5 Hz, 3-H) 3.80 (3H, s, OCH_{3Ar}), 3.89 (3H, s, 6-OCH₃), 5.51 (1H, s, OH_{Ar}), 5.56 (1H, s, 5-OH), 6.48 (1H, s, 7-H), 6.82 (1H, br. s, 2-H_{Ar}), 6.65 (1H, d, J = 8.0, 6-H_{Ar}), 6.77 (1H, br. s, 4·H), 6.62 (1H, d, J = 8.0, 5·H_{Ar}); ¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃, δ (ppm): 146.4, 145.1, 144.5, 144.1, 139.1, 138.7, 135.8, 121.5, 113.9, 110.9, 110.6, 107.5, 56.7, 56.1, 55.9, 49.2, 48.5, 22.4, 13.8, 12.2; δ H/ δ H (COSY): 0.97/1.31-1.44 [Me/CH₂], 0.97/1.65-1.75 $|Me/CH_2|$, 1.03/2.40-2.51 |2-Me/2-H|, 1.31-1.44/1.65-1.75 $|CH_2/CH_2|$, 1.31-1.44/2.85-2.95 [CH₂/1-H], 1.65-1.75/2.85-2.95 [CH₂/1-H], 2.40-2.51/3.73 [2-H/3-H], 3.73/6.48 [3-H/4·H], 3.80/6.62 [OCH_{3Ar}/2·H_{Ar}], 3.89/6.77 [6·OCH₃/7·H], δ H/ δ C (HMQC): 0.96/12.2 [Me/C_{Me}], 1.03/13.8 [2-Me/C_{2-Me}], 1.31-1.44/22.4 [CH₂/C_{CH2}], 1.65-1.75/22.4 [CH₂/C_{CH2}], 2.40-2.51/49.2 [2-H/2-C], 2.85-2.95/48.5 [1-H/1-C], 3.73/56.7 [3-H/3-C], 3.80/55.9 [-OCH_{3Ar}/-OCH_{3Ar}], 3.89/56.1 [6-OCH₃/6-OCH₃], 6.48/110.9 [4-H/4-C], 6.65/110.6 [2-H_{Ar}/2⁻C_{Ar}], 6.65/121.5 [6⁻H_{Ar}/6⁻C_{Ar}], 6.77/107.5 [7⁻H/7⁻C], 6.83/113.9 [5⁻H_{Ar}/5⁻C_{Ar}]. *∂*C/*∂*C (HMBC): 0.97/22.4/48.5 [Me/C_{CH2}/1-C], 1.03/48.5/49.2/56.7 [2-Me/1-C/2-C/3-C], 1.31 - 1.44/12.2/48.5/135.8 [CH₂/C_{Me}/1-C/7a-C], 1.65 - 1.75/12.2/48.5/138.7 [CH₂/C_{Me}/1-C/7a-C]. $2.40 \cdot 2.51/13.8/22.4/48.5/56.7/138.7$ [2-H/C_{2-Me}/C_{CH2}/1-C/3-C/7a-C], 2.85-2.95/12.2/22.4/49.2/56.7/107.5/138.7 [1-H/C_{Me}/C_{CH2}/2-C/3-C/7-C/7a-C], 3.73/13.8/49.2/110.6/121.5/135.8/139.1 [3-H/C_{2-Me}/2-C/2-C_{Ar}/6-C_{Ar}/3a-C/1-C_{Ar}], 3.80/146.7 $[-OCH_{3Ar}/3-C_{Ar}],$ 3.89/146.4/144.5 $[6 - OCH_3/3 - C/4 - C_{Ar}],$ 5.51/110.9 $[-OH_{Ar}/4-C],$ 5.56/114.0/144.5 [5-OH/5-C_{Ar}/4-C_{Ar}], 6.48/56.7/107.5/121.5/138.7/145.1 [4-H/3-C/7-C/6-C_{Ar}/7a-C/6-C], 6.62/56.7/121.5/135.8/145.1 [2-H_{Ar}/3-C/6-C_{Ar}/3a-C/6-C], 6.65/56.7/110.6 $[2-H_{Ar}/3-C/2-C_{Ar}], 6.77/48.5/138.7 [7-H/1-C/7a-C/], 6.82/121.5/146.4 [5-H_{Ar}/6-C_{Ar}/3-C].$ CG-EM (EI) ($t_R = 26.19 \text{ min}$), m/z (%): 328 (60, M⁺⁺), 299 (100), 204 (40), 175 (25), 137 (10).



1-Etil-3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-6-metoxi-2-metilindan-5-ol (diisohomogenol) (<u>16</u>).

Partiendo de 0.5 g de metilisoeugenol (2.81 mmol) y 0.50 g de SiO₂-OSO₃H en dispersión de MeCN, después de 6 horas y media, se obtuvieron 0.32 g (0.88 mmol) de y-diisohomogenol. Sólido blanco; Pf. 104-105 °C; Rto. 63 %; IR (KBr): 2962 (VCH), 1150 (VCOC), cm⁻¹; ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 0.97 (3H, t, J = 7.3 Hz, -CH₃), 1.04 (3H, d, J = 7.0 Hz, 2-CH₃), 1.33-

1.46 (1H, m, CH₂), 1.65-1.78 (1H, m, CH₂), 2.40-2.51 (1H, m, 2-H), 2.89-2.98 (1H, m, 1-H), 3.73 (3H, s, OCH₃) 3.76-3.83 (4H, d, m, 3-H y OCH₃), 3.88 (3H, s, OCH₃), 3.90 (3H, s, OCH₃), 6.43 (1H, s, 7-H), 6.64 (1H, br. s, 4-H), 6.71 (1H, d, J = 8.2, 6-H_{Ar}), 6.82 (2H, br. s, 3-H_{Ar} y 5-H_{Ar}); ¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃, δ (ppm): 148.9, 148.1, 147.7, 147.6, 139.4, 138.1, 136.7, 120.8, 111.4, 110.9, 108.2, 108.1, 56.9, 56.1, 55.9, 55.8, 49.5, 48.5, 22.4, 13.8, 12.2; δ H/ δ H (COSY): 0.97/1.33-1.46 [Me/CH₂], 0.97/1.65-1.78 [Me/CH₂], 1.04/2.40-2.51 [2-Me/2-H], 1.33-1.46/1.65-1.78 [CH₂/CH₂], 1.33-1.46/2.89-2.98 [CH₂/1-H], 2.40-2.51/3.76-3.83 [2-H/3-H], 2.89-2.98/1.65-1.78 [1-H/CH₂], 3.73/6.64 [3-H/4-H], 3.90/6.81 [OCH_{3Ar}/3-H_{Ar}], 3.73/6.43 [6-OCH₃/7-H]; CG-EM (EI) (t_R = 24.71 min), m/z (%): 356 (60, M⁺⁺), 327 (100), 204 (40), 189 (70).



3-Etil-5-metoxi-1-(4-metoxifenil)-2-metil-2,3-dihidro-*1H*indano (17).

Partiendo de 0.5 g de anetol (3.38 mmol) y 0.50 g de SiO₂-OSO₃H en dispersión de MeCN, después de 6 horas y media, se obtuvieron 0.32 g (0.88 mmol) de un sólido blanco; Pf. > 300 °C; Rto. 58 %; IR (KBr): 2962 (VCH), 1265 (VCOC), cm⁻¹; CG-EM (EI) (t_R = 22.16 min), m/z (%): 296 (60, M⁺⁺), 267 (100), 238 (5), 159 (40), 121 (20).

3.6. SÍNTESIS DE 1,2,3,4-TETRAHIDROQUINOLINAS, AZA-ANÁLOGOS DE NEOLIGNANOS PRESENTES EN LA Myristica fragrans Y LA Machilus thumbergii

3.6.1. Síntesis de aza-análogos de neolignanos



Figura 26. Montaje empleado en la cicloadición [4+2] entre aldiminas y trans-isoeugenol.

Metodología general

Se realizó succión en el sistema de reacción durante 5 min. y cuidadosamente se estableció el flujo de N₂, estableciendo la atmósfera inerte. Posteriormente se adicionaron 0.29 g (2.75 mmol) de benzaldehído junto con 0.3 g (2.5 mmol) de 3,4-metilendioxianilina en dilución de MeCN anhidro. Seguido se adicionaron 0.06 mL (10 % mol) de BF₃·OEt₂. Después de 10 min. 0.5 g (3.05 mmol) de isoeugenol en dilución de MeCN se introdujeron y se ajustó la temperatura a 60 °C y agitación vigorosa. La masa de reacción se llevó a pH básico con solución saturada de Na₂CO₃ y la extracción se realizó con AcOEt (2x30 mL). La fase orgánica se drenó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró al vacío. La purificación se llevó a cabo por cromatografía en columna empleando como soporte gel de sílice y como fase móvil mezclas pertinentes de éter de petróleo:acetato de etilo (2:1) con aumento gradual de polaridad.



2-fenil-4-(4-hidroxi-3-metoxi)-3-metil-6,7-metilendioxi-1,2,3,4tetrahidroquinolina (*18*).

Se adicionaron 0.25 g (2.41 mmol) de benzaldehído junto con 0.30 g (2.18 mmol) de 3,4-metilendioxianilina en dilución de MeCN anhidro. Seguido se adicionaron 0.03 mL (10 % mol) de BF₃·OEt₂. Después de 10 min., se adicionaron 0.43 g (2.63 mmol) de isoeugenol en dilución de MeCN y se ajustó la temperatura a 60 °C y agitación vigorosa. Después de 10 h de

reacción (según CCF), se extrajo y posterior la purificación se obtuvo un sólido beige: Pf. 220-221 °C; Rto. 40 %; IR (KBr): 3394 (VNH), 3394 (VC(OH)) cm⁻¹; ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆), δ (ppm): 0.55 (3H, d, J = 6.4 Hz, CH₃), 2.05 (1H, m, 3-H), 3.58 (1H, d, J = 10.6 Hz, 4-H), 3.72 (3H, s, OCH₃), 4.43 (1H, d, J = 9.5 Hz, 2-H), 5.56 (1H, br. s, NH), 5.70 (2H, d, J = 7.7 Hz, CH₂), 5.89 (1H, s, 5-H), 6.51 (1H, d, J = 7.8 Hz, 6-H_{Gu}), 6.69 (1H, s, 2-H_{Gu}), 6.73 (1H, d, J = 7.5 Hz, 3-H_{Gu}), 6.83 (2H, m, 2-H_{Ar} y 6-H_{Ar}), 7.34 (1H, d, J = 7.5 Hz, 4-H_{Ar}), 7.35 (2H, 't', J = 7.5 Hz, 3-H_{Ar} y 5-H_{Ar}), 8.70 (1H, s, 8-H), 9.10 (1H, s, OH_{Gu}); CG-EM (EI) ($t_R = 37.21$ min), m/z (%): 389 (20, M⁺⁺), 260 (100).



2-(2-hidroxifenil)-4-(4-hidroxi-3-metoxi)-3-metil-6,7-metilendioxi-1,2,3,4-tetrahidroquinolina (<u>19</u>).

Partiendo de 0.29 g (2.41 mmol) de σ hidroxibenzaldehído y 0.30 g (2.18 mmol) de 3,4-metilendioxianilina en dilución de MeCN anhidro, se genera la arilimina *in situ*. Seguido se adicionaron 0.03 mL (10 % mol) de BF₃·OEt₂. Después de 10 min., se vertieron 0.43 g (2.63 mmol) de isoeugenol en dilución de MeCN y se ajustó la temperatura a 60 °C y agitación vigorosa. Después de 8 h de reacción (según CCF), se extrajo y

posterior la purificación se obtuvo un sólido beige: Pf. 238-239 °C; Rto. 55 %; IR (KBr): 3445 (VC(0H)), 3259 (VNH), 2909 (VCH) cm⁻¹; ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆), δ (ppm): 0.50 (3H, d, J = 6.4 Hz, -CH₃), 2.07 (1H, m, 3-H), 3.58 (1H, d, J = 10.7 Hz, 4-H), 3.72 (3H, s, -OCH₃), 4.45 (1H, d, J = 9.7 Hz, 2-H), 5.56 (1H, br. s, -NH), 5.74 (2H, d, J = 7.7 Hz, -CH₂), 5.89 (1H, s, 5-H), 6.29 (1H, s, OH_{Ar}), 6.57 (1H, d, J = 7.8 Hz, 6-H_{Gu}), 6.69 (1H, s, 2-H_{Gu}), 6.73 (1H, d, J = 7.8 Hz, 5-H_{Gu}), 6.80-6.86 (2H, m, 4-H_{Ar} y 6-H_{Ar}), 7.05-7.12 (1H, 't', J = 7.24 Hz, 5-H_{Ar}), 7.39 (1H, d, J = 7.35 Hz, 3-H_{Ar}), 8.78 (1H, s, 8-H), 9.40 (1H, s, OH_{Gu}); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-d₆, Me₄Si), δ (ppm) 148.9, 148.4, 148.1, 147.6, 131.1, 130.5, 129.4, 125.2, 123.6, 123.4, 121.2, 118.5, 118.2, 112.1, 111.1, 110.9, 110.8, 108.4, 77.2, 55.8, 55.7, 55.6, 18.2, 14.5. CG-EM (EI) ($t_R = 44.06$ min), m/z (%): 405 (90, M⁺⁺), 268 (100), 240 (40).



2-(4-hidroxifenil)-4-(4-hidroxi-3-metoxi)-3-metil-6,7-metilendioxi-1,2,3,4-tetrahidroquinolina (<u>20</u>).

Se mezclaron 0.29 g (2.41 mmol) de benzaldehído junto con 0.30 g (2.18 mmol) de 3,4-metilendioxianilina en dilución de MeCN anhidro durante 20 min. Seguido se adicionaron 0.03 mL (10 % mol) de BF₃·OEt₂. Después de 10 min., se adicionaron 0.43 g (3.63 mmol) de isoeugenol en dilución de MeCN y se ajustó la temperatura a 60 °C y agitación

vigorosa. Después de 8 h de reacción (según CCF), se extrajo y se purificó, obteniendo

un sólido blanco: Pf. 244-245 °C; Rto. 47 %; IR (KBr): 3451 (VC(OH)), 3387 (VNH), 2955 (VCH) cm⁻¹; ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆), δ (ppm): 0.42 (3H, d, J = 6.4 Hz, -CH₃), 1.91-2.02 (1H, m, 3-H), 3.53 (1H, d, J = 10.7 Hz, 4-H), 3.71 (3H, s, OCH₃), 3.85 (1H, d, J = 9.8 Hz, 2-H), 5.55 (1H, br. s, NH), 5.74 (2H, d, J = 7.7 Hz, CH₂), 5.85 (1H, s, 5-H), 6.26 (1H, s, OH_{Ar}), 6.57 (1H, d, J = 7.95 Hz, 6-H_{Gu}), 6.67 (1H, s, 2-H_{Gu}), 6.72 (1H, d, J = 8.0 Hz, 5-H_{Gu}), 6.73-6.77 (2H, d, J = 8.4 Hz, 2-H_{Ar} y 6-H_{Ar}), 7.18-7.24 (2H, d, J = 8.3 Hz, 3-H_{Ar} y 5-H_{Ar}), 8.78 (1H, s, 8-H), 9.32 (1H, s, OH_{Gu}); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-d₆, Me₄Si), δ (ppm) 148.1, 147.6, 147.1, 131.0, 127.4, 129.1, 124.7, 123.1, 124.1, 120.2, 118.0, 113.1, 111.4, 111.1, 109.8, 109.0, 108.6, 78.0, 55.6, 55.4, 40.3, 30.2, 17.8, 14.5.



2-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-4-(4-hidroxi-3-metoxi)-3-metil-6,7-metilendioxi-1,2,3,4-tetrahidroquinolina (<u>21</u>).

Después de establecer la atmósfera inerte, se mezclaron 0.37 g (2.75 mmol) de vainillina fueron mezclados junto con 0.30 g (2.18 mmol) de 3,4-metilendioxianilina en MeCN anhidro. Seguido se adicionaron 0.03 mL (10 % mol) de BF₃·OEt₂. Después de 10 min., se adicionaron 0.43 g (3.63 mmol) de isoeugenol en dilución de MeCN y se ajustó la temperatura a 60 °C y agitación vigorosa. Después de 6 h de

reacción (según CCF), se extrajo y posterior a la purificación se obtuvo un sólido beige: Pf. 258-260 °C; Rto. 45 %; IR (KBr): 3445 ($v_{C(OH)}$), 3259 (v_{NH}), 2909 (v_{CH}) cm⁻¹; ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆), δ (ppm): 0.42 (3H, d, J = 5.2 Hz, CH₃), 1.97 (1H, m, 3-H), 3.53 (1H, d, J = 10.2 Hz, 4-H), 3.68 (3H, s, OCH₃), 3.71 (3H, s, OCH₃), 3.85 (1H, d, J = 9.4 Hz, 2-H), 5.54 (1H, br. s, NH), 5.74 (2H, d, J = 7.7 Hz, CH₂), 5.84 (1H, s, 5-H), 6.26 (1H, s, OH_{Ar}), 6.57 (1H, d, J = 8.0 Hz, 6-H_{Gu}), 6.67 (1H, s, 2-H_{Gu}), 6.74 (1H, d, J = 8.0 Hz, 5-H_{Gu}), 6.80-6.86 (2H, m, 2-H_{Ar} y 6-H_{Ar}), 7.05-7.12 (1H, 't', J = 7.2 Hz, 5-H_{Ar}), 8.77 (1H, s, OH_{Gu}), 9.32 (1H, s, 8H); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-d₆), δ (ppm) 146.3, 137.2, 135.1, 134.5, 130.5, 127.6, 125.5, 123.2, 122.9, 118.4, 111.1, 106.1, 105.0, 104.5, 98.3, 98.3, 89.3, 85.0, 52.0, 45.3, 41.0, 30.6, 29.8, 13.7, 6.0.



2-(3-hidroxi-4-metoxifenil)-4-(4-hidroxi-3-metoxi)-3-metil6,7metilendioxi-1,2,3,4-tetrahidroquinolina (22).

Después de establecer la atmósfera inerte, 0.37 g (2.75 mmol) de vainillina fueron mezclados junto con 0.30 g (2.18 mmol) de 3,4-metilendioxianilina en MeCN anhidro. Seguido se adicionaron 0.03 mL (10 % mol) de BF₃·OEt₂. Después de 10 min., se adicionaron 0.43 g (3.63 mmol) de isoeugenol en dilución de MeCN y se ajustó la temperatura a 60 °C y

agitación vigorosa. Después de 9 h de reacción (según CCF), se extrajo y posterior a la purificación se obtuvo un sólido beige: Pf. 205-206 °C; Rto. 50 %; IR (KBr): 3451 (VCOH), 3260 (VNH), 2955 (VCH) cm⁻¹; ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆), δ (ppm): 0.48 (3H, d, J = 6.4 Hz, CH₃), 2.03 (1H, m, 3-H), 3.56 (1H, d, J = 10.7 Hz, 4-H), 3.71 (3H, s, OCH₃), 3.79 (3H, s, OCH₃), 4.47 (1H, d, J = 9.7 Hz, 2-H), 5.51 (1H, br. s, NH), 5.74 (2H, d, J = 7.7 Hz, CH₂), 5.89 (1H, s, 5-H), 6.27 (1H, s, OH_{Ar}), 6.57 (1H, d, J = 7.7 Hz, 6-H_{Gu}), 6.68 (1H, s, 2-H_{Gu}), 6.71 (1H, d, J = 8.0 Hz, 5-H_{Gu}), 6.79 (1H, d, 't' J = 7.7 Hz, 6-H_{Ar}), 6.86 (1H, d, J = 7.7 Hz, 5-H_{Ar}), 6.99 (1H, br. s, 2-H_{Ar}), 8.62 (1H, s, 8-H), 8.77 (1H, s, OH_{Gu}); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-d₆), δ (ppm) 147.4, 147.2, 145.4, 144.8, 144.5, 140.7, 138.1,

135.7, 121.3, 119.8, 118.7, 116.8, 116.8, 116.7, 115.3, 112.7, 112.7, 110.17, 108.6, 99.6, 95.6, 55.7, 55.6, 51.4, 15.7.



2-(3,5-dimetoxifenil)-4-(4-hidroxi-3-metoxi)-3-metil-6,7metilendioxi-1,2,3,4-tetrahidroquinolina (*23*).

Se adicionaron 0.40 g (2.41 mmol) de benzaldehído junto con 0.30 g (2.19 mmol) de 3,4-metilendioxianilina en dilución de MeCN anhidro. Seguido se adicionaron 0.03 mL (10 % mol) de BF₃·OEt₂. Después de 10 min., se adicionaron 0.43 g (3.63 mmol) de isoeugenol en dilución de MeCN y se ajustó la temperatura a 60 °C y agitación vigorosa. Después de 9 h de reacción (según CCF), se extrajo; posterior a la

purificación se obtuvo un sólido blanco: Pf. 212-213 °C; Rto. 58 %; IR (KBr): 3259 (VNH), 2909 (VCH) 3445 (VC(OH)) cm⁻¹; ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆), δ (ppm): 0.44 (3H, d, J = 6.4 Hz, -CH₃), 2.01 (1H, m, 3-H), 3.58 (1H, d, J = 10.8 Hz, 4-H), 3.72 (3H, s, -OCH₃), 3.74 (3H, s, -OCH₃), 3.77 (3H, s, OCH₃), 3.91 (1H, d, J = 9.7 Hz, 2-H), 5.60 (1H, br. s, -NH), 5.73 (2H, d, J = 9.2 Hz, CH₂), 5.86 (1H, s, 5-H), 6.27 (1H, s, 4-H_{Ar}), 6.58 (1H, d, J = 7.8 Hz, 6-H_{Gu}), 6.69 (1H, s, 2-H_{Gu}), 6.72 (1H, d, J = 8.0 Hz, 5-H_{Gu}), 6.92 (2H, s, 2-H_{Ar} y 6-H_{Ar}), 7.02 (1H, s, 8-H), 8.78 (1H, s, -OH); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-d₆), δ (ppm) 148.7, 148.3, 147.5, 145.4, 144.8, 140.6, 137.9, 135.6, 135.4, 121.7, 120.1, 116.4, 115.2, 111.4, 108.5, 99.6, 95.6, 62.6, 59.6, 55.6, 55.4, 51.3, 40.7, 20.6, 16.2, 13.9.



2-(3,4,5-trimetoxifenil)-4-(4-hidroxi-3-metoxi)-3-metil-6,7-metilendioxi-1,2,3,4-tetrahidroquinolina (<u>24</u>).

Al mezclar 0.47 g (2.41 mmol) de 3,4,5trimetoxibenzaldehído junto con 0.30 g (2.18 mmol) de 3,4metilendioxianilina en MeCN anhidro durante 20 min, se adicionaron 0.03 mL (10 % mol) de BF₃·OEt₂. Después de 10 min., se gotearon 0.43 g (3.63 mmol) de isoeugenol en dilución de MeCN y se ajustó la temperatura a 60 °C y agitación vigorosa. Después de 8 h de reacción (según CCF),

se extrajo y purificó, obteniendo un sólido blanco: Pf. 209-210 °C; Rto. 64 %; IR (KBr): 3450 (VC(0H)), 3379 (VNH), 2955 (VCH) cm⁻¹; ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆), δ (ppm): 0.47 (3H, d, J = 6.4 Hz, ⁻CH₃), 2.04 (1H, m, 3-H), 3.54 (1H, d, J = 10.7 Hz, 4-H), 3.64 (3H, s, ⁻OCH₃), 3.72 (3H, s, OCH₃), 3.79 (6H, s, 2(OCH₃)), 3.92 (1H, d, J = 9.7 Hz, 2-H), 5.66 (1H, br. s, ⁻NH),5.74 (2H, d, J = 9.1 Hz, CH₂) 5.86 (1H, s, 5-H), 6.27 (1H, s, 8-H), 6.59 (1H, d, J = 8.0 Hz, 6-H_{Gu}), 6.69 (1H, s, 2-H_{Gu}), 6.70-6.77 (3H, m, 5-H_{Gu}, 2-H_{Ar} y 6-H_{Ar}), 8.78 (1H, s, OH_{Gu}); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-d₆), δ (ppm) 152.6, 147.4, 145.4, 144.8, 140.5, 138.6, 137.9, 136.7, 135.5, 121.4, 116.4, 115.2, 112.8, 108.7, 104.9, 99.6, 95.4, 66.0, 63.1, 59.8, 55.8, 55.6, 51.3, 40.7, 40.5, 40.0, 16.3.



2-(2-carboxifenil)-4-(4-hidroxi-3-metoxi)-3-metil-6,7-metilendioxi-1,2,3,4-tetrahidroquinolina (*25*).

Se mezclaron 0.36 g (2.41 mmol) de ácido ftaldehídico junto con 0.30 g (2.18 mmol) de 3,4-metilendioxianilina en dilución de MeCN anhidro durante 20 min. Seguido se adicionaron 0.03 mL (10 % mol) de BF₃·OEt₂. Después de 10 min., se adicionaron 0.43 g (3.63 mmol) de isoeugenol en dilución de MeCN, a 60 °C y agitación vigorosa. Después de 6 h de reacción (según CCF),

se extrajo y sé purificó, obteniendo un sólido blanco: Pf. 264-265 °C; Rto. 70 %; IR (KBr): 3450 (VC(OH)), 3300 (VNH), 2945 (VCH) cm⁻¹; ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆), δ (ppm): 1.15 (3H, d, J = 6.0 Hz, CH₃), 1.84 (1H, m, 3-H), 3.76 (1H, d, J = 10.9 Hz, 4-H), 3.67 (3H, s, OCH₃), 4.72 (1H, d, J = 10.6 Hz, 2-H), 5.96 (2H, s, CH₂), 6.17 (1H, s, OH), 6.59 (1H, d, J = 7.7 Hz, 6-H_{Gu}), 6.65 (1H, s, 2-H_{Gu}), 6.72 (1H, d, J = 7.7 Hz, 5-H_{Gu}), 7.56 (1H, '', J = 7.2 Hz, 4-H_{Ar}), 7.67 (1H, '', J = 7.3 Hz, 5-H_{Ar}), 7.74 (1H, J = 7.2 Hz, 6-H_{Ar}), 7.50 (1H, J = 7.2 Hz, 3-H_{Ar}), 7.84 (1H, br. s, NH), 7.92 (1H, s, 5-H), 8.89 (1H, s, 8H); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-d₆), δ (ppm) 164.5, 147.7, 145.2, 145.1, 143.3, 143.1, 134.2, 132.1, 131.6, 129.2, 128.5, 124.5, 124.3, 123.3, 121.8, 115.2, 112.5, 109.4, 108.7, 100.9, 100.4, 63.2, 55.5, 51.4, 15.6.

3.7. HIDRODESTLACIÓN DE FRUTOS SECOS DE CLAVO (Eugenia caryophyllus)



3.7.1. Obtención de aceite esencial de frutos florales secos de clavo

Figura 27. Montaje convencional de hidrodestilación.

Metodología¹⁰⁸

El aceite esencial fue obtenido por medio de hidrodestilación (HD) asistida por calentamiento convencional. La extracción se llevó a cabo en un sistema de destilación tipo Clevenger con reservorio o trampa Dean Stark (Fig. 27). Se pesaron 236.08 g de material vegetal (brotes florales de clavo adquirido en el mercado local), en un balón de 500 mL. Posteriormente se adicionaron 250 mL de agua destilada y se inicio el calentamiento. La hidrodestilación se llevó a cabo por calentamiento convencional durante 8 h. Después de obtenido el aceite se conservó en un recipiente ámbar sobre Na₂SO₄ anhidro, a baja temperatura, 10 °C.

Análisis de la composición química del AE de clavo

Posteriormente se llevó a cabo el análisis cualitativo del AE, empleando un cromatógrafo de gases *Agilent Technologies* 6890 plus, acoplado a un detector selectivo de masas *Agilent Technologies* MSD 5963, equipado con un puerto de inyección *split/splitless* (10:1), un inyector automático *Agilent* 7863, un sistema de datos ChemStation G17001DA, incluyendo las bases de datos NBS 75K, WILEY 138K y NIST 2002. Se usó una columna de 5 % fenil-polimetoxilsiloxano como fase estacionaria DB-5MS de 30 m x 0.25 mm y 0.25 µm de espesor. El gas de arrastre fue Helio (99.9995 %, Aga Fano, S. A.), con una velocidad lineal de 35 cm/s. La temperatura del horno fue programada según el método de AEsplit de 45 °C (5 min), @ 4 °C/min hasta 150 °C (2 min), @ 5 °C/min, hasta 250 °C (5 min), @ 10 °C/min, hasta 275 °C (5 min) para un tiempo total de corrida de 17 min. Las temperaturas de la cámara de ionización y la línea de transferencia se mantuvieron a 230 y 285 °C, respectivamente. El volumen de inyección fue de 2 µ y la relación de *split* 1:30 y la presión de entrada a la columna fue de 15 *psi*. El rango de m/z 40-350, con analizador cuadrupolar operado en el modo barrido completo, *full scan*.

Para la identificación de los componentes aislados por HD, se emplearon como criterios de identificación lo índices de Kovats teóricos teniendo en cuenta los tiempos de retención de una serie homóloga de patrones de hidrocarburos lineales desde C_{10} - C_{25} empleado la columna DB-5.

3.8. TRANSFORMACIONES QUÍMICAS DEL ACEITE ESENCIAL DE CLAVO

3.8.1. Isomerización del eugenol y el aceite esencial de clavo bajo condiciones básicas de reacción



Figura 28. Montaje empleado en isomerización del eugenol.

Metodología general

Se obtuvo una solución de eugenol en etilenglicol y se mantuvo en agitación. Posteriormente se adicionó una solución de KOH preparada previamente en etilenglicol. Se mantuvo en agitación vigorosa y fue puesta a 150 °C. La reacción se mantuvo a esas condiciones durante 4 h según lo indicado en la literatura¹⁰³ y se neutralizó empleando una solución concentrada de HCl. Posteriormente se extrajo con CH_2Cl_2 (2x30 mL) y la fase orgánica fue drenada sobre Na_2SO_4 anhidro. Sin posterior purificación la mezcla de reacción fue analizada por CG-EM. Esta fue empleada en una etapa posterior de la investigación.



Cis/trans-isoeugenol (26).

En un balón de 100 mL, se prepararon 30 mL de una solución de KOH 4 M en etilenglicol. Posteriormente se adicionaron 2 g (12.19 mmol) de eugenol comercial y se mantuvo en agitación a 150 °C durante 4 h. Posterior al tratamiento de la reacción, se extrajo,

obteniendo 1,68 g de crudo. Un aceite amarillo, analizado por: CG-EM (EI) (t_R = 7.86 min), m/z: 164 (100, M⁺⁺), 149 (40),131 (30); (t_R = 8.69 min), m/z: 164 (100, M⁺⁺), 149 (40),131 (30); (t_R = 9.49 min), m/z: 164 (100, M⁺⁺), 149 (40),131 (30). Bajo las mismas condiciones de reacción, el aceite obtenido en el ítem anterior, fue empleado en la isomerización, obteniendo un aceite marrón, analizado de igual forma por: CG-EM (EI) (t_R = 8.76 min), m/z: 164 (100, M⁺⁺), 149 (40),131 (30); (t_R = 8.76 min), m/z: 164 (100, M⁺⁺), 149 (40),131 (30); (t_R = 10.38 min), m/z: 164 (100, M⁺⁺), 149 (40),131 (30). Esta reacción también fue realizada empleando 10 % KOH/Al₂O₃, tanto para el eugenol comercial como para el aceite.

3.8.2. Metilación del aceite esencial isomerizado



Figura 29. Montaje empleado en la metilación del AE de clavo



Metileugenol (5).

Se adicionó 0.8 g de aceite isomerizado que contenía, 0.32 g (1.95 mmol) de *cis/trans*-isoeugenol junto con una solución de NaOH al 15 % en acetona. Por último se adicionaron 0.55 g (3.90 mmol) de MeI en dilución de acetona a través de un goteo continuo.

Después de la agitación a temperatura ambiente durante 12 h, se extrajo y se obtuvieron 0.77 g de un aceite oscuro, Rto. 96 %; IR (película delgada): 2981-2831 (VCHn), 1146 (VCO) cm⁻¹; CG-EM (EI) ($t_R = 10.27$ min), m/z: 178 (100, M⁺⁺), 163 (40), 107 (45), 91 (40).

3.8.3. Dimerización del AE clavo con alto contenido de isoeugenol y metilisoeugenol



Figura 30. Montaje empleado en la dimerización del AE de clavo.



y-Diisoeugenol (15).

Se adicionó 0.50 g de aceite isomerizado que contenía de isoeugenol 0.2 g (1.95 mmol), en dilución de MeCN. Por último se adicionaron 0.50 g de catalizador SiO₂-OSO₃H en dispersión de MeCN. Después de la agitación a temperatura ambiente durante 12 h, se extrajo y se obtuvieron 0.11 g de ydiisoeugenol, *trans-trans-*diisoeugenol; sólido blanco; Pf. 184-186 °C; Rto. 45 %; IR (KBr): 3487 (VOH), 2962 (VCH), 1265 (VCOC),

cm⁻¹; ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 0.97 (3H, t, J= 7.3 Hz, CH₃), 1.03 (3H, d, J= 6.9 Hz, 2-CH₃), 1.31-1.44 (1H, m, CH₂), 1.65-1.75 (1H, m, CH₂), 2.40-2.51 (1H, m, 2-H), 2.85-2.95 (1H, m, 1-H), 3.73 (1H, d, J= 9.5 Hz, 3-H) 3.80 (3H, s, OCH_{3Ar}), 3.89 (3H, s, 6-OCH₃), 5.51 (1H, s, OH_{Ar}), 5.56 (1H, s, 5-OH), 6.48 (1H, s, 7-H), 6.62 (1H, br. s, 2-H_{Ar}), 6.65 (1H, br. d, J= 8.0, 6-H_{Ar}), 6.77 (1H, br. s, 4-H), 6.86 (1H, d, J= 8.0, 5-H_{Ar}); ¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 146.4, 145.1, 144.5, 144.1, 139.1, 138.7, 135.8, 121.5, 114.0, 111.0, 110.6, 107.5, 56.7, 56.1, 55.9, 49.2, 48.5, 22.4, 13.8, 12.2; CG-EM (EI) (t_R = 26.35 min), m/z: 328 (60, M⁺⁺), 299 (100), 204 (40), 175 (25), 137 (10).



y-Diisohomogenol (<u>17)</u>.

Se adicionó 0.5 g de aceite metilado que contenía 0.24 g (1.35 mmol) de metileugenol junto con una dispersión de SiO₂-OSO₃H en MeCN. Después de filtrar, extraer y purificar, se obtuvieron 0.096 g de un sólido blanco; Pf. 104-105 °C; Rto. 40 %; IR (KBr): 2962 (VCH), 1150 (VCOC), cm⁻¹; ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃), δ (ppm): ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 0.97 (3H, t, J = 7.3 Hz, -CH₃), 1.04 (3H, d, J = 7.0 Hz, 2-CH₃), 1.33-

1.46 (1H, m, -CH₂), 1.65-1.78 (1H, m, -CH₂), 2.40-2.51 (1H, m, 2-H), 2.89-2.98 (1H, m, 1-H), 3.73 (3H, s, OCH₃) 3.76-3.83 (4H, d, m, 3-H y OCH₃), 3.88 (3H, s, OCH₃), 3.90 (3H, s, OCH₃), 6.43 (1H, s, 7-H), 6.64 (1H, br. s, 4-H), 6.71 (1H, br. d, J = 8.2, 6-H_{Ar}), 6.82 (1H, br. s, 2-H_{Ar} y 5-H_{Ar}); ¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃, δ (ppm): 148.9, 148.1, 147.7, 147.6, 139.4, 138.1, 136.7, 120.8, 111.4, 110.9, 108.2, 108.1, 56.9, 56.1, 55.9, 55.8, 49.5, 48.5, 22.4, 31.5, 13.8, 12.2; CG-EM (EI) ($t_R = 25.33$ min), m/z: 356 (80, M⁺⁻), 327 (40), 189 (30).

3.8.4. Síntesis de aza-análogos de neolignanos derivados del AE de clavo

			R ₂ R ₁ N OH	CCH ₃	
Comp.	\mathbf{R}_1	\mathbf{R}_2	\mathbf{R}_3	\mathbf{R}_4	\mathbf{R}_{5}
<u>27</u>	Н	Н	Н	Н	Н
<u>28</u>	Н	Н	NO_2	NO_2	Н
<u>29</u>	NO_2	Н	Н	NO_2	Н
<u>18</u>	-O-CH ₂ -O-		Н	Н	Н
<u>19</u>	-O-CH ₂ -O-		Н	OH	Η
<u>20</u>	-O-CH ₂ -O-		Н	Н	OH

Figura 31. Montaje empleado en la cicloadición [4+2] entre aldiminas y AE de clavo isomerizado.

Metodología general

Se realizó succión en el sistema de reacción durante 5 min. y cuidadosamente se estableció el flujo de N₂, estableciendo la atmósfera inerte. Posteriormente se adicionaron el benzaldehído junto con la anilina en dilución de MeCN anhidro. Seguido se adicionó el catalizador, (10 % mol) BF₃·OEt₂. Después de 10 minutos, se adicionó el aceite isomerizado con isoeugenol en mayor porcentaje, en dilución de MeCN y se ajustó la temperatura a 60 °C y agitación vigorosa. La masa de reacción se llevó a pH básico con solución saturada de Na₂CO₃ y la extracción se realizó con AcOEt (2x30 mL). La fase orgánica se drenó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró al vacío. La purificación se llevó a cabo por cromatografía en columna empleando como soporte gel de sílice y como fase móvil mezclas pertinentes de éter de petróleo:acetato de etilo (2:1) con aumento gradual de polaridad.



4-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-3-metil-2-fenil-1,2,3,4-tetrahidroquinolina (<u>27</u>).

Se mezclaron 0.17 g (1.65 mmol) de benzaldehído con 0.14 g (1.51 mmol) de anilina en dilución de MeCN anhidro. Seguido se adicionaron 0.02 mL (10 % mol) de BF₃·OEt₂. Después de 10 min., se agregó 0.50 g de aceite el cual contenía 0.29 g (1.77 mmol) de isoeugenol en dilución de MeCN y se ajustó la temperatura a 60 °C y agitación vigorosa. Después de 10 h de

reacción (según CCF), se extrajo y posterior la purificación se obtuvo un sólido blanco: Pf. 173-174 °C; Rto, 40 %; IR (KBr): 3462 (VNH), 2962 (VCH) 1153 (VC(OH)) cm⁻¹; ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 0.56 (3H, d, J = 6.5 Hz, 3-CH₃), 2.17 (1H, m, 3-H), 3.70 (1H, d, J = 10.9 Hz, 4-H), 3.80 (3H, s, OCH₃), 4.06 (1H, br. s, NH), 4.14 (1H, d, J = 9.9 Hz, 2-H), 5.55 (1H, br. s, OH), 6.49 (1H, d, J = 7.9 Hz, 5-H), 6.54 (1H, d, J = 7.2 Hz, 7-H), 6.59 (1H, d, J = 7.3 Hz, 8-H), 6.97 (1H, 't', J = 7.2 Hz, 6-H), 6.67 (1H, d, J = 1.2 Hz, 2-H'Ar), 6.73 (1H, dd, J = 8.0, 1.6 Hz, 6-H'Ar), 6.86 (1H, d, J = 8.0, 1.6 Hz, 5-H'Ar) 7.30 (1H, d, J = 7.1 Hz, 4-HAr), 7.35 (2H, 't', J = 7.0 Hz, 3-HAr y 5-HAr), 7.42 (2H, d, J = 7.2 Hz, 2-HAr y 6-HAr); ¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 158.4, 146.8, 145.0, 144.2, 142.8, 136.2, 130.0, 128.6, 127.2, 127.0, 125.7, 122.8, 117.7, 114.0, 113.4, 111.2, 64.0, 56.0, 52.3, 41.6, 16.6; CG-EM (EI) ($t_R = 33.444$ min), m/z: 345 (63, M⁺⁺), 316 (25), 254 (29), 206 (100).



8-Nitro-4-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-3-metil-2-(2-nitrofenil)-1,2,3,4-tetrahidroquinolina (28).

Se mezclaron 0.17 g (1.65 mmol) de σ nitrobenzaldehído con 0.14 g (1.51 mmol) de σ nitroanilina en dilución de MeCN anhidro. Seguido se adicionaron 0.02 mL (10 % mol) de BF₃·OEt₂. Después de 10 min., se adicionaron 0.50 g de aceite con 0.29 g (1.77 mmol) de isoeugenol en dilución de MeCN y se ajustó la temperatura a 60 °C y agitación vigorosa. Después de

10 h de reacción (según CCF), se extrajo y posterior la purificación se obtuvo un sólido amarillo; Pf. 187-192 °C; Rto, 48 %; IR (dilución en CH₂Cl₂, película delgada): 3525 (VOH), 3363 (VNH), 2966 (VCH), 1612 (VNO2), 1520 (VNO2), 1254 (VCOC) cm⁻¹; ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 0.65 (3H, d, J = 6.5 Hz, 3-CH₃), 2.22-2.34 (1H, m, 3-H), 3.77 (1H, d, J = 10.9 Hz, 4-H), 3.85 (3H, s, OCH₃), 5.51, (1H, d, J = 9.7 Hz, 2-H), 5.64 (1H, br. s, OH), 6.51 (1H, 't', J = 7.7 Hz, 6-H), 6.61 (1H, br. s, 2-H'_{Ar}), 6.66 (1H, dd, J = 7.5, 1.0 Hz, 6-H'_{Ar}), 6.84 (1H, d, J = 7.5 Hz, 5-H'_{Ar}), 6.88 (1H, d, J = 8.0 Hz, 6-H_{Ar}), 7.49 (1H, 't', J = 7.6 Hz, 4-H_{Ar}), 7.65 (1H, 't', 7.4 Hz, 5-H_{Ar}), 7.65, (1H, d J = 7.7 Hz, 5-H), 7.82 (1H, d, J = 8.1, 7-H), 8.02 (1H, d, J = 8.5 Hz, 3-H_{Ar}), 8.40, (1H, s, NH); ¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 150.5, 146.8, 144.6, 142.6, 136.4, 133.7, 133.3, 131.3, 129.1, 128.8, 124.9, 124.1, 122.1, 115.3, 114.5, 110.8, 80.6, 60.3, 56.1, 55.9, 51.4, 39.5, 16.1.


5-nitro-4-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-3-metil-2-(2-nitrofenil)-1,2,3,4-tetrahidroquinolina (29).

Se mezclaron 0.17 g (1.65 mmol) de σ nitrobenzaldehído con 0.14 g (1.51 mmol) de pnitroanilina en dilución de MeCN anhidro. Seguido se adicionaron 0.02 mL (10 % mol) de BF₃·OEt₂. Después de 10 min., se adicionaron 0.50 g de aceite con 0.29 g (1.77 mmol) de isoeugenol en dilución de MeCN y se ajustó la temperatura a 60 °C y agitación vigorosa. Después de

10 h de reacción (según CCF), se extrajo y posterior la purificación se obtuvo un sólido blanco: Pf. 99-101 °C; Rto. 40 %; IR (KBr): 3462 (VNH), 2962 (VCH) 1153 (VC(OH)) cm⁻¹; ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 0.69 (3H, d, J = 6.6 Hz, 3·CH₃), 2.15 (1H, m, 3·H), 3.61 (3H, s, OCH₃), 3.72 (1H, d, J = 7.5 Hz, 4·H), 4.06 (1H, br. s, NH), 4.10 (1H, d, J = 8.4 Hz, 2·H), 4.49 (1H, d, J = 1.8 Hz, 5·H), 6.21 (1H, d, J = 8.1 Hz, 7·H), 6.45 (1H, br. s, OH), 6.49 (1H, d, J = 8.1 Hz, 8·H), 6.89 (2H, m, 2·H_{Gu} y 6·H_{Gu}), 6.99 (1H, d, J = 8.2 Hz, 5·H_{Gu}), 7.17 (1H, 't', J = 8.0 Hz, 4·H_{Ar}), 7.48 (1H, 't', J = 7.7 Hz, 6·H_{Ar}), 7.62 (1H, 't', J = 7.7 Hz, 5·H_{Ar}), 7.71 (1H, J = 7.9 Hz, 3·H_{Ar}); ¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 151.8, 149.7, 147.5, 146.6, 144.6, 135.2, 133.3, 129.3, 128.4, 127.2, 123.4, 121.2, 118.2, 115.9, 114.7, 113.3, 112.2, 109.4, 55.5, 54.6, 46.2, 42.2, 16.6; CG-EM (EI) ($t_R = 33.444$ min), m/z (%): 345 (63, M⁺⁺), 316 (25), 254 (29), 206 (100).



2-fenil-4-(4-hidroxi-3-metoxi)-3-metil-6,7-metilendioxi-1,2,3,4-tetrahidroquinolina $(\underline{18})$.

Se mezclaron 0.17 g (1.65 mmol) de benzaldehído con 0.14 g (1.02 mmol) de 3,4-metilendioxianilina en dilución de MeCN anhidro. Seguido se adicionaron 0.02 mL (10 % mol) de BF_3 ·OEt₂. Después de 10 min., se adicionaron 0.50 g de aceite con 0.29 g (1.77 mmol) de isoeugenol en dilución de MeCN y se ajustó la temperatura a 60 °C y agitación vigorosa. Después de

10 h de reacción (según CCF), se extrajo y posterior a la purificación se obtuvo un sólido blanco: Pf. 220-221 °C; Rto, 45 %; IR (KBr): 3394 ($v_{C(OH)}$) cm⁻¹; ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆), δ (ppm): 0.55 (3H, d, J = 6.4 Hz, CH₃), 2.05 (1H, m, 3-H), 3.58 (1H, d, J = 10.6 Hz, 4-H), 3.72 (3H, s, OCH₃), 4.43 (1H, d, J = 9.5 Hz, 2-H), 5.56 (1H, br. s, NH), 5.70 (2H, d, J = 7.7 Hz, CH₂), 5.89 (1H, s, 5-H), 6.51 (1H, d, J = 7.8 Hz, 6-H_{Gu}), 6.69 (1H, s, 2-H_{Gu}), 6.73 (1H, d, J = 7.8 Hz, 5-H_{Gu}), 6.83 (2H, m, 2-H_{Ar} y 6-H_{Ar}), 7.34 (1H, d, J = 7.5 Hz, 4-H_{Ar}), 7.35 (1H, 't', J = 7.5 Hz, 3-H_{Ar} y 5-H_{Ar}), 8.70 (1H, s, 8-H), 9.10 (H, s, OH_{Gu}); CG-EM (EI) ($t_R = 37.21$ min), m/z (%): 389 (20, M⁺⁺), 260 (100).



2-(2-hidroxifenil)-4-(4-hidroxi-3-metoxi)-3-metil-6,7-metilendioxi-1,2,3,4-tetrahidroquinolina ($\underline{19}$).

Partiendo de 0.17 g (2.41 mmol) de σ -hidroxibenzaldehído y 0.14 g (1.18 mmol) de 3,4-metilendioxianilina en dilución de MeCN anhidro, se genera la arilimina *in situ*. Se adicionaron 0.02 mL (10 % mol) de BF₃·OEt₂. Después de 10 min., se adicionaron 0.50 g de aceite con 0.29 g (1.77 mmol) de isoeugenol en dilución de MeCN y se ajustó la temperatura a 60 °C y agitación vigorosa. Después de 8 h de reacción (según

CCF), se extrajo y posterior la purificación se obtuvo un sólido beige: Pf. 238-239 °C; Rto, 49 %; IR (KBr): 3445 (VC(0H)), 3259 (VNH), 2909 (VCH) cm⁻¹; ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d6), δ (ppm): 0.50 (3H, d, J = 6.4 Hz, -CH₃), 2.07 (1H, m, 3-H), 3.39 (2H, s, -CH₂), 3.58 (1H, d, J = 10.7 Hz, 4-H), 3.72 (3H, s, -OCH₃), 4.45 (1H, d, J = 9.7 Hz, 2-H), 5.56 (1H, br. s, -NH), 5.89 (1H, s, -OH_{Gu}), 6.29 (1H, s, -OH_{Ar}), 6.57 (1H, d, J = 7.8 Hz, 6-H_{Gu}), 6.69 (1H, s, 2-H_{Gu}), 6.73 (1H, d, J = 7.8 Hz, 5-H_{Gu}), 6.80-6.86 (2H, m, 4-H_{Ar} y 6-H_{Ar}), 7.05-7.12 (1H, 't', J = 7.24 Hz, 5-H_{Ar}), 7.39 (1H, d, J = 7.35 Hz, 3-H_{Ar}), 8.78 (1H, s, 5-H), 9.40 (1H, s, 8H); CG-EM (EI) ($t_R = 44.06$ min), m/z: 405 (90, M⁺⁺), 268 (100), 240 (40).



2-(4-hidroxifenil)-4-(4-hidroxi-3-metoxi)-3-metil-6,7-metilendioxi-1,2,3,4-tetrahidroquinolina (<u>20</u>).

Partiendo de 0.17 g (2.41 mmol) de *p*-hidroxibenzaldehído y 0.14 g (1.18 mmol) de 3,4-metilendioxianilina en dilución de MeCN anhidro. Se adicionaron 0.02 mL (10 % mol) de BF₃·OEt₂. Después de 10 min., se adicionaron 0.50 g de aceite con 0.29 g (1.77 mmol) de isoeugenol en dilución de MeCN y se ajustó la temperatura a 60 °C y agitación

vigorosa. Después de 8 h de reacción (según CCF), se extrajo y posterior la purificación se obtuvo un sólido beige: Pf. 244-245 °C; Rto, 47 %; IR (KBr): 3451 (VC(OH)), 3387 (VNH), 2955 (VCH) cm⁻¹; ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆), δ (ppm): 0.42 (3H, d, J = 6.4 Hz, CH₃), 1.91-2.02 (1H, m, 3-H), 3.36 (2H, s, CH₂), 3.53 (1H, d, J = 10.7 Hz, 4-H), 3.71 (3H, s, OCH₃), 3.85 (1H, d, J = 9.8 Hz, 2-H), 5.55 (1H, br. s, NH), 5.85 (1H, s, OH_{Gu}), 6.26 (1H, s, OH_{Ar}), 6.57 (1H, d, J = 8.0 Hz, 6-H_{Gu}), 6.67 (1H, s, 2-H_{Gu}), 6.72 (1H, d, J = 8.0 Hz, 5-H_{Gu}), 6.73-6.77 (2H, d, J = 8.4 Hz, 2-H_{Ar} y 6-H_{Ar}), 7.18-7.24 (2H, d, J = 8.3 Hz, 3-H_{Ar} y 5-H_{Ar}), 8.78 (1H, s, 5-H), 9.32 (1H, s, 8H).

3.9. ESTUDIOS DE ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE GRUPOS SELECCIONADOS DEL PANEL DE MOLÉCULAS OBTENIDAS

3.9.1. Estudio de inhibición *in vitro* de la acetilcolinesterasa (AChE) como diana de interés en el tratamiento terapéutico contra el Alzheimer

Se colocaron 50 µL de una solución del compuesto a probar (en concentraciones seriadas desde 1×10^{-3} hasta 1×10^{-7} M), disuelto en buffer fosfato salino de pH 7.5 y 50 µl de la AChE (0.25 U/mL). La placa se incubó a temperatura ambiente por 30 min. y se adicionaron 100 µL de la solución sustrato de pH 7.5 [Na₂HPO₄ 0.04 M, ácido 2,2′-dinitro-5,5′-ditiobenzoico 0.2 mM, yoduro de acetiltiocolina 0.24 mM]. A los cinco minutos de iniciada la reacción se leyó la absorbancia, a 412 nm, en un lector de microplacas VERSAmax. Se usaron galantamina y fisostigmina como compuestos de referencia. Los ensayos se realizaron por triplicado. Los cálculos de las IC₅₀ y las gráficas se realizaron con el software SoftMax Pro 5.2 de Molecular Devices.

3.9.2. Evaluación de la actividad antioxidante (AO) de los derivados fenólicos del isoeugenol y el aceite esencial de frutos secos de clavo

Ensayo de decoloración del catión-radical ABTS+·

El estudio de la potencial actividad AO del AE de frutos secos de clavo y compuestos derivados del eugenol, como su componente principal, fue realizada empleando la el procedimiento descrito por Re y colaboradores.¹⁷ Esta metodología fue modificada en función de optimizar costos y tiempo. Para la preparación del catión-radical ABTS⁺⁺, se utilizaron 3.34 mg de peroxodisulfato de potasio (K₂S₂O₈), 19.60 mg de ABTS y la mezcla se aforó a 5 mL con agua grado HPLC. La solución se dejó reaccionar durante 16 h a bajas temperaturas (< 15 °C) y en ausencia de Luz.

Una alícuota de la solución de ABTS⁺⁻ se diluyó en EtOH absoluto hasta obtener un valor de absorbancia de 0.700 a 734 nm. Posteriormente se realizó la lectura del blanco. La lectura de la potencial capacidad para atrapar radicales libres del AE clavo, eugenol, isoeugenol, dihidroeugenol, hidroximetileugenol, 1,3-derivado-dioxano y y-diisoeugenol, fue realizada en placas de 96 pozos. Esto fue realizado en un lector de microplacas VersaMax 2000 (Fig. 32).



Figura 32. Lector UV-Vis VersaMax 2000.

Para las sustancias evaluadas se prepararon soluciones patrones de 1×10^{-3} M, las cuales se diluyeron hasta que, después de introducir alícuotas de 10 µL de estas soluciones a las nuevas soluciones de ABTS⁺⁺ (200 µL), se produjeran inhibiciones entre el 20 y 80% de la absorbancia del blanco. El porcentaje de inhibición medido a los 30 min se graficó como una función de la concentración evaluada. La respuesta-concentración se calculó con base en la ecuación 1. Todos los ensayos se realizaron por triplicado y para el cálculo del TAA (actividad antioxidante total) se utilizó la relación entre las concentraciones inhibitorias al 50 % (IC₅₀) de Trolox[®] y las sustancias evaluadas.

Inhibición de A_{734} (%) = (1- A_f / A_o) x 100

Ecuación 1. Cálculo de porcentaje de Inhibición.

Donde A_0 es la absorbancia del catión-radical sin inhibir y A_f es la absorbancia medida a los 6 min después de la adición del antioxidante. Todos los ensayos se realizaron por triplicado y se utilizaron Trolox[®] (como sustancia de referencia) y como sustancias "control", α -tocoferol (vitamina E), BHT y BHA. Para estas sustancias se determinó la actividad antioxidante total TAA (mmol de Trolox[®]/kg sustancia evaluada).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La obtención de moléculas derivadas de compuestos naturales permite aprovechar la labor realizada por las plantas en los procesos bioquímicos de sus células. El instinto de protección de estas especies las lleva a generar compuestos con estructuras interesantes para el hombre que pueden ser de gran utilidad. Es así como se retoma el proceso biogenético de las plantas y se realizan pequeñas modificaciones estructurales de dichos metabolitos secundarios. Esto lo logran los químicos orgánicos, empleando métodos en síntesis, en virtud de mejorar las características biológicas y reactividad química de la molécula.

De las herramientas empleadas en nuestro estudio para modificar moléculas naturales como el eugenol y el isoeugenol, se encuentran las reacciones de adición-eliminación, cicloadiciones, isomerización y reducciones de enlaces dobles. En principio, se realizaron sustituciones al oxígeno fenólico, motivados por los reportes de derivados Oalquilados y O-acilados del eugenol con acciones biológicas importantes.

4.1. SÍNTESIS FÁCIL DE O-DERIVADOS DEL EUGENOL E ISOEUGENOL

4.1.1. O-Alquilación del eugenol e isoeugenol

La metodología empleada para la construcción de sistemas O-sustituidos del eugenol, ya conocidos en la literatura, se basa en especies de reacciones que tienen el mismo patrón de un mecanismo de sustitución nucleofílica.¹⁰⁹ El compuesto fenólico que actúa en este caso como el nucleófilo (Nu) pertinente es generado por la adición de una base. En esta reacción se emplearon diferentes catalizadores básicos, comunes para este tipo de sustituciones (Esquema 26).



Esquema 26. Reacción global para la O-alquilación de eugenoles.

La formación de éteres es realizada empleando una base que pueda generar el enolato o fenolato; esta reacción es conocida como la reacción de Williamson.¹¹⁰ Para la reacción del eugenol e isoeugenol con diferentes agentes alquilantes como el bromuro de bencilo (BrBn), el cloruro de metalilo (ClMa) y el bromuro de prenilo (BrPre), se genera el eugenolato empleando bases como K₂CO₃ y NaH. De igual forma la presencia

del agente alquilante, con su centro electro-deficiente permite que la reactividad del Nu sea evidenciada por la captura de este carbono deficiente (Esquema 27).



Esquema 27. Mecanismo propuesto para la reacción de sustitución nucleofílica bimolecular $(S_N 2)$ en la obtención de éteres derivados del eugenol.

Esta reacción se lleva a cabo mediante una etapa concertada en la cual tanto el grupo saliente (GS), en este caso el haluro; y el Nu (el eugenolato) ven afectas sus estructuras. A su vez, se conoce que la velocidad de la reacción se ve afectada por los dos precursores, el GS y el Nu.

Por tanto, la velocidad de reacción se describe como v = k[GS][Nu]. Hablando del perfil energético, característico para estos mecanismos de reacción, se puede observar la presencia de un estado de transición previo a la formación de los productos (Fig. 33).



Figura 33. Perfil energético para una reacción que sigue el mecanismo SN2.

El proceso de sustitución se llevó a cabo en condiciones suaves y se obtuvieron excelentes resultados para la reacción entre los eugenoles y los agentes alquilantes. Se obtuvieron sólidos y aceites estables a las condiciones ambientales del laboratorio.

Tabla 2.	Propiedades físico-químicas	de los	derivados	O-alquilados de los eugenoles.	
			OR ₁		

ROMe									
			<u>1-7</u>						
Compuesto	R	R_1	Estado Físico	Pf. (°C)	<i>Rf.</i> *	Rto. (%)			
<u>1</u>	~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~	Me	Aceite transparente		0.51	90			
<u>2</u>	~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~	Ma	Aceite transparente		0.60	80			
<u>3</u>	~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~	Bn	Aceite transparente		0.47	87			
<u>4</u>	~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~	\Pr	Aceite amarillo		0.52	77			
<u>5</u>	~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~	Me	Aceite amarillo		0.54	96			
<u>6</u>	~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~	Ma	Aceite transparente		0.58	85			
<u>7</u>	~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~	Bn	Sólido blanco	99-101	0.50	92			

* El sistema de solventes fue éter de petróleo:acetato de etilo, 15:1

Según los resultados para las moléculas <u>1-7</u>, se observa los mejores resultados para los compuestos metilados. Una de las razones es la presencia de un mejor GS en el yoduro de alquilo (MeI). Es de conocer que los halógenos se comportan de forma tal que favorecen las reacciones S_N2 . A medida que aumenta el tamaño del haluro, mejor es su carácter del GS. Esto se evidencia en los mejores rendimientos para los eugenolatos de metilo y bencilo, grupos que provienen de alquilos de I y Br, respectivamente, a diferencia del cloruro de metalilo que genera un producto de 80 %.¹⁰⁸

Posterior a la síntesis de los éteres del eugenol e isoeugenol, se realizaron los análisis correspondientes a elucidar la estructura de cada uno de los compuestos. Inicialmente se llevó a cabo el análisis preliminar de los grupos funcionales presentes. Lo primero que se puede observar en el espectro de IR obtenido es la desaparición de la banda de absorción del OH, la cual se visualiza para los alcoholes a 3300-3400 cm⁻¹ (Fig. 34).



Figura 34. Espetro IR para el eugenolato de metilo.

En el espectro IR se logra observar las bandas de absorción características para los alquenos. Los modos vibracionales para la cadena propenílica del compuesto se encuentran entre 2900-3000 cm⁻¹. Longitudes de onda de mayor frecuencia presentan las bandas de absorción para los alquenos terminales. Ésta hace referencia a la configuración CH=CH₂ a 3078 cm⁻¹. Por otro lado, la vibración de tensión (Vib. T.) para los carbonos sp^2 se observa claramente en la región de 1600 cm⁻¹. Estas bandas características permiten tener un indicio preliminar en la obtención de los éteres. El análisis realizado para el metileugenol demuestra las bandas específicas para dicha molécula. Adicionalmente para todos los compuestos estudiados se obtuvieron las bandas características, las cuales se pueden observar en la siguiente tabla. Todos los éteres, tanto del eugenol como isoeugenol demostraron poseer el modo vibracional para los éteres (C-O).

	Bandas de absorción (cm ⁻¹)									
Comp.	Vib.T.	Vib.T.	Vib.T.	Vib.F.						
				00						
<u>1</u>	3078	2959	1589	1157						
<u>2</u>	3078	2939	1589	1157						
<u>3</u>	3078	2950	1587	1156						
<u>4</u>	3078	2931	1589	1157						
<u>5</u>	*	2979	1580	1150						
<u>6</u>	3078	2844	1592	1141						
<u>_7</u>	*	2947	1581	1150						

Tabla 3. Bandas de IR características para los éteres derivados de los eugenoles.

*No presentan esta característica estructural

Posteriormente se llevaron a cabo los siguientes ensayos de CG-EM. Los resultados obtenidos permitieron observar la pureza del compuesto y se obtuvo la relación m/z, correspondiente a la masa molar del compuesto. Inicialmente se obtuvo la corriente iónica total reconstruida de los compuestos. En el caso del metileugenol, con una relación m/z de 178, se obtuvo un pico a 8.77 min (Fig. 35).



Figura 35. Corriente iónica total (CIT) del metileugenol.

Cada uno de los éteres obtenidos mostraron tiempos de retención (t_R) relacionados con la polaridad de la fase estacionaria (apolar). De igual forma los compuestos presentan pesos molares relativamente bajos, relacionados con el rango de masas en el cual son analizados (50-450 m/z). Estos cromatogramas fueron reconstruidos por medio de espectros de masas tomados en el método *full scan*. En el ensayo específico para el metileugenol se obtuvo el respectivo fragmentograma (Fig. 36).



Figura 36. Espectro de masas para el metileugenol a 70 eV (IE).

Según el espectro de masas obtenido, se observa la relación m/z de mayor valor -178, la cual corresponde al ión molecular del metileugenol. Por otro lado, se identifica el primer fragmento, 163 m/z, correspondiente a la pérdida de 15 unidades m/z. Esta escisión puede dar a la obtención de un radical metilo (CH_3 •) y el catión radical 163 m/z.



Esquema 28. Posible ruta de fragmentación para el metileugenol.

Por el espectro se logra definir como ion pico de base (IPB) el ion molecular (M⁺). Algunas estructuras pueden ser propuestas para los fragmentos de mayor intensidad. La primera ruptura simple se encuentra definida por la pérdida del radical metilo, promoviendo la posible formación del fragmento catión Φ_1 , con un valor de 163 m/z y una estabilidad que representa el 40 % de la intensidad del IPB. De igual forma para este sistema, relativamente sencillo, se pueden definir potenciales rupturas según lo establecido para la fragmentación de los éteres. Escisiones consecutivas como la eliminación de dos radicales metilo y una molécula neutra de etino (26 m/z), obligan el reordenamiento de hidrógenos hacia la obtención de otra estructura propuesta como el catión cicloheptatrienilo (tropilio),¹¹¹ Φ_5 con 91 m/z. Esta especie presenta alta estabilidad, referida a un 40 % aproximadamente con relación al IPB.

Para los otros alquil-derivados se pueden observar detalles generales como rupturas simples, que dirigen a la pérdida del grupo introducido por medio sintético. Especies catiónicas y catión-radical, comunes para los metil, metalil, prenil y bencil derivados, son observadas. Tal es el caso de la formación de iones fragmento con valores de 163 y 164 m/z para la mayoría de éteres. Dichas escisiones se pueden observar claramente en los espectros de masas tanto del prenileugenol y del bencileugenol (Fig. 37).



Figura 37. Espectros de masas para el prenil, bencil-eugenol a 70 eV.

Estos dos espectros muestran la formación de dos iones diagnósticos para los éteres derivados del eugenol, el ion 163 y el 164 m/z. Las dos especies formadas durante la fragmentación, ruptura total del segmento alquilo, hacen referencia a la unidad precursora, el eugenol. El ion 163 m/z corresponde al eugenol y la ausencia de uno de sus protones, posiblemente el H fenólico. Las otras huellas que se pueden visualizar son los picos 107, 103, 91 m/z, entre otros (Tabla 4).

Comp.	P.M. (g/mol)	M+ (m/z)	t _R (min)	IPB (m/z)
<u>1</u>	178.23	178	8.77	178
<u>2</u>	218.29	218	11.71	163
<u>3</u>	254.32	254	19.57	91
<u>4</u>	232.32	232	13.18	164
<u>5</u>	178.23	178	10.12	178
<u>6</u>	218.29	218	13.82	163
<u>7</u>	254.32	254	19.84	163

Tabla 4. Caracteres en CG-EM para los éteres 1-7.

Continuando con la determinación de la estructura de cada uno de los éteres obtenidos, se llevó a cabo el análisis por resonancia magnética nuclear donde fue posible la asignación de cada uno de los protones, relacionados con la estructura esperada.

Todos los éteres presentaron señales características del fragmento perteneciente al eugenol e isoeugenol. Tanto la cadena propenílica como el segmento aromático de cada uno de los derivados fueron elucidados. En el caso del análisis por ¹H RMN, se presenta el espectro obtenido para el eugenol prenilado, identificando cada una de las señales del para este sistema (Fig. 38).



En el espectro se observa cada una de las señales con el respectivo protón al cual se le atribuye el registro. El grupo prenilo contiene básicamente algunos elementos determinantes en el análisis de su inclusión en el eugenol. Se logró identificar los dos CH₃ en la cadena alquílica debido a la aparición de dos señales a bajas frecuencias. Estas se presentan como singuletes, integrando cada una para dos protones a 3.71 y 3.75 ppm. De igual forma se denota la presencia de protones de la cadena alquenílica, para los carbonos α , β y γ , siendo C- α el carbono unido al anillo y C- γ el carbono terminal. El metileno $-\alpha$ CH₂ a 5.32 ppm, acopla con el metino $-\beta$ CH. Estos dos presentan un acoplamiento recíproco, generando una constante de acoplamiento, $J_{\alpha CH2,\beta CH} = 6.7$ Hz. Este acoplamiento espin-espin también es observado entre los protones $-\beta$ CH y $-\gamma$ CH₂. Este último aparece a 6.54 ppm y presenta una constante de acoplamiento, J = 6.7 Hz. Las interacciones magnéticas presentes en los grupos

anteriores, correlacionan cada uno de los protones tanto de la cadena unida al oxígeno como las de la unidad C₃.

Los protones del anillo aromático fueron de igual forma elucidados. Se muestran dos señales atribuidas a tres protones: 3-H, 5-H y 6-H. En este conjunto de señales, 5-H y 6-H se encuentran solapadas y se logra observar una J = 1.5 Hz, característica de una interacción meta. De igual forma el protón 3-H, que se encuentra desplazado a campo bajo, muestra un desdoblamiento asociado a la presencia de otro protón en posición orto (J = 7.7 Hz). Cada uno de estos ambientes químicos determinados por las interacciones spin-spin, definen la presencia de los fragmentos estructurales provenientes tanto del eugenol como de los éteres. Todas estas señales comunes fueron observadas en los éteres derivados (Tabla 5).

	Despiazamientos químicos (o, ppm/, multiplicidad y constante de									
		acopiamiento (J, HZ)								
Comp.	3 - H	5 - H	6-H	$-\alpha CH_2$	–βCH	$-\gamma CH_2$	OMe			
<u>1</u>	6.86, d, <i>J</i> =1.7	6.80- 6.83, dd, J= 1.7	6.80, d, <i>J</i> = 8.0	5.02-5.10, d, <i>J</i> = 6.9	6.03-6.15, m	2.10-2.16, d, J= 6.5	3.80, s			
<u>2</u>	6.73, br. s	6.70, d, <i>J</i> = 8.1	6.82, d, J = 8.1	3.34, d, <i>J</i> = 6.7	5.91-6.03, m	5.05-5.12, m	3.87, s			
<u>3</u>	6.75, d, <i>J</i> = 1.7	6.67, dd, J= 8.5, 1.8	6.82, d, <i>J</i> = 8.1	5.09, br. d	5.96, m	3.34, s	3.89, s			
<u>4</u>	6.68-6.74, m	6.68- 6.74, m	6.82, d, <i>J</i> =7.7	3.34, d, <i>J</i> = 6.7	5.50-5.57, m	5.04-5.13, m	3.86, s			
<u>5</u>	6.89, d, <i>J</i> = 1.7	6.82- 6.87, dd, <i>J</i> = 8.2, 1.8	6.78, d, $J = 8.2$	6.30-6.37, dd, <i>J</i> = 15.5, 1.5	6.05-6.15, m	1.6, dd, <i>J</i> = 1.5	3.83, s			
<u>6</u>	6.74, br. s	6.70, d, <i>J</i> = 8.0	6.82, d, <i>J</i> = 8.0	3.00, d, <i>J</i> = 6.8	5.90-6.00, m	5.05-5.12, m	3.87, s			
<u>7</u>	6.80-6.83 br. s	6.80- 6.83, br. s	6.93, br. s	6.31-6.38, dd, <i>J</i> = 1.5	6.07-6.17, m	1.86-1.90, dd, <i>J</i> =1.5	3.91, s			

Tabla 5. Registros espectrales ¹H RMN para los derivados <u>1-7</u>.

Con los datos obtenidos para cada uno de los compuestos, se relacionaron las propiedades espectrales y la estructura de la unidad C_6 - C_3 . De igual forma fueron identificados los grupos alquilo en el oxígeno fenólico. Posteriormente se realizó el análisis de los productos obtenidos en la acilación.

4.1.2. O-Acilación del eugenol e isoeugenol

El estudio realizado para la acilación de los eugenoles, reafirmó la capacidad que posee el eugenol para actuar como un Nu pertinente en el ataque a un carbono electrodeficiente. Esto se puede observar ahora en el ataque realizado sobre el carbono carbonílico de los haloácidos (Esquema 29).



Esquema 29. O-acilación y O-p-nitrobenzoilación del isoeugenol y eugenol.

La obtención de ésteres ha sido una de las metodologías más empleadas. Esta estrategia es empleada en algunas ocasiones para disminuir la reactividad de los sustratos e incluso para proteger grupos funcionales como OH, NH₂ y SH.¹¹² Las adiciones a carbonos que presentan dobles enlaces como el carbono carbonílico y el carbono imínico, son reacciones con extensos reportes con base a su mecanismo. Indicios claros de la cinética de reacción por la cual transcurre la esterificación de alcoholes con haluros de acilo han sido reportados. En este caso, el aumento de la concentración de un disolvente con mayor características nucleofílicas, aumenta la velocidad de la reacción.¹¹³ De igual forma cuando el estado de transición es muy estable, se genera un intermediario tetraedral, sobre el cual se fundamenta otro tipo de camino por el cual ocurre esta reacción.¹¹⁴ En principio, la vía de reacción por la cual ocurre la acilación del eugenol se podría plantear un mecanismo S_N2, al igual que para la síntesis de éteres; sin embargo, algunas evidencias han demostrado que la reacción puede ocurrir vía formación de un intermediario tetrahedral para lo cual se ha propuesto un mecanismo tetrahedral o comúnmente conocido como adicióneliminación (Ad-E)¹¹⁵ (Esquema 30).



Esquema 30. Posibles vías de reacción para la acilación de los eugenoles.

La alcohólisis de haloácidos es una reacción de fácil acceso debido a la alta disponibilidad de precursores y agentes activadores de la adición. En la formación de los ésteres se han empleado gran variedad de bases como activadores. Cuando se adicionan bases alcalinas en solución, esta reacción es conocida como la reacción de *Schotten-Baumann.*¹¹⁴ Por otro lado, se han estudiado las reacciones de acilación empleando aminas como bases orgánicas. Una de las bases más empleadas y la cual actúo como catalizador en la adición del eugenol con el cloruro de acilo y el cloruro de *p*-nitrobenzoilo, es la trietilamina.¹¹⁶

Finalmente en la acilación de los eugenoles se reprodujo la síntesis del (iso)eugenolato de acilo y de benzoilo. Los rendimientos obtenidos fueron excelentes y el R_f del producto se diferencia, disminuyendo la polaridad con respecto al precursor fenólico. De igual forma sus características físicas cambian con respecto al precursor y los puntos de fusión fueron determinados sin corrección (Tabla 6).

			<u>8-11</u>			
Compuesto	R	R_1	Estado Físico	Pf. (°C)	Rf. *	Rto. (%)
<u>8</u>	~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~	Ac	Aceite transparente		0.50	95
<u>9</u>	~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~	<i>p</i> -NO ₂ -Bz	Sólido amarillo	79-80	0.50	95
<u>10</u>	~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~	Ac	Sólido blanco	74-76	0.52	90
<u>11</u>	~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~	<i>p</i> -NO ₂ -Bz	Sólido amarillo	120-122	0.50	98

Tabla 6. Propiedades físico-químicas de los derivados O-acilados de los eugenoles.

* El sistema de solventes fue éter de petróleo:acetato de etilo, 10:1

Según el aspecto físico encontrado para los ésteres, se podría especular que los derivados del isoeugenol presentan mejor ordenamiento molecular. Esta propiedad es, tal vez, lo que le permite encontrarse en estado sólido. Por otro lado, según la literatura, la presencia de grupos sustituyentes electro-atractores, favorecen la adición nucleofílica. Esto se puede observar en los mejores rendimientos para el nitrobenzoilo. Posterior a la purificación de la molécula por CC, se realizó la caracterización por espectroscopia IR. Se obtuvo el espectro infrarrojo del eugenolato de acetilo (Fig. 39).



Figura 39. Espectro IR para el acetato de eugenilo.

Al igual que el comportamiento esperado para los éteres, los ésteres de los eugenoles mostraron cualidades sobresalientes: se observa una banda a 1730 cm⁻¹, el cual puede ser atribuido al C=O del éster, tensiones CH entre 2985-2831 cm⁻¹, vibraciones de tensión correspondientes al MeO entre 1150-1085 cm⁻¹ y otras vibraciones de la cadena propenílica (C=C en 1600 cm⁻¹). Para todos los productos acilados, se observaron patrones comunes en la absorción en el infrarrojo. Cada una de las vibraciones fueron identificadas y estuvieron acordes con la estructura propuesta (Tabla 7).

	Bandas de absorción (cm ⁻¹)							
Comp.	Vib.T. CH=CH2	Vib.T. C=O	Vib.T. CHn	Vib.T. C=C	Vib.T. C-O	Vib.T.A. NO2	Vib.T.S. NO2	
<u>8</u>	3078	1730	2959	1605	1157			
<u>9</u>	3078	1751	2939	1605	1157	1528	1346	
<u>10</u>	*	1759	2931	1605	1142			
<u>11</u>	*	1736	2947	1605	1157	1528	1346	

Tabla 7. Absorciones en IR características para los ésteres de los eugenoles.

*No presentan esta característica estructural

Posterior al análisis realizado por IR se continúo con el proceso de elucidación. Se sometieron cada una de las moléculas al estudio de su pureza para además encontrar el valor de su relación m/z. Se realizó el ensayo CG-EM para los compuestos <u> \mathcal{B} 11</u>, tomando como ejemplo general el obtenido para el acetato de eugenilo (Fig. 40).

Abundance					TIC	:: DM89.D					
1.8e+07-		e/									
1.7e+07											
1.6e+07											
1.5e+07											
1.4e+07											
1.3e+07											
1.2e+07		1									
1.1e+07											
1e+07											
9000000											
8000000											
7000000											
6000000											
5000000											
4000000											
3000000		-									
2000000		1									
1000000	10.3 10.4										
Time>	10.00	15.00	20.00	25.00	30.00	35.00	40.00	45.00	50.00	55.00	60.00

Figura 40. Perfil cromatográfico para el acetato de eugenilo (10).

En el cromatograma (Fig. 39) se puede observar el pico a 11.67 min, correspondiente a la corriente iónica total reconstruida obtenida para el acetato de eugenilo. Se observa

la pureza del compuesto y se puede relacionar con su polaridad y tamaño debido al bajo tiempo de retención registrados.

Por otro lado, se tomó el registro del espectro de masas, observando la relación m/z para el M^{+-} = 206 m/z y la obtención de algunos fragmentos característicos (Fig. 41).



Figura 41. Espectro de masas del acetato de isoeugenilo.

Los ésteres presentaron fragmentaciones comunes, eliminando el fragmento perteneciente al grupo acilo introducido en el proceso de síntesis. Para el acetato de eugenilo (<u>10</u>), se logra observar la eliminación de 42 unidades de masa. Este segmento de la molécula corresponde al ceteno (CH₂=C=O), generado a través de un estado cuadricíclico entre los átomos correspondientes al grupo acilo y la donación del H del metilo a O fenólico. Esto, acorde a lo que plantea la literatura,¹¹⁷ genera el IPB, $\Phi_2 =$ 164 m/z, lo que se considera un indicio claro de la formación del eugenolato (Esquema 31).



Esquema 31. Posible vía de fragmentación para el acetato de eugenilo.

En general para cada uno de los productos obtenidos se observaron detalles similares en el fragmentograma (EM). Por otro lado cada uno presentó un comportamiento similar ante el análisis realizado por CG (Tabla 9).

Comp.	P.M. (g/mol)	M+ · (m/z)	t _R (min)	IPB (m/z)
<u>8</u>	206.24	206	11.18	164
<u>9</u>	313.30	313	23.11	150
<u>10</u>	206.24	206	11.67	164
<u>11</u>	313.30	313	24.89	150

Tabla 8. Propiedades fisicoquímicas observadas en CG-EM para los ésteres eugenólicos.

Continuando el proceso de elucidación estructural para los ésteres obtenidos, se llevaron a cabo los ensayos por ¹H RMN. En principio se llevó a cabo el estudio para el acetato de eugenilo como patrón. Esto se hizo con la intención de demostrar la presencia de ciertas señales, determinantes para consolidar los fundamentos estructurales dados anteriormente de la estructura esperada (Fig. 41).

En el registro se puede observar las señales correspondientes a cada uno de los protones del acetato de eugenilo. Se confirma la presencia del CH_3 introducido del grupo acilo, sin acoplamientos y a campo bajo (2.31 ppm) debido a la acción del carbonilo. Por otro lado, fundamentando la presencia del carbonilo, se observa el desplazamiento el protón seis del anillo, debido a una posible interacción con el oxígeno. Esto en principio nos podría certificar la obtención del compuesto acilado. Finalmente todas estas señales fueron reproducibles en los demás espectros obtenidos, bien sea para los acilados y los benzoilados (Tabla 10). En la tabla se denotan cada uno de los desplazamientos observados para los fragmentos comunes de los ésteres. Las constantes de acoplamiento se relacionan estrechamente con los reportes de la literatura para estos sistemas ya conocidos.⁷⁸







	Desplazamientos químicos (δ , ppm), multiplicidad y constante de acoplamiento (J , Hz)										
Comp.	3 - H	$5 ext{-H}$	6-H	$-\alpha CH_2$	–βCH	$-\gamma CH_2$	OMe				
<u>8</u>	6.79, m	6.79, m	6.96, d, <i>J</i> = 8.0	5.08-5.16, m	5.91-6.03, m	3.38, d, <i>J</i> = 6.7	3.82, s				
<u>9</u>	6.86, s	6.83, d, <i>J</i> = 8.0	7.08, d, <i>J</i> = 8.0	5.13, m	5.97, m	6.68, d, <i>J</i> = 6.7	3.81, s				
<u>10</u>	6.9, d, 1.4	6.80- 6.90, dd. 1.6	6.96, d, 8.1	6.35-6.39, dd, <i>J</i> =1.2	6.15-6.24, m	1.87-1.90, dd, <i>J</i> =1.4	3.84, s				
<u>11</u>	6.29, s	6.13, d, <i>J</i> = 8.0	7.00, d, <i>J</i> = 8.0	4.51, m	5.47, m	3.30, d, J = 6.4	3.80, s				

Con estas evidencias recopiladas a través de los medios instrumentales para todos los compuestos acilados, se puede aseverar la eficacia de la herramienta sintética y los parámetros utilizados. Por otro lado, se sabe que estos sistemas son estudiados como potenciales agentes activos para el tratamiento de algunas patologías.⁷⁷⁻⁸⁰ Con el cumplimiento de este objetivo, se continuó con el desarrollo de la investigación.

4.2. HIDROXIMETILACIÓN DEL EUGENOL E ISOEUGENOL BAJO CONDICIONES DE CATÁLISIS BÁSICA

4.2.1. Hidroximetilación del eugenol

Debido al interés especial en el sistema eugenólico, se continuó con la derivatización de esta molécula de origen natural. A continuación, se llevó a cabo la reproducción de una metodología, empleada con anterioridad para la hidroximetilación del eugenol.

Con la obtención del eugenol hidroformilado, aunque ya es una molécula reportada, se persigue un objetivo claro. Este consiste en evaluar su acción como agente captor del radical $ABTS^+$, estudio que se llevará a cabo posteriormente. Esta reacción se realizó en condiciones suaves, obteniendo el producto (<u>12</u>) (Esquema 32).



Esquema 32. Síntesis del hidroximetil eugenol.

Posterior a la purificación del hidroximetil eugenol, se obtuvo un aceite amarillo del 54 % de rendimiento, su $R_f = 0.46$ (éter de petróleo/acetato de etilo, 5:1), varía en comparación al producto de partida, con un aumento en la polaridad del producto obtenido.

Los estudios que se han llevado a cabo en torno a los procesos de hidroformilación, demuestran la importancia de introducir un grupo formilo (CHO) a un doble enlace. Industrialmente los aldehídos son muy apetecidos, debido a la facilidad que existe de modificar su estructura y alcanzar diseños moleculares de interés. Por esta razón se ha estudiado la reacción de hidroformilación en olefinas, vinculando novedosos parámetros de reacción.¹¹¹

Por otro lado cuando la reacción se lleva a cabo en sistemas aromáticos, buscando introducir el fragmento formilo en el anillo, este procedimiento recibe el nombre de; reacción de Lederer-Manasse.¹¹⁹ Esta metodología permite acceder a derivados salicílicos, compuestos importantes en la industria química.¹²⁰ El estudio de el mecanismo ha llevado a conclusiones generales. En este estudio se empelaron las condiciones básicas de reacción. Por tanto, se propone la formación del fenolato y posterior adición al carbono carbonílico (Esquema 33).¹²¹



Esquema 33. Posible mecanismo para la reacción de o-hidroximetil eugenol.

Esta reacción generalmente conduce a la formación de polímeros naturales, como el caso de la lignina.¹²² Por esta razón, la polimerización conlleva emplear bajas temperaturas.

Continuando con el análisis del producto obtenido, se llevó a cabo el estudio por espectroscopia IR. Se obtuvo el espectro, arrojando las señales características para la estructura propuesta. Allí se logra observar una banda de absorción bastante pronunciada a 3425 cm⁻¹. Esta señal corresponde al los dos grupos OH presentes en el producto (Fig. 43).



Figura 43. Espectro IR para el hidroximetil eugenol 12.

Tanto el hidroxilo fenólico como el bencílico influyen en la aparición de esta señal. Por otro lado, se mantienen las características del eugenol, haciendo referencia a la cadena propenílica y al metoxilo aromático. Para estos componentes de la molécula se pueden referenciar las señales que aparecen a 1605 cm⁻¹ (C=C) y 1149 cm⁻¹ (MeO) (Fig. 43). Este indicio por IR, es el primer paso en la asignación de la topología de la molécula.



Figura 44. CIT para el estudio CG-EM del *o*-hidroximetil eugenol (12).

Continuando con la elucidación estructural del o-hidroximetileugenol, se realizó el estudio por cromatografía de gases. Se obtuvo el perfil cormatográfico para el compuesto, obteniendo una pureza aproximada del 93.28 % (Fig. 44). El pico correspondiente al área relativa en mención, aparece a un $t_R = 13.72$ min. De igual forma, se registró la fragmentación para los iones detectados. De esta forma se puede observar el espectro de masas para el compuesto de interés (Fig. 45).



Figura 45. Espectro de masas del *o*-hidroximetileugenol.

Según el patrón de fragmentación que demuestra tener la molécula obtenida, se puede correlacionar con la configuración de la estructura. El ión molecular 194 m/z, además de ser el de mayor valor m/z y mantener una relación con la estructura del compuesto, libera un fragmento característico para estos sistemas. Los alcoholes bencílicos tienden a fragmentarse liberando una molécula de agua y el pico formado resulta ser el IPB ($\Phi_1 = 176 \text{ m/z}$). Posteriormente este ion libera 28 unidades en un radical CHO. Por esta vía se forma una especie química que mantiene el 60 % de estabilidad con respecto al IPB. Estas tres especies generadas, incluyendo el fragmento Φ_2 , son iones detectados con una estabilidad apreciable (Esquema 34).



Esquema 34. Posible vía de fragmentación para el compuesto 12.

Teniendo información de los grupos funcionales y la relación m/z, proporcionada por CG-EM, se continúo con la obtención de datos para certificar la estructura obtenida. Seguido se llevó a cabo el análisis de ¹H RMN para para el compuesto, identificando sus protones aromáticos, alifáticos y de los hidroxilos (Fig. 46).



Figura 46. Espectro ¹H RMN del *o* hidroximetileugenol (<u>12</u>), 400 MHz, CDCl₃.

En la asignación de las señales del espectro de protones obtenido para la molécula $\underline{12}$, se logra observar las dos señales correspondientes para los hidroxilos. El OH del hidroximetil aparece como un singulete ancho a 2.67 ppm. De igual forma el OH fenólico que presenta mayor desprotección, aparece mayor frecuencia, 6.18 ppm. Por otro lado, se puede identificar un singulete a 4.70 ppm. Esta señal puede ser atribuida a los hidrógenos metilénicos del sustituyente incluido en el anillo. Las demás señales pertenecientes al núcleo del eugenol, manifiestan la obtención del producto esperado. Posteriormente se llevó a cabo la transformación para isoeugenol bajo los mismos parámetros de reacción.

4.2.2. Hidroximetilación del isoeugenol

Para obtener nuevos análogos, se llevó a cabo la reacción de hidroximetilación del isoeugenol bajo las mismas condiciones, obteniendo un aceite transparente de olor característico en un 57 % de rendimiento. En primera instancia, se esperaba la reacción de adición electrofílica sobre el anillo al igual que ocurrió para el eugenol (Esquema 35).



Esquema 35. Intento de la síntesis del hidroximetil isoeugenol.

Inicialmente se realizó el análisis por espectroscopia IR, obteniéndose el espectro correspondiente, donde se observaron características generales para el compuesto esperado (Fig. 47).



Figura 47. Espectro IR para el producto obtenido 13.

Los resultados obtenidos en IR, mostraron la banda de absorción correspondiente para el OH a 3420 cm⁻¹. Este modo de vibración puede ser atribuido para el hidroxilo fenólico. Las bandas entre 2774 y 2954 cm⁻¹, corresponden a la cadena propenílica del compuesto final y al CH₃ del metoxilo. Estas bandas aumentaron su intensidad con respecto al precursor y además apareció con mayor intensidad un modo de vibración a 1149 cm⁻¹ como una dupleta. Todo esto pudo ser atribuido al grupo alcoxilo presente en la molécula. El análisis realizado por IR, nos proporciona información muy básica sobre la posible estructura de la molécula obtenida.

Posteriormente se dispuso a realizar el estudio sobre la masa molar del producto obtenido. El compuesto fue sometido al ensayo de CG-EM obteniendo una alta pureza y un tiempo de retención similar al obtenido para el eugenol hidroximetilado, 14.13 min. (vs- 13.72 min. Para <u>12</u>) (Fig. 48).



Figura 48. CIT obtenida para el compuesto 13.

A pesar que la reacción fue establecida bajo las mismas condiciones, los datos obtenidos a través del análisis por CG-EM, arrojaron un valor de 224 m/z para el M⁺⁻ que no corresponde con la masa esperada, 194 m/z (Fig. 49).



Figura 49. Espectro de masas del compuesto 13.

Analizando el espectro de masas del producto obtenido se determinó que el patrón de fragmentación no era el mismo que para el *o*-hidroximetileugenol (<u>12</u>), donde se libera una molécula de agua; asi, <u>13</u> no concordaba con la estructura propuesta. Posteriormente se complementó la recopilación de resultados con el análisis de ¹H RMN, en virtud de proponer la estructura verdadera para este producto.

Se obtuvieron datos importantes en cuanto a la región aromática. Se encontraron cuatro señales entre 6.78 y 6.94 ppm. Este sistema de señales es adjudicado estrictamente a los tres protones aromáticos, provenientes del precursor. Una dd, debido al desdoblamiento de 5-H, con una J = 1.6 Hz, causado por el protón 3-H, que se encuentra en meta con respecto a 5-H. De igual forma, se observa una J = 8.0 Hz,

debido al desdoblamiento causado por el protón 6-H en orto con respecto a 5-H. De igual forma 6-H es desdoblado (d, J = 1.6) por su homólogo en posición *orto*- (Fig. 50).



Figura 50. Región aromática del producto 13.

Esto nos confirma que el sistema aromático no fue afectado por las condiciones de reacción. Por otro lado, se analizó la región alifática y se encontró que el metilo no fue afectado, mostrando una d a 0.59 ppm, con una J = 6.7 Hz. De igual forma, se observó una señal correspondiente al metoxilo, como un singulete a 3.90 ppm. De este modo, la reacción se llevó a cabo sobre la cadena alifática del isoeugenol, la cual se hace más activa químicamente debido al efecto de la conjugación del enlace doble, con la nube π del anillo. Según lo observado en resonancia, se generan seis señales con desdoblamientos que se relacionan entre sí por las constantes de acoplamiento. Un multiplete, atribuido al protón adyacente al metil (HB) debido al acoplamiento con el Me y con otros protones a tres enlaces. Dos señales, un pseudotriplete ('t') a 3.40 ppm y una dd a 4.10, están relacionadas a través de un acoplamiento spin-spin que genera una J = 11.1 Hz y el segundo desdoblamiento se da por medio del protón H β . Estas señales no acoplan con otras, estableciendo una distancia entre los demás H al menos de cuatro enlaces. También se puede resaltar la dupleta a 4.05 ppm, J = 9.9 Hz, la cual acopla con el protón H^B. Y dos señales, correspondientes a dos protones que se desdoblan entre sí. Estas dupletas se encuentran a 4.82 y 5.19 ppm, con una constate de acoplamiento de 6.28 Hz (Fig. 51).



Figura 51. Espectro ¹H RMN obtenido para el producto <u>13</u>, 400 MHz, CDCl₃.

La información proporcionada por el análisis de ¹H RMN, nos lleva a una estructura totalmente diferente a la esperada, y conduce a proponer la obtención del compuesto <u>13</u> (Esquema 36).

Esquema 36. Síntesis del 2-metoxi-4-(5-metil-1,3-dioxan-4-il)-fenol.

Derivados de estos compuestos han sido obtenidos anteriormente. Sin embargo, ninguno de los reportes encontrados en la literatura demuestra su obtención partiendo de condiciones básicas.¹²³ El empleo de NaOH es novedoso y se logra de igual forma observar constantes de acoplamiento superiores a 9 Hz, para los protones Ha y H β del anillo 1,3-dioxano. Esta se observa claramente en la señal a 4.05 ppm, J = 9.9 Hz, que puede en principio estar relacionada con el multiplete, estableciendo una conformación axial-axial de los protones correspondientes (Fig. 52).



Figura 52. Posible esteroquímica para el racemato 13.

Con esta relación entre las señales para la reacción de hidroformilación, de igual forma se buscó plantear un mecanismo para posible ruta por la cual transcurrió la reacción (Esquema 37).



Esquema 37. Posible mecanismo de reacción para la obtención del 1,3-dioxano.

En esta posible vía de reacción se logra observar la acción de la base y la función del disolvente polar. Este puede potencialmente actuar estabilizando cada una de las cargas formadas. La capacidad que posee el doble enlace para capturar el carbono electrodeficiente del carbonilo, se debe en esencia a la interacción de la cadena con la nube π del anillo. De igual forma el OH presente en el anillo activa esta posición, permitiendo su reactividad hacia núcleos deficientes de densidad electrónica. Esto nos permite culminar con esta fase de la investigación.

Continuando con el desarrollo del problema planteado, ahora el estudio se enfoca a la obtención de otro sistema que puede ser encontrado en la naturaleza, el dihidroeugenol. Su carácter fenólico permite intuir que actuará como un excelente captor de EROS.

4.3. REDUCCIÓN DEL EUGENOL BAJO PARÁMETROS DE QUÍMICA VERDE

Las reducciones en sistemas olefínicos son conocidas debido a que proporcionan alcanos de una forma directa como productos de adición saturados. En este apartado, se realizó la hidrogenación catalítica del sistema eugenólico. El objetivo era obtener un producto que se encuentra en la naturaleza en bajas proporciones, el dihidroeugenol.^{12,} ¹³ Este compuesto es un fenol y presenta características odoríferas agradables. Su estructura permite realizar modificaciones en su estructura sin la presencia del doble enlace del precursor, en ocasiones más reactivo que el anillo aromático. Las condiciones clásicas de reacción, empleadas en este apartado, promueven la hidrogenación eficazmente (Esquema 38).



Esquema 38. Reacción global de la hidrogenación catalítica del eugenol.

Diversidad de agentes catalíticos son empleados con frecuencia en la hidrogenación de olefinas. Sin embargo, el Pd es uno de los metales con mayor auge en las reducciones catalíticas. Otros como el Pt, Ni, Rh, Ru, entre otros, son empleados como catalizadores en la hidrogenación, al igual que diferentes soportes o vehículos del catalizador. En estos estudios se menciona el carácter inerte del soporte y la mayor acción catalítica ofrecida por el Pd.¹²⁴



Esquema 39. Propuesta mecanística para la hidrogenación del eugenol.

Por otro lado, es conocido que los aspectos mecanísticos de esta reacción no han sido elucidados por completo. Sin embargo, se propone una vía por la cual esta reacción puede tener lugar. En esta descripción, el Pd soportado sobre carbono es utilizado como soporte para el H₂ y para la olefina. Esta última lo hace a través del doble enlace adsorbida en dos sitios adyacentes. Paralelamente los átomos de H son adsorbidos por el catalizador y posteriormente se adicionan al alqueno. El alcano se desorbe y el ciclo catalítico continua¹²⁵ (Esquema 39). La obtención del dihidroeugenol fue llevada a cabo en excelentes resultados, obteniendo un aceite transparente con rendimientos hasta del 98 %. A pesar que el R_f es muy similar, debido al mínimo cambio estructural realizado al compuesto, fue posible obtener este compuesto con área relativa, superior a 98.99 %, según los datos obtenidos por CG-EM (Fig. 53 y 54).



Figura 53. CIT del dihidroeugenol 14.

El tiempo de retención para el pico obtenido es de 8.34 min. Este análisis por CG-EM fue determinante en la elucidación del producto. Adicionalmente, se obtuvo el espectro de masas del producto, el cual presentó un ion molecular ($M^{+-} = 166 \text{ m/z}$).



Figura 54. Espectro de masas para el dihidroeugenol.

Para la fragmentación del dihidroeugenol se observan rupturas simples, bien relacionadas con la estructura propuesta. El patrón de fragmentación se puede proponer con la ruptura inicial de 29 unidades y generación del segmento $\Phi_1 = 137$ m/z. Este ion generado es el respectivo IPB los demás picos representan iones poco estables y se asemejan a los obtenidos para el eugenol (Esquema 40).



Esquema 40. Generación del ion tropilio en la fragmentación del dihidroeugenol.

Seguido al análisis por CG-EM se estudió el comportamiento en ¹H RMN; se obtuvieron resultados que soportaron lo obtenido por los ensayos anteriores. La aparición de los dos metilenos entre 1.5-2.5 ppm afirma la reducción del doble enlace (Fig. 55).



Figura 55. Espectro ¹H RMN del dihidroeugenol <u>14</u>, 400 MHz, CDCl₃.

Obtenida molécula reducida, según los argumentos instrumentales, se prosiguió con la variación de uno de sus parámetros, el solvente de reacción. El MeOH comúnmente empleado para la reducción catalítica de olefinas fue reemplazado por PEG 400. Este solvente no presenta registros de toxicidad y su inocuidad los hacen atractivo en los procesos de síntesis orgánica. Recientemente este medio de reacción fue empleado en

hidrogenación catalítica junto con el catalizador de Adams, observando resultados excelentes y su bondad ambiental. Finalmente es posible recuperar el solvente y el catalizador sin pérdida de su actividad. 126

El empleo de solventes en la reacción de hidrogenación presenta resultados positivos, aumentando la disponibilidad de H₂, evita la isomerización y la migración del doble enlace.¹²¹ El PEG 400 resultó ser un excelente medio de reacción, obteniendo mejores rendimientos y permitiendo la solubilidad del H₂. El tiempo de reacción fue el mismo que el empleado para el MeOH. Este polietilienglicol se puede proponer como un medio de reacción efectivo en la hidrogenación de olefinas. Seguido a la obtención del producto <u>14</u> se continuó con la obtención de algunos catalizadores heterogéneos, los cuales serán empleados posteriormente.

4.4. OBTENCIÓN DE CATALIZADORES SOPORTADOS

4.4.1. Obtención del ácido sulfúrico soportado en gel de sílice

El diseño de catalizadores emerge como un reto monumental en la constitución de parámetros eficientes en química orgánica. Los procesos de síntesis requieren generalmente, medios catalíticamente activos que permitan acceder a sistemas moleculares complejos. Medios básicos y ácidos son conocidos como aceleradores en síntesis orgánica. Estas formas de catálisis, sea por ácidos y bases de Brönsted o de Lewis, son ampliamente usados en fases homogéneas. Estos sistemas presentan algunas desventajas por la producción de desechos y efectos adversos en los reactores industriales como la corrosión. De este modo en este estudio se obtuvieron sistemas catalíticos sólidos que se comportan unos como ácidos de Brönsted y otros como ácidos de Lewis. Inicialmente se llevó a cabo la obtención del ácido sulfúrico soportado en gel de sílice (ASS). Este sólido ha sido ampliamente utilizado en reacciones de condensación¹²⁷, clivaje¹²⁸, oxidación¹²⁹, entre otras.

Las condiciones empleadas para la síntesis del ASS fueron establecidas por Zolfigol.⁹⁹ La sílice se dispone en el reactor y se adiciona lentamente el ácido clorosulfónico a través de un goteo continuo y con agitación. El HCl liberado es atrapado en un reservorio de agua. La reacción global planteada en este experimento se muestra en el esquema 41.

SiO_2 -OH + CISO₃H \longrightarrow SiO_2 -O-SO₃H + HCl_(g)

Esquema 41. Obtención del SiO₂-OSO₃H.

Según el procedimiento expuesto en la parte experimental, se obtuvieron 13.6 g de sólido color blanco, en el cual se podía notar una mayor área superficial que en la gel de sílice de partida. La caracterización de este catalizador se realizó por espectroscopia IR. En el espectro se logra observar las bandas características para los compuestos sulfonados (Fig. 56).



Figura 56. Espectro IR para el ASS.

Los principales modos vibracionales para cada uno de los grupos son observados. Las tensiones Si-O-Si son observadas en la región espectral de 1651-1635 cm⁻¹. Se puede encontrar las vibraciones de tensión asimétrica (Vib. T. A) y simétrica (Vib. T. S) para los enlaces O=S=O. Éstas son registradas a 1193 y 1103 cm⁻¹ respectivamente, con intensidades bien pronunciadas. A diferencia de esto, en frecuencias menores se obtienen los modos de vibración para el OH, que se exhibe como una banda ancha a 3425 cm⁻¹. En la región del espectro a 1600 cm⁻¹, son atribuidas absorciones para las vibraciones de tensión Si-O-Si. Todas estas señales en IR son reportadas para este catalizador por Shaterian y colaboradores.¹³⁰

Este sólido fue empelado en un apartado posterior, su capacidad catalítica fue evidenciada en la obtención de algunos cicloaductos. Se procedió además con la obtención de otro soporte sólido.

4.4.2. Obtención del ácido perclórico soportado en gel de sílice

El HClO₄ es empleado como catalizador ácido de Brönsted en soluciones acuosas. Actualmente con el desarrollo de la catálisis heterogénea, este ácido ha sido empleado junto con el gel de sílice para emplearlo como sistema catalítico sólido. Algunos reportes demuestran su funcionalidad en diversas reacciones como adiciones nuceofílicas¹³¹, adición de Michael¹³², entre otras.

En este apartado se realizó su obtención para encontrar una aplicación en la catálisis heterogénea para cicloadiciones. Se llevó a cabo la síntesis, obteniendo un sólido blanco de mayor área superficial aparente (Esquema 42).

SiO_2 -OH + HCIO₄ \rightarrow HCIO₄/SiO₂

Esquema 42. Reacción global HClO₄/SiO₂.

Para la identificación estructural del catalizador se llevó a cabo el análisis por espectroscopia IR. Cada una de las bandas de absorción fueron atribuidas a grupos funcionales presentes en el sistema impregnado (Fig. 57).



Figura 57. Espectro IR para el HClO₄/SiO₂.

Al igual que para el soporte con ácdiso sufúrico (derivado del ácido clorosulfónico), el catalizador sólido con ácido perclórico mostró los modos vibracionales para la gel de sílice: los grupos Si-O-Si a 1651 cm⁻¹ y aparecen las tensiones SiO a 972-795 cm⁻¹. Una banda de absorción a 1095 cm⁻¹ para tensiones del cloro en un enlace de tipo Cl=O. Con esto se puede pensar en la obtención del sólido y su posterior aplicación sintética.

4.4.3. Obtención del dieterato trifluoruro de boro soportado en gel de sílice

Otro de los catalizadores obtenidos fue el dieterato trifluoruro de boro soportado en sílice. Los reportes sobre este sistema catalítico son escasos y el interés hacia su obtención surge gracias a que el catalizador homogéneo ha brindado funciones importantes en reacciones de ciclación. Este catalizador comúnmente empleado en reacciones de igual fase, constituye una herramienta fundamental en la obtención de heterociclos nitrogenados y de carbociclos.¹⁰⁸

Posterior al proceso de reacción, se obtuvo un sólido blanco, el cual fue sometido a un proceso de secado durante una semana. Esto fue realizado en un desecador con sistema de vacío. La reacción global propuesta para este sistema llevada a cabo en MeOH a temperatura ambiente fue realizada anteriormente por Mirjalili y colaboradores.¹⁰⁸



Esquema 43. Reacción global propuesta para la obtención de BF₃·OEt₂/SiO₂.



Figura 58. Espectro IR del catalizador sólido BF₃·OEt₂/SiO₂.

El producto obtenido fue analizado por espectroscopia IR, presentando un perfil de absorción similar a los sólidos obtenidos anteriormente¹³³ (Fig. 58).

Los modos vibracionales observados, corresponden a las vibraciones de tensión para el OH del gel de sílice a 3271 cm⁻¹. Por otro lado, el aporte del dieterato exhibe algunas tensiones para los grupos metilos en la región de absorción de 1419 a 1304 cm⁻¹ con bandas anchas y poco resueltas. Las tensiones de la sílice pueden ser observadas en la banda de absorción a 1635 cm⁻¹. Estos comportamientos para los grupos funcionales del sólido obtenido permiten tener un indicio de la eficacia del proceso y la viabilidad de obtener estos sistemas por metodologías suaves. Así, se obtuvieron tres soporte ácidos con metodologías anteriormente reportadas, con el fin de emplearlos como medios verdes en reacciones posteriores.

4.4.4. Obtención de alúmina impregnada con KOH al 10 %

Al igual que los soportes acidificados, la catálisis básica heterogénea irrumpe en los procesos de síntesis con la necesidad de obtener sistemas que aceleren las vías de reacción. Estos catalizadores básicos se destacan gracias a su recuperabilidad y su fácil manipulación. Algunos sistemas empleados y conocidos son las zeolitas y las hidrotalcitas con sitios básicos, incluyendo metales como aluminio, magnesio, manganeso, potasio, entre otros.¹³⁴

Otros catalizadores básicos usados en la actualidad son las bases orgánicas soportadas. Estos sistemas han sido empleados en la obtención de productos de condensación como la adición de Michael¹³⁵ y la reacción aldólica.¹³⁶ En este apartado de la investigación se buscó obtener un catalizador sólido básico. Para esto se llevó a cabo la impregnación de la alúmina con una carga del 10 % de KOH. Según los reportes en la literatura, esta carga empleada representa mayor función catalítica que cuando se adiciona mayor cantidad de base al sólido.¹³⁷ Este catalizador sirve como referente a nuevos sistemas de sólidos básicos que, mantienen cierta cristalinidad correspondiente al soporte. En este caso se llevó a cabo la impregnación empleando una solución al 10 % de KOH y evaporando el disolvente (Esquema 44).

KOH(ac) + Al_2O_3 $\xrightarrow{H_2O, ta}$ 10 % KOH/Al_2O₃

Esquema 44. Obtención de alúmina impregnada con KOH, 10 % KOH/Al₂O₃.

Al igual que en los soportes ácidos, para la alúmina básica se obtuvo un sólido de aspecto diferente al precursor. El estudio realizado por $Jasra^{104}$ sirvió como referencia para la identificación del sólido básico. Por esta razón, se llevó a cabo el análisis instrumental por IR principalmente (Fig. 59).



Figura 59. Espectro IR del sólido obtenido 10 % KOH/Al₂O₃.

En el espectro se puede observar la misma vibración de tensión que para los ácidos, correspondiente a la tensión del OH a 3155 cm⁻¹. Por otro lado, se ha encontrado que para la alúmina existen modos vibracionales en la región de 1200-1500 cm⁻¹. Unas bandas son obtenidas para el soporte obtenido en estas frecuencias. Los reportes sobre la elucidación espectral por IR, para este óxido de aluminio son pocos. Sin embargo el análisis realizado para la caracterización de algunas arcillas, permite una correlación positiva con los resultados obtenidos.¹³⁸

Seguido de la caracterización por IR y según lo planteado por *Jasra* y col., ¹⁰⁴ se llevó a cabo el estudio preliminar por difracción de rayos-X (DRX), por el método de polvo. En este caso, sabiendo que la alúmina presenta una estructura cristalina se realizó la comparación con el perfil de difracción obtenido y reportado en la literatura para la alúmina con una carga del 10 % de KOH (Fig. 60).



Figura 60. Perfil de difracción (DRX), método polvo, obtenido para el sistema 10 % KOH/Al₂O₃.

En el difractograma se pueden observar unas señales correspondientes a la cristalinidad del sólido expuesto. En este caso la alúmina presenta un sistema cristalino hexagonal muy fino. Esto fue corroborado con ayuda de la bases de datos del programa, *Crystallographica Search-Match Version 3, 0, 0, 3 (Copyright © 1996-2006, Oxford Cryosystems)*. Por tanto se llevó a cabo el análisis cualitativo, teniendo presente los principales elementos, Al, O, K y H. Se obtuvieron correlaciones del 100 % para el óxido de aluminio y su hidróxido (Fig. 61).



Figura 61. Correlación de intensidades entre el sólido, 10 % KOH/Al₂O₃ y la base de datos.

Siguiendo el estudio realizado previamente para este sólido básico, se denota la inclinación por el sólido hacia un sistema amorfo. La impregnación con KOH tiene como objetivo suplir de sitios básicos el óxido de aluminio. Este al disminuir su forma cristalina conduce a una mayor dispersión y, por consiguiente, mejor actividad catalítica. En el cotejo realizado contra la base de datos se observa que las señales de mayor intensidad se alinean con sistemas cristalinos como el Al₂O₃ y el Al(OH)₃. Este último también es conocido como *gibsita*. Con estos fundamentos instrumentales se proporciona información estructural importante de cada catalizador. Posteriormente fueron utilizados en metodologías de interés para la obtención de una serie de moléculas líderes.

4.5. SÍNTESIS DEL _Y-DIISOEUGENOL, _Y-DIISOHOMOGENOL Y _Y-METANETOL BAJO CONCEPTOS DE QUÍMICA VERDE

La intención de disminuir al máximo los riesgos de toxicidad, problemas carcinogénicos, genotóxicos y respiratorios entre otros y evitar afectar el medio ambiente en cualquiera de sus expresiones, ha llevado a los químicos, en especial a los químicos orgánicos, a plantear metodologías que involucren parámetros de reacción que no atenten contra ninguno de estos aspectos. Recurrir a reacciones convergentes tipo multicomponente o reacciones tipo dominó, contribuye a una ruta sintética de mejor aceptabilidad en síntesis orgánica, al igual que el empleo de sustancias de bajo riesgo para la salud y que no genere desechos.
Recientemente el PEG 400 ha emergido como un disolvente versátil en reacciones orgánicas,⁶² incluyendo algunas en las cuales están involucrados compuestos organometálicos como intermediarios.^{139,140} El PEG 400 no presenta registros de toxicidad y por tanto ha sido empleado en el transporte de fármacos hacia el organismo, aumentando la disponibilidad del medicamento ante la membrana celular.

En parte de nuestra investigación se observó la capacidad que posee el *trans* isoeugenol y el *trans* anetol, dos unidades fenilpropanoides ampliamente distribuidas a nivel natural, para cicloadicionar y generar aductos indánicos con diseño estructural interesante. En este sentido y con los antecedentes, nos propusimos llevar a cabo la obtención de estas especies moleculares indánicas por medio de un disolvente novedoso y de amplia aplicación como el PEG 400.

La catálisis heterogénea comprende el estudio de catalizadores que se encuentran situados en categorías definidas. Estos incluyen sistemas tales como: metales, compuestos metálicos, soportes o transportes y metales soportados.¹⁴¹ En este estudio se desea abarcar aspectos relacionados con la catálisis heterogénea. El empleo de catalizadores que actúan como ácidos y bases de Brönsted, imprime el empleo de parámetros que están acorde con los principios de la química verde.

Anteriormente se llevó a cabo la síntesis del γ -diisoeugenol según las condiciones implementadas en un estudio realizado en nuestro Laboratorio,¹⁴² donde fue utilizados BF₃·OEt₂ en MeCN. El interés de estos compuestos carbocíclicos, se extiende a este estudio debido al gran espectro de actividades biológicas que presentan.⁵⁰ Algunos análogos estructurales del γ -diisoeugenol, el metanetol y el dímero de la asarona, son obtenidos de fuentes naturales.⁵¹

El estudio sintético de estos derivados lignánicos, dímeros de fenilpropanos, ha conducido hacia la preparación de algunos de ellos, partiendo de la asarona, isosafrol, anetol e isoeugenol.⁵²⁻⁵⁶ Todos los planteamientos metodológicos encontrados en la literatura reportan el uso de solventes tóxicos y agentes catalíticos que presentan riesgos ambientales y para el ser humano. Por tanto, en este estudio se llevaron a cabo variaciones en los parámetros de reacción, hacia la obtención del y-diisoeugenol y sus análogos. Fundamentalmente se variaron características como el solvente y el catalizador (Esquema 45).



Esquema 45. Síntesis de y-diisoeugenol, <u>15</u>, a partir del isoeugenol comercial.

El isoeugenol demostró la capacidad que posee para reaccionar a través de la cadena alquenílica, formando el derivado dioxano <u>13</u>. En este caso se observa la participación

de un carbocatión en la unidad C₃. De igual forma como plantean Moltrasio y col., esta cicloadición puede ocurrir mediante la formación de un carbocatión.⁵² Las reacciones de cicloadición [3+2], generalmente contienen en su estructuras fragmentos dipolares, los cuales promueven la reacción. En este caso especial de condensación [3+2] formal, se lleva a cabo a través de un anión alílico. Esta reacción en algunas oportunidades es conocida como cicloadición 1,3-dipolar.

El mecanismo planteado para la cicloadición fue discutido por Arnaiz⁴⁹ para la autocondensación del E-isosafrol, estableciendo la formación de cargas formales. En este caso se emplearon condiciones ácidas. El mecanismo de acción del catalizador y la vía de reacción para el caso del isoeugenol fue planteado anteriormente.¹³⁸ En este apartado se llevaron a cabo siete pruebas para optimizar las condiciones óptimas en la obtención del dímero indánico (Tabla 11), empleando condiciones verdes de reacción representada en el esquema 45.

Exp.	Solv.	Cat.	Volumen de solvente, (mL)	Tiempo de reacción (h)	Rto. %
1	PEG		5	24	0
2	MeCN	$BF_{3}OEt_{2}$	30	10.5	78
3	PEG	$BF_{3}OEt_{2}$	5	5	65
4	MeCN	FeCl ₃ ·6H ₂ O	30	14	70
5	PEG	FeCl ₃ ·6H ₂ O	10	12	60
6*	MeCN	SiO ₂ -OSO ₃ H	30	6	80
7	PEG	SiO_2 - OSO_3H	10	20	55

Tabla 10. Comparación de los parámetros utilizados en el proceso de dimerización en MeCN y PEG-400 para la obtención del producto <u>15</u> a 60 °C.

* Reacción realizada a temperatura ambiente.

Persiguiendo las mejores condiciones se observa la acción de dos categorías generales de catalizadores. Los ácidos de Lewis empleados como el $BF_3 \cdot OEt_2$ y el $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ presentaron una excelente acción catalítica, obteniéndose rendimientos 78 y 70 %, respectivamente. Por otro lado, se puede notar que el soporte ácido de sílice y clorosulfónico actúa como el mejor sistema catalítico, empleando un disolvente polar aprótico (MeCN). A pesar de que el rendimiento es similar al alcanzado para el dieterato, el tiempo de reacción disminuye considerablemente (Tabla 11).

De igual forma, paralelo a la obtención de las mejores condiciones de reacción, se encontró información relevante. El uso de polietilenglicol empleado (PEG 400) permitió que la reacción fuese catalizada por los diferentes agentes. Independiente a la disminución del tiempo de reacción y el volumen de disolvente, el PEG 400 no puede catalizar la reacción por sí mismo.

En calidad de evaluar el carácter recuperable del catalizador heterogéneo, SiO_2 -OSO₃H. Este fue recuperado y reutilizado por tres ciclos y su actividad catalítica no se

vio disminuida de forma significativa. Después del tercer ciclo, el rendimiento para la reacción fue de 55 %.

Con la obtención de los parámetros de reacción óptimos para la dimerización, se realizó la síntesis del γ -diisohomogenol, la cual se llevó a cabo empleando el compuesto obtenido anteriormente, el metilisoeugenol, <u> $\boldsymbol{\delta}$ </u> (Esquema 46).



Esquema 46. Síntesis de y-diisohomogenol, <u>16</u>, a partir del metilisoeugenol.

El diisohomogenol fue obtenido como un sólido blanco con afinidad a sistemas de solventes polares. El rendimiento de obtención fue de 63 % y su punto de fusión se encuentra en el intervalo de 104 - 105 °C. El análisis de la estructura del producto obtenido se realizó inicialmente por IR (Fig. 62).



Figura 62. Espectro IR para el diisohomogenol 16.

Se puede observar de manera inmediata en el espectro la desaparición de la banda de absorción respectiva para el OH. Las demás absorciones presentadas por el ensayo IR para el compuesto, son semejantes a los hidrocarburos.



Figura 63. Perfil cromatográfico del diisohomogenol.

El análisis CG-EM mostró una sola señal en el cromatograma a un $t_R = 24.71$ min (Fig. 63), comprobando la pureza del producto final obtenido. Según el barrido realizado al respectivo tiempo de retención, se obtuvo favorablemente el ión molecular con 356 m/z (Fig. 64), correspondiente a la masa de un dímero del metilisoeugenol, el cual tuvo una fragmentación con tendencia aromática presentando pérdidas de fragmentos característicos del indano <u>16</u> como la pérdida inicial de 29 unidades de masa, la cual puede ser atribuida a la eliminación del etano como radical.



Figura 64. Espectro de masas del diisohomogenol.

La mayoría de los fragmentos obtenidos en el espectro de masas son representados por picos de baja intensidad, a diferencia del IPB. Este es atribuido al carbociclo con la pérdida inicial de la unidad radical CH_2CH_3 . Hasta este momento se ha obtenido información contundente con relación a la estructura del compuesto esperado. Continuando con la elucidación, se llevaron a cabo los análisis ¹H, ¹³C RMN 1D y 2D. La asignación de los protones fue posible, empleando la protónica realizada, teniendo en cuenta el ambiente químico en el ciclodímero (Fig. 65).



Figura 65. Espectro de ¹H RMN para el *r*-1-etil-c-3-(4,5-dimetoxiphenyl)-5,6-dimetoxi-t-2metilindano (<u>12</u>).

En el espectro se logra encontrar los acoplamientos a campos altos correspondientes a los metilos. Esta asignación se realizó tanto para el metilo de la cadena de dos carbonos como para el metilo perteneciente al anillo. Los desdoblamientos para 2-CH₃ y CH₂CH₃ a 0.98 y 1.04 ppm, respectivamente, coinciden con la presencia de los protones vecinales del anillo saturado. De igual forma se observan los cuatro grupos metoxilos, pertenecientes a los anillos aromáticos del compuesto. La región aromática contiene los cinco protones esperados en el indano finalmente obtenido. Para la nomenclatural se emplearon las letras, r (referencia), c (*cis*) y t (*trans*), anteponiendo el sustituyente e indicando como se encuentra con respecto al etilo (sustituyente de referencia (r)).

Como se mencionó en la sección **1.2.3**. (figura 9), estos dímeros pueden presentar diferentes configuraciones: a (1,2-cis-2,3-trans), ß (1,2-cis-2,3-cis), γ (1,2-trans-2,3-trans) y δ (1,2-trans-2,3-cis). Para poder hacer la asignación correcta para la estructura γ (1,2-trans-2,3-trans) del ciclodímero, se valoraron las constantes de acoplamiento entre los protones del anillo de cinco miembros. Esto debido a la posibilidad de orientaciones de los sustituyentes en la conformación "sobre" para la estructura anular. Al igual que para el diisoeugenol, el diisohomogenol mostró constantes de acoplamiento característica para sistemas trans-trans. A pesar que el protón 3-H se expresa solapado por la señal de un metoxilo, se logró medir su acoplamiento, donde J = 10.9 Hz. De igual forma, debido al acoplamiento spin-spin

para el protón vecinal 2-H, expresado como un multiplete, se observaron constantes de acoplamiento con valores superiores a 7.0 Hz. Estos detalles, encontrados en el espectro ¹H RMN, demuestran que el sistema obtenido corresponde a una conformación γ (1,2-*trans*-2,3-*trans*). Acorde con lo planteado anteriormente por Moltrasio y col., el sistema se encuentra impedido estéricamente, lo cual lleva a su estabilización, orientando los sustituyentes voluminosos como el arilo en posiciones lejanas, prefiriendo una posición *pseudoecuatorial* (Fig. 66).



Figura 66. Conformación y (1,2-trans-2,3-trans), para la mezcla racémica 16.

En el espectro de carbono (¹³C RMN), realizado para el dímero, se logró también obtener información importante. Este análisis igualmente es apoyado en el registro obtenido para el DEPT-135, el cual presenta una señal en fase negativa correspondiente al grupo metilénico de esta unidad -CH₂CH₃. De igual forma se puede corroborar la presencia de los carbonos cuaternarios aromáticos, comparando los dos registros (Fig. 67).



Figura 67. Correlación entre los espectros de ¹³C y DEPT-135 para el y-diisohomogenol.

Los carbonos presentes en la estructura propuesta están directamente unidos a otros grupos funcionales. En el espectro HSQC (heteronuclear single quantum correlation) átomos H y C, tomado para el compuesto, se pueden establecer las uniones entre cada uno de los carbonos que contienen unido directamente un hidrógeno. De esta forma se logra determinar cuáles son los carbonos cuaternarios que están presentes (complementando la información proporcionada por DEPT-135) y las uniones C-H. Esta última característica enriquece la información de la estructura, debido a que fundamenta la obtención del anillo carbocíclico.

Al analizar el espectro, se observa el acoplamiento entre los protones asignados para los metilos y las señales a 12.21 y 13.78 ppm. De igual forma, las señales atribuidas a los hidrógenos metilénicos están correlacionas con una misma señal a 22.41 ppm. Esta observación nos permite aseverar que estos protones no presentan equivalencia magnética. Por otro lado, los protones del ciclo de cinco miembros, 1-H (2.93 ppm) y 2-H (2.46) están directamente enlazados con los carbonos que aparecen a 48.52 y 49.55 ppm, respectivamente. En la región aromática se determinaron los acoplamientos entre los carbonos del grupo Ar y sus respectivos protones (Fig. 68).



Figura 68. Correlación heteronuclear ¹³C y ¹H para el y-diisohomogenol, 400 MHz, CDCl₃.

La molécula de y-diisohomogenol presenta el fragmento MeCH₂. Este le permite presentar diferentes confórmeros. Esta característica estructural fue estudiada a través de los acoplamientos homonucleares debido a las tres posibles conformaciones para la estructura esperada (Fig. 69).



Figura 69. Posibles confórmeros del dímero cíclico 16.

El espectro de correlación espectroscópica ¹H-¹H (COSY) mostró una variación en la intensidad de las señales de los protones diaesterotópicos metilénicos y su disminución en los niveles de contorno que se generan al acoplar con el protón 1-H. En este caso el protón H^C presenta una interacción magnética con los protones H^A y H^B. Sin embargo, según el confórmero de mayor estabilidad debería presentar diferencias en la interacción homonuclear. Esto se debe a la rotación a través del enlace C-C de la cadena. Según estas disertaciones para encontrar la conformación de mayor aporte en la estructura del compuesto se encontró la evidencia, en el espectro COSY (Fig. 70).



Figura 70. Acoplamiento vecinal entre los protones H^By H^A con el protón H^C del comfórmero <u>16a</u>.

Finalmente, se obtuvieron evidencias de la formación estructural del dímero del metileugenol. Posteriormente se llevó a cabo la dimerización del anetol, empleando las condiciones verdes encontradas en el diseño experimental preliminar (Tabla 11). Se utilizó el anetol comercial, obteniendo un producto sólido con carácter cristalino con un 43 % de rendimiento. Se planteó la síntesis y se estudiaron los resultados obtenidos (Esquema 47)



Esquema 47. Síntesis del metanetol <u>17</u>, a partir del anetol comercial.

En principio se espera que la vía de reacción por la cual se obtienen todos estos sistemas, sea la misma. Se obtuvieron las propiedades físico-químicas del producto. Sin embargo, en la medición del punto de fusión, el compuesto no logró el cambio de estado a temperaturas mayores a 250 °C. De igual forma, se llevaron a cabo las pruebas de solubilidad, encontrando diferencias marcadas con respecto los dímeros anteriores.

Seguido a esto, se llevó a cabo el estudio instrumental del producto obtenido, valorando la presencia de los grupos funcionales presentes en la estructura por medio de espectroscopia IR. Sin embargo, los datos obtenidos no representaron información relevante del producto de reacción. Se observaron valores de longitud de onda, atribuidas a modos vibracionales, similares a los obtenidos para el diisohomogenol.

En vista de la necesidad de esclarecer la formación del metanetol, se pasó a través de CG obteniendo como resultado una mezcla de más de siete componentes. En esta mezcla se puede observar que aparece un pico 22.16 min. Del mismo modo se obtienen otros registros a tiempos de retención mayores y menores al de mayor intensidad (22.16 min) (Fig. 71).



Figura 71. Perfil cromatográfico del metanetol.

Para la señal de mayor intensidad se obtuvo el espectro de masas, mostrando que el valor del ión molecular, corresponde con la masa molar del producto. La primera pérdida de 29 unidades corresponde a la fragmentación particular de estos sistemas donde se plantea la ruptura simple en la cadena radical anclada a la posición C-2 del anillo. Esta unidad CH_2CH_3 , es liberada generando el IPB, como es común en estos sistemas, las demás fragmentaciones no representan mayor aporte a la corriente iónica total (Fig. 72).



Figura 72. Espectro de masas del metanetol.

Posterior a los datos obtenidos por CG-EM, se llevó a cabo otro proceso de purificación de la mezcla, empelando cromatografía en columna. Se obtuvo un sólido blanco como única fracción, el cual fue eluido con un sistema polar constituido por éter de petróleo/acetato de etilo (1:1). El sólido obtenido fue analizado nuevamente por CG-EM sin obtener mejores resultados.

El compuesto obtenido, según masas, debe corresponder al metanetol. Este dímero esperado ya ha sido obtenido con anterioridad.^{52·54} Sin embargo, en otros reportes recientes, demuestran la capacidad que pueden tener los β -metilestirenos como el isoeugenol y anetol para generar polímeros¹⁴³ (Fig. 73).



Figura 73. Unidad monomérica en polímeros de 8-metilestirenos.

De esta forma se considera probable la formación del polímero. Esto posiblemente pueda ser referido al hecho de no presentar punto de fusión definido. Por otro lado, no fue posible su registro por RMN, obteniéndose señales con una línea base poco definida. La aparición del pico por CG-MS puede ser debido a la fragmentación en el puerto de ionización de la cadena polimérica. A pesar de que todas estas son posibles explicaciones a la obtención del sólido blanco como producto, es necesario comprobar su estructura a través de pruebas básicas para sistemas de mayor peso molecular.

Seguido al estudio de los dímeros, diisoeugenol, diisohomogenol y metanetol, se desarrolló una investigación particular sobre la acción del isoeugenol como precursor en la reacción de DA.

4.6. SÍNTESIS DE 1,2,3,4-TETRAHIDROQUINOLINAS, AZA-ANÁLOGOS DE NEOLIGNANOS PRESENTES EN LA *Myristica fragrans* Y LA *Machilus thumbergii*

Lograr acceder a modelos (neo)lignanos se ha convertido en un reto para los químicos orgánicos. Por esta razón, se han empleado variedad de metodologías sintéticas para acceder a estructuras lignánicas naturales e incluso se han implementado ciertas transformaciones a componentes extraídos, buscando potencializar alguna actividad biológica específica.

Una de las estrategias más llamativas para introducir en la molécula objetivo la mayor cantidad de detalles tipo lignano, es obteniendo algunos modelos aza-análogos de los (neo) lignanos, de los cuales se encuentran reportes biomédicos interesantes.^{144, 145}

Algunos alcances sintéticos para acceder a estos azaneolignanos han sido desarrollados en el LQOBio, incluyendo motivos estructurales del anetol y el isoeugenol. En estos trabajos se reportó la obtención de nuevos modelos heterocíclicos por medio de la reacción de DA promovida por BF_3 ·OEt₂ y algunos análogos azalignánicos y benzofuranos, en condiciones suaves y disolventes novedosos como el PEG-400.⁶² En la continuación de nuestros estudios hacia modelos lignánicos, en el presente apartado se demuestra la versatilidad de la reacción de DA y su robustez al emplear nuevos sistemas catalíticos como son ácidos de Brönsted y ácidos de Lewis soportados en gel de sílice. De igual forma se observa la viabilidad que ofrece la reacción de DA en la diversificación del anillo tetrahidroquinolínico, obteniendo análogos de productos naturales.

Inicialmente se llevó a cabo el estudio de los parámetros de reacción, considerando la viabilidad de obtener procesos sintéticos más eco-amigables. Se emplearon las condiciones convencionales, reportadas por el LQOBio para la síntesis de 1,2,3,4-tetrahidroquinolinas (THQ).⁷⁵ De igual forma se emplearon los catalizadores en soportes sólidos obtenidos en apartados anteriores como potenciales ácidos de Brönsted en la reacción de cicloadición (Esquema 48).



Esquema 48. Síntesis de heterolignanos con diferentes catalizadores.

En esta reacción específica para el modelo heterolignano sin sustituyentes, se mantuvo en agitación y a 60 °C hasta que se consumió totalmente la 3,4-metilendioxianilina de

partida para un promedio de 10 h. Los resultados obtenidos se expresan en la siguiente tabla.

Catalizador	Tiempo de reacción (h)	Cat. (% p/p)	Rendimiento (%)
BF ₃ ·OEt ₂ *	10	10	40 (38)
$BF_3 \cdot OEt_2/SiO_2$	7	Esteq. (1:1)	40
SiO_2OSO_3H	10	Esteq. (1:1)	30
$\mathrm{HClO}_4/\mathrm{SiO}_2^*$	15	Nulo	Nulo

Tabla 11. Resultados de los parámetros evaluados para la reacción de DA (MeCN y 60 °C).

* Fue realizada en MeCN y PEG 400

A pesar de que el mejor rendimiento obtenido fue para un catalizador homogéneo como el BF₃·OEt₂, los catalizadores heterogéneos demostraron tener cierta actividad para la síntesis de este sistema. En el caso del ácido sulfúfrico soportado (derivado del ácido clorosulfónico) soportado, este presentó un 30 % de rendimiento. Posteriormente, se llevó a cabo la síntesis de una nueva serie de heterolignanos, empleando las condiciones que arrojaron los mejores rendimientos (Esquema 49).



Esquema 49. Síntesis de una nueva serie de aza neolignanos (<u>18 25</u>).

La reacción de cicloadición se vio favorecida al emplear la 3,4-metilendioxianilina y aldehídos dotados tanto de grupos activantes (OH y OMe) como desactivantes (COOH). En este caso el dienófilo empleado, a pesar de no ser común, promueve la reacción. Este alqueno presenta detalles estructurales como el OH y el OMe que logran activar la cadena propenílica hacia la formación del cicloaducto de seis miembros en la reacción de DA. La reacción imino DA ha concebido una amplia variedad de trabajos científicos publicados debido a la disponibilidad de precursores y las condiciones suaves de reacción. Esta variante de la cicloadición catalizada por ácidos próticos o AL fue desarrollada por Povarov¹⁴⁶ con bases de Schiff (iminas), - dienos electro deficientes y dienófilos "ricos" en densidad electrónica (Esquema 50, ruta a). El mecanismo por el cual ocurre esta cicloadición ha sido ampliamente discutido, se cree que la reacción se da a través de intermediarios catiónicos.¹⁴⁷ Sin embargo, no se deja atrás el carácter pericíclico que pueda presentar la vía de reacción. Una amplia variedad de reportes teórico-prácticos apuntan hacia una cicloadición de forma concertada, generando estados de transición hexacíclicos^{148, 149, 150} (Esquema 50, ruta b).



Esquema 50. Posible mecanismo para la obtención de heterolignolidos 18 25.

Recientemente Kouznetsov reportó una revisión a cerca de la reacción de Povarov en la obtención de N-heterociclos como las THQ y poliheterociclos. En esta revisión se plantea la viabilidad de las dos posibles rutas por las cuales se pueda dar la cicloadición.¹⁵¹ De esta forma se plantea las dos posibles rutas del mecanismo para la obtención de los aza-análogos <u>18-25</u> (Esquema 50, ruta a y b).

Los heterolignanos obtenidos presentan pesos molares elevados y su comportamiento según los procesos de purificación deja ver de forma clara la afinidad con sistemas de solventes altamente polares. Por otro lado, los rendimientos generados por la ruta sintética utilizada, oscilan entre el 40 y el 70%.

Tabla 12. Parámetros fisicoquímicos para los heterolignanos obtenidos.



Comp.	\mathbf{R}_1	\mathbf{R}_{2}	\mathbf{R}_3	\mathbf{R}_4	Pf. (°C)	Rto (%)	Tiempo de Reac. (h)
<u>18</u>	Н	Н	Н	Н	220 - 221	40	10
<u>19</u>	OH	Н	Н	Н	238 - 239	55	8
<u>20</u>	Н	Н	OH	Н	244 - 245	47	8
<u>21</u>	Н	OMe	OH	Н	258 - 260	45	6
<u>22</u>	Н	OH	OMe	Н	205 - 206	50	9
<u>23</u>	Н	OMe	Н	OMe	212 - 213	58	9
<u>24</u>	Н	OMe	OMe	OMe	209 - 210	64	9
<u>25</u>	COOH	Н	Н	Н	264 - 264	70	6

Posterior a la obtención de las nuevas moléculas, se procedió a su caracterización por técnicas instrumentales. Los análisis instrumentales realizados por medio de espectroscopia infrarrojo presentaron resultados favorables como un aliciente de la efectividad de la reacción. La estructura molecular base de los heterolignanos se caracteriza por presentar los siguientes grupos muy característicos: -OH, -NH, -OCH₃, y -CH₃, los cuales que permiten fácilmente su identificación en esta primera fase de la elucidación de la estructura.

Al igual que para los compuestos anteriores, los aza-análogos contienen motivos estructurales concedidos por el fenilpropano introducido en el producto final. Estos grupos funcionales junto con los elementos introducidos por el aldehído y la anilina son identificados en el espectro de <u>18</u> (Fig. 74).



Figura 74. Espectro IR del heterolignano 18.

En la identificación de cada una de las bandas de absorción más relevantes, se asignaron inicialmente los modos vibracionales para la amina, el hidroxilo, entre otros¹⁵² (Tabla 14). Todas las bandas principales fueron identificas para las moléculas <u>18·25</u>.

		Bandas	de absorción (c	m ⁻¹)	
THQ	Vib.T. OH	Vib.T. NH	Vib.F. NH	Vib.F. OH	Vib.T. CO
<u>18</u>	3394	3394	1628	1481	1157
<u>19</u>	3379	3379	1612	1481	1162
<u>20</u>	3386	3386	1612	1481	1165
<u>21</u>	3510	3356	1628	1481	1157
<u>22</u>	3410	3309	1589	1481	1165
<u>23</u>	3518	3363	1628	1481	1142
<u>24</u>	3450	3379	1589	1481	1165
<u>25</u>	3371	3371	1612	1481	1180

Tabla 13. Características espectrales de IR para las moléculas (<u>18-25</u>).

Como se puede observar, para toda la serie se obtuvieron datos que concuerdan con lo estructura propuesta. Para algunas moléculas se apreció un solapamiento entre las vibraciones del NH y el OH entre $3400 \text{ y} 3300 \text{ cm}^{-1}$, razón por la cual se expresan como una sola. De igual forma tiene una estrecha relación todos los datos registrados, obteniendo un patrón de absorción claro, según los modos de absorción comunes en cada estructura. Por otro lado, en el caso del derivado ácido, se encontró una banda a 1666 cm⁻¹. Esta absorción es específica para el grupo C=O del ácido carboxílico.Dando continuación al estudio espectral, se llevó a cabo el ensayo de CG-EM para las estructuras obtenidas. Sin embargo, debido al rango de masas trabajado (50-450 m/z), la masa molar de los compuestos y sus altos puntos de fusión, no fue posible detectarlas a través de este análisis. Solo en el caso de <u>18</u> se logró el registro tanto cromatográfico como en el detector selectivo de masas (Fig. 75).



Figura 75. Perfil cromatográfico del aza-neolignano <u>18</u>.

En el cromatograma se observa un aumento en la línea base, posiblemente por deterioro de la columna. De igual forma se observa un pico a 34.07 min, atribuido según las bases de datos a un octilitalato. Por otro lado, a 37.21 min aparece un pico que corresponde a un área relativa de 99.8 % de la corriente iónica total. Esta señal, según el registro de masas, corresponde al menos a un compuesto con M^+ = 389 m/z.

De este modo fueron registrados los iones en espectro de masas para el compuesto analizado. Cada una de las señales demuestra un modo particular de fragmentación correspondiente a una estructura aromática, argumentado por la presencia de iones como 91, 77, y 51 m/z (Fig. 76).



Figura 76. Espectro de masas de 2-fenil-4-(4-hidroxi-3-metoxi)-3-metil-3,4-metilendioxi-1,2,3,4tetrahidroquinolina (<u>18</u>).

En el espectro se puede observar la presencia del ion molecular 389 m/z, debido a que es el ion de mayor masa y su fragmentación inicial corresponde a la salida de un formilo de 29 unidades como pérdida lógica. De igual forma se puede observar el IPB con 252 m/z. Este catión puede ser atribuido a la estructura aromática con pérdida consecutivas del metilo y el guayacoilo (Ar posición C-4). Con la información del M⁺⁺ se puede certificar la formación de el heterolignano con benzaldehído. Este indicio se sostuvo como una prueba de que la ruta sintética era viable hacia la obtención del compuesto. Sin embargo, las demás moléculas no fueron identificadas por el análisis CG-EM debido a su poca volatilidad. El análisis de ¹H y ¹³C RMN, se hizo necesario en la búsqueda de la estructura. Como ejemplo en el estudio estructural, se empleó la molécula <u>23</u>. Se obtuvo el espectro ¹H RMN y se relacionaron las señales con cada uno de los protones de la estructura propuesta (Fig. 77).

Todos los protones de la THQ <u>23</u> fueron identificados en el registro obtenido para resonancia. La región alifática presenta el CH₃ ubicado en el C-3 del núcleo tricíclico, al igual que el multiplete correspondiente al protón 3-H. Estos se encuentran a 0.44 y 2.02 ppm, respectivamente. Por otro lado, a desplazamientos hacia campo bajo, se encuentran los protones situados en los carbonos C-2 y C-4. Estos se encuentran desdoblados en dupletas a 3.54 (C-4) y 3.9 ppm (C-2), con J = 10.8 y 9.8 Hz, respectivamente.



Figura 77. Espectro de ¹H RMN para el heterolignano, 2-(3,5-dimetoxifenil)-4-(4-hidroxi-3metoxi)-3-metil-3,4-metilendioxi-1,2,3,4-tetrahidroquinolina (**23**).

Entre estas dos dupletas se observan tres señales casi de igual intensidad y aspecto. Estas corresponden a los tres metoxilos presentes en el compuesto. De igual forma, una característica común en todos los espectros obtenidos, corresponde a la dupleta asignada para dos protones que están a 5.73 ppm, con J = 9.2 Hz adjudicados al CH₂ del ciclo metilendioxilo. Todos los protones aromáticos fueron identificados, destacando los protones 5-H (5.86 ppm) y 8-H (7.02 ppm), los cuales se expresan como singuletes a campos bajos con desplazamientos diagnósticos para todos los espectros obtenidos.

El análisis espectroscópico de la molécula <u>23</u> permitió una asignación tentativa de los protones con cada una de las señales en la RMN protónica obtenida. Para la correlación entre los carbonos y los protones, se llevó a cabo un análisis de acoplamiento heteronuclear HSQC (Fig. 78).

Así se logra visualizar en el espectro cada uno de los posibles acoplamientos entre cada protón y el carbono al cual esté unido directamente, en el caso de los metoxilos y los aromáticos menos resueltos, no es posible asociarlos entre sí. Por otro lado, los protones del hidroxilo y el NH se observan claramente, debido a que no presentan acoplamiento con ninguno de los carbonos expresados en ¹³C para el HSQC. Esto nos permite tener otro indicio sobre la estructura y la asignación realizada para cada protón en la figura 77.



La elucidación de la estructura se culminó con el análisis HMBC (Heteronuclear

Multiple Bond Correlation). Este ensayo igualmente se realizó para el heterolignano <u>23</u> (Fig. 79).



Figura 79. Acoplamiento homonuclear a largo alcance HMBC para el heterolignano 23.

Según el registro de HMBC tomado, es posible estructurar aún más los resultados espectrales y establecer relaciones a largo alcance terminando de fundamentar cada una de las señales inspeccionadas en cada uno de los espectros. Finalmente, se presentan los principales acoplamiento a largo alcance (Fig. 80).



Figura 80. Interacciones H/C a largo alcance, según HMBC para el compuesto <u>23</u>.

Teniendo una idea clara de la molécula formada y la regioselectividad de la reacción debido al acoplamiento del protón 4-H con los protones $2 \cdot H_{Ar}$ y $6 \cdot H_{Ar}$. Del mismo modo se determinó una interacción entre el protón 2-H y los protones $2 \cdot H_{Ar}$ y $6 \cdot H_{Ar}$ del arilo. Estos detalles espectrales nos permiten en principio, definir la forma en la que se dispuso el isoeugenol para llevar a cabo la cicloadición. Otro aspecto importante en las reacciones de cicloadición es la estereoquímica. Conjuntamente con la regioselectividad que presenta esta cicloadición, la estereoselectividad del cicloaducto es un aspecto importante a considerar para llegar a entender el mecanismo por el cual transcurre la reacción. La reacción de DA se caracteriza por presentar regio- y estéreo selectividad.

Según lo establecido por Houk en 1976,¹⁵³ la particularidad de que el dienófilo se encontrara en disposición *trans*, iba a conferir la misma configuración al cicloaducto. Por tanto, el ambiente estereoquímico de las moléculas obtenidas fue estudiado, empleando los estudios realizados por ¹H RMN.

En los espectros obtenidos se puede observar tres señales de interés para definir la conformación que toma el producto final. En general, el anillo del ciclohexano puede tomar dos conformaciones preferenciales, *bote* o *silla*; de éstas la que más favorece la estabilidad de la molécula es el arreglo tipo *silla* debido a la poca interacción en el espacio entre los sustituyentes.¹⁵⁴ En principio, se puede asumir que la THQ se comporta estructuralmente como el ciclohexeno debido a su anillo saturado, además los sustituyentes más voluminosos tienden a estar situados en las posiciones ecuatoriales.

La determinación de las ubicaciones relativas de cada uno de los grupos en las moléculas fue determinada por medio de ¹H RMN. Cuando un sistema de protones tipo AX entran en resonancia y sus ubicaciones son a lados opuestos del plano, los protones *axial-axial (aa)* presentan constantes de acoplamiento del orden de 11-13 Hz. Igualmente, cuando las constantes tienen un valor de 2-4 Hz, la disposición de los protones es de carácter *ecuatorial ecuatorial (ee)*.¹⁵⁵ Según la región correspondiente a los desplazamientos de los protones 2-H, 3-H y 4-H, y la determinación de las *J* para cada una de los desdoblamientos presentados, se observa la formación de un único diastereoisómero en la cicloadición. Para los protones 2-H y 4-H en el heterolignano

 $\underline{23}$, los valores de las constantes generadas por el desdoblamiento con el núcleo de H-3, son 9.8 y 10.8 Hz, respectivamente (Fig. 81).



Figura 81. Acoplamiento aa entre los protones 2·H/3·H, y 3·H/4·H de 23.

Con las evidencias instrumentales recopiladas en la síntesis de los heterolignanos <u>18</u> <u>25</u>, se demuestra la obtención de los compuestos propuestos en este capítulo del trabajo de investigación. De igual forma se encontraron comportamientos comunes en cada una de las moléculas, con sus desplazamientos, multiplicidad y constantes de acoplamiento (Tabla 15)

Tabla 14. Registros espectrales en ¹H RMN de los aza-análogos (18-23).



Despla.	Desplazamientos químicos (δ, ppm), multiplicidad y constante de acoplamiento (J, Hz).								
Comp.	NH	2-H	3-H	4-H	5-H	OMe	ОН	8-H	3-CH3
<u>18</u>	5.56, br. s	4.43, d, J= 9.5	2.05, m	3.58, d, J=10.6	5.89, s	3.72, s	9.10, s	8.70, s	$0.55, \\ d, \\ J = 6.4$
<u>19</u>	5.56, br. s	4.45, d, J= 9.7	2.07, m	3.58, d, J=10.7	5.89, s	3.72, s	9.40, s	8.78, s	0.50, d, J= 6.4
<u>20</u>	5.55, br. s	3.85, d, J = 9.8	1.91, m	3.53, d, J=10.7	5.85, s	3.71, s	8.78, s	9.32, s	$0.42, \\ d, \\ J = 6.4$

<u>21</u>	5.54, br. s	3.85, d, J= 9.4	1.97, m	3.53, d, J= 10.2	5.84, s	3.71, s	8.77, s	8.77, s	$0.42, \\ d, \\ J = 5.2$
<u>22</u>	5.51, br. s	4.47, d, J = 9.7	2.03, m	3.56, d, J= 10.7	5.89, s	3.71, s	8.77, s	8.62, s	0.43, d, J = 6.4
<u>23</u>	5.60, br. s	3.91, d, <i>J</i> = 9.7	2.01, m	$3.58, \\ d, \\ J = 10.7$	5.86, s	3.72, s	8.78, s	7.02, s	$0.44, \\ d, \\ J = 6.4$
<u>24</u>	5.66, br. s	$3.92, \\ d, \\ J = 9.7$	2.04, m	3.54, d, J= 10.7	5.86, s	3.72, s	8.78, s	6.27, s	0.47, d, J = 6.4
<u>25</u> *	7.84, br. s	4.72, d, <i>J</i> = 10.9	1.84, m	3.76, d, J=10.9	6.17, m	3.67, s	8.89, s	7.92, s	$1.15, \\ d, \\ J = 6.0$

* Se desplaza hacia campos bajos debido a la presencia del grupo carboxilo

Con la asignación de todas las señales para cada uno de los espectros obtenidos y elucidación estructural total de los protones para las moléculas (<u>18</u><u>23</u>), se culminó el desarrollo sintético de los aza-análogos de lignanos extraídos anteriormente de la *Myristica fragrans*. Posteriormente se ajustaron los parámetros de reacción hacia la obtención de compuestos con mayor carácter natural.

4.7. HIDRODESTILACIÓN DE FRUTOS SECOS DE CLAVO (*Eugenia caryophyllus*)

La química de los metabolitos de las plantas es uno de los campos más explorados y con mayor acogida por los químicos. El metabolismo vegetal proporciona sustratos importantes en el desarrollo de química medicinal y en estudios de cosmetología. Ejemplos claros son las mezclas complejas de metabolitos secundarios denominadas aceites esenciales. Éstos se encuentran presentes en una amplia diversidad de especies aromáticas y se pueden clasificar químicamente como quimiotipos definidos, gracias a la presencia mayoritaria de componentes fenilpropanos, C_6 - C_3 . Especies químicas como el eugenol, isoeugenol, estragol, anetol, safrol, isosafrol, entre otras, proveen a las plantas aromáticas y medicinales con propiedades organolépticas, físico-químicas y biológicas sobresalientes.

Razones evidentes sobre la alta cantidad del eugenol en la naturaleza, argumentan el interés hacia esta molécula. Algunas prácticas importantes se han desarrollado apuntando hacia aplicaciones tanto en alimentos como en cosmética y farmacología. Por esto, el LQOBio mantiene su interés en este sistema fenólico gracias a sus características estructurales, las cuales lo hacen atractivo tanto biológica como químicamente. En esta parte del estudio se busca encontrar una relación del porcentaje de obtención del aceite y además corroborar lo encontrado en la literatura con relación al porcentaje de los componentes principales de dicha mezcla. En estudios posteriores se buscará demostrar la posible aplicación hemisintética del aceite.

De esta forma se realizó la hidrodestilación por el método clásico según la metodología expuesta en el numeral **4.7.1**. Se obtuvieron 26.63 g de aceite lo cual equivale a un

rendimiento de extracción del 11.28 % de los frutos secos. Este porcentaje en peso del aceite obtenido, demuestra que los cartuchos de clavos adquiridos en el mercado local pueden presentar un alto contenido de aceite. Lo anterior se consigue, si se emplea el calentamiento convencional en la HD.

4.7.1. Análisis de la composición química del AE de frutos secos de clavo

Seguido a la obtención y almacenamiento, aislado de fuentes de oxidación, el AE de brotes florales de clavo fue analizado por CG-EM, obteniendo información valiosa sobre los componentes mayoritarios en la mezcla, según lo observado en la corriente iónica total reconstruida (Fig. 82). Para efecto de éste estudio en la identificación de los compuestos mayoritarios, se usaron como criterios espectroscópicos los espectros de masas obtenidos, las referencias bibliográficas y el *matching* realizado según las bases de datos.



Figura 82. CIT del AE de brotes florales secos de clavo (Eugenia caryophyllus).

Con la información registrada en el perfil cromatográfico anterior, se logró identificar los componentes principales del aceite. Estos constituyen casi el 80 % de composición del AE. Los principales componentes fueron identificados empelado los índices de Kovats (columna apolar DB-5) y espectrometría de masas (IE, 70 eV). Estos compuestos son registrados en la tabla 16.

No. Comp.	Compuesto	RT ^a (min)	KI₽	Porcentaje ^c
2	Eugenol	34.35	1363	60.5
3	β-cariofileno	37.09	1438	7.5
4	α-humuleno	38.26	1472	1.7
5	Acetato de eugenilo	39.82	1520	7.0

Tabla 15. Componentes principales del AE de frutos secos de clavo.

^a Tiempo de retención en columna apolar DB-5, ^b Índices de Kovats en columna DB-5, ^c Porcentajes reportados como áreas cromatográficas sin factor de corrección.

Teniendo presente los datos obtenidos, se demuestra el alto potencial que tiene la especie de clavo para producir el eugenol en alto porcentaje. La identidad del eugenol fue ratificada por medio del detector selectivo de masas. Este compuesto ha sido identificado en esta especie y su extracción se ha llevado a cabo por diversos métodos.¹⁵⁶

El espectro de masas registró el pico de mayor área relativa. Este ocurre a un tiempo de retención de 34.35 min. En el espectro se logró determinar el M⁺ = 164 (Fig. 83).



Figura 83. Espectro de masas del eugenol a 70 eV.

En el espectro se observa el pico de mayor masa, el cual concuerda con la masa molar del eugenol. Para éste sistema, como molécula de interés para estudios posteriores, fue propuesta una posible ruta de fragmentación correlacionada con el espectro de masas obtenido (Esquema 51).



Esquema 51. Ruta de fragmentación propuesta para el isoeugenol.

Inicialmente el M^{+·} sufre una pérdida lógica de m/z 15, atribuida posiblemente al radical metilo (CH₃•). Posteriormente se obtiene un fragmento de m/z 131, proveniente de Φ_1 debido a la pérdida consecutiva de dos radicales, (OH•) y (H•). Una pérdida característica para los fenoles corresponde a la escisión de una molécula neutra de CO con un previo reordenamiento en el anillo aromático, obteniendo dos posibles iones fragmento Φ_3 y Φ_4 con 103 y 121 m/z, respectivamente.

Todos los fundamentos recogidos en el análisis del AE obtenido, permiten certificar la presencia del componente fenólico de interés. De igual forma se demostró que el fragmentograma mantiene una correlación lógica con el eugenol. Estos resultados del proceso global sobre obtención del eugenol, permiten emplear este componente como precursor en metodologías de síntesis.

4.8. TRANSFORMACIONES QUÍMICAS DEL ACEITE ESENCIAL DE CLAVO

4.8.1. Isomerización del eugenol y el aceite esencial de clavo bajo condiciones básicas de reacción

Las metodologías empleadas en nuestro trabajo han presentado un carácter amigable ambientalmente. El uso de catalizadores sólidos, solventes inocuos y rutas convergentes, que incluyen el criterio de economía atómica en el diseño sintético, fundamentan en gran parte el aporte en esta investigación. Otra vía para aportar características "verdes" en la síntesis orgánica, es incluir dentro de los procesos materiales que sean renovables y que aporten en gran proporción los precursores requeridos.

En este apartado se demuestra el potencial de la naturaleza para proveer de materiales renovables en la síntesis orgánica. Moléculas de nuestro interés como los heterolignanos fueron los modelos a sintetizar. De esta forma se realizaron las transformaciones del aceite esencial de clavo obtenido en el apartado anterior.

Uno de los mayores obstáculos en desarrollo sintético de (neo) lignanos derivados del isoeugenol, es su escacez en las plantas. A diferencia de esto, se ha demostrado el aporte composicional del eugenol en el aceite esencial de clavo, ya sea en las hojas o en los cartuchos.⁶ De este modo y teniendo como referencia la metodología inicialmente empleada por Červenỳ y col.,¹⁰³ se llevó a cabo la isomerización del eugenol comercial y el AE obtenido en el proceso de hidrodestilación. Priorizando en uso de sólidos catalíticos, se realizó el proceso de isomerización según el protocolo establecido por Jasra y col.,¹⁰⁴ empleando la alúmina con una solución de KOH al 10 % (Esquema 52).



Esquema 52. Isomerización del eugenol a isoeugenol en condiciones básicas.

La transformación del aceite fue realizada por los dos métodos diferentes reportados en la literatura química. En el caso del sólido básico, se realizó libre de solvente y para el KOH se empleó etilenglicol como medio de reacción. La temperatura de reacción se mantuvo entre 150 y 175 °C. El crudo obtenido fue analizado por CG-EM, obteniendo el perfil cromatográfico de la mezcla y los iones obtenidos en cada uno de los picos de la CIT.

Tanto para el KOH en solución como para su versión sólida, se observaron resultados positivos. En ambos casos la conversión obtenida para el soporte fue menor o igual. La actividad catalítica de este sólido fue reportada con anterioridad para estos sistemas β-metilestirenos. La conversión en la reacción patrón, empleando el eugenol comercial, resultó ser más efectiva. Como otra diferencia observada en los resultados de la isomerización, la selectividad para la alúmina impregnada fue mayor. Los cálculos de conversión y selectividad fueron realizados por medio de la ecuación descrita por Jasra¹⁵⁷ en la isomerización usando complejos de metales de transición.

La identificación de los componentes principales del crudo estuvo sujeta al registro de masas y el cotejo realizado con los espectros de las bases de datos. El porcentaje de conversión fue calculado en función de las áreas relativas obtenidas por CG. De igual forma se estableció una relación entre la mezcla de isómeros obtenida, mostrando la selectividad hacia el isómero *trans* (Tabla 17)

Catalizador	Precursor	Conversion (%)	Selectividad trans-(%)
KOH 4M	Eugenol	90	72
10 % KOH/Alumina	Eugenol	88	90
KOH 4M	AE	93	78
10 % KOH/Alumina	AE	70	92

Tabla 16. Resultados de conversión y selectividad para la isomerización.

Según los espectros de CG-EM, se identificaron residuos de eugenol a 7.86 min con un área relativa del 6.7 %. De igual forma se identificaron de forma tentativa el isoeugenol en configuración *cis* a un $t_R = 8.89$ min y su disposición *trans* a un tiempo de retención mayor (9.49 min) y un área relativa de 50.5 %. Esta información fue arrojada para el ensayo realizado con solución de KOH 4M. Por otro lado, cuando se emplea el sólido básico se identificaron los tres componentes, el eugenol, *cis*-isoeugenol

y *trans*-isoeugenol a 8.78, 9.58 y 10.37 min, respectivamente. Los registros obtenidos para los dos ensayos mostraron mezclas complejas en el crudo analizado.

De igual forma, una de las vías para comprobar que se llevó a cabo la isomerización son las reacciones posteriores a las cuales fue sometida la mezcla que se obtuvo.

4.8.2. Metilación, cicloadiciones [3+2] y [4+2] del aceite esencial de clavo isomerizado

Posterior a la isomerización del aceite se llevaron a cabo las reacciones anteriores en las cuales se utilizaron el metil isoeugenol y el isoeugenol. Según los precursores anteriormente empleados, las reacciones de metilación y cicloadición son modelos potenciales para la reacción del aceite transformado. El compuesto mayoritario obtenido, el *cisl trans*-isoeugenol fue usado dentro del crudo obtenido de la isomerización sin previa purificación. El porcentaje proporcionado por los registros de CG-EM fue la base para los cálculos estequiométricos en cada una de las reacciones. Una visión global de la aplicación del AE de clavo en el desarrollo sintético de nuestra investigación se observa en el siguiente esquema.



Esquema 53. Reacciones realizadas para el aceite isomerizado.

Los compuestos obtenidos empleando el aceite esencial de clavo fueron identificados inicialmente con el factor de retención en CCF. El patrón sintetizado primeramente con el isoeugenol comercial, sirvió como punto de comparación. Los rendimientos calculados se obtuvieron con base en el porcentaje de *cis\trans*-isoeugenol presente en el aceite isomerizado (Tablas 18). A pesar de que el precursor se trata de una mezcla compleja, incluyendo isómeros *cis\trans* del dienófilo, la reacción ocurre de forma

estereoselectiva (según el producto mayoritario separado finalmente por purificación en CC). La explicación de este fenómeno se puede sustentar según lo planteado anteriormente por Sauer donde se establece un posible intermediario con libre rotación alrededor del enlace simple C2-C3, orientando los sustituyentes hacia posiciones definidas después del cierre de anillo (Fig. 84).



Figura 84. Posible intermediario de la cicloadición [4+2].

De esta forma si el dienófilo presenta una conformación diferente al generar la cicloadición, es posible que mantenga la esteroquímica *trans/trans* (en principio más estable), con un rápido cierre del anillo para impedir la rotación de los sustituyentes o favoreciéndola para su estabilidad.

Tabla 17. Carbo- y heterociclos sintetizados con AE clavo y sus rendimientos.

MeO HO 55		MeO MeO 40		R ₂ R ₁	R ₃ H OH	ну R5 ////// ОСН3
	<u>15</u>		<u>16</u>	-	<u>18-20, 27</u>	7- <u>28</u>
Comp.	$\mathbf{R_1}$	\mathbf{R}_2	\mathbf{R}_3	\mathbf{R}_4	\mathbf{R}_{5}	Rto (%)
<u>18</u>	-O-CH ₂ -O-	Н	Η	Η	Η	35
<u>19</u>	-O-CH ₂ -O-	Н	OH	Η	Η	55
<u>20</u>	-O-CH ₂ -O-	Η	Η	OH	Η	40
<u>27</u>	Н	Н	Η	Η	Η	40
<u>28</u>	Н	Н	NO_2	NO_2	Η	48
<u>29</u>	NO_2	Н	Η	NO_2	Η	40

Según los resultados expuestos en la tabla, los rendimientos obtenidos indican la viabilidad de la ruta sintética convergente empleada. Por otro lado, los sistemas electrodeficientes resultan ser excelentes modelos a sintetizar por medio de metodologías ambientalmente amigables. Emplear materiales renovables como precursores en reacciones clásicas y novedosas, resulta ser una alternativa en la síntesis de prototipos moleculares.

En el caso de las estructruras obtenidas sin la unidad metilendioxi, los compuestos <u>27</u>-<u>29</u>, fueron estudiadas a través de métodos instrumentales y sus propiedades físicoquímicas fueron evaluadas. Los compuestos obtenidos fueron generados en tiempos de reacción relativamente bajos y sus rendimientos, partiendo de una mezcla compleja como el aceite esencial isomerizado, fueron promisorios.

La cicloadición [4+2] de Diels-Alder permite la diversificación del anillo y su modificación llamada reacción de Povarov, deja clara la amplia variedad de compuestos que se pueden emplear como precursores en esta herramienta sintética. De igual forma utilizar grupos electroatrayentes promueve la formación del cicloaducto, como el caso del grupo NO₂ en posición C-1, C-3 y C-4. La elucidación de la estructura estuvo precedida inicialmente el estudio realizado por IR. El grupo NO₂, se caracteriza por generar dos señales en 1380 cm⁻¹ y 1570 cm⁻¹, pertenecientes a una vibración de tensión simétrica (Vib.T.S.) y asimétrica (Vib.T.A.), respectivamente. Este indicio constituye un claro avance en el esclarecimiento de la estructura. Al igual que para las estructuras metilendioxilo-THQ, estos heterolignolidos no fueron detectados por CG-EM. Esto pudo ser debido a sus altos puntos de fusión y por ende, baja volatilidad. Por otro lado, sus características estructurales se estudiaron empleando ¹H RMN (Fig. 85). Mediante este ensayo se elucidó la estructura según el comportamiento anteriormente descrito en los compuestos <u>18</u> <u>25</u>.



Figura 85. Espectro ¹H RMN de 8-nitro-4-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-3-metil-2-(2-nitrofenil)-1,2,3,4-tetrahidroquinolina <u>28</u>.

En el espectro se puede observar las señales necesarias para identificar la presencia de cada uno de los protones de la molécula, su ambiente químico es igualmente percibido gracias a la multiplicidad de cada señal. Los acoplamientos para cada uno de los protones se asemeja a los espectros anteriormente discutidos para los heterolignanos. Una característica que se puede resaltar es la desprotección que sufre el protón amínico debido a la presencia de los grupos nitro, altamente electronegativos, lo que hace desplazar a campos bajos con valores de casi 9 ppm. Las tres moléculas carentes del grupo metilendi-oxi fueron elucidadas totalmente, obteniendo los resultados esperados tanto regio como estereoquímicamente.

En este sentido, se logró establecer parámetros de reacción con características ecoamigables. Se demostró de forma clara que el uso del aceite esencial de clavo es viable, novedoso y efectivo en transformaciones químicas. Éstas resultan ser claves en la obtención de nuevos carbo- y heterociclos. Por otro lado, a pesar que se empleó una mezcla compleja como el aceite esencial isomerizado y metilado, se alcanzó un desarrollo sintético altamente selectivo.

4.9. ESTUDIOS DE ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE GRUPOS SELECCIONADOS DEL PANEL DE MOLÉCULAS OBTENIDAS

4.9.1. Estudio de inhibición *in vitro* de la acetilcolinesterasa (AChE) como diana de interés en el tratamiento terapéutico contra el Alzheimer

Con el aumento de la calidad de vida y el avance tanto científico como tecnológico en el área de la salud, los seres humanos adquieren una mayor posibilidad de llegar a etapas como la tercera edad. Pero, con el envejecimiento aparecen enfermedades relacionadas con el deterioro de las células, tejidos y órganos. Una de las evidencias de estos transtornos celulares son las enfermedades de tipo senil. La enfermedad de Parkinson y la de Alzheimer (EA) son las de mayor renombre debido a sus efectos paulatinos pero severos.

Algunos estudios estadísticos demuestran el potencial patológico de los desórdenes neurodegenerativos. En el caso de la EA, afecta un 5 % de la población mundial mayor de 65 años,¹⁵⁹ mientras que en Colombia se sabe que aproximadamente uno de cada 10 indviduos valorados presentan desórdenes demenciales.¹⁶⁰

Por otro lado, se conocen la actividad de algunos compuestos naturales y sintéticos en el tratamiento terapeútico de la EA. Moléculas como la galantamina, rivastigmina y el donepezilo hacen parte de la quimioterapia empleada desarrollo neurodegenerativo.¹⁶¹ Gracias al desarrollo de la biología molecular se han establecido algunas bases biológicas para estudiar la EA. La hipótesis colinérgica fundamentada en el proceso de neurotransmisión realizado por la acetilcolina, se mantiene dentro de las herramientas para la búsqueda de nuevos compuestos que disminuyan los efectos del envejecimiento. De esta forma dicha hipótesis, propone la AChE como la diana de estudio. La inhibición de la misma evita la hidrólisis de la acetilcolina y permite la llegada del neurotransmisor a los receptores nicotínicos y muscarínicos.¹⁶² Por tanto, el

desarrollo sintético conduce a obtener prototipos moleculares que funcionen como inhibidores de la AChE.

Al inicio de esta parte de nuestra investigación, se evaluó la actividad inhibitoria de los derivados menores de los eugenoles contra la AChE, haciendo un screening "al azar". La acción inhibitoria de la AChE fue realizada por medio del método fotométrico propuesto por Ellman y col. en 1961.¹⁶³ Este método se basa en interacción de la acetiltiocolina con la AChE, formando la tiocolina, la cual posteriormente reacciona con el 5-ditiobis-2-nitrobenzoato (R-SS-R) (Esquema 54) para generar un complejo de color amarillo. Si se agrega un compuesto "activo" que logre inhibir la AChE, habrá un cambio notorio en la intensidad de coloración, que es medida con un espectrofotómetro a 412 nm.



Esquema 54. Principio químico del método de Ellman para la evaluación de inhibición enzimática de la AChE.

Después de llevar a cabo la metología propuesta, se obtuvieron los valores de IC_{50} (concentración a la cual inhibe el 50 % de actividad de la enzima) (Tabla 19), en función de los porcentajes de inhibición obtenidos. Estos fueron calculados por medio de la siguiente ecuación:}

% Inh. $(A_{412}) = 100 \cdot [(AE - AB)/(AC - AB)] \times 100$

AE - Absorbancia lectura muestra

- AC Absorbancia lectura control
- AB Absorbancia lectura blanco

Ecuación 2. Cálculo de porcentaje de inhibición con la AChE.

		IC ₅₀	
Derivado	μM	μg/mL	LogP
OMe	389.9±7.9	69.4±1.4	2.83
	318.3±14.7	64.8±3.2	3.70
O'Me	299.1±13.8	72.8±3.6	4.07
⁴ OMe OMe <u>5</u>	360.6±6.74	64.2±1.2	2.78
OMe	289.4 ± 5.5	63.1±1.2	3.65
e OMe 8	266.9±23.8	55.0 ± 4.9	2.55
	317.9±6.3	65.5±1.3	2.50
OCH ₃ OH I2	366.5±10.8	71.1±2.1	2.00
	258.0±1.3	57.8±0.3	1.75
OCH ₃ OH	413.8±0.1	68.7±0.02	2.84
Galantamina	0.75	0.22	1.09
Fisostigmina	0.05	0.014	2.36

Tabla 18. Valores de IC₅₀ (µg/mL y µM) para los derivados menores de (iso) eugenol.

Según los datos obtenidos para los derivados alquilados ($\underline{2}$, $\underline{4}$), acilados ($\underline{8}$, $\underline{10}$) e hidroximetilados ($\underline{12}$, $\underline{13}$) de los eugenoles, se observa cierta actividad pero no logran inhibir eficazmente.

En los datos reportados se hace referencia al coeficiente de partición (LogP), debido a su importancia para la solubilidad de los compuestos analizados. Para todos los compuestos se obtienen valores de este parámetro, similares incluso a los compuestos de referencia.

Sin embargo, se puede mencionar que los compuestos presentan una pobre inhibición ante la enzima AChE. Para posteriores estudios se pueden definir algunos elementos estructurales necesarios para la actividad del fenilpropano ante la enzima. Posteriormente se extendió el estudio enzimático, analizando la actividad que presentan tanto los indanos como los heterolignanos.

Dentro de los papeles fármaco-biológicos que presentan los THQ se destaca la acción terapéutica sobre enfermedades asociadas al sistema nervioso central (SNC), ejerciendo efectos favorables ante patologías de tipo demencial como en el caso de la EA.¹⁶³ Teniendo en cuenta las referencias anteriores, los heterolignanos son considerados potenciales inhibidores de la AChE.¹⁶⁵ Por tanto, se llevó a cabo la valoración de la actividad inhibidora contra la AChE de algunos compuestos sintetizados. Sin embargo, los heterolignanos presentaron problemas de solubilidad durante el proceso y para este caso se reporta el porcentaje de inhibición a la concentración donde el compuesto empieza a inhibir (Tabla 20).

Heterolignano	Concentración µg/mL	Inhibición (%)
<u>18</u>	125	32.06
<u>20</u>	125	32.99
<u>21</u>	125	33.64
<u>22</u>	125	22.26
<u>23</u>	125	29.53
<u>25</u>	125	22.45
Galantamina	1.95	87.27
Fisostigmina	1.95	85.53

Tabla 19. Concentración y porcentaje de inhibición para los heterolignanos evaluados.

Los resultados de inhibición para cada heterolignano no superan el 50 % a las concentraciones de medición. Por otro lado, los fármacos empleados en la terapia contra la EA, presentan tres veces mayor inhibición a una concentración 100 veces menor. Esto nos permite inferir que los heterolignanos no son buenos prototipos para estudios inhibitorios de la AChE.

En el caso de los indano carbociclos, se calcularon los valores de IC₅₀. Para el ydiisoeugenol (<u>16</u>) se obtuvo un valor de 68.4 µg/mL y el y-diisohomogenol (<u>16</u>) de 358.2 µg/mL. Salta a la vista que el dímero del eugenol, logró inhibir a concentraciones menores de 70 µg/mL, mientras que su análogo metoxilado, carece de actividad alguna. Estos resultados preliminares para los derivados lignánicos, a pesar que no fueron los mejores para esta hipótesis propuesta ante el tratamiento de la EA, no descarta otra vía de acción para las moléculas evaluadas ante esta neuropatología. Es así como también se conoce la relación que tienen los compuestos con capacidad antioxidante para actuar en enfermedades de tipo demencial.¹⁶⁶ De tal forma, se evaluó la actividad antioxidante para algunas moléculas con características pseudonaturales, incluyendo los lignanos carbocíclicos. 4.9.2. Evaluación de la actividad antioxidante (AO) de los derivados fenólicos del isoeugenol y el aceite esencial de frutos secos de clavo, ensayo de decoloración del catión-radical ABTS⁺.

Diversidad de metodologías han sido planteadas para estudiar la capacidad AO de compuestos naturales y sintéticos.¹⁹ En este apartado de la investigación, se llevó a cabo el estudio del potencial AO de compuestos fenólicos derivados del (iso) eugenol y el AE de clavo.

La metodología empleada contienen los fundamentos establecidos por Re y col.¹⁸ en la cual emplean como especie cromógena el ABTS⁺⁺. La molécula de ABTS es activada a través reacciones enzimáticas con mioglobina o peroxidasa. Por otro lado, también se puede remover el electrón por reacciones químicas, así como en este caso donde el $K_2S_2O_8$ actua como oxidante para generar el ABTS⁺⁺ (Esquema 55).



Esquema 55. Obtención del catión-radical ABTS+·.

En este estudio preliminar sobre la búsqueda de moléculas con capacidad para estabilizar el catión-radical, se analizaron los derivados fenólicos del (iso) eugenol. Los compuestos de referencia empleados fueron fenoles sintéticos, BHT y BHA. De igual forma, se empleó la vitamina E como compuesto natural de referencia. Las mediciones de absorbancia se realizaron a 734 nm. Inicialmente se llevó a cabo el análisis de la concentración inhibitoria del Trolox®, obteniendo los valores óptimos de inhibición (Fig. 86). Estos datos de inhibición se realizaron por triplicado.



Figura 86. Curva de inibición del Trolox®.

Teniendo los datos de inhibición del Trolox®, se calculó el valor de $IC_{50} = 23.14 \mu$ M, el cual fue correlacionado con la literatura.¹⁶⁷ De igual modo, se encontraron las inhibiciones de los compuestos analizados y se llevó a cabo el cálculo de TEAC para los compuestos evaluados (Tabla 21).

	TEAC*		. (J	TEAC*		
Comp.	Prom. \pm s	SD (%)	Comp.	Prom. \pm s	SD (%)	
(AE) Syzygium aromaticum	$(11900 \pm 164)^{\dagger}$	0.5	y-Diisoeugenol (<i><u>15</u>)</i>	2.61 ± 0.09	0.6	
Eugenol	1.68 ± 0.05	3				
Dihidroeugenol (<u>14</u>)	1.59 ± 0.02	4	BHT	$1,29 \pm 0,04$ (21000 \pm 308)	3	
Hidroximetileugenol (<u>12</u>)	1.8 ± 0.1	4	BHA	$1,02 \pm 0,04$ (8000 ± 184)	4	
1,3-Dioxano (<i><u>13</u>)</i>	2.49 ± 0.05	1	Vitamina E	$0,89 \pm 0,01$ (3300 ± 47)	1	

 Tabla 20. Valores de TEAC obtenidos para todos los compuestos analizados.

SD % -Desviación estandar, *n = 3 réplicas, †Capacidad Total Antioxidante (mmol Trolox®/Kg sustancia)

Según la revisión bibliográfica, la estequiometria de la reacción entre los derivados eugenólicos y el ABTS⁺ es 1:1. De este modo se obtiene una estabilización de la especie cromógena por medio de los compuestos fenólicos. La capacidad AO está directamente relacionada con la donación del protón ácido de los fenoles hacia el catión-radical¹⁶⁸ (Esquema 56).

$$ABTS^{+} + PhOH \implies ABTS + PhO' + H^{+}$$

Esquema 56. Reacción del ABTS⁺ con una sustancia AO.

Es así como los compuestos estudiados presentan dentro de sus características estructurales el OH fenólico y cumplen con la función propuesta para los AO. El γ diisoeugenol (<u>16</u>) demostró mayor valor de TEAC (2.61) que todos los fenoles estudiados e incluso que los compuestos de referencia. Su valor fue tres veces mayor al producto natural más empelado, la vitamina E. De igual forma el dioxano (<u>13</u>), nunca antes analizado como captor de radicales libres, presentó un valor superior a las moléculas de referencia. Por su parte, el AE de clavo fue estudiado, encontrando su capacidad antioxidante total (TAA) igual a 11900. Este valor fue superior a los registros obtenidos para BHA y vitamina E.

Los resultados hallados demuestran el potencial de los derivados fenólicos del (iso) eugenol para actuar como AO. Gracias a su acción secuestradora de radicales libres que estas estructuras presentan, pueden ser objeto de estudio en diversas enfermedades que se ven afectadas por el desbalance entre antioxidantes y prooxidantes.

Por último, cabe mencionar que los parámetros de reacción para la síntesis de cada uno de los derivados resulta ser conveniente según las exigencias a estos compuestos como productos naturales para su posterior aplicabilidad (sobre todo los productos (<u>13</u>) y (<u>15</u>).

4.9.3. Estudios de bioactividades realizados en conjunto con otros laboratorios de investigación

Estudios antitumorales de THQ con fragmentos estructurales de lignanos

Las 1,2,3,4-tetrahidroquinolinas han sido empleadas como modelos en bioensayos anticancerígenos.¹⁶⁹ Es así como moléculas referentes a este estudio fueron los heterolignanos nitrados en posiciones específicas del *core* estructural. En un estudio realizado por el grupo de Biología Celular de la Universidad Central de Caracas, Venezuela, dirigido por el Dr. Francisco Arvelo, en conjunto con el LQOBio, se evaluó la citotoxicidad de una nueva serie de moléculas tipo heterolignano contra diferentes líneas celulares cancerígenas.¹⁷⁰ Hasta el momento se han obtenido resultados para dos de los heterolignanos y los alquenos precursores, el eugenol e isoeugenol (Tabla 22).

Tabla 21. Resultados p	reliminares obtenidos	s en ensayos ant	itumorales (IC ₅₀ , µM).
------------------------	-----------------------	------------------	-------------------------------------

Comp.	MCF-7	SKBR3	PC3	HeLa	Fibroblastos de dermis humana
<u>27</u>	9.48 ± 1.03	47.43 ± 0.03	33.35 ± 0.02	27.15 ± 0.03	43.95 ± 1.01
<u>28</u>	7.99 ± 1.14	15.46 ± 0.06	16.14 ± 0.01	22.05 ± 0.03	27.47 ± 0.51
Eugenol	NA*	NA	119.8 ± 1.00	148.5 ± 0.5	NA
Isoeugenol	120.95 ± 0.1	171.13 ± 1.1	137.8 ± 1.01	147.1 ± 1.00	180.63 ± 3.8
Adriamycin	0.40 ± 0.50	0.90 ± 0.8	1.28 ± 1.4	1.97 ± 1.12	1.33 ± 1.37

*No activo contra líneas celulares

El compuesto <u>28</u>, 8-nitro-4-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-3-metil-2-(2-nitrofenil)-1,2,3,4tetrahidroquinolina, presentó la mejor actividad citotóxica contra la línea celular MCF-7 y PC3. Estas dos líneas celulares corresponden a células cancerígenas aisladas de cáncer de seno (MCF7)¹⁷¹ y del cáncer de próstata (PC3).¹⁷² El interés por desarrollar nuevos modelos moleculares biológicamente activos, se extiende a la acción que puedan presentar estas moléculas como antioxidantes y antitumorales. Las muertes ocasionadas por el cáncer alcanza valores hasta de 7.4 millones, lo cual equivale a un 13 % de las muertes en el mundo.¹⁷³ De ahí el interés del LQOBio por exponer su quimioteca de moléculas a análisis biológicos contra las líneas celulares MCF-7 y PC3. A pesar de que los heterolignanos nitrados y sin sustituyentes fueron evaluados para líneas cancerígenas de próstata (PC3), mama (MCF-7 y SKBR3) y cervical (HeLa), los mejores resultados IC₅₀ de citotoxicidad fueron obtenidos para los carcinomas MCF-7 (7.99 ± 1.14 µM) y PC3 (16.14 ± 0.01 µM).

El compuesto empleado como referencia fue la andriamicina y su uso en quimioterapia es bien conocido. Esta molécula inhibe fuertemente las líneas celulares estudiadas (Tabla 23). Es evidente el poder destructivo que presenta la adriamicina contra las líneas celulares cancerígenas. Sin embargo al igual que afecta el ADN de las células
anómalas, atenta contra las células que se encuentran en buen estado. Esto puede observarse en el ensayo realizado con una línea celular de fibroblastos de dermis humana, donde el compuesto presenta valores de citotoxicidad de 1.37 μ M. Esto quiere decir que es poco selectivo. La molécula líder encontrada en nuestro estudio, el heterolignano <u>28</u> fue menos tóxica ante los fibroblastos a mayores valores de concentración (27.47 μ M).

Por otro lado, también fueron estudiados los fenoles eugenol e isoeugenol. Las actividades presentadas no fueron relevantes, en el caso del eugenol no fue activo contra los carcinomas de mama y de igual forma inactivo contra las células de dermis humana. Por el contrario, el isoeugenol si presentó actividad y aunque no es comparable con la adriamicina, se ratifica la importancia del enlace conjugado con el anillo aromático.

Según el comportamiento de los dos heterolignanos evaluados hasta ahora, se espera que los compuestos restantes de la serie obtenida, presenten cierta actividad debido a su relación estructura-actividad. Seguido se dirigió la investigación hacia el comportamiento de nuestras balas químicas contra protozoos.

Estudio de la actividad antiprotozoaria *in vitro* contra *Trypanosoma cruzi* y *Leishmania chagasi* de tres derivados del eugenol

La enfermedad de Chagas o tripanosomiasis americana, es una zoonosis crónica, causada por el protozooario flagelado, *Trypanosomoa cruzi*.¹⁷³ Los estudios realizados en Colombia indican que nuestro país se encuentran zonas endémicas donde de 20000 personas evaluadas, el 30 % se encuentran infectadas. De igual forma, en esta revisión, se reporta que 3 millones de personas se encuentran en riesgo (11 % de la población en la década de los 80).¹⁷⁵ Debido a que nuestro país se encuentra dentro del área geográfica predominante de esta enfermedad diversos grupos de investigación unen esfuerzos en virtud de disminuir efectos de mortandad.

Otra patología zoonótica de importancia para la salud pública es la leishmaniasis.¹⁷⁶ En Colombia, esta enfermedad es reconocida debido a su devastador efecto en las regiones endémicas como la costa pacífica Colombiana. Alrededor de 55888 casos entre 1985 y 1995, dentro de los cuales predominó la leishmaniasis cutánea.¹⁷⁷ Al igual que los triatominos se comportan como los vectores del *T. cruzi*, el mosquito flebótomo (*Lutzomyia* en América), también conocido como mosca de arena, se identifica como el vector del protozoo del género Leishmania.¹⁷⁸

Los efectos precedidos por la infecta con los microorganismos pueden ser fatales. Actualmente muchos laboratorios de los países tropicales dirigen sus investigaciones en búsqueda de nuevas moléculas que presenten alguna acción biológica contra estos parásitos, debido a los efectos adversos de los fármacos empleados hasta ahora para la terapia química (nifurtimox, beznidazol y antimoniales pentavalentes). El Laboratorio de Química Orgánica y Biomolecular (LQOBio) en conjunto con el Centro de Investigación en Enfermedades Tropicales (CINTROP) avanza en estudios contra los protozoos causantes de la leishmaniasis y la tripanosomiasis. Los estudios preliminares se llevaron a cabo valorando la actividad inhibitoria de los derivados del eugenol obtenidos, donde hasta el momento se obtuvieron datos de tres de ellos. Los resultados fueron tabulados para los isómeros *p*-nitrobenzoilados ($\underline{9}$ y $\underline{11}$) y el acetato de isoeugenilo ($\underline{10}$), comparados con los compuestos de referencia, nifurtimox (*T. cruzi*) y anfotericina B (*L. chagasi*) (Tabla 23).

	Trypanosoma cruzi		Leishmania chagasi		Toxicidad			
Comp.	Forma Epimastigotes		Forma Promastigotes		Células Vero		Células THP-1	
-	IC_{50}	IC_{90}	IC_{50}	IC_{90}	CC_{50}	CC_{90}	CC_{50}	CC_{90}
	70.42	95.56	71.20	>100	20.47	>100	ND*	ND
e e e e e e e e e e e e e e e e e e e	6.92	23.46	8.64	>100	31.38	>100	ND	ND
	24.73	>100	>100	>100	88.06	>100	ND	ND
Nifrutimox	0.67	0.12			17.63	21.00	ND	ND
Anfotericina B			0.02	0.02			0.17	0.17

Tabla 22. Valores de IC_{50} e IC_{90} (µM) contra *T. cruzi* y *L. chagasi*, para tres derivados acilados fenilpropánicos.

*ND-no determinado

Estos compuestos obtenidos en el segundo apartado del desarrollo sintético, demostraron tener actividad inhibitoria contra protozoos tanto de leishmania como de tripanosoma. Los datos obtenidos para el *p*-nitrobenzoato de eugenilo (\underline{g}), son muy buenos puesto que los valores de inhibición se encuentran por debajo de los valores exigidos para la obtención de un compuesto cabeza de serie (< 10 µM), teniendo en cuenta que este compuesto resultó menos tóxico que los fármacos de referencia.

Estos compuestos no han sido evaluados anteriormente en estudios de parasitología. Por otro lado, algunos aceites con alto contenido de eugenol reportaron valores de inhibición contra el parásito hasta de 57.3 μ M en su forma tripomastigote.¹⁷⁹ Por tal razón, la derivatización hecha en esta investigación resultó ser apropiada, mejorando la actividad ante el crecimiento del parásito. Este importante resultado esperanzador sobre el tamizaje de la serie de moléculas sintetizadas propone mantener esfuerzos hacia este tipo de derivados acilados. Por último, además de la bioactividad pronunciada del compuesto <u>9</u>, se encontraron resultados importantes tanto de las rutas sintéticas, parámetros de reacción y catalizadores, como en los bioensayos realizados.

5. CONCLUSIONES

Se generó una pequeña serie de derivados O-alquilados y O-acilados del (iso) eugenol, incluyendo en la estructura del fenilpropano grupos protectores empleados comúnmente como el metilo, bencilo, metalilo y prenilo, y cuatro derivados acilados con cloruro de acilo y de *p*-nitrobenzoilo.

Se llevó a cabo la reacción de hidroximetilación del eugenol bajo condiciones básicas de reacción. De igual forma y, por primera vez, bajo estas condiciones, se obtuvo un derivado 1,3-dioxano (<u>13</u>) del isoeugenol.

Se obtuvo el dihidroeugenol (<u>14</u>) empleando condiciones de reducción e implementando el PEG 400 como solvente en reacciones con vehículos sólidos como el carbono, Pd como catalizador en presencia de H_2 molecular.

Se reprodujo la obtención de soportes catalíticos ácidos como el $HClO_4/SiO_2$, SiO_2 -O-SO₃H y BF₃·OEt₂/SiO₂. De igual forma, se obtuvo un catalizador básico sólido, reportado anteriormente en la literatura (10% KOH/Al₂O₃).

Se sintetizaron de forma efectiva y diastereoselectiva los dímeros del isoeugenol (<u>15</u>) y metilisoeugenol (<u>17</u>), empleando la catálisis heterogénea (SiO₂-O-SO₃H) como medio de reacción ambientalmente amigable, obteniéndose en rendimientos superiores al 80 %.

Se obtuvo una serie de ocho heterolignanos (THQ) no reportados en la literatura, los cuales fueron caracterizados y su análisis por RMN sustentó la obtención de un único diastereoisómero γ (1,2-*trans*-2,3-*trans*) como mezcla racémica.

Se empleó la alúmina impregnada con KOH al 10 % para la isomerización del eugenol y el aceite esencial de clavo, obteniendo conversiones del 70 % y una selectividad del 92 % hacia el isómero *trans*-isoeugenol.

El crudo obtenido de la isomerización fue empleado, por primera vez, en la síntesis de derivados carbo- heterociclos del isoeugenol, obteniendo diasteroselectivamente los dímeros indánicos (y-diisoeugenol y y-diisohomogenol) y seis derivados heterolignanos (THQ) con orientaciones pseudoecuatoriales para los sustituyentes más voluminosos en el anillo saturado.

Se encontraró un conjunto de moléculas muy potentes como atrapadores de radicales libres teniendo valores de TEAC superiores (> 1.5) a los compuestos de referencia (sintéticos BHA, BHT y para el producto natural, vitamina E). El γ -diisoeugenol resultó ser el mejor captor, evaluado con el método TEAC. Esto lo propone como un compuesto líder en el desarrollo de un nuevo agente AO de procedencia natural.

Los estudios de actividad antitumoral demostraron la capacidad del compuesto <u>28</u>, 8nitro-4-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-3-metil-2-(2-nitrofenil)-1,2,3,4-tetrahidroquinolina, en la inhibición de líneas celulares cancerígenas MCF-7 (7.99 ± 1.14 µM) y PC3 (16.14 ± $0.01~\mu$ M). De igual forma su selectividad entre carcinomas y células benignas fue superior a la obtenida por el fármaco de referencia.

Al evaluar tres derivados acilados de los eugenoles ante protozoos flagelados, se encontró que el *p*-nitrobenzoato de eugenilo (\mathcal{G}) presenta un IC₅₀ = 6.92 µM contra *T. cruzi* (forma epimastigote) y 8.64 µM contra *L. chagasi* (forma promastigote), valores destacables para ser un compuesto líder en estudios biomédicos.

6. BIBLIOGRAFÍA

- 1. *Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt.* Bogotá D. C.,Colombia. 181p.
- 2. Guilliin, M. D. and Manzanos, M. J. A study of several parts of the plant *Foeniculum vulgare* as a source of compounds with industrial interest. *Food Res. Int.* **1996**, 29, 85-88.
- Rawat, A. K.; Tripathl, R. D.; Khan, A. J. and Balasubrahmanyam, V. R. Essential Oil Components as Markers for Identification of *Piper betle L. Cultivars. Biochemical* Systematics and Ecology. 1989, 17, 35-38.
- 4. Tuan, D. Q. and Ilangantilekete, S. G. Liquid CO₂ Extraction of Essential Oil from Star Anise Fruits (*Illicium verum* H.). J. Food. Eng. **1997**, 31, 47-57.
- Sousa, E.; Martínez, J.; Chiavone-Filho, O.; T.V. Rosa, P.; Domingos, T. and Meireles, A. A. Extraction of volatile oil from *Croton zehntneri* Pax et Hoff with pressurized CO₂: solubility, composition and kinetics. *J. Food. Eng.* 2005, 69, 325-333.
- 6. DeVincenzi, M.; Silano, M.; Maialetti, F. and Scazzocchio, B. Constituents of aromatic plants: II. Estragole. *Fitoterapia*. **2000**, 71, 725-729.
- Jirovetz, L.; Stoyanova, A.; Buchbauer, G.; Krastanov, A.; Stoilova, I. and Schmidt, E. Chemical Composition and Antioxidant Properties of Clove Leaf Essential Oil. J. Agric. Food Chem. 2006, 54, 6303-6307.
- Keum, Y-S.; McQuate, G. T. and Qing, X. L. Synergists isolated from cade oil for the parapheromone α-ionol for male *Bactrocera latifrons* (Diptera: Tephritidae). *Biochemical Systematics and Ecology.* 2007, 35, 188-195.
- Setzer, W.; Noletto, J. A. and Lawton, R. O. Chemical composition of the floral essential oil of *Randia matudae* from Monteverde, Costa Rica. *Flavour Fragr. J.*, 2006, 21, 244-246.
- 10. Nakamura, K.; Matsubara, K.; Watanabe, H.; Kokubun, H.; Ueda, Y.; Okubo, N.; Nakayama, M. and Ando, T. Identification of *Petunia hybrida* cultivars that diurnally emit floral fragrances. *Scientia Horticulturae*, **2006**, 108, 61-65.
- Suárez, M.; Duque, C.; Bicchi, C.; Wintoch, H.; Full, G. and Schreier, P. Volatile Constituents from the Peelings of Lulo (*Solanurn vestissimum D.*) Fruit. *Flavour Fragr. J.* 1993, 8, 215-220.
- Medina-Holguín, A. L.; Holguín, O.; Micheletto, S.; Goehle, S.; Simon, J. A. and O'Connell, M. A. Chemotypic variation of essential oils in the medicinal plant, *Anemopsis californica. Phytochemistry*, **2008**, 69, 919–927.
- Garrote, G.; Kabel, M. A.; Schols, H. A.; Falqué, E.; Domínguez, H. and Parajó, J. C. Effects of Eucalyptus globulus Wood Autohydrolysis Conditions on the Reaction Products. J. Agric. Food Chem. 2007, 55, 9006–9013.
- El-Ghorab, A.; Shaaban, H. A.; El-Massry, K. F. and Shibamoto, T. Chemical Composition of Volatile Extractand Biological Activities of Volatile and Less-volatile Extracts of Juniper Berry (*Juniperus drupacea* L.) Fruit. J. Agric. Food Chem., 2008, 56, 5021–5025.
- 15. Opdyke. D. L. J. Isoeugenol, Fragrance raw materials monographs. *Food and Cosmet. Toxicol.*, **1975**, 13, 815-817.
- 16. Migliore, L. and Coppedè, F. Environmental-induced oxidative stress in neurodegenerative disorders and aging. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis.* **2009**, 674, 73-84.
- 17. Sharma, O. P. and Bhat, T. K. DPPH antioxidant assay revisited. *Food Chemistry*. **2009**, 113, 1202–1205.

- Re, R.; Pellegrini, N.; Proteggente, A.; Pannala, A.; Yang, M. and Rice-Evans, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Rad. Bio. Med.*, **1999**, 26, 1231-1237.
- 19. Boonprakob, U.; Crosby, K. Cisneros-Zevallos, L. and Hawkins Byrne, D. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *J. Food Comp. Anal.*, **2006**, 19, 66-675.
- 20. Scherer, R. and Teixeira, H. Antioxidant activity index (AAI) by the 2,2-diphenyl-1picrylhydrazyl method. *Food Chem.*, **2009**, 112, 654–658.
- Nenadis, N. Zhang, H.-Y. and Tsimidou, M. Structure-Antioxidant Activity Relationship of Ferulic Acid Derivatives: Effect of Carbon Side Chain Characteristic Groups. J. Agric. Food Chem. 2003, 51, 1874-1879.
- 22. Bortolomeazzi, R.; Sebastianutto, N.; Toniolo, R. and Pizzariello, A. Comparative evaluation of the antioxidant capacity of smoke flavouring phenols by crocin bleaching inhibition, DPPH radical scavenging and oxidation potential. *Food Chem.* **2007**, 100, 1481–1489.
- Amiri, A.; Dugas, R.; Pichot, A. and Bompeix, G. In vitro and in vivo activity of eugenol oil (*Eugenia caryophylata*) against four important postharvest apple pathogens. *Int. J. Food Mic.* 2008, 126, 13–19.
- 24. Knio, K. M.; Usta, J.; Dagher, S.; Zournajian, H. and Kreydiyyeh, S. Larvicidal activity of essential oils extracted from commonly used herbs in Lebanon against the seaside mosquito, *Ochlerotatus caspius. Bioresour. Technol.* **2008**, 99, 763–768.
- Santoro, G. F.; Cardoso, M. G.; Guimarães, L. G.; Mendonça, L. Z. and Soares, M. J. *Trypanosoma cruzi*: Activity of essential oils from *Achillea millefolium* L., *Syzygium aromaticum* L. and *Ocimum basilicum* L. on epimastigotes and trypomastigotes. *Experimental Parasitology*. 2007, 116, 283-290.
- Rossi, P.-G.; Bao, L.; Luciani, A.; Panighi, J.; Desjobert, J.-M. Costa, J.; Casanova, J.; Bolla, J.-M. and Berti, L. (*E*)-Methylisoeugenol and Elemicin: Antibacterial Components of Daucus carota L. Essential Oil against Campylobacter jejuni. *J. Agric. Food Chem.* 2007, 55, 7332-7336.
- Shokeen, P.; Bala, M.; Singh, M. and Tandon, V. In vitro activity of eugenol, an active component from *Ocimum sanctum*, against multiresistant and susceptible strains of *Neisseria gonorrhoeae. Int. J. Ant. Agents*, 2008, 32, 174–179.
- 28. Gill, A. O. and Holley, R. A.; Mechanisms of Bactericidal Action of Cinnamaldehyde against *Listeria monocytogenes* and of Eugenol against *L. monocytogenes* and *Lactobacillus sakei. Appl. Environ. Microbiol.*, **2004**, 70, 5750–5755.
- Pisano, M.; Pagnan, G.; Loi, M.; Mura, M. E.; Tilocca, M. G.; Palmieri, G.; Fabbri, D.; Dettori, M. A.; Delogu, G.; Ponzoni, M. and Rozzo, C. Antiproliferative and proapoptotic activity of eugenol-related biphenyls on malignant melanoma cells. *Molecular Cancer*, 2007, 6, 1-12.
- 30. Ngoh, S.; Choo, E. W.; Pang, F. Y.; Huang, Y.; Kini, M. R. and Ho, S. H. Insecticidal and Repellent Properties of Nine Volatile Constituents of Essential Oils against the American Cockroach, Periplaneta americana (L.). *Pestic. Sci.* **1998**, 54, 261-268.
- Cheng, S.-S.; Liu, J.-Y.; Chang, E.-H. and Chang, S.-T. Antifungal activity of cinnamaldehyde and eugenol congeners against wood-rot fungi. *Bioresour. Technol.* 2008, 99, 5145–5149.
- 32. Tognolini, M.; Ballabeni, V.; Bertoni, S.; Bruni, R.; Impicciatore, M. and Barocelli, E. Protective effect of Foeniculum vulgare essential oil and anethole in an experimental model of thrombosis. *Pharmacological Research*, **2007**, 56, 254–260.
- 33. Cespedes, C. L.; Avila, J. G.; Martínez, A.; Serrato, B. Calderon-Mugica, J. C. and Salgado-Garciglia, R. Antifungal and Antibacterial Activities of Mexican Tarragon (*Tagetes lucida*). J. Agric. Food Chem. 2006, 54, 3521-3527.
- Smollny, T.; Wichers, H.; Kalenberg, S.; Shasa, A.; Petersen, M.; and Alferman, W. Accumulation of Podophyllotoxin and Related Lignans in Cell Suspension Cultures of *Linum album. Phytochemistry*, **1998**, 48, 975-979.

- 35. Moss, G. P. Nomenclature of Lignans and Neolignans. *Pure Appl. Chem.* **2000**, 72, 1493-1523.
- 36. Da Silva Filho, A. A.; Tomazela, D. M.; Albuquerque, S.; Bastos, J. K.; Silva, M. L. A. and Eberlin, M. N. Tetrahydrofuran Lignans from Nectandra megapotamica with Trypanocidal Activity. *J. Nat. Prod.* 2004, 67, 42-45.
- Cutillo, F.; D'abrosca, B.; Fiorentino, A.; Dellagreca, M. and Zarrelli, A. Lignans and Neolignans from Brassica fruticulosa: Effects on Seed Germination and Plant Growth. J. Agric. Food Chem. 2003, 51, 6165-6172.
- 38. Charlton, J. L. Antiviral Activity of Lignans. J. Nat. Prod. 1998, 61, 1447-1451.
- Salemm, M.; Ja Kim, H.; Saiq Ali, M. and Lee, Sup. Y. An update on bioactive plant lignans. Nat. Prod. Rep., 2005, 22, 696-716.
- 40. Slanina, J. and Glatz, Z. Separation procedures applicable to lignan analysis. J. Chromatography B. 2004, 812, 215-229.
- 41. Ward. R. S. The Synthesis of Lignans and Neolignans. *Chem. Soc. Rev.* **1982**, 11, 75-125.
- 42. Wu, Y.; Zhang, H.; Zhao, Y.; Zhao, J.; Chen, J. and Li, L. A New and Efficient Strategy for the Synthesis of Podophyllotoxin and Its Analogues. *Org. Lett.* **2007**, 9, 1199-1202.
- Lopez-Perez, J.; Abad, A.; del Olmo, E. and San Feliciano, A. Correct structures of Diels-Alder adducts from the natural cyclolignan thuriferic acid and its 8-epimer. *Tetrahedron* 2006, 62, 2370-2379.
- Singha, R.; Singha, G. and Ghosh, S. A novel approach to functionalized (*E*)-1,4-diaryl-1-butenes by Heck reaction and their applications for the construction of dibenzylbutyrolactone lignan skeletons by radical cyclization. *J. Org. Chem.* 2005, 46, 4719-4722.
- Eklund, P.; Lindholm, A.; Mikkola, J.-P.; Smeds, A.; Lehtila, R. and Sjoholm, R. Synthesis of (-)-Matairesinol, (-)-Enterolactone, and (-)-Enterodiol from the Natural Lignan Hydroxymatairesinol. Org. Lett. 2003, 5, 491-493.
- 46. Erdtman, H. Outstanding Problems in Lignin Chemistry. Ind. Eng. Chem. 1957, 49, 1385-1386.
- 47. Fadel, F.; Titouani, S.; Soufiaoui, M.; Ajamay, H. and Mazzah, A. Synthèse de nouveaux dérivés tétrahydroquinoléines et quinoléines via la réaction d'aza-Diels-Alder suivie d'aromatisation. *Tetrahedron Lett.* **2004**, 45, 5905-5908.
- Wang, E.-C.; Wein, Y.-S. and Kuo, Y.-H. A concise and efficient synthesis of salvinal from isoeugenol via a phenoxenium ion intermediate. *Tetrahedron Lett.* 2006, 47, 9195-9197.
- Kwon, H. S.; Kim, M.-J.; Jeong, H. J.; Yang, M. S.; Park, K. H.; Jeong, T.-S. and Lee, W. S Low-density lipoprotein (LDL)-antioxidant lignans from *Myristica fragrans* seeds. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2008, 18, 194-198.
- 50. Angle, S. R. and Arnaiz, D. Formal [3+2] Cycloaddition of Benzylic Cations with Alkenes. J. Org. Chem. 1992, 57, 5937-5947.
- 51. Murakami, Y.; Shoji, M.; Hirata, A.; Tanaka, S.; Yokoe, I. and Fujisawa, S. Dehydrodiisoeugenol, an isoeugenol dimer, inhibits lipopolysaccharide-stimulated nuclear factor kappa B activation and cyclooxygenase-2 expression in macrophages. *Arch. Biochem Biophy.* **2005**, 434, 326-332.
- Bergmann, W. and McAlee, W. The Isolation of Metanethole from the Sponge, Like the synthetic material, the sponge product *Spheciospongia vesparia*. J. Am. Chem. Soc. 1951; 73, 4969-4970.
- Torviso, R.; Lantaño, B.; Erlich, M.; Alesso, E.; Finkielsztein, L.; Moltrasio, G.; Aguirre, J. and Brunet, E. Synthesis of 1-ethyl-2-methyl-3-arylindanes. Stereochemistry of fivemembered ring formation. *ARKIVOC*, 2003, x, 283-297.
- 54. MacMillan, J. and Martin, I. Tricyclic dimers of propenylphenyl ethers-I NMR and Stereochemistry. *Tetrahedron*, **1969**, 25, 905-914.

- 55. Torviso, M.; Alesso, E.; Moltrasio, G.; Vázquez, P.; Pizzio, L.; Cáceres, C. and Blanco, M. Effect of the support on a new metanethole synthesis heterogeneously catalyzed by Keggin heteropolyacids. *Applied Catalysis A.* 2006, 301, 25-31.
- 56. Griengl, H. and Foidl, G. Process for Making Derivatives of dimmers of isoeugenol. Patent US 4256764. **1981**.
- 57. Farhan, A.; Keehn, E.; Philip, M. and Stevenson, R. Dimerization of isoeugenol, isoeugenyl methyl ether and isoeugenyl acetate. *J. Chem. Res.* **1992**, 3, 100-101.
- Zolyomi, G.; Banfi, D.; Lang, T. and Korosi, J. Heterocyclic compounds. III. Synthesis of ¹⁴C-labeled 1-(3,4-dimethoxyphenyl)-5-ethyl-7,8-dimethoxy-4-methyl-5H-2,3-benzodiazepines. Chem. Ber. 1974, 107, 3904-3907.
- Kozlova, Z. G.; Ivanova, I. Ya.; Kore, S. A.; Livshits, A. Ya.; Osipova, V. P.; Tsepalov, V. F.; Shlyapintokh, V. Ya. and Livshits, A. G. Selection of stabilizers for perfumes. Patent US 224741, 1968.
- 60. Madrigal, B.; Puebla, P.; Peláez, R.; Caballero, E. and Medarde, M. Naphthalene Analogues of Lignans. J. Org. Chem. 2003, 68, 854-864.
- Jacobs, C.; Frotscher, M.; Dannhardt, G. and Hartmann, R. 1-Imidazolyl(alkyl)-Substituted Di- and Tetrahydroquinolines and Analogues: Syntheses and Evaluation of Dual Inhibitors of Thromboxane A₂ Synthase and Aromatase. *J. Med. Chem.* 2000, 43, 1841–1851.
- 62. Kouznetsov, V.; Bello Forero, J. and Amado Torres, D. A simple entry to novel spiro dihydroquinoline-oxindoles using Povarov reaction between 3-N-aryliminoisatins and isoeugenol. *Tetrahedron Lett.* **2008**, 49, 5855-5857.
- 63. Kouznetsov, V.; Merchan, D. R. and Romero, A. R. PEG-400 as green reaction medium for Lewis acid-promoted cycloaddition reactions with isoeugenol and anethole. *Tetrahedron Lett.* **2008**, 49, 3097-3100.
- 64. Nicolaou, K. C.; Snyder, S. A.; Montagnon, T. and Vassilikogiannakis G. The Diels-Alder Reaction in Total Synthesis. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, 41, 1668-1698.
- 65. Fringuelli, F. and Tatichi, A. The Diels-Alder Reaction Selected Practical Methods, Ed, John Wiley and Sons, England, **2002**, p. 3-5.
- Yin, D.; Li, C.; Li, B.; Tao, L. and Yin, D. High Regioselective Diels-Alder Reaction of Myrcene with Acrolein Catalyzed by Zinc-Containing Ionic Liquids. *Adv. Synth. Catal.* 2005, 347, 137-142.
- Houk, K. N.; Lin, Y. and Brown, F. K. Evidence for the Concerted Mechanism of the Diels-Alder Reaction of Butadiene with Ethylene. J. Am. Chem. Soc. 1986, 108, 554-556.
- Sauer, J. Diels-Alder Reactions: The Reaction Mechanism. Angew. Chem. Int. Ed. 1967, 6, 16-33.
- 69. Sauer, J. and Sustmann, R. Mechanistic Aspects of Diels-Alder Reactions: A Critical Survey. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1980**, 19, 779-807.
- Goldstein, E.; Beno, B. and Houk, K. N. Density Functional Theory Prediction of the Relative Energies and Isotope Effects for the Concerted and Stepwise Mechanisms of the Diels-Alder Reaction of Butadiene and Ethylene. J. Am. Chem. Soc. 1996, 118, 6036-6043.
- Karadakov, P. B.; Cooper, D. L. and Gerratt, J. Modern Valence-Bond Description of Chemical Reaction Mechanisms: Diels-Alder Reaction. J. Am. Chem. Soc. 1998, 120, 3975-3981.
- 72. Carey, F. and Sundberg, R. Advanced Organic Chemistry, Part B: Reactions and Synthesis, Four Edition, 2001, New York, p. 331-332.
- 73. Buonora, P.; Olsenb, J. and Oh, T. Recent developments in imino Diels-Alder reactions. *Tetrahedron.* **2001**, 57, 6099-6138.
- 74. Povarov, L.S. Russ. Chem. Rev. 1967, 36, 656-670.
- 75. Stevenson, P. J. and Graham, I. Unprecedented regio and stereocontrol in Povarov reaction of benzylidene-(3-nitrophenyl) amine. *ARKIVOC*, **2003**, 7, 139-144.

- 76. Kouznetsov, V. V.; Romero Bohórquez, A. R.; Astudillo Saavedra, L. and Fierro Medina, R. An efficient synthesis of new C-2 aryl substituted quinolines based on three component imino Diels-Alder reaction. *Molecular Diversity*, **2006**, 10, 29-37.
- 77. Meléndez, C. M.; Kouznetsov, V.; Sortino, M.; Zacchino, S. and Alvarez, S. In vitro antifungal activity of polyfunctionalized 2-(hetero) arylquinolines prepared through imino Diels-Alder reactions. *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, 16, 7908-7920.
- Bhagat, S. and Mathur, R. Synthesis of New Derivatives of Eugenol and Isoeugenol. J. Chem. Eng. Data. 1982, 27, 209-210.
- 79. Carrasco, H.; Espinoza L.; Cardile, V.; Gallardo, C.; Cardona, W.; Lombardo, L.; Catalán, M.; Cuellar, M. and Russo, A. *J. Braz. Chem. Soc.* **2008**, 19, 543-548.
- Sadeghian, H.; Mohammad, S.; Mohammad, S.; Saberi, R.; Arghiani, Z. and Riazi, M. Design and synthesis of eugenol derivatives, as potent 15-lipoxygenase inhibitors. *Bioorg. Med. Chem.* 2008, 16, 890-901.
- 81. Bertrand, F.; Basketter, D.; Roberts, D. and Lepoittevin, J.-P. Skin Sensitization to Eugenol and Isoeugenol in Mice: Possible Metabolic Pathways Involving ortho-Quinone and Quinone Methide Intermediates. *Chem. Res. Toxicol.* **1997**, 10, 335-343.
- Trusheva, B.; Popova, M.; Bankova, V.; Simova, S.; Cristina, M.; Laguna, P.; Rocha F. and Tsvetkova, I. Bioactive Constituents of Brazilian Red Propolis. *eCAM*. 2006, 3, 249-254.
- 83. Bankova, V. Recent trends and important developments in propolis research. *eCAM* **2005**, 2, 29-32.
- 84. Kimoto, T.; Aga, M.; Hino, K.; Koya-Miyata, S.; Yamamoto, Y.; Micallef, M.; Hanaya, T.; Arai, S.; Ikeda, M. and Kurimoto, M. Apoptosis of human leukemia cells induced by Artepillin C, an active ingredient of Brazilian propolis. *Anticancer Res.* 2001, 21, 221-228.
- 85. Pisco, L.; Kordian, M.; Peseke, K.; Feist, H.; Michalik, D.; Estrada, E.; Carvalho, J.; Hamilton, G.; Rando, D. and Quincoces, J. Synthesis of compounds with antiproliferative activity as analogues of prenylated natural products existing in Brazilian propolis. *Eur. J. Med. Chem.* **2006**, 41, 401-407.
- 86. Uto, Y.; Ae, S.; Koyama, D.; Sakakibara, M.; Otomo, N.; Otsuki, M.; Nagasawa, H.; Kirk, K. and Hori, H. Artepillin C isoprenomics: Design and synthesis of artepillin C Isoprene analogues as lipid peroxidation inhibitor having low mitochondrial toxicity. *Bioorg. Med. Chem.* 2006, 14, 5721-5728.
- 87. Epifano, F.; Genovese, S.; Menghini, L. and Curini, M. Chemistry and pharmacology of oxyprenylated secondary plant metabolites. *Phytochemistry*, **2007**, 68, 939-953.
- 88. Saglam, H.; Gözler, T. and Gözler B. New prenylated arylnaphthalene lignan from *Haplophyllum myrtifolium. Fitoterapia*, **2003**, 74, 564-569.
- 89. Salatino, A.; Teixeira, W.; Negri, G. and Message, D. Origin and Chemical Variation of Brazilian Propolis. *eCAM*. **2005**, 2, 33-38.
- 90. Hoarau, C. and Pettus, T. Strategies for the Preparation of Differentially Protected ortho-Prenylated Phenols. *Synlett*, **2003**, 30, 127-137.
- 91. Anastas, P. and Warner, J. Green Chemistry: Theory and Practice. *Green Chemistry Books.* **1999**, 21-22.
- 92. Tyman, J. The Role of Biological Raw Materials in Synthesis. *Studies in Natural Products Chemistry*, **1995**, 17, 601-654.
- 93. Jacob, R.; Perin, G.; Botteselle, G. and Lenardaõ, E. Clean and atom-economic synthesis of octahydroacridines: application to essential oil of citronella. *Tetrahedron Lett.* **2003**, 44, 6809-6812.
- Jacob, R.; Perin, G.; Loi, L.; Pino, C. and Lenardaõ, E. Green synthesis of (-)-isopulegol from (+)-citronellal: application to essential oil of citronella. *Tetrahedron Lett.* 2003, 44, 3305-3608.
- 95. Kouznetsov, V.; Romero, A. and Stashenko, E. Three-component imino Diels-Alder reaction with essential oil and seeds of anise: generation of new tetrahydroquinolines. *Tetrahedron Lett.* **2007**, 48, 8855–8860.

- 96. Andrade, C. and Alves, L. Environmentally Benign Solvents in Organic Synthesis: Current Topics. *Curr. Org. Chem.* **2005**, 9, 195-218.
- 97. Rytting, E.; Lentz, K.; Chen, X.-Q.; Qian, F. and Venkatesh, S. A Quantitative Structure–Property Relationship for Predicting Drug Solubility in PEG 400/Water Cosolvent Systems. *Pharm. Res.* **2004**, 21, 237-244.
- 98. Chen, J.; Spear, S.; Huddleston, J. and Rogers, R. Polyethylene glycol and solutions of polyethylene glycol as green reaction media. *Green. Chem.* **2005**, 7, 64-82.
- Nagarapu, L.; Paparaju, V.; Pathuri, G.; Kantevari, S.; Pakkiru, R. and Kamalla, R. HClO₄-SiO₂ as a novel and recyclable catalyst for the one-pot synthesis of homoallylic amines. J. Mol. Cat. A: Chem. 2007, 267, 53-56.
- 100. Zolfigol, M. Silica sulfuric acid/NaNO₂ as a novel heterogeneous system for production of thionitrites and disulfides under mild conditions. *Tetrahedron*, **2001**, 57, 9509-9511.
- 101. Wang, X.; Quan, Z.; Wang, F.; Wang, M.; Zang, Z. And Li, Zeng. PEG-SO₃ as catalyst for 3,4-Dihydropyrimidones via Biginelli reaction under microwave and solvent-free Conditions. *Synth. Commun.* **2006**, 36, 451-456.
- 102. Froelicher, S.; Freiser, B. and Squires, R. The C₃H₅⁻ Isomers. Experimental and Theoretical Studies of Tautomeric Propenyl Ions and the Cyclopropyl Anion in the Gas Phase. J. Am. Chem. Soc. **1986**, 108, 2853-2862.
- 103. Spivey, J. Catalisys. The Royal Society of Chemistry. Cambridge, UK. 2005, 15, 1-9.
- 104. Červený, L.; Krejčiková, A.; Marhoul, A. and Růžička, V. Isomerization of eugenol to isoeugenol. *React. Kinet. Catal. Lett.* **1987**, 33, 471-476.
- 105. Srivastava, V. K.; Bajaj, H. C. and Jasra. R. V. Solid base catalysts for isomerization of 1-methoxy-4-(2-propen-1-yl) benzene to 1-methoxy-4-(1-propen-1yl)benzene. *Catal. Commun.* 2003, 4, 543-548.
- 106. M. Josip. *et al.* Comparative Study on the Antioxidant and Biological Activities of Carvacrol, Thymol, and Eugenol Derivatives. *J. Agric. Food Chem.* 2008, 56, 3989-3996.
- Sadeghi, B.; Mirjalili, F. and Hashemi, M. BF₃ SiO₂: an efficient reagent system for the one-pot synthesis of 1,2,4,5-tetrasubstituted imidazoles. *Tetrahedron Lett.*, 2008, 49, 2575-2577
- 108. Stashenko E.; Jaramillo. B. and Martínez, J. Analysis of volatile secondary metabolites from Colombian *Xylopia aromatica* (Lamarck) by different extraction and headspace methods and gas chromatography. *J. Chrom. A.* **2004**, 1025, 105-113.
- 109. Sykes, P. A Guidebook to Mechanism in Organic Chemistry. United States, John Wiley & Sons, 6ed. **1985**. 87-93.
- Fuhrmann, E. and Talbiersky, J. Synthesis of Alkyl Aryl Ethers by Catalytic Williamson Ether Synthesis with Weak Alkylation Agents. Org. Process Res. Dev., 2005, 9, 206–211.
- 111. Pottie, R. and Lossing. F. Free Radicals by Mass Spectrometry. XXIII. Mass Spectra of Benzyl and α-d₂-Benzyl Free Radicals. J. Am. Chem. Soc. 1961, 83, 2634-2636.
- Greene, T. and Wuts, P. Protective groups in organic synthesis. 2th Ed., John Wiley & Sons, Inc. Edition, New York, **1991**.
- 113. Bentley, T.; Llewellyn, G. and McAlister, J. S_N2 Mechanism for Alcoholysis, Aminolysis, and Hydrolysis of Acetyl Chloride. *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 7927-7932.
- 114. Kevill, D. and Knauss, D. Nucleophilic Substitution at a Trigonal Carbon. Part
 5.' Substituent Effects in the Reactions of Aromatic Acyl Bromides with Methanol in Acetonitrile. J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2. 1993, 307-312.
- 115. Smith, M. and March, J. March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure. 6th Ed., John Wiley & Sons, New York, **2007**, 763.
- Otera, J. Esterification. Methods, reactions and applications. Wiley-VCH. 2003. 71-78.

- 117. Silverstein, R.; Webster, F. and Kiemle, D. Spectrometric identification of organic compounds. John Wiley & Sons. 7th Ed., New Jersey, **2005**.
- 118. M. Josip. *et al.* Comparative Study on the Antioxidant and Biological Activities of Carvacrol, Thymol, and Eugenol Derivatives. *J. Agric. Food Chem.* **2008**, 56, 3989-3996.
- (a) Ledderer L., J. Prakt. Chem., 1894, 50, 223. (b) Manasse O., Ber., 1894, 27, 2409.
- 120. Belyanin, M.; Filimonov, V. and Krasnov. E. Efficient Procedure for Preparing Salicyl Alcohols. *Russian Journal of Applied Chemistry*. **2001**, 74, 103-105.
- 121. Tyagi, R. Organic reactions (Mechanism with problems). New Delhi, 2005, 290-293.
- 122. Malutan, T.; Nicu, R. and Popa, V. Contribution to the study of hydroxymethylation reaction of alkali lignin. *Bioresources.* **2008**, 3, 13-20.
- Yadav, J.; Reddy, B. and Bhaishya, G. InBr3-[bmim]PF6: a novel and recyclable catalytic system for the synthesis of 1,3-dioxane derivatives. *Green Chem.*, 2003, 5, 264–266.
- 124. Červený, L. Catalytic Hydrogenation. Studies in surface science and catalysis. Elsevier Science Publishing Company., New York, **1986**, 27, 38-50.
- 125. Rylander, P. Hydrogenation Methods. Academic Press. Orlando, Florida. **1985**, 29-45.
- 126. Chandrasekhar, S.; Prakash, S. and Rao, C. Poly(ethylene Glycol) (400) as Superior Solvent Medium against Ionic Liquids for Catalytic Hydrogenations with PtO₂. J. Org. Chem. **2006**, 71, 2196-2199.
- 127. Mohammad, A.; Mir Mohammad, A.; Banafshe, G. and Aboulghasem, M. Synthesis Of Enamines Using Easily Prepared Silica Gel Supported Sulfuric Acid Calalyst. J. Chem. Res. 2005, 800-801.
- 128. Bamoniria, A.; Zolfigol, M.; Mohammadpoor-Baltork, I. and Mirjalili, B. The Use of Silica Sulfuric Acid as an Efficient Catalyst for Deprotection of Trimethylsilyl Ethers to the Corresponding Alcohols under Mild and Heterogeneous Conditions. J. Iran. Chem. Soc. 2006, 3, 85-88.
- 129. Zolfigol, A. *et al.* Silica sulfuric acid/KBrO₃/wet SiO₂ as an efficient heterogeneous system for the oxidation of alcohols under mild conditions. *Acta Chim. Slov.* **2003**, 50, 563–568.
- 130. Shaterian, H.; Ghashang, M. and Feyzi, M. Silica sulfuric acid as an efficient catalyst for the preparation of 2H-indazolo[2,1-b]phthalazine-triones. *Applied Catalysis A: General.* **2008**, 345, 128-133.
- 131. Rudrawar, S.; Besra, C. and Chakraborti, A. Perchloric Acid Adsorbed on Silica Gel (HClO₄-SiO₂) as an Extremely Efficient and Reusable Catalyst for 1,3-Dithiolane/Dithiane Formation. *Synthesis*, **2006**, 2767-2771.
- 132. Khan, A.; Ghosh, S. and Choudhury, L. Perchloric Acid Impregnated on Silica Gel (HClO₄/SiO₂): A Versatile Catalyst for Michael Addition of Thiols to the Electron-Deficient Alkenes. *Eur. J. Org. Chem.* 2006, 2226-2231.
- 133. Stuart, B. Infrared spectroscopy: Fundamentals and applications. John Wiley & Sons Ltd. Chichester, **2004**, 83-85.
- 134. Kovacheva, P. and Arishtirova, K. Basic zeolites as environmentally friendly catalysis. *J. Env. Prot. Eco.* **2002**, 3, 196-204.
- 135. Motokura, K.; Tada, M. and Iwasawa, Y. Heterogeneous Organic Base-Catalyzed Reactions Enhanced by Acid Supports. J. Am. Chem. Soc. 2007, 129, 9540-9541.
- 136. Xie, Y.; Krishna, S.; Abhishek, A.; Wang G.; Ankush, B. and Asefa, T. Efficient solid-base catalysts for aldol reaction by optimizing the density and type of organoamine groups on nanoporous silica. *J. Cat.* **2009**, 265, 131-140.

- 137. Srivastava, V. K.; Bajaj, H. C. and Jasra. R. V. Solid base catalysts for isomerization of 1-methoxy-4-(2-propen-1-yl) benzene to 1-methoxy-4-(1-propen-1-yl)benzene. *Catal. Commun.* 2003, 4, 543-548.
- 138. Besoain, E. Mineralogía de arcillas y suelos. San José de Costa Rica, Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura, **1985**, 606-608.
- Jiang, N. and RagauskasS, A. Environmentally friendly synthesis of biaryls: Suzuki reaction of aryl bromides in water at low catalyst loadings. *Tetrahedron Lett.* 2006, 47, 197-200.
- 140. Li, J.; Hu, X.; Liang, Y. and Xie X. PEG-400 promoted Pd(OAc)2/DABCOcatalyzed cross-coupling reactions in aqueous media. *Tetrahedron.* **2006**, 62, 31-38.
- 141. Smith, G. and Notheisz, F. Heterogenous catalysis in organic chemistry. Academic Press. London, **1999**, 2-6.
- 142. Tesina: Merchan, Diego. Tutor: Dr. Kouznetsov, Vladímir. Eugenol, precursor natural en la síntesis tetrahidroquinolinas 2,4-diaril sustituidas. Universidad Industrial de Santander – UIS, Química, **2007**.
- 143. Satoh, K.; Saitoh, S. and Kamigaito, M. A Linear Lignin Analogue: Phenolic Alternating Copolymers from Naturally Occurring & Methylstyrene via Aqueous-Controlled Cationic Copolymerization. J. Am. Chem. Soc. 2007, 129, 9586-9587.
- Frackenpohl, J.; Böhmer, J.; et al. Insecticidal heterolignans Tubuline polymerization inhibitors with activity against chewing pests. *Bioorg. Med. Chem.* 2009, 17, 4160-4184.
- Medarde, M.; Ramos, A.; Caballero, E.; López, J.; Peláez-Lamamié de Clairac, R. and San Feliciano, A. Heterolignanolides. Synthesis of a new family of Thienolignanolides. *Tetrahedron Lett.* 1998, 39, 2001-2004.
- 146. Povarov, L. S. *Russ. Chem. Rev.* **1967**, 36, 656-670.
- 147. Stevenson, P. J. and Graham, I. Unprecedented regio and stereocontrol in Povarov reaction of benzylidene-(3-nitrophenyl)amine. *ARKIVOC*, **2003**, 7, 139-144.
- 148. Sauer, J. and Sustmann, R. Mechanistic Aspects of Diels-Alder Reactions: A Critical Survey. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1980**, 19, 779-807.
- 149. Goldstein, E.; Beno, B. and Houk, K. N. Density Functional Theory Prediction of the Relative Energies and Isotope Effects for the Concerted and Stepwise Mechanisms of the Diels-Alder Reaction of Butadiene and Ethylene. J. Am. Chem. Soc. 1996, 118, 6036-6043.
- Karadakov, P. B.; Cooper, D. L. and Gerratt, J. Modern Valence-Bond Description of Chemical Reaction Mechanisms: Diels-Alder Reaction. J. Am. Chem. Soc. 1998, 120, 3975-3981.
- 151. Kouznetsov, V. V. Recent synthetic developments in a powerful imino Diels-Alder reaction (Povarov reaction): application to the synthesis of *N*-polyheterocycles and related alkaloids. *Tetrahedron*, **2009**, 65, 2721-2750.
- 152. Conley, R. T. Espectroscopia infrarroja. Ed. española, Alhambra. México, **1979**, 126-145.
- 153. Houk, K. N.; Lin, Y. and Brown, F. K. Evidence for the Concerted Mechanism of the Diels-Alder Reaction of Butadiene with Ethylene. J. Am. Chem. Soc. 1986, 108, 554-556.
- 154. Carey, Francis. Química Orgánica. 3^{ra} ed., Mc Graw Hill, Madrid, **1999**, 86-92.
- 155. Breitmaier, Eberhard. Structure Elucidation by NMR in Organic Chemistry. 3th Ed., John Wiley & Sons, Chichester, **2002**, 43-46.
- 156. Wenqiang, G.; Shufen, L.; Ruixiang, Y.; Shaokun, T. and C, Quan. Comparison of essential oils of clove buds extracted with supercritical carbon dioxide and other three traditional extraction methods. *Food Chem.*, **2007**, 101, 1558–1564.
- 157. Sharma, S.; Srivastava, V.; Pandya, P. and Jasra, R. Solvent-free isomerization of methyl chavicol to *trans*-anethole using transition metal complexes as catalysts. *Cat. Comm.*, **2005**, 6, 205-209.

- 158. Sauer, J. Diels-Alder Reactions: The Reaction Mechanism. Angew. Chem. Int. Ed. 1967, 6, 16-33.
- 159. Klafki, H-W.; Staufenbie, M.; Kornhuber, J. and Wiltfang, J. Therapeutic approaches to Alzheimer's disease. *Brain.* **2006**, 129, 2840-2855.
- Pradilla, G.; Boris, E.; Vesga, A.; Fidias E. y grupo GENECO. Estudio neuroepidemiológico nacional (EPINEURO) colombiano. *Pan. Am. J. Public. Health.* 2003, 14(2), 104-111.
- 161. Pradilla, G. Enfermedad de Alzheimer. *Salud UIS*, **2004**, 36, 146-153.
- 162. Gandía, L.; Rojo, J.; González-Rubio, M.; Tapia, L.; De Pascual, R. y Hernández-Guijo, J. Fronteras En La Enfermedad De Alzheimer-Cap. 7. Dianas Terapéuticas Colinérgicas En La Enfermedad De Alzheimer. Universidad Autónoma de Madrid, Madrid, 2002, 119-140.
- 163. Ellman, G. Courtney, K. Andres, Jr. V. and Robert M. F. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem. Pharm.*, **1961**, 7, 88-95.
- (a) Miyakawa, M.; Amano, S.; Kamei, M.; Hanada, K.; Furuya, K. and Yamamoto, N. Tetrahydroquinoline compounds. *United States Patent:* 6777427. 2004.
 (b) Vasudevan, J.; Johnson, A.; Huang, D. and Chandraratna, R. Compounds having activity as inhibitors of cytochrome P450RAI. *United States Patent:* 6252090. 2001.
- Merchán, D.; Vargas, L. and Kouznetsov, V. Nuevos agentes inhibidores de la acetilcolinesterasa con fragmentos estructurales de lignanos. *Salud UIS*, 2008, 36, 166-168.
- 166. Migliore, L. and Coppedè, F. Environmental-induced oxidative stress in neurodegenerative disorders and aging. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis.* **2009**, 674, 73-84
- 167. Arts, M.; Haenen, G.; Voss, H. and Bast, A. Antioxidant capacity of reaction productso limits the applicability of the Trolox Equivalente Antioxidant Capacity (TEAC) assay. *Food Chem. Tox.*, **2004**, 42, 45-49.
- Campos, A. and Lissi, E. Kinetics of the reactions between 2,2'-azino-bis-(3ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid), (ABTS). Derived radical cations and phenols. *Int. J.Chem. Kin.*, 1997, 29, 219-224.
- 169. Wallace, O. Tetrahydroquinoline derivatives for the inhibition of osteoporosis, strogen depend breast cancer, endometriosis and uterine fibrosis. United States Eli Lilly and Comp. Indianapolis, IN. USPatent 6962928. **2005**.
- 170. Tesina: Muñoz, Alejandro. Tutor: Dr. Arvelo, Fransisco. Efecto citotóxico del grupo 2,4-diaril-tetrahidroquinolinas sustituidas y su respuesta en combinación con fármacos antitumorales sobre células de cáncer de mama humano. Universidad Central de Venezuela-Biología, **2009**.
- 171. Dickson, R.; Bates, S.; McManaway, M. and Lippman, M. Characterization of Estrogen Responsive Transforming Activity in Human Breast Cancer Cell Lines. *Cancer Res.*, **1986**, 46, 1707-1713.
- 172. Li, H.; Chen, X.; Calhoun-Davis, T.; Claypool, K. and Tang, D. PC3 Human Prostate Carcinoma Cell Holoclones Contain Self-renewing Tumor-Initiating Cells. *Cancer Res.* **2008**, 68, 1820-1825.
- 173. World Health Organization. http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/en/index.html. [Consultada 30 de Noviembre 2009, 17:00 horas]
- 174. Cortés, L. y Suárez, H. Triatominos (Reduviidae: Triatominae) en un foco de enfermedad de Chagas en Talaigua Nuevo (Bolívar, Colombia). *Biomédica*, 2005, 25, 568-574.
- 175. Moncayo, A. Chagas Disease. *Global Epidemiology of Infectious Diseases.* **2003**, 11, 325-348.
- 176. TRD: For Research on Diaseases of Poverty, http://apps.who.int/tdr/svc/diseases/leishmaniasis. [Consultada 5 de dicembre de 2009]

- 177. Isaza, D., Restrepo, B., Arboleda, M.; Casas, E.; Hinestroza, H. y Yurgaqui, T. La leishmaniasis: conocimientos y prácticas en poblaciones de la costa del Pacífico de Colombia. *Rev Panam Salud Publica/Pan Am J Public Health*, **1999**, 6, 177-184.
- 178. Barreto, M.; Burbano, M. and Barreto, P. Registros de *Lutzomyia* (Diptera: Psychodidae) en nuevas localidades de Colombia. *Colombia Médica*, **2006**, 37, 39-45.
- 179. Santoro, G.; Cardoso, M.; Guimarães, L.; Mendonça, L. and Soares, M. Trypanosoma cruzi: Activity of essential oils from Achillea millefolium L., Syzygium aromaticum L. and Ocimum basilicum L. on epimastigotes and trypomastigotes. Exp. Parasitology, 2007, 116, 283-290.