



UNIVERSIDAD TECNICA
FEDERICO SANTA MARIA



UNIVERSIDAD DE
VALPARAÍSO

**UNIVERSIDAD TECNICA FEDERICO SANTA MARIA
UNIVERSIDAD DE VALPARAISO**

PROGRAMA CONJUNTO DOCTORADO EN CIENCIAS,
MENCIÓN QUÍMICA

**“ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DE
ANÁLOGOS SINTÉTICOS DE GERANILFENOLES
LINEALES CONTRA *Botrytis cinerea* y
Phytophthora cinnamomi Rands, EN FORMA
LIBRE Y ENCAPSULADA”.**

María Isabel Chávez Cortés

Doctor en Ciencias, mención Química

Julio de 2017



UNIVERSIDAD TECNICA
FEDERICO SANTA MARIA



UNIVERSIDAD DE
VALPARAÍSO

UNIVERSIDAD TECNICA FEDERICO SANTA MARIA UNIVERSIDAD DE VALPARAISO

**PROGRAMA CONJUNTO DOCTORADO EN CIENCIAS,
MENCIÓN QUÍMICA**

**“ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DE
ANÁLOGOS SINTÉTICOS DE GERANILFENOLES
LINEALES CONTRA *Botrytis cinerea* y *Phytophthora
cinnamomi* Rands, EN FORMA LIBRE Y ENCAPSULADA”.**

Tesis de Grado presentada por

María Isabel Chávez Cortés

Como requisito parcial para optar al grado de

Doctor en Ciencias, mención Química.

Profesor Guía
Dr. Luis Espinoza Catalán

Julio de 2017



UNIVERSIDAD TECNICA
FEDERICO SANTA MARIA



UNIVERSIDAD DE
VALPARAÍSO

PROGRAMA CONJUNTO DOCTORADO EN CIENCIAS,
MENCION QUÍMICA

TITULO DE LA TESIS:

**“ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DE ANÁLOGOS
SINTÉTICOS DE GERANILFENOLES LINEALES CONTRA *Botrytis
cinerea* y *Phytophthora cinnamomi* Rands, EN FORMA LIBRE Y
ENCAPSULADA”.**

AUTOR:

MARÍA ISABEL CHÁVEZ CORTÉS

TRABAJO DE TESIS, presentado en cumplimiento parcial de los requisitos para el
Grado de Doctor en Ciencias, mención Química de la Universidad Técnica Federico
Santa María y de la Universidad de Valparaíso.

Dr. Héctor Carrasco

Dr. Mauricio Cuellar

Dr. Katy Díaz

Dr. Andrés Olea

Dr. Luis Espinoza

Valparaíso, Chile. Julio 2017

Agradecimientos...

A mi familia y amigos Por su amor y apoyo incondicional en esta experiencia de vida

Agradezco al Dr. Luis Espinoza por aceptarme para realizar este proyecto, así como por la orientación, supervisión y enseñanza recibida.

Por otra parte, a la Universidad Federico Santa María y la Universidad de Valparaíso por darme la oportunidad de realizar mi Doctorado en Ciencias mención Química, otorgándome becas de Arancel y Mantención para poder desarrollar mi trabajo en estos años, en dedicación exclusiva.

A todos mis compañeros de laboratorio, por la ayuda y el compañerismo recibido.

TABLA DE CONTENIDO

Resumen.....	14
CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN	20
1.1 ANTECEDENTE GENERALES	20
1.2 Hongos fitopatógenos: <i>Botrytis cinerea</i> y <i>Phytophthora cinnamomi</i> Rands.	21
1.3 Indicadores toxicológicos de fungicidas sintéticos comerciales.....	25
1.4 Desarrollo de nuevos fungicidas.....	27
1.5 Estudios de compuestos naturales y sintéticos utilizados como fungicidas <i>in vitro</i> contra <i>Botrytis cinerea</i>	28
1.5.1 Compuestos Naturales.....	28
1.5.2 Compuestos sintéticos.....	32
1.6 Estudios de compuestos naturales y sintéticos utilizados como fungicidas <i>in vitro</i> contra <i>Phytophthora cinnamomi</i> Rands.....	34
1.7 Generalidades sobre los terpenil(hidro)quinonas y terpenilfenoles.....	36
1.8 Geranilquinonas y geranilhidroquinonas.....	37
1.9 Métodos de síntesis de Geranilfenoles.....	41
1.91 Actividad Antifúngica de Geranilfenoles sintéticos.....	45
1.10 Mecanismos de encapsulamiento y liberación de compuestos hidrofóbicos.....	46
1.11 Hipótesis de trabajo.....	49
CAPÍTULO 2: OBJETIVOS	50
2.1 Objetivo general	50
2.2 Objetivos específicos.....	50
CAPITULO 3: PARTE EXPERIMENTAL.....	51
3.1 Materiales y Equipos: Síntesis orgánica	51
3.2 Síntesis Química	54
3.2.1 Síntesis de los compuestos geranilfenoles.....	54
Compuestos 42, 43 y 44.....	56
Compuestos 45, 46 y 47.....	58
Compuestos 48, 49, 50 y 51.....	60
Compuesto 52.....	63
Compuesto 53.....	64
Compuesto 54.....	65
Compuestos 55, 56, 57 y 58.....	66
Compuestos 59 y 60.....	69
Compuestos 61, 62 y 63.....	71

Compuestos 64 y 65.....	73
Compuestos 66 y 67.....	76
Compuestos 68 y 69.....	79
Compuestos 70 y 71.....	80
Compuestos 72 y 73.....	83
Compuestos 74 y 75.....	86
3.3 Encapsulación y liberación de geranilfenoles lineales.	90
3.4 Métodos de preparación de micelas.	90
3.5 Métodos de incorporación de los compuestos sintetizados a las micelas poliméricas.	90
3.6 Medición de coeficiente de distribución.	91
3.8 Materiales y equipos: pruebas biológicas.....	93
3.8.1 MÉTODO. Test de difusión (ensayo de inhibición del crecimiento micelial, <i>in vitro</i> , de hongos fitopatógenos).....	94
CAPITULO 4 – RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	95
4.1 Estrategia sintética para la preparación de los compuestos geranilfenoles	95
4.2 Determinación Estructural de los compuestos geranilfenoles.	98
Compuesto 44:	98
Compuesto 46:	99
Compuesto 47:	101
Compuesto 52:	102
Compuesto 53:	103
Compuesto 58:	104
Compuesto 62:	105
Compuesto 63:	106
Compuesto 64:	107
Compuesto 65:	108
Compuesto 68:	109
Compuesto 69:	110
Compuesto 70:	111
Compuesto 71:	113
Compuesto 72:	114
Compuesto 73:	115
Compuesto 75:	117
4.3 Evaluación de los compuestos sintetizados en ensayos de actividad antifúngica, <i>in vitro</i> , contra las cepa de <i>Botrytis cinerea</i> y <i>Phytophthora cinnamomi</i> Rands en su forma libre.	119

4.4 Evaluación de los compuestos sintetizados en ensayos de actividad antifúngica, <i>in vitro</i> , contra las cepa de <i>Botrytis cinerea</i> y <i>Phytophthora cinnamomi</i> Rands en su forma encapsulada.	133
4.4.1 Formación de las micelas poliméricas	134
4.4.2 Medición del Coeficiente de Distribución. Determinación de la Constante de Reparto (K_s).	135
4.5 Ensayos de actividad antifúngica, <i>in vitro</i> , contra las cepa de <i>Botrytis cinerea</i> y <i>Phytophthora cinnamomi</i> Rands de geranilfenoles activos, en su forma encapsulada.	137
4.6 Cálculo de Log P para los compuestos geranilfenoles.	140
CAPITULO 5 - CONCLUSIONES	142
5.1. PUBLICACIONES Y CONGRESOS	147
5.1.1 Publicación.	147
5.1.2 Asistencia a Congresos.	147
6. BIBLIOGRAFÍA.....	149
ANEXO	156
Abreviaturas en resonancia magnetica nuclear.....	157
Abreviaturas en espectroscopia infrarojo.....	158
Abreviaturas en espectroscopia de masas	158
Espectros RMN ^1H , ^{13}C , DEPT 135, 2D HSQC, 2D HMBC y 1D NOESY selectivo.....	159

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructura de derivados de geranilfenoles.	16
Figura 2. Imagen de conidio e hifa de <i>B.cinerea</i> al microscopio y de los efectos que produce en vid.	22
Figura 3. Imagen de <i>P. cinnamomi</i> al microscopio y de los efectos que produce en paltas.	24
Figura 4. Derivados del Ácido Kaurenoico como fungicida contra <i>B.cinerea</i>	28
Figura 5. Derivados del Ácido Sálvico como fungicidas contra <i>B.cinerea</i>	29
Figura 6. Derivados de la Fusapirona como fungicidas contra <i>B.cinerea</i>	30
Figura 7. Compuestos extraídos de plantas y usados como fungicidas contra <i>B.cinerea</i>	30
Figura 8. 2-alilfenol usado como fungicidas contra <i>B.cinerea</i>	31
Figura 9. Ácido Cuménico como fungicida contra <i>B.cinerea</i>	31
Figura 10. Compuestos sintéticos usados como fungicidas contra <i>B.cinerea</i>	32
Figura 11. Compuestos sintéticos usados como fungicidas contra <i>B.cinerea</i>	33
Figura 12. Compuesto extraído de plantas y usado como fungicida contra <i>P.cinnamomi</i>	34
Figura 13. Compuestos hemisintéticos usados como fungicidas contra <i>P.cinnamomi</i>	35
Figura 14. Estructuras de algunas geranil(hidro)quinonas naturales.	38
Figura 15. Estructuras de geranil(hidro)quinonas naturales con actividad pesticida.	39
Figura 16. Estructura de geranil(hidro)quinonas sintéticos con actividad citotóxica y antibacteriana.	40
Figura 17. Estructura de geranil(hidro)quinonas sintetizadas con actividad antifúngica.	45
Figura 18. Molécula de copolímero en bloque de Pluronic (A) y la micela con una droga solubilizada (B).	46
Figura 19. Estructura molecular de copolímero en bloque (PEO-PPO) (A) poloxámero lineal PLuronic F127 y (B) poloxamina ramificado Tetronic 1107.	47
Figura 20. Incorporación de compuestos derivados del orcinol a través de micelas dentro de las células fúngicas.	48
Figura 21. Estructura de compuestos aromáticos que serán usados para la reacción de acoplamiento con geraniol.	54
Figura 22. Síntesis de compuestos aromáticos por reacción de oxidación de Bayer-Villiger.	55
Figura 23. Ejemplos de numeración para los compuestos sintetizados.	55
Figura 24. Sistema de Ultrafiltración (célula con agitación Amicon®) modificado.	92

Figura 25. Esquema de componentes individuales de la celda de ultrafiltración.	92
Figura 26. Principales correlaciones observadas del compuesto 44 , A) selectivas 1D NOESY; B) 2D ^1H - ^{13}C HMBC.....	99
Figura 27. Principales correlaciones observadas del compuesto 46 , A) selectivas 1D NOESY; B) 2D ^1H - ^{13}C HMBC.....	100
Figura 28. Principales correlaciones observadas del compuesto 47 , A) selectivas 1D NOESY; B) 2D ^1H - ^{13}C HMBC.....	102
Figura 29. Principales correlaciones observadas del compuesto 52 , A) selectivas 1D NOESY; B) 2D ^1H - ^{13}C HMBC.....	103
Figura 30. Principales correlaciones observadas del compuesto 53 2D ^1H - ^{13}C HMBC. ...	104
Figura 31. Principales correlaciones observadas del compuesto 58 , A) selectivas 1D NOESY; B) 2D ^1H - ^{13}C HMBC.....	105
Figura 32. Principales correlaciones observadas del compuesto 62 , A) selectivas 1D NOESY; B) 2D ^1H - ^{13}C HMBC.....	106
Figura 33. Principales correlaciones observadas del compuesto 63 , A) selectivas 1D NOESY; B) 2D ^1H - ^{13}C HMBC.....	107
Figura 34. Principales correlaciones observadas heteronucleares 2D ^1H - ^{13}C HMBC del compuesto 64	108
Figura 35. Principales correlaciones observadas del compuesto 65 , A) selectivas 1D NOESY; B) 2D ^1H - ^{13}C HMBC.....	109
Figura 36. Principales correlaciones observadas del compuesto 68 , A) selectivas 1D NOESY; B) 2D ^1H - ^{13}C HMBC.....	110
Figura 37. Principales correlaciones observadas del compuesto 69 , A) selectivas 1D NOESY; B) 2D ^1H - ^{13}C HMBC.....	111
Figura 38. Principales correlaciones observadas del compuesto 70 , A) selectivas 1D NOESY; B) 2D ^1H - ^{13}C HMBC.....	112
Figura 39. Principales correlaciones observadas del compuesto 71 , A) selectivas 1D NOESY; B) 2D ^1H - ^{13}C HMBC.....	114
Figura 40. Principales correlaciones observadas heteronucleares 2D ^1H - ^{13}C HMBC del compuesto 72	115
Figura 41. Principales correlaciones observadas heteronucleares 2D ^1H - ^{13}C HMBC del compuesto 73	116
Figura 42. Principales correlaciones observadas del compuesto 74 , A) selectivas 1D NOESY; B) 2D ^1H - ^{13}C HMBC.....	117

Figura 43. Principales correlaciones observadas del compuesto 75 , A) selectivas 1D NOESY; B) 2D ^1H - ^{13}C HMBC.....	118
Figura 44. Estructuras de los compuestos geranilfenoles del grupo I	119
Figura 45. Estructuras de los compuestos geranilfenoles del grupo II	122
Figura 46. Estructuras de los compuestos geranilfenoles del grupo III	124
Figura 47. Estructuras de los compuestos geranilfenoles del grupo IV	126
Figura 48. Estructuras de los compuestos geranilfenoles del grupo V	128
Figura 49. Efecto de los geranilfenoles sobre el crecimiento micelial, <i>in vitro</i> , de <i>B. cinerea</i> a una concentración a 250 mg/L, (A) Control positivo, Captan® a 250 mg/L; (B) control negativo, el medio contiene sólo PDA y 1% de etanol; (C) compuesto 46 ; (D) compuesto 70	132
Figura 50. Efecto de los geranilfenoles sobre el crecimiento micelial, <i>in vitro</i> , de <i>P. cinnamomi</i> . a una concentración de 50 mg/L, A) Control positivo, Metalaxil® a 50 mg/L; (B) control negativo, el medio contiene sólo PDA y 1% de etanol; (C) compuesto 46 ; (D) compuesto 45	132
Figura 51. Efecto de los geranilfenoles encapsulados sobre el crecimiento micelial, <i>in vitro</i> , (A) compuesto 46 para <i>B.cinerea</i> , (B) compuesto 53 para <i>P. cinnamomi</i> , a diferentes concentraciones (50, 150 y 250 mg/L). El control positivo (C+) Captan® para <i>B.cinerea</i> y Metalaxil® para <i>P.cinnamomi</i> . Control negativo, el medio que contiene sólo PDA y 1% de etanol.	139
Figura 52. Estructura de geranilfenoles obtenidos en este trabajo.	142

INDICE DE ESQUEMAS

Esquema 1. Síntesis de Geranilfenol vía alilación de Friedel-Crafts catalizada por un ácido de Brönsted.	41
Esquema 2. Síntesis de Geranilfenol vía Alquenilación de ariléter con fosfato de diisopropilgeranilo catalizada por ácidos de Lewis.....	42
Esquema 3. Síntesis de Geranilfenol por Reordenamiento de prenil-aril éteres catalizado por ácidos de Lewis.....	42
Esquema 4. Síntesis de Geranilfenol por Litiación aromática directa de tatrato metoxitolueno y posterior acoplamiento con bromuro de geranilo.	43
Esquema 5. Síntesis de Geranilfenol por Condensación por intercambio de metal halógeno (MHE).....	43
Esquema 6. Síntesis de Geranilfenol por Condensación de hidroquinona con geraniol catalizada por fenóxido de aluminio e isopróxido de aluminio	44
Esquema 7. Síntesis de geranilfenol por Condensación de metoxifenoles e hidroquinona con geraniol catalizado por ácidos de Lewis ($BF_3 \cdot Et_2O$).....	44
Esquema 8. Síntesis de los compuestos 42 , 43 y 44	56
Esquema 9. Síntesis de los compuestos 45 , 46 y 47	58
Esquema 10. Síntesis de los compuestos 48 , 49 , 50 y 51	60
Esquema 11. Síntesis del compuesto 52	63
Esquema 12. Síntesis del compuesto 53	64
Esquema 13. Síntesis del compuesto 54	65
Esquema 14. Síntesis de los compuestos 55 , 56 , 57 y 58	66
Esquema 15. Síntesis de los compuestos 59 y 60	69
Esquema 16. Síntesis de los compuestos 61 , 62 y 63	71
Esquema 17. Síntesis del compuesto 2,4-dimetoxifenol.....	73
Esquema 18. Síntesis de los compuestos 64 , 65 y 67	74
Esquema 19. Síntesis del compuesto 2,4,5-trimetoxifenol.	76
Esquema 20. Síntesis de los compuestos 66 y 67	77
Esquema 21. Síntesis de los compuestos 68 y 69	79
Esquema 22. Síntesis del compuesto 2,3,4-trimetoxifenol.	81
Esquema 23. Síntesis de los compuestos 70 y 71	82
Esquema 24. Síntesis del compuesto 2,4,6-trimetoxifenol.	84
Esquema 25. Síntesis de los compuestos 72 y 73	85

<i>Esquema 26. Síntesis del compuesto 3,4,5-trimetoxifenol.</i>	<i>87</i>
<i>Esquema 27. Síntesis de los compuestos 74 y 75.....</i>	<i>88</i>
<i>Esquema 28. Reacción de Alilación de Friedel-Crafts entre Hidroquinona y Geraniol catalizada por $BF_3 \cdot Et_2O$.</i>	<i>95</i>
<i>Esquema 29. Reacción de Alilación de Friedel-Crafts entre Hidroquinona y Geraniol catalizada por $TiCl_4$.....</i>	<i>95</i>
<i>Esquema 30. Reacción de Acoplamiento entre un Fenil prenil éter y Geraniol catalizada por $Bi(OSO_2CF_3)_3$.</i>	<i>96</i>

ÍNDICE DE TABLAS

<i>Tabla 1. Clasificación toxicológica para los plaguicidas según el Servicio Agrícola y Ganadero.....</i>	<i>25</i>
<i>Tabla 2. Fungicidas sintéticos comerciales contra B.cinerea y P.cinnamomi Rands.</i>	<i>26</i>
<i>Tabla 3. Condiciones de síntesis y el rendimiento de reacción para la obtención de los geranilfenoles.</i>	<i>97</i>
<i>Tabla 4 . Resultados de los % de inhibición del crecimiento micelial de los geranilfenoles contra Botrytis cinerea y Phytoththora cinnamomi Rands, in vitro, a diferentes concentraciones (50, 150 y 250 mg/L).....</i>	<i>131</i>
<i>Tabla 5. Principales características del copolímero en bloque Pluronic F-127.</i>	<i>134</i>
<i>Tabla 6. Efecto de actividades antifúngicas, in vitro, de compuestos geranilfenoles sin encapsular y encapsulados en Pluronic F-127 contra Botrytis cinerea.</i>	<i>137</i>
<i>Tabla 7. Efecto de actividades antifúngicas, in vitro, de compuestos geranilfenoles sin encapsular y encapsulados en Pluronic F-127 contra Phytophthora cinnamomi.</i>	<i>138</i>
<i>Tabla 8. Valores de Log P de geranilfenoles sintetizados</i>	<i>140</i>

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Resultados de los porcentajes de inhibición del crecimiento micelial de los geranilfenoles del grupo I contra <i>Botrytis cinerea</i> , a diferentes concentraciones (50, 150 y 250 mg/L).....	120
Gráfico 2. Resultados de los porcentajes de inhibición del crecimiento micelial de los geranilfenoles del grupo I contra <i>Phytoththora cinnamomi</i> Rands, a diferentes concentraciones (50, 150 y 250 mg/L).....	121
Gráfico 3. Resultados de los porcentajes de inhibición del crecimiento micelial de los geranilfenoles del grupo II contra <i>Botrytis cinerea</i> , a diferentes concentraciones (50, 150 y 250 mg/L).....	123
Gráfico 4. Resultados de los % de inhibición del crecimiento micelial de los geranilfenoles del grupo II contra <i>Phytoththora cinnamomi</i> Rands, a diferentes concentraciones (50, 150 y 250 mg/L).....	123
Gráfico 5. Resultados de los porcentajes de inhibición del crecimiento micelial de los geranilfenoles del grupo III contra <i>Botrytis cinerea</i> , a diferentes concentraciones (50, 150 y 250 mg/L).....	125
Gráfico 6. Resultados de los % de inhibición del crecimiento micelial de los geranilfenoles del grupo III contra <i>Phytoththora cinnamomi</i> Rands, a diferentes concentraciones (50, 150 y 250 mg/L).....	125
Gráfico 7. Resultados de los porcentajes de inhibición del crecimiento micelial de los geranilfenoles del grupo IV contra <i>Botrytis cinerea</i> , a diferentes concentraciones (50, 150 y 250 mg/L).....	127
Gráfico 8. Resultados de los % de inhibición del crecimiento micelial de los geranilfenoles del grupo IV contra <i>Phytoththora cinnamomi</i> Rands, a diferentes concentraciones (50, 150 y 250 mg/L).....	127
Gráfico 9. Resultados de los porcentajes de inhibición del crecimiento micelial de los geranilfenoles del grupo V contra <i>Botrytis cinerea</i> , a diferentes concentraciones (50, 150 y 250 mg/L).....	129
Gráfico 10. Resultados de los % de inhibición del crecimiento micelial de los geranilfenoles del grupo V contra <i>Phytoththora cinnamomi</i> Rands, a diferentes concentraciones (50, 150 y 250 mg/L).....	129
Gráfico 11. Absorbancia vs Concentración del compuesto 54	133
Gráfico 12. Distribución de tamaño de los agregados formados por una solución de	

*Pluronic F-127 a una concentración de 1×10^{-3} [M] A) en ausencia y en B) presencia del compuesto **54** (10 mM). Las mediciones fueron realizadas a 25°C..... 135*

*Gráfico 13. Curva de reparto del compuesto **54** en Pluronic F-127..... 136*

Resumen

En este trabajo se realizó un estudio de la actividad antifúngica de análogos sintéticos de geranilfenoles lineales contra dos hongos fitopatógenos de gran preocupación en el sector frutícola chileno, *Botrytis cinerea* y *Phytophthora cinnamomi* Rands. *Botrytis cinerea* es un hongo necrotrófico, responsable del moho gris, una de las enfermedades de plantas más importantes, el hongo tiene una amplia gama de huéspedes y puede infectar a más de 230 especies de plantas. En Chile el principal problema generado por *B. cinerea*, se encuentra en la producción de uva, ya que ataca el follaje, tallos, flores y frutos de la planta. En cambio *Phytophthora cinnamomi* produce la enfermedad llamada " pudrición de la raíz " o "muerte regresiva", que afecta a un gran número de especies, comunes de jardín, nativos y cultivos agrícolas. Esta lista de plantas sensibles incluye rosas, azaleas y árboles frutales. Además es económicamente importante ya que a nivel mundial y en Chile, puede producir la enfermedad llamada la "tristeza del palto" (*Persea americana*).

Los objetivos de este trabajo fueron los siguientes: primero, sintetizar una serie compuestos derivados de geranilfenoles, utilizando la estrategia sintética para la preparación de los compuestos propuestos corresponde a la reacción de acoplamiento entre los compuestos aromáticos con geraniol por una modificación de la Reacción de Alilación de Friedel-Crafts usando como catalizador $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$. Segundo, analizar las actividades antifúngicas frente a los hongos patógenos *Botrytis cinerea* y *Phytophthora cinnamomi* Rands, para cada compuesto sintetizado en su forma libre y luego encapsular los compuestos que presenten la menor y la mayor actividad antifúngica en forma libre, en micelas poliméricas. Y tercero, establecer una relación de estructura-actividad de los compuestos sintetizados en los ensayos de actividad antifúngica contra *Botrytis cinerea* y *Phytophthora cinnamomi* Rands, en su forma libre y encapsulada.

Como resultado de este trabajo se sintetizaron 34 derivados de geranilfenoles (Figura 1), a partir de los fenoles correspondientes y geraniol, de los cuales 11 compuestos corresponden a moléculas nuevas: **44, 46, 47, 52, 58, 68, 69, 72, 73, 74 y 75**. En su evaluación de la actividad antifúngica de los compuestos en forma libre, se puede decir que existen compuestos específicos que son más activos para un determinado hongo fitopatógeno y que esta actividad antifúngica, está relacionada con su estructura, y además, hay compuestos que presenta actividad antifúngica contra los dos hongos fitopatógenos. Al encapsular los compuestos más activos, para el caso de *B.cinerea*, éstos en su mayoría conservan su actividad antifúngica y el compuesto menos activo en

forma libre, la micela permitió una mayor incorporación de éste dentro del hongo, por lo que permitió que este aumentará su actividad antifúngica. Para el caso de *P.cinnamomi*, solamente tres compuestos encapsulados presentaron actividad antifúngica, con lo que se podría concluir que los mecanismos de incorporación del compuestos activo en el hongo son totalmente diferentes para ambos casos, ya que ambos tienen pared celular diferentes y además, los mecanismos de acción de los geranilfenoles sean posiblemente diferentes para los dos hongos.

Finalmente el trabajo de investigación desarrollado en esta tesis, permitió confirmar la hipótesis planteada, demostrando que estructuras de geranilfenoles y sus análogos estructurales lineales sintéticos con grupos hidroxilo y metoxilo en el anillo aromático, poseen actividad inhibitoria del crecimiento de patógenos vegetales, y que podría eventualmente aumentar su actividad antifúngica una vez encapsulado en sistema de polímeros.

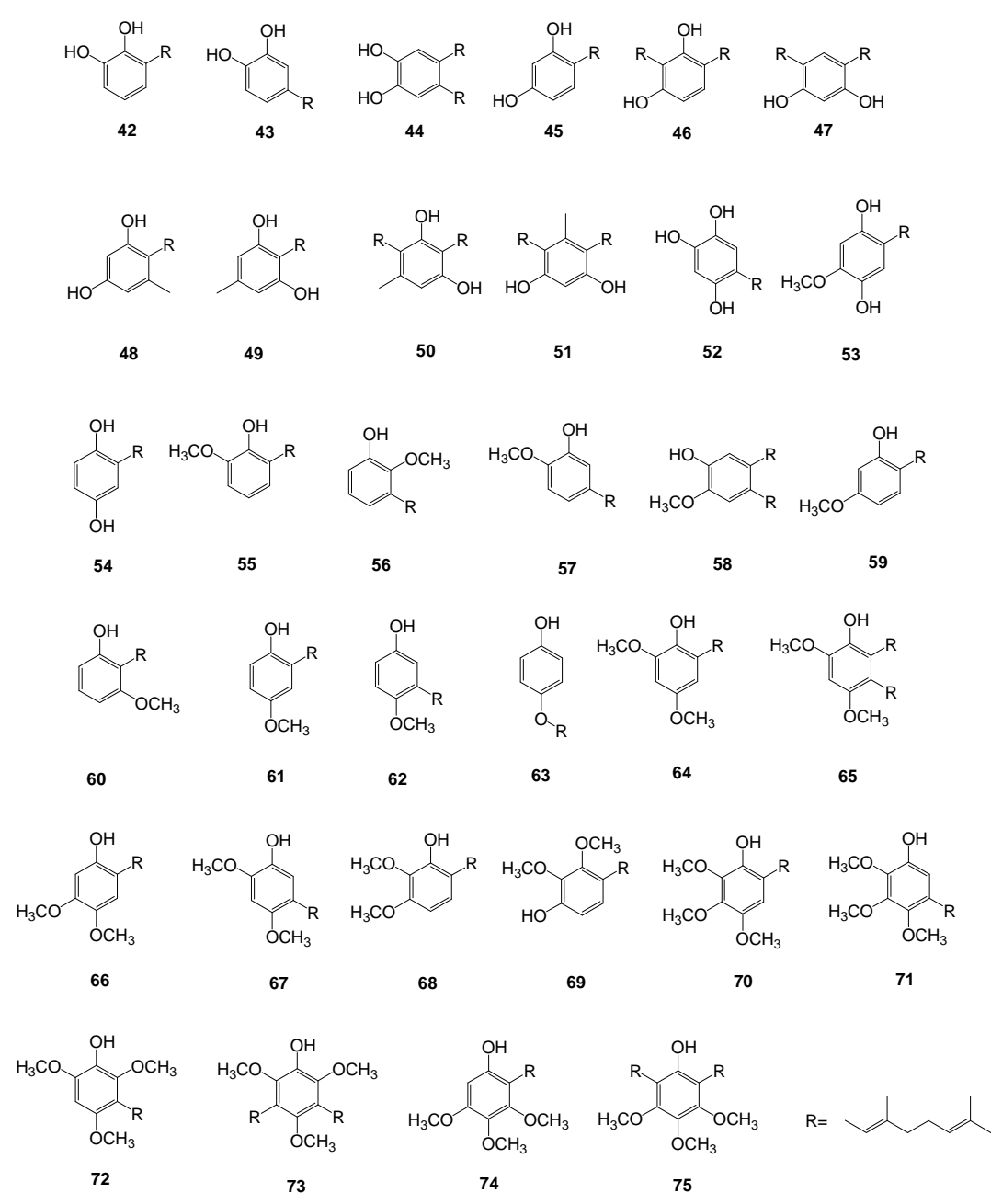


Figura 1. Estructura de derivados de geranilfenoles.

Summary

This paper presents a study of the antifungal activity of synthetic analogs of linear geranylphenols against two phytopathogenic fungus of great concern in the Chilean fruit sector, *Botrytis cinerea* and *Phytophthora cinnamomi* Rands. *Botrytis cinerea* is a necrotrophic fungus, responsible for gray mold, one of the most important plant diseases, the fungus has a wide range of hosts and can infect over 230 species of plants. In Chile the main problem generated by *B. cinerea* is in the production of grapes, because it attacks the foliage, stems, flowers and fruits of the plant. In contrast *Phytophthora cinnamomi* produces the disease called "root rot" or "regressive death", which affects a large number of species, common garden, native and agricultural crops. This list of sensitive plants includes roses, azaleas and fruit trees. In addition, it is economically important because at the global level and in Chile, it can produce the disease called "sadness of the avocado" (*Persea americana*).

The objectives of this work were the following: first, to synthesize a series of compounds derived from geranylphenols, using the synthetic strategy for the preparation of the proposed compounds, it corresponds to the coupling reaction between the aromatic compounds with geraniol by a modification of the Allylation Reaction of Friedel-Crafts using as catalyst $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$. Second, analyze the antifungal activities against the pathogenic fungi *Botrytis cinerea* and *Phytophthora cinnamomi* Rands, for each compound synthesized in its free form and then to encapsulate the compounds that present the lowest and the highest free form antifungal activity in polymeric micelles. And third, to establish a structure-activity relationship of the compounds synthesized in the antifungal activity tests against *Botrytis cinerea* and *Phytophthora cinnamomi* Rands, in their free and encapsulated form.

As a result of this work, 34 derivatives of geranylphenols (Figure 1) were synthesized from the corresponding phenols and geraniol, of which 11 compounds correspond to new molecules: **44**, **46**, **47**, **52**, **58**, **68**, **69**, **72**, **73**, **74** and **75**. In their evaluation of the antifungal activity of the compounds in free form, it can be said that there are specific compounds that are more active for a certain phytopathogenic fungus and that this antifungal activity is related to its structure, and there are too compounds that have Antifungal activity against the two phytopathogenic fungus. By encapsulating the most active compounds, for the case of *B. cinerea*, these mostly retain their antifungal activity and the less active compound in free form, the micela allowed a great incorporation of this

in the fungus, and it will increase its antifungal activity. In *P. cinnamomi*, only three encapsulated compounds presented antifungal activity, so the mechanisms of incorporation of the active compounds in the fungus are totally different for both cases, because both have different cell walls and, the mechanisms of action of the geranylphenols may be different for the two fungus.

Finally the research work in this thesis, confirmed the hypothesis, demonstrating that structures geranylphenols and their synthetic linear structural analogs with hydroxyl groups and methoxy on the aromatic ring, have inhibitory activity of growth of vegetables pathogens, and that could eventually increase their antifungal activity when the polymer system is encapsulated.

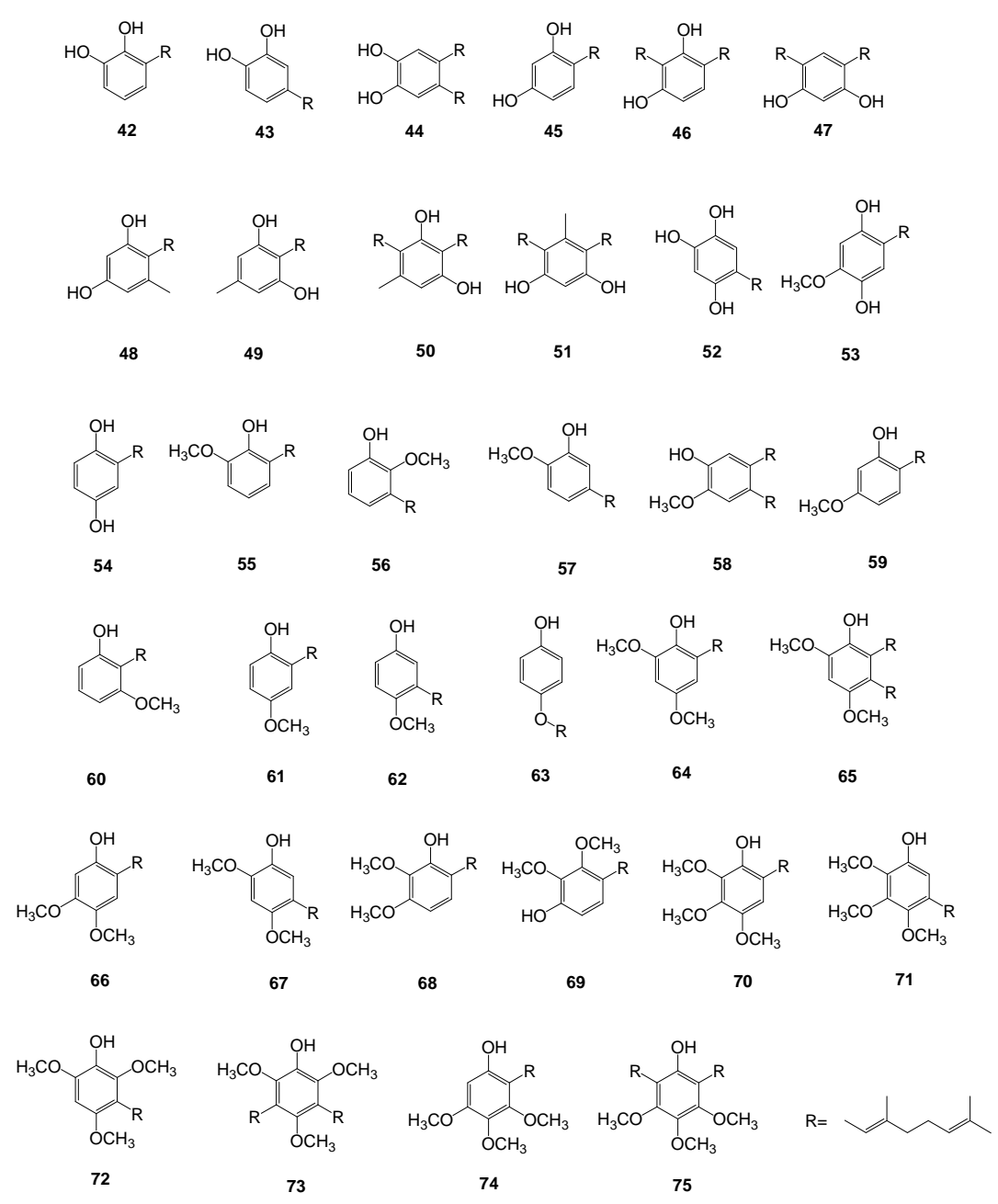


Figure 1. Structure geranylphenols derivatives.

CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN

1.1 ANTECEDENTE GENERALES

En la última década, la industria frutícola de Chile se ha consolidado como uno de los principales polos de exportación del país, con valores de exportación de fruta fresca que alcanzan los 4.430.745,5 miles de dólares FOB, en el 2015 (valor FOB: franco a bordo), frutos preparados o en conserva a 1.316.678,0 miles de dólares FOB y frutos congelados a 9.658,8 miles de dólares FOB¹. La clara orientación exportadora de la fruticultura chilena se expresa también en el hecho de que cerca del 80% de la producción de frutas del país se destina a la exportación, tanto en fresco como en productos procesados. A su vez, del total exportado por el sector frutícola, cerca del 80% corresponde a fruta fresca y alrededor del 20% a fruta con algún grado de procesamiento. Las exportaciones de fruta fresca se han diversificado de tal forma que actualmente en Chile se exportan cerca de 75 especies diferentes, entre las cuales destacan uva de mesa, manzanas, kiwis, arándanos y paltas^{1,2}.

El término plaga en la agricultura se utiliza para nombrar a los organismos que dañan los cultivos y afectan las cosechas, de manera que los rendimientos y la calidad disminuyen, produciéndose pérdidas económicas debido a una menor producción, disminución de las ganancias por su comercialización y por los gastos que se incurre para el control de éstas. Por lo tanto, el control de las plagas constituye una de las principales preocupaciones del sector frutícola, no solo por las importantes pérdidas ocasionadas por estos organismos en la fruta, sino también por los costos asociados a las medidas de control y las limitaciones que se producen para la comercialización de los productos agrícolas, en algunos casos por la disminución de su valor comercial debido a que no cumplen con los requisitos de calidad y en otros porque día a día hay mayores exigencias de procesos de producción más limpios, que garanticen productos agrícolas libres de residuos tóxicos³.

Las tecnologías actuales para el control de diferentes plagas de insectos y de hongos patógenos, requieren del uso de múltiples productos agroquímicos (plaguicidas). Estos plaguicidas que combaten las plagas que afectan a los sectores de producción agrícola y forestal, producen una contaminación del medio ambiente provocando graves secuelas en la salud de la población y en especial a los trabajadores agrícolas. Las actuales demandas internacionales apuntan hacia una mayor seguridad y por lo tanto, se

requiere aumentar el uso de alternativas naturales o moléculas de menor toxicidad. El control químico ha sido el método principal para combatir las plagas, ocasionando daños ecológicos, no solo en el medio ambiente, sino que llegando a afectar incluso la salud humana, donde algunos de los plaguicidas más usados son: Aldicarb®, Acephate®, Carbaryl®, Paraquat®⁴⁻⁶. Por otro lado, su uso masivo ha inducido la generación de resistencia de algunos patógenos⁷, obligando a aumentar la cantidad de plaguicidas y a la búsqueda de nuevas formulaciones más efectivas. Una alternativa para reducir estos efectos nocivos es el uso de sustancias de origen natural, como por ejemplo, los terpenilfenoles y terpenilhidroquinonas, lo que puede significar una estrategia menos contaminante y más amigable con el medio ambiente y la población humana involucrada en las actividades agrícolas^{8,9}. Por otra parte, el control químico^{8,9} puede integrarse con otros tipos de control como lo son el control biológico¹⁰, el manejo fitogenético¹¹ y las buenas prácticas culturales¹², que en conjunto pueden contribuir a reducir las pérdidas por plagas.

1.2 Hongos fitopatógenos: *Botrytis cinerea* y *Phytophthora cinnamomi* Rands.

Botrytis cinerea es un hongo que produce un daño importante, especialmente en Chile, considerado como el principal problema fitosanitario que limita la producción de uva (Figura 2). Las pérdidas se producen tanto durante el proceso de producción como de la comercialización, ya que la enfermedad puede manifestarse en el campo y después de la cosecha¹³⁻¹⁵. *Botrytis cinerea* es un patógeno que ataca el follaje, tallos, flores y frutos y puede resultar en graves daños económicos en la agricultura¹⁶. La enfermedad se produce en una amplia variedad de condiciones, incluso a bajas temperaturas, lo que lleva a pérdidas significativas de pre-cosecha y post-cosecha. Este patógeno produce enzimas que degradan las paredes y especies reactivas de oxígeno que promueven la enfermedad y destruyen los tejidos de la planta¹⁷.

Actualmente, el control de la enfermedad en nuestro país se realiza mediante tratamientos con fungicidas y prácticas de prevención agrícolas. Todos ellos están ofreciendo principalmente condiciones para reducir los factores que favorecen la manifestación de *Botrytis cinerea*, que es un equilibrio adecuado entre la densidad del dosel, la iluminación y ventilación de los racimos¹⁸. Se ha utilizado como una práctica común durante años, controlar el hongo con productos químicos, sin embargo, la

extraordinaria capacidad de *Botrytis cinerea* de adaptarse y desarrollar cepas tolerantes o resistentes a los productos químicos, provoca una necesidad constante para el desarrollo de nuevos fungicidas. Los ingredientes activos actuales contenidos en fungicidas incluyen las dicarboximidaz, bencimidazolas y anilino pirimidinas¹⁹.

La estrategia del control químico mediante el uso de estos fungicidas considera la aplicación de reiteradas veces, en la temporada durante los períodos de mayor susceptibilidad de la vid y que corresponden a la floración, antes de la cosecha y en algunos casos también en la post-cosecha. Este tipo de control debe tener en cuenta la presencia de diferentes grupos de especies resistentes a algunos fungicidas que se utilizan actualmente. Especies resistentes al grupo de fungicidas de los bencimidazoles y dicarboximidaz ya se han detectado en Chile. Por lo tanto, este hecho debe tenerse en cuenta, en la elección de la clase de pesticidas que se ha de utilizar. En las últimas temporadas, nuevos ingredientes se han aplicado para el control de la enfermedad, tales como tebuconazol (Horizon ®), ciprodinilo (Vangard ®), pirimetanilo (Scala ®) y la mezcla de fludioxonilo + ciprodinilo (® Switch), los cuales, se han incorporado en el mercado chileno. Algunos biopesticidas también están siendo ofrecidos como *Trichoderma* spp. (Trichodex ®) y el *Bacillus subtilis* (Serenade)^{20,21}.



Figura 2. Imagen de conidio e hifa de *B.cinerea* al microscopio y de los efectos que produce en vid.

Phytophthora cinnamomi Rands es otro de los hongos fitopatógenos más dañino para el sector frutícola, el cual, ataca a más de 950 especies vegetales, algunas de importancia económica para el sector frutícola chileno². Entre las especies que ataca este hongo, se encuentran plantas frutales tales como: palto, piña, castaño, melocotón, peral, macadamia; plantas hortícolas como rododendros y camelias; y árboles como el roble, pino y eucalipto (Figura 3). El número de especies vegetales conocidas por ser susceptibles a la enfermedad producida por *Phytophthora cinnamomi* ha aumentado por lo que se ha convertido en una importante plaga que causa amplias pérdidas económicas en la agricultura, horticultura, silvicultura y es una gran amenaza para los ecosistemas naturales y la biodiversidad^{22,23}.

La "tristeza del palto" (*Persea americana*) producida por *Phytophthora cinnamomi* Rands, es la enfermedad del palto más importante a nivel mundial. El hongo se dispersa a través del suelo, agua y durante la comercialización de plantas. Se localiza en el sistema radicular provocando podredumbre. Su acción se intensifica en terrenos húmedos, escasos de oxígeno y con temperaturas de 25 a 30 [°C]²⁴.

En Chile es la única enfermedad económicamente importante en el palto y es particularmente grave, debido a que gran parte de la zona cultivada con esta especie se encuentra en suelos pesados o arcillosos, los que al acumular una excesiva humedad se ven afectados por este patógeno²⁵. Hay antecedentes en otros países de estimaciones de las pérdidas económicas provocadas por *Phytophthora cinnamomi* en paltas entre las que destacan: la pérdida de US\$ 44 millones (1989)²⁶ en California donde se estima que afecta entre un 60-75 % de los huertos, pérdida de US\$ 30 millones anualmente, en huertos de California (1996)²⁷, y 640 millones de pesos mexicano (US\$ 489.139.572) en Michoacán, México (1999)²⁸. En otros cultivos tales como la piña y el pino ha provocado pérdidas, de AU\$ 1 millón (US\$ 1.047.199) en cultivos de piña en Queensland, Australia (1980) y US\$ 5 millones al año en plantaciones de pino en los bosques de Virginia a Mississippi (1980)²⁶.

Se ha encontrado un amplio número de clases de compuestos para inhibir el crecimiento de especies del género *Phytophthora* y disminuir la infección de la planta dañada^{17,22,23}. Dos grupos de sustancias químicas han demostrado ser las más eficaces para *Phytophthora cinnamomi*: las fenilamidas (por ejemplo Metalaxil®: metil N-(metoxiacetil)-N-(2,6-xilil)-DL-alaninato) y los fosfonatos o fosfitos (por ejemplo, Fosetil-Al®: tris(O-etil fosfonato)^{29,30}. El Metalaxil® y los fosfitos son inhibidores sistémicos, ambos tratamientos proporcionan un control eficaz en agricultura y horticultura; los fosfitos

también han sido ampliamente probados en ecosistemas naturales³¹. El Metalaxil® fue el primero de esta nueva generación de fungicidas. Se ha determinado que inicialmente proporciona un buen control para la pudrición de raíces. Sin embargo, se conoce que después de un uso continuado en una misma plantación durante tres años seguidos este fungicida pierde su efectividad, esto se debe aparentemente a la biodegradación acelerada del Metalaxil en el suelo. El grupo de fosfitos que incluye Aliette-Ca® y Fosject-200® han resultado ser productos químicos más exitosos, y actualmente se usan para ayudar al control de la pudrición de raíces. Ambos se recomiendan para ser inyectados en troncos y se utilizan con un fin restaurador del árbol y como protector ante la enfermedad³².

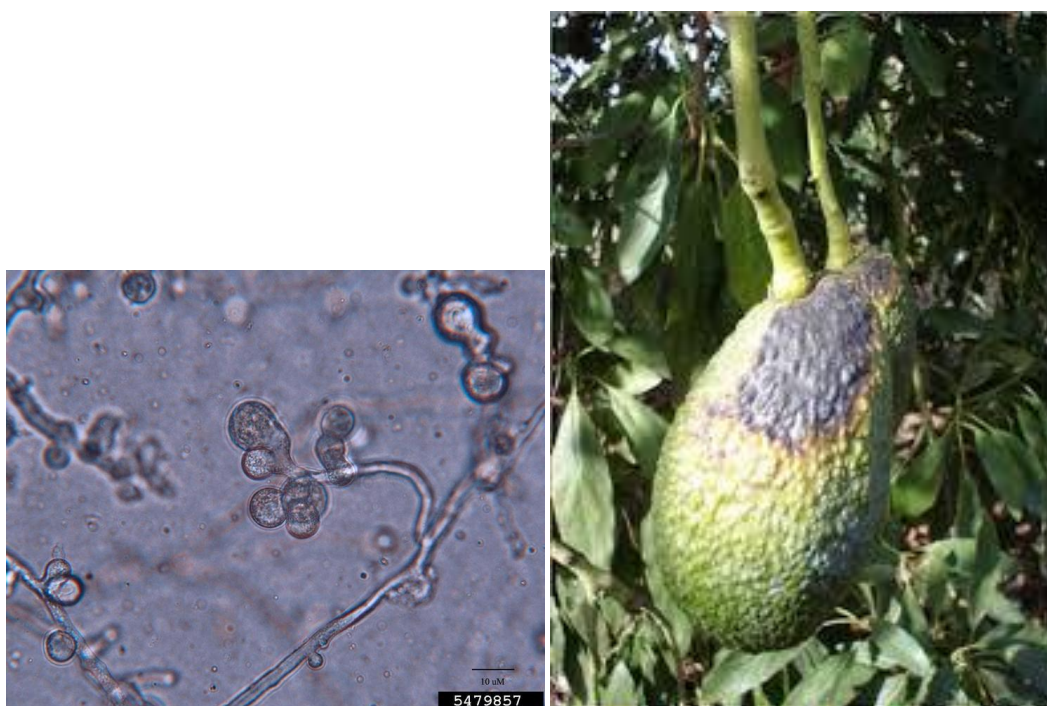


Figura 3. Imagen de *P. cinnamomi* al microscopia y de los efectos que produce en paltas.

1.3 Indicadores toxicológicos de fungicidas sintéticos comerciales.

El Servicio Agrícola y Ganadero (SAG) establece los requisitos que deben cumplir los plaguicidas de uso Agrícola, según la Resolución Exenta N° 2.196 del año 2000, y la publicación WHO/PCS/92.2 "The WHO Recommended Classification of Pesticides by Hazard", donde se clasifican según su toxicidad como se muestra en la Tabla 1. La Dosis letal media (DL₅₀) es la cantidad de tóxico necesario para causar la muerte del 50% de los animales de ensayo, y se expresa en mg/kg de animal ensayado. A menor DL₅₀, mayor toxicidad y depende de la vía de penetración, que puede ser oral o cutánea³³.

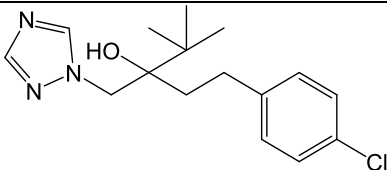
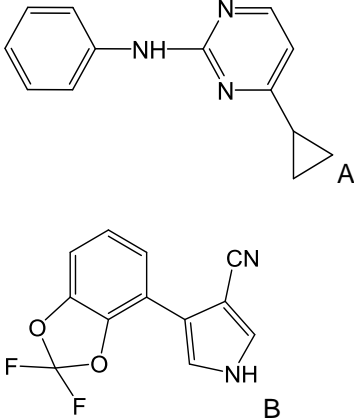
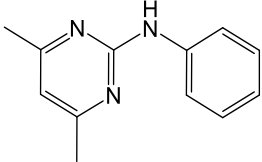
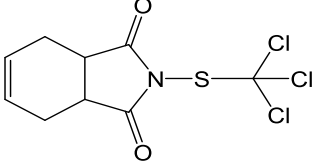
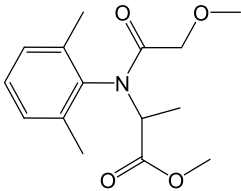
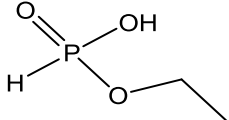
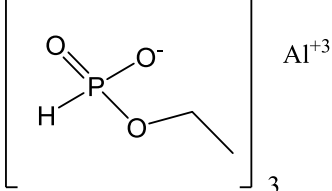
Tabla 1. Clasificación toxicológica para los plaguicidas según el Servicio Agrícola y Ganadero.

Clasificación	DL ₅₀ (ratas) de plaguicida formulado en mg/kg			
	Por vía oral		Por vía cutánea	
	Sólidos	Líquidos	Sólidos	Líquidos
Ia, Sumamente peligroso	< 5	< 20	< 10	< 40
Ib, Muy peligroso	5 a 50	20 a 200	10 a 100	40 a 400
II, Moderadamente peligroso	50 a 500	200 a 2.000	100 a 1.000	400 a 4.000
III, Poco peligroso	500 a 2.000	2.000 a 3.000	> 1.000	>4.000
IV, Productos que normalmente no ofrecen peligro	> 2.000	> 3.000		

Los fungicidas sintéticos comerciales más utilizados contra *Botrytis cinerea* y *Phytophthora cinnamomi* Rands se muestran en la Tabla 2. En esta tabla se muestra el nombre comercial del fungicida, el ingrediente activo, la toxicidad según la tabla 1 y su estructura molecular.

De la Tabla 2, se puede concluir que los fungicidas utilizados en Chile contra *Botrytis cinerea* y *Phytophthora cinnamomi* Rands tienen una toxicidad del Grupo III y IV, los cuales, se clasifican como productos poco peligroso o como productos que normalmente no ofrecen peligro, siempre que sean utilizados en concentraciones adecuadas. La mayoría de estos compuestos tienen un alto riesgo a generar resistencia, y algunos presentan átomos de cloro y flúor en sus estructuras, lo cual, producen un daño ambiental al no ser biodegradables. Por lo tanto, es posible que estos compuestos deban ser retirados a un corto plazo del mercado.

Tabla 2. Fungicidas sintéticos comerciales contra *B.cinerea* y *P.cinnamomi* Rands.

Nombre comercial	Hongo	Ingrediente activo	Toxicidad	Estructura
Horizon®	<i>Botrytis cinerea</i>	Tebuconazol	Grupo IV	
Switch®	<i>Botrytis cinerea</i>	Ciprodinil (A) + Fludioxonil (B)	Grupo III	
Scala®	<i>Botrytis cinerea</i>	Pirimetanil	Grupo IV	
Captan®	<i>Botrytis cinerea</i>	Ftalimida	Grupo IV	
Metalaxil®	<i>P. cinnamomi</i> Rands	Fenilamidas	Grupo IV	
Fosetil-Al®	<i>P. cinnamomi</i> Rands	Fosfonatos	Grupo IV	
Aliette®	<i>P. cinnamomi</i> Rands	Fosfonatos	Grupo IV	

1.4 Desarrollo de nuevos fungicidas.

A pesar de que actualmente se encuentran disponibles en el mercado fungicidas sintéticos relativamente efectivos para el control de varios hongos patógenos, su eficacia varía con las diferentes cepas y de las condiciones ambientales. En general, el uso indiscriminado de estos fungicidas, ha producido persistencia, generando una serie de problemas ambientales, incluyendo la contaminación de suelos y aguas³⁴. Además, hoy en día se percibe un aumento en la discusión de la población con respecto a la aplicación de estos productos y la presencia de sus residuos en alimentos, ya que ambas situaciones ponen en riesgo la salud tanto de trabajadores como de consumidores³⁵. Por ambas razones, actualmente el uso de varios pesticidas sintéticos se ha restringido y está siendo regulado gubernamentalmente³⁶. Esto, sumado a la creciente demanda por agroquímicos ambientalmente seguros generado por sistemas de agricultura alternativa, tales como la agricultura orgánica, ha incentivado el desarrollo de investigaciones orientadas a proporcionar métodos alternativos de control fitosanitario, como el control biológico³³ y las buenas prácticas agrícolas³⁷.

Los productos naturales y/o hemisintéticos de origen marinos y terrestres como los terpenilfenoles y terpenilhidroquinonas, presentan una serie de ventajas con respecto a los fungicidas sintéticos, las que incluyen su baja toxicidad, menor residualidad y alta selectividad^{38,39}, por lo que pueden ser candidatos ideales para su uso como agroquímicos⁴⁰.

1.5 Estudios de compuestos naturales y sintéticos utilizados como fungicidas *in vitro* contra *Botrytis cinerea*.

Se han encontrado diversos trabajos, en los cuales se informan compuestos aislados de plantas y también obtenidos desde origen sintético, que se han aplicado experimentalmente como fungicidas contra el hongo fitopatógeno de *Botrytis cinerea*.

1.5.1 Compuestos Naturales.

Los diterpenoides como el ácido kaurenoico y 3 β -hidroxi-kaurenoico (ver Figura 4), obtenidos a partir de la resina de la *Pseudognaphalium vira vira*, fueron usados como fungicidas contra *Botrytis cinerea*. Se observó un efecto protector mayor en la presencia del diterpenohidroxilado. El grupo hidroxilo aumentaría la polaridad y esta característica podría ser importante para la actividad antifúngica de este compuesto. El ácido 3 β -hidroxi-kaurenoico **1b** redujo el crecimiento del micelio de *B. cinerea* en medios sólidos y líquidos donde se obtuvo un 80% de inhibición del crecimiento, a una concentración de 40 $\mu\text{g/mL}$, a los 5 días de inoculación⁴¹.

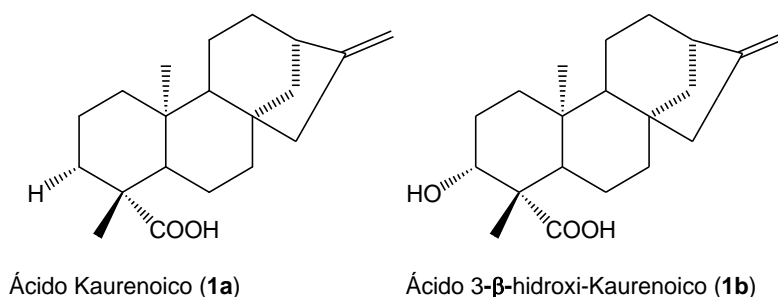


Figura 4. Derivados del Ácido Kaurenoico como fungicida contra *B.cinerea*.

También se investigó el efecto inhibitor del ácido sálvico **2a**, ácido acetilsálvico **2b**, y sus derivados, el ácido propanoilsálvico **2c**, ácido butanoilsálvico **2d** y ácido isopentanoilsálvico **2e** contra *Botrytis cinerea* (ver Figura 5). Todos los diterpenoides, con la excepción de ácido isopentenoilsálvico, inhibieron el crecimiento micelial del hongo en medios sólidos. Los diterpenoides de cadena lateral más cortos fueron más efectivos que los derivados con cadenas más largas en la inhibición del crecimiento del micelio del

hongo. Los resultados sugieren que la hidrofobicidad y las características estructurales podrían ser factores importantes en el efecto antifúngico de estos diterpenoides⁴².

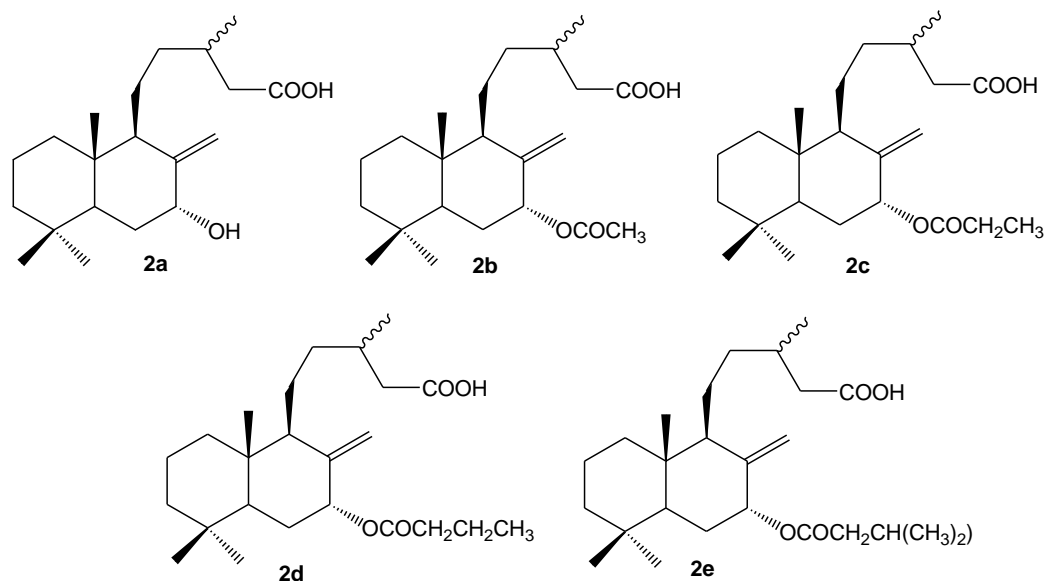
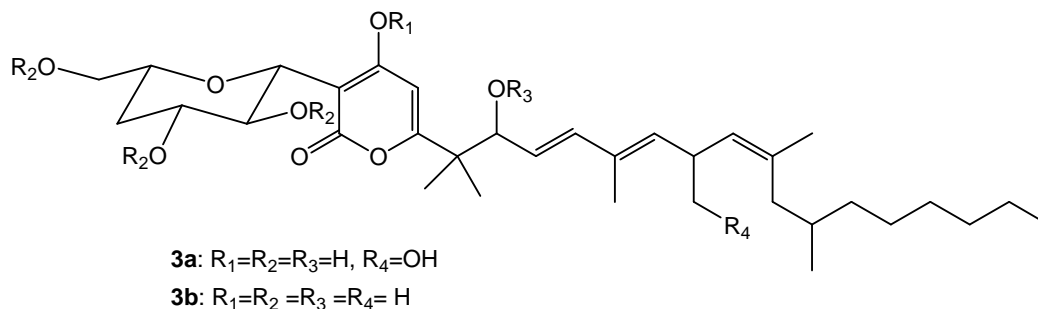
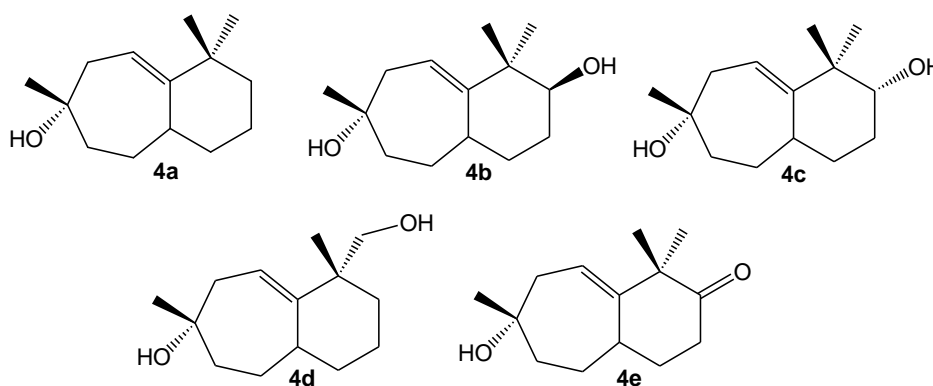


Figura 5. Derivados del Ácido Sálvico como fungicidas contra *B.cinerea*.

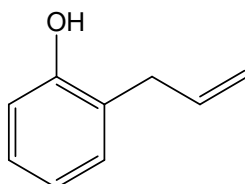
La Fusapirona y la deoxifusapirona (ver Figura 6), son dos compuestos que tienen actividad antifúngica contra los mohos, aislados del *Fusarium semitectum*. Estructuralmente **3a** y **3b** consisten de un residuo de azúcar hidrofílico con una cadena larga hidrofóbica y, por lo tanto, posee una naturaleza anfifílica, que se ha relacionado con propiedades antifúngicas y antibióticas. Estas moléculas, conocido como biotensioactivos, interactúan con las membranas plasmáticas y causar la pérdida de integridad de la membrana y lisis celular. Para el compuesto **3a**, se obtuvo una concentración inhibitoria mínima de 1,56 $\mu\text{g/mL}$ a las 72 hr de inoculación. Debido a su baja toxicidad y acción selectiva son potencialmente utilizables para control de las enfermedades de los cultivos post-cosecha⁴³.

Fusapirona (**3a**) y Deoxifusapirona (**3b**)Figura 6. Derivados de la Fusapirona como fungicidas contra *B.cinerea*.

Los derivados del Widdrol (ver Figura 7), fueron aislados de la madera Britton (*J.lucayana*), y se pusieron a prueba contra los patógenos necrotróficos de *Botrytis cinerea* y *Colletotrichum gloeosporioides*. Se encontró que estos compuestos eran inactivos contra *C. gloeosporioides*, pero mostró un efectivo control selectivo contra *B. cinerea*, donde inhibe significativamente el crecimiento del micelio del hongo en concentraciones superiores de 100 ppm. El compuesto **4a** obtuvo un 71 % de inhibición a 6 días de la inoculación, a una concentración de 200 $\mu\text{g/mL}$. La conclusión de los autores es que el aumento de grupos hidroxilos en el esqueleto del widdrol conduce a una disminución pronunciada en la actividad antifúngica contra *B. cinerea*⁴⁴.

Derivados del Widdrol (**4**)Figura 7. Compuestos extraídos de plantas y usados como fungicidas contra *B.cinerea*.

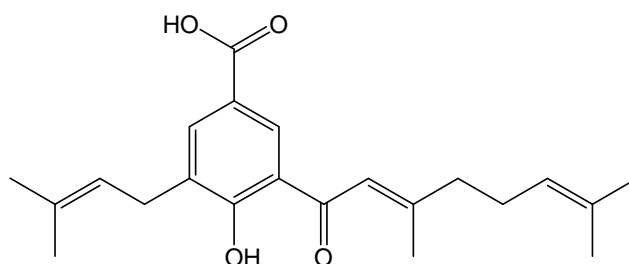
El compuesto 2-alilfenol **5** (ver Figura 8), es un fungicida registrado en China para controlar enfermedades fúngicas en tomate, fresa y manzana. Este compuesto es sintético y su estructura se asemeja a la del ginkgol, ingrediente activo aislado de la corteza del *Ginkgobiloba*⁴⁵.



2-alilfenol (**5**)

Figura 8. 2-alilfenol usado como fungicidas contra *B.cinerea*.

Compuestos derivados del ácido benzoico aislados de la planta *Piper cf. Cumanense Kunth* (*Piperaceae*), mostraron actividad antifúngica contra *Fusarium oxysporum f. sp. dianthii* *Botrytis cinerea*⁴⁶. El compuesto **6** (ver Figura 9), presentó un 100% de inhibición del crecimiento micelial a las 72 Hr de la inoculación, a una concentración de 0,01 µg/mL, contra *Botrytis cinerea*.



Ácido Cuménico (**6**)

Figura 9. Ácido Cuménico como fungicida contra *B.cinerea*.

1.5.2 Compuestos sintéticos.

Se ha estudiado la actividad antifúngica del ácido adípico monoetil éster (AAME) **7** (ver Figura 10), contra el patógeno necrotrófico. Este inhibe la germinación de esporas y el desarrollo del micelio en concentraciones no fitotóxicas. La germinación de las esporas en la presencia de AAME se detiene en una fase muy temprana, y previene el desarrollo del tubo germinativo. Por último, el AAME suprime la enfermedad del moho gris de los frutos como el tomate bajo condiciones controladas de inoculación, proporcionando pruebas de su eficacia en un contexto biológico y para el uso potencial de esta sustancia química como un tratamiento alternativo de fungicida⁴⁷.

El efecto sobre el crecimiento del micelio del hongo *Botrytis cinerea* se estudió con hidroquinonas tricíclicas y quinonas tricíclicas. En general, las antraquinonas presentan mayor actividad de las antrahidroquinonas. Los derivados de antraquinona y antrahidroquinona con grupos metilo en el anillo mostraron mayor actividad antifúngica que las que no sustituidas. El compuesto **8** (ver Figura 10), resultó ser el más activo, con 100% de inhibición de la germinación a las 7 h de incubación⁴⁸.

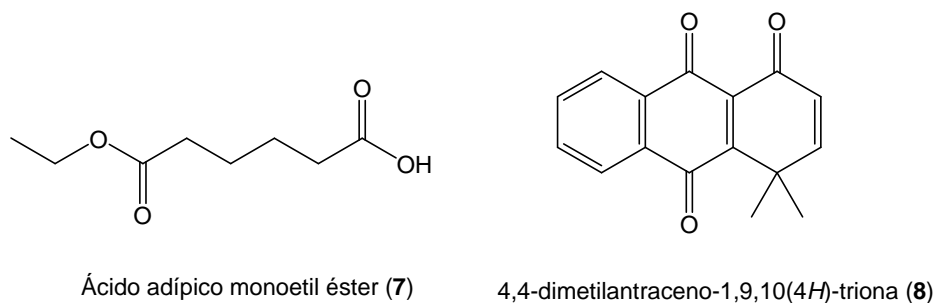


Figura 10. Compuestos sintéticos usados como fungicidas contra *B.cinerea*.

El ácido 12-oxo-fitodienoico (12-oxo-PDA) **9** (ver Figura 11), es un agente antifúngico potente. Se sintetizaron una serie de miméticos moleculares del 12-oxo-PDA que varían en la longitud de la cadena alquílica en la posición C-4 del anillo. El análogo de 4-octi-ciclopentanona **10** (ver Figura 11), era el más eficaz en la supresión de la germinación de esporas y el posterior crecimiento del micelio de una gama de hongos patógenos y era particularmente eficaz contra *Cladosporium herbarum* y *Botrytis cinerea*,

con concentraciones en el rango de 100-200 mM⁴⁹. Los compuestos derivados del furilo **11** (ver Figura 11), que están estrechamente relacionados con el resveratrol, presentan actividad antifúngica contra *Botrytis cinerea* utilizando una dosis efectiva media (ED₅₀) de 16,6 µg/mL, a los 4 días de incubación⁵⁰.

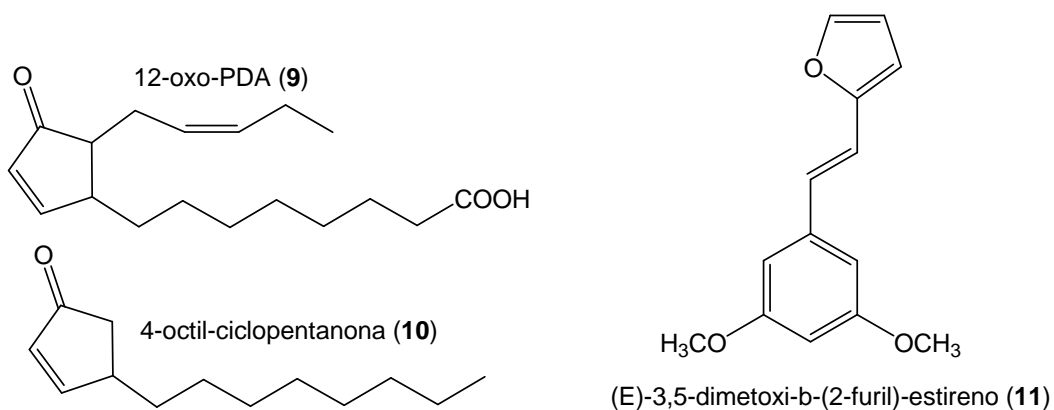


Figura 11. Compuestos sintéticos usados como fungicidas contra *B.cinerea*.

1.6 Estudios de compuestos naturales y sintéticos utilizados como fungicidas *in vitro* contra *Phytophthora cinnamomi* Rands.

Para el caso de *P. cinnamomi* Rands se encontró un compuesto aislado de *Persea borbonia*, llamado Borbonol **12** (ver Figura 12), que inhibió significativamente el crecimiento del patógeno a una concentración mínima de 1 µg/mL y la producción de esporangios en concentraciones de 5 y 10 µg/mL⁵¹.

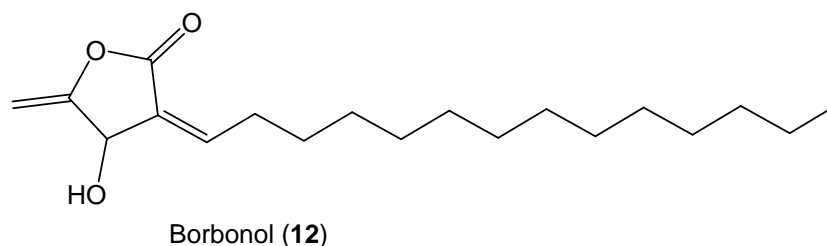


Figura 12. Compuesto extraído de plantas y usado como fungicida contra *P.cinnamomi*.

Recientemente la Oxisporona (compuesto **13**) (ver Figura 13), un dihidrofurpiranona fitotóxico, se aisló junto con dos compuestos estrechamente relacionados, Afritoxinonas A y B (**14** y **15**), a partir de cultivos líquidos de *Diplodia africana*, un hongo patógeno invasivo de *Phoenicean juniper*. En este estudio, ocho derivados fueron hemisintetizados y se evaluaron sus actividades antifúngicas *in vitro*, en comparación con el compuesto original contra cuatro patógenos vegetales *Athelia rolfsii*, *Diplodia corticola*, *Phytophthora cinnamomi* y *Phytophthora plurivora*. Cabe destacar que, entre los derivados sintetizados, el compuesto **16** es eficaz en la inhibición del crecimiento micelial de *A.rolfsii*, *Phytophthora cinnamomi* y *Phytophthora plurivora*, obteniéndose un porcentaje de inhibición del crecimiento micelial de un 100%, 77,2% y un 100%, respectivamente utilizando como controles positivos fungicidas comerciales PCNB, Toclofos-metil y Metalaxil-M. Los presentes resultados sugieren fuertemente que este derivado podría ser utilizado como compuesto prototipo para el descubrimiento de análogos más eficaces con potenciales aplicaciones biotecnológicas como biopesticida para el desarrollo de estrategias de gestión de estos patógenos⁵².

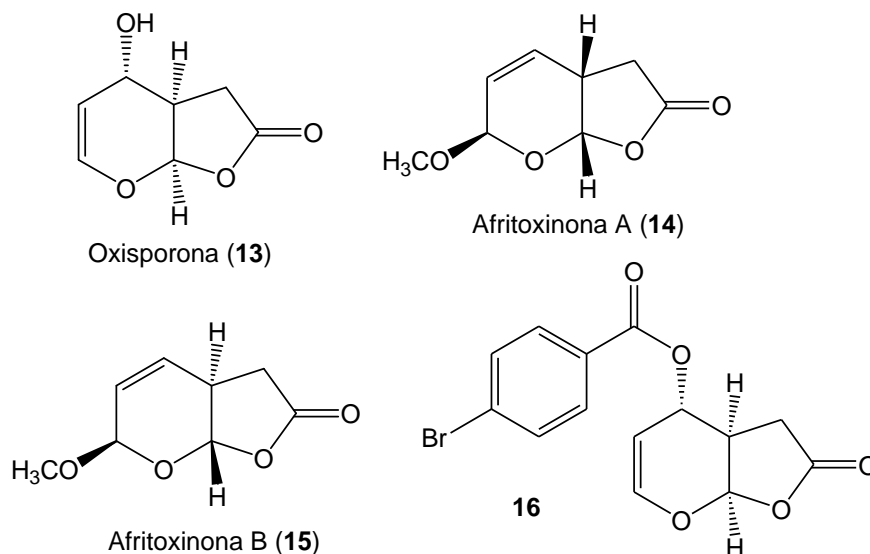


Figura 13. Compuestos hemisintéticos usados como fungicidas contra *P.cinnamomi*.

La mayoría de los trabajos encontrados estudia la actividad antifúngica de extractos o compuestos aislados de plantas contra otras especies de *Phytophthora*. Extractos de propóleo en una concentración de 3 µg/mL provocaron un 100% de inhibición micelial en las especies de *Phytophthora infestans*, *Phytophthora capsici* y *Phytophthora parasitica*⁵³. Los extractos de ajo, aceite de citronela fueron probados sobre la germinación de *Phytophthora infestans*. La más alta inhibición sobre la germinación del hongo se obtuvo con el extracto de ajo. El porcentaje de inhibición de la germinación de los esporangios y zoosporas se incrementaron con el aumento de las concentraciones de los extractos y llegaron al 100% cuando las dosis eran altas⁵⁴. El Ácido Penicílico aislado de *Aspergillus sclerotiorum*, tiene una alta actividad antifúngica *in vitro* contra *Phytophthora spp.* Las CIMs de ácido penicílico son de 1 a 25 µg/ml contra *Phytophthora cactorum*, *P.cambivora*, *P. capsici*, *P. drechsleri*, *P. infestans* y *P. nicotianae*⁵⁵.

1.7 Generalidades sobre los terpenil(hidro)quinonas y terpenilfenoles.

Las terpenil(hidro)quinonas y terpenilfenoles lineales son una importante subclase de metabolitos marinos de biosíntesis mixta. La porción terpénica de estas quinonas e hidroquinonas pueden variar de una a varias unidades de isopreno y es producto de la ruta biogénica del mevalonato, mientras que la porción hidroquinónica o quinónica deriva de la ruta biogénica del ácido shikímico. Estas terpenil(hidro)quinonas han sido aisladas desde algas pardas del orden *Fucales*⁵⁶⁻⁵⁹, *Esponjas*^{60,61}, *Alcyonaceas*⁶², *Gorgonaceas*⁶³, y *Ascidias* pertenecientes al género *Aplidium*^{56,64-68}. Las algas pardas contienen monoterpen-, sesquiterpen-, y diterpen- quinonas e hidroquinonas⁵⁶⁻⁵⁹. Las esponjas contienen 1,4-benzoquinonas e hidroquinonas terpeniladas con cadenas laterales de carbonos largas y lineales^{60,61}. Las *Ascidias* del género *Aplidium* han proporcionado una docena de quinonas terpeniladas y compuestos relacionados⁶⁴⁻⁶⁹. Esta clase de compuestos han sido estudiadas en otras investigaciones debido a sus potentes propiedades biológicas, entre las que se reportan: actividad neutralizadora de radicales libres^{70,71}, citotóxica^{72,73}, potencial actividad antiinflamatoria⁷⁴ y como agente antiulceroso⁷⁵. Se ha informado también de actividad antifitopatogena^{76,77} en compuestos aislados de *Phacelia loxides*. Adicionalmente varios reportes han demostrado que especies de *Piper crassinervium* producen compuestos con que presentan potencial antioxidante^{78,79}, específicamente las hidroquinonas terpeniladas han sido reconocidas por su rol como antioxidante en la prevención de la formación de radicales de oxígeno y peróxido de hidrógeno que inducen citotoxicidad y daño tisular en varias enfermedades humanas⁸⁰. La farnesil hidroquinona también posee otras propiedades biológicas como por ejemplo actividad antimalárica y antioxidante⁸¹. Mientras que las quinonas terpeniladas obtenidas desde *Peperomia galioides* mostraron actividad *in vitro* contra tres especies de *Leishmania*, responsables de la Leishmaniasis, y contra tres cepas del parásito *Trypanosoma cruzi*, causante de la enfermedad de Chagas⁸².

1.8 Geranilquinonas y geranilhidroquinonas.

Este subgrupo de monoterpenil(hidro)quinonas (geranilquinonas y geranilfenoles) lineales está representado por un importante número de compuestos (ver Figura 14), por ejemplo la 2-geranil-1,4-benzoquinona **17** aislada desde *Ascidian synoicum castellatum*⁸³ y geranilhidroquinona **18** aislada desde las especies *Cordia alliodora*⁸⁴, *Phacelia crenulata*⁸⁵, *Aplidium antillense*⁸⁶ y desde el tunicado *Amaroucium multiplicatum*³⁸. Los ensayos biológicos del compuesto **17** han demostrado interesantes actividades de toxicidad contra *Gambusia affinis* y *Artemia salina* y antimicrobiana contra *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Candida albicans*, *Micrococcus luteus* y *Bacillus subtilis*⁷⁸. Mientras que el compuesto **18** ha demostrado actividad antimicrobiana contra *Serratia marcescens*, *Morganella morganii*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus faecalis* y *Staphylococcus aureus* resistente a metilicina. Por otra parte también se ha reportado citotoxicidad contra células tumorales de Leucemia Linfocítica P388 y carcinoma epidermoide oral humano KB53; además para el compuesto **18** se estudió la inhibición de la enzima araquidonato 15-lipooxigenasa y la actividad antioxidante⁷⁸ en microsomas de hígado de rata, como la inhibición de la formación de peróxido lipídico⁸⁶.

Por otra parte, el compuesto **19** aislado desde la especie de alga tunicado *Amaroucium multiplicatum* y *Cordia alliodora* mostró actividad antioxidante⁸⁶ y antifúngica⁸⁷, mientras que la verapliquinona A **20** fue aislada desde *Aplidium sp11*. La Ubiquinona Q2 sirve como transportador redox en la cadena respiratoria mitocondrial y es el único antioxidante liposoluble que es endógenamente sintetizado tanto por organismos unicelulares y pluricelulares⁸⁸. Estudios recientes han mostrado que el compuesto **21** también está involucrado en un amplio rango de procesos metabólicos, además de estar involucrado en procesos redox y poseer acción como antioxidante. El compuesto **22** se aisló del *Ascidio Aplidium blabrum*⁸⁹, el compuesto **23** de las raíces de la *Salvia trijuga*⁹⁰ y el compuesto **24** del *Peperomia galioides*⁸¹. El compuesto **22** juega un papel importante en el transporte de electrones, la fotosíntesis y como antioxidante en planta y animales^{91,92}. Los extractos que contienen el compuesto **24**, mostraron actividad contra las formas promastigotas de tres especies de *Leishmania*⁹³.

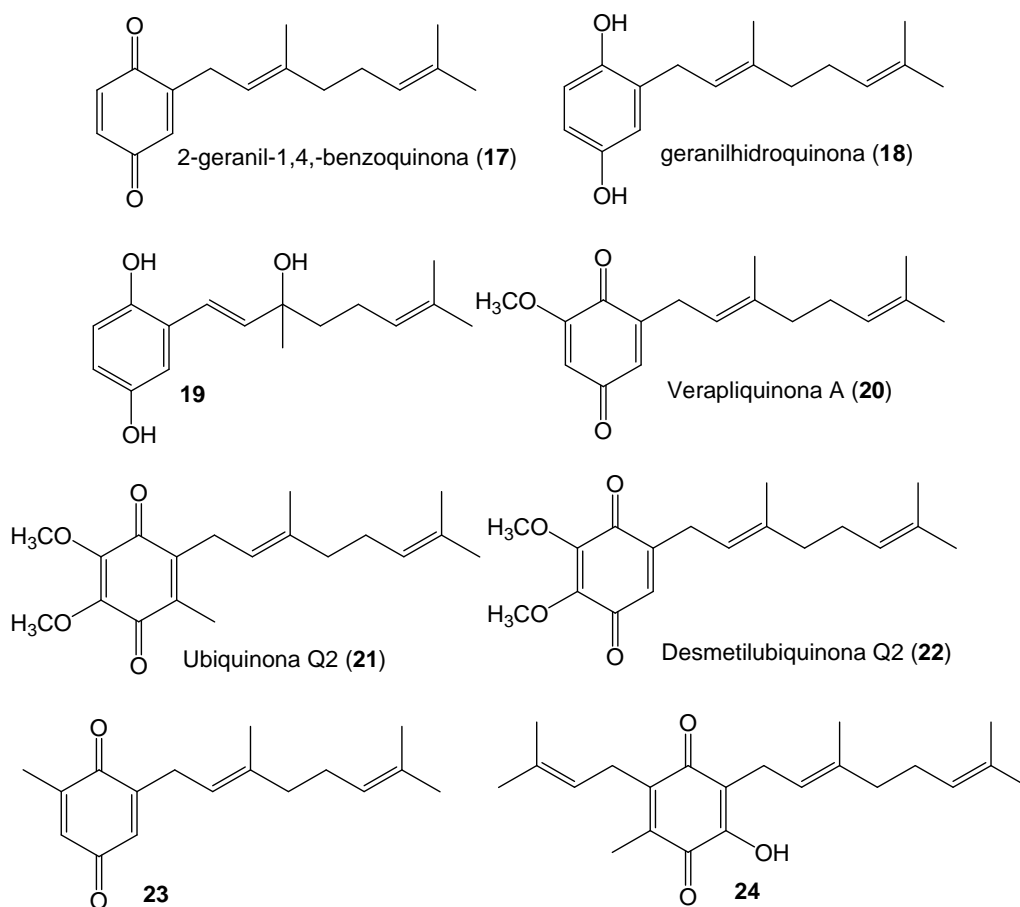


Figura 14. Estructuras de algunas geranil(hidro)quinonas naturales.

Sin embargo, los compuestos **25** y **26** (Figura 15) mostraron actividad fúngica en *Cladosporium cladosporioides* (un hongo patógeno que afecta el trigo) y *Cladosporium sphaerospermum*⁹³ (un hongo encontrado como un invasor secundario de las plantas, alimentos, suelo, pintura y textiles). El compuesto **27** fue aislado de la corteza de la raíz de *Cordia alliodora* y mostró propiedades antifúngicas contra los fitopatógenos *Cladosporium cucumerinum* (un patógeno vegetal que afecta a los pepinos) y una marcada actividad contra larvas de la fiebre amarilla mosquito transmisor *Aedes aegypti*⁸⁷. Los compuestos **28** (acetato de 3-geranil-2,5-dihidroxifenilo), **29** (acetato de 2-geranil-6-hidroxi-4-metoxifenilo) y **30** (acetato de 2-geranil-4-hidroxifenilo) aislados desde *Phacelia ixodes*⁷⁵ y *Phacelia crenulata*⁸¹, han demostrado poseer una actividad biológica

que les permite repeler y en algunos casos matar insectos fitófagos y patógenos de las plantas⁷⁶.

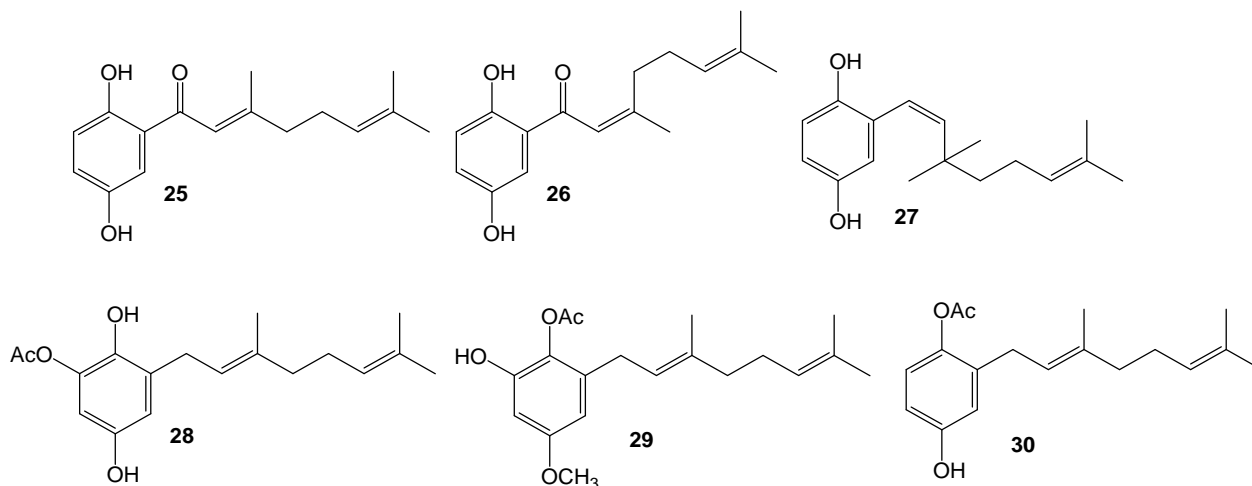


Figura 15. Estructuras de geranil(hidro)quinonas naturales con actividad pesticida.

Se han aislado de cultivos líquidos de *Nectria galligena* Bres. (hongo fitopatógeno, el agente más común de la enfermedad cancro de árboles de madera dura) los compuestos Colletorin B (**31**) y Colletochlorin B (**32**) (ver Figura 16), donde el compuesto **32** mostró una actividad inhibitoria contra las enzimas acetilcolinesterasa (AChE) y β -glucuronidasa, con valores de IC_{50} de 30-36 $\mu\text{g/mL}$ en el ensayo de AChE y 32-43 $\mu\text{g/mL}$ en el ensayo de β -glucuronidasa⁹⁴. De los extractos de las raíces de la *Cordia globifera* se aisló el compuesto Alliodorina (**33**), el cual muestra una significativa actividad antimicobacteriana contra *Mycobacterium tuberculosis* (CIM de 12,5 $\mu\text{g/mL}$) y antimalárica contra *Plasmodium falciparum* ($IC_{50} = 3,1 \mu\text{g/mL}$)⁹⁵. El compuesto sintético (**34**) que es un derivado prenilado de un ácido benzoico, fue evaluado en su actividad antibacteriana contra *Staphylococcus aureus*, obteniéndose una CIM de $7,29 \cdot 10^{-3} \mu\text{mol/mL}$ comparado con la Norfloxacin ($1 \cdot 10^{-1} \mu\text{mol/mL}$)⁹⁶.

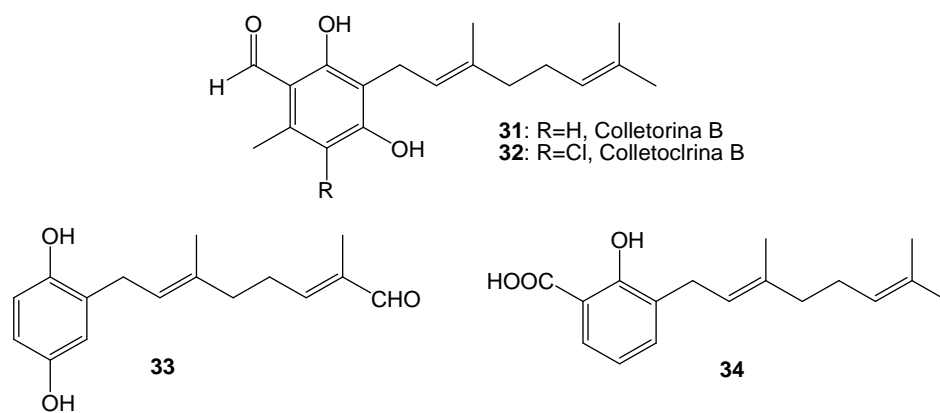
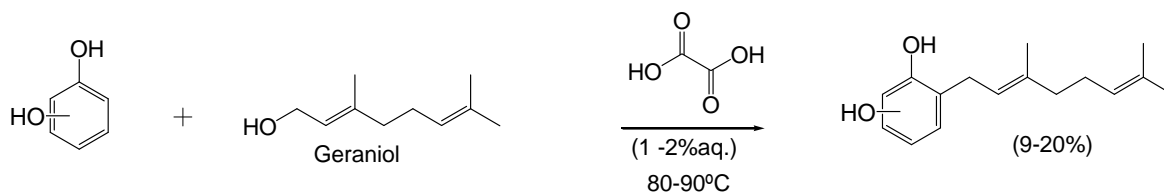


Figura 16. Estructura de geranil(hidro)quinonas sintéticos con actividad citotóxica y antibacteriana.

1.9 Métodos de síntesis de Geranilfenoles.

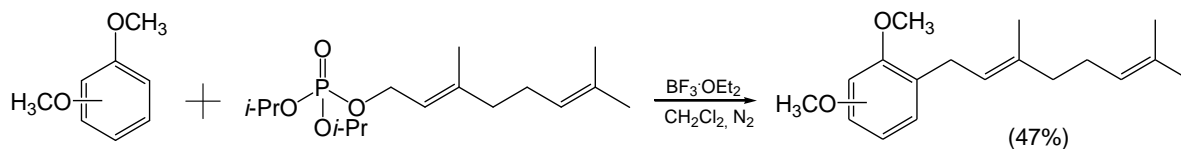
Los geranilfenoles han sido aislados desde variados organismos y a su vez han demostrado poseer un gran número de propiedades biológicas, sin embargo el gran problema para el estudio de este grupo es su bajo rendimiento de obtención desde sus fuentes naturales. La más recurrente de las estrategias sintéticas usadas para la preparación de geranilfenoles, consiste como primer paso, en la preparación por separado de los fragmentos terpeno y aromático apropiados para la síntesis. El segundo paso de la síntesis, consiste en el acoplamiento del equivalente sintético terpenilo al núcleo aromático. Los métodos más usados para la síntesis de estos compuestos son:

1. Condensación del terpeno y el fenol (alilación de Friedel-Crafts) catalizada por un ácido de Brönsted⁸³. Consiste en un acoplamiento entre núcleo aromático rico en electrones y el terpeno catalizada bajo condiciones ácidas, obteniendo el producto final en un solo paso, sin embargo, este esquema sintético está limitado a la inestabilidad del geraniol bajo condiciones ácidas (Esquema 1).



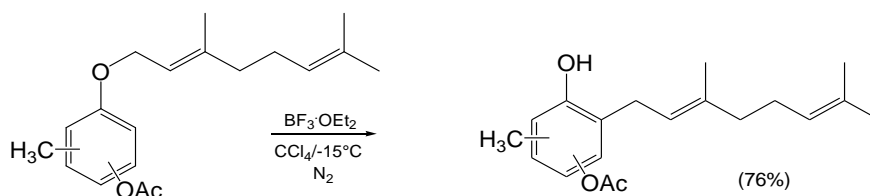
Esquema 1. Síntesis de Geranilfenol vía alilación de Friedel-Crafts catalizada por un ácido de Brönsted.

2. Alquenilación de ariléter con fosfato de diisopropilgeranilo catalizada por ácidos de Lewis⁹⁷. La alquenilación fue llevada a cabo en presencia de éterato de trifluoruro de boro usando exceso (5 eq a 1 eq del fosfato) de éteres aromáticos para prevenir la polialquenilación. La reacción se llevó a cabo a temperatura ambiente o por debajo de 50°C, la alquenilación presente requirió una temperatura de reacción más baja (0°C para prenilación y -23°C para geranilación) para evitar la formación de otros productos (Esquema 2).



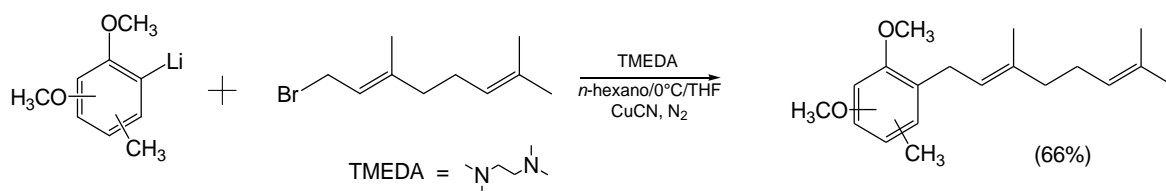
Esquema 2. Síntesis de Geranilfenol vía Alquilación de ariléter con fosfato de diisopropilgeranilo catalizada por ácidos de Lewis

3. Reordenamiento de prenil-aril éteres catalizado por ácidos de Lewis⁹⁸. La introducción de grupos poliprenil dentro de anillo aromático por un reordenamiento regioselectivo de prenil-aril éteres. Este reordenamiento se lleva a cabo en presencia de ácidos de Lewis (Esquema 3).



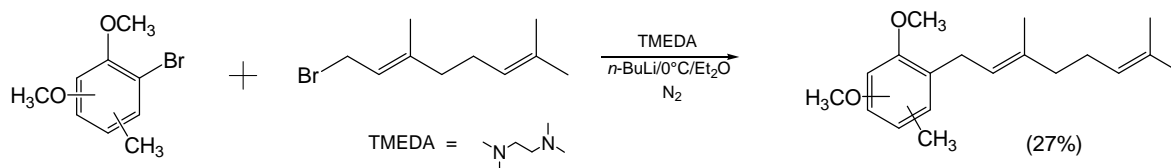
Esquema 3. Síntesis de Geranilfenol por Reordenamiento de prenil-aril éteres catalizado por ácidos de Lewis.

4. Litiación aromática directa de tetratometoxitolueno y posterior acoplamiento con bromuro de geranilo⁹⁹. La litiación aromática directa seguida por el acoplamiento sobre el halogenuro de alquilo catalizada por cobre proporciona una secuencia de síntesis con número reducido de etapas para la obtención de todos los miembros de la familia de ubiquinonas (Esquema 4).



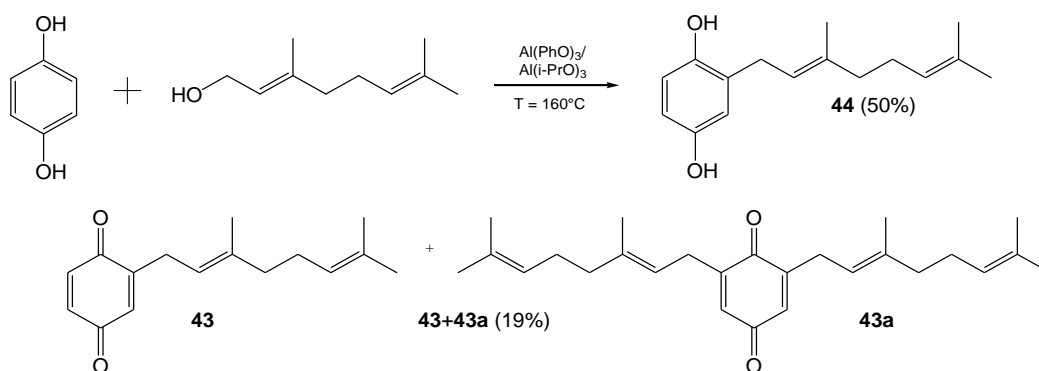
Esquema 4. Síntesis de Geranilfenol por Litiación aromática directa de tatrametoxitolueno y posterior acoplamiento con bromuro de geranilo.

5. Condensación por intercambio de metal halógeno (MHE)¹⁰⁰. De forma similar al esquema sintético anterior, se puede formar una fracción organometálica sobre terpeno, el que posteriormente puede producir la sustitución de un haluro anclado a un sistema aromático (Esquema 5).



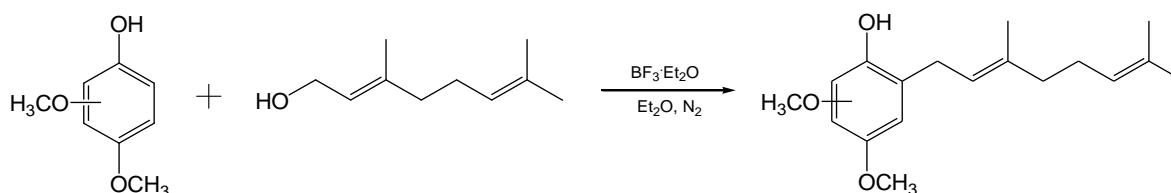
Esquema 5. Síntesis de Geranilfenol por Condensación por intercambio de metal halógeno (MHE)

6. Condensación de hidroquinona con geraniol catalizada por fenóxido de aluminio e isopróxido de aluminio¹⁰¹. En la reacción de hidroquinona con geraniol utilizando como catalizador el fenóxido de aluminio e isopróxido de aluminio, se obtuvieron tres productos como se muestra en la Esquema 6.



Esquema 6. Síntesis de Geranilfenol por Condensación de hidroquinona con geraniol catalizada por fenóxido de aluminio e isopróxido de aluminio

7. Condensación de metoxifenoles e hidroquinona con geraniol catalizado por ácidos de Lewis (BF₃·Et₂O)^{102,103}. En la reacción de metoxifenoles e hidroquinonas con geraniol utilizando como catalizador el trifluoruro de boro, se obtuvo el geranilfenol como se muestra en la Esquema 7.



Esquema 7. Síntesis de geranilfenol por Condensación de metoxifenoles e hidroquinona con geraniol catalizado por ácidos de Lewis (BF₃·Et₂O)

1.91 Actividad Antifúngica de Geranilfenoles sintéticos.

Se evaluó el efecto sobre el crecimiento micelial de *Botrytis cinerea*, *in vitro*, de una serie de geranilfenoles sintéticos. Estos derivados fueron preparados por reacciones de prenilación directas entre los correspondientes derivados de fenol y geraniol, usando $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ como catalizador y AgNO_3 como catalizador secundario. Estos compuestos se muestran en la Figura 17. Los compuestos **18** y **37** fueron las sustancias más eficaces con un 86% y 81% de porcentaje de inhibición del crecimiento micelial, respectivamente, a una concentración de 250 mg/L, con respecto al fungicida comercial Captan. La monosustitución en el núcleo aromático por una cadena de geraniol parece ser más eficaz en el efecto para la inhibición del crecimiento micelial que una sustitución doble. Estos resultados sugieren que los nuevos derivados de geranilfenoles tienen la capacidad de bloquear el desarrollo del micelio del patógeno *B. cinerea* y que esta capacidad depende fuertemente de las características estructurales y lipofilidad de los compuestos¹⁰⁴.

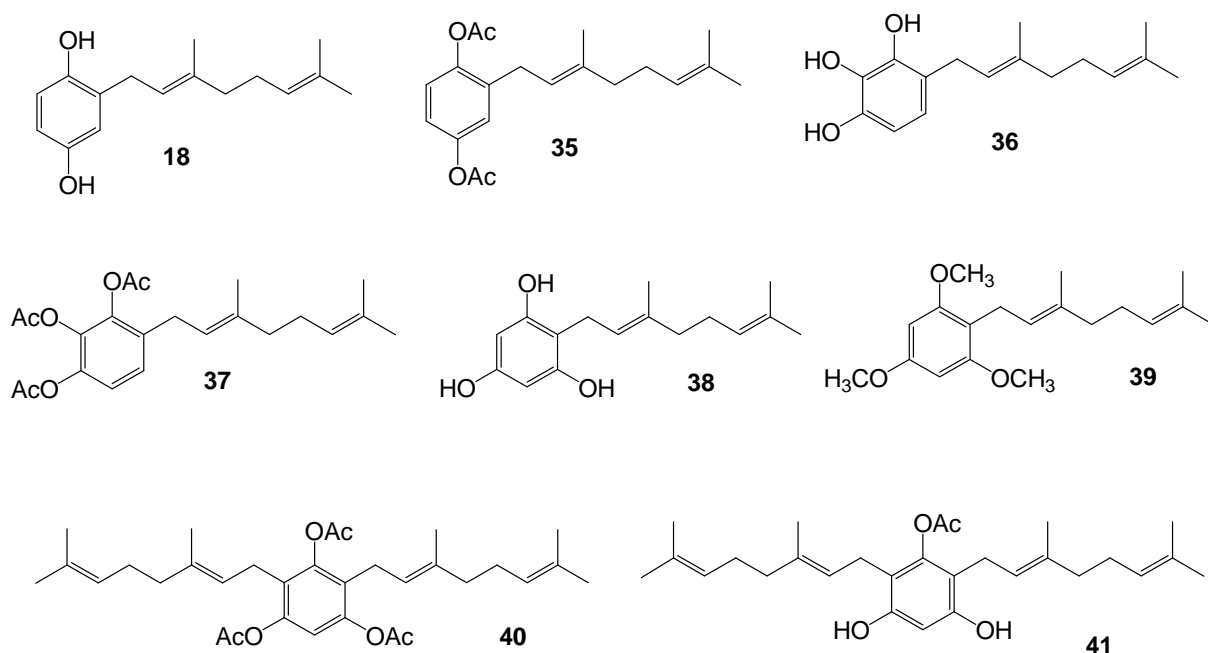


Figura 17. Estructura de geranil(hidro)quinonas sintetizadas con actividad antifúngica.

1.10 Mecanismos de encapsulamiento y liberación de compuestos hidrofóbicos.

La autoagregación de polímeros anfifílicos lleva a la formación de micelas poliméricas las cuales son capaces de solubilizar una amplia variedad de compuestos, lo que ha llevado a su uso como recipientes de diversos fármacos. La mayoría de las micelas de polímero que se utilizan para la administración de fármacos, son estructuras de forma esférica donde los segmentos hidrofóbicos del polímero constituyen el núcleo de la micela, mientras que las partes hidrofílicas forman la corona. El núcleo de la micela sirve como un micro entorno para la incorporación de la droga lipofílica, mientras que la corona ayuda a evitar la agregación de las micelas y asegura la solubilidad micelar (Figura 18).

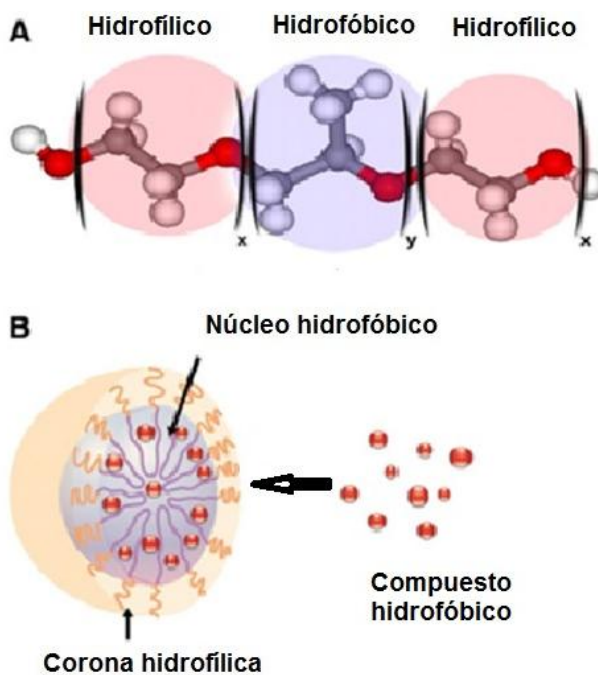


Figura 18. Molécula de copolímero en bloque de Pluronic (A) y la micela con una droga solubilizada (B).

La ubicación de los compuestos en el agregado está determinada por interacciones de Van der Waals, electrostáticas, y específicas entre las unidades de monómero y del compuesto. Por lo tanto, los sustratos se pueden incorporar a la micela mediante atrapamiento físico o por reacción para formar un compuesto conjugado. Un tipo especial de polímeros anfifílicos lo constituyen copolímeros en bloque de distinta

polaridad. Los copolímeros que se autoagregan en un medio acuoso son de forma AB o ABA, en la que A y B son los bloques hidrofílicos e hidrofóbicos, respectivamente¹⁰⁵⁻¹⁰⁷. El bloque hidrofílico más comúnmente utilizado es el poli (óxido de etileno) (PEO), que tiene el monómero de subunidad $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-$. Los estudios de toxicidad realizados en compuestos de copolímeros de PEO han demostrado que son bastante seguros, sobre todo aquellos con alto contenido de PEO. Los copolímeros de tres bloques solubles en agua de poli (óxido de etileno), los poli (óxido de propileno) (PPO) están comercialmente disponibles en una gama de pesos moleculares y de diferentes proporciones en composición de PPO/PEO (Figura 19). Los nombres comerciales de estos copolímeros son Poloxámeros® y Pluronic®. Estas moléculas son ampliamente utilizadas en aplicaciones industriales, tales como la detergencia, la formación de espuma, emulsificación, solubilización y la liberación controlada de drogas¹⁰⁸⁻¹¹⁰, y recientemente en el encapsulamiento de pesticidas¹¹¹⁻¹¹³.

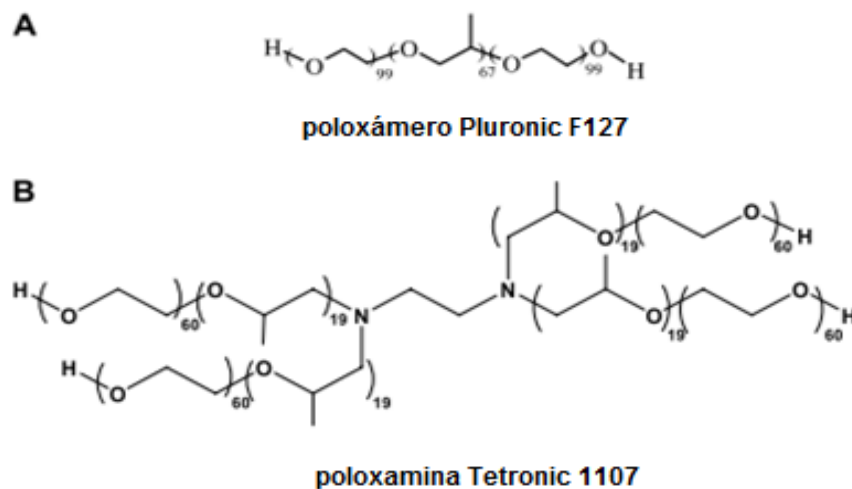


Figura 19. Estructura molecular de copolímero en bloque (PEO-PPO) (A) poloxámero lineal PLuronic F127 y (B) poloxamina ramificado Tetronic 1107.

En la aplicación de micelas poliméricas para el almacenamiento y/o transporte de drogas se requiere conocer algunos parámetros fisicoquímicos que juegan un papel fundamental en estas aplicaciones. Estos son el coeficiente de reparto y la cinética de liberación. El coeficiente de reparto de una molécula hidrofóbica entre la fase micelar y la solución acuosa es una medida de la extensión de la incorporación del compuesto en las

micelas^{114,115}. Por otro lado, los fármacos parecen ser liberados por un mecanismo de difusión o por la desintegración de las micelas.

Se han realizado estudios de encapsulamiento de geranilfenoles lineales (compuestos **18** y **35**) y la evaluación de su actividad antifúngica *in vitro* contra *Botrytis cinerea* utilizando micelas de copolímeros tribloque (PEO₁₀₀-PPO₆₅-PEO₁₀₀) y micelas de copolímeros dibloque PEO₄₄-b-PCL₁₂, a una concentración de compuesto de 250 ppm, a las 48 hr de inoculación. Los resultados muestran que para el compuesto **18** se obtiene un mejor resultado utilizando micelas de copolímeros tribloque con un porcentaje de inhibición de 97,4%, en cambio, para el compuesto **35** utilizando micelas de copolímeros dibloque se obtiene un porcentaje de inhibición del 97,5%^{116,117}. Otro trabajo realizado es el estudio del efecto de micelas de polímero sobre la actividad antifúngica contra *Botrytis cinerea* de compuestos derivados del orcinol, donde se utilizan dos tipos de copolímeros de bloque que forman micelas, Pluronic F-127 y poli (óxido de etileno) -b-poli (caprolactona) (Figura 20). Los resultados muestran que, para todos los compuestos de prueba, la incorporación en micelas, formado por Pluronic F-127, produce un gran aumento del efecto inhibitor sobre el crecimiento de *B. cinerea*. Para algunos compuestos, a la concentración más baja ensayada (50 ppm), aumenta el porcentaje de inhibición significativamente (de 0-10% a 80-90%)¹¹⁷.

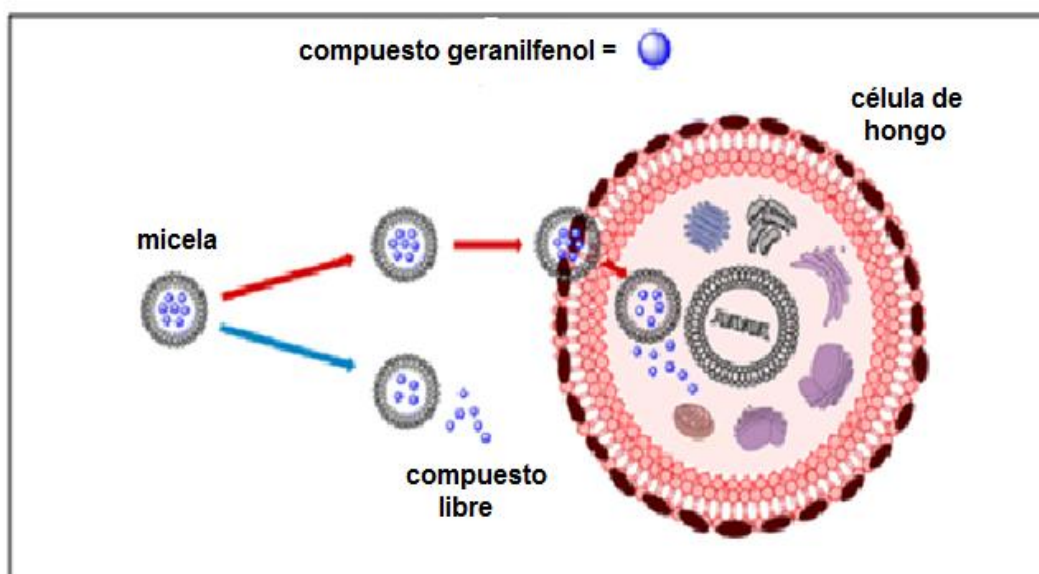


Figura 20. Incorporación de compuestos derivados del orcinol a través de micelas dentro de las células fúngicas.

1.11 Hipótesis de trabajo

Se ha demostrado que productos naturales con las estructuras de derivados de geranilfenoles y análogos estructurales sintéticos, poseen actividad biológica que permite repeler y en algunos casos produce la muerte de insectos fitófagos, además de presentar una marcada bioactividad inhibitoria del crecimiento de patógenos vegetales. Por lo tanto, una serie análoga de nuevos derivados de geranilfenoles lineales presentan actividad antifúngica contra los hongos de *Botrytis cinerea* y *Phytophthora cinnamomi* Rands, en su forma libre.

La hipótesis de este proyecto de tesis es que “La Actividad Antifúngica de los Geranilfenoles depende de los grupos sustituyentes y de su posición en el anillo aromático, y que esta actividad mejore cuando estas sustancias se apliquen en sistemas encapsulados con liberación controlada”.

CAPÍTULO 2: OBJETIVOS

2.1 Objetivo general

Sintetizar una serie de geranilfenoles que en su estructura contengan un esqueleto de geranilo y grupos metoxilos e hidroxilos, sustituidos en el anillo aromático y evaluar su actividad antifúngica en estado libre, y en sistemas encapsulados utilizando micelas poliméricas (Pluronic F-127).

2.2 Objetivos específicos.

- 1.- Sintetizar treinta y cuatro geranilfenoles lineales mediante la reacción de alilación y alquilación de Friedel-Crafts, entre los núcleos aromáticos y geraniol.
- 2.- Sintetizar los fenoles que no están disponibles en forma comercial, a partir de sus respectivos benzaldehídos, mediante la reacción de oxidación de Baeyer-Villiger y posterior saponificación.
- 3.- Evaluar los compuestos sintetizados en ensayos de actividad antifúngica, contra las cepa de *Botrytis cinerea* y *Phytophthora cinnamomi* Rands en su forma libre.
- 4.-Evaluación de la actividad biológica de los compuestos sintetizados encapsulados contra las cepas de los hongos fitopatógenos del punto 3.
- 5.- Establecer una relación de estructura-actividad de los compuestos sintetizados en los ensayos de actividad antifúngica contra *Botrytis cinerea* y *Phytophthora cinnamomi* Rands, en su forma libre y encapsulada.

CAPITULO 3: PARTE EXPERIMENTAL

3.1 Materiales y Equipos: Síntesis orgánica

Solventes: Los solventes utilizados fueron adquiridos desde Sigma-Aldrich, Merck y Fluka A.G. en grado analítico (p.a.)

1. Acetonitrilo
2. Metanol
3. Dioxano
4. Acetona

Solventes de grado técnico purificados por destilación y posterior secado con sulfato de sodio anhidro (Na_2SO_4) y/o cloruro de calcio anhidro (CaCl_2).

1. Hexano (destilación entre 60° a 80° C).
2. Acetato de etilo (destilación a 77° C).
3. Diclorometano (destilación a 40° C).
4. Metanol, 99% pureza, procedencia nacional.

Reactivos (grado p.a.) e Insumos:

1. Cromatoplasmas de sílicagel 60 F₂₅₄ MERCK.
2. Sílica gel para cromatografía en columna (0,040-0,063 mm), MERCK.
3. Sulfato de magnesio, fraccionado por Distribuidora Científica.
4. Bicarbonato de sodio, Merck.
5. Carbonato de potasio, Merck.
6. Cloruro de calcio anhidro, Merck.
7. Sulfato de sodio, Fluka-Garantie.
8. Anhídrido acético, BDH.
9. 4-dimetilaminopiridina (DMAP), Merck.
10. Hidroquinona, Merck.
11. Catecol, Sigma-Aldrich.
12. Resorcinol, Sigma-Aldrich.
13. Orcinol, Sigma-Aldrich.
14. 1,2,4-trihidrobenceno, Sigma-Aldrich.
15. 2-metoxihidroquinona, Sigma-Aldrich.

16. Guaiacol, Sigma-Aldrich.
17. 3-metoxifenol, Sigma-Aldrich.
18. 4-metoxifenol, Sigma-Aldrich.
19. 2,4-dimetoxifenol, Sigma-Aldrich.
20. 2,4,5-trimetoxifenol, Sigma-Aldrich.
21. 2,3-dimetoxifenol, Sigma-Aldrich.
22. 2,3,4-trimetoxifenol, Sigma-Aldrich.
23. 2,4,6-trimetoxifenol, Sigma-Aldrich.
24. 3,4,5-trimetoxifenol, Sigma-Aldrich.
25. Geraniol, Sigma-Aldrich.
26. Boro trifluoruro-éter dietílico, Sigma-Aldrich.
27. Trietilamina, Merck.
28. AgNO_3
29. NaHCO_3 , Aldrich.
30. Sulfato de dimetilo
31. Cromatografía en capa fina: Se utilizaron placas cromatográficas de Sílica gel Merck 60F 254. Fueron eluidas con mezclas de acetato de etilo y hexano en proporciones adecuadas para cada muestra. Los cromatogramas se revelaron en luz ultravioleta (UV 365 nm) y por pulverizado de la placa con una solución acuosa de ácido sulfúrico al 20%, con posterior calcinación sobre una placa calefactora.
32. Cromatografía en columna: Se realizaron con Sílica gel Merck 60 (0,032 -0,063 mm) y/o Sílica Merck (0,063- 0,2 mm). Los eluyentes fueron mezclas de acetato de etilo y hexano aplicadas en diferentes gradientes de polaridad y se indican en cada caso.

Equipos:

1. Espectrómetro Infrarrojo con transformada de Fourier Modelo 6700 FT-IR Nicolet (Thermo Scientific, San Jose, CA, EE.UU.) Los espectros de los compuestos se registraron en film entre cristales de cloruro de sodio. Las frecuencias de absorción fueron expresadas en número de onda (cm^{-1}).
2. Espectrómetro de masa (EM) Agilent 5973 (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, EE.UU.) con un voltaje de ionización de 70 eV, en una columna DB-5 m, 30 m x

0,25 mm x 0,25 μm , los datos están entregados como una respuesta m/z (% relación/intensidad). Los espectros de masa de alta resolución fueron registrados en un equipo Orbitrap XL (Thermo Scientific, San Jose, CA, EE.UU.) con voltajes de 1,8 kV y 1,9 kV en modo de ionización positivo y negativo respectivamente. Los espectros fueron registrados modo de barrido completo, cubriendo masas con un rango de m/z de 100 a 1300.

3. Espectrómetro de Resonancia Magnética Nuclear Bruker Avance 400 (Bruker, Rheinstetten, Alemania). Los espectros fueron llevados a cabo utilizando como solvente deuterado cloroformo (CDCl_3) al 99,8%. Los desplazamientos químicos (δ) fueron expresados en partes por millón (ppm) y las constantes de acoplamiento J en Hertz (Hz). Como referencia se utilizó el desplazamiento químico de las señales residuales del cloroformo deuterado, a $\delta = 7,26$ ppm y $\delta = 77,0$ ppm para los espectros de ^1H y de ^{13}C respectivamente.

3.2 Síntesis Química

3.2.1 Síntesis de los compuestos geranilfenoles.

Durante esta investigación se logró sintetizar treinta y cuatro derivados de geranilfenoles a partir de quince equivalentes sintéticos (Figura 21), donde en algunos casos se han obtenido compuestos de geranilfenoles monoacoplados y diacoplados en la reacción. Para sintetizar los fenoles que no están disponibles en forma comercial, éstos compuestos se sintetizaron a partir de sus respectivos benzaldehídos, mediante la reacción de oxidación de Baeyer-Villiger y posterior saponificación (Figura 22).

La reacción de acoplamiento entre los sintones aromáticos con geraniol fue la reacción de Alilación de Friedel-Crafts utilizando como catalizador $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$, y como solvente dioxano. Un segundo método corresponde a una modificación de las condiciones de reacción de la alilación de Friedel-Crafts, consistente en la adición de Nitrato de Plata y como solvente acetonitrilo.

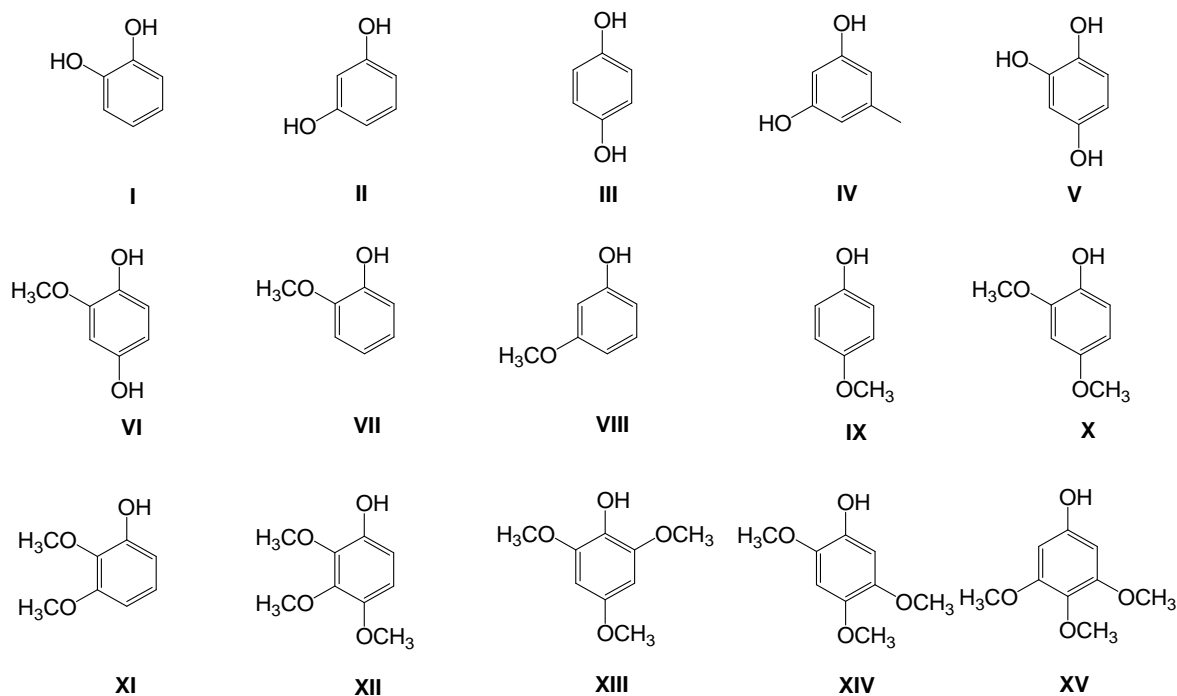


Figura 21. Estructura de compuestos aromáticos que serán usados para la reacción de acoplamiento con geraniol.

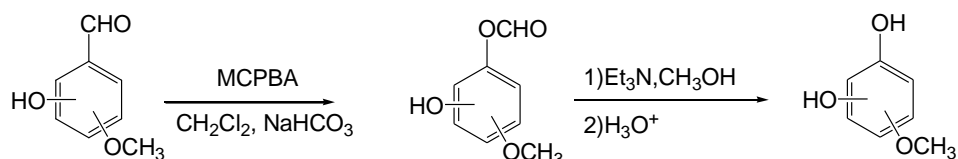
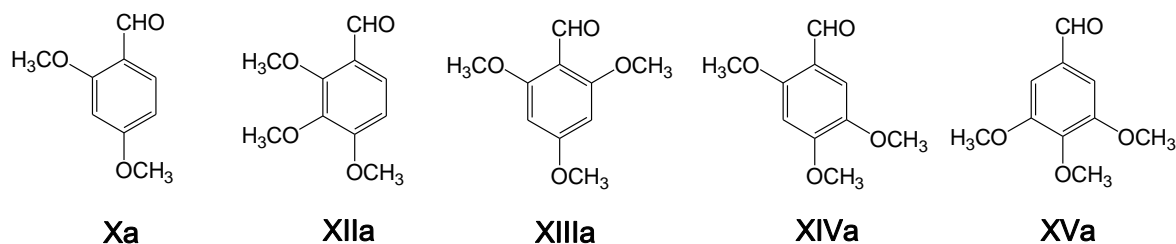


Figura 22. Síntesis de compuestos aromáticos por reacción de oxidación de Bayer-Villiger.

Para la identificación y caracterización de los compuestos de acoplamiento, se asignó la numeración a cada compuesto de acuerdo a las reglas de la IUPAC. En la Figura 23 se encuentran tres ejemplos para cada uno de los distintos patrones de sustitución posible: producto mono-acoplado, producto di-acoplado simétrico y producto di-acoplado asimétrico. La asignación espectroscópica de RMN seguirá estos patrones de numeración según corresponda.

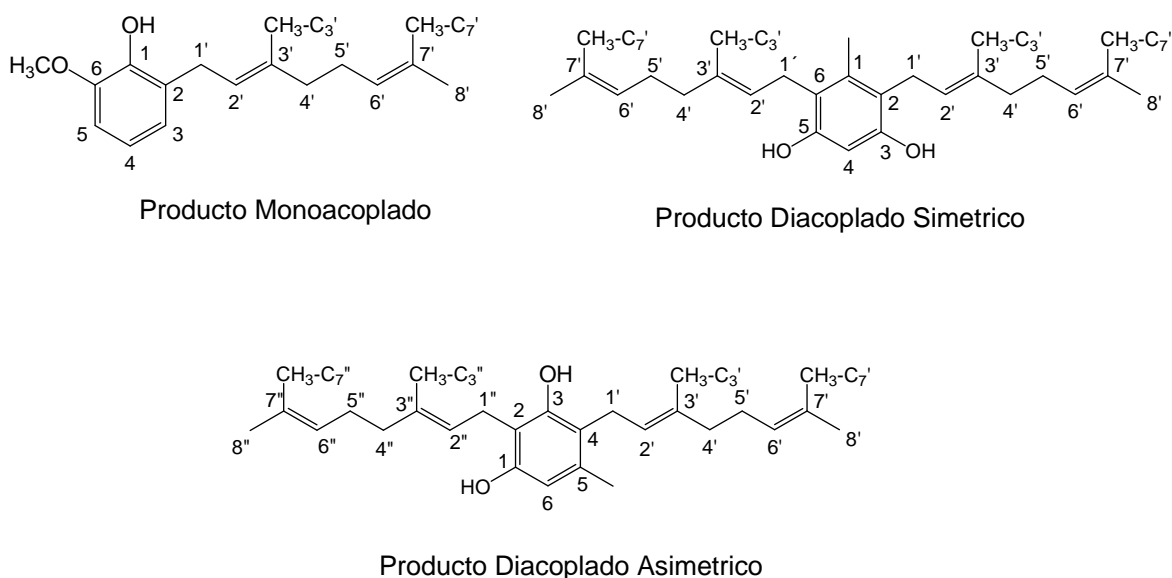
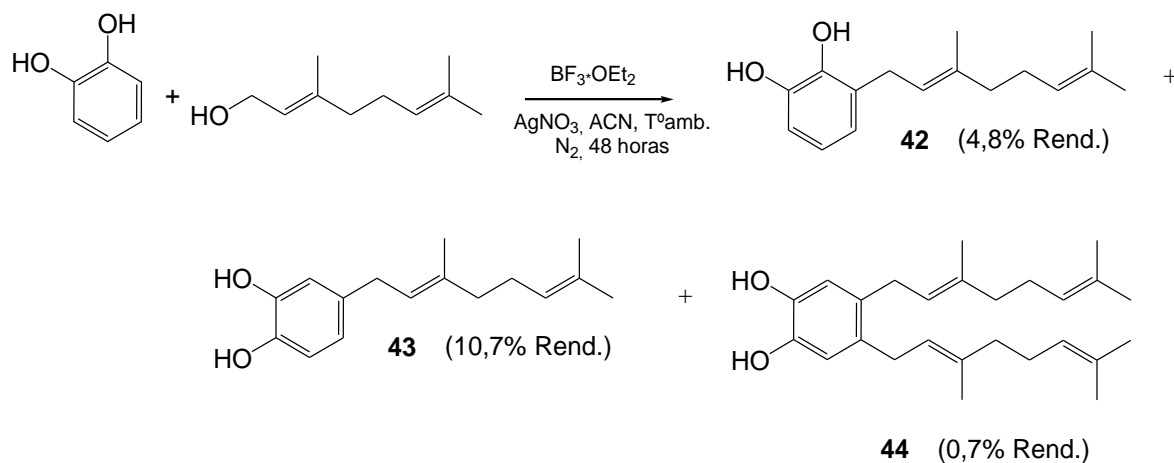


Figura 23. Ejemplos de numeración para los compuestos sintetizados.

Compuestos 42, 43 y 44.

Para la síntesis del compuesto **42** se utilizó el método de alilación de Friedel-Crafts entre geraniol y el núcleo aromático catecol, catalizado por $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ y utilizando AgNO_3 como catalizador secundario. En este caso se obtuvo el compuesto deseado **42** y además de los compuestos **43** y **44**, de acuerdo con el Esquema 8.

Esquema 8. Síntesis de los compuestos **42**, **43** y **44**

A una solución de catecol (1,0 g; 9,1 mmol), geraniol (1,4 g; 9,1 mmol) y acetonitrilo (40mL) se adicionó una solución de acetonitrilo saturada en AgNO_3 (1 mL), y luego se puso en agitación a temperatura ambiente bajo atmósfera de nitrógeno. A esta mezcla se le inyectó lenta y directamente $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ (0,46 g; 3,2 mmol). Se dejó en agitación durante 48 horas. El término de la reacción fue monitoreado por cromatografía en capa fina (CCF). A la solución se agregó 30 mL de agua y una cucharada de NaCl , y se transfirió a un embudo de decantación, luego la fase acuosa se lavó tres veces con AcOEt (3×20 mL). La fase orgánica fue lavada con una solución 5% de NaHCO_3 (15 mL) y agua (2×15 mL) y luego secada sobre Na_2SO_4 anhidro, y posteriormente esta solución fue filtrada y evaporada a sequedad. El crudo de reacción fue purificado por cromatografía en columna (CC), usando como fase estacionaria sílica gel y como fase móvil una mezcla de acetato de etilo/hexano en gradiente de polaridad creciente (0:100→95:5). Se obtuvieron tres Fracciones. Fracción I 108 mg (4,8% de rendimiento) de un aceite viscoso color rojizo (compuesto **42**). Fracción II: 239 mg (10,7% de rendimiento) de un aceite

viscoso color rojizo (compuesto **43**). Fracción III: 24,8 mg (0,7% de rendimiento) de un aceite viscoso color rojizo (compuesto **44**).

Compuesto 42: (E)-3-(3,7-dimetilocta-2,6-dienil)benzeno-1,2-diol

RMN de ^1H : 6,78 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H, H-6); 6,75 (dd, $J = 8,4$ y 6,8 Hz, 1H, H-5); 6,66 (d, $J = 6,8$ Hz, 1H, H-4); 5,38 (s, 1H, OH-2); 5,33-5,31 (m, 2H, H-2' y OH-1); 5,05-5,04 (m, 1H, H-6'); 3,37 (d, $J = 7,1$ Hz, 2H, H-1'); 2,14-2,12 (m, 2H, H-5'); 2,11-2,10 (m, 2H, H-4'); 1,78 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-C3'}$); 1,69 (s, 3H, H-8'); 1,60 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-C7'}$);

RMN de ^{13}C : 144,3 (C-1); 141,9 (C-2); 138,9 (C-3'); 132,2 (C-7'); 127,4 (C-3); 123,7 (C-6'); 121,7 (C-2'); 121,4 (C-4); 120,7 (C-5); 113,2 (C-6); 39,6 (C-4'); 29,9 (C-1'); 26,3 (C-5'); 25,7 (C-8'); 17,7 ($\text{CH}_3\text{-C7'}$); 16,1 ($\text{CH}_3\text{-C3'}$);

IR (cm^{-1}): 3418; 2967; 2922; 1620; 1590; 1475; 1375; 1278.

EM (m/z , %): M^+ 246 (37,5); 123 (100); 69,1 (42,9); 159 (38,0); 131 (35,5).

Compuesto 43: (E)-4-(3,7-dimetilocta-2,6-dienil)benzeno-1,2-diol

RMN de ^1H : 6,78-6,76 (m, 1H, H-6); 6,69-6,68 (m, 1H, H-3); 6,62-6,61 (m, 1H, H-5); 5,29 (t, $J = 6,7$ Hz, 1H, H-2'); 5,10 (t, $J = 6,4$ Hz, 1H, H-6'); 3,24 (d, $J = 7,2$ Hz, 2H, H-1'); 2,11-2,08 (m, 2H, H-5'); 2,05-2,02 (m, 2H, H-4'); 1,68 (s, 6H, $\text{CH}_3\text{-C3'}$ y H-8'); 1,60 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-C7'}$).

RMN de ^{13}C : 143,4 (C-2); 141,3 (C-1); 136,1 (C-3'); 135,0 (C-4); 131,5 (C-7'); 124,3 (C-6'); 123,1 (C-2'); 120,7 (C-5); 115,4 (C-3); 115,3 (C-6); 39,7 (C-4'); 33,4 (C-1'); 26,6 (C-5'); 25,7 (C-8'); 17,7 ($\text{CH}_3\text{-C7'}$); 16,1 ($\text{CH}_3\text{-C3'}$).

IR (cm^{-1}): 3402; 2973; 2922; 1605; 1442; 1375; 1278.

EM (m/z , %): M^+ 246 (49,5); 123 (100); 69 (36,0); 159 (60,5); 131 (49,2).

Compuesto 44: 4,5-bis((E)-3,7-dimetilocta-2,6-dienil)benzeno-1,2-diol

RMN de ^1H : 6,67 (s, 2H, H-3, H-6); 5,39 (s, 2H, H-1, H-2); 5,22 (t, $J = 6,9$ Hz, 2H, H-2'); 5,10 (t, $J = 6,4$ Hz, 2H, H-6'); 3,21 (d, $J = 7,0$ Hz, 4H, H-1'); 2,11-2,01 (m, 8H, H-4', H-5'); 1,68 (s, 6H, $\text{CH}_3\text{-C3'}$); 1,65 (s, 6H, H-8'); 1,60 (s, 6H, $\text{CH}_3\text{-C7'}$).

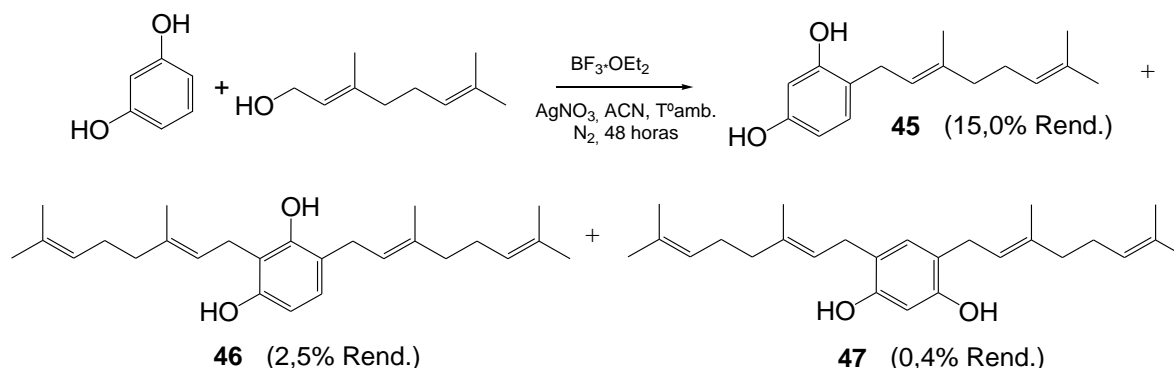
RMN de ^{13}C : 141,3 (C-2 y C-1); 135,9 (C-3'); 132,2 (C-4 y C-5); 131,4 (C-7'); 124,2 (C-6'); 123,0 (C-2'); 116,1 (C-3 y C-6); 39,7 (C-4'); 30,7 (C-1'); 26,6 (C-5'); 25,7 (C-8'); 17,7 ($\text{CH}_3\text{-C7'}$); 16,1 ($\text{CH}_3\text{-C3'}$).

IR (cm^{-1}): 3399; 2967; 2921; 2855; 1606; 1514; 1447; 1376; 1283; 1174.

EM (m/z , %): M^+ 382 (4,5); 243 (17,0); 215 (21,6); 175 (100); 69(63,6); 41 (48,9).

Compuestos 45, 46 y 47.

Para la síntesis del compuesto **45** se utilizó el método de alilación de Friedel-Crafts entre geraniol y el núcleo aromático resorcinol, catalizado por $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ y utilizando AgNO_3 como catalizador secundario. En este caso se obtuvo el compuesto deseado **45** y además de los compuestos di sustituidos **46** y **47**, de acuerdo con el Esquema 9.



Esquema 9. Síntesis de los compuestos **45**, **46** y **47**.

A una solución de resorcinol (1,0 g; 9,1mmol), geraniol (1,4 g; 9,1mmol) y acetonitrilo (40mL) se adicionó una solución de acetonitrilo saturada en AgNO_3 (1 mL), luego se puso en agitación a temperatura ambiente bajo atmósfera de nitrógeno. A esta mezcla se le inyectó lenta y directamente $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ (0,46 g; 3,2 mmol). Se dejó en agitación durante 48 horas. El término de la reacción fue monitoreado por cromatografía en capa fina (CCF). A la solución se agregó 30 mL de agua y una cucharada de NaCl , y se transfirió a un embudo de decantación, luego la fase acuosa se lavó tres veces con AcOEt (3 x 20 mL). La fase orgánica fue lavada con una solución 5% de NaHCO_3 (15 mL) y agua (2 x 15 mL) y luego secada sobre Na_2SO_4 anhidro, y posteriormente esta solución fue filtrada y evaporada a sequedad. El crudo de reacción fue purificado por cromatografía en columna (CC), usando como fase estacionaria sílica gel y como fase móvil una mezcla isocrática de acetato de etilo / hexano al 20% (20:80). Se obtuvieron tres Fracciones. Fracción I: 337,1 mg (15,0% de rendimiento) de un aceite viscoso color amarillo (compuesto **45**). Fracción II: 86,9 mg (10,7% de rendimiento) de un aceite viscoso color

amarillo (compuesto **46**). Fracción III: 13,2 mg (0,7% de rendimiento) de un aceite viscoso color amarillo (compuesto **47**).

Compuesto 45: (E)-4-(3,7-dimetilocta-2,6-dienil)benceno-1,3-diol

RMN de ^1H : 6,92 (d, $J = 8,8$ Hz, 1H, H-5); 6,37 (d, $J = 2,4$ Hz, 1H, H-2); 6,36 (dd, $J = 2,4$ y 8,8 Hz, 1H, H-6); 5,30 (t, $J = 6,8$ Hz, 1H, H-2'); 5,09 (t, $J = 6,1$ Hz, 1H, H-6'); 3,27 (d, $J = 7,2$ Hz, 2H, H-1'); 2,12-2,09 (m, 2H, H-5'); 2,08-2,06 (m, 2H, H-4'); 1,72 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-C3}$); 1,69 (s, 3H, H-8'); 1,60 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-C7}$).

RMN de ^{13}C : 154,8 (C-1); 154,8 (C-3); 137,6 (C-3'); 131,7 (C-7'); 130,3 (C-5); 124,0 (C-6'); 122,1 (C-2'); 119,4 (C-4); 107,6 (C-6); 103,2 (C-2); 39,6 (C-4'); 28,3 (C-1'); 26,4 (C-5'); 25,6 (C-8'); 17,6 ($\text{CH}_3\text{-C7}$); 16,0 ($\text{CH}_3\text{-C3}$).

IR (cm^{-1}): 3387; 2927; 1702; 1620; 1508; 1455; 1377; 1297; 1152.

EM (m/z , %): M^+ 246 (16,8); 177 (43,5); 161 (28,5); 123 (100); 69 (29,0).

Compuesto 46: 2,4-bis((E)-3,7-dimetilocta-2,6-dienil)benceno-1,3-diol

RMN de ^1H : 6,83 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H, H-5); 6,36 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H, H-4); 5,43 (s, 1H, OH-C1); 5,28 (m, 2H, H-2' y H-2'"); 5,06 (m, 2H, H-6' y H-6'"); 5,04 (s, 1H, OH-C3); 3,43 (d, $J = 7,0$ Hz, 2H, H-1'"); 3,29 (d, $J = 7,1$ Hz, 2H, H-1'); 2,13-2,06 (m, 8H, H-4'-5'-4"-5'"); 1,82 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-C3}$ "); 1,77 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-C3}$ '); 1,69 (s, 3H, H-8"); 1,68 (s, 3H, H-8'); 1,61 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-C7}$ "); 1,59 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-C7}$ ").

RMN de ^{13}C : 153,7 (C-3); 153,4 (C-1); 138,6 (C-3'"); 138,3 (C-3'); 131,9 (C-7' y C-7'"); 127,5 (C-5); 124,0 (C-6' y C-6'"); 122,3 (C-2'); 121,7 (C-2'"); 119,1 (C-6); 113,9 (C-2); 107,6 (C-4); 39,7 (C-4' y C-4'"); 29,7 (C-1'); 26,4 (C-5' y C-5'"); 25,7 (C-8' y C-8'"); 22,5 (C-1'"); 17,7 ($\text{CH}_3\text{-C7}$ ' y C7'"); 16,2 ($\text{CH}_3\text{-C3}$ "); 16,1 ($\text{CH}_3\text{-C3}$ ').

IR (cm^{-1}): 3447; 2967; 2915; 2854; 1615; 1500; 1488; 1452; 1376; 1279; 1224; 1107; 1022.

EM (m/z , %): M^+ 382 (14,6); 297 (34,1); 259 (29,3); 189 (100); 135 (34,1); 69(51,2); 41 (50).

Compuesto 47: 4,6-bis((E)-3,7-dimetilocta-2,6-dienil)benceno-1,3-diol

RMN de ^1H : 6,78 (s, 1H, H-5); 6,33 (s, 1H, H-2); 5,29 (t, $J = 7,1$ Hz, 2H, H-2'); 5,05 (t, $J = 5,9$ Hz, 2H, H-6'); 5,04 (s, 2H, OH); 3,27 (d, $J = 7,0$ Hz, 4H, H-1'); 2,11-2,04 (m, 8H, H-5' y H-4'); 1,78 (s, 6H, $\text{CH}_3\text{-C3}$ '); 1,68 (s, 6H, H-8'); 1,59 (s, 6H, $\text{CH}_3\text{-C7}$ ').

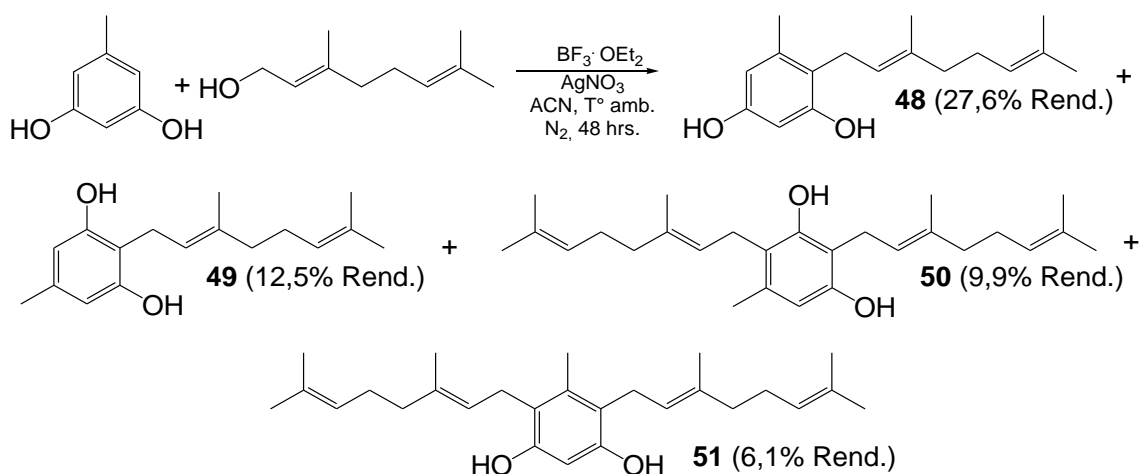
RMN de ^{13}C : 153,8 (C-1 y C-3); 138,2 (C-3'); 131,9 (C-7'); 130,9 (C-5); 123,8 (C-6'); 122,3 (C-2'); 118,7 (C-6); 103,8 (C-2); 39,7 (C-4'); 29,3 (C-1'); 26,4 (C-5'); 25,7 (C-8'); 17,7 ($\underline{\text{C}}\text{H}_3\text{-C7'}$); 16,2 ($\underline{\text{C}}\text{H}_3\text{-C3'}$).

IR (cm^{-1}): 3347; 2967; 2923; 2857; 1959; 1620; 1505; 1443; 1375; 1157; 1098.

EM (m/z , %): M^+ 382 (20,4); 365 (100); 259 (61,3); 207 (45,2); 69(36,6); 41 (40,9).

Compuestos 48, 49, 50 y 51.

Para la síntesis del compuesto **48**, se utilizó el método de alilación de Friedel-Crafts entre geraniol y el núcleo aromáticos orcinol, catalizado por $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ y utilizando AgNO_3 como catalizador secundario. En este caso se obtuvo el compuesto deseado **48**, además de los compuestos **49** y los compuestos di sustituidos **50** y **51**, de acuerdo con el Esquema 10.



Esquema 10. Síntesis de los compuestos **48**, **49**, **50** y **51**.

A una solución de orcinol (2,0 g; 16 mmol), geraniol (2,5 g; 16 mmol) y acetonitrilo (40 mL) se adicionó una solución de acetonitrilo saturada en AgNO_3 (1 mL), y luego se puso en agitación a temperatura ambiente bajo atmosfera de nitrógeno. A esta mezcla se le inyectó lenta y directamente $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ (0,75 g; 5,3 mmol). Se dejó en agitación durante 48 horas. El término de la reacción fue monitoreado por cromatografía en capa fina (CCF). A la solución se agregó 30 mL de agua y una cucharada de NaCl , y se transfirió a un embudo de decantación, luego la fase acuosa se lavó tres veces con

AcOEt (3 × 20 mL). La fase orgánica fue lavada con una solución 5% de NaHCO₃ (15 mL) y agua (2 × 15 mL) y luego secada sobre Na₂SO₄ anhidro, y posteriormente esta solución fue filtrada y evaporada a sequedad. El crudo de reacción fue purificado por cromatografía en columna (CC) usando como fase estacionaria sílica gel y como fase móvil una mezcla de acetato de etilo/hexano en gradiente de polaridad creciente (0:100→95:5). Se obtuvieron cuatro fracciones. Fracción I: 628 mg (9,9% de rendimiento) de un aceite viscoso color amarillo oscuro (compuesto **50**). Fracción II: 520 mg (12,5% de rendimiento) de un aceite viscoso color amarillo (compuesto **49**). Fracción III: 387 mg (6,1% de rendimiento) de un aceite viscoso color amarillo oscuro (compuesto **51**). Fracción IV: 1149 mg (27,6% de rendimiento) de un aceite viscoso color amarillo (compuesto **48**).

Compuesto 48:(E)-4-(3,7-dimetilocta-2,6-dienil)-5-metilbenceno-1,3-diol

RMN de ¹H: 6,26 (s, 1H, H-6); 6,22 (s, 1H, H-2); 5,60 (s, 2H, OH); 5,13 (t, *J* = 6,8 Hz, 1H, H-2'); 5,05 (t, *J* = 6,7 Hz, 1H, H-6'); 3,28 (d, *J* = 6,7 Hz, 2H, H-1'); 2,21 (s, 3H, H-7); 2,09-2,06 (m, 2H, H-5'); 2,04-2,00 (m, 2H, H-4'); 1,78 (s, 3H, CH₃-C3'); 1,67 (s, 3H, H-8'); 1,58 (s, 3H, CH₃-C7').

RMN de ¹³C: 155,2 (C-3); 154,1 (C-1); 138,6 (C-5); 137,2 (C-3'); 131,8 (C-7'); 123,9 (C-6'); 122,2 (C-2'); 118,1 (C-4); 109,7 (C-6); 101,0 (C-2); 39,6 (C-4'); 26,4 (C-5'); 25,6 (C-8'); 25,0 (C-1'); 20,0 (C-7); 17,6 (CH₃-C7'); 16,1 (CH₃-C3').

IR (cm⁻¹): 3393; 2975; 2925; 2859; 1602.

EM (m/z, %): M+ 260 (21,7); 137 (100); 191 (26,9); 177 (13,9); 123 (10,5).

Compuesto 49:(E)-2-(3,7-dimetilocta-2,6-dienil)-5-metilbenceno-1,3-diol

RMN de ¹H: 6,26 (s, 2H, H-6 y H-4); 5,66 (s, 2H, OH); 5,29 (t, *J* = 6,6 Hz, 1H, H-2'); 5,08 (t, *J* = 6,1 Hz, 1H, H-6'); 3,42 (d, *J* = 7,0 Hz, 2H, H-1'); 2,20 (s, 3H, CH₃-Ar); 2,13-2,10 (m, 2H, H-5'); 2,09-2,07 (m, 2H, H-4'); 1,83 (s, 3H, CH₃-C3'); 1,70 (s, 3H, H-8'); 1,61 (s, 3H, CH₃-C7').

RMN de ¹³C: 154,8 (C-1 y C-3); 138,6 (C-3'); 137,3 (C-5); 131,9 (C-7'); 123,7 (C-6'); 121,8 (C-2'); 110,6 (C-2); 109,0 (C-4 y C-6); 39,6 (C-4'); 26,3 (C-5'); 25,6 (C-8'); 22,1 (C-1'); 21,0 (CH₃-Ar); 17,6 (CH₃-C7'); 16,0 (CH₃-C3').

IR(cm⁻¹): 3455; 2966; 2922; 2852; 1772.

Compuestos 50: 2,4-bis((E)-3,7-dimetilocta-2,6-dienil)-5-metilbenceno-1,3-diol

RMN de ^1H : 6,30 (s, 1H, H-6); 5,50 (s, 1H, OH); 5,44 (s, 1H, OH); 5,32 (t, $J = 6,9$ Hz, 1H, H-2"); 5,19 (t, $J = 6,6$ Hz, 1H, H-2'); 5,11 (t, $J = 6,6$ Hz, 2H, H-6" y H-6'); 3,46 (d, $J = 6,9$ Hz, 2H, H-1"); 3,35 (d, $J = 6,6$ Hz, 2H, H-1'); 2,25 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-Ar}$); 2,16-2,15 (m, 4H, H-5' y H-5"); 2,12-2,09 (m, 4H, H-4' y H-4"); 1,86 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-C3"}$); 1,84 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-C3'}$); 1,73 (s, 6H, $\text{CH}_3\text{-C7'}$ y $\text{CH}_3\text{-C7"}$); 1,64 (s, 6H, H-8' y H-8").

RMN de ^{13}C : 153,4 (C-3); 152,5 (C-1); 138,3 (C-3"); 137,0 (C-3'); 135,1 (C-5); 131,8 (C-7"); 131,6 (C-7'); 123,9 (C-6"); 123,8 (C-6'); 122,5 (C-2'); 122,0 (C-2"); 118,1 (C-4); 111,5 (C-2); 109,7 (C-6); 39,6 (C-4"); 39,5 (C-4'); 26,4 (C-5"); 26,3 (C-5'); 25,6 (C-8' y C-8"); 25,4 (C-1'); 22,5 (C-1"); 19,7 ($\text{CH}_3\text{-Ar}$); 17,6 ($\text{CH}_3\text{-C7'}$ y $\text{CH}_3\text{-C7"}$); 16,1 ($\text{CH}_3\text{-C3"}$); 16,0 ($\text{CH}_3\text{-C3'}$).

IR (cm^{-1}): 3454; 2967; 2917; 2855; 1747; 1621; 1592; 1448; 1377.

Compuesto 51: 4,6-bis((E)-3,7-dimetilocta-2,6-dienil)-5-metilbenceno-1,3-diol

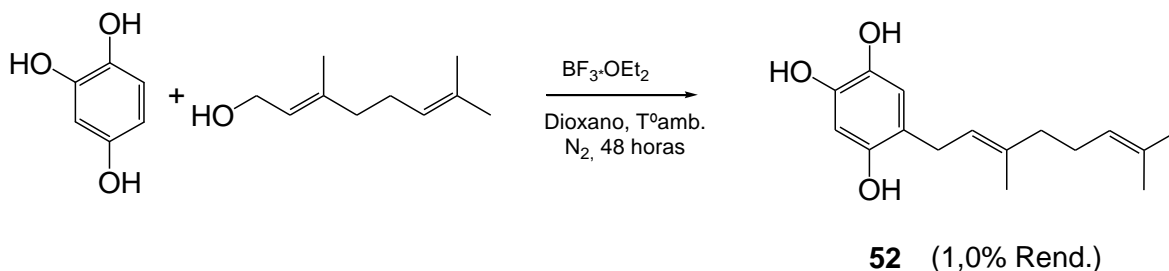
RMN de ^1H : 6,25 (s, 1H, H-2); 5,12 (t, $J = 6,4$ Hz, 2H, H-2'); 5,05 (t, $J = 6,6$ Hz, 2H, H-6'); 3,33 (d, $J = 6,6$ Hz, 4H, H-1'); 2,21 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-Ar}$); 2,09-2,06 (m, 4H, H-5'); 2,03-2,00 (m, 4H, H-4'); 1,78 (s, 6H, $\text{CH}_3\text{-C3'}$); 1,66 (s, 6H, H-8'); 1,58 (s, 6H, $\text{CH}_3\text{-C7'}$);

RMN de ^{13}C : 152,9 (C-1 y C-3); 136,7 (C-3'); 136,4 (C-5); 131,7 (C-7'); 124,0 (C-6'); 122,6 (C-2'); 118,5 (C-4 y C-6); 101,4 (C-2); 29,6 (C-4'); 26,5 (C-5'); 25,7 (C-8'); 25,6 (C-1'); 17,6 ($\text{CH}_3\text{-C7'}$); 16,2 ($\text{CH}_3\text{-C3'}$); 15,8 ($\text{CH}_3\text{-Ar}$).

IR(cm^{-1}): 3404; 2967; 2922; 2855; 1649; 1599; 1445; 1376.

Compuesto 52.

Para la síntesis del compuesto **52**, se utilizó el método de alilación de Friedel-Crafts entre geraniol y el núcleo aromático 1,2,4-trihidroxibenceno, catalizado por $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$, de acuerdo con el Esquema 11.



Esquema 11. Síntesis del compuesto **52**.

A una solución de 1,2,4-trihidroxibenceno (2,0 g; 15,7 mmol), geraniol (2,7 g; 15,7 mmol) y dioxano (40 mL) en agitación a temperatura ambiente bajo atmósfera de nitrógeno, se le inyectó lenta y directamente $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ (0,31 g; 2,2 mmol). Se dejó en agitación durante 48 horas. El término de la reacción fue monitoreado por cromatografía en capa fina (CCF). Para dar fin a la reacción se agregó 30 mL de agua y se extrajo la fase orgánica con tres porciones de AcOEt (3 × 20 mL), fase que luego fue lavada con una solución 5% de NaHCO_3 (15 mL) y agua (2 × 15 mL), para posteriormente ser secada sobre Na_2SO_4 anhidro, y luego esta solución fue filtrada y evaporada a sequedad. El crudo de reacción fue purificado por cromatografía en columna (CC), usando como fase estacionaria sílica gel y como fase móvil una mezcla de acetato de etilo/hexano en gradiente de polaridad creciente (0:100→90:10). Se obtuvieron 28,3 mg (1,0% de rendimiento) de un aceite viscoso color café oscuro (compuesto **52**).

Compuesto 52: (E)-5-(3,7-dimetilocta-2,6-dienil)benzene-1,2,4-triol

RMN de ^1H : 6,61 (s, 1H, H-6); 6,41 (s, 1H, H-3); 5,26 (t, $J = 7,08$ Hz, 1H, H-2'); 5,06 (t, $J = 6,00$ Hz, 1H, H-6'); 3,22 (d, $J = 7,1$ Hz, 2H, H-1'); 2,09-2,05 (m, 4H, H-4' y 5'); 1,74 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-C3'}$); 1,68 (s, 3H, H-8'); 1,59 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-C7'}$).

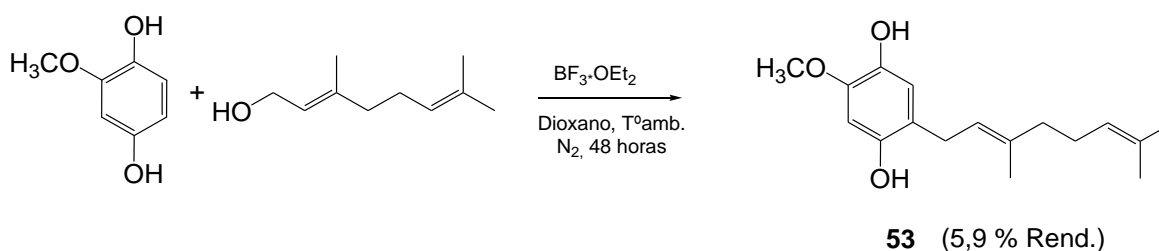
RMN de ^{13}C : 148,3 (C-4); 142,7 (C-2); 138,3 (C-3'); 136,7 (C-1); 131,9 (C-7'); 123,9 (C-6'); 121,9 (C-2'); 118,9 (C-5); 116,7 (C-6); 104,1 (C-3); 39,7 (C-4'); 29,1 (C-1'); 26,4 (C-5'); 25,7 (C-8'); 17,7 ($\underline{\text{C}}\text{H}_3\text{-C7}'$); 16,1 ($\underline{\text{C}}\text{H}_3\text{-C3}'$).

IR(cm^{-1}): 3389; 2975; 2966; 2924; 1626; 1521; 1449; 1375; 1187; 866.

EM (m/z , %): M^+ 262 (39,5); 245 (100); 191 (25,3); 137 (9,9); 69 (17,3); 41 (15,8).

Compuesto 53.

Para la síntesis del compuesto **53**, se utilizó el método de alilación de Friedel-Crafts entre geraniol y el núcleo aromáticos 2-metoxihidroquinona, catalizado por $\text{BF}_3\cdot\text{Et}_2\text{O}$, de acuerdo con el Esquema 12.



Esquema 12. Síntesis del compuesto **53**.

A una solución de 2-metoxihidroquinona (2,0 g; 14,4 mmol), geraniol (2,8 g; 14,4 mmol) y dioxano (40 mL) en agitación a temperatura ambiente bajo atmósfera de nitrógeno, se le inyectó lenta y directamente $\text{BF}_3\cdot\text{Et}_2\text{O}$ (0,31 g; 2,2 mmol). Se dejó en agitación durante 48 horas. El término de la reacción fue monitoreado por cromatografía en capa fina (CCF). Para dar fin a la reacción se agregó 30 mL de agua y se extrajo la fase orgánica con tres porciones de AcOEt (3 \times 20 mL), fase que luego fue lavada con una solución 5% de NaHCO_3 (15 mL) y agua (2 \times 15 mL), para posteriormente ser secada sobre Na_2SO_4 anhidro, y luego esta solución fue filtrada y evaporada a sequedad. El crudo de reacción fue purificado por cromatografía en columna (CC), usando como fase estacionaria sílica gel y como fase móvil una mezcla de acetato de etilo/hexano en gradiente de polaridad creciente (0:100 \rightarrow 90:10). Se obtuvieron 233 mg (5,9% de rendimiento) de un aceite viscoso color café oscuro (compuesto **53**).

Compuesto 53: (E)-2-(3,7-dimetilocta-2,6-dienil)-5-metoxibenceno-1,4-diol

RMN ¹H: 6,67 (s, 1H, H-3); 6,43 (s, 1H, H-6); 5,28 (t, *J* = 7,2 Hz, 1H, H-2'); 5,15 (s, 1H, OH-C4); 5,06 (t, *J* = 5,5 Hz, H-6'); 4,87 (s, 1H, OH-C1); 3,83 (s, 3H, CH₃O); 3,26 (d, *J* = 7,2, 2H, H-1'); 2,12-2,10 (m, 2H, H-5'); 2,08-2,05 (m, 2H, H-4'); 1,76 (s, 3H, CH₃-C3'); 1,69 (s, 3H, H-8'); 1,60 (s, 3H, CH₃-C7').

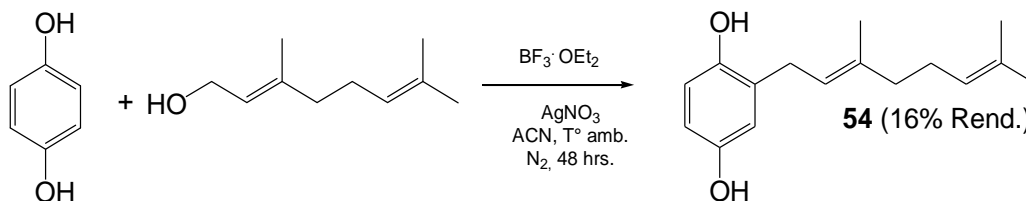
RMN ¹³C: 147,6 (C-1), 145,4 (C-5), 139,2 (C-3'), 138,6 (C-4), 132,1 (C-7'), 123,8 (C-6'), 121,8 (C-2'), 118,5 (C-2), 115,3 (C-3), 100,4 (C-6), 56,1 (C-CH₃O), 39,7 (C-4'), 29,4 (C-1'), 26,4 (C-5'), 25,7 (C-8'), 17,7 (C-CH₃-C7'), 16,2 (C-CH₃-C3').

IR (cm⁻¹): 3420; 2965; 2924; 2852; 1603; 1520; 1446; 1196; 1105; 835.

EM (m/z, %): M⁺276 (39,5); 191 (21); 175 (9,9); 153 (100); 91 (4,9); 69 (16); 41 (16).

Compuesto 54.

La síntesis del compuesto **54** se utilizó la estrategia sintética reportada anteriormente, según el Esquema 13.



Esquema 13. Síntesis del compuesto **54**.

A una solución de *p*-hidroquinona (1,0 g; 9,1 mmol), geraniol (1,4 g; 9,1 mmol) y acetonitrilo (40 mL) se adicionó una solución de acetonitrilo saturada en AgNO₃ (1 mL), y luego se puso en agitación a temperatura ambiente bajo atmosfera de nitrógeno. A esta mezcla se le inyectó lenta y directamente BF₃·Et₂O (0,38 g; 2,7 mmol). Se dejó en agitación durante 48 horas. El término de la reacción fue monitoreado por cromatografía en capa fina (CCF). Para dar fin a la reacción se agregó 30 mL de agua y se extrajo la fase orgánica con tres porciones de AcOEt (3 × 20 mL), fase que luego fue lavada con una solución 5% de NaHCO₃ (15 mL) y agua (2 × 15 mL), para posteriormente ser secada

sobre Na₂SO₄ anhidro, y luego esta solución fue filtrada y evaporada a sequedad. El crudo de reacción fue purificado por cromatografía en columna (CC), usando como fase estacionaria sílica gel y como fase móvil una mezcla de acetato de etilo/hexano en gradiente de polaridad creciente (0:100→90:10). Se obtuvieron 359 mg (16,0% de rendimiento) de un aceite viscoso color café oscuro (compuesto **54**).

Compuesto 54: (E)-2-(3,7-dimetilocta-2,6-dienil)benzeno-1,4-diol

RMN de ¹H: 6,68 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H, H-6); 6,61 (d, *J* = 2,8 Hz, 1H, H-3); 6,57 (dd, *J* = 8,4 y 2,8 Hz, 1H, H-5); 5,28 (t, *J* = 7,1 Hz, 1H, H-2'); 5,06 (t, *J* = 6,2 Hz, 1H, H-6'); 4,77 (s, 1H, OH-1); 4,49 (s, 1H, OH-2); 3,30 (d, *J* = 7,1 Hz, 2H, H-1'); 2,12-2,11 (m, 2H, H-5'); 2,09-2,07 (m, 2H, H-4'); 1,75 (s, 3H, CH₃-C3'); 1,68 (s, 3H, H-8'); 1,60 (s, 3H, CH₃-C7').

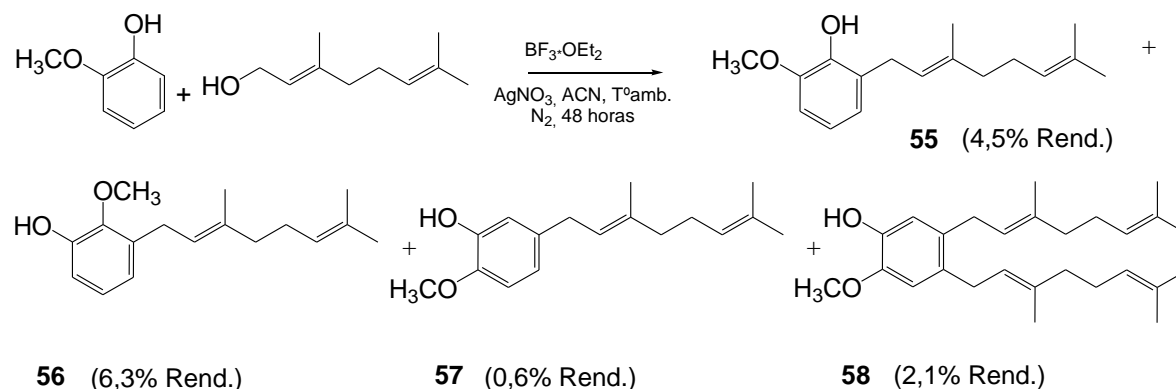
RMN de ¹³C: 149,3 (C-4); 148,2 (C-1); 138,6 (C-3'); 132,0 (C-7'); 128,3 (C-2); 123,8 (C-6'); 121,3 (C-2'); 116,6 (C-3 y C-6); 113,7 (C-5); 39,6 (C-4'); 29,7 (C-1'); 26,4 (C-5'); 25,7 (C-8'); 17,7 (CH₃-C7'); 16,2 (CH₃-C3').

IR(cm⁻¹): 3364; 2970; 2921; 1668; 1450; 1377; 1198.

EMAR (m/z, %): M+ 247,1623.

Compuestos **55**, **56**, **57** y **58**.

Síntesis del compuesto **55** y obtención de los compuestos **56**, **57** y **58** se utilizó la estrategia sintética reportada anteriormente, según el Esquema 14.



Esquema 14. Síntesis de los compuestos **55**, **56**, **57** y **58**.

A una solución de guaiacol (1,5 g; 12,1 mmol), geraniol (0,9 g; 6,0 mmol) y acetonitrilo (40 mL) se adicionó una solución de acetonitrilo saturada en AgNO_3 (1 mL), y luego se puso en agitación a temperatura ambiente bajo atmosfera de nitrógeno. A esta mezcla se le inyectó lenta y directamente $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ (0,46 g; 3,2 mmol). Se dejó en agitación durante 48 horas. El término de la reacción fue monitoreado por cromatografía en capa fina (CCF). A la solución se agregó 30 mL de agua y una cucharada de NaCl, y se transfirió a un embudo de decantación, luego la fase acuosa se lavó tres veces con AcOEt (3 x 20 mL). La fase orgánica fue lavada con una solución 5% de NaHCO_3 (15 mL) y agua (2 x 15 mL) y luego secada sobre Na_2SO_4 anhidro, y posteriormente esta solución fue filtrada y evaporada a sequedad. El crudo de reacción fue purificado por cromatografía en columna (CC), usando como fase estacionaria sílica gel y como fase móvil una mezcla de acetato de etilo/hexano en gradiente de polaridad creciente (0:100→90:10). Se obtuvieron cuatro fracciones. Fracción I: 70,6 mg (4,5% de rendimiento) de un aceite viscoso color amarillo (compuesto **55**); Fracción II: 98,5 mg (6,3% de rendimiento) de un aceite viscoso color amarillo (compuesto **56**); Fracción III: 9,3 mg (0,6% de rendimiento) del compuesto **57** y Fracción IV: 99,4 mg (2,1% de rendimiento) del compuesto **58**.

Compuesto 55: (E)-2-(3,7-dimetilocta-2,6-dienil)-6-metoxifenol

RMN de ^1H : 6,81-6,74 (m, 3H, H-3, H-4 y H-5); 5,72 (s, 1H, OH); 5,37 (t, $J = 7,0$ Hz, 1H, H-2'); 5,13 (t, $J = 6,6$ Hz, 1H, H-6'); 3,90 (s, 3H, CH_3O); 3,39 (d, $J = 7,3$ Hz, 2H, H-1'); 2,14-2,11 (m, 2H, H-5'); 2,09-2,05 (m, 2H, H-4'); 1,74 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-C3'}$); 1,71 (s, 3H, H-8'); 1,62 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-C7'}$).

RMN de ^{13}C : 146,3 (C-2); 143,4 (C-1); 136,3 (C-3'); 131,4 (C-7'); 127,5 (C-6); 124,4 (C-6'); 122,1 (C-2'); 121,8 (C-5); 119,2 (C-4); 108,3 (C-3); 56,0 (CH_3O); 39,8 (C-4'); 27,8 (C-1'); 26,6 (C-5'); 25,7 (C-8'); 17,7 ($\text{CH}_3\text{-C7'}$); 16,0 ($\text{CH}_3\text{-C3'}$).

IR (cm^{-1}): 3545; 2964; 2923; 2853; 1616; 1592; 1478; 1442; 1376; 1356; 1270; 1217.

EM (m/z, %): M^+ 260 (53,8); 191 (29,4); 137 (100); 123 (78,7); 69 (36,7).

Compuesto 56: (E)-3-(3,7-dimetilocta-2,6-dienil)-2-metoxifenol

RMN de ^1H : 6,83 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H, H-6); 6,68 (d, $J = 6,8$ Hz, 2H, H-4 y H-5); 5,47 (s, 1H, OH); 5,33 (t, $J = 7,1$ Hz, 1H, H-2'); 5,12 (t, $J = 6,4$ Hz, 1H, H-6'); 3,87 (s, 3H, CH_3O); 3,29 (d, $J = 7,3$ Hz, 2H, H-1'); 2,13-2,10 (m, 2H, H-5'); 2,07-2,06 (m, 2H, H-4'); 1,71 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-C3'}$); 1,69 (s, 3H, H-8'); 1,61 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-C7'}$).

RMN de ^{13}C : 146,4 (C-2); 143,6 (C-1); 136,0 (C-3'); 133,7 (C-3); 131,4 (C-7'); 124,2 (C-6'); 123,4 (C-2'); 120,8 (C-5); 114,2 (C-6); 110,9 (C-4); 55,8 ($\underline{\text{C}}\text{H}_3\text{O}$); 39,7 (C-4'); 33,8 (C-1); 26,7 (C-5'); 25,7 (C-8'); 17,7 ($\underline{\text{C}}\text{H}_3\text{-C7}'$); 16,1 ($\underline{\text{C}}\text{H}_3\text{-C3}'$).

IR (cm^{-1}): 3444; 2964; 2924; 2854; 1676; 1600; 1512; 1451; 1432.

EM (m/z, %): M^+ 260,2 (84,3); 159 (100); 137 (89,9); 123 (42,0); 69 (40,4).

Compuesto 57: (E)-5-(3,7-dimetilocta-2,6-dienil)-2-metoxifenol

RMN de ^1H : 6,78 (d, $J = 8,3$ Hz, 1H, H-3); 6,76 (d, $J = 1,7$ Hz, 1H, H-6); 6,66 (dd, $J = 8,3$ y $1,7$ Hz, 1H, H-4); 5,55 (s, 1H, OH); 5,31 (t, $J = 7,0$ Hz, 1H, H-2'); 5,10 (t, $J = 6,7$ Hz, 1H, H-6'); 3,86 (s, 3H, $\underline{\text{C}}\text{H}_3\text{O}$); 3,26 (d, $J = 7,3$ Hz, 2H, H-1'); 2,12-2,08 (m, 2H, H-5'); 2,05-2,04 (m, 2H, H-4'); 1,69 (s, 6H, $\underline{\text{C}}\text{H}_3\text{-C3}$ y H-8'); 1,60 (s, 3H, $\underline{\text{C}}\text{H}_3\text{-C7}'$).

RMN de ^{13}C : 145,48 (C-1); 144,66 (C-2); 136,01 (C-3'); 135,20 (C-5); 131,44 (C-7'); 124,28 (C-6'); 123,19 (C-2'); 119,48 (C-4); 114,59 (C-6); 110,60 (C-3); 56,04 ($\underline{\text{C}}\text{H}_3\text{O}$); 39,71 (C-4'); 33,50 (C-1'); 26,62 (C-5'); 25,69 (C-8'); 17,69 ($\underline{\text{C}}\text{H}_3\text{-C7}'$); 16,08 ($\underline{\text{C}}\text{H}_3\text{-C3}'$).

IR (cm^{-1}): 3443; 2923; 2853; 1591; 1509; 1442; 1377; 1270; 1212; 1128.

EMAR (M-H $^+$): 259,17157 $\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{O}_2$.

Compuesto 58: 4,5-bis((E)-3,7-dimetilocta-2,6-dienil)-2-metoxifenol

RMN de ^1H : 6,74 (s, 1H, H-6); 6,67 (s, 1H, H-3); 5,39 (s, 1H, OH); 5,24 (t, $J = 7,2$ Hz, 2H, H-2' y H-2''); 5,09 (t, $J = 5,8$ Hz, 2H, H-6' y H-6''); 3,84 (s, 3H, $\underline{\text{C}}\text{H}_3\text{O}$); 3,26 (d, $J = 6,9$ Hz, 2H, H-1''); 3,23 (d, $J = 7,0$ Hz, 2H, H-1'); 2,12-2,08 (m, 4H, H-5' y H-5''); 2,05-2,03 (m, 4H, H-4' y H-4''); 1,70 (s, 6H, $\underline{\text{C}}\text{H}_3\text{-C3}'$ y $\underline{\text{C}}\text{H}_3\text{-C3}''$); 1,68 (s, 6H, H-8' y H-8''); 1,59 (s, 6H, $\underline{\text{C}}\text{H}_3\text{-C7}'$ y $\underline{\text{C}}\text{H}_3\text{-C7}''$).

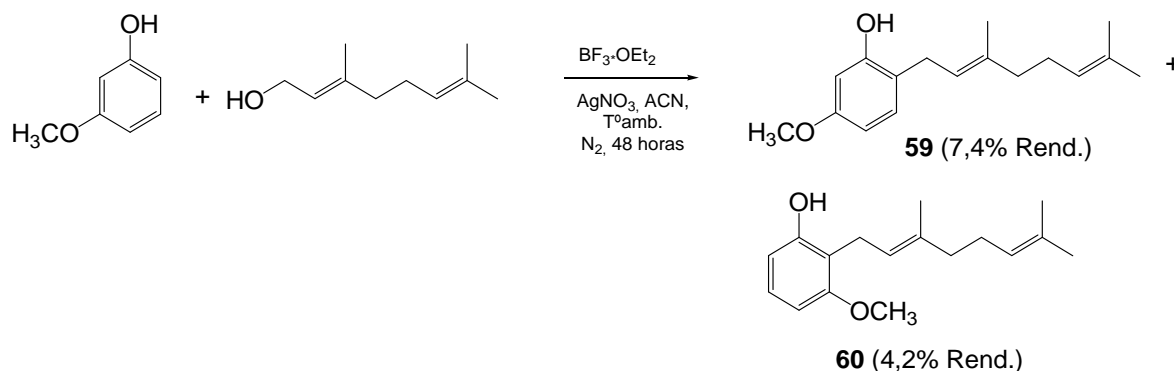
RMN de ^{13}C : 144,5 (C-2); 143,5 (C-1); 135,8 (C-3' y C-3''); 132,5 (C-4); 131,4 (C-7''); 131,0 (C-7'); 131,0 (C-5); 124,3 (C-6'); 124,2 (C-6''); 123,3 (C-2''); 122,9 (C-2'); 115,2 (C-6); 111,8 (C-3); 56,0 ($\underline{\text{C}}\text{H}_3\text{O}$); 39,7 (C-4' y C-4''); 31,2 (C-1''); 30,8 (C-1'); 26,8 (C-5''); 26,7 (C-5'); 25,7 (C-8' y C-8''); 17,7 ($\underline{\text{C}}\text{H}_3\text{-C7}'$ y $\underline{\text{C}}\text{H}_3\text{-C7}''$); 16,2 ($\underline{\text{C}}\text{H}_3\text{-C3}'$ y $\underline{\text{C}}\text{H}_3\text{-C3}''$).

IR (cm^{-1}): 3552; 3449; 2965; 2915; 2854; 1592; 1509; 1445; 1376; 1274; 1234.

EM (m/z, %): M^+ 396 (7,4); 257 (27,4); 189 (100); 137 (17,9); 69 (66,3); 41 (51,6).

Compuestos 59 y 60.

Síntesis del compuesto **59** y obtención del compuesto **60**, se utilizó el mismo procedimiento de alilación de Friedel–Crafts, según se indica en el Esquema 15.



Esquema 15. Síntesis de los compuestos **59** y **60**.

A una solución de 3-metoxifenol (0,8 g; 6,5 mmol), geraniol (1,0 g; 6,5 mmol) y acetonitrilo (40 mL) se adicionó una solución de acetonitrilo saturada en AgNO_3 (1 mL), y luego se puso en agitación a temperatura ambiente bajo atmósfera de nitrógeno. A esta mezcla se le inyectó lenta y directamente $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ (0,46 g; 3,2 mmol). Se dejó en agitación durante 48 horas. El término de la reacción fue monitoreado por cromatografía en capa fina (CCF). A la solución se agregó 30 mL de agua y una cucharada de NaCl , y se transfirió a un embudo de decantación, luego la fase acuosa se lavó tres veces con AcOEt (3 \times 20 mL). La fase orgánica fue lavada con una solución 5% de NaHCO_3 (15 mL) y agua (2 \times 15 mL) y luego secada sobre Na_2SO_4 anhidro, y posteriormente esta solución fue filtrada y evaporada a sequedad. El crudo de reacción fue purificado por cromatografía en columna (CC), usando como fase estacionaria sílica gel y como fase móvil una mezcla de acetato de etilo/hexano en gradiente de polaridad creciente (0:100 \rightarrow 90:10). Se obtuvieron dos Fracciones. Fracción I: 125 mg (7,4 % de rendimiento) de un aceite viscoso color rojizo (compuesto **59**) y Fracción II: 71.1 mg (4,2 % de rendimiento) de un aceite viscoso color rojizo (compuesto **60**).

Compuesto 59: (E)-2-(3,7-dimetilocta-2,6-dienil)-5-metoxifenol

RMN de ^1H : 6,99 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H, H-3); 6,44 (dd, $J = 2,5$ y $8,0$ Hz, 1H, H-4); 6,42 (d, $J = 2,5$ Hz, 1H, H-6); 5,31 (t, $J = 7,2$ Hz, 1H, H-2'); 5,25 (s, 1H, OH); 5,08 (t, $J = 5,9$ Hz, 1H, H-6'); 3,76 (s, 3H, CH_3O); 3,31 (d, $J = 7,2$ Hz, 2H, H-1'); 2,13-2,12 (m, 2H, H-5'); 2,09-2,06 (m, 2H, H-4'); 4,77 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-C3'}$); 1,69 (s, 3H, H-8'); 1,60 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-C7'}$).

RMN de ^{13}C : 159,4 (C-5); 155,4 (C-1); 138,4 (C-3'); 132,0 (C-7'); 130,3 (C-3); 123,8 (C-6); 122,0 (C-2'); 118,9 (C-2); 106,1 (C-4); 102,0 (C-6'); 55,3 (CH_3O); 39,7 (C-4'); 29,2 (C-1'); 26,4 (C-5'); 25,7 (C-8'); 17,7 ($\text{CH}_3\text{-C7'}$); 16,1 ($\text{CH}_3\text{-C3'}$).

EMAR (M+H⁺): 261,18558 $\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{O}_2$.

Compuesto 60: (E)-2-(3,7-dimetilocta-2,6-dienil)-3-metoxifenol

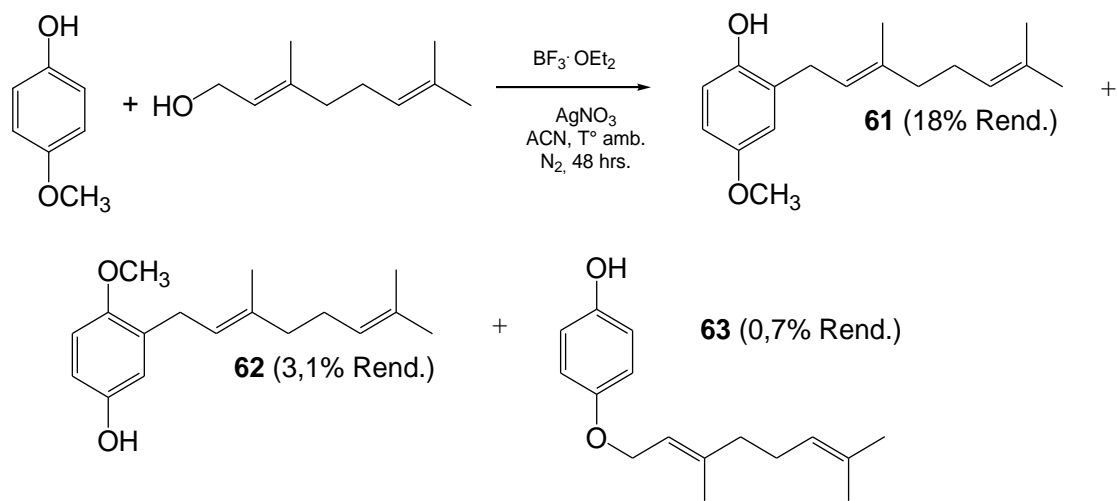
RMN de ^1H : 7,06 (dd, $J = 8,2$ y $8,2$ Hz, 1H, H-5); 6,49 (d, $J = 8,2$ Hz, 2H, H-4 y H-6); 5,32 (s, 1H, OH); 5,24 (t, $J = 7,0$ Hz, 1H, H-2'); 5,06 (t, $J = 6,6$ Hz, 1H, H-6'); 3,81 (s, 3H, CH_3O); 3,43 (d, $J = 7,0$ Hz, 2H, H-1'); 2,11-2,08 (m, 2H, H-5'); 2,06-2,04 (m, 2H, H-4'); 1,81 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-C3'}$); 1,68 (s, 3H, H-8'); 1,59 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-C7'}$).

RMN de ^{13}C : 157,9 (C-3); 155,6 (C-1); 138,1 (C-3'); 131,8 (C-7'); 127,1 (C-5); 123,9 (C-6); 121,9 (C-2'); 115,2 (C-2); 108,1 (C-6); 103,1 (C-4); 55,8 (CH_3O); 39,7 (C-4'); 26,4 (C-5'); 25,6 (C-8'); 22,2 (C-1'); 17,7 ($\text{CH}_3\text{-C7'}$); 16,1 ($\text{CH}_3\text{-C3'}$).

EMAR (M-H⁺): 259,17151 $\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{O}_2$.

Compuestos 61, 62 y 63.

Para la preparación del compuesto **61** y la obtención de los compuestos **62** y **63**, se utilizó el mismo procedimiento de alilación de Friedel–Crafts, según se indica en el Esquema 16.



Esquema 16. Síntesis de los compuestos **61**, **62** y **63**.

A una solución de 4-metoxifenol (1,00 g; 8,0 mmol), geraniol (1,2 g; 7,9 mmol) y acetonitrilo (40 mL) se adicionó una solución de acetonitrilo saturada en AgNO_3 (1 mL), luego se puso en agitación a temperatura ambiente bajo atmosfera de nitrógeno. A esta mezcla se le inyectó lenta y directamente $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ (0,2 g; 1,6 mmol). Se dejó en agitación durante 48 horas. El término de la reacción fue monitoreado por cromatografía en capa fina (CCF). A la solución se agregó 30 mL de agua y una cucharada de NaCl, y se transfirió a un embudo de decantación, luego la fase acuosa se lavó tres veces con AcOEt (3 × 20 mL). La fase orgánica fue lavada con una solución 5% de NaHCO_3 (15 mL) y agua (2 × 15 mL) y luego secada sobre Na_2SO_4 anhidro, y posteriormente esta solución fue filtrada y evaporada a sequedad. El crudo de reacción fue purificado por cromatografía en columna (CC), usando como fase estacionaria sílica gel y como fase móvil una mezcla de acetato de etilo/hexano en gradiente de polaridad creciente (0:100→90:10). Se obtuvieron tres fracciones. Fracción I: 375,5 mg (18 % de rendimiento) de un aceite viscoso color café oscuro (compuesto **61**); Fracción II: 87,6 mg

(3,1% de rendimiento) de un aceite viscoso color amarillo (compuesto **62**); Fracción III: 20,0 mg (0,7% de rendimiento) del compuesto **63**.

Compuesto 61: (E)-2-(3,7-dimetilocta-2,6-dienil)-4-metoxifenol

RMN de ^1H : 6,75 (d, $J = 8,6$ Hz, 1H, H-6); 6,70 (d, $J = 2,9$ Hz, 1H, H-3); 6,66 (dd, $J = 8,6-2,9$ Hz, 1H, H-5); 5,32 (t, $J = 7,2$ Hz, 1H, H-2'); 5,08 (t, $J = 6,0$ Hz, 1H, H-6'); 4,94 (s, 1H, OH); 3,76 (s, 3H, CH_3O); 3,34 (d, $J = 7,2$ Hz, 2H, H-1'); 2,14-2,11 (m, 2H, H-5'); 2,10-2,07 (m, 2H, H-4'); 1,77 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-C3'}$); 1,69 (s, 3H, H-8'); 1,60 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-C7'}$).

RMN de ^{13}C : 153,6 (C-4); 148,3 (C-1); 138,4 (C-3'); 131,9 (C-7'); 128,1 (C-2); 123,8 (C-6'); 121,4 (C-2'); 116,3 (C-6); 115,6 (C-3); 112,0 (C-5); 55,7 (CH_3O); 39,6 (C-4'); 29,8 (C-1'); 26,4 (C-5'); 25,6 (C-8'); 17,7 ($\text{CH}_3\text{-C7'}$); 16,1 ($\text{CH}_3\text{-C3'}$).

EMAR (M-H $^+$): 259,17031 $\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{O}_2$.

Compuesto 62: (E)-3-(3,7-dimetilocta-2,6-dienil)-4-metoxifenol

RMN de ^1H : 6,71 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H, H-5); 6,65 (d, $J = 2,4$ Hz, 1H, H-2); 6,61 (dd, $J = 8,5-2,4$ Hz, 1H, H-6); 5,29 (t, $J = 7,2$ Hz, 1H, H-2'); 5,11 (t, $J = 6,0$ Hz, 1H, H-6'); 4,44 (s, 1H, OH); 3,78 (s, 3H, CH_3O); 3,29 (d, $J = 7,2$ Hz, 2H, H-1'); 2,14-2,11 (m, 2H, H-5'); 2,10-2,07 (m, 2H, H-4'); 1,69 (s, 6H, $\text{CH}_3\text{-C3'}$ y H-8'); 1,60 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-C7'}$).

RMN de ^{13}C : 151,6 (C-4); 149,2 (C-1); 136,5 (C-3'); 131,6 (C-7'); 131,3 (C-3); 124,3 (C-6'); 121,9 (C-2'); 116,6 (C-2); 112,5 (C-6); 111,5 (C-5); 56,1 (CH_3O); 39,8 (C-4'); 28,0 (C-1'); 26,7 (C-5'); 25,7 (C-8'); 17,7 ($\text{CH}_3\text{-C7'}$); 16,1 ($\text{CH}_3\text{-C3'}$).

IR (cm $^{-1}$): 3396; 2966; 2915; 2854; 1598; 1499; 1452; 1437; 1213; 1180.

EM (m/z, %): M $^+$ 260 (58,1); 191 (100); 123 (90,3); 137 (64,1); 161 (33,5).

Compuesto 63: (E)-4-(3,7-dimetilocta-2,6-dieniloxi)fenol

RMN de ^1H : 6,81 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H, H-2 y H-6); 6,75 (d, $J = 8,9$ Hz, 2H, H-3 y H-5); 5,48 (t, $J = 6,4$ Hz, 1H, H-2'); 5,09 (t, $J = 5,6$ Hz, 1H, H-6'); 4,48 (d, $J = 6,5$ Hz, H-1'); 4,46 (s, 1H, OH); 2,1-2,07 (m, 4H, H-4' y H-5'); 1,72 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-C3'}$ y H-8'); 1,68 (s, 3H, H-8'); 1,61 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-C7'}$).

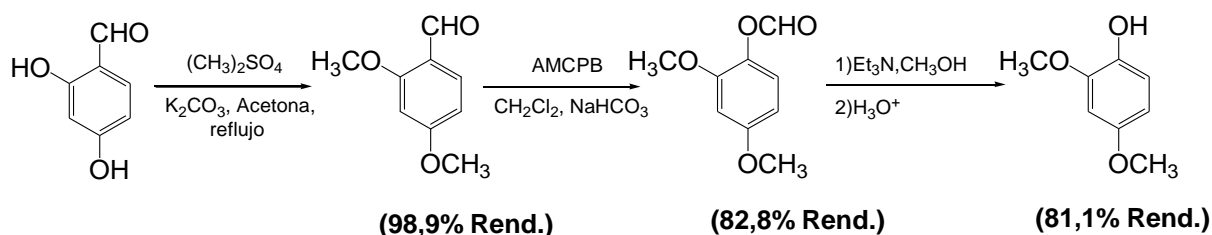
RMN de ^{13}C : 153,1 (C-4); 149,4 (C-1); 140,9 (C-3'); 131,8 (C-7'); 123,9 (C-6'); 119,8 (C-2'); 116,0 (C-2 y C-6); 115,9 (C-3 y C-5); 65,6 (C-1'); 39,6 (C-4'); 26,3 (C-5'); 25,7 (C-8'); 17,7 ($\text{CH}_3\text{-C7'}$); 16,6 ($\text{CH}_3\text{-C3'}$).

IR (cm $^{-1}$): 3390; 2967; 2923; 2852; 1668; 1508; 1447; 1377; 1224; 1102; 1008; 825.

EM (m/z, %): 110 (100); 69 (27,7); 93 (13,4); 81 (12,8); 41 (11,1).

Compuestos 64 y 65.

Se preparó el compuesto 2,4-dimetoxifenol a partir de 2,4-dihidroxibenzaldehído realizando primero la reacción de metilación, para obtener el 2,4-dimetoxibenzaldehído, luego la reacción de oxidación de Baeyer-Villiger para obtener el 2,4-dimetoxifenil formiato, y posteriormente, la reacción de saponificación del formiato para obtener el 2,4-dimetoxifenol, según el Esquema 17.



Esquema 17. Síntesis del compuesto 2,4-dimetoxifenol.

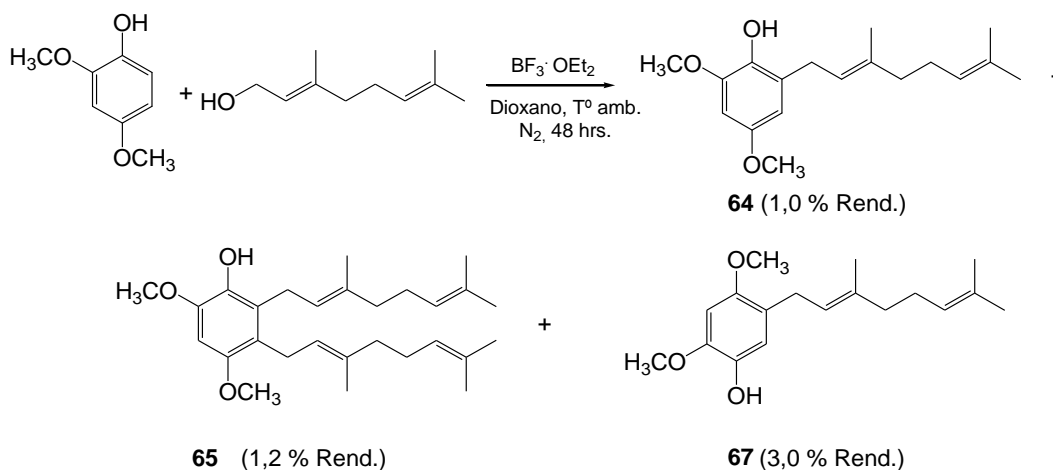
Se disolvió el 2,4-dihidroxibenzaldehído (3,0 g; 21,7 mmol) y el carbonato de potasio (6,1 g; 57,6 mmol) en 100 mL de acetona. Luego se agregó el dimetilsulfato (5,9 g; 47,4 mmol) y se dejó reaccionar con agitación y reflujo durante 90 min. El término de la reacción fue monitoreado por cromatografía en capa fina (CCF). La solución se filtró y el solvente fue evaporado en rotavapor. Se disolvió la muestra en acetato de etilo y se lavó con 30 mL de solución de HCl al 5% seguido de dos lavados con 30 mL de agua, y luego fue secada sobre Na_2SO_4 anhidro, y posteriormente esta solución fue filtrada y evaporada a sequedad. Se obtuvieron 3,56 g de 2,4-dimetoxibenzaldehído (98,9% de rendimiento).

Se disolvió el 2,4-dimetoxibenzaldehído (3,56 g; 21,4 mmol), el ácido metacloroperoxisbenzoico (AMCPB) (7,35 g; 42,6 mmol) y el NaHCO_3 (3,6 g; 64 mmol) en 100 mL de diclorometano. La solución se dejó con agitación por 3 horas a temperatura ambiente. La solución se filtró a vacío y se lavó la fase orgánica tres veces con solución saturada de NaHCO_3 (3 x 50 mL) y dos veces con agua (2 x 50 mL), para posteriormente ser secada sobre Na_2SO_4 anhidro, y luego esta solución fue filtrada y evaporada a sequedad. El crudo de reacción fue purificado por cromatografía en columna (CC), usando como fase estacionaria sílica gel y como fase móvil una mezcla

de acetato de etilo/hexano en gradiente de polaridad creciente (0:50→20:30). Se obtuvieron 3,23 g de 2,4-dimetoxifenil formiato (82,8% de rendimiento).

Se disolvió el 2,4-dimetoxifenil formiato (3,23 g; 17,7 mmol) en 50 mL de metanol y se agregaron 4 mL de trietilamina (2,9 g; 28 mmol). La solución se dejó con agitación por 3 horas a temperatura ambiente. Luego se evaporó la solución a sequedad y se diluyó con acetato de etilo. La fase orgánica se lavó dos veces con una solución de ácido clorhídrico al 5% (2 x 30 mL), para posteriormente ser secada sobre Na₂SO₄ anhidro, y luego esta solución fue filtrada y evaporada a sequedad. El crudo de reacción fue purificado por cromatografía en columna (CC), usando como fase estacionaria sílica gel y como fase móvil una mezcla de acetato de etilo/hexano en gradiente de polaridad creciente (0:50→20:30). Se obtuvieron 2,22 g de 2,4-dimetoxifenol (81,1% de rendimiento). **RMN de ¹H**: 6,83 (d, *J* = 7,5 Hz, 1H, H-6); 6,49 (d, *J* = 1,9 Hz, 1H, H-3); 6,39 (dd, *J* = 2,0 y 7,5 Hz, 1H, H-5); 5,21 (s, 1H, OH); 3,87 (s, 3H, CH₃O); 3,84 (s, 3H, CH₃O), **RMN de ¹³C**: 153,4 (C-4); 147,0 (C-2); 139,7 (C-1); 114,1 (C-6); 104,1 (C-5); 99,3 (C-3); 55,8 (C-2 OCH₃); 55,7 (C-4 OCH₃).

En la síntesis del compuesto **64** y obtención del compuesto **65**, se utilizó el mismo procedimiento de alilación de Friedel–Crafts, según se indica en el Esquema 18.



Esquema 18. Síntesis de los compuestos **64**, **65** y **67**.

Se disolvió el 2,4-dimetoxifenol (0,81 g; 5,2 mmol) y geraniol (0,80 g; 5,2 mmol) en dioxano (40 mL) y luego se puso en agitación a temperatura ambiente bajo atmósfera de nitrógeno. A esta mezcla se le inyectó lenta y directamente BF₃·Et₂O (0,31 g; 2,2 mmol).

Se dejó en agitación durante 48 horas. El término de la reacción fue monitoreado por cromatografía en capa fina (CCF). Para dar fin a la reacción se agregó 30 mL de agua y se extrajo la fase orgánica con tres porciones de AcOEt (3 x 20 mL), fase que luego fue lavada con una solución 5% de NaHCO₃ (15 mL) y agua (2 x 15 mL), para posteriormente ser secada sobre Na₂SO₄ anhidro, y luego esta solución fue filtrada y evaporada a sequedad. El crudo de reacción fue purificado por cromatografía en columna (CC), usando como fase estacionaria sílica gel y como fase móvil una mezcla de acetato de etilo/hexano en gradiente de polaridad creciente, en % volumen (0:100→90:10). Se obtuvieron tres Fracciones. Fracción I: 15,0 mg (1,0 % de rendimiento) de un aceite viscoso color café claro (compuesto **64**), Fracción II: 28,0 mg (1,2 % de rendimiento) de un aceite viscoso color café claro (compuesto **65**) y Fracción III: 45,0 mg (3,0 % de rendimiento) de un aceite viscoso color café oscuro (compuesto **67**).

Compuesto 64: (E)-2-(3,7-dimetilocta-2,6-dienil)-4,6-dimetoxifenol

RMN de ¹H: 6,36 (d, *J* = 2,6 Hz, 1H, H-5); 6,30 (d, *J* = 2,6 Hz, 1H, H-3); 5,33 (t, *J* = 7,2 Hz, 1H, H-2'); 5,28 (s, 1H, OH); 5,11 (t, *J* = 7,7 Hz, 1H, H-6'); 3,86 (s, 3H, CH₃O-C6); 3,75 (s, 3H, CH₃O-C4); 3,35 (d, *J* = 7,2 Hz, 2H, H-1'); 2,11-2,08 (m, 2H, H-5'); 2,06-2,03 (m, 2H, H-4'); 1,72 (s, 3H, CH₃ C-3'); 1,67 (s, 3H, H-8'); 1,60 (s, 3H, CH₃ C-7').

RMN de ¹³C: 152,9 (C-4); 146,7 (C-6); 137,4 (C-1); 136,5 (C-3'); 131,4 (C-7'); 127,5 (C-2); 124,3 (C-6'); 122,0 (C-2'); 105,5 (C-3); 96,7 (C-5); 56,0 (CH₃O-C6); 55,7 (CH₃O-C4); 39,8 (C-4'); 28,1 (C-1'); 26,7 (C-5'); 25,7 (C-8'); 17,7 (CH₃-C7'); 16,1 (CH₃-C3').

IR (cm⁻¹): 3556; 2964; 2919; 2854; 1613; 1497; 1466; 1432; 1376; 1227; 1197; 1148; 1089; 1055; 939; 829.

EM (m/z, %): M⁺290 (100); 205 (23,5); 189 (18,8); 168 (64,7: M⁺ + H- 123 (C₉H₁₅)); 167 (38,8); 166 (44,7); 161 (29,4); 69 (17,6); 41 (21,2).

Compuesto 65: 2,3-bis((E)-3,7-dimetilocta-2,6-dienil)-4,6-dimetoxifenol

RMN de ¹H: 6,42 (s, 1H, H-5); 5,31 (s, 1H, OH); 5,12-5,06 (m, 4H, H-2', H-2'', H-6' and H-6''); 3,87 (s, 3H, CH₃O-C6); 3,77 (s, 3H, CH₃O-C4); 3,39 (d, *J* = 6,0 Hz, 2H, H-1'); 3,31 (d, *J* = 6,0 Hz, 2H, H-1''); 2,07-2,05 (m, 4H, H-5' y H-5''); 2,03-1,98 (m, 4H, H-4' y H-4''); 1,76 (s, 3H, CH₃-C3'); 1,74 (s, 3H, CH₃-C3''); 1,66 (s, 6H, H-8' y H-8''); 1,58 (s, 6H, CH₃-C7' y CH₃-C7'').

RMN de ¹³C: 150,7 (C-4); 144,4 (C-6); 137,9 (C-1); 135,2 (C-3'); 134,4 (C-3''); 131,2 (C-7' y C-7''); 127,3 (C-2); 124,4 (C-6' y C-6''); 123,8 (C-2'); 122,8 (C-2''); 122,1 (C-3); 95,3

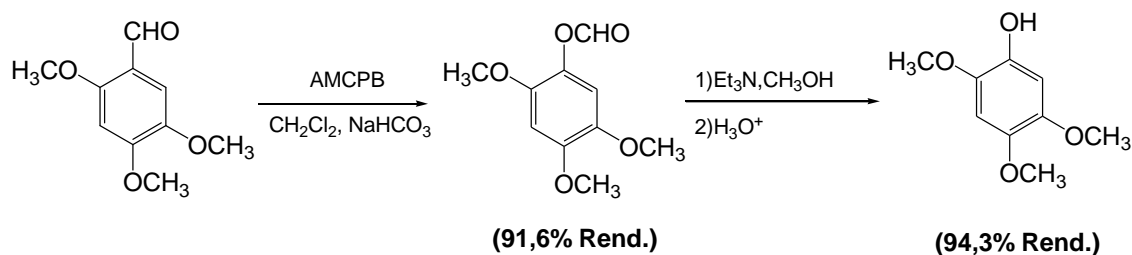
(C-5); 56,9 ($\underline{\text{C}}\text{H}_3\text{O-C4}$); 56,1 ($\underline{\text{C}}\text{H}_3\text{O-C6}$); 39,7 (C-4' y C-4"); 26,7 (C-5'y C-5"); 25,6 (C-8' y C-8"); 25,3 (C-1'); 24,6 (C-1"); 17,6 ($\underline{\text{C}}\text{H}_3\text{-C7'}$ y $\underline{\text{C}}\text{H}_3\text{-C7''}$); 16,2 ($\underline{\text{C}}\text{H}_3\text{-C3'}$); 16,1 ($\underline{\text{C}}\text{H}_3\text{-C3''}$).

IR (cm^{-1}): 3556; 2965; 2925; 2854; 1616; 1485; 1451; 1437; 1376; 1341; 1237; 1202; 1089; 941; 855.

EMAR: (M + 1) calc. $\text{C}_{28}\text{H}_{42}\text{O}_3$: 427,3134, encontrado: 427,3141; MS (m/z , %): M^+ 426 (74,2); 302 (16,1); 259 (32,3); 220 (39,8); 219 (100); 201 (40,9); 187 (63,4); 167 (19,4); 69 (66,7); 41 (48,4).

Compuestos 66 y 67.

Se preparó el compuesto 2,4,5-trimetoxifenol a partir de 2,4,5-trimetoxibenzaldehído realizando primero la reacción de oxidación de Baeyer-Villiger para obtener el 2,4,5-trimetoxifenil formiato, y segundo, la reacción de saponificación del formiato para obtener el 2,4,5-trimetoxifenol, según el Esquema 19.

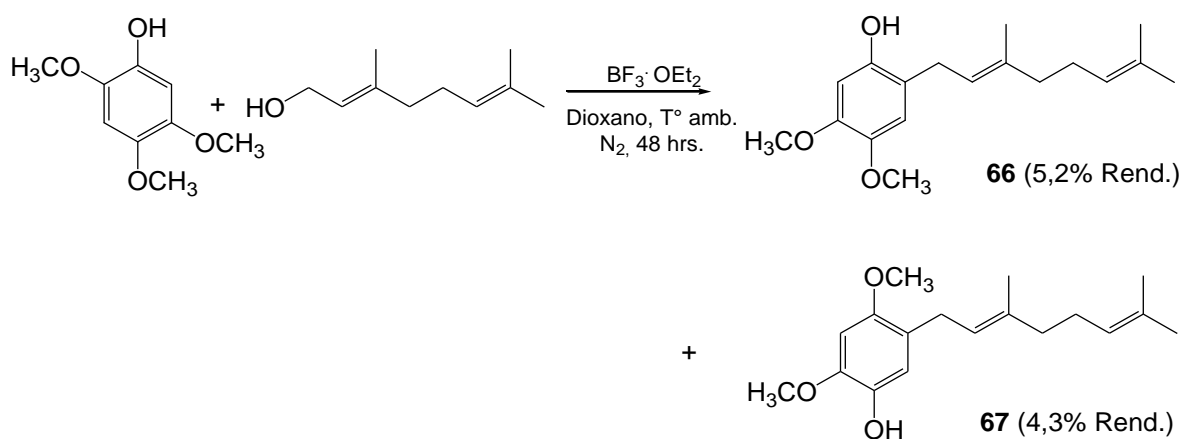


Esquema 19. Síntesis del compuesto 2,4,5-trimetoxifenol.

Se disolvió el 2,4,5-trimetoxibenzaldehído (3,01 g; 15 mmol), AMCPB (5,0 g; 29 mmol) y el NaHCO_3 (1,8 g; 32 mmol) en 70 mL de diclorometano. La solución se dejó con agitación por 3 horas a temperatura ambiente. La solución se filtró a vacío y se lavó la fase orgánica tres veces con solución saturada de NaHCO_3 (3 x 50 mL) y dos veces con agua (2 x 50 mL), para posteriormente ser secada sobre Na_2SO_4 anhidro, y luego esta solución fue filtrada y evaporada a sequedad. El crudo de reacción fue purificado por cromatografía en columna (CC), usando como fase estacionaria sílica gel y como fase móvil una mezcla de acetato de etilo/hexano en gradiente de polaridad creciente (0:50→20:30). Se obtuvieron 2,99 g de 2,4,5-trimetoxifenil formiato (91,6 % de rendimiento).

Se disolvió el 2,4,5-trimetoxifenil formiato (2,99 g; 14 mmol) en 50 mL de metanol y se agregaron 4 mL de trietilamina (2,9 g; 28 mmol). La solución se dejó con agitación por 3 horas a temperatura ambiente. Luego se evaporó la solución a sequedad y se diluyó con acetato de etilo. La fase orgánica se lavó dos veces con una solución de ácido clorhídrico al 5% (2 x 30 mL), para posteriormente ser secada sobre Na₂SO₄ anhidro, y luego esta solución fue filtrada y evaporada a sequedad. El crudo de reacción fue purificado por cromatografía en columna (CC), usando como fase estacionaria sílica gel y como fase móvil una mezcla de acetato de etilo/hexano en gradiente de polaridad creciente (0:50→20:30). Se obtuvieron 2,46 g de 2,4,5-trimetoxifenol (94,3 % de rendimiento). **RMN de ¹H**: 6,61 (s, 1H, H-6); 6,57 (s, 1H, H-3); 5,29 (s, 1H, OH); 3,87 (s, 3H, CH₃O); 3,84 (s, 6H, 2 x CH₃O). **RMN de ¹³C**: 144,2 (C-2); 143,6 (C-5); 143,1 (C-1); 141,9 (C-4); 104,8 (C-3); 100,1 (C-6),m,p,: 83,5-87,0 °C. **IR** (cm⁻¹): 3480; 3067; 2996; 1621; 1479; 1441; 1375; 1209; 1027; 823.

En la síntesis del compuesto **66** y obtención del compuesto **67**, se utilizó el mismo procedimiento de alilación de Friedel–Crafts, según se indica en el Esquema 20.



Esquema 20. Síntesis de los compuestos **66** y **67**.

Se disolvió el 2,4,5-trimetoxifenol (2,46 g; 13,3 mmol) y geraniol (2,07 g; 13,3 mmol) en dioxano (40 mL) y luego se puso en agitación a temperatura ambiente bajo atmósfera de nitrógeno. A esta mezcla se le inyectó lenta y directamente BF₃.Et₂O (0,62 g; 4,4 mmol). Se dejó en agitación durante 48 horas. El término de la reacción fue monitoreado por cromatografía en capa fina (CCF). Para dar fin a la reacción se agregó

agua destilada (aproximadamente 30 mL) y se extrajo la fase orgánica con tres porciones de AcOEt (3 × 20 mL), fase que luego fue lavada con una solución 5% de NaHCO₃ (15 mL) y agua (2 × 15 mL), para posteriormente ser secada sobre Na₂SO₄ anhidro, posteriormente esta solución fue filtrada y evaporada a sequedad. El crudo de reacción fue purificado por cromatografía en columna (CC), usando como fase estacionaria sílica gel y como fase móvil una mezcla de acetato de etilo/hexano en gradiente de polaridad creciente (0:100→90:10). Se obtuvieron dos Fracciones. Fracción I: 200,1 mg (5,2 % de rendimiento) de un aceite viscoso color café oscuro (compuesto **66**) y Fracción II: 168,4 mg (4,3 % de rendimiento) de un aceite viscoso color café oscuro (compuesto **67**).

Compuesto 66: (E)-2-(3,7-dimetilocta-2,6-dienil)-4,5-dimetoxifenol

RMN de ¹H: 6,62 (s, 1H, H-3); 6,45 (s, 1H, H-6); 5,30 (t, *J* = 7,1 Hz, 1H, H-2'); 5,07 (t, *J* = 7,1 Hz, 1H, H-6'); 4,93 (s, 1H, OH); 3,82 (s, 6H, 2 x OCH₃); 3,30 (d, *J* = 7,0 Hz, 2H, H-1'); 2,12-2,02 (m, 4H, H-5' y H-4'); 1,78 (s, 3H, CH₃-C3'); 1,68 (s, 3H, H-8'); 1,60 (s, 3H, CH₃-C7').

RMN de ¹³C: 148,4 (C-1); 148,3 (C-5); 142,8 (C-4); 138,6 (C-3'); 132,0 (C-7'); 123,7 (C-6'); 121,9 (C-2'); 117,3 (C-2); 113,7 (C-3); 101,2 (C-6); 56,6 (CH₃O-C5); 55,9 (CH₃O-C4); 39,6 (C-4'); 29,6 (C-1'); 26,4 (C-5'); 25,6 (C-8'); 17,7 (CH₃-C7'); 16,2 (CH₃-C3').

IR (cm⁻¹): 2924; 1619; 1512; 1451; 1195.

EM (m/z, %): M⁺ 290 (45,4); 205 (19,3); 167 (100: M⁺ - 123 (C₉H₁₅)); 69 (11,4); 41 (12,5).

Compuesto 67: (E)-5-(3,7-dimetilocta-2,6-dienil)-2,4-dimetoxifenol

RMN de ¹H: 6,68 (s, 1H, H-6); 6,54 (s, 1H, H-3); 5,49 (s, 1H, OH); 5,28 (t, *J* = 7,1 Hz, 1H, H-2'); 5,11 (t, *J* = 6,9 Hz, 1H, H-6'); 3,82 (s, 3H, CH₃O C-5); 3,76 (s, 3H, CH₃O C-4); 3,25 (d, *J* = 7,0 Hz, 2H, H-1'); 2,12-2,02 (m, 4H, H-5' y H-4'); 1,70 (s, 3H, CH₃ C-3'); 1,67 (s, 3H, H-8'); 1,60 (s, 3H, CH₃ C-7').

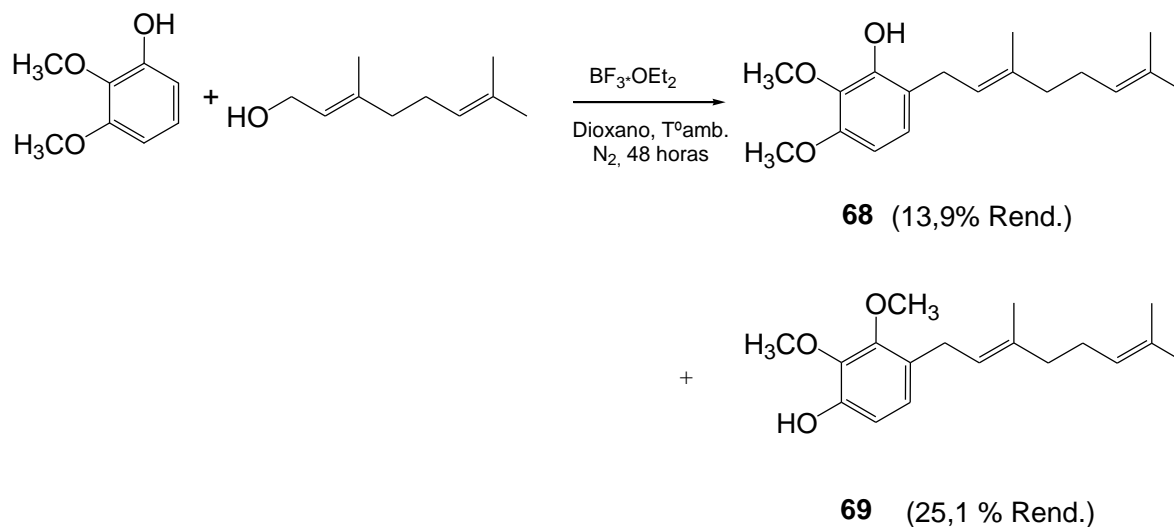
RMN de ¹³C: 151,8 (C-4); 144,1 (C-1); 140,1 (C-2); 136,0 (C-3'); 131,4 (C-7'); 124,3 (C-6'); 122,8 (C-2'); 120,9 (C-5); 112,8 (C-6); 99,3 (C-3); 56,8 (CH₃O C-5); 56,1 (CH₃O C-4); 27,7 (C-1'); 39,8 (C-4'); 26,8 (C-5'); 25,7 (C-8'); 17,7 (CH₃ C-7'); 16,1 (CH₃ C-3').

IR (cm⁻¹): 2924; 1602; 1512; 1194; 1042.

EM (m/z, %): M⁺ 290 (< 1%); 288 (13); 287 (28); 246 (43); 245 (9); 219 (12); 203 (15); 178 (39); 177 (70); 175 (9); 163 (17); 161 (31); 149 (10); 124 (16); 123 (100); 122 (21); 69 (36).

Compuestos 68 y 69.

Para la preparación del compuesto **68** y la obtención del compuesto **69**, se utilizó el mismo procedimiento de alilación de Friedel–Crafts, según se indica en el Esquema 21.



Esquema 21. Síntesis de los compuestos **68** y **69**.

A una solución de 2,3-dimetoxifenol (1,5 g; 9,7 mmol), geraniol (1,5 g, 9,7 mmol) y dioxano (20 mL), se agregó mediante goteo una solución de $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ (1,25 mL, 10 mmol). La mezcla fue agitada a temperatura ambiente bajo atmosfera de nitrógeno durante 48 horas. El término de la reacción fue monitoreado por cromatografía en capa fina (CCF). La solución resultante fue lavada con H_2O (2 x 20mL), para luego extraer la fase orgánica con AcOEt (2 x 30mL), para posteriormente ser secada sobre Na_2SO_4 anhidro, filtrada y evaporada a sequedad. El crudo de la reacción fue purificado por cromatografía en columna (CC), usando como fase estacionaria sílica gel y como fase móvil una mezcla de acetato de etilo/hexano de polaridad creciente (0,2:19,8→12,0:8,0). Se obtuvieron dos fracciones. Fracción I: 236 mg (13,9 % rendimiento) de un aceite viscoso de color amarillo (compuesto **68**). Fracción II: 426 mg (25,1 % de rendimiento) de un aceite viscoso de color amarillo (compuesto **69**).

Compuesto 68: (E)-6-(3,7-dimetilocta-2,6-dienil)-2,3-dimetoxifenol

RMN de ^1H : 6,79 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H, H-5); 6,41 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H, H-4); 5,88 (s, 1H, OH); 5,32 (t, $J = 7,2$ Hz, 1H, H-2'); 5,12 (t, $J = 6,5$ Hz, 1H, H-6'); 3,90 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{O-C6}$); 3,84 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{O-C5}$); 3,30 (d, $J = 7,2$ Hz, 2H, H-1'); 2,12-2,09 (m, 2H, H-5'); 2,07-2,03 (m, 2H, H-4'); 1,71 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-C3'}$); 1,69 (s, 3H, H-8'); 1,61 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-C7'}$).

RMN de ^{13}C : 150,5 (C-3); 147,2 (C-1); 136,2 (C-3'); 135,4 (C-2); 131,4 (C-7'); 124,4 (C-6'); 123,5 (C-5); 122,2 (C-2'); 120,7 (C-6); 103,3 (C-4); 60,9 ($\text{CH}_3\text{O-C3}$); 55,8 ($\text{CH}_3\text{O-C2}$); 39,7 (C-4'); 27,5 (C-1'); 26,6 (C-5'); 25,7 (C-8'); 17,7 ($\text{CH}_3\text{-C7'}$); 16,0 ($\text{CH}_3\text{-C3'}$).

IR (cm^{-1}): 3422; 2966; 2928; 2852; 1597; 1493; 1466; 1376; 1350; 1283; 1200; 1164; 1096; 1065; 1022; 962; 810.

EM (m/z, %): M^+ 290 (54,7); 247 (13,2); 221 (33,9); 205 (15,0); 189 (39,6); 167 (100: $\text{M}^+ - 123$ (C_9H_{15})); 153 (15,0); 129 (28,3); 91 (13,2); 69 (17,0); 41 (20,8).

Compuesto 69: (E)-5-(3,7-dimetilocta-2,6-dienil)-2,3-dimetoxifenol

RMN de ^1H : 6,78 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H, H-5); 6,65 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H, H-6); 5,61 (s, 1H, OH); 5,25 (t, $J = 7,2$ Hz, 1H, H-2'); 5,10 (t, $J = 6,3$ Hz, 1H, H-6'); 3,92 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{O-C2}$); 3,83 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{O-C3}$); 3,27 (d, $J = 7,2$ Hz, 2H, H-1'); 2,11-2,08 (m, 2H, H-5'); 2,06-2,04 (m, 2H, H-4'); 1,71 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-C3'}$); 1,68 (s, 3H, H-8'); 1,60 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-C7'}$).

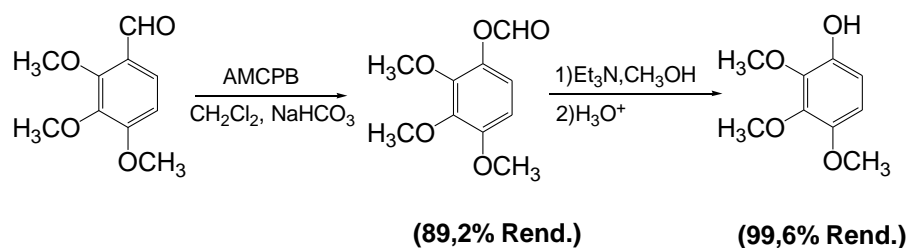
RMN de ^{13}C : 150,6 (C-2); 147,7 (C-1); 139,7 (C-3); 135,8 (C-3'); 131,4 (C-7'); 126,9 (C-4); 124,3 (C-6'); 124,2 (C-5); 123,1 (C-2'); 110,1 (C-6); 60,7 ($\text{CH}_3\text{O-C2}$); 60,3 ($\text{CH}_3\text{O-C3}$); 39,7 (C-4'); 27,7 (C-1'); 26,6 (C-5'); 25,7 (C-8'); 17,6 ($\text{CH}_3\text{-C7'}$); 16,0 ($\text{CH}_3\text{-C3'}$).

IR (cm^{-1}): 3522; 2960; 2926; 2849; 2840; 1617; 1505; 1464; 1430; 1376; 1279; 1216; 1096; 1038; 971; 890; 787; 696.

EM (m/z, %): M^+ 290 (11,6); 221 (9,6); 205 (13,5); 189 (11,5); 167 (100: $\text{M}^+ - 123$ (C_9H_{15})); 129 (17,3); 91 (7,7); 69 (9,6); 41 (13,5).

Compuestos 70 y 71.

Se preparó el compuesto 2,3,4-trimetoxifenol a partir de 2,3,4-trimetoxibenzaldehído realizando primero la reacción de oxidación de Baeyer-Villiger para obtener el 2,3,4-trimetoxifenil formiato, y segundo, la reacción de saponificación del formiato para obtener el 2,3,4-trimetoxifenol, según el Esquema 22.

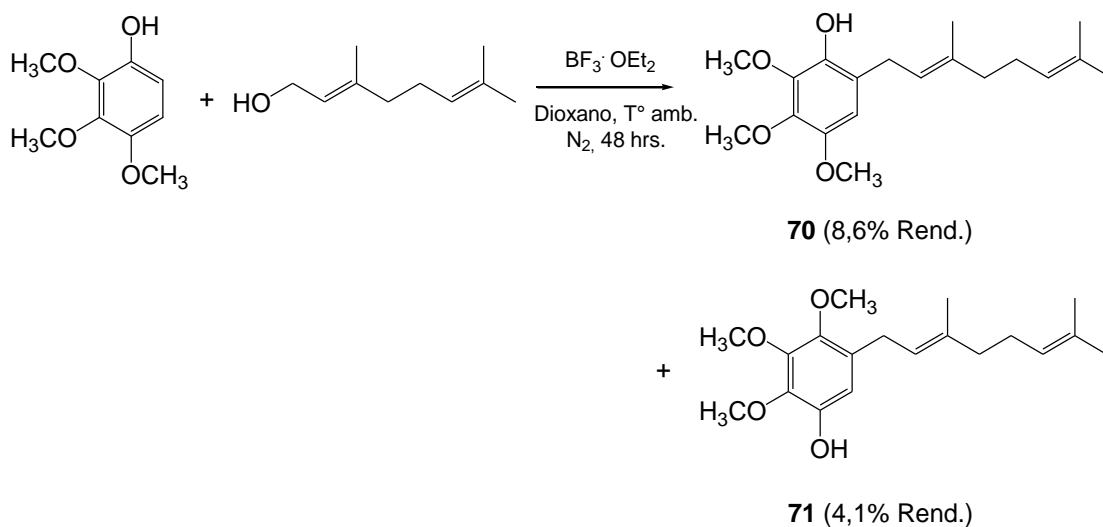


Esquema 22. Síntesis del compuesto 2,3,4-trimetoxifenol.

Se disolvió el 2,3,4-trimetoxibenzaldehído (2,0 g; 10 mmol), AMCPB (3,3 g; 19 mmol) y el NaHCO_3 (1,8 g; 21 mmol) en 70 mL de diclorometano. La solución se dejó con agitación por 3 horas a temperatura ambiente. La solución se filtró a vacío y se lavó la fase orgánica tres veces con solución saturada de NaHCO_3 (3 x 50 mL) y dos veces con agua (2 x 50 mL), para posteriormente ser secada sobre Na_2SO_4 anhidro, y luego esta solución fue filtrada y evaporada a sequedad. El crudo de reacción fue purificado por cromatografía en columna (CC), usando como fase estacionaria sílica gel y como fase móvil una mezcla de acetato de etilo/hexano en gradiente de polaridad creciente (0:50→20:30). Se obtuvieron 1,81 g de 2,3,4-trimetoxifenil formiato (89,2 % de rendimiento).

Se disolvió el 2,3,4-trimetoxifenil formiato (1,7 g; 8 mmol) en 50 mL de metanol y se agregaron 2 mL de trietilamina (1,45 g; 14 mmol). La solución se dejó con agitación por 3 horas a temperatura ambiente. Luego se evaporó la solución a sequedad y se diluyó con acetato de etilo. La fase orgánica se lavó dos veces con una solución de ácido clorhídrico al 5% (2 x 30 mL), para posteriormente ser secada sobre Na_2SO_4 anhidro, y luego esta solución fue filtrada y evaporada a sequedad. El crudo de reacción fue purificado por cromatografía en columna (CC), usando como fase estacionaria sílica gel y como fase móvil una mezcla de acetato de etilo/hexano en gradiente de polaridad creciente (0:50→20:30). Se obtuvieron 1,80 g de 2,3,4-trimetoxifenol (99,6 % de rendimiento). **RMN de ^1H** : 6,62 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H, H-6); 6,55 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H, H-5); 3,95 (s, 3H, CH_3O); 3,89 (s, 3H, CH_3O); 3,80 (s, 3H, CH_3O), **RMN de ^{13}C** : 146,9 (C-1); 143,3 (C-2); 142,2 (C-3); 140,4(C-4); 108,5 (C-6); 107,6 (C-5); 61,2 (CH_3O); 60,9 (CH_3O); 55,5 (CH_3O), **IR** (cm^{-1}): 3421; 2995; 2940; 1601; 1479; 1427; 1360; 1052; 955; 797.

En la síntesis del compuesto **70** y obtención del compuesto **71**, se utilizó el mismo procedimiento de alilación de Friedel–Crafts, según se indica en el Esquema 23.



Esquema 23. Síntesis de los compuestos **70** y **71**.

Se disolvió el 2,3,4-trimetoxifenol (1,0 g; 5,5 mmol) y geraniol (0,85 g; 5,5 mmol) en dioxano (40 mL) y luego se puso en agitación a temperatura ambiente bajo atmósfera de nitrógeno. A esta mezcla se le inyectó lenta y directamente $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ (0,46 g; 3,2 mmol). Se dejó en agitación durante 48 horas. El término de la reacción fue monitoreado por cromatografía en capa fina (CCF). Para dar fin a la reacción se agregó agua destilada (aproximadamente 30 mL) y se extrajo la fase orgánica con tres porciones de AcOEt (3×20 mL), fase que luego fue lavada con una solución 5% de NaHCO_3 (15 mL) y agua (2×15 mL), para posteriormente ser secada sobre Na_2SO_4 anhidro, posteriormente esta solución fue filtrada y evaporada a sequedad. El crudo de reacción fue purificado por cromatografía en columna (CC), usando como fase estacionaria sílica gel y como fase móvil una mezcla de acetato de etilo/hexano en gradiente de polaridad creciente (0:50→20:30). Se obtuvieron dos Fracciones. Fracción I: 150,5 mg (8,6 % de rendimiento) de un aceite viscoso color café claro (compuesto **70**) y Fracción II: 71,0 mg (4,1 % de rendimiento) de un aceite viscoso color café oscuro (compuesto **71**).

Compuesto 70: (E)-6-(3,7-dimetilocta-2,6-dienil)-2,3,4-trimetoxifenol

RMN de ^1H : 6,44 (s, 1H, H-5); 5,47 (s, 1H, OH); 5,32 (t, $J = 6,8$ Hz, 1H, H-2'); 5,11 (t, $J = 6,6$ Hz, 1H, H-6'); 3,95 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{O-C2}$); 3,87 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{O-C3}$); 3,79 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{O-C4}$); 3,31 (d, $J = 7,2$ Hz, 2H, H-1'); 2,11-2,09 (m, 2H, H-5'); 2,07-2,04 (m, 2H, H-4'); 1,72 (s, 3H, CH_3 C-3'); 1,67 (s, 3H, H-8'); 1,60 (s, 3H, CH_3 C-7').

RMN de ^{13}C : 146,1 (C-4); 140,8 (C-1); 140,0 (C-2 y C-3); 136,6 (C-3'); 131,4 (C-7'); 124,2 (C-6'); 122,0 (C-2'); 121,6 (C-6); 108,2 (C-5); 61,2 ($\text{CH}_3\text{O-C2}$); 60,9 ($\text{CH}_3\text{O-C3}$); 56,6 ($\text{CH}_3\text{O-C4}$); 39,7 (C-4'); 27,9 (C-1'); 26,7 (C-5'); 25,7 (C-8'); 17,7 ($\text{CH}_3\text{-C7'}$); 16,1 ($\text{CH}_3\text{-C3'}$).

IR (cm^{-1}): 3446; 2966; 1497; 1464; 1125; 1072.

EM (m/z , %): M^+320 (70,7); 235 (14,6); 198 (18,3); 197 (100: $\text{M}^+ - 123$ (C_9H_{15})); 181 (12,2); 159 (12,1); 69 (8,5); 41 (12,2).

Compuesto 71: (E)-5-(3,7-dimetilocta-2,6-dienil)-2,3,4-trimetoxifenol

RMN de ^1H : 6,50 (s, 1H, H-6); 5,46 (s, 1H, OH); 5,25 (t, $J = 6,2$ Hz, 1H, H-2'); 5,10 (bt, $J = 6,8$ Hz, 1H, H-6'); 3,93 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{O-C3}$); 3,92 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{O-C2}$); 3,78 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{O-C4}$); 3,27 (d, $J = 7,2$ Hz, 2H, H-1'); 2,11-2,08 (m, 2H, H-5'); 2,05-2,02 (m, 2H, H-4'); 1,70 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-C3'}$); 1,68 (s, 3H, H-8'); 1,60 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-C7'}$).

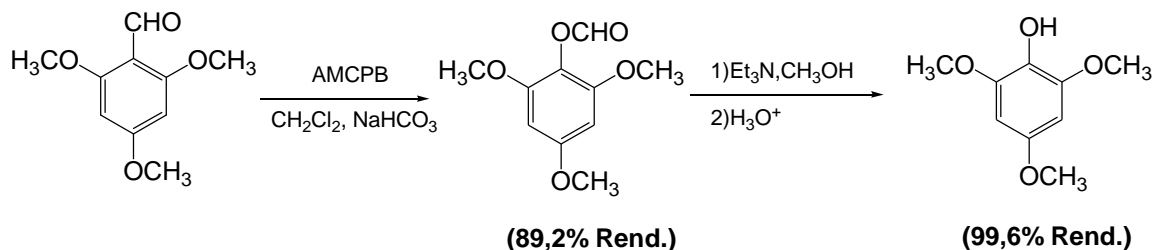
RMN de ^{13}C : 145,9 (C-3); 144,9 (C-4); 144,5 (C-1); 138,0 (C-2); 136,2 (C-3'); 131,5 (C-7'); 130,6 (C-5); 124,2 (C-6'); 122,5 (C-2'); 109,5 (C-6); 61,2 ($\text{CH}_3\text{O-C3}$); 61,0 ($\text{CH}_3\text{O-C2}$); 60,7 ($\text{CH}_3\text{O-C4}$); 39,7 (C-4'); 27,8 (C-1'); 26,6 (C-5'); 25,7 (C-8'); 17,7 ($\text{CH}_3\text{-C7'}$); 16,0 ($\text{CH}_3\text{C3'}$).

IR (cm^{-1}): 3421; 2966; 1590; 1487; 1465; 1198; 1110.

EMAR: ($\text{M} + 1$) calc, para $\text{C}_{19}\text{H}_{28}\text{O}_4$: 321,1988, encontrado: 321,1994; **MS** (m/z , %): M^+320 (100); 219 (32,5); 206 (26,0); 197 (75,3: $\text{M}^+ - 123$ (C_9H_{15})); 183 (18,2); 159 (49,4); 69 (24,7); 41 (27,3).

Compuestos 72 y 73.

Se preparó el compuesto 2,4,6-trimetoxifenol a partir de 2,4,6-trimetoxibenzaldehído realizando primero la reacción de oxidación de Baeyer-Villiger para obtener el 2,4,6-trimetoxifenil formiato, y segundo, la reacción de saponificación del formiato para obtener el 2,4,6-trimetoxifenol, según el Esquema 24.

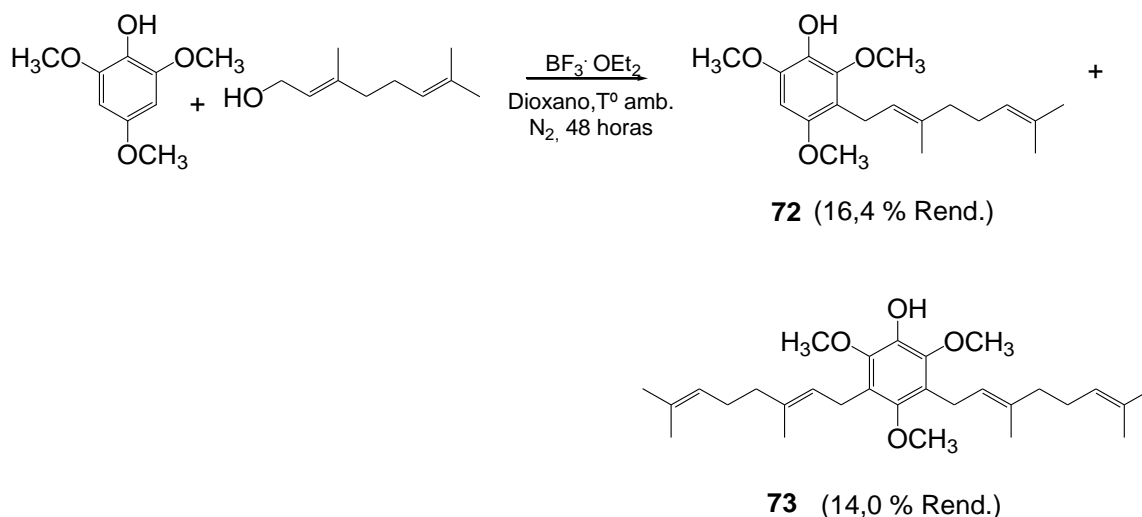


Esquema 24. Síntesis del compuesto 2,4,6-trimetoxifenol.

Se disolvió el 2,4,6-trimetoxibenzaldehído (3,03 g; 15,4 mmol), AMCPB (4,45 g; 25,8 mmol) y el NaHCO₃ (2,7 g; 32,1 mmol) en 70 mL de diclorometano. La solución se dejó con agitación por 3 horas a temperatura ambiente. La solución se filtró a vacío y se lavó la fase orgánica tres veces con solución saturada de NaHCO₃ (3 x 50 mL) y dos veces con agua (2 x 50 mL), para posteriormente ser secada sobre Na₂SO₄ anhidro, y luego esta solución fue filtrada y evaporada a sequedad. El crudo de reacción fue purificado por cromatografía en columna (CC), usando como fase estacionaria sílica gel y como fase móvil una mezcla de acetato de etilo/hexano en gradiente de polaridad creciente (0:50→20:30). Se obtuvieron 2,95 g de 2,4,6-trimetoxifenil formiato (90,2 % de rendimiento).

Se disolvió el 2,4,6-trimetoxifenil formiato (2,95 g; 13,9 mmol) en 75 mL de metanol y se agregaron 6 mL de trietilamina (4,35 g; 42 mmol). La solución se dejó con agitación por 3 horas a temperatura ambiente. Luego se evaporó la solución a sequedad y se diluyó con acetato de etilo. La fase orgánica se lavó dos veces con una solución de ácido clorhídrico al 5% (2 x 30 mL), para posteriormente ser secada sobre Na₂SO₄ anhidro, y luego esta solución fue filtrada y evaporada a sequedad. El crudo de reacción fue purificado por cromatografía en columna (CC), usando como fase estacionaria sílica gel y como fase móvil una mezcla de acetato de etilo/hexano en gradiente de polaridad creciente (0:50→20:30). Se obtuvieron 2,44 g de 2,4,6-trimetoxifenol (95,0 % de rendimiento). **RMN de ¹H:** 6,16 (s, 2H, H-3 y H-5); 3,83 (s, 6H, 2 x CH₃O); 3,74 (s, 3H, CH₃O), **RMN de ¹³C:** 153,0 (C-1); 147,2 (C-2 y C-6); 128,9 (C-4); 91,7 (C-3 y C-5); 56,1 (2 x CH₃O); 55,6 (CH₃O), **IR (cm⁻¹):** 3422; 3010; 2964; 1626; 1469; 1439; 1361; 1236; 1053; 942; 815.

En la síntesis del compuesto **72** y obtención del compuesto **73**, se utilizó el mismo procedimiento de alilación de Friedel–Crafts, según se indica en el Esquema 25.

Esquema 25. Síntesis de los compuestos **72** y **73**.

Se disolvió el 2,4,6-trimetoxifenol (2,58 g; 14,0 mmol) y geraniol (2,49 g; 16,0 mmol) en dioxano (40 mL) y luego se puso en agitación a temperatura ambiente bajo atmósfera de nitrógeno. A esta mezcla se le inyectó lenta y directamente $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ (0,90 g; 6,3 mmol). Se dejó en agitación durante 48 horas. El término de la reacción fue monitoreado por cromatografía en capa fina (CCF). Para dar fin a la reacción se agregó agua destilada (aproximadamente 30 mL) y se extrajo la fase orgánica con tres porciones de AcOEt (3 x 20 mL), fase que luego fue lavada con una solución 5% de NaHCO_3 (15 mL) y agua (2 x 15 mL), para posteriormente ser secada sobre Na_2SO_4 anhidro, posteriormente esta solución fue filtrada y evaporada a sequedad. El crudo de reacción fue purificado por cromatografía en columna (CC), usando como fase estacionaria sílica gel y como fase móvil una mezcla de acetato de etilo/hexano en gradiente de polaridad creciente, en % volumen (0:100→65:35). Se obtuvieron dos Fracciones. Fracción I: 735,9 mg (16,4 % de rendimiento) de un aceite viscoso color café oscuro (compuesto **72**), Fracción II: 901,8 mg (14,0 % de rendimiento) de un aceite color café oscuro (compuesto **73**).

Compuesto 72: (E)-3-(3,7-dimetilocta-2,6-dienil)-2,4,6-trimetoxifenol

RMN de ^1H : 6,32 (s, 1H, H-5); 5,17 (t, $J = 6,2$ Hz, 1H, H-2'); 5,15 (s, 1H, OH); 5,06 (t, $J = 6,7$ Hz, 1H, H-6'); 3,88 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{O-C6}$); 3,83 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{O-C2}$); 3,78 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{O-C4}$);

3,30 (d, $J = 6,8$ Hz, 2H, H-1'); 2,06-2,02 (m, 2H, H-5'); 1,98-1,94 (m, 2H, H-4'); 1,76 (s, 3H, CH₃-C3'); 1,64 (s, 3H, H-8'); 1,57 (s, 3H, CH₃-C7').

RMN de ¹³C: 150,6 (C-4); 145,9 (C-2); 145,3 (C-6); 134,4 (C-3'); 133,0 (C-1); 131,1 (C-7'); 124,4 (C-6'); 123,5 (C-2'); 116,8 (C-3); 93,0 (C-5); 60,8 (CH₃O-C2); 56,5 (CH₃O-C4); 56,3 (CH₃O-C6); 39,7 (C-4'); 26,7 (C-5'); 25,6 (C-8'); 22,5 (C-1'); 17,6 (CH₃-C7'); 16,0 (CH₃-C3').

IR (cm⁻¹): 3447; 2965; 2929; 2838; 1668; 1615; 1500; 1454; 1377; 1345; 1245; 1199; 1105; 910; 872; 801.

EM (m/z, %): M⁺ 320 (77,3); 251 (21,6); 237 (15,9); 221 (30,7); 219 (33,0); 197 (100: M⁺ - 123 (C₉H₁₅)); 186 (27,3); 183 (23,9); 159 (17,0); 69 (18,2); 41 (22,7).

Compuesto 73: 3,5-bis((E)-3,7-dimetilocta-2,6-dienil)-2,4,6-trimetoxifenol

RMN de ¹H: 5,34 (s, 1H, OH); 5,24-5,20 (m, 2H, H-2' y H-2''); 5,08 (m, 2H, H-6' y H-6''); 3,81 (s, 6H, CH₃O-C6 y CH₃O-C2); 3,66 (s, 3H, CH₃O-C4); 3,34 (d, $J = 6,6$ Hz, 4H, H-1' y H-1''); 2,07-2,04 (m, 4H, H-5' y H-5''); 2,01-1,97 (m, 4H, H-4' y H-4''); 1,77 (s, 6H, CH₃-C3' y CH₃-C3''); 1,64 (s, 6H, H-8' y H-8''); 1,57 (s, 6H, CH₃-C7' y CH₃-C7'').

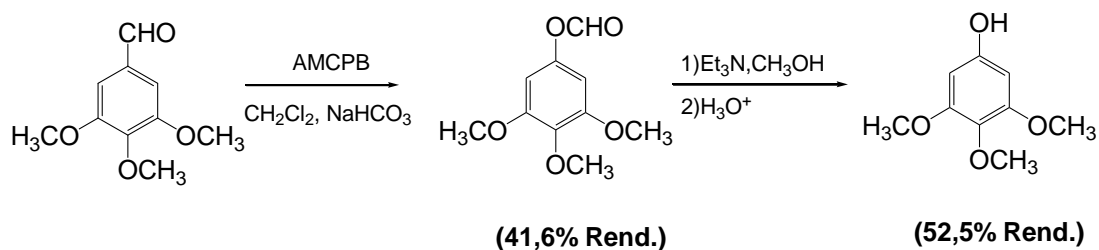
RMN de ¹³C: 149,5 (C-4); 144,4 (C-2 y C-6); 139,0 (C-1); 134,8 (C-3' y C-3''); 131,3 (C-7' y C-7''); 124,4 (C-3 y C-5); 124,3 (C-6' y C-6''); 123,8 (C-2' y C-2''); 61,7 (CH₃O-C4); 60,9 (CH₃O-C2 y CH₃O-C6); 39,7 (C-4' y C-4''); 26,6 (C-5' y C-5''); 25,6 (C-8' y C-8''); 23,5 (C-1' y C-1''); 17,6 (CH₃-C7' y CH₃-C7''); 16,2 (CH₃-C3' y CH₃-C3'').

IR (cm⁻¹): 3447; 3086; 2968; 2926; 2856; 1675; 1642; 1604; 1460; 1422; 1376; 1235; 1106; 1031; 920; 835.

EMAR: (M + 1) calcd, para C₂₉H₄₄O₄: 457,3240, encontrado: 457,3247; **MS (m/z, %):** M⁺ 456 (33,3); 333 (22,2: M⁺ - 123 (C₉H₁₅)); 301 (11,1); 263 (100); 211 (34,4); 69 (54,4); 41 (37,8).

Compuestos 74 y 75.

Se preparó el compuesto 3,4,5-trimetoxifenol a partir de 3,4,5-trimetoxibenzaldehído realizando primero la reacción de oxidación de Baeyer-Villiger para obtener el 3,4,5-trimetoxifenil formiato, y segundo, la reacción de saponificación del formiato para obtener el 3,4,5-trimetoxifenol, según el Esquema 26.

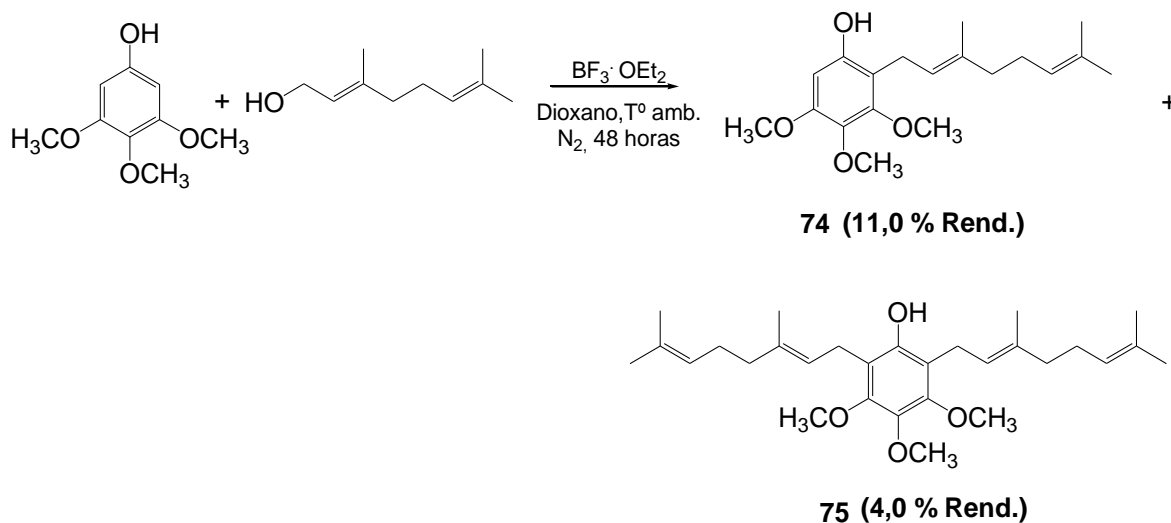


Esquema 26. Síntesis del compuesto 3,4,5-trimetoxifenol.

Se disolvió el 3,4,5-trimetoxibenzaldehído (3,0 g; 15,4 mmol), AMCPB (4,45 g; 25,8 mmol) y el NaHCO_3 (2,7 g; 32,1 mmol) en 70 mL de diclorometano. La solución se dejó con agitación por 3 horas a temperatura ambiente. La solución se filtró a vacío y se lavó la fase orgánica tres veces con solución saturada de NaHCO_3 (3 x 50 mL) y dos veces con agua (2 x 50 mL), para posteriormente ser secada sobre Na_2SO_4 anhidro, y luego esta solución fue filtrada y evaporada a sequedad. El crudo de reacción fue purificado por cromatografía en columna (CC), usando como fase estacionaria sílica gel y como fase móvil una mezcla de acetato de etilo/hexano en gradiente de polaridad creciente (0:50→5:45). Se obtuvieron 1,36 g de 3,4,5-trimetoxifenil formiato (41,6 % de rendimiento).

Se disolvió el 3,4,5-trimetoxifenil formiato (1,36 g; 6,4 mmol) en 75 mL de metanol y se agregaron 3 mL de trietilamina (2,17 g; 21 mmol). La solución se dejó con agitación por 3 horas a temperatura ambiente. Luego se evaporó la solución a sequedad y se diluyó con acetato de etilo. La fase orgánica se lavó dos veces con una solución de ácido clorhídrico al 5% (2 x 30 mL), para posteriormente ser secada sobre Na_2SO_4 anhidro, y luego esta solución fue filtrada y evaporada a sequedad. El crudo de reacción fue purificado por cromatografía en columna (CC), usando como fase estacionaria sílica gel y como fase móvil una mezcla de acetato de etilo/hexano en gradiente de polaridad creciente (0:50→20:30). Se obtuvieron 0,62 g de 3,4,5-trimetoxifenol (52,5 % de rendimiento). **RMN de ^1H** : 6,09 (s, 2H, H-2 y H-6); 3,81 (s, 6H, 2 x CH_3O); 3,78 (s, 3H, CH_3O), **RMN de ^{13}C** : 153,8 (C-3 y C-5); 152,4 (C-1); 131,9 (C-4); 93,0 (C-2 y C-6); 61,0 (CH_3O); 55,9 (2 x CH_3O). **IR** (cm^{-1}): 3381, 2940, 2845, 1600, 1508, 1479, 1230, 1130, 995.

En la síntesis del compuesto **74** y obtención del compuesto **75**, se utilizó el mismo procedimiento de alilación de Friedel–Crafts, según se indica en el Esquema 27.

Esquema 27. Síntesis de los compuestos **74** y **75**.

Se disolvió el 3,4,5-trimetoxifenol (1,03 g; 5,6 mmol) y geraniol (0,87 g; 5,6 mmol) en dioxano (40 mL) y luego se puso en agitación a temperatura ambiente bajo atmósfera de nitrógeno. A esta mezcla se le inyectó lenta y directamente $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ (0,30 g; 1,8 mmol). Se dejó en agitación durante 48 horas. El término de la reacción fue monitoreado por cromatografía en capa fina (CCF). Para dar fin a la reacción se agregó agua destilada (aproximadamente 30 mL) y se extrajo la fase orgánica con tres porciones de AcOEt (3 × 20 mL), fase que luego fue lavada con una solución 5% de NaHCO_3 (15 mL) y agua (2 × 15 mL), para posteriormente ser secada sobre Na_2SO_4 anhidro, posteriormente esta solución fue filtrada y evaporada a sequedad. El crudo de reacción fue purificado por cromatografía en columna (CC), usando como fase estacionaria sílica gel y como fase móvil una mezcla de acetato de etilo/hexano en gradiente de polaridad creciente, en % volumen (0:100→10:90). Se obtuvieron dos Fracciones. Fracción I: 197,7 mg (11,0 % de rendimiento) de un aceite viscoso color café (compuesto **74**), Fracción II: 98,5 mg (4,0 % de rendimiento) de un aceite color café (compuesto **75**).

Compuestos 74: (E)-2-(3,7-dimetilocta-2,6-dienil)-3,4,5-trimetoxifenol

RMN de ^1H : 6,25 (s, 1H, H-6); 5,21 (t, $J = 6,7$ Hz, 1H, H-2'); 5,05 (t, $J = 6,3$ Hz, 1H, H-6'); 3,84 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{O-C3}$); 3,81 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{O-C4}$); 3,79 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{O-C5}$); 3,36 (d, $J = 7,0$

Hz, 2H, H-1'); 2,08-2,02 (m, 4H, H-4' y 5'); 1,80 (s, 3H, CH₃-C3'); 1,67 (s, 3H, H-8'); 1,59 (s, 3H, CH₃-C7').

RMN de ¹³C: 152,1 (C-4); 151,8 (C-3); 151,2 (C-1); 138,4 (C-3'); 136,2 (C-5); 132,0 (C-7'); 123,7 (C-6'); 122,2 (C-2'); 112,3 (C-2); 96,6 (C-6); 61,2 (CH₃O-C3); 61,0 (CH₃O-C4); 55,9 (CH₃O-C5); 39,7 (C-4'); 26,4 (C-5'); 25,6 (C-8'); 22,7 (C-1'); 17,7 (CH₃-C7'); 16,1 (CH₃-C3').

IR (cm⁻¹): 3403; 2965; 2932; 2854; 1644; 1603; 1484; 1461; 1376; 1126; 1085; 998.

EM (m/z, %): M⁺ 320 (54,1); 197 (100); 235 (27,1); 182 (21,4); 196 (20,5).

Compuesto 75: 2,6-bis((E)-3,7-dimetilocta-2,6-dienil)-3,4,5-trimetoxifenol

RMN de ¹H: 5,28 (s, 1H, OH); 5,21 (t, *J* = 6,8 Hz, 2H, H-2'); 5,06 (t, *J* = 6,2 Hz, 2H, H-6'); 3,85 (s, 3H, CH₃O-C4); 3,82 (s, 6H, CH₃O-C3 y C5); 3,36 (d, *J* = 6,9 Hz, 4H, H-1'); 2,07-2,04 (m, 8H, H-4' y H-5'); 1,80 (s, 6H, CH₃-C3'); 1,66 (s, 6H, H-8'); 1,58 (s, 6H, CH₃-C7').

RMN de ¹³C: 150,0 (C-3 y C-5); 149,5 (C-1); 140,4 (C-4); 137,0 (C-3'); 131,7 (C-7'); 124,0 (C-6'); 122,6 (C-2'); 116,9 (C-2 y C-6); 61,2 (CH₃O-C4); 60,9 (CH₃O-C3 y CH₃O-C5); 39,7 (C-4'); 26,5 (C-5'); 25,7 (C-8'); 23,0 (C-1'); 17,7 (CH₃-C7'); 16,1 (CH₃-C3').

IR (cm⁻¹): 3446; 2966; 2928; 2855; 1668; 1605; 1461; 1419; 1377; 1080; 1050; 988.

EM (m/z, %): M⁺ 456 (52,1); 371 (18,8); 333 (32,3); 263 (80,2); 209 (100); 69 (47,9); 41 (39,6).

3.3 Encapsulación y liberación de geranilfenoles lineales.

Las micelas poliméricas formadas por copolímeros en bloque se basarán en PEO, en este trabajo se utilizó Pluronic F-127, copolímeros en tribloque poli(óxido de etileno)-poli(óxido de propileno)-poli(óxido de etileno) (PEO-b-PPO-b-PEO).

El estudio de encapsulamiento y liberación de los compuestos sintetizados fue guiado por el Profesor Dr. Andrés Olea C. de la Facultad de Ingeniería, Universidad Autónoma de Chile¹¹⁶.

3.4 Métodos de preparación de micelas.

Para la preparación de las micelas de polímeros se utilizó el método de disolución directa, el cual, consiste en la simple adición del polímero en agua y mediante agitación con baja temperatura (no mayor a 60°C), el polímero se disolverá obteniéndose una solución acuosa transparente.

Procedimiento: Se pesaron 0,63 g de Pluronic F-127 (PM = 12.500 g/mol) y se disolvieron en 50 mL de agua ultra pura para obtener una concentración final de 0,001 M. Luego, se midió el tamaño de los agregados en un equipo del tipo *Light Scattering (Zetasizer Nano ZS, Malvem Instruments Ltda)* y se dejó reposar 24 horas para luego incorporar los compuestos seleccionados. La disolución se realizó en un matraz aforado de 50 mL sobre una placa calefactora a temperatura baja y constante, y cada cierto intervalo de tiempo se incorpora en un baño ultrasonido (Elam® Trannonic 460/H Ultrasonic Cleaning Unit) para facilitar la disolución y homogenización del polímero.

3.5 Métodos de incorporación de los compuestos sintetizados a las micelas poliméricas.

El encapsulamiento físico de los compuestos en las micelas poliméricas se llevó a cabo por el método de emulsión. En el método de emulsión, el compuesto se disolvió en un disolvente volátil (diclorometano o acetonitrilo), y se añadió a la solución acuosa de micelas poliméricas. La mezcla se homogenizó por agitación constante y ultrasonido (cuando fue requerido) formando una emulsión, donde el disolvente orgánico se evaporó en un sistema abierto al aire sobre placa calefactora a 60 °C. Los núcleos de las micelas atrapan el compuesto de la emulsión quedando incorporado éste.

3.6 Medición de coeficiente de distribución.

La distribución de sustratos, entre la fase acuosa y las micelas poliméricas, se analizaron en términos del modelo de pseudo-fase. De acuerdo con este modelo la constante de distribución se puede expresar en base a una concentración molar como:

$$K_S = \frac{[\text{sustrato}]_M}{[\text{sustrato}]_W [P]_M} \quad (1)$$

Donde $[\text{sustrato}]_M$ y $[\text{sustrato}]_W$ denotan las concentraciones molares del sustrato en las fases micelares y acuosa, respectivamente, $[P]_M$ es la concentración de las cadenas poliméricas que forman las micelas.

Los valores de K_S se determinaron mediante la ultrafiltración en una celda Amicon de 202 con una membrana PM 5000 (Figura 24 - 25). Las soluciones acuosas del polímero a un pH fijo, con diferentes concentraciones de sustrato se filtraron, y se midió la absorbancia de las soluciones filtradas. La concentración molar del sustrato en la fase acuosa se obtuvo a partir de una curva de calibración y se representó frente a la concentración molar del sustrato en la fase micelar de acuerdo con la ecuación 1.

Procedimiento: Se preparó una solución de 10 mL de Pluronic F-127 0,001 M con 450 μL del compuesto seleccionado de una solución stock a 0,101 M y se incorporó a la celda Amicon, en agitación constante. Se realizó una línea con agua para calibrar el equipo en cero (blanco) y realizar las siguientes mediciones en el espectrómetro para UV (UV-1800 UV-VIS Spectrophotometer Shim seadzu Corporation, Tokyo, Japón). Luego, se recolectó en una cubeta de cuarzo de 1 mL de la solución filtrada y se midió su absorbancia. Una vez registrados los datos y observada la constancia de ellos, se agregó 1 mL más de solución de polímero y se registró el valor de absorbancia obtenido. Este procedimiento se repitió hasta completar un volumen final de 10 mL de solución, añadiendo cada volumen con 10 minutos de diferencia entre una muestra y otra para equilibrar el sistema. Finalmente, se tomó una muestra de la solución final y se midió en el Light Scattering (DLS).



Figura 24. Sistema de Ultrafiltración (célula con agitación Amicon®) modificado.

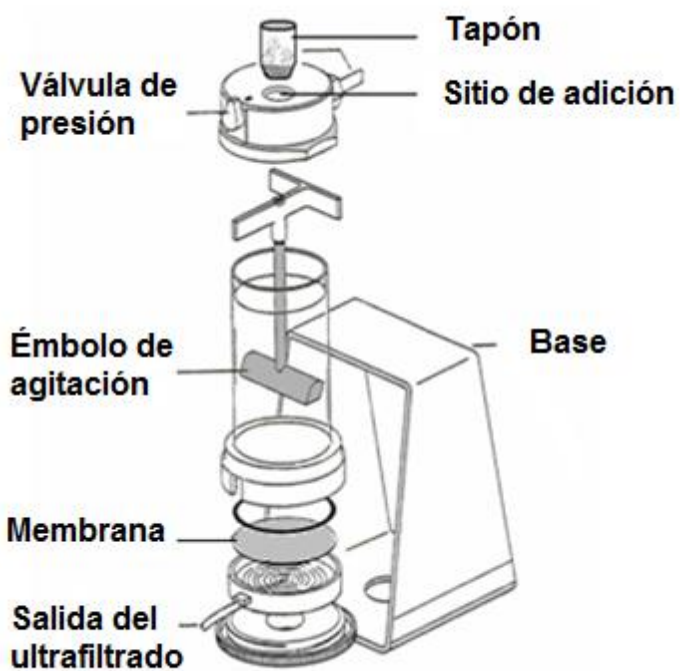


Figura 25. Esquema de componentes individuales de la celda de ultrafiltración.

3.8 Materiales y equipos: pruebas biológicas

Citotoxicidad sobre hongos patógenos vegetales

Insumos:

1. Placas Petri de plástico de 5 cm para cultivo.
2. Dextrosa de patata (PDA; DIFCO, Detroit, MI, EE.UU.)
3. Carbonato de calcio
4. Botella Pyrex de 500 mL.
5. Agar
6. Micropipeta 1000 μ L
7. Micropipeta 200 μ L
8. Micropipeta 100 μ L
9. Filtro Millipore 0,22 μ m estéril
10. Agua destilada
11. Etanol

Medios de cultivo:

Medio PDA: Se pesan 39 g de sólido y se disuelven en un litro de agua desionizada.

Equipos:

1. Congelador 4°C
2. Equipo Autoclave
3. Vórtex Dragonlab
4. Estufa de cultivo Memmert modelo 500
5. Campana de flujo laminar Labconco
6. Cámara fotográfica
7. Sacabocados de 5 mm
8. Balanza analítica BEL engineering

Obtención del hongo fitopatógenos.

Los hongos fitopatógenos *Botrytis cinerea* y *Phytophthora cinnamomi* Rands, fueron proporcionados por la Dra. Katy Díaz Peralta de la Universidad Técnica Federico Santa María. La cepa de *Botrytis cinerea* fue aislada de tejido infectado naturalmente

(*Vitis vinifera*) y se mantuvo en medio de agar de dextrosa de patata (PDA) a 4°C. El inóculo del patógeno fue cultivado en PDA bajo fotoperíodos de 16 h luz/ 8 h oscuridad a 23°C durante 3 días. El cultivo de *P. cinnamomi* se realizó en mismo medio que el utilizado para *B. cinerea*, a una temperatura de incubación de 23°C bajo régimen de oscuridad por un periodo de 6 días.

3.8.1 MÉTODO. Test de difusión (ensayo de inhibición del crecimiento micelial, *in vitro*, de hongos fitopatógenos)

Las actividades antifúngicas de los compuestos, el control negativo (C⁻) y el control positivo (C⁺, fungicida comercial Captan® para *B.cinerea* y Metalaxil® para *P.cinnamomi*) fueron evaluados utilizando la técnica de prueba de crecimiento radial en medio de PDA⁴². Todos los compuestos ensayados se disolvieron en etanol al 1% en agua, y fueron añadidos en diferentes cantidades para obtener concentraciones finales de 50, 150 y 250 mg/L en el medio PDA.

El control negativo contiene solo medio PDA que contiene etanol al 1%, mientras que el control positivo es el fungicida comercial Captan a la misma concentración especificada para los compuestos de interés, en medio PDA.

Un disco (4 mm) de micelio de 5 días de crecimiento del patógeno en medio PDA se colocó en el centro de una placa de Petri con medio PDA con o sin compuesto. Posteriormente, se incubaron en condiciones controladas de temperatura a 23°C y fotoperiodo 16 h luz / 8 h durante 72 h para *B. cinerea* y 168 hr para *P. cinnamomi*.

El porcentaje de inhibición se determinó para cada compuesto mediante la medición del halo de crecimiento del hongo en presencia del compuesto con respecto al control negativo. La evaluación se llevó a cabo a través de la medición de diámetros de crecimiento del micelio. Se calcularon los porcentajes de inhibición del crecimiento micelial para cada compuesto y se compararon con el control negativo (ecuación 3)¹¹⁸. Todos los tratamientos se realizaron de forma independiente en triplicado.

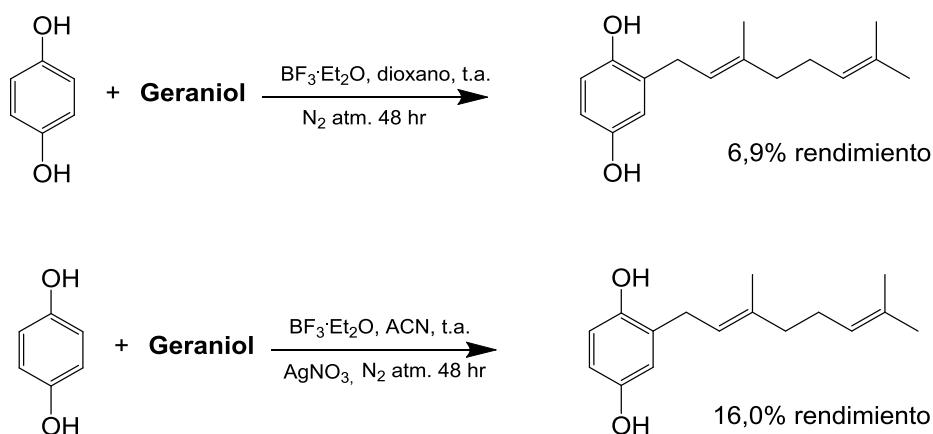
$$\text{Porcentaje de inhibición} = \frac{\text{Area del Halo control negativo (mm)} - \text{Area del Halo compuesto (mm)}}{\text{Area del Halo control negativo (mm)}} * 100 \quad (3)$$

Todos los datos se presentaron como media ± desviación estándar (media ± d.s.). Los compuestos más activos fueron seleccionados con un % de inhibición de crecimiento micelial sobre un 70%, en relación al control negativo.

CAPITULO 4 – RESULTADOS Y DISCUSIÓN

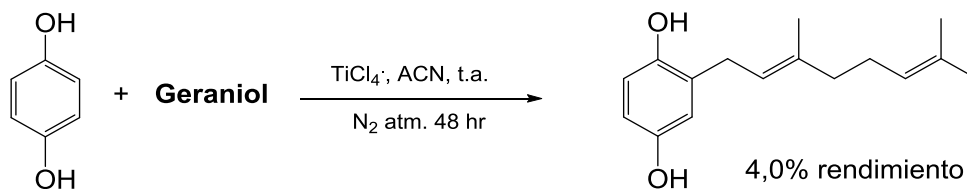
4.1 Estrategia sintética para la preparación de los compuestos geraniifenoles

De acuerdo a los antecedentes bibliográficos mencionados anteriormente, se probaron tres estrategias sintéticas para la preparación de los geraniifenoles, donde se consideró como sintón aromático la Hidroquinona. La primera opción de reacción de acoplamiento entre la Hidroquinona con Geraniol fue la reacción de Alilación de Friedel-Crafts usando como catalizador $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$, donde se obtuvo un rendimiento de reacción de un 6,9 % utilizando como solvente dioxano, y un 16,0 %, utilizando como solvente acetonitrilo y agregando además, Nitrato de Plata, como se muestra en el Esquema 28.



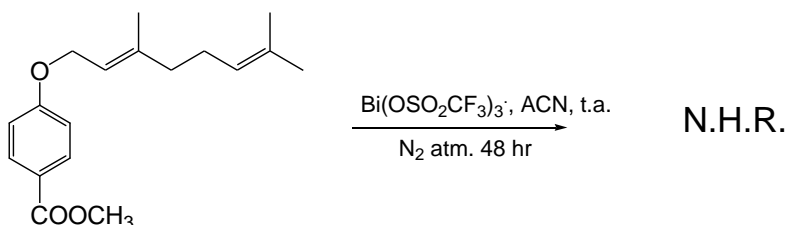
Esquema 28. Reacción de Alilación de Friedel-Crafts entre Hidroquinona y Geraniol catalizada por $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$.

La segunda reacción de acoplamiento entre la Hidroquinona con Geraniol fue la reacción de alilación de Friedel-Crafts usando como catalizador TiCl_4 , donde se obtuvo un rendimiento de reacción de un 4,0 % utilizando como solvente dioxano (Esquema 29).



Esquema 29. Reacción de Alilación de Friedel-Crafts entre Hidroquinona y Geraniol catalizada por TiCl_4 .

Otro método de acoplamiento propuesto es utilizando un fenil prenil éter ((E)-4-((4,8-dimetilnona-3,7-dien-1-il)oxi)benzoato de metilo) con el catalizador el Triflato de Bismuto ($\text{Bi}(\text{OSO}_2\text{CF}_3)_3$) en acetonitrilo como solvente, donde no ocurrió la reacción de acoplamiento (Esquema 30)¹¹⁹.



Esquema 30. Reacción de Acoplamiento entre un Fenil prenil éter y Geraniol catalizada por $\text{Bi}(\text{OSO}_2\text{CF}_3)_3$.

Basándonos en estos resultados, la reacción de acoplamiento entre los sintones aromáticos con geraniol fue la reacción de Alilación de Friedel-Crafts utilizando como catalizador $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$, y como solvente dioxano. Un segundo método también fue utilizado que corresponde a una modificación de las condiciones de reacción de la alilación de Friedel-Crafts, consistente en la adición de Nitrato de Plata y como solvente acetonitrilo.

En la mayoría de las reacciones de acoplamiento se obtuvo más de un producto de reacción (compuestos monoacoplados y diacoplados) con polaridades similares entre sí según análisis de CCF. Sin embargo, utilizando técnicas de separación por CC, con eluciones isocráticas y por gradiente de polaridades, se lograron separar en su mayoría y se obtuvieron con grados de pureza adecuados.

En la Tabla 3 se encuentra un resumen de las condiciones de síntesis y el rendimiento de cada una de las reacciones realizadas para la obtención de los treinta y cuatro geraniifenoles. Los compuestos geraniifenoles **44**, **46**, **47**, **52**, **58**, **68**, **69**, **72**, **73**, **74** y **75** son moléculas nuevas.

Tabla 3. Condiciones de síntesis y el rendimiento de reacción para la obtención de los geranilfenoles.

N° Compuesto	Catalizador	Solvente	% Rendimiento Reacción
42	BF ₃ *Et ₂ O / AgNO ₃	Acetonitrilo	4,8
43	BF ₃ *Et ₂ O / AgNO ₃	Acetonitrilo	10,7
44	BF ₃ *Et ₂ O / AgNO ₃	Acetonitrilo	0,7
45	BF ₃ *Et ₂ O / AgNO ₃	Acetonitrilo	15,0
46	BF ₃ *Et ₂ O / AgNO ₃	Acetonitrilo	2,5
47	BF ₃ *Et ₂ O / AgNO ₃	Acetonitrilo	0,4
48	BF ₃ *Et ₂ O / AgNO ₃	Acetonitrilo	27,6
49	BF ₃ *Et ₂ O / AgNO ₃	Acetonitrilo	12,5
50	BF ₃ *Et ₂ O / AgNO ₃	Acetonitrilo	9,9
51	BF ₃ *Et ₂ O / AgNO ₃	Acetonitrilo	6,1
52	BF ₃ *Et ₂ O	Dioxano	1,0
53	BF ₃ *Et ₂ O	Dioxano	5,9
54	BF ₃ *Et ₂ O / AgNO ₃	Acetonitrilo	16,0
55	BF ₃ *Et ₂ O / AgNO ₃	Acetonitrilo	4,5
56	BF ₃ *Et ₂ O / AgNO ₃	Acetonitrilo	6,3
57	BF ₃ *Et ₂ O / AgNO ₃	Acetonitrilo	0,6
58	BF ₃ *Et ₂ O / AgNO ₃	Acetonitrilo	2,1
59	BF ₃ *Et ₂ O / AgNO ₃	Acetonitrilo	7,4
60	BF ₃ *Et ₂ O / AgNO ₃	Acetonitrilo	4,2
61	BF ₃ *Et ₂ O / AgNO ₃	Acetonitrilo	18,0
62	BF ₃ *Et ₂ O / AgNO ₃	Acetonitrilo	3,1
63	BF ₃ *Et ₂ O / AgNO ₃	Acetonitrilo	0,7
64	BF ₃ *Et ₂ O	Dioxano	1,0
65	BF ₃ *Et ₂ O	Dioxano	1,2
66	BF ₃ *Et ₂ O	Dioxano	5,2
67	BF ₃ *Et ₂ O	Dioxano	13,9
68	BF ₃ *Et ₂ O	Dioxano	25,1
69	BF ₃ *Et ₂ O	Dioxano	8,6
70	BF ₃ *Et ₂ O	Dioxano	4,1
71	BF ₃ *Et ₂ O	Dioxano	16,4
72	BF ₃ *Et ₂ O	Dioxano	14,0
73	BF ₃ *Et ₂ O	Dioxano	4,3
74	BF ₃ *Et ₂ O	Dioxano	11,0
75	BF ₃ *Et ₂ O	Dioxano	4,0

4.2 Determinación Estructural de los compuestos geranilfenoles.

La estructura química de todos los compuestos nuevos obtenidos a través de la síntesis descrita anteriormente se realizó por técnicas espectroscópicas de IR, EM, y por experimentos mono- y bidimensionales de RMN (RMN ^1H , RMN ^{13}C , DEPT 135, 1D NOESY selectivo, 2D ^1H - ^{13}C HSQC, 2D ^1H - ^{13}C HMBC). La técnica bidimensional de RMN HMBC fue fundamental para determinar el éxito del acoplamiento entre el núcleo aromático y el fragmento terpénico, mientras que el experimento NOESY selectivo permitió asignar la geometría *E* del doble enlace próximo al anillo y la posición de las cadenas de geranilo en el anillo aromático. Todos los espectros de IR, EM y RMN aparecen en el Anexo.

Compuesto 44:

El compuesto **44** mostró una banda ancha de absorción IR a 3399 cm^{-1} correspondiente a la vibración del enlace O-H; bandas de absorción a 2967, 2921 y 2855 cm^{-1} de enlace C-H alcano; bandas de absorción a 1606 y 1514 cm^{-1} de enlace C=C aromático.

Del espectro EM se observó la señal de ion molecular a $m/z\ M^+ 382$ (4,5%). En el espectro de RMN ^1H se observó una sola señal aromática a $\delta_{\text{H}} = 6,67\text{ ppm}$ (s, 2H), lo que confirma el patrón de un aromático disustituido y simétrico. Las señales a $\delta_{\text{H}} = 5,38\text{ ppm}$ (s, 1H) y $5,08\text{ ppm}$ (s, 1H) corresponden a las señales asignadas a los grupos hidroxilos.

Las posiciones de las cadenas de geranilo en el anillo aromático se establecieron por experimentos selectivos unidimensionales NOESY, en donde la señal aromática $\delta_{\text{H}} = 6,67\text{ ppm}$ asignada a los H-3 y H-6 mostraron correlaciones espaciales con la señal de $5,22\text{ ppm}$ (H-2') y $3,21\text{ ppm}$ (H-1'); y la señal $\delta_{\text{H}} = 3,21\text{ ppm}$ asignada a los H-1' mostraron correlaciones espaciales con la señal de $6,67\text{ ppm}$ (H-3 y H-6) y $5,22\text{ ppm}$ (H-2') (Figura 26-A).

La confirmación del acoplamiento se desprende del análisis del espectro de bidimensional de correlación heteronuclear ^1H - ^{13}C HMBC, donde el protón H-1' se correlaciona a $^3J_{\text{H-C}}$ con las señales de carbono C-6 y C-3' a $\delta = 116,1$ y $135,9\text{ ppm}$ y a $^2J_{\text{H-C}}$ con los carbonos C-5 y C-2' a $\delta = 132,2$ y $135,9\text{ ppm}$, respectivamente. El protón aromático se correlaciona a $^3J_{\text{H-C}}$ con la señal de carbono C-1' a $\delta = 30,7\text{ ppm}$ y a $^2J_{\text{H-C}}$ con

los carbonos C-1 y C-5 a $\delta = 141,3$ y $132,2$ ppm, respectivamente. Éstas y otras correlaciones heteronucleares se muestran en la Figura 26-B.

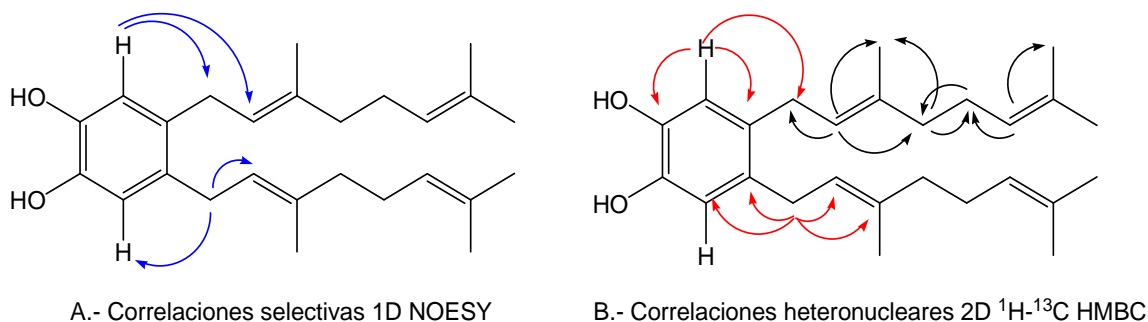


Figura 26. Principales correlaciones observadas del compuesto **44**, A) selectivas 1D NOESY; B) 2D ^1H - ^{13}C HMBC.

Compuesto 46:

El compuesto **46** mostró una banda ancha de absorción IR a 3447 cm^{-1} correspondiente a la vibración del enlace O–H; bandas de absorción a 2967 , 2915 y 2854 cm^{-1} de enlace C–H alcano; bandas de absorción a 1615 y 1500 cm^{-1} de enlace C=C aromático. Del espectro EM se observó la señal de ion molecular a $m/z\text{ }M^+ 382$ (14,6%).

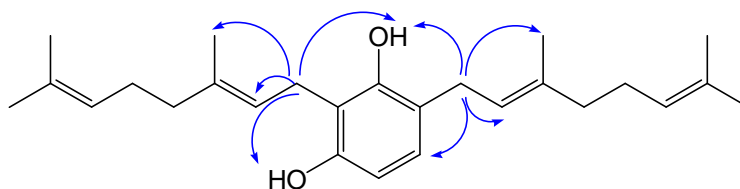
En el espectro de RMN ^1H se observaron dos señales aromáticas a $\delta_{\text{H}} = 6,83\text{ ppm}$ (d, $J = 8,2\text{ Hz}$, 1H, H-5) y $\delta_{\text{H}} = 6,36\text{ ppm}$ (d, $J = 8,2\text{ Hz}$, 1H, H-4); lo que confirma el patrón de un aromático disustituido y asimétrico. Las señales a $\delta_{\text{H}} = 5,43\text{ ppm}$ (s, 1H, OH-C1) y $5,04\text{ ppm}$ (s, 1H, OH-C3) corresponden a la señales asignadas a los grupos hidroxilos.

Las posiciones de las cadenas de geranilo en el anillo aromático se establecieron por experimentos selectivos unidimensionales NOESY (1D), en donde la señal $\delta_{\text{H}} = 3,43\text{ ppm}$ asignada al H-1" mostraron correlaciones espaciales con la señal de $5,43\text{ ppm}$ (OH-C1), $5,28\text{ ppm}$ (H-2"), $5,04\text{ ppm}$ (OH-C3) y $1,82\text{ ppm}$ ($\text{CH}_3\text{-C3}''$) y la señal $\delta_{\text{H}} = 3,29\text{ ppm}$ asignada a los H-1' mostraron correlaciones espaciales con la señal de $6,83\text{ ppm}$ (H-5), $5,43\text{ ppm}$ (OH-C1), $5,28\text{ ppm}$ (H-2') y $1,77\text{ ppm}$ ($\text{CH}_3\text{-C3}'$) (Figura 27-A).

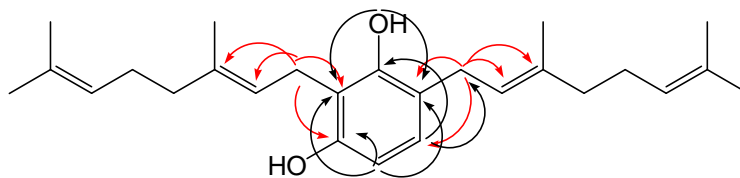
La confirmación del acoplamiento se desprende del análisis del espectro de bidimensional de correlación heteronuclear ^1H - ^{13}C HMBC, donde el protón H-1" se

correlaciona a $^3J_{H-C}$ con las señales de carbono C-3" y C-3 a $\delta = 138,6$ y $153,8$ ppm y a $^2J_{H-C}$ con los carbonos C-2 y C-2" a $\delta = 113,9$ y $121,7$ ppm, respectivamente. El protón H-1' se correlaciona a $^3J_{H-C}$ con las señales de carbono C-5, C-3' y C-1 a $\delta = 127,5$, $138,3$ y $153,4$ ppm y a $^2J_{H-C}$ con los carbonos C-6 y C-2' a $\delta = 119,1$ y $122,3$ ppm, respectivamente.

El protón aromático $\delta = 6,83$ ppm se correlaciona a $^3J_{H-C}$ con la señal de carbono C-1 a $\delta = 153,4$ ppm y C-1' a $\delta = 29,7$ ppm. El protón aromático $\delta = 6,36$ ppm se correlaciona a $^3J_{H-C}$ con la señal de carbono C-2 a $\delta = 113,9$ y C-6 a $\delta = 119,1$ ppm y a $^2J_{H-C}$ con los carbonos C-3 a $\delta = 153,8$ ppm. Éstas y otras correlaciones heteronucleares se muestran en la Figura 27-B.



A.- Correlaciones selectivas 1D NOESY



B.- Correlaciones heteronucleares 2D 1H - ^{13}C HMBC

Figura 27. Principales correlaciones observadas del compuesto **46**, A) selectivas 1D NOESY; B) 2D 1H - ^{13}C HMBC.

Compuesto 47:

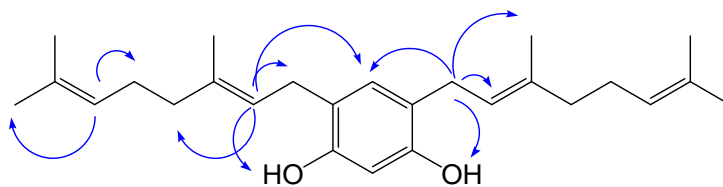
El compuesto **47** mostró una banda ancha de absorción IR a 3347 cm^{-1} correspondiente a la vibración del enlace O-H; bandas de absorción a 2967 , 2923 y 2857 cm^{-1} de enlace C-H alcano; bandas de absorción a 1620 y 1505 cm^{-1} de enlace C=C aromático. Del espectro EM se observó la señal de ion molecular a $m/z\ M^+ 382$ (20,4%).

En el espectro de RMN ^1H se observaron dos señales aromáticas a $\delta_{\text{H}} = 6,78\text{ ppm}$ (s, 1H, H-5) y $\delta_{\text{H}} = 6,33\text{ ppm}$ (s, 1H, H-2), lo que confirma el patrón de un aromático disustituido y simétrico. La señal a $\delta_{\text{H}} = 5,04\text{ ppm}$ (s, 2H, OH-C1 y C3) corresponde a la señal asignada a los grupos hidroxilos.

Las posiciones de las cadenas de geranilo en el anillo aromático se establecieron por experimentos selectivos unidimensionales NOESY (1D), en donde la señal a $\delta_{\text{H}} = 3,27\text{ ppm}$ asignada al H-1' mostraron correlaciones espaciales con la señal de $6,78\text{ ppm}$ (H-5), $5,29\text{ ppm}$ (H-2'), $5,04\text{ ppm}$ (OH-C1) y $1,78\text{ ppm}$ ($\text{CH}_3\text{-C3}'$). La señal $\delta_{\text{H}} = 5,29\text{ ppm}$ asignada a los H-2' mostraron correlaciones espaciales con la señal de $6,78\text{ ppm}$ (H-5), $3,27\text{ ppm}$ (H-1'), $2,11\text{-}2,04$ (H-4') y $1,78\text{ ppm}$ ($\text{CH}_3\text{-C3}'$). La señal $\delta_{\text{H}} = 5,05\text{ ppm}$ asignada a los H-6' mostraron correlaciones espaciales con la señal de $2,11\text{-}2,04$ (H-4') y $1,68\text{ ppm}$ (H-8') (Figura 28-A).

La confirmación del acoplamiento se desprende del análisis del espectro de bidimensional de correlación heteronuclear $^1\text{H}\text{-}^{13}\text{C}$ HMBC, donde el protón H-1' se correlaciona a $^3J_{\text{H-C}}$ con las señales de carbono C-5, C-3' y C-1 a $\delta = 130,9$; $138,2$ y $153,8\text{ ppm}$ y a $^2J_{\text{H-C}}$ con los carbonos C-6 y C-2' a $\delta = 118,7$ y $122,3\text{ ppm}$, respectivamente.

El protón aromático $\delta = 6,78\text{ ppm}$ se correlaciona a $^3J_{\text{H-C}}$ con la señal de carbono C-1' a $\delta = 29,3\text{ ppm}$ y C-1 a $\delta = 153,8\text{ ppm}$. El protón aromático $\delta = 6,33\text{ ppm}$ se correlaciona a $^3J_{\text{H-C}}$ con la señal de carbono C-6 a $\delta = 118,7$ y a $^2J_{\text{H-C}}$ con el carbono C-1 a $\delta = 153,8\text{ ppm}$. Éstas y otras correlaciones heteronucleares se muestran en la Figura 28-B.



A.- Correlaciones selectivas 1D NOESY

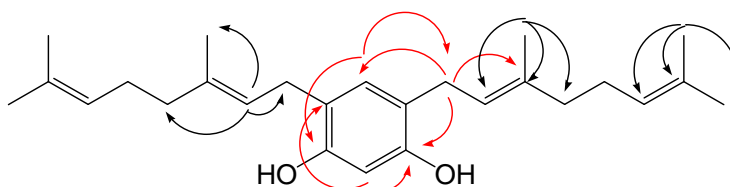
B.- Correlaciones heteronucleares 2D ^1H - ^{13}C HMBC

Figura 28. Principales correlaciones observadas del compuesto **47**, A) selectivas 1D NOESY; B) 2D ^1H - ^{13}C HMBC.

Compuesto 52:

El compuesto **52** mostró una banda ancha de absorción IR a 3389 cm^{-1} correspondiente a la vibración del enlace O-H; bandas de absorción a 2966 y 2924 cm^{-1} de enlace C-H alcano; bandas de absorción a 1627 y 1521 cm^{-1} de enlace C=C aromático. Del espectro EM se observó la señal de ion molecular a $m/z\ M^+ 262$ (39,5%).

En el espectro de RMN ^1H se observaron dos señales aromáticas a $\delta_{\text{H}} = 6,61$ ppm (s, 1H, H-6) y $\delta_{\text{H}} = 6,41$ ppm (s, 1H, H-3), lo que confirma el patrón de un aromático monosustituido. La posición de la cadena de geranilo en el anillo aromático se estableció por experimentos selectivos unidimensionales NOESY (1D), en donde la señal $\delta_{\text{H}} = 3,22$ ppm asignada al H-1' mostraron correlaciones espaciales con la señal de 6,61 ppm (H-6), 5,27 ppm (H-2') y 1,74 ppm ($\text{CH}_3\text{-C3}'$) (Figura 29-A).

La confirmación del acoplamiento se desprende del análisis del espectro de bidimensional de correlación heteronuclear ^1H - ^{13}C HMBC, donde el protón H-1' se correlaciona a $^3J_{\text{H-C}}$ con las señales de carbono C-6, C-3' y C-4 a $\delta = 116,7$; 138,3 y 148,3 ppm y a $^2J_{\text{H-C}}$ con los carbonos C-5 y C-2' a $\delta = 118,9$ y 121,9 ppm, respectivamente. El protón aromático $\delta = 6,61$ ppm se correlaciona a $^3J_{\text{H-C}}$ con las señales de carbono C-1', C-2 y C-4 a $\delta = 29,1$; 142,7 y 148,3 ppm y a $^2J_{\text{H-C}}$ con el carbono C-1 a $\delta = 136,9$ ppm. El

protón aromático $\delta = 6,41$ ppm se correlaciona a $^3J_{H-C}$ con las señales de carbono C-5 y C-1 a $\delta = 118,9$ y $136,9$ ppm y a $^2J_{H-C}$ con el carbono C-2 y C-4 a $\delta = 142,7$ y $148,3$ ppm. Éstas y otras correlaciones heteronucleares se muestran en la Figura 29-B.

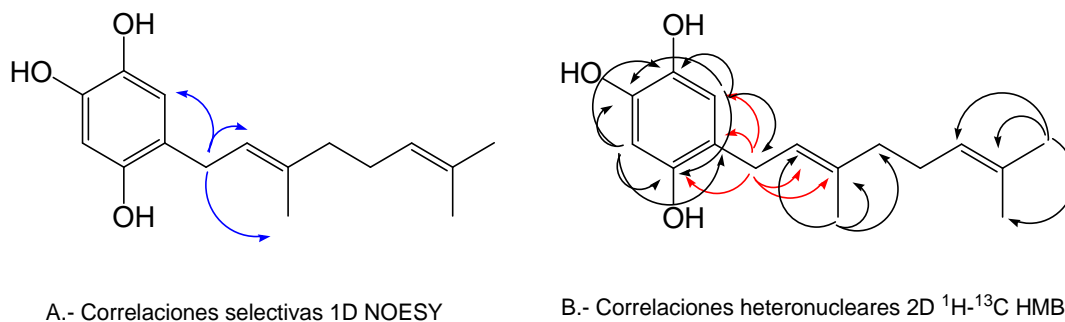


Figura 29. Principales correlaciones observadas del compuesto **52**, A) selectivas 1D NOESY; B) 2D 1H - ^{13}C HMBC.

Compuesto 53:

El compuesto **53** mostró una banda ancha de absorción IR a 3420 cm^{-1} correspondiente a la vibración del enlace O-H; bandas de absorción a 2965 , 2924 y 2852 cm^{-1} de enlace C-H alcano; bandas de absorción a 1603 y 1520 cm^{-1} de enlace C=C aromático. Del espectro EM se observó la señal de ion molecular a $m/z\ M^+ 276$ (39,5%).

En el espectro de RMN 1H se observaron dos señales aromáticas a $\delta_H = 6,67$ ppm (s, 1H, H-3) y $\delta_H = 6,43$ ppm (s, 1H, H-6), lo que confirma el patrón de un aromático monosustituido. La señal a $\delta_H = 5,15$ y $4,87$ ppm (s, 1H, OH-C4 y C1) corresponde a las señales asignadas a los grupos hidroxilos y la señal a $\delta_H = 3,83$ ppm (s, 3H, \underline{CH}_3O) corresponde a la señal asignada al grupo metilo.

La confirmación del acoplamiento se desprende del análisis del espectro de bidimensional de correlación heteronuclear 1H - ^{13}C HMBC, donde el protón H-1' se correlaciona a $^3J_{H-C}$ con las señales de carbono C-1, C-3 y C-3' a $\delta = 147,6$; $115,3$ y $139,2$ ppm y a $^2J_{H-C}$ con los carbonos C-2 y C-2' a $\delta = 118,5$ y $121,8$ ppm, respectivamente. La señal a $\delta = 5,15$ (OH-C4) ppm se correlaciona a $^3J_{H-C}$ con la señal de carbono C-3 a $\delta = 115,3$ y la señal a $\delta = 3,83$ (\underline{CH}_3O) se correlaciona a $^3J_{H-C}$ con el carbono C-5 a $\delta = 145,4$ ppm. Éstas y otras correlaciones heteronucleares se muestran en la Figura 30.

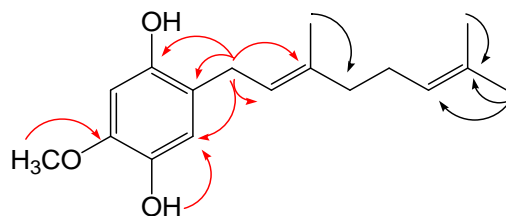


Figura 30. Principales correlaciones observadas del compuesto **53** 2D ^1H - ^{13}C HMBC.

Compuesto 58:

El compuesto **58** mostró una banda ancha de absorción IR a 3552 cm^{-1} correspondiente a la vibración del enlace O–H; bandas de absorción a 2965 , 2915 y 2854 cm^{-1} de enlace C–H alcano; bandas de absorción a 1592 y 1509 cm^{-1} de enlace C=C aromático. Del espectro EM se observó la señal de ion molecular a $m/z\text{ M}^+ 396$ (7,4%).

En el espectro de RMN ^1H se observaron dos señales aromáticas a $\delta_{\text{H}} = 6,74\text{ ppm}$ (s, 1H, H-6) y $\delta_{\text{H}} = 6,67\text{ ppm}$ (s, 1H, H-3), lo que confirma el patrón de un aromático disustituido y asimétrico. La señal a $\delta_{\text{H}} = 5,39\text{ ppm}$ (s, 1H, OH-C1) corresponde a la señal asignada al grupo hidroxilo y la señal a $\delta_{\text{H}} = 3,84\text{ ppm}$ (s, 3H, CH_3O) corresponde a la señal asignada al grupo metoxilo.

Las posiciones de las cadenas de geranilo en el anillo aromático se establecieron por experimentos selectivos unidimensionales NOESY (1D), en donde la señal $\delta_{\text{H}} = 3,23\text{ ppm}$ asignada al H-1' mostraron correlaciones espaciales con la señal de $6,74\text{ ppm}$ (H-6), y la señal $\delta_{\text{H}} = 3,26\text{ ppm}$ (H-2') mostraron correlaciones espaciales con $6,67\text{ ppm}$ (H-3), $5,24\text{ ppm}$ (H-2'') y $1,70\text{ ppm}$ ($\text{CH}_3\text{-C3}'$). La señal $\delta_{\text{H}} = 3,84\text{ ppm}$ asignada a los CH_3O mostraron correlaciones espaciales con la señal de $6,67\text{ ppm}$ (H-3) (Figura 31-A).

La confirmación del acoplamiento se desprende del análisis del espectro de bidimensional de correlación heteronuclear ^1H - ^{13}C HMBC, donde el protón H-1' se correlaciona a $^3J_{\text{H-C}}$ con las señales de carbono C-6, C-4 y C-3' a $\delta = 115,2$; $132,5$ y $135,8\text{ ppm}$ y a $^2J_{\text{H-C}}$ con el carbono C-2' a $\delta = 122,9\text{ ppm}$, respectivamente.

El protón H-1' se correlaciona a $^3J_{\text{H-C}}$ con las señales de carbono C-3, C-4 y C-3' a $\delta = 111,8$; $132,5$ y $135,8\text{ ppm}$ y a $^2J_{\text{H-C}}$ con el carbono C-2' a $\delta = 123,3\text{ ppm}$, respectivamente. El protón aromático $\delta = 6,74\text{ ppm}$ se correlaciona a $^3J_{\text{H-C}}$ con la señal de carbono C-1' a $\delta = 30,8\text{ ppm}$ y C-2 a $\delta = 144,5\text{ ppm}$; y a $^2J_{\text{H-C}}$ con el carbono C-5 a $\delta = 131,0\text{ ppm}$. El protón

aromático $\delta = 6,67$ ppm se correlaciona a $^3J_{H-C}$ con la señal de carbono C-1" a $\delta = 31,2$ ppm y C-1 a $\delta = 143,5$ ppm; y a $^2J_{H-C}$ con el carbono C-4 a $\delta = 132,5$ ppm. Éstas y otras correlaciones heteronucleares se muestran en la Figura 31-B.

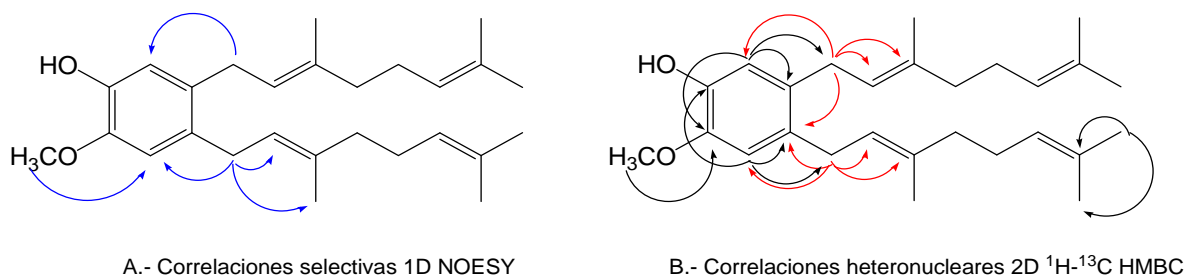


Figura 31. Principales correlaciones observadas del compuesto **58**, A) selectivas 1D NOESY; B) 2D 1H - ^{13}C HMBC.

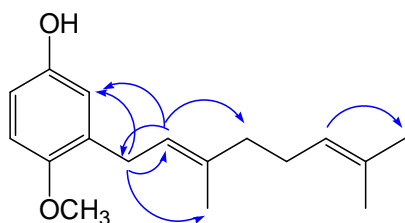
Compuesto 62:

El compuesto **62** mostró una banda ancha de absorción IR a 3396 cm^{-1} correspondiente a la vibración del enlace O-H; bandas de absorción a 2966 , 2915 y 2854 cm^{-1} de enlace C-H alcano; bandas de absorción a 1598 y 1499 cm^{-1} de enlace C=C aromático. Del espectro EM se observó la señal de ion molecular a $m/z\ M^+ 260$ (58,1%).

En el espectro de RMN 1H se observaron tres señales aromáticas a $\delta_H = 6,71$ ppm (d, $J = 8,5$ Hz, 1H, H-5), $\delta_H = 6,65$ (d, $J = 2,4$ Hz, 1H, H-2); y $\delta_H = 6,61$ (dd, $J = 8,5-2,4$ Hz, 1H, H-6); lo que confirma el patrón de un aromático monosustituido.

La señal a $\delta_H = 4,44$ ppm (s, 1H, OH) corresponde a la señal asignada al grupo hidroxilo y la señal a $\delta_H = 3,78$ ppm (s, 3H, \underline{CH}_3O) corresponde a la señal asignada al grupo metoxilo. La posición de la cadena de geranilo en el anillo aromático se estableció por experimentos selectivos unidimensionales NOESY (1D), en donde la señal $\delta_H = 3,29$ ppm asignada al H-1' mostraron correlaciones espaciales con la señal de $6,65$ ppm (H-2), $5,29$ ppm (H-2') y $1,69$ ppm (\underline{CH}_3 -C3'). La señal $\delta_H = 5,29$ ppm asignada al H-2' mostraron correlaciones espaciales con la señal de $6,65$ ppm (H-2), $3,29$ ppm (H-1') y $2,09$ ppm (H-4'). La señal $\delta_H = 5,11$ ppm asignada al H-6' mostraron correlaciones espaciales con la señal de $2,13$ ppm (H-5') y $1,60$ (\underline{CH}_3 -C7') (Figura 32-A).

La confirmación del acoplamiento se desprende del análisis del espectro de bidimensional de correlación heteronuclear ^1H - ^{13}C HMBC, donde el protón H-1' se correlaciona a $^3J_{\text{H-C}}$ con las señales de carbono C-2, C-3' y C-4 a $\delta = 116,6$; 136,5 y 151,6 ppm y a $^2J_{\text{H-C}}$ con los carbonos C-2' y C-3 a $\delta = 121,9$ y 131,3 ppm, respectivamente. El protón aromático $\delta = 6,71$ ppm se correlaciona a $^3J_{\text{H-C}}$ con las señales de carbono C-1, y C-3 a $\delta = 131,1$ y 149,2 ppm. El protón aromático $\delta = 6,61$ ppm se correlaciona a $^3J_{\text{H-C}}$ con las señales de carbono C-4 a $\delta = 151,6$ ppm. Éstas y otras correlaciones heteronucleares se muestran en la Figura 32-B.



A.- Correlaciones selectivas 1D NOESY

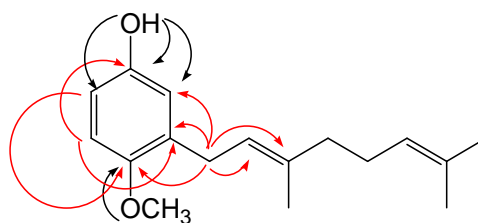
B.- Correlaciones heteronucleares 2D ^1H - ^{13}C HMBC

Figura 32. Principales correlaciones observadas del compuesto **62**, A) selectivas 1D NOESY; B) 2D ^1H - ^{13}C HMBC.

Compuesto 63:

El compuesto **63** mostró una banda ancha de absorción IR a 3390 cm^{-1} correspondiente a la vibración del enlace O-H; bandas de absorción a 2967, 2923 y 2852 cm^{-1} de enlace C-H alcano; bandas de absorción a 1595 y 1508 cm^{-1} de enlace C=C aromático.

En el espectro de RMN ^1H se observaron dos señales aromáticas a $\delta_{\text{H}} = 6,81$ ppm (d, $J = 8,8$ Hz, 2H, H-2 y H-6) y $\delta_{\text{H}} = 6,75$ (d, $J = 8,9$ Hz, 2H, H-3 y H-5), lo que confirma el patrón de un aromático monosustituido. La señal a $\delta_{\text{H}} = 4,46$ ppm (s, 1H, OH) corresponde a la señal asignada al grupo hidroxilo.

La posición de la cadena de geranilo en el anillo aromático se estableció por experimentos selectivos unidimensionales NOESY (1D), en donde la señal $\delta_{\text{H}} = 5,48$ ppm asignada al H-2' mostraron correlaciones espaciales con la señal de 4,48 ppm (H-1') y

2,09 ppm (H-4'). La señal $\delta_{\text{H}} = 5,09$ ppm asignada al H-6' mostraron correlaciones espaciales con la señal de 2,09 ppm (H-5') y 1,68 ppm (H-8') (Figura 33-A).

La confirmación del acoplamiento se desprende del análisis del espectro de bidimensional de correlación heteronuclear $^1\text{H}-^{13}\text{C}$ HMBC, donde el protón H-1' se correlaciona a $^3J_{\text{H-C}}$ con las señales de carbono C-3' y C-4 a $\delta = 140,9$ y $153,1$ ppm y a $^2J_{\text{H-C}}$ con el carbono C-2' a $\delta = 119,8$ ppm, respectivamente. El protón aromático $\delta = 6,81$ ppm se correlaciona a $^2J_{\text{H-C}}$ con las señales de carbono C-1, y C-3 a $\delta = 149,4$ y $115,9$ ppm. El protón aromático $\delta = 6,75$ ppm se correlaciona a $^2J_{\text{H-C}}$ con la señal de carbono C-4 a $\delta = 153,1$ ppm. Éstas y otras correlaciones heteronucleares se muestran en la Figura 33-B.

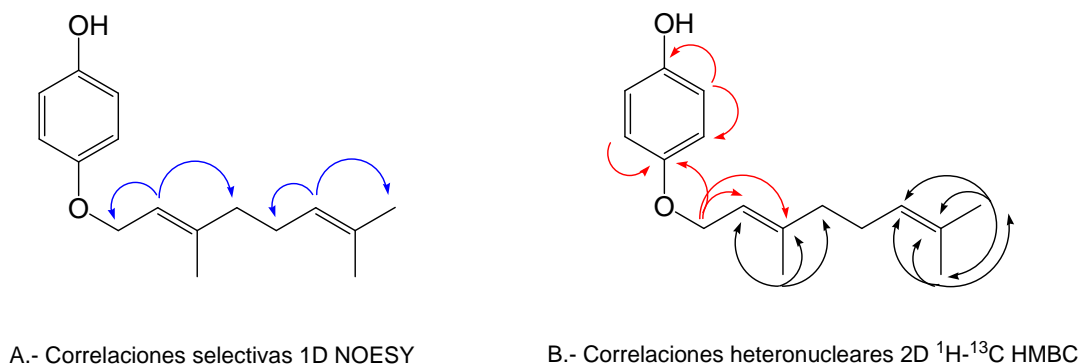


Figura 33. Principales correlaciones observadas del compuesto **63**, A) selectivas 1D NOESY; B) 2D $^1\text{H}-^{13}\text{C}$ HMBC.

Compuesto 64:

El compuesto **64** mostró una banda ancha de absorción IR a 3556 cm^{-1} correspondiente a la vibración del enlace O-H; bandas de absorción a 2964 , 2919 y 2854 cm^{-1} de enlace C-H alcano; bandas de absorción a 1612 y 1497 cm^{-1} de enlace C=C aromático. Del espectro EM se observó la señal de ion molecular a $m/z\text{ M}^+ 290$ (100%).

En el espectro de RMN ^1H se observaron dos señales aromáticas a $\delta_{\text{H}} = 6,36$ ppm (d, $J = 2,6$ Hz, 1H, H-5) y $\delta_{\text{H}} = 6,30$ (d, $J = 2,6$ Hz, 1H, H-3), lo que confirma el patrón de un aromático monosustituido. La señal a $\delta_{\text{H}} = 5,28$ ppm (s, 1H, OH) corresponde a la señal asignada al grupo hidroxilo y las señales a $\delta_{\text{H}} = 3,86$ ppm (s, 3H, $\text{CH}_3\text{O-C6}$) y $\delta_{\text{H}} = 3,75$ ppm (s, 3H, $\text{CH}_3\text{O-C4}$) corresponde a las señales asignada a los grupos metoxilos.

La confirmación del acoplamiento se desprende del análisis del espectro de bidimensional de correlación heteronuclear ^1H - ^{13}C HMBC, donde el protón H-1' se correlaciona a $^3J_{\text{H-C}}$ con las señales de carbono C-3 y C-3' a $\delta = 105,5$ y $136,5$ ppm y a $^2J_{\text{H-C}}$ con los carbonos C-2 y C-2' a $\delta = 127,5$ y $121,9$ ppm, respectivamente.

El protón aromático $\delta = 6,36$ ppm se correlaciona a $^3J_{\text{H-C}}$ con las señales de carbono C-1, y C-3 a $\delta = 137,4$ y $105,5$ ppm y correlaciona a $^2J_{\text{H-C}}$ con la señal de carbono C-4 a $\delta = 152,9$ ppm, respectivamente. El protón aromático $\delta = 6,30$ ppm se correlaciona a $^3J_{\text{H-C}}$ con las señales de carbonos C-5, C-1' y C-4 a $\delta = 96,7$, $28,1$ y $137,4$ ppm, respectivamente. Éstas y otras correlaciones heteronucleares se muestran en la Figura 34.

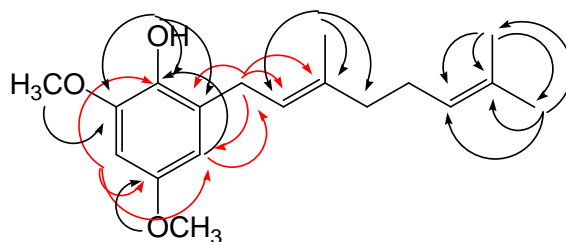


Figura 34. Principales correlaciones observadas heteronucleares 2D ^1H - ^{13}C HMBC del compuesto **64**.

Compuesto 65:

El compuesto **65** mostró una banda ancha de absorción IR a 3556 cm^{-1} correspondiente a la vibración del enlace O-H; bandas de absorción a 2965 , 2925 y 2854 cm^{-1} de enlace C-H alcano; bandas de absorción a 1616 y 1485 cm^{-1} de enlace C=C aromático. Del espectro EM se observó la señal de ion molecular a $m/z\ M^+ 426$ (74,2 %).

En el espectro de RMN ^1H se observó una sola señal de un hidrógeno aromático a $\delta_{\text{H}} = 6,42$ ppm (s, 1H), lo que confirma el patrón de un aromático disustituido. La señal a $\delta_{\text{H}} = 5,31$ ppm (s, 1H) corresponde a la señal asignada al grupo hidroxilo y las señales a $\delta_{\text{H}} = 3,87$ ppm (s, 3H, $\text{CH}_3\text{O-C6}$) y $\delta_{\text{H}} = 3,77$ ppm (s, 3H, $\text{CH}_3\text{O-C4}$) corresponden a las señales asignada a los grupos metoxilos.

Las posiciones de las cadenas de geranilo en el anillo aromático se establecieron por experimentos selectivos unidimensionales NOESY (1D), en donde la señal $\delta_{\text{H}} = 3,31$ ppm asignada al H-1" mostraron correlaciones espaciales con la señal $\delta_{\text{H}} = 3,39$ ppm (H-

1'); 3,37 (CH₃O-C4) y 1,74 ppm (CH₃-C3"). La señal $\delta_H = 3,39$ ppm asignada al H-1' mostraron correlaciones espaciales con la señal $\delta_H = 5,31$ ppm (OH); 3,39 ppm (H-1') y 1,76 ppm (CH₃-C3'). La disustitución aromática orto de ambas cadenas geranilo se confirmó por la observación de la interacción espacial entre NOE del hidrógeno H-1' y H-1" (Figura 35-A).

La confirmación del acoplamiento se desprende del análisis del espectro de bidimensional de correlación heteronuclear ¹H-¹³C HMBC, donde el protón H-1" se correlaciona a ³J_{H-C} con las señales de carbono C-2, C-3" y C-4 a $\delta = 127,3; 134,4$ y $150,7$ ppm y a ²J_{H-C} con los carbonos C-3 y C-2" a $\delta = 122,1$ y $122,8$ ppm, respectivamente. El protón H-1' se correlaciona a ³J_{H-C} con las señales de carbono C-3, C-3' y C-1 a $\delta = 122,1; 135,2$ y $137,9$ ppm y a ²J_{H-C} con los carbonos C-2' y C-2 a $\delta = 123,8$ y $127,3$ ppm, respectivamente. El protón aromático $\delta = 6,42$ ppm se correlaciona a ³J_{H-C} con las señales de carbono C-3, y C-1 a $\delta = 122,1$ y $137,9$ ppm y correlaciona a ²J_{H-C} con la señal de carbono C-6 y C-4 a $\delta = 144,4$ y $150,7$ ppm, respectivamente. Éstas y otras correlaciones heteronucleares se muestran en la Figura 35-B.

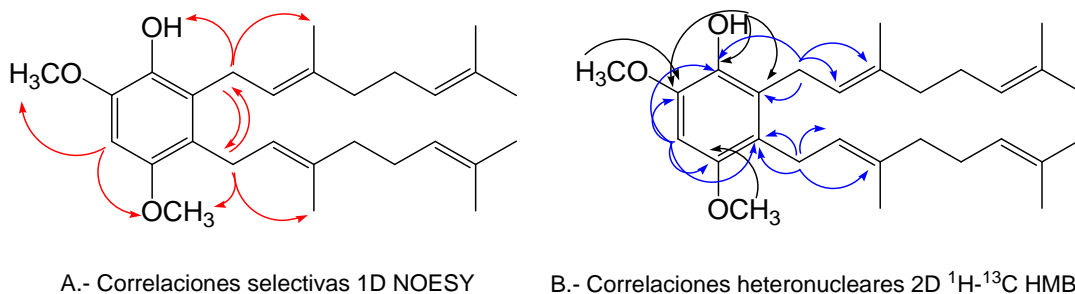


Figura 35. Principales correlaciones observadas del compuesto **65**, A) selectivas 1D NOESY; B) 2D ¹H-¹³C HMBC.

Compuesto 68:

El compuesto **68** mostró una banda ancha de absorción IR a 3422 cm^{-1} correspondiente a la vibración del enlace O-H; bandas de absorción a $2966, 2928$ y 2852 cm^{-1} de enlace C-H alcano; bandas de absorción a 1597 y 1493 cm^{-1} de enlace C=C aromático. Del espectro EM se observó la señal de ion molecular a $m/z\ M^+ 290$ (54,7 %).

En el espectro de RMN ^1H se observaron dos señales aromáticas a $\delta_{\text{H}} = 6,79$ ppm (d, $J = 8,5$ Hz, 1H, H-5) y $\delta_{\text{H}} = 6,41$ (d, $J = 8,5$ Hz, 1H, H-4), lo que confirma el patrón de un aromático monosustituido. La señal a $\delta_{\text{H}} = 5,88$ ppm (s, 1H, OH) corresponde a la señal asignada al grupo hidroxilo y las señales a $\delta_{\text{H}} = 3,90$ ppm (s, 3H, $\text{CH}_3\text{O-C6}$) y $\delta_{\text{H}} = 3,84$ ppm (s, 3H, $\text{CH}_3\text{O-C5}$) corresponde a las señales asignada a los grupos metoxilos.

Las posiciones de las cadenas de geranilo en el anillo aromático se establecieron por experimentos selectivos unidimensionales NOESY (1D), en donde la señal $\delta_{\text{H}} = 3,30$ ppm asignada al H-1' mostraron correlaciones espaciales con la señal $\delta_{\text{H}} = 6,79$ ppm (H-5); 5,88 ppm (OH-C1); 5,32 ppm (H-2') y 1,71 ppm ($\text{CH}_3\text{-C3'}$). La señal $\delta_{\text{H}} = 5,12$ ppm asignada al H-6' mostraron correlaciones espaciales con la señal $\delta_{\text{H}} = 2,05$ ppm (H-4') y 1,69 ppm (H-8') (Figura 36-A).

La confirmación del acoplamiento se desprende del análisis del espectro de bidimensional de correlación heteronuclear $^1\text{H}\text{-}^{13}\text{C}$ HMBC, donde el protón H-1' se correlaciona a $^3J_{\text{H-C}}$ con las señales de carbono C-1, C-5 y C-3' a $\delta = 147,2$; 123,5 y 136,2 ppm y a $^2J_{\text{H-C}}$ con los carbonos C-6 y C-2' a $\delta = 120,7$ y 122,2 ppm, respectivamente. Éstas y otras correlaciones heteronucleares se muestran en la Figura 36-B.

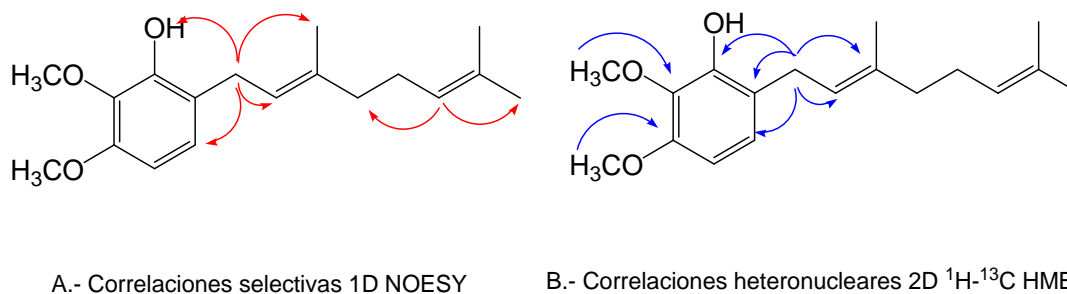


Figura 36. Principales correlaciones observadas del compuesto **68**, A) selectivas 1D NOESY; B) 2D $^1\text{H}\text{-}^{13}\text{C}$ HMBC.

Compuesto 69:

El compuesto **69** mostró una banda ancha de absorción IR a 3522 cm^{-1} correspondiente a la vibración del enlace O-H; bandas de absorción a 2960, 2926 y 2849 cm^{-1} de enlace C-H alcano; bandas de absorción a 1617 y 1505 cm^{-1} de enlace C=C aromático. Del espectro EM se observó la señal de ion molecular a $m/z\text{ M}^+ 290$ (11,6 %).

En el espectro de RMN ^1H se observaron dos señales aromáticas a $\delta_{\text{H}} = 6,78$ ppm (d, $J = 8,4$ Hz, 1H, H-5) y $\delta_{\text{H}} = 6,65$ (d, $J = 8,4$ Hz, 1H, H-6), lo que confirma el patrón de un aromático monosustituido. La señal a $\delta_{\text{H}} = 5,61$ ppm (s, 1H, OH) corresponde a la señal asignada al grupo hidroxilo y las señales a $\delta_{\text{H}} = 3,92$ ppm (s, 3H, $\text{CH}_3\text{O-C2}$) y $\delta_{\text{H}} = 3,83$ ppm (s, 3H, $\text{CH}_3\text{O-C3}$) corresponde a las señales asignada a los grupos metoxilos.

Las posiciones de las cadenas de geranilo en el anillo aromático se establecieron por experimentos selectivos unidimensionales NOESY (1D), en donde la señal $\delta_{\text{H}} = 3,27$ ppm asignada al H-1' mostraron correlaciones espaciales con la señal $\delta_{\text{H}} = 6,78$ ppm (H-5); 5,25 ppm (H-2'); 3,83 ppm ($\text{CH}_3\text{O-C3}$) y 1,71 ppm ($\text{CH}_3\text{-C3'}$). La señal $\delta_{\text{H}} = 5,10$ ppm asignada al H-6' mostraron correlaciones espaciales con la señal $\delta_{\text{H}} = 2,05$ ppm (H-4') y 1,69 ppm (H-8') (Figura 37-A).

La confirmación del acoplamiento se desprende del análisis del espectro de bidimensional de correlación heteronuclear $^1\text{H}-^{13}\text{C}$ HMBC, donde el protón H-1' se correlaciona a $^3J_{\text{H-C}}$ con las señales de carbono C-3, C-5 y C-3' a $\delta = 139,7$; 124,2 y 135,8 ppm y a $^2J_{\text{H-C}}$ con los carbonos C-4 y C-2' a $\delta = 126,9$ y 123,1 ppm, respectivamente. Éstas y otras correlaciones heteronucleares se muestran en la Figura 37-B.

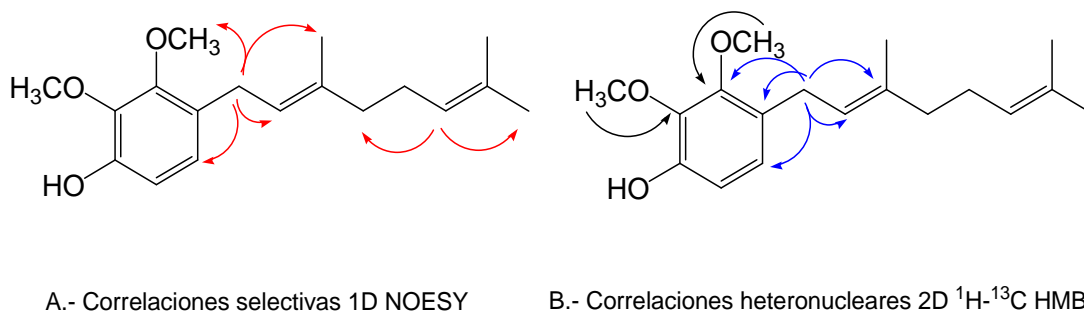


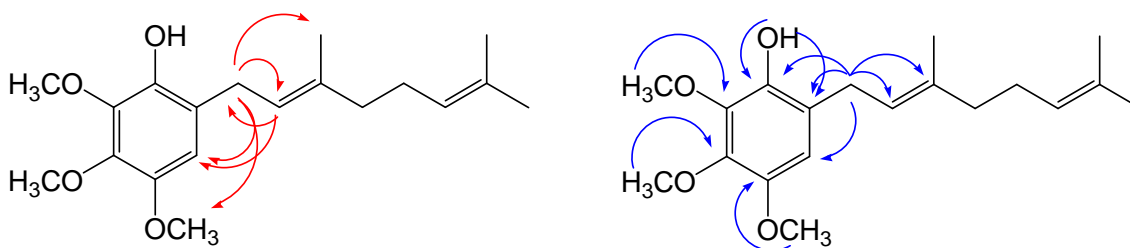
Figura 37. Principales correlaciones observadas del compuesto **69**, A) selectivas 1D NOESY; B) 2D $^1\text{H}-^{13}\text{C}$ HMBC.

Compuesto 70:

El compuesto **70** mostró una banda ancha de absorción IR a 3446 cm^{-1} correspondiente a la vibración del enlace O-H; banda de absorción a 2966 cm^{-1} de enlace C-H alcano; bandas de absorción a 1467 cm^{-1} de enlace C=C aromático. Del espectro EM se observó la señal de ion molecular a $m/z\text{ M}^+ 320$ (70,7%).

En el espectro de RMN ^1H se observaron una señal aromática a $\delta_{\text{H}} = 6,44$ ppm (s, 1H, H-5), lo que confirma el patrón de un aromático monosustituido. La señal a $\delta_{\text{H}} = 5,47$ ppm (s, 1H) corresponde a la señal asignada al grupo hidroxilo. Las señales a $\delta_{\text{H}} = 3,95$ ppm (s, 3H, $\text{CH}_3\text{O-C2}$); 3,87 ppm (s, 3H, $\text{CH}_3\text{O-C3}$) y 3,79 ppm (s, 3H, $\text{CH}_3\text{O-C4}$) corresponden a las señales asignadas a los grupos metoxilos. La posición de la cadena de geranilo en el anillo aromático se estableció por experimentos selectivos unidimensionales NOESY (1D), en donde la señal $\delta_{\text{H}} = 3,31$ ppm asignada al H-1' mostraron correlaciones espaciales con la señal de 1,72 ppm ($\text{CH}_3\text{-C3'}$); 3,79 ($\text{CH}_3\text{O-C4}$); 5,32 (H-2') y 6,44 ppm (H-5). La señal $\delta_{\text{H}} = 5,32$ ppm asignada al protón H-2' mostraron correlaciones espaciales con la señal de 6,44 ppm (H-5) y 3,31 ppm (H-1') (Figura 38-A).

La confirmación del acoplamiento se desprende del análisis del espectro de bidimensional de correlación heteronuclear $^1\text{H}-^{13}\text{C}$ HMBC, donde el protón H-1' se correlaciona a $^3J_{\text{H-C}}$ con las señales de carbono C-5, C-3' y C-1 a $\delta = 108,2$; 136,6 y 140,8 ppm y a $^2J_{\text{H-C}}$ con el carbono C-2' y C-6 a $\delta = 122,0$ y 121,6 ppm, respectivamente. El protón aromático $\delta = 6,44$ ppm se correlaciona a $^2J_{\text{H-C}}$ con la señal de carbono C-4 a $\delta = 146,1$ ppm. El protón aromático $\delta = 6,44$ ppm se correlaciona a $^3J_{\text{H-C}}$ con las señales de carbono C-1' y C-1 a $\delta = 27,9$ y 140,8 ppm, respectivamente. La señal $\delta = 5,47$ ppm (asignada a OH) se correlaciona a $^2J_{\text{H-C}}$ con la señal de carbono C-1 a $\delta = 140,8$ ppm y a $^3J_{\text{H-C}}$ con el carbono C-6 a $\delta = 121,6$ ppm. Éstas y otras correlaciones heteronucleares se muestran en la Figura 38-B.



A.- Correlaciones selectivas 1D NOESY

B.- Correlaciones heteronucleares 2D $^1\text{H}-^{13}\text{C}$ HMBC

Figura 38. Principales correlaciones observadas del compuesto **70**, A) selectivas 1D NOESY; B) 2D $^1\text{H}-^{13}\text{C}$ HMBC.

Compuesto 71:

El compuesto **71** mostró una banda ancha de absorción IR a 3421 cm^{-1} correspondiente a la vibración del enlace O–H; bandas de absorción a 2967, 2933 y 2854 cm^{-1} de enlace C-H alcano; bandas de absorción a 1590 y 1487 cm^{-1} de enlace C=C aromático. Del espectro EM se observó la señal de ion molecular a $m/z\ M^+ 320$ (100%).

En el espectro de RMN ^1H se observaron una señal aromática a $\delta_{\text{H}} = 6,50$ ppm (s, 1H, H-6), lo que confirma el patrón de un aromático monosustituido. La señal a $\delta_{\text{H}} = 5,46$ ppm (s, 1H) corresponde a la señal asignada al grupo hidroxilo. Las señales a $\delta_{\text{H}} = 3,93$ ppm (s, 3H, $\text{CH}_3\text{O-C3}$); 3,92 ppm (s, 3H, $\text{CH}_3\text{O-C2}$) y 3,78 ppm (s, 3H, $\text{CH}_3\text{O-C4}$) corresponden a las señales asignadas a los grupos metoxilos.

La posición de la cadena de geranilo en el anillo aromático se estableció por experimentos selectivos unidimensionales NOESY (1D), en donde la señal $\delta_{\text{H}} = 3,27$ ppm asignada al H-1' mostraron correlaciones espaciales con la señal de 1,70 ppm ($\text{CH}_3\text{-C3}'$); 3,78 ppm ($\text{CH}_3\text{O-C4}$); 5,25 (H-2') y 6,50 ppm (H-6). La señal $\delta_{\text{H}} = 5,46$ ppm asignada al grupo OH mostraron correlaciones espaciales con la señal de 3,93 ppm ($\text{CH}_3\text{O-C3}$) y 6,50 ppm (H-6) (Figura 39-A).

La confirmación del acoplamiento se desprende del análisis del espectro de bidimensional de correlación heteronuclear $^1\text{H}\text{-}^{13}\text{C}$ HMBC, donde el protón H-1' se correlaciona a $^3J_{\text{H-C}}$ con las señales de carbono C-6, C-3' y C-4 a $\delta = 109,5$; 136,2 y 144,9 ppm y a $^2J_{\text{H-C}}$ con el carbono C-2' y C-5 a $\delta = 122,5$ y 130,6 ppm, respectivamente. El protón aromático $\delta = 6,50$ ppm se correlaciona a $^2J_{\text{H-C}}$ con las señales de carbono C-1, y C-3 a $\delta = 149,4$ y 115,9 ppm. El protón aromático $\delta = 6,50$ ppm se correlaciona a $^3J_{\text{H-C}}$ con las señales de carbono C-1', C-2 y C-4 a $\delta = 27,8$; 138,0 y 144,9 ppm, respectivamente. La señal $\delta = 5,46$ ppm (asignada a OH) se correlaciona a $^3J_{\text{H-C}}$ con las señales de carbono C-6 y C-2 a $\delta = 109,5$ y 138,0 ppm y a $^2J_{\text{H-C}}$ con el carbono C-1 a $\delta = 144,5$ ppm, respectivamente. Éstas y otras correlaciones heteronucleares se muestran en la Figura 39-B.

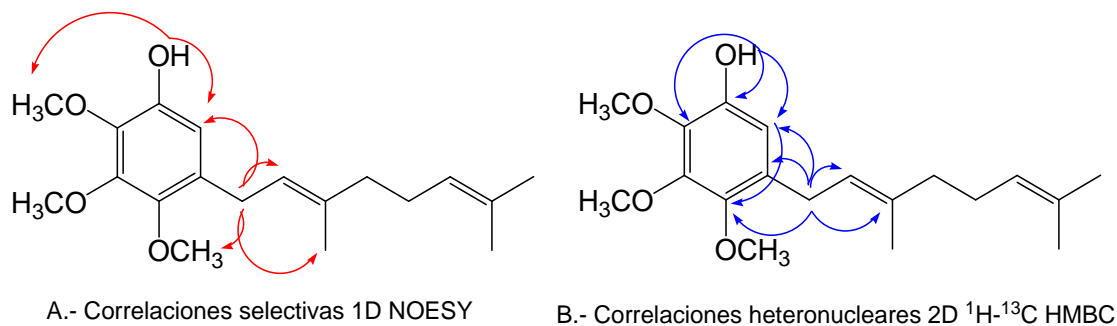


Figura 39. Principales correlaciones observadas del compuesto **71**, A) selectivas 1D NOESY; B) 2D ^1H - ^{13}C HMBC.

Compuesto 72:

El compuesto **72** mostró una banda ancha de absorción IR a 3447 cm^{-1} correspondiente a la vibración del enlace O-H; bandas de absorción a 2965 , 2929 y 2838 cm^{-1} de enlace C-H alcano; bandas de absorción a 1615 y 1500 cm^{-1} de enlace C=C aromático. Del espectro EM se observó la señal de ion molecular a $m/z\ M^+ 320$ (77,3%).

En el espectro de RMN ^1H se observaron una señal aromática a $\delta_{\text{H}} = 6,32\text{ ppm}$ (s, 1H, H-5), lo que confirma el patrón de un aromático monosustituido. La señal a $\delta_{\text{H}} = 5,15\text{ ppm}$ (s, 1H) corresponde a la señal asignada al grupo hidroxilo. Las señales a $\delta_{\text{H}} = 3,88\text{ ppm}$ (s, 3H, $\text{CH}_3\text{O-C6}$); $3,83\text{ ppm}$ (s, 3H, $\text{CH}_3\text{O-C2}$) y $3,78\text{ ppm}$ (s, 3H, $\text{CH}_3\text{O-C4}$) corresponden a las señales asignadas a los grupos metoxilos.

Sólo hay una posibilidad de monosustitución en el anillo aromático y esto se refleja en el espectro de bidimensional de correlación heteronuclear ^1H - ^{13}C HMBC, donde el protón H-1' se correlaciona a $^3J_{\text{H-C}}$ con las señales de carbono C-2, C-4 y C-3' a $\delta = 145,9$; $150,6$ y $134,4\text{ ppm}$ y a $^2J_{\text{H-C}}$ con el carbono C-3 y C-2' a $\delta = 116,8$ y $123,5\text{ ppm}$, respectivamente. El protón aromático $\delta = 6,32\text{ ppm}$ se correlaciona a $^3J_{\text{H-C}}$ con las señales de carbono C-3 y C-1 a $\delta = 116,8$ y $133,0\text{ ppm}$, y a $^2J_{\text{H-C}}$ con las señales de carbono C-2 y C-4 a $\delta = 145,9$ y $150,6\text{ ppm}$, respectivamente. La señal $\delta = 5,15\text{ ppm}$ (asignada a OH) se correlaciona a $^3J_{\text{H-C}}$ con las señales de carbono C-6 y C-2 a $\delta = 145,3$ y $145,9\text{ ppm}$ y a $^2J_{\text{H-C}}$ con el carbono C-1 a $\delta = 133,0\text{ ppm}$, respectivamente. Éstas y otras correlaciones heteronucleares se muestran en la Figura 40.

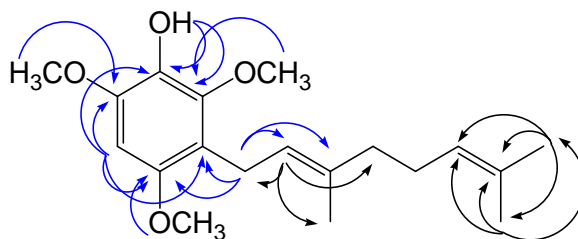


Figura 40. Principales correlaciones observadas heteronucleares 2D ^1H - ^{13}C HMBC del compuesto **72**.

Compuesto 73:

El compuesto **73** mostró una banda ancha de absorción IR a 3447 cm^{-1} correspondiente a la vibración del enlace O-H; bandas de absorción a 3086 cm^{-1} de enlace C=C-H alqueno; bandas de absorción a 2968 , 2926 y 2856 cm^{-1} de enlace C-H alcano; bandas de absorción a 1642 y 1604 cm^{-1} de enlace C=C alqueno y aromático. Del espectro EM se observó la señal de ion molecular a $m/z\ M^+$ 456 (33,3%).

En el espectro de RMN ^1H no se observaron señales de hidrógenos aromáticos, lo que confirma el patrón de un aromático disustituido simétrico. La señal a $\delta_{\text{H}} = 5,34\text{ ppm}$ (s, 1H) corresponde a la señal asignada al grupo hidroxilo. Las señales a $\delta_{\text{H}} = 3,81\text{ ppm}$ (s, 6H, $\text{CH}_3\text{O-C6}$ y $\text{CH}_3\text{O-C2}$) y $3,66\text{ ppm}$ (s, 3H, $\text{CH}_3\text{O-C4}$) corresponden a las señales asignadas a los grupos metoxilos.

La determinación de la estructura completa del compuesto **81a** se estableció principalmente por experimentos 2D HSQC y 2D HMBC. La confirmación del acoplamiento se desprende del análisis del espectro de bidimensional de correlación heteronuclear ^1H - ^{13}C HMBC, donde el protón H-1' se correlaciona a $^3J_{\text{H-C}}$ con las señales de carbono C-3', C-2/C-6 y C-4 a $\delta = 134,8$; $144,4$ y $149,5\text{ ppm}$ y a $^2J_{\text{H-C}}$ con el carbono C-2' y C-3/C-5 a $\delta = 123,8$ y $124,4\text{ ppm}$, respectivamente. La señal $\delta = 5,34\text{ ppm}$ (asignada a OH) se correlaciona a $^3J_{\text{H-C}}$ con las señales de carbono C-2/C-6 a $\delta = 144,4\text{ ppm}$ y a $^2J_{\text{H-C}}$ con el carbono C-1 a $\delta = 139,0\text{ ppm}$. Éstas y otras correlaciones heteronucleares se muestran en la Figura 41.

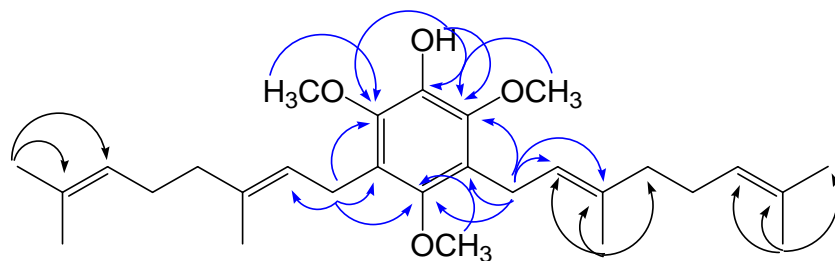


Figura 41. Principales correlaciones observadas heteronucleares 2D ¹H-¹³C HMBC del compuesto **73**.

Compuesto 74:

El compuesto **74** mostró una banda ancha de absorción IR a 3403 cm⁻¹ correspondiente a la vibración del enlace O-H; bandas de absorción a 2965, 2932 y 2854 cm⁻¹ de enlace C-H alcano; bandas de absorción a 1644 y 1603 cm⁻¹ de enlace C=C alqueno y aromático. Del espectro EM se observó la señal de ion molecular a m/z M⁺ 320 (54,1 %).

En el espectro de RMN ¹H se observaron una señal aromática a δ_H = 6,25 ppm (s, 1H, H-5), lo que confirma el patrón de un aromático monosustituido. Las señales a δ_H = 3,84 ppm (s, 3H, CH₃O-C3); 3,81 ppm (s, 3H, CH₃O-C4) y 3,79 ppm (s, 3H, CH₃O-C5) corresponden a las señales asignadas a los grupos metoxilos.

La posición de la cadena de geranilo en el anillo aromático se estableció por experimentos selectivos unidimensionales NOESY (1D), en donde la señal δ_H = 3,36 ppm asignada al H-1' mostraron correlaciones espaciales con la señal de 1,80 ppm (CH₃-C3'); 3,84 ppm (CH₃O-C3) y 5,21 (H-2'). La señal δ_H = 6,25 ppm asignada a H-6 mostraron correlaciones espaciales con la señal de 3,79 ppm (CH₃O-C5) (Figura 42-A).

Sólo hay una posibilidad de monosustitución en el aromático y esto se refleja en el espectro de bidimensional de correlación heteronuclear ¹H-¹³C HMBC, donde el protón H-1' se correlaciona a ³J_{H-C} con las señales de carbono C-3', C-1 y C-3 a δ = 138,4; 151,2 y 151,8 ppm y a ²J_{H-C} con el carbono C-2 y C-2' a δ = 112,3 y 122,2 ppm, respectivamente. El protón aromático δ = 6,25 ppm se correlaciona a ³J_{H-C} con la señal de carbono C-2 a δ = 112,2 y a ²J_{H-C} con las señales de carbono C-5 y C-1 a δ = 136,2 y 151,2 ppm, respectivamente. La señal δ = 5,21 ppm (H-2') se correlaciona a ³J_{H-C} con las señales de

carbono $\text{CH}_3\text{-C3'}$ y C-4' a $\delta = 16,1$ y $39,7$ ppm y a $^2J_{\text{H-C}}$ con el carbono C-1' a $\delta = 22,7$ ppm. Éstas y otras correlaciones heteronucleares se muestran en la Figura 42-B.

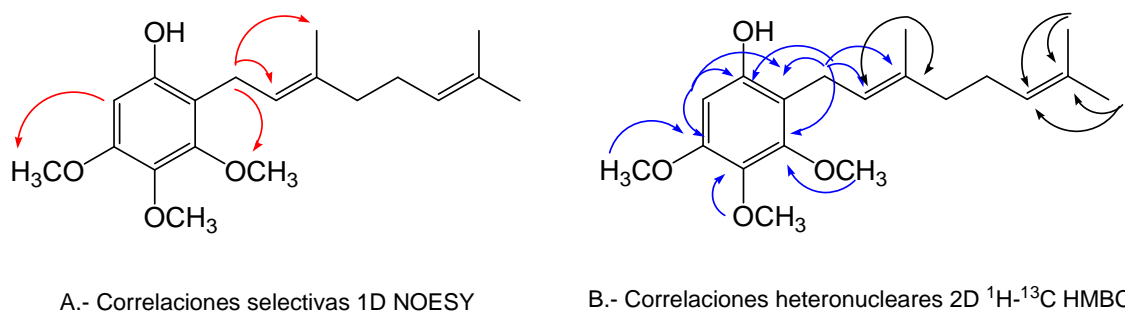


Figura 42. Principales correlaciones observadas del compuesto **74**, A) selectivas 1D NOESY; B) 2D $^1\text{H-}^{13}\text{C}$ HMBC.

Compuesto 75:

El compuesto **75** mostró una banda ancha de absorción IR a 3446 cm^{-1} correspondiente a la vibración del enlace O–H; bandas de absorción a 2966 , 2928 y 2855 cm^{-1} de enlace C–H alcano; bandas de absorción a 168 y 1605 cm^{-1} de enlace C=C alqueno y aromático. Del espectro EM se observó la señal de ion molecular a $m/z\ M^+$ 456 ($52,1\%$).

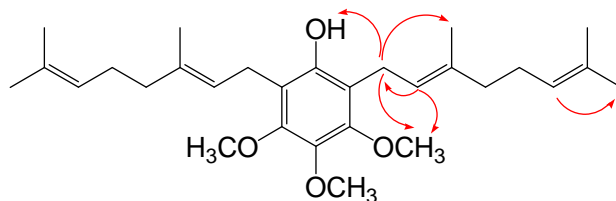
En el espectro de RMN ^1H no se observaron señales de hidrógenos aromáticos, lo que confirma el patrón de un aromático disustituido simétrico. La señal a $\delta_{\text{H}} = 5,28$ ppm (s, 1H) corresponde a la señal asignada al grupo hidroxilo. Las señales a $\delta_{\text{H}} = 3,85$ ppm (s, 3H, $\text{CH}_3\text{O-C6}$) y $3,82$ (s, 6H, $\text{CH}_3\text{O-C3}$ y C5) corresponden a las señales asignadas a los grupos metoxilos.

La posición de la cadena de geranilo en el anillo aromático se confirmó por experimentos selectivos unidimensionales NOESY (1D), en donde la señal $\delta_{\text{H}} = 3,36$ ppm asignada al H-1' mostraron correlaciones espaciales con la señal de $1,80$ ppm ($\text{CH}_3\text{-C3'}$); $3,82$ ppm ($\text{CH}_3\text{O-C3}$ y C5); $5,21$ (H-2') y $5,28$ (OH). La señal $\delta_{\text{H}} = 5,21$ ppm asignada a H-2' mostraron correlaciones espaciales con la señal de $3,82$ ppm ($\text{CH}_3\text{O-C3}$ y C5) y $3,36$

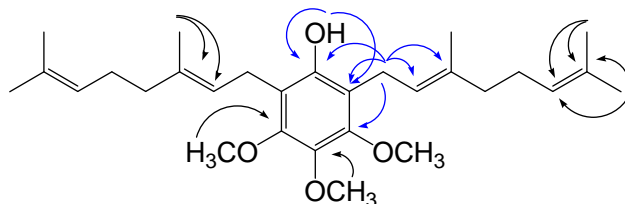
(H-1'). La señal $\delta_H = 5,06$ ppm asignada a H-6' mostraron correlaciones espaciales con la señal de 1,66 ppm (H-8') (Figura 43-A).

La confirmación del acoplamiento se desprende del análisis del espectro de bidimensional de correlación heteronuclear $^1\text{H}-^{13}\text{C}$ HMBC, donde el protón H-1' se correlaciona a $^3J_{\text{H-C}}$ con las señales de carbono C-3', C-1 y C-5 a $\delta = 137,0; 149,5$ y $150,0$ ppm y a $^2J_{\text{H-C}}$ con el carbono C-6 y C-2' a $\delta = 116,9$ y $122,6$ ppm, respectivamente.

La señal $\delta = 5,28$ ppm (OH) se correlaciona a $^2J_{\text{H-C}}$ con las señales de carbono C-6 y C-1 a $\delta = 116,9$ y $149,5$ ppm, respectivamente. Éstas y otras correlaciones heteronucleares se muestran en la Figura 43-B.



A.- Correlaciones selectivas 1D NOESY



B.- Correlaciones heteronucleares 2D $^1\text{H}-^{13}\text{C}$ HMBC

Figura 43. Principales correlaciones observadas del compuesto **75**, A) selectivas 1D NOESY; B) 2D $^1\text{H}-^{13}\text{C}$ HMBC.

4.3 Evaluación de los compuestos sintetizados en ensayos de actividad antifúngica, *in vitro*, contra las cepa de *Botrytis cinerea* y *Phytophthora cinnamomi* Rands en su forma libre.

Los resultados que se presentan a continuación corresponden a los ensayos biológicos realizados para analizar el efector inhibitorio en el crecimiento de *Botrytis cinerea* y *Phytophthora cinnamomi* Rands que poseen los compuestos, en su forma libre. Se realizó un Test de Difusión para determinar el porcentaje de inhibición del crecimiento de los hongos en presencia de los treinta geranilfenoles sintetizados. Las actividades de los compuestos sintetizados serán clasificados según el grupo sustituyente, número y posición de éstos en el anillo aromático, como se muestra a continuación:

Grupo I: Compuestos **42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50** y **51** poseen dos sustituyentes hidroxilos, en posición 1 y 2; 1 y 3, en el anillo aromático (Figura 44).

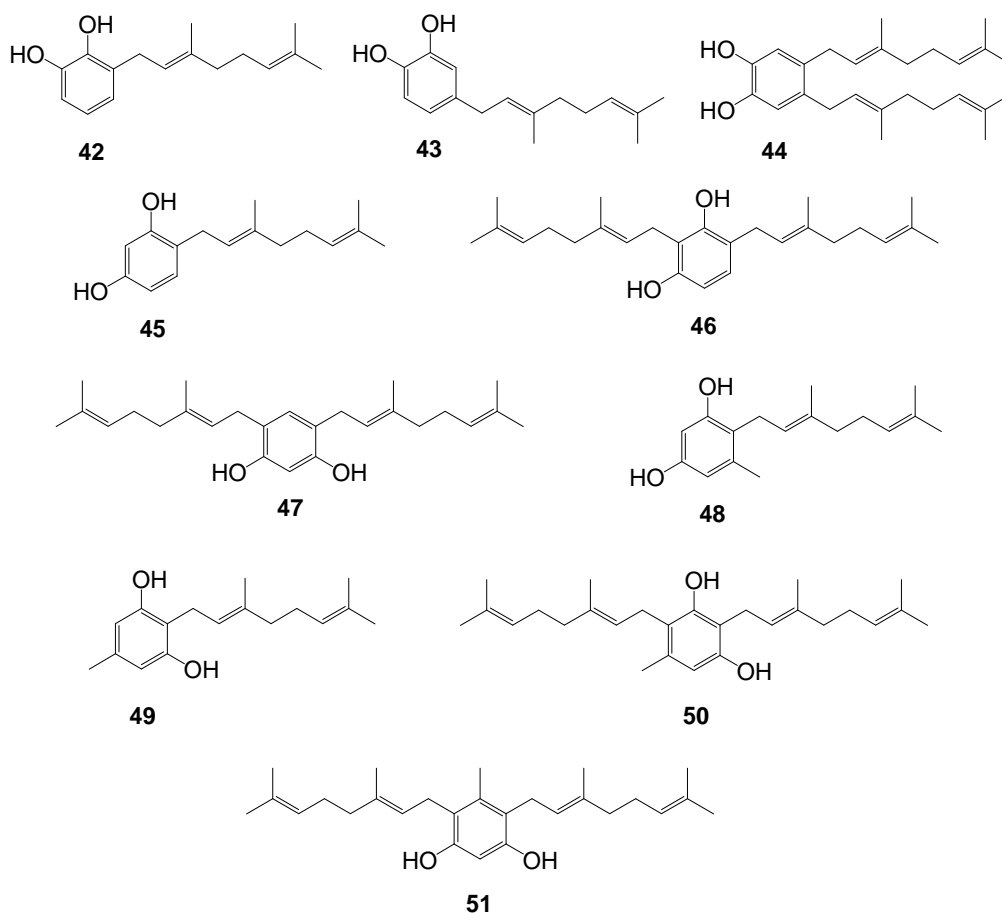


Figura 44. Estructuras de los compuestos geranilfenoles del grupo I.

Del **grupo I** todos los compuestos fueron evaluados en su actividad antifúngica contra *Botrytis cinerea* y *Phytoththora cinnamomi* Rands, a excepción de los compuestos **44** y **47**, debido al bajo rendimiento en la reacción de síntesis (menor al 1%). En el gráfico 1, se muestra el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial para *Botrytis cinerea* a tres diferentes concentraciones de compuesto (50, 150 y 250 mg/L), a un tiempo de inoculación de 72 hr. Los resultados de porcentaje de inhibición del crecimiento micelial fueron más altos para los compuestos **49**, **50** y **51** con valores sobre un 82%, a una concentración de 250 mg/L.

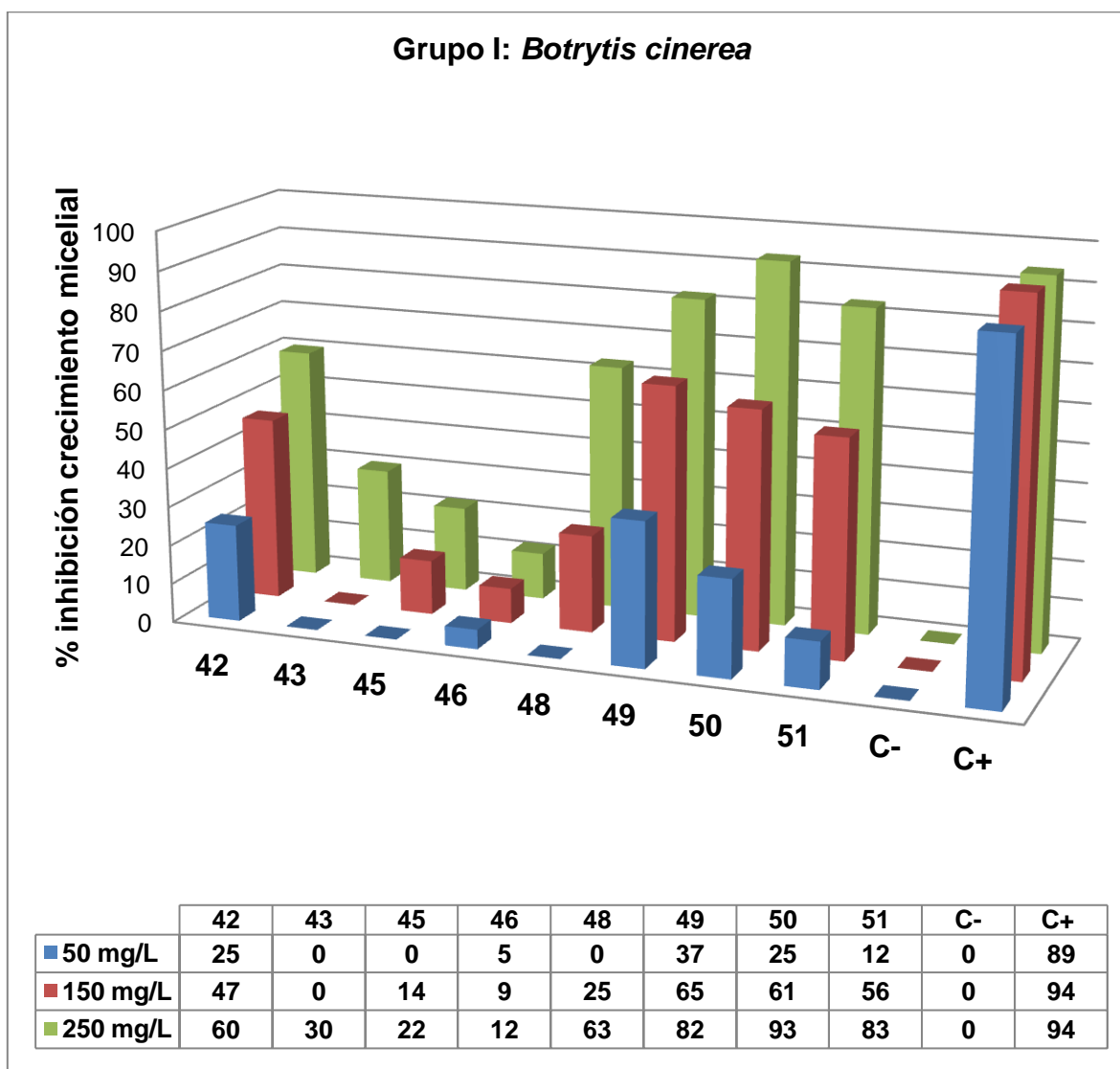


Gráfico 1. Resultados de los porcentajes de inhibición del crecimiento micelial de los geraniifenoles del **grupo I** contra *Botrytis cinerea*, a diferentes concentraciones (50, 150 y 250 mg/L).

En el gráfico 2, se muestra el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial para *Phytophthora cinnamomi* Rands a tres diferentes concentraciones de compuesto (50, 150 y 250 mg/L), a un tiempo de inoculación de 168 hr. Los resultados de porcentaje de inhibición del crecimiento micelial fueron más altos para los compuestos **42, 43, 45, 48 y 49** con valores sobre un 89%, a una concentración de 150 mg/L y para los compuestos **45 y 48** con valores de 94 y 95 %, respectivamente, a una concentración de 50 mg/L.

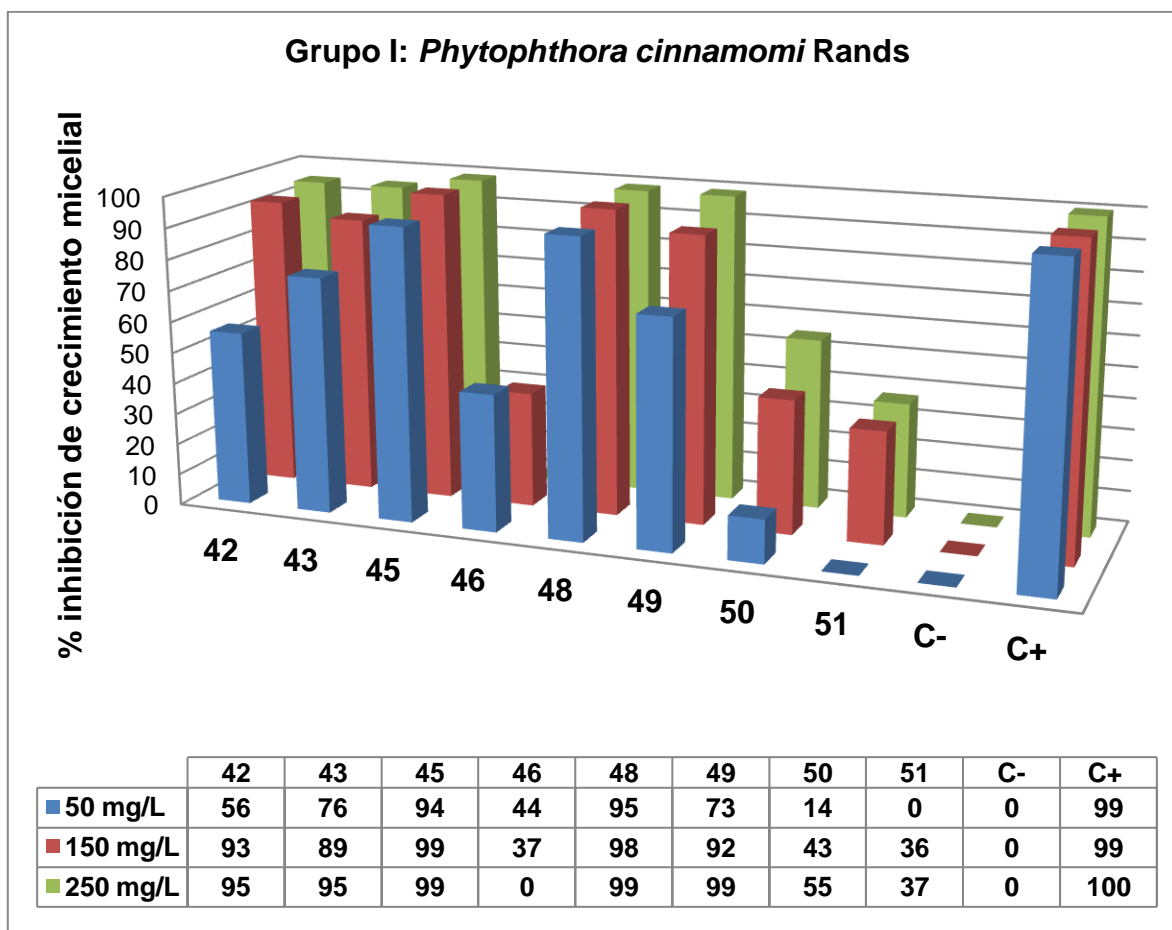


Gráfico 2. Resultados de los porcentajes de inhibición del crecimiento micelial de los geranilfenoles del grupo I contra *Phytophthora cinnamomi* Rands, a diferentes concentraciones (50, 150 y 250 mg/L).

Grupo II: Compuestos **52**, **53** y **54**, poseen dos sustituyentes hidroxilos fijos (posición 1 y 4), y otros grupos funcionales (hidroxilo y metoxilo) en posición 2 ó 3 ó 5, en el anillo aromático (Figura 45).

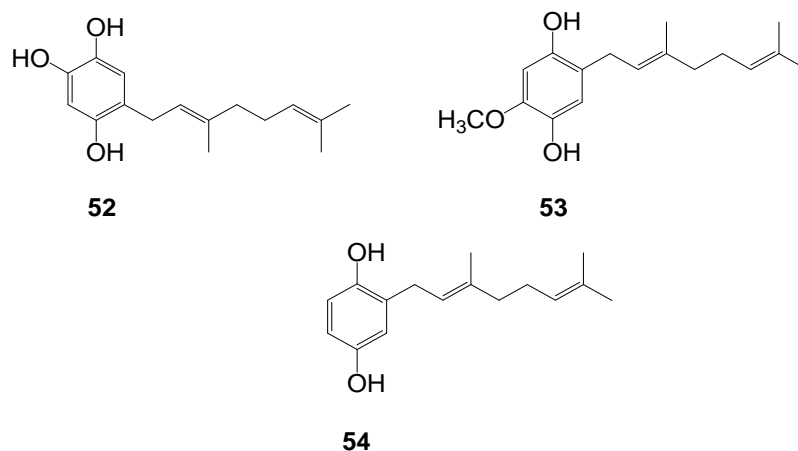


Figura 45. Estructuras de los compuestos geraniifenoles del grupo II.

Del **grupo II** todos los compuestos fueron evaluados en su actividad antifúngica contra *Botrytis cinerea* y *Phytophthora cinnamomi* Rands. En el gráfico 3, se muestra el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial para *Botrytis cinerea* a tres diferentes concentraciones de compuesto (50, 150 y 250 mg/L), a un tiempo de inoculación de 72 hr. Los resultados de porcentaje de inhibición del crecimiento micelial fueron más altos para los compuestos **52** con un 78% a 250 mg/L y **54** con valores de un 82% y 86%, a una concentración de 150 y 250 mg/L, respectivamente.

En el gráfico 4, se muestra el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial para *Phytophthora cinnamomi* Rands a tres diferentes concentraciones de compuesto (50, 150 y 250 mg/L), a un tiempo de inoculación de 168 hr. Los resultados de porcentaje de inhibición del crecimiento micelial fueron más altos para los compuestos **52** con un 89% a 250 mg/L, y compuesto **54** con un valor de un 96%, a una concentración de 50 mg/L.

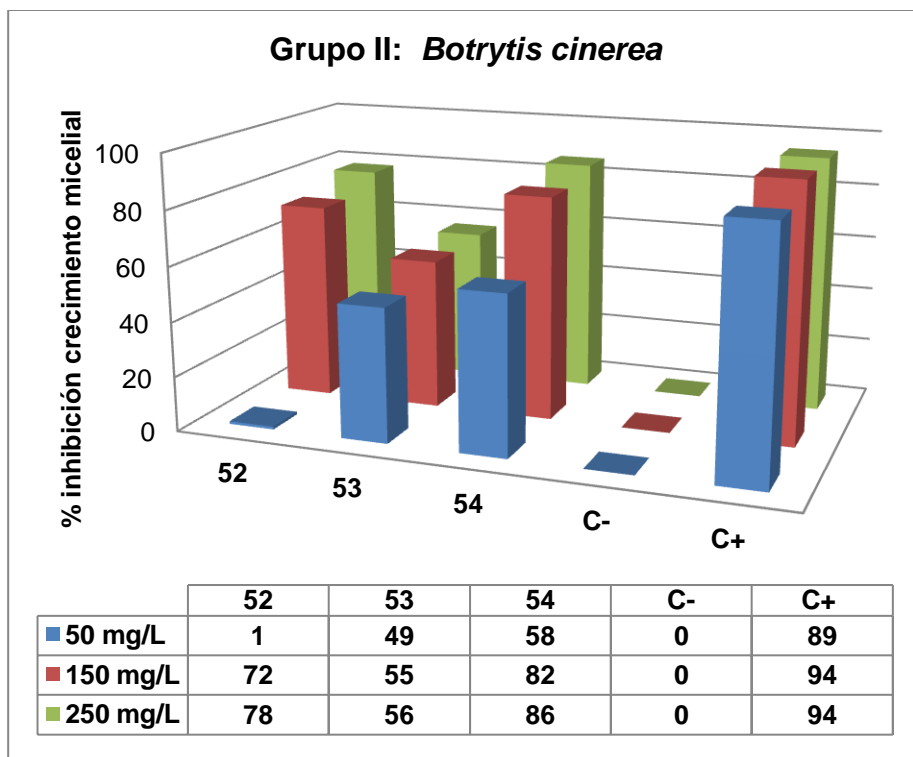


Gráfico 3. Resultados de los porcentajes de inhibición del crecimiento micelial de los geraniifenoles del **grupo II** contra *Botrytis cinerea*, a diferentes concentraciones (50, 150 y 250 mg/L).

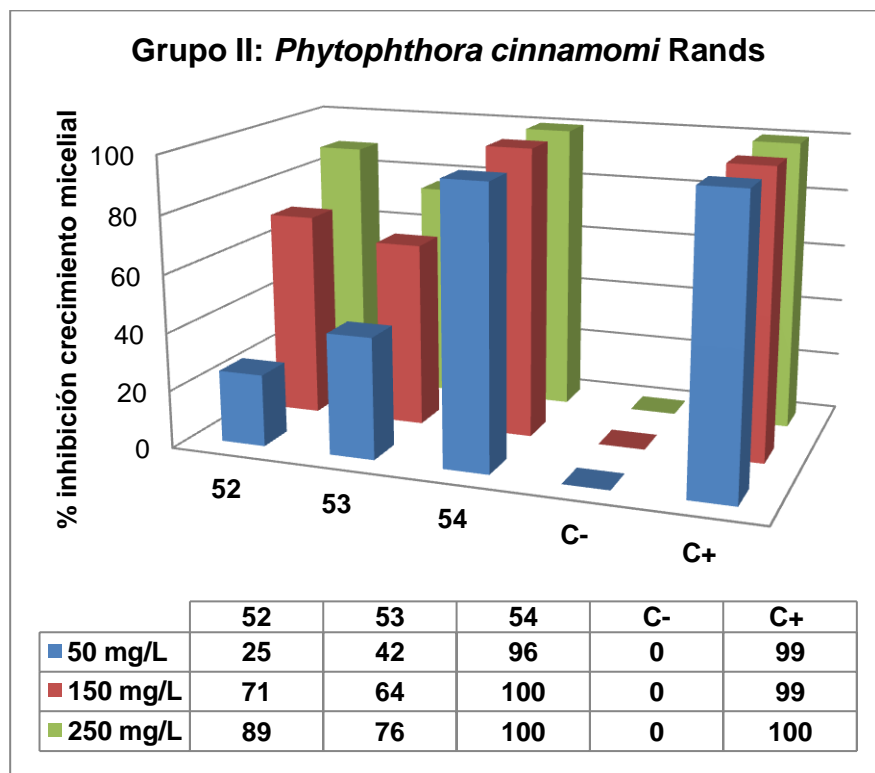


Gráfico 4. Resultados de los % de inhibición del crecimiento micelial de los geraniifenoles del **grupo II** contra *Phytophthora cinnamomi* Rands, a diferentes concentraciones (50, 150 y 250 mg/L).

Grupo III: Compuestos **55**, **56**, **57**, **58**, **59**, **60**, **61**, **62** y **63** poseen un sustituyente hidroxilo en posición 1, y un grupo metoxilo (en posición 2, 3 ó 4) en el anillo aromático (Figura 46).

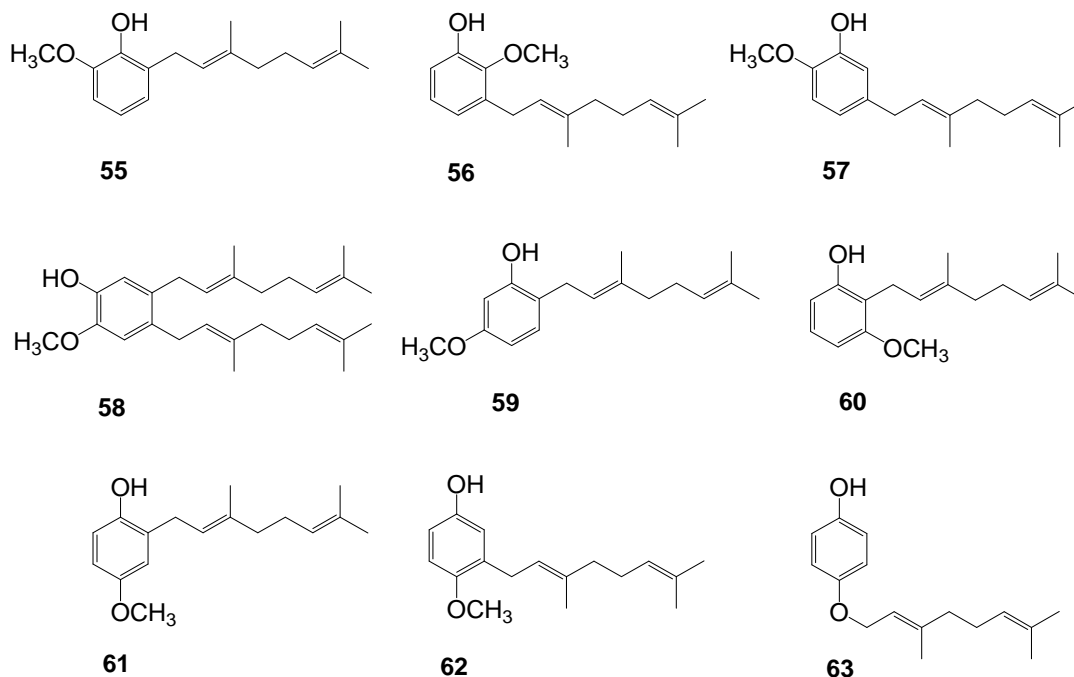


Figura 46. Estructuras de los compuestos geraniilfenoles del grupo III.

Del **grupo III** todos los compuestos fueron evaluados en su actividad antifúngica contra *Botrytis cinerea* y *Phytophthora cinnamomi* Rands, a excepción de los compuestos **57** y **63**, debido al bajo rendimiento en la reacción de síntesis (menor al 1%).

En el gráfico 5, se muestra el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial para *Botrytis cinerea* a tres diferentes concentraciones de compuesto (50, 150 y 250 mg/L), a un tiempo de inoculación de 72 hr. El compuesto **58** obtuvo el porcentaje de inhibición más alto del grupo, con un 72% para una concentración a 250 mg/L. En el gráfico 6, se muestra el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial para *Phytophthora cinnamomi* Rands a tres diferentes concentraciones de compuesto (50, 150 y 250 mg/L), a un tiempo de inoculación de 168 hr. Los resultados de porcentaje de inhibición del crecimiento micelial fueron más altos para los compuestos **59**, **60**, **61** y **62**

con un 92%, 88%, 76% y 88% a una concentración de 250 mg/L, y compuestos **59** y **62** con un valor de un 81 y 91%, a una concentración de 50 mg/L.

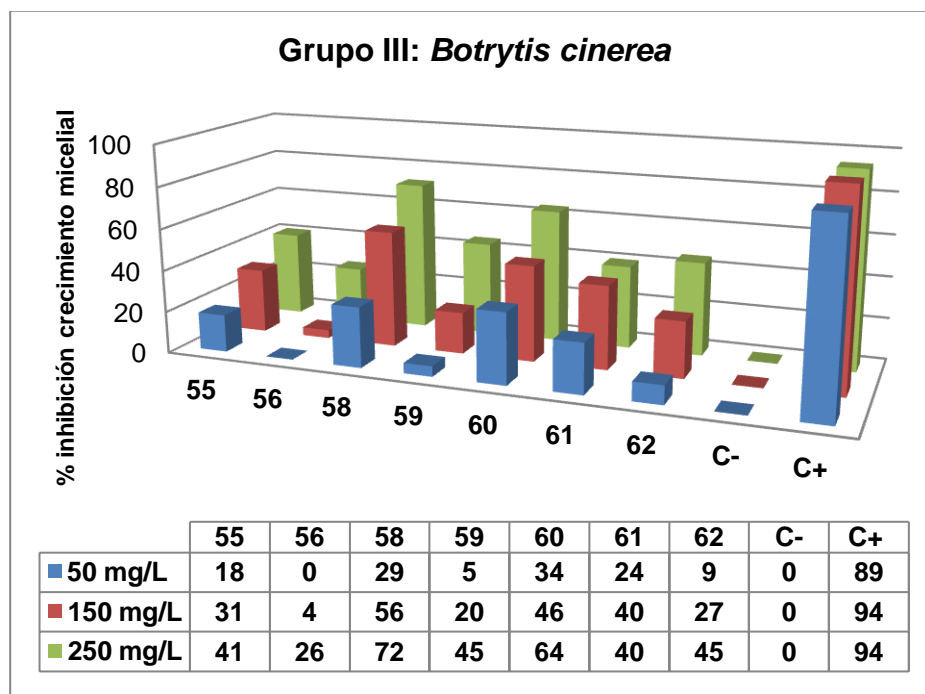


Gráfico 5. Resultados de los porcentajes de inhibición del crecimiento micelial de los geraniifenoles del **grupo III** contra *Botrytis cinerea*, a diferentes concentraciones (50, 150 y 250 mg/L).

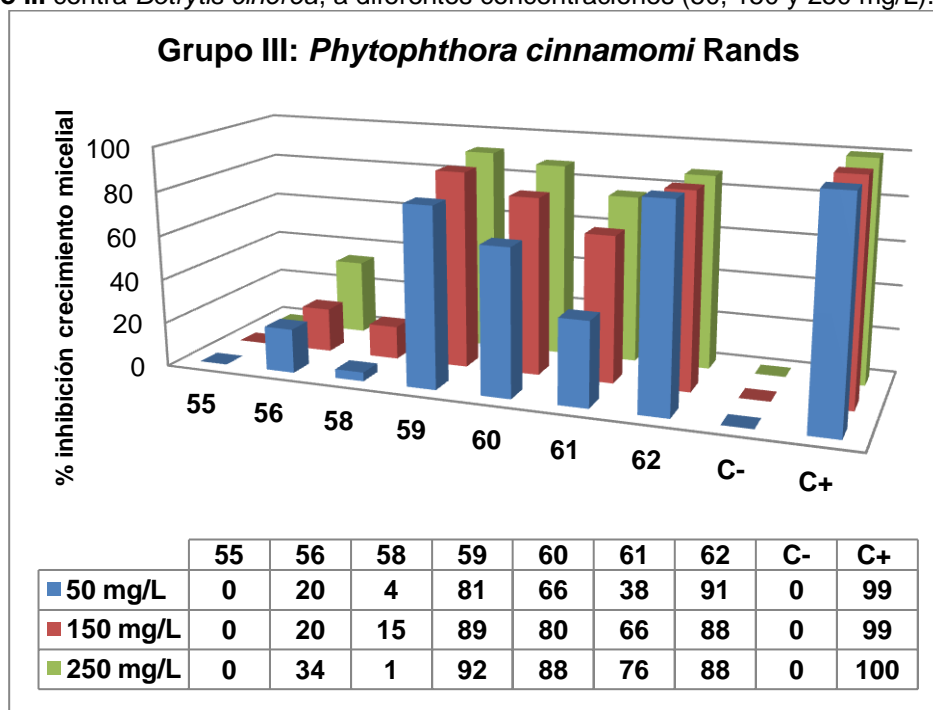


Gráfico 6. Resultados de los % de inhibición del crecimiento micelial de los geraniifenoles del **grupo III** contra *Phytophthora cinnamomi* Rands, a diferentes concentraciones (50, 150 y 250 mg/L).

Grupo IV: Compuestos **64**, **65**, **66**, **67**, **68** y **69** poseen un sustituyente hidroxilo en posición 1, y dos grupos metoxilo (en posición 2-4, 3-4, 2-3) en el anillo aromático (Figura 47).

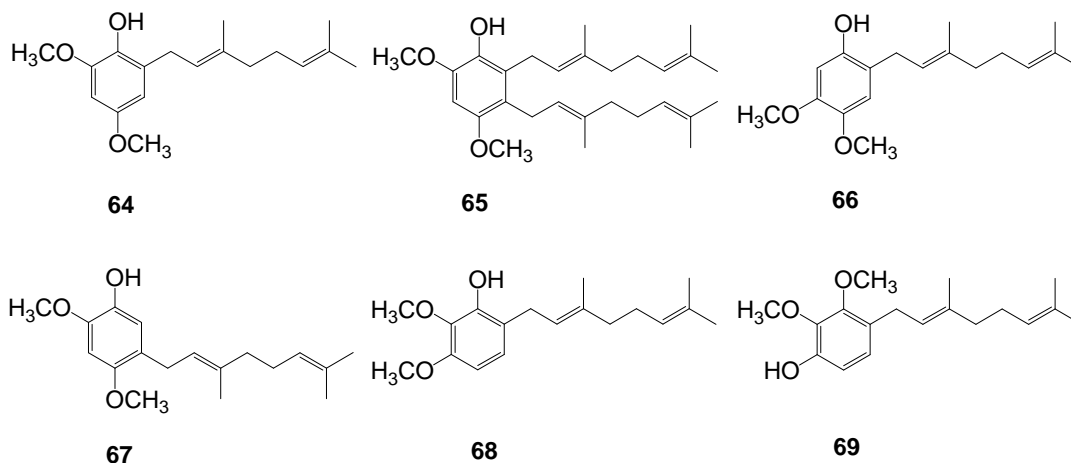


Figura 47. Estructuras de los compuestos geranilfenoles del grupo **IV**.

Del **grupo IV** todos los compuestos fueron evaluados en su actividad antifúngica contra *Botrytis cinerea* y *Phytoththora cinnamomi* Rands.

En el gráfico 7, se muestra el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial para *Botrytis cinerea* a tres diferentes concentraciones de compuesto (50, 150 y 250 mg/L), a un tiempo de inoculación de 72 hr. Los resultados de porcentaje de inhibición del crecimiento micelial fueron más altos para los compuestos **66**, **67** y **69** con un 79%, 78% y 71% a una concentración de 250 mg/L. En el gráfico 8, se muestra el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial para *Phytoththora cinnamomi* Rands a tres diferentes concentraciones de compuesto (50, 150 y 250 mg/L), a un tiempo de inoculación de 168 hr. Los resultados de porcentaje de inhibición del crecimiento micelial fueron más altos para los compuestos **66**, **67** y **68** con un valor de un 76%, 79% y 71%, a una concentración de 250 mg/L.

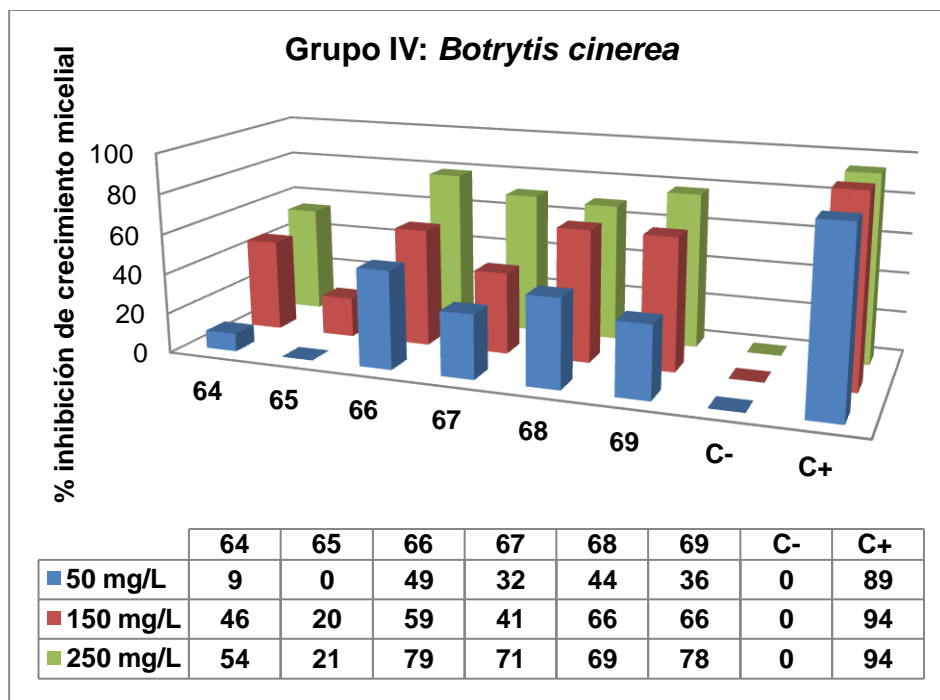


Gráfico 7. Resultados de los porcentajes de inhibición del crecimiento micelial de los geranilfenoles del **grupo IV** contra *Botrytis cinerea*, a diferentes concentraciones (50, 150 y 250 mg/L).

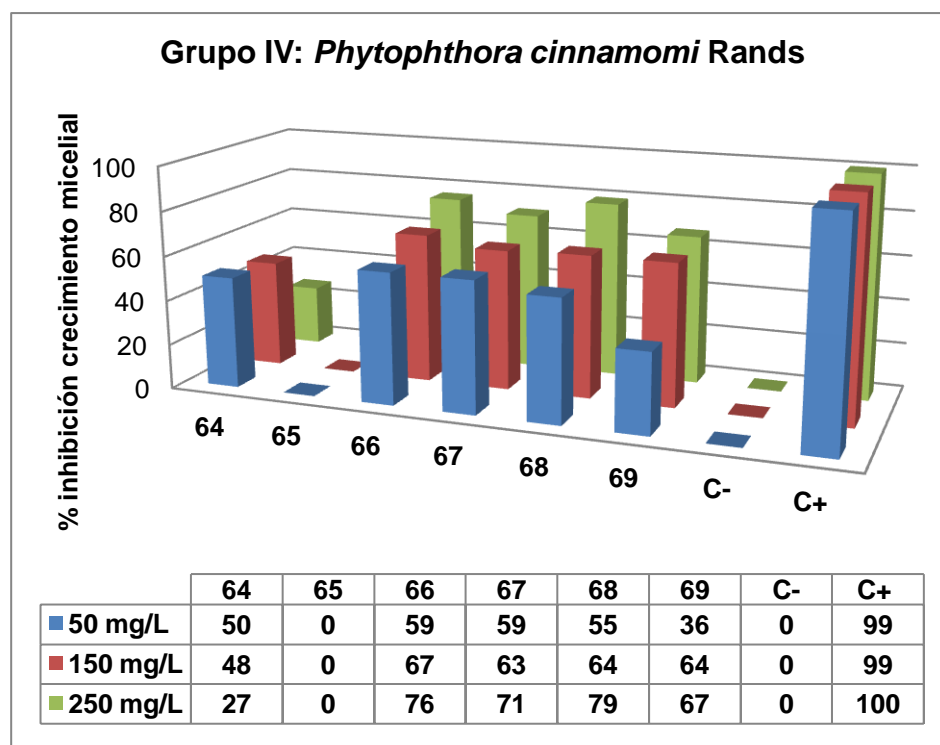


Gráfico 8. Resultados de los % de inhibición del crecimiento micelial de los geranilfenoles del **grupo IV** contra *Phytophthora cinnamomi* Rands, a diferentes concentraciones (50, 150 y 250 mg/L).

Grupo V: Compuestos **70**, **71**, **72**, **73**, **74** y **75** poseen un sustituyente hidroxilo en posición 1, y tres grupos metoxilo (en posición 2-3-4, 2-3-5, 2-4-5 y 3-4-5) en el anillo aromático (Figura 48).

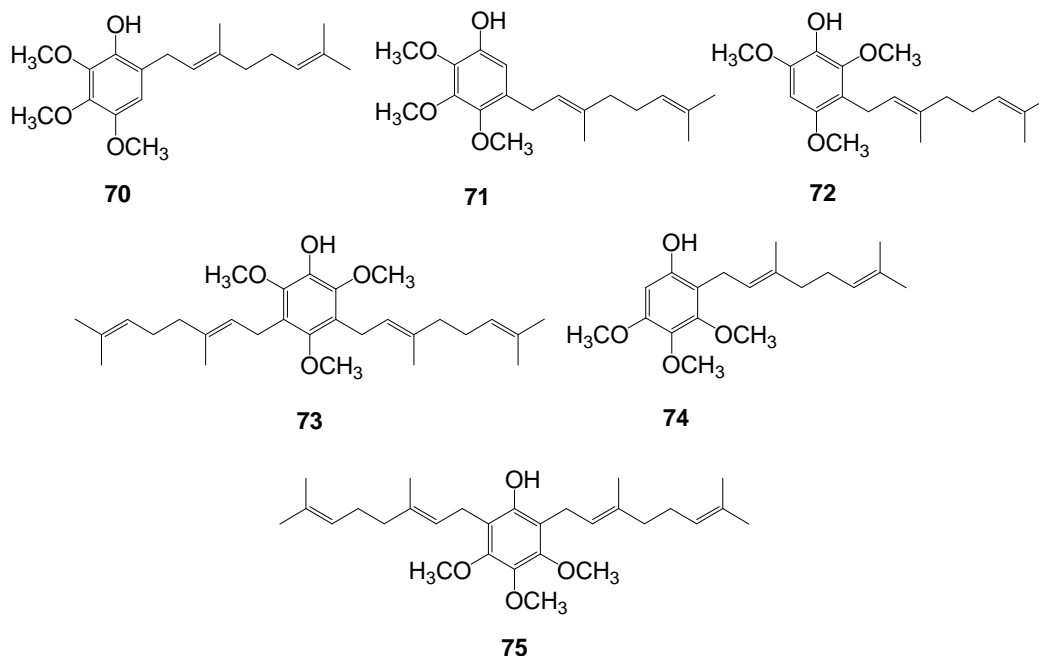


Figura 48. Estructuras de los compuestos geranilfenoles del grupo V.

Del **grupo V** todos los compuestos fueron evaluados en su actividad antifúngica contra *Botrytis cinerea* y *Phytoththora cinnamomi* Rands.

En el gráfico 9, se muestra el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial para *Botrytis cinerea* a tres diferentes concentraciones de compuesto (50, 150 y 250 mg/L), a un tiempo de inoculación de 72 hr. Los resultados de porcentaje de inhibición del crecimiento micelial fueron más altos para los compuestos **70**, **71**, **72** y **75** con un 91%, 91%, 73% y 84% a una concentración de 250 mg/L. En el gráfico 10, se muestra el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial para *Phytoththora cinnamomi* Rands a tres diferentes concentraciones de compuesto (50, 150 y 250 mg/L), a un tiempo de inoculación de 168 hr. Todos los porcentajes de inhibición del crecimiento micelial para los compuestos de este grupo fueron bajo el 51%.

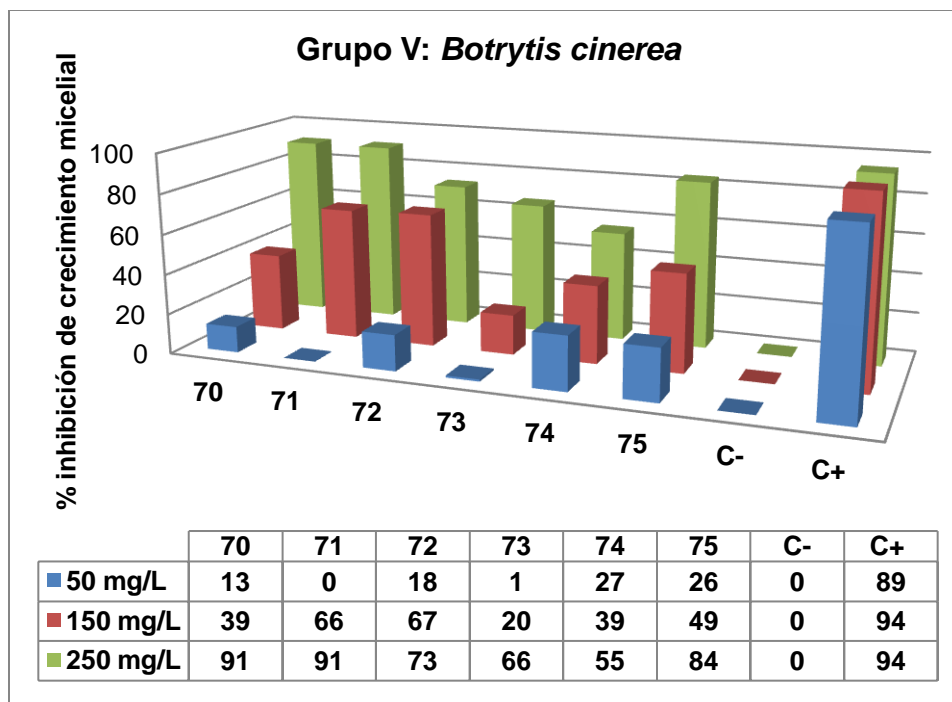


Gráfico 9. Resultados de los porcentajes de inhibición del crecimiento micelial de los geraniifenoles del **grupo V** contra *Botrytis cinerea*, a diferentes concentraciones (50, 150 y 250 mg/L).

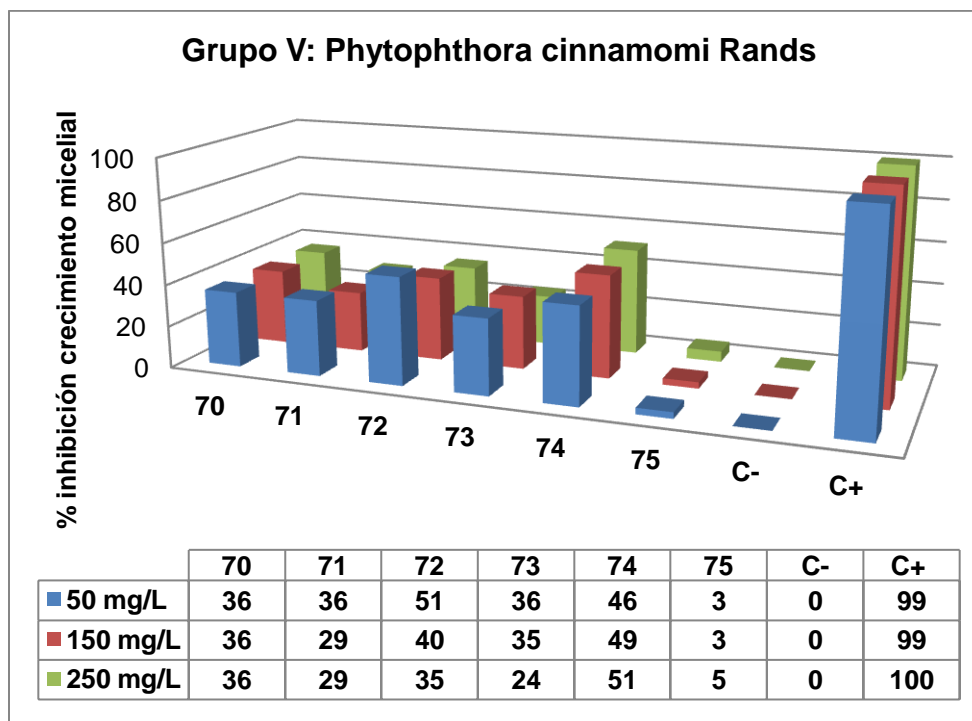


Gráfico 10. Resultados de los % de inhibición del crecimiento micelial de los geraniifenoles del **grupo V** contra *Phytophthora cinnamomi* Rands, a diferentes concentraciones (50, 150 y 250 mg/L).

En la Tabla 4, se encuentra un resumen de los resultados obtenidos de los porcentajes de inhibición del crecimiento micelial de los geranilfenoles sintetizados contra *Botrytis cinerea* y *Phytoththora cinnamomi* Rands, *in vitro*, a diferentes concentraciones (50,150 y 250 mg/L). Los mejores resultados obtenidos en la actividad antifúngica contra *Botrytis cinerea*, *in vitro*, son los compuestos **49, 50, 51, 52, 54, 58, 66, 67, 68, 69, 70, 71** y **75**, con un porcentaje de inhibición del crecimiento micelial sobre un 70%, a una concentración de 250 mg/L. De esta selección, se destacan los compuestos **52** y **54** con un 72 y 82 % de inhibición, respectivamente, a una concentración de 150 mg/L. Estos compuestos pertenecen al grupo **II**, que son compuestos que tienen en su estructura dos grupos hidroxilos (en la posición 1 y 4 del anillo aromático).

En el caso de *Phytoththora cinnamomi* Rands los mejores resultados en la actividad antifúngica, *in vitro*, fueron observados para los compuestos **42, 43, 45, 48, 49, 52, 53, 54, 59, 60, 61, 62, 66, 67** y **68**, con un porcentaje de inhibición del crecimiento micelial sobre un 70%, a una concentración de 250 mg/L. De esta selección, se destacan los compuestos **45, 48, 54** y **62** con un % de inhibición de 94, 95, 96 y 91%, respectivamente, a una concentración de 50 mg/L. Estos compuestos pertenecen al grupo **I (45 y 48)**, al grupo **II (54)** y al grupo **III (62)**, donde el grupo **I y II** tienen dos grupos hidroxilo en el anillo aromático y el grupo **IV** tiene un grupo hidroxilo y un grupo metoxilo en el anillo aromático.

En la Figura 49 se muestra el efecto de los geranilfenoles sobre el crecimiento micelial, *in vitro*, de *B. cinerea*, donde se muestra el efecto de inhibición de los compuestos **46** (12%) y **7** (91%), a una concentración de Captan® y de los compuestos ensayados de de 250 mg/L. En la Figura 50 se muestra el efecto de los geranilfenoles sobre el crecimiento micelial, *in vitro*, de *P. cinnamomi*, donde se muestra el efecto de inhibición de los compuestos **46** (44%) y **45** (99%), a una concentración de Metalaxil® y de los compuestos ensayados de de 50 mg/L.

Tabla 4 . Resultados de los % de inhibición del crecimiento micelial de los geranilfenoles contra *Botrytis cinerea* y *Phytoththora cinnamomi* Rands, *in vitro*, a diferentes concentraciones (50,150 y 250 mg/L).

Número compuesto	% inhibición <i>B. cinerea</i>			% inhibición <i>P.cinnamomi</i>		
	50 mg/L	150 mg/L	250 mg/L	50 mg/L	150 mg/L	250 mg/L
42	25±5,6	47±4,2	60±6,7	56±2,6	93±4,5	95±2,8
43	0	0	30±5,8	76±2,2	89±4,0	95±0,5
45	0	14±2,3	22±5,0	94±2,5	99±0,6	99±0
46	5±2,0	9±2,0	12±0	37±1,7	44±1,8	0
48	0	25±7,1	63±4,2	95±0,5	98±0,6	99±0,6
49	37±2,2	65±2,5	82±2,3	73±2,9	92±1,9	99±0,6
50	25±1,5	61±2,1	93±2,4	14±1,1	43±3,5	55±3,1
51	12±2,8	56±7,1	83±7,4	0	36±0	37±5,0
52	1±2,0	72±2,0	78±3,0	25±9,8	71±5,9	89±4,6
53	49±3,3	56±2,8	56±2,1	42±2,3	64±0	76±1,1
54	58±2,1	82±3,0	86±1,4	96±0	100±0	100±0
55	18±3,5	31±3,4	41±4,6	0	0	0
56	0	4±1,4	26±5,4	20±2,1	20±2,1	34±3,8
58	29±0	56±3,0	72±2,0	4±0,6	15±1,8	1±1,9
59	5±1,0	20±4,8	45±4,0	81±3,9	89±0	92±2,3
60	34±4,0	46±2,0	64±0	66±2,7	80±0,9	88±0,8
61	24±9,6	40±4,5	40±3,9	38±3,6	66±2,7	76±2,2
62	9±2,0	27±2,0	45±0	91±2,6	88±0	88±0
64	9±2,1	46±2,8	54±4,8	50±1,6	48±5,1	27±7,1
65	0	20±2,0	21±1,9	0	0	0
66	49±3,3	59±3,0	79±2,1	59±0	67±1,3	76±1,1
67	32±2,2	41±1,7	71±3,8	59±0	63±1,4	71±3,4
68	44±2,6	66±2,0	69±0,7	55±3,1	64±0	79±3,3
69	36±2,6	66±4,0	78±0,7	36±0	64±0	67±2,7
70	13±2,6	39±4,0	91±0,7	36±0	36±5,6	36±0
71	0	66±6,4	91±0,7	36±0	29±0	29±0
72	18±2,9	67±5,5	73±3,1	51±0	40±1,8	35±1,9
73	1±0,4	20±4,2	66±3,9	36±0	35±1,9	24±5,3
74	27±4,0	39±3,0	55±8,0	46±4,5	49±3,3	51±0
75	26±0	49±3,0	84±0	3±4,5	3±4,5	5±4,8
C+	89±2,1	94±1,1	94±1,3	99±2,1	99±1,1	100±1,3
C-	0	0	0	0	0	0

C+: Captan® para *B. cinerea*, Metalaxil® para *P. cinnamomi* Rands

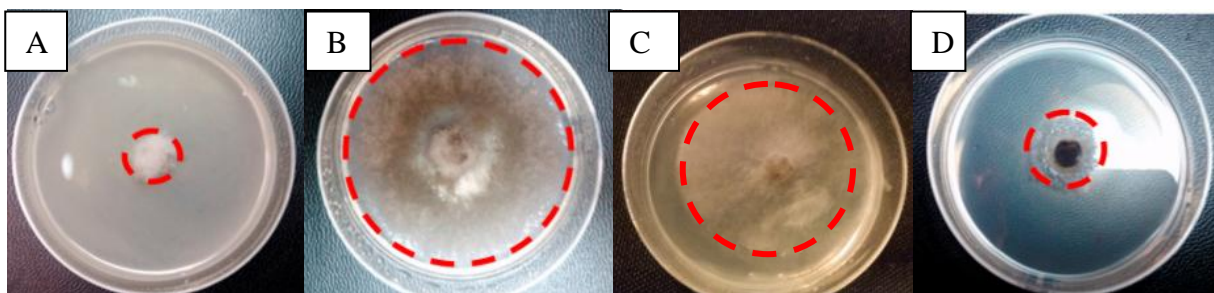


Figura 49. Efecto de los geranilfenoles sobre el crecimiento micelial, *in vitro*, de *B. cinerea* a una concentración a 250 mg/L, (A) Control positivo, Captan® a 250 mg/L; (B) control negativo, el medio contiene sólo PDA y 1% de etanol; (C) compuesto **46**; (D) compuesto **70**.

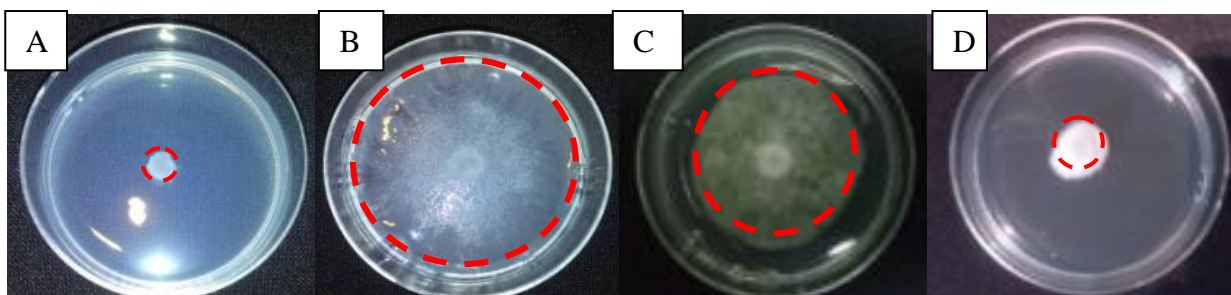


Figura 50. Efecto de los geranilfenoles sobre el crecimiento micelial, *in vitro*, de *P. cinnamomi*. a una concentración de 50 mg/L, A) Control positivo, Metalaxil® a 50 mg/L; (B) control negativo, el medio contiene sólo PDA y 1% de etanol; (C) compuesto **46**; (D) compuesto **45**.

4.4 Evaluación de los compuestos sintetizados en ensayos de actividad antifúngica, *in vitro*, contra las cepa de *Botrytis cinerea* y *Phytophthora cinnamomi* Rands en su forma encapsulada.

Los resultados en la determinación del tamaño de las micelas y constante de Reparto (K_s) fueron obtenidos del Proyecto de Tesis de Magíster Reyes P.¹¹⁶. Para el compuesto **54** se evaluaron los parámetros fisicoquímicos, para posteriormente realizar el encapsulación de los compuestos antifúngicos activos sobre *Botrytis cinerea* y *Phytophthora cinnamomi* Rands.

El compuesto **54** absorbe a una longitud de onda de 292 nm, con este dato se realizó un gráfico de Absorbancia vs Concentración del compuesto, a partir del cual se obtuvo el coeficiente de extinción molar (ϵ) del compuesto, considerando la fórmula $A = \epsilon \cdot C \cdot l$, donde A corresponde a la Absorbancia a la cual se mide la muestra; ϵ , es el coeficiente de extinción molar del compuesto [$M^{-1} \cdot cm^{-1}$], C es la concentración molar de dicho compuesto [M] y l es el ancho de la cubeta igual a 1[cm].

En el Gráfico 11 se muestra la curva de calibración Absorbancia vs Concentración para el compuesto **54**. En el eje x se señala la concentración molar del compuesto **54** y en el eje y la absorbancia medida a diferentes concentraciones del compuesto a una longitud de onda de 292 nm. De la ecuación de la recta, se obtiene la pendiente que representa el coeficiente de extinción molar (ϵ) para el compuesto **54**, donde el valor obtenido es igual a 2935 [$M^{-1} \cdot cm^{-1}$].

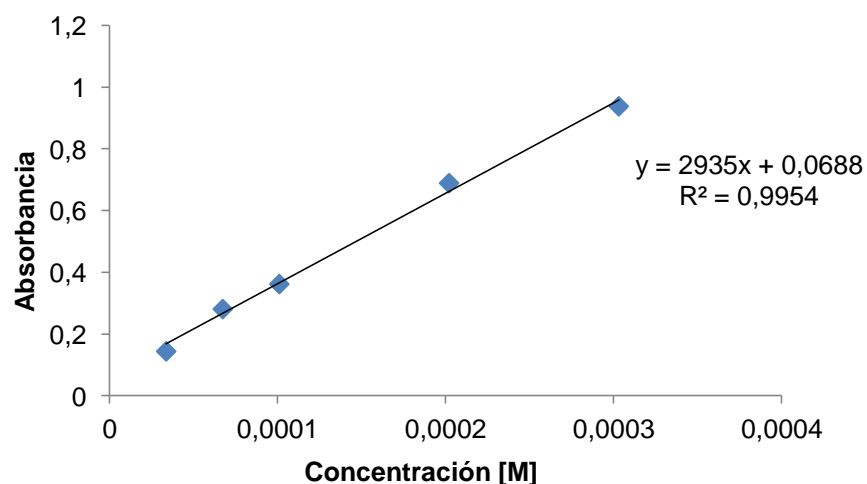


Gráfico 11. Absorbancia vs Concentración del compuesto **54**.

Se determinó el máximo valor de absorbancia alcanzado por el compuesto **54** disuelto en agua. De acuerdo a esto, en agua, el compuesto **54** absorbe a 289,4 nm con una absorbancia de 0,565. A partir de estos datos, se determinó la concentración de compuesto disponible en solución. Despejando la concentración **C** de la fórmula: $A = \epsilon \cdot C \cdot l$ se obtiene que la concentración es igual a $1,925 \times 10^{-4}$ [M]. Tomando en cuenta la dilución realizada de una solución de 0,101[M] del compuesto **54**, con una alícuota de 0,015 [mL] en 5 [mL], la concentración final es $3,03 \times 10^{-4}$ [M].

Se evaluó el encapsulamiento del compuesto **54** en copolímeros tribloque Pluronic F-127 (PEO-PPO-PEO). Las principales características del polímero Pluronic F-127 se encuentra en la Tabla 5.

Tabla 5. Principales características del copolímero en bloque Pluronic F-127.

POLÍMERO	ESTRUCTURA	P.M., Da	CMC, [M] a 37°C	CARACTERÍSTICA
Pluronic F-127	PEO ₁₀₀ -PPO ₆₅ -PEO ₁₀₀	12600	2.8×10^{-6}	Copolímero de bloque anfifílico del tipo ABA

*Las estructuras señaladas corresponden a: **PEO**: Poli (óxido de etileno), **PPO**: Poli (óxido de propileno).

4.4.1 Formación de las micelas poliméricas

A través de la utilización del equipo *light scattering* (DLS) fue posible observar y determinar la formación de las micelas poliméricas en presencia o ausencia del compuesto, dado que este sistema entrega información respecto a la distribución de tamaño e intensidad (porcentaje de formación de agregados micelares), lo cual permite determinar el equilibrio entre el polímero y la formación de micelas, además de deducir la concentración adecuada de solución de polímero a utilizar. Considerando esto, en el Gráfico 12 se señala la distribución y formación de los agregados micelares a partir de una concentración de 1×10^{-3} M de solución de Pluronic F-127, además del comportamiento

que establecen las micelas tanto en ausencia como en presencia del compuesto **54**, indicando su incorporación al interior del sistema polimérico, a una concentración de compuesto de 10 mM.

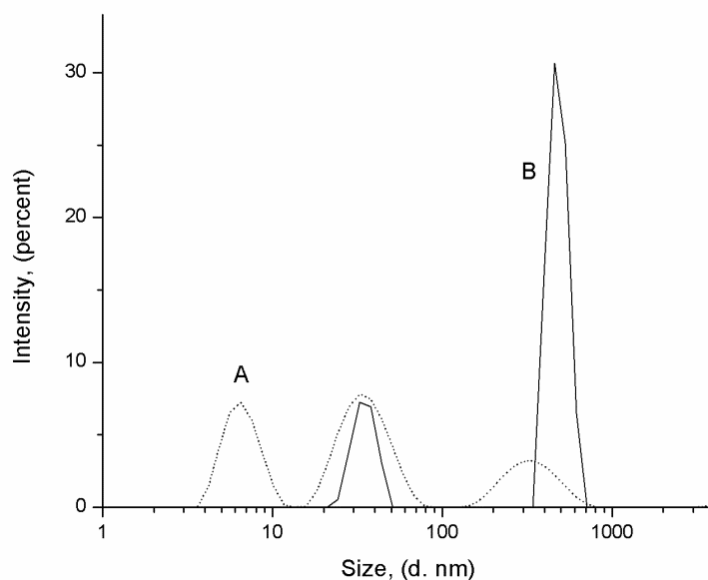
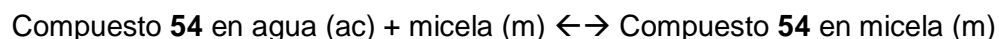


Gráfico 12. Distribución de tamaño de los agregados formados por una solución de Pluronic F-127 a una concentración de 1×10^{-3} [M] A) en ausencia y en B) presencia del compuesto **54** (10 mM). Las mediciones fueron realizadas a 25°C.

4.4.2 Medición del Coeficiente de Distribución. Determinación de la Constante de Reparto (K_s).

A través del sistema de ultrafiltración representado se determinó la constante de reparto (K_s) del compuesto **54** encapsulado en los dos polímeros disponibles de acuerdo al siguiente equilibrio:



Se puede obtener la siguiente ecuación, que corresponde a la constante de reparto del compuesto **54**:

$$K_s = \frac{[\text{compuesto 54}]_m}{[\text{compuesto 54}]_{ac} * [\text{micela}]}$$

Despejando se obtiene,

$$K_s * [\text{micela}] = \left[\frac{[\text{compuesto54}]_m}{[\text{compuesto54}]_{ac}} \right]$$

Donde la pendiente del gráfico de la Concentración molar del compuesto **54** en agua vs concentración molar del compuesto **54** en micela es igual a la constante de reparto (K_s) multiplicado por la concentración de micela. Por lo tanto, el valor de la constante de reparto (K_s) es igual a la pendiente de la recta dividida por la concentración de la micela. De acuerdo a lo planteado, se obtuvo el gráfico del compuesto **54** encapsulado en Pluronic F-127. En el Gráfico 13 se muestra la curva de reparto del compuesto **54** en Pluronic F-127. En el eje **x** se señala la concentración molar del compuesto **54** en la fase acuosa y el eje **y** corresponde a la concentración molar del compuesto **54** en la micela. De la ecuación de la recta, se obtiene la pendiente que representa el valor de $K_s * [m]$, que es igual a 31,856. La concentración de la micela es igual a 0,001 [M], por lo tanto, despejando el valor de K_s es igual a $3,19 \times 10^4$ [M⁻¹].

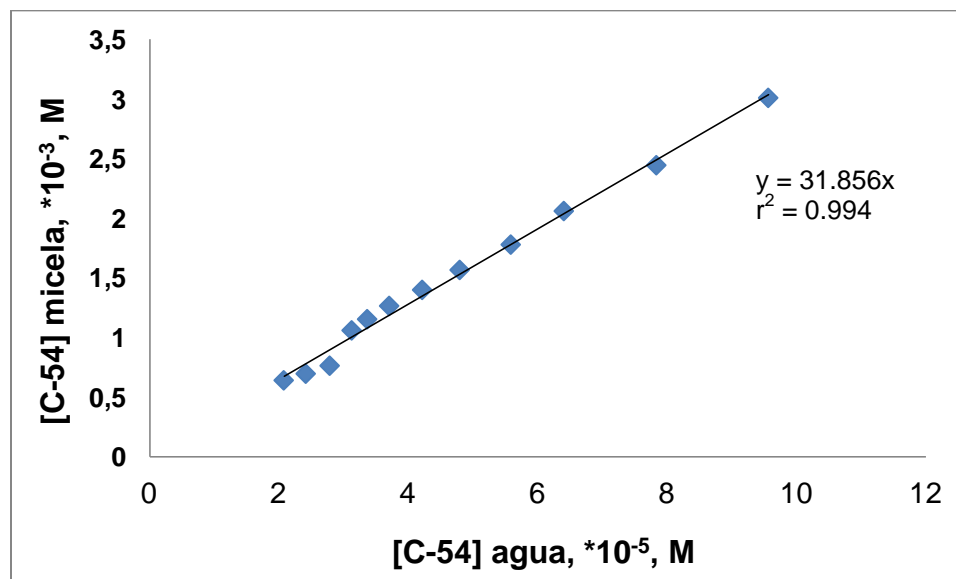


Gráfico 13. Curva de reparto del compuesto **54** en Pluronic F-127.

4.5 Ensayos de actividad antifúngica, *in vitro*, contra las cepa de *Botrytis cinerea* y *Phytophthora cinnamomi* Rands de geraniifenoles activos, en su forma encapsulada.

A partir de los resultados obtenidos en la evaluación de los compuestos geraniifenoles en su actividad antifúngica, *in vitro*, contra *Botrytis cinerea* y *Phytophthora cinnamomi* Rands en su forma libre (un alto porcentaje de inhibición micelial) y los resultados en el rendimiento de la reacción de Alilación Friedel-Crafts en la obtención de los compuestos sintetizados, se seleccionaron los compuestos para evaluar su actividad antifúngica, *in vitro*, contra los dos hongos en su forma encapsulada. Los compuestos seleccionados que presentan actividad antifúngica contra ambos hongos son los compuestos **49, 50, 53, 54, 58, 66, 67** y **68**, con porcentajes de inhibición de crecimiento micelial sobre un 70% a 250 mg/L. También se seleccionó un compuestos que presenta una baja actividad antifúngica, para ver si este compuesto una vez encapsulado pueda aumentar su actividad, debido a la facultad de la micela de aumentar la solubilidad de los compuestos apolares, para este caso se eligió el compuesto **46**.

En la Tabla 6 se muestra la comparación de los resultados obtenidos en el porcentaje del crecimiento micelial de compuestos geraniifenoles seleccionados sin encapsular y encapsulados en Pluronic F-127 contra *Botrytis cinerea*, a tres diferentes concentraciones (50, 150 y 250 mg/L), a un tiempo de inoculación de 72 hr.

Tabla 6. Efecto de actividades antifúngicas, *in vitro*, de compuestos geraniifenoles sin encapsular y encapsulados en Pluronic F-127 contra *Botrytis cinerea*.

Compuesto	Sin encapsular			Encapsulados		
	50 ppm	150 ppm	250 ppm	50 ppm	150 ppm	250 ppm
46	5±2,0	9±2,0	12±0	0±0	55±3,0	85±2,0
49	37±2,2	65±2,5	82±2,3	10±2,0	51±0	76±1,0
50	25±1,5	61±2,1	93±2,4	36±0	51±0	76±0
53	49±3,3	56±2,8	56±2,1	24±2,0	69±0	85±2,0
54	58±2,1	82±3,0	86±1,4	29±2,4	86±1,1	97±0,2
58	29±0	56±3,0	72±2,0	21±2,0	50±2,0	69±1,0
66	49±3,3	59±3,0	79±2,0	36±0	53±2,0	79±1,0
67	32±2,2	41±1,7	71±3,8	21±2,0	55±3,0	71±0
68	44±2,6	66±2,0	69±0,7	8±0	50±2,0	76±1,0
C-	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
C+(Captan)	89±1,6	94±1,5	94±1,7	23±1,8	73±2,4	86±2,3

Para el caso de *Botrytis cinerea*, el compuesto **46** fue el único compuesto que aumentó significativamente su actividad antifúngica al ser encapsulado, para una concentración de 150 mg/L de un valor de 9% a 55% inhibición del crecimiento micelial y de 12% a 85% de inhibición para una concentración de 250 mg/L. El compuesto **53** aumentó su actividad antifúngica al ser encapsulado a una concentración de 250 mg/L de un 56% a un 85% de inhibición del crecimiento micelial, y el compuesto **54** aumentó su actividad antifúngica de un 86% a un 97% de inhibición de crecimiento micelial, a una concentración de 250 mg/L. Los demás compuestos bajaron levemente su actividad o la mantuvieron en el mismo rango.

En la Tabla 7 se muestra la comparación de los resultados obtenidos en el porcentaje del crecimiento micelial de compuestos geranilfenoles sin encapsular y encapsulados en Pluronic F-127 contra *Phytophthora cinnamomi* Rands, a tres diferentes concentraciones (50, 150 y 250 mg/L), a un tiempo de inoculación de 168 hr.

Tabla 7. Efecto de actividades antifúngicas, *in vitro*, de compuestos geranilfenoles sin encapsular y encapsulados en Pluronic F-127 contra *Phytophthora cinnamomi*.

Compuesto	Sin encapsular			Encapsulados		
	50 ppm	150 ppm	250 ppm	50 ppm	150 ppm	250 ppm
46	37±1,7	44±1,8	0±0	0±0	0±0	0±0
49	73±2,9	92±1,9	99±0,6	0±0	0±0	0±0
50	14±1,1	43±3,5	55±3,1	0±0	0±0	0±0
53	42±2,3	64±0	76±1,1	37±1,8	61±2,9	71±0
54	96±0	100±0	100±0	75±0	84±0	91±0
58	4±0,6	15±1,8	1±1,9	0±0	0±0	0±0
66	59±0	67±1,3	76±1,1	37±1,8	39±0	55±2,5
67	59±0	63±1,4	71±3,4	0±0	0±0	0±0
68	55±3,1	64±0	79±3,3	0±0	0±0	0±0
C-	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
C+(Metalaxil)	99±0	99±0	100±0	100±0	100±0	100±0

Para el caso de *P. cinnamomi*, los únicos compuestos que presentaron actividad antifúngica en forma encapsulada fueron los compuestos **53**, **54** y **66**. El compuesto **53** mantuvo los valores de porcentaje de inhibición en el mismo rango, el compuesto **54** bajo levemente sus porcentajes de inhibición, en cambio, el compuesto **66** bajo notoriamente

sus porcentajes de inhibición a las diferentes concentraciones. Los demás compuestos no presentaron actividad antifúngica en forma encapsulada contra *P. cinnamomi*, dando un porcentaje de inhibición igual a cero. En la Figura 51 se muestra el efecto de los geranilfenoles encapsulados sobre el crecimiento micelial, *in vitro*, (A) contra *Botrytis cinerea* para el compuesto **46** y (B) contra *Phytophthora cinnamomi* para el compuesto **53** encapsulados en Pluronic F-127, a diferentes concentraciones (50, 150 y 250 mg/L) a un tiempo de inoculación de 72 hr y 168 hr, respectivamente.

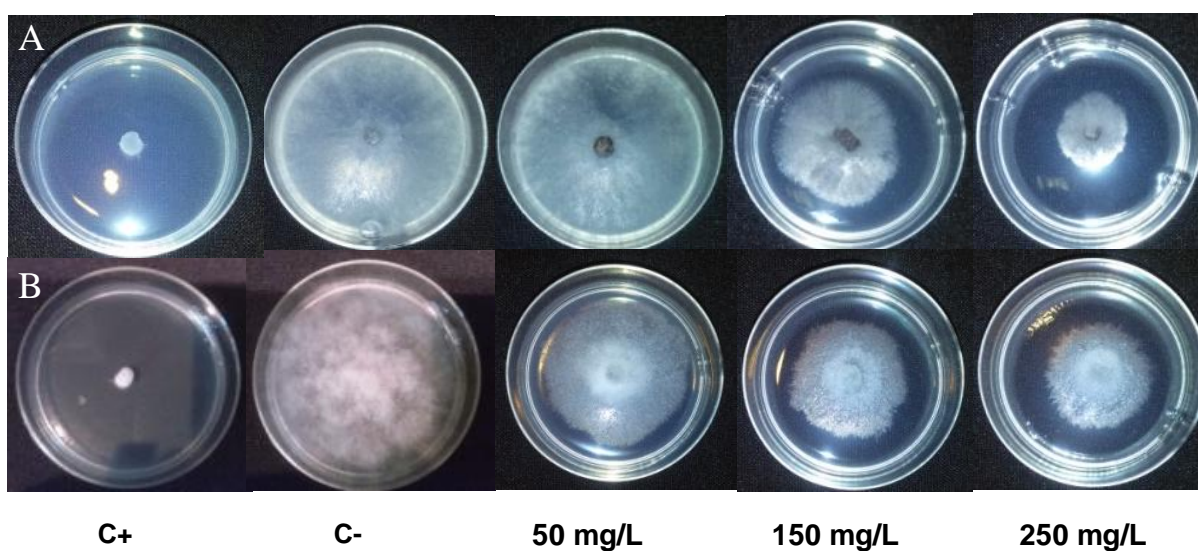


Figura 51. Efecto de los geranilfenoles encapsulados sobre el crecimiento micelial, *in vitro*, (A) compuesto **46** para *B.cinerea*, (B) compuesto **53** para *P. cinnamomi*, a diferentes concentraciones (50, 150 y 250 mg/L). El control positivo (C+) Captan® para *B.cinerea* y Metalaxil® para *P.cinnamomi*. Control negativo, el medio que contiene sólo PDA y 1% de etanol.

4.6 Cálculo de Log P para los compuestos geranilfenoles.

El coeficiente de reparto de una sustancia es un cociente o proporción entre las concentraciones de un compuesto no-ionizado entre los dos disolventes. El logaritmo del cociente entre las concentraciones del soluto no-ionizado en los disolventes se llama **Log P** y se presenta en forma logarítmica porque el rango de valores que puede tomar es muy amplio, y se representa con la siguiente ecuación:

$$\log P = \log \left(\frac{[\text{solute}]_{\text{octanol}}}{[\text{solute}]_{\text{agua}}} \right)$$

Se obtuvo el valor de Log P calculado para los geranilfenoles sintetizados utilizando el Programa ChemDraw Ultra 8.0, donde los resultados se muestran en la Tabla 8.

Tabla 8. Valores de Log P de geranilfenoles sintetizados

N° compuesto	Log P	N° compuesto	Log P
42	4,38	59	4,64
43	4,38	60	4,64
44	7,5	61	4,64
45	4,38	62	4,64
46	7,5	63	4,28
47	7,5	64	4,51
48	4,86	65	7,63
49	4,86	66	4,51
50	7,98	67	4,51
51	7,98	68	4,51
52	3,99	69	4,51
53	4,25	70	4,39
54	4,38	71	4,39
55	4,64	72	7,39
56	4,64	73	7,51
57	4,64	74	4,39
58	7,76	75	7,51

Los compuestos que presentaron mayor actividad antifúngica *in vitro*, en forma libre contra *Botrytis cinerea* son los compuestos **49, 50, 51, 52, 54, 66, 69, 70, 71 y 75**, con porcentajes de inhibición de crecimiento micelial de un 80%, a una concentración de 250 mg/L. Estos compuestos presentan en su estructura dos grupo hidroxilos en el anillo aromático (**49, 50, 51, 52 y 54**), y de dos a tres grupos metoxilos en el anillo aromático (**66, 69, 70, 71 y 75**). Los compuestos **49, 52, 54, 66, 69, 70 y 71** son compuestos monoprenilados, con Log P de 4,86; 3,99; 4,38; 4,51; 4,51; 4,39 y 4,39, respectivamente. Además, los compuestos que también presentan una actividad alta son los compuestos diprenilados, que son los compuestos **50, 51 y 75**, con Log P de 7,98, 7,98 y 7,51, respectivamente. Por lo tanto, el intervalo de Log P de los compuestos activos contra *B. cinerea* sería de 3,99 a 7,98.

Para el caso de *Phytophthora cinnamomi* Rands, los compuestos que presentaron mayor actividad antifúngica, *in vitro*, en forma libre son los compuestos **42, 43, 45, 48, 49, 52, 54, 59, 60, 62 y 68**, con porcentajes de inhibición de crecimiento micelial de un 80%, a una concentración de 250 mg/L. De éstos últimos, se destacan los compuestos **45, 48, 54 y 62** con porcentajes de inhibición de crecimiento micelial sobre un 90%, a una concentración de 50 mg/L. Estos compuestos presentan en su estructura dos grupos hidroxilos en el anillo aromático (**42, 43, 45, 48, 49, 52 y 54**) y, de un grupo hidroxilo y un o dos grupos metoxilo en el anillo aromático (**59, 60, 62 y 68**). En este caso, todos los compuestos son monoprenilados, que corresponden a los compuestos **42, 43, 45, 48, 49, 52, 54, 59, 60, 62 y 68**, con un intervalo de Log P de 3,99 a 4,64. Desde los resultados observados se desprende que, los compuestos más polares sería más activos en su forma libre contra *Phytophthora cinnamomi*, en cambio, los más apolares (tanto monoprenilados como diprenilados) serían más activos contra *Botrytis cinerea*.

CAPITULO 5 - CONCLUSIONES

1. En este trabajo se sintetizaron 34 derivados de geranilfenoles (Figura 52), a partir de los fenoles correspondientes con geraniol, utilizando la reacción de sustitución electrofílica aromática catalizada por $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$, de los cuales 11 compuestos corresponden a moléculas nuevas: **44**, **46**, **47**, **52**, **58**, **68**, **69**, **72**, **73**, **74** y **75**.

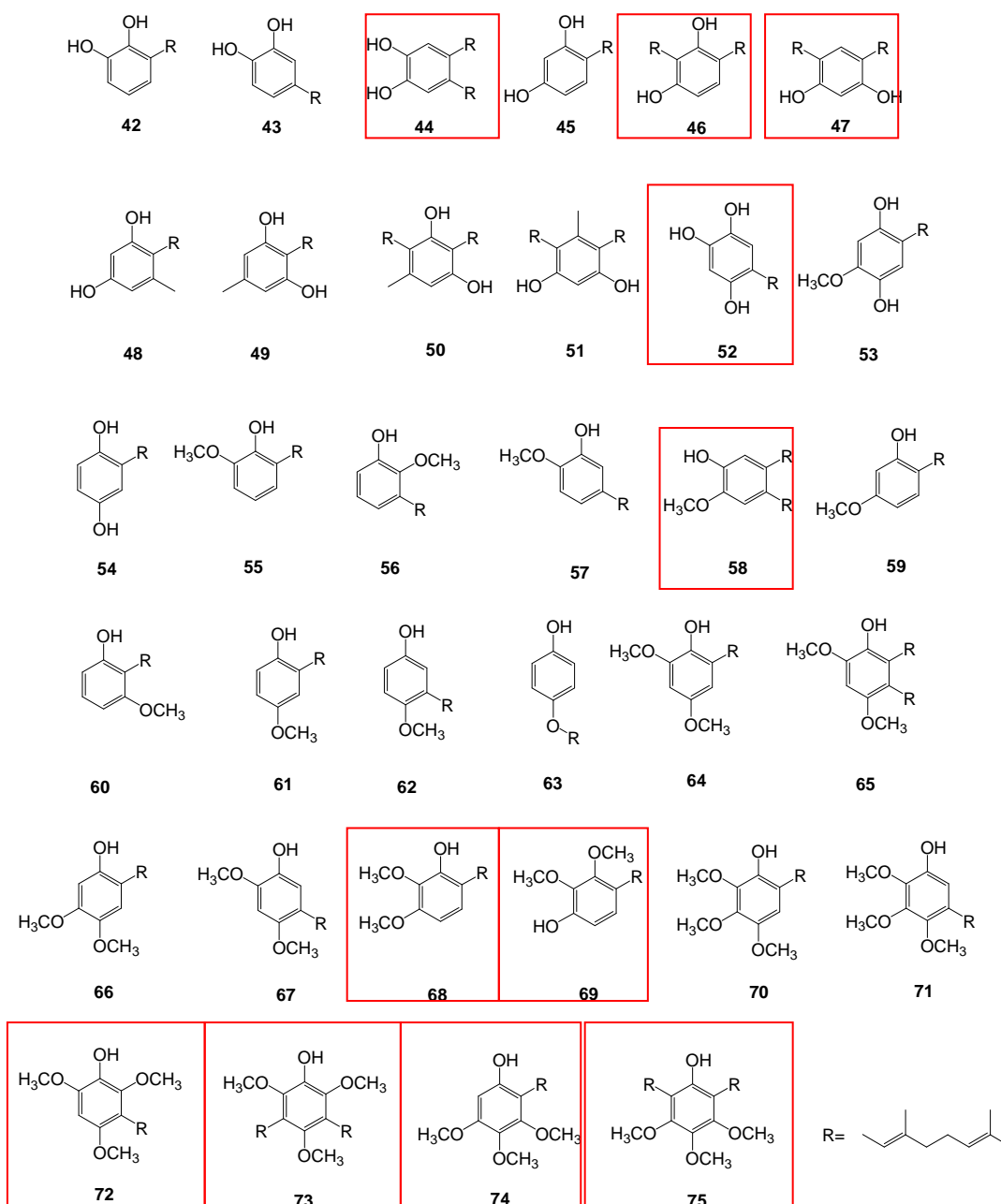


Figura 52. Estructura de geranilfenoles obtenidos en este trabajo.

2.- De los 30 derivados de geranilfenoles, aplicados contra *B. cinerea* y *P. cinnamomi* Rands se determinó que los compuestos que presentaron mayor actividad antifúngica *in vitro*, en forma libre contra *Botrytis cinerea* son los compuestos **49, 50, 51, 52, 54, 66, 69, 70, 71** y **75**, presentando porcentajes de inhibición de crecimiento micelial sobre un 78%, a una concentración de 250 mg/L. Aquellos compuestos que poseen en su estructura dos grupos hidroxilos en la posición 1-3 (**49, 50, 51**) y posición 1-4 (**52** y **54**) en el anillo aromático, tienen un rango de porcentaje de inhibición de crecimiento micelial de 78% a 93%; en cambio los compuestos que tienen sólo un grupo hidroxilo y dos a tres grupos metoxilos (**66, 69, 70, 71** y **75**) tienen un rango de porcentaje de inhibición de crecimiento micelial de 78% a 91%. Estos geranilfenoles son monoprenilados y diprenilados, donde el intervalo de *Log P* para estos compuestos es de 3,99 a 7,98.

Para el caso de *Phytophthora cinnamomi* Rands, los compuestos que presentaron mayor actividad antifúngica *in vitro*, en forma libre son los compuestos **42, 43, 45, 48, 49, 52, 53, 54, 59, 60, 61, 62** y **68**, con porcentajes de inhibición de crecimiento micelial mayor a 76%, a una concentración de 250 mg/L. De éstos últimos, se destacan los compuestos **45, 48, 54** y **62** con porcentajes de inhibición de crecimiento micelial mayor a 90%, a una concentración de 50 mg/L. Igualmente, los compuestos que en su estructura presentan dos grupos hidroxilos en la posición 1-2 (**42** y **43**); posición 1-3 (**45, 48, 49**) y posición 1-4 (**52, 53, 54**) en el anillo aromático, tienen un rango de porcentaje de inhibición de crecimiento micelial entre 76% a 91%; en cambio, los compuestos con un grupo hidroxilo y uno-dos grupos metoxilos (**59, 60, 61, 62, 66** y **68**) tienen un rango de porcentaje de inhibición de crecimiento micelial entre 76% a 92%. En este caso, a diferencia de lo que sucede frente a *B. cinerea*, sólo fueron activos los geranilfenoles monoprenilados, donde el intervalo de *Log P* para estos compuestos es de 3,99 a 4,64.

Para la mayoría de los geranilfenoles, al aumentar el número de grupos metoxilos en el anillo aromático la actividad antifúngica mejora, para el caso de *B. cinerea*, en cambio, para *P. cinnamomi* ocurre lo contrario, es decir disminuye el porcentaje de inhibición micelial. En forma ascendente de la cantidad de grupos metoxilos en el anillo aromático, se obtuvieron los siguientes resultados: *B. cinerea*: 1-OCH₃ (**59, 60, 61, 62** = 40-64 % I.C.micelial) < 2-OCH₃ (**66, 67, 68, 69** = 69-79 % I.C.micelial) < 3-OCH₃ (**70, 71, 72, 73, 75**= 66-91 % I.C.micelial). Para *P. cinnamomi*: 1-OCH₃ (**59, 60, 61, 62** = 76-92 % I.C.micelial) > 2-OCH₃ (**66, 67, 68, 69** = 67-79 % I.C.micelial) > 3-OCH₃ (**70, 71, 72, 73, 75**= 5-36 % I.C.micelial).

3.- Se verificó la incorporación del compuesto **54** en la formulación de la micela con Pluronic F-127 (PEO₁₀₀-PPO₆₅-PEO₁₀₀; copolímeros tribloque) mediante la distribución del tamaño e intensidad de los agregados, donde se utilizó el equipo *Dynamic light scattering* (DLS) para observar la formación de las micelas poliméricas con y sin el compuesto **54** (Gráfico 12). Además, a través del valor de la constante de reparto del compuesto **54** en Pluronic F-127 que fue de $3,19 \times 10^4$ [M⁻¹], se valida el hecho de que se logró encapsular el compuesto en las micelas poliméricas (Gráfico 13).

4.- Se comprobó que el encapsulamiento de algunos de los compuestos pertenecientes al grupo de los geranilfenoles, mejoran la actividad antifúngica; para el caso de: *Botrytis cinerea*, sólo los compuestos **53** y **54** encapsulados en Pluronic F-127, mejoraron su actividad antifúngica, de un 56% a un 85% de inhibición del crecimiento micelial para el compuestos **53**, y de un 86% a un 97% de inhibición del crecimiento micelial para el compuesto **54**, a una concentración de 250 mg/L. Estos compuestos presentan grupos hidroxilos en la posición 1-4 en el anillo aromático. Sin embargo, donde se logró apreciar sustancialmente la mejora de la actividad biológica fue al aplicar el compuesto **46** encapsulado, su actividad antifúngica aumentó significativamente de un 12% a un 85% de inhibición de crecimiento micelial de *B.cinerea*, a una concentración de 250 mg/L, por lo tanto, efectivamente en este caso, la micela facilita la incorporación de este compuesto en el hongo fitopatógeno.

Para el caso de *Phytophthora cinnamomi* Rands sólo los compuestos **53** y **54** encapsulados inhiben el crecimiento del patógeno, los demás compuestos no presentaron una significativa actividad antifúngica contra el hongo. Para este patógeno, se podría inferir que su pared celular debería ser más selectiva frente a la acción de estos compuestos, ya que permite fácilmente el ingreso de éstos, a las células del hongo cuando se encuentran sin encapsular, en cambio cuando se encuentra en la micela disminuye su actividad permitiendo que el hongo crezca. Esto probablemente se deba a que la micela queda atrapada en la pared celular del hongo y no se produzca la acción fungicida de los compuestos ya que la micela no liberaría o difundiría el compuesto, por lo tanto, este no dañaría la pared celular y tampoco pasaría al espacio citoplasmático del hongo.

5.- Se concluyó que el grupo II de compuestos, que posee la geranilhidroquinona y sus derivados, son los que presentaron un mayor porcentaje de inhibición de crecimiento

micelial en ambos hongos patógenos. Sus actividades se han justificado por su capacidad de sufrir ciclos redox, que involucran la generación de EROS (Especies Reactivas de Oxígeno) bajo condiciones aerobias. Los EROS son poderosos agentes oxidantes y probablemente son los responsables del daño a las macromoléculas como ADN, proteínas y lípidos, provocando estrés oxidativo y apoptosis en las células del hongo¹²⁰⁻¹²².

6.- Se puede decir que existen compuestos específicos que son más activos para un determinado hongo fitopatógeno, y que esta actividad antifúngica, está relacionada con su estructura. Sin embargo, también hay compuestos que presenta actividad antifúngica contra los dos hongos fitopatógenos, por lo tanto no son específicos.

Al encapsular los compuestos más activos, para el caso de *B.cinerea*, éstos en su mayoría conservan su actividad antifúngica y el compuesto menos activo en forma libre, al encapsularse mejoró la actividad antifúngica contra el hongo. Para el caso de *P.cinnamomi*, sólo tres compuestos encapsulados presentaron actividad antifúngica y los demás compuestos no presentaron actividad significativa, con lo que se podría inferir que los mecanismos de acción y muerte del hongo son totalmente diferentes, ambos están conformados estructuralmente de forma distinta (tienen pared celular diferente, pertenecen a distintos géneros taxonómicos). Se puede mencionar que sólo se han realizado experimentos del mecanismo de acción del compuesto **54** frente a *B. cinerea*, donde se determinó que este compuesto altera la integridad de la membrana plasmática (Díaz K., Espinoza L., Datos no publicados 2016).

7.- Finalmente el trabajo de investigación desarrollado en esta tesis, permitió confirmar la hipótesis planteada, demostrando que estructuras de geranilfenoles lineales sintéticos conteniendo grupos hidroxilo y metoxilo en el anillo aromático, poseen actividad inhibitoria del crecimiento sobre patógenos vegetales, y que pueden mejorar su actividad antifúngica una vez encapsulado en micelas poliméricas.

8.- Como investigación posterior a este trabajo, se recomienda seguir profundizando en los siguientes puntos:

- Encontrar un método sintético que permita aumentar el rendimiento de la reacción en la síntesis de geranilfenoles, dado que los rendimientos obtenidos fueron entre 1% a 27%, donde la mayoría no sobrepasa del 10% de rendimiento.
- Realizar un estudio cuantitativo de relación estructura-actividad (3D-QSAR) de los geranilfenoles.
- Seguir trabajando en el encapsulamiento de geranilfenoles, tratando con una variedad de polímeros en la obtención de micelas, de tal forma de plantear algún mecanismo de incorporación y de acción de los compuestos activos sobre los hongos fitopatógenos.

5.1. PUBLICACIONES Y CONGRESOS

5.1.1 Publicación.

- **María I. Chávez**, Mauricio Soto, Lautaro Taborga, Katy Díaz, Andrés F. Olea, Camila Bay, Hugo Peña-Cortés and Luis Espinoza, "Synthesis and *in Vitro* Antifungal Activity against *Botrytis cinerea* of Geranylated Phenols and Their Phenyl Acetate Derivatives", *Int. J. Mol. Sci.* **2015**, *16*(8), 19130-19152; doi:[10.3390/ijms160819130](https://doi.org/10.3390/ijms160819130)
- Mauricio Soto, Luis Espinoza, **María I. Chávez**, Katy Díaz, Andrés F. Olea and Lautaro Taborga, "Synthesis of New Hydrated Geranylphenols and *in Vitro* Antifungal Activity against *Botrytis cinerea*", *Int. J. Mol. Sci.* **2016**, *17*(6), 840; doi:[10.3390/ijms17060840](https://doi.org/10.3390/ijms17060840)

5.1.2 Asistencia a Congresos.

1. XXX Jornadas Chilenas de Química, 12-15 de Nov. 2013, Pucón, Chile. María Isabel Chávez, Lautaro Taborga, Luis Espinoza, Francisco Marilaf, Katy Díaz, Andrés Olea, Hugo Peña-Cortés "SÍNTESIS DE GERANILFENOLES LINEALES Y ACTIVIDAD BIOLÓGICA CONTRA *Botrytis cinerea* Y *Phytophthora cinnamomi* Rands".
2. 31° Congreso Latinoamericano de Química, 14-17 de Octubre 2014, Lima, Perú. María Isabel Chávez, Lautaro Taborga, Luis Espinoza, Camila Bay, Katy Díaz, Andrés Olea, Hugo Peña-Cortés "ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DE ANÁLOGOS SINTÉTICOS DE GERANILFENOLES LINEALES CONTRA *Botrytis cinerea*".
3. XX Simposio Nacional de Química Orgánica, Sociedad Argentina de Investigación en Química Orgánica, 11 al 14 de Noviembre de 2015, Mar del Plata, Argentina. María I. Chávez, Mauricio Soto, Lautaro Taborga, Katy Díaz, Andrés F. Olea, Hugo Peña-Cortés, y Luis Espinoza, "ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DE ANÁLOGOS SINTÉTICOS DE GERANILFENOLES LINEALES CONTRA *Botrytis cinerea*".
4. 32° Congreso Latinoamericano de Química, Sociedad Chilena de Química, 19-22 de Enero 2016, Concepción, Chile. María I. Chávez, Mauricio Soto, Lautaro Taborga, Katy Díaz, Andrés F. Olea, Hugo Peña-Cortés, y Luis Espinoza,

“SÍNTESIS DE ANÁLOGOS SINTÉTICOS DE GERANILFENOLES LINEALES Y SU EVALUACIÓN CONTRA *Botrytis cinerea*”.

5. IX International Symposium on Natural Product, 22 al 25 de Noviembre del 2016, Chillán, Chile. María I. Chávez, Mauricio Soto, Lautaro Taborga, Katy Díaz, Andrés F. Olea y Luis Espinoza. “ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DE ANÁLOGOS DE GERANILFENOLES CONTRA *Botrytis cinerea* y *Phytophthora cinnamomi*”

6. BIBLIOGRAFÍA

- (1) ODEPA(Oficina de Estudios y Políticas Agrarias). Avance por producto de exportación.
- (2) Muñoz, M. Boletín Frutícola. ODEPA. 2015, p 19.
- (3) Vázquez, L. Boletín Manejo de Plagas En La Agricultura Ecológica. *Boletín Fitosanitario*. 2010, p 115.
- (4) AR(Alliance Rainforest). Lista de Plaguicidas Prohibidos. *Red de Agricultura Sostenible*. 2011, p 8.
- (5) EC(European Commission). Pesticides. 2015, p 10.
- (6) EPA(Enviromental Protection Agency). Lista de Pesticidas Permitidos. 2015, p 10.
- (7) Morales, M. A. Resistencia de Los Hingos a Los Fungicidas. *Aconex* **1986**, 13, 25–26.
- (8) Tewari, S. N. Toxic Effect of a Few Botanicals on the Three Fungal Pathogens of Rice. *Indian Society of Tobacco Science*. 1990, pp 397–403.
- (9) Baruah, P.; Sharma, R. K.; Singh, R. S., & Ghosh, A. C. Fungicidal Activity of Some Naturally Occurring Essential Oils against Fusarium Moniliforme. *J. Essent. Oil Res.* **1996**, 8 (4), 411–412.
- (10) Sánchez-pérez, J. D. L.; Salgado-garciglia, R.; López-meza, J. E. Root Extracts from Mexican Avocado (*Persea Americana* Var . *Drymifolia*) Inhibit the Mycelial Growth of the Oomycete Phytophthora Cinnamomi. *Eur. J. Plant Pathol.* **2009**, 124, 595–601.
- (11) Cortés, M.; Hernández, A.; López, R.; Salgado, R. La Búsqueda de Genes de Resistencia Como Una Alternativa Para La Selección de Portainjertos de Aguacate Con Tolerancia a Phytophthora Cinnamomi. *Biológicas* **2010**, 12 (2), 143–150.
- (12) Santa María, R. Botrytis En Uva de Mesa. *Aconex* **1982**, 1, 27–29.
- (13) Saavedra, A. La Pudricion Gris de La Vid, Botrytis Cinerea Pers., Ex Fr. Algunos Aspectos Epidemiologicos de Importancia Para Su Control. *Aconex* **1983**, 4, 15–18.
- (14) Latorre, B. Manejo de Botrytis Cinerea En Uva de Mesa. *Revista Frutícola*. 1986, pp 75–83.
- (15) Alvarez, M.; Pinilla, B.; Valenzuela, J. Uva de Mesa En Chile. *Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Santiago, Chile*. 2000, pp 212–215.
- (16) Elad, Y.; Williamson, B.; Tudzynski, P.; Delen, N. Botrytis Spp. and Diseases They Cause in Agricultural Systems—an Introduction. In *Botrytis: Biology, Pathology and Control*; 2004; pp 1–8.
- (17) Prins, T. W.; Tudzynski, P.; von Tiedemann, A., Tudzynski, B.; Ten Have, A.; Hansen, M. E.; van Kan, J. A. Infection Strategies of Botrytis Cinerea and Related Necrotrophic Pathogens. In *Fungal pathology*; 2000; pp 33–64.
- (18) Repka, V. Early Defence Responses Induced by Two Distinct Elicitors Derived from a Botrytis Cinerea in Grapevine Leaves and Cell Suspensions. *Biol. Plant.* **2006**, 50 (1), 94–106.
- (19) Rosslenbroich, H. J.; Stuebler, D. Botrytis Cinerea—history of Chemical Control and Novel Fungicides for Its Management. *Crop Prot.* **2000**, 19 (8), 557–561.
- (20) Mercader, G.; Zaldúa, S.; González, G.; Sanfuentes, E. Selección de Hongos Antagonistas Para El Control Biológico de Botrytis Cinerea En Viveros Forestales En Chile Screening to Antagonistic Fungi for Botrytis Cinerea Biocontrol in Chilean Forest Nurseries. *Bosque* **2006**, 27 (2), 126–134.
- (21) Ponce-González, F.; García-Aguirre, M. G.; Lozoya-Saldaña, H.; Herrera-Suarez, T. Resistencia de Botrytis Cinerea (Pers.) Fr ., a Dos Fungicidas Benzimidazoles Utilizados En La Floricultura. *Rev. Chapingo Ser. Hortic.* **2002**, 8 (1), 95–99.

- (22) Zentmyer, G. A. Origin and Distribution of Four Species of Phytophthora. *Trans. Br. Mycol. Soc.* **1988**, 91 (3), 367–378.
- (23) López, H. Hongos Del Suelo En El Cultivo de Aguacate. *Curso de Enfermedades del Palto, Quillota, Chile.* 1998, p 10.
- (24) De Andraca, H. Etiología Y Control de La Tristeza Del Palto Causada Por Phytophthora Cinnamomi, Universidad Católica de Valparaíso, 1997.
- (25) Arenas, C. Evaluación de Incidencia Y Severidad de La Enfermedad Tristeza Del Palto Causada Por Phytophthora Cinnamomi En Plantas de Palto Cv, Mexicola Cultivada En Maceta, En Relación a Distintos Periodos de Inundación Del Suelo, Universidad Católica de Valparaíso, 1998.
- (26) Coffey, M. Cause and Diagnosis: Avocado Root Rot. *Calif. Grow.* **1991**, 15 (3), 17–22.
- (27) Erwin, D. C.; Ribeiro, O. K. *Phytophthora Diseases Worldwide*; APS Press, 1996.
- (28) Vidales, F.; Alcantar, R. Acción de La Solarización Y de La Materia Orgánica En El Control de La Tristeza Phytophthora Cinnamom I Rands Del Aguacate Persea Americana L. *Revista Chapingo Serie Horticultura.* 1999, pp 255–259.
- (29) Hardham, A. R. Phytophthora Cinnamomi. *Mol. Plant Pathol.* **2005**, 6 (6), 589–604.
- (30) Schwinn, F.; Staub, T. Phenylamides and Other Fungicides against Oomycetes. Harlow, Essex, England : Longman Scientific & Technical 1995, p 14.
- (31) Barrette, S.; Shearer, B. L.; Hard, E. S. J. Control of Phytophthora Cinnamomi by the Fungicide Phosphite in Relation to in Planta Phosphite Concentrations and Phytotoxicity in Native Plant Species in Western Australia. *Plant Pathol. J.* **2001**, 138, 138–143.
- (32) Pegg, K. G.; Whiley, A. W.; Langdon, P. W.; Saranah, J. B. Comparison of Phosetyl-Al, Phosphorous Acid and Metalaxyl for the Long-Term Control of Phytophthora Root Rot of Avocado. *Anim. Prod. Sci.* **1987**, 2 (3), 471–474.
- (33) SAG. Agricultura Orgánica Nacional Bases Técnicas Y Situación Actual | Servicio Agrícola Y Ganadero. 2014, p 157.
- (34) Cano, E.; López, J. A.; Cano, E.; Carballo, C. V.; Guharay, F. *Control Biológico de Plagas Agrícolas*; Bib. Orton IICA/CATIE, 2004.
- (35) Trenc, J. E. Percepción Del Riesgo Y Uso de Pesiicidas En La Agricultura. *Revista Ecología Política N: La Movilidad en Las Ciudades. Sostenibilidad Urbana.* 1999, p 17.
- (36) Díaz Jaimes, L. A. Análisis de La Conservación Y La Agroecología En Áreas Naturales Protegidas Del Trópico Andino, Universidad Internacional de Andalucía, 2012.
- (37) Garrido, M. *Proyecto XIX.4 de CYTED Sobre "Normativas de Agricultura Orgánica Para Iberoamérica"*; 2004.
- (38) De Rosa, S.; De Giulio, A.; Iodice, C. Biological Effects of Prenylated Hydroquinones: Structure-Activity Relationship Studies in Antimicrobial, Brine Shrimp, and Fish Lethality Assays. *J.Nat.Prod.* **1994**, 57 (12), 1711–1716.
- (39) Rudall, G. Research on the Radioprotective Action of Geranyl-Hydroquinone. *C. R. Seances Soc. Biol. Fil.* **1965**, 160 (7), 1365–1369.
- (40) Syper, L.; Kloc, K. Synthesis of Ubiquinone and Menaquinone Analogues by Oxidative Demethylation of Alkenylhydroquinone Ethers with Argentic Oxide or Ceric Ammonium Nitrat. *Tetrahedron* **1980**, 36 (1), 123–129.
- (41) Cotoras, M.; Folch, C.; Mendoza, L. Characterization of the Antifungal Activity on Botrytis Cinerea of the Natural Diterpenoids Kaurenoic Acid and 3 -Hydroxy-Kaurenoic Acid. *J. Agric. Food Chem.* 2004, **2004**, 52 (10), 2821–2826.
- (42) Mendoza, L.; Espinoza, P.; Urzua, A.; Vivanco, M.; Cotoras, M. In Vitro Antifungal

- Activity of the Diterpenoid 7 α -Hydroxy-8(17)-Labden-15-Oic Acid and Its Derivatives against *Botrytis Cinerea*. *Molecules* **2009**, *14*, 1966–1979.
- (43) Altomare, C.; Pengue, R.; Favilla, M.; Evidante, A.; Visconti, A. Structure – Activity Relationships of Derivatives of Fusapyrone , an Antifungal Metabolite of *Fusarium Semitectum*. *J. Agric. Food Chem.* **2004**, *52* (10), 2997–3001.
- (44) Ortiz, Y.; Spengler, I.; Collado, I.; Hernández-Galán, R. The Antifungal Activity of Widdrol and Its Biotransformation by. *J. Agric. Food Chem.* **2006**, *54* (20), 7517–7521.
- (45) Gong, S.; Hao, J.; Xia, Y.; Li, J. Inhibitory Effect of Bionic Fungicide 2-Allylphenol on *Botrytis Cinerea* (Pers . Ex Fr .) in Vitro. *Pest Manag. Sci.* **2009**, *65*, 1337–1343.
- (46) Prieto, J. A.; Delgado, W. A.; Cuca, L. E.; Parra, J. E.; Patin, O. J. Phytochemistry Letters A New Benzoic Acid Derivative Isolated from *Piper Cf . Cumanense Kunth* (Piperaceae). *Phytochem. Lett.* **2013**, *6*, 590–592.
- (47) Vicedo, B.; Leyva, M.; Flors, V.; Finiti, I.; Amo, G.; Walters, D.; Real, M. D.; García-Agustín, P.; González-Bosch, C. Control of the Phytopathogen *Botrytis Cinerea* Using Adipic Acid Monoethyl Ester. *Arch Microbiol* **2006**, *184*, 316–326.
- (48) Mendoza, L.; Araya-Maturana, R.; Cardona, W.; Delgado-Castro, T.; García, C.; Lagos, C.; Cotoras, M. In Vitro Sensitivity of *Botrytis Cinerea* to Anthraquinone and Anthrahydroquinone Derivatives. *J. Agric. Food Chem.* **2005**, *53* (26), 10080–10084.
- (49) Zhou, Y.; Behrendt, J.; Sutherland, A. J.; Griffiths, G. Synthetic Molecular Mimics of Naturally Occurring Cyclopentenones Exhibit Antifungal Activity towards Pathogenic Fungi Printed in Great Britain. *Microbiology* **2011**, *157*, 3435–3445.
- (50) Caruso, F.; Mendoza, L.; Castro, P.; Cotoras, M.; Aguirre, M.; Isaacs, M.; Rossi, M.; Viglianti, A.; Antonioletti, R. Antifungal Activity of Resveratrol against *Botrytis Cinerea* Is Improved Using 2-Furyl Derivatives. *PLoS One* **2011**, *6* (10), 2–11.
- (51) Zaki, A. I.; Zentmyer, G. A.; Pettus, J.; Sills, J. J.; Keen, N. T.; Sing, V. O. Borbonol from *Persea Spp.*-Chemical Properties and Antifungal Activity against *Phytophthora Cinnamomi*. *Physiol. Plant Pathol.* **1980**, *16* (2), 205–212.
- (52) Andolfi, A.; Maddau, L.; Linaldeddu, B. T.; Scanu, B.; Cimmino, A.; Basso, S.; Evidente, A. Bioactivity Studies of Oxysporone and Several Derivatives. *Phytochem. Lett.* **2014**, *10*, 40–45.
- (53) Yusuf, Y.; Durdane, Y.; Servet, A. Antifungal Activity of Turkish Propolis against *Phytophthora* Species. *Plant Pathol. J.* **2005**, *4* (1), 58–60.
- (54) Keqiang, C.; van Bruggen, A. H. Inhibitory Efficacy of Several Plant Extracts and Plant Products on *Phytophthora Infestans*. *J. Agric. Univ. og Hebei* **2001**, 1–7.
- (55) Kang, S. W.; Kim, S. W. New Antifungal Activity of Penicillic Acid against *Phytophthora* Species. *Biotechnol. Lett.* **2004**, *26* (9), 695–698.
- (56) Faulkner, D. J. Marine Natural Products. *Nat. Prod. Rep.* **1986**, *3*, 1–33.
- (57) Ochi, M.; Kotsuki, H.; Inoue, S. Isolation of 2-(3, 7, 11-Trimethyl-2, 6, 10-Dodecatrienyl) Hydroquinone from the Brown Seaweed *Dictiopteris Undulata*. *Chem. Lett.* **1979**, *8* (7), 831–832.
- (58) Capon, R. J.; Ghisalberti, E. L.; Jefferies, P. R. Isoprenoid Dihydroquinones from a Brown Alga, *Cystophora Sp.* *Phytochemistry* **1981**, *20* (11), 2598–2600.
- (59) Gerwick, W. H.; Fenical, W. Ichthyotoxic and Cytotoxic Metabolites of the Tropical Brown Alga *Styopodium Zonale* (Lamouroux) Papenfuss '. *J. Org. Chem.* **1981**, *46* (1), 22–27.
- (60) De Rosa, S.; Crispino, A.; De Giulio, A., Iodice, C.; Milone, A. Sulfated Polyprenylhydroquinones from the Sponge *Ircinia Spinosula*. *Jorunal Nat. Prod.* **1995**, *58* (9), 1450–1454.

- (61) Bifulco, G.; Bruno, I.; Minale, L.; Riccio, R.; Debitus, C.; Bourdy, G.; Lavayre, J. Bioactive Prenylhydroquinone Sulfates and a Novel C31 Furanoterpene Alcohol Sulfate from the Marine Sponge, *Ircinia* Sp. *Journal Nat. Prod.* **1995**, *58* (9), 1444–1449.
- (62) Bowden, B. F.; Coll, J. C. Tetraprenylbenzoquinone Derivatives from a *Nephthea* Species of Soft Coral (Octocorallia, Alcyonacea). *Aust. J. Chem.* **1981**, *34* (12), 2677–2681.
- (63) Ravi, B. N.; Wells, R. J. Lipid and Terpenoid Metabolites of the Gorgonian *Plexaura Flava*. *Aust. J. Chem.* **1982**, *35* (1), 105–112.
- (64) Howard, B. M.; Clarkson, K.; Bernstein, R. L. Simple Prenylated Hydroquinone Derivatives from the Marine Urochordate *Aplidium californicum*. Natural Anticancer and Antimutagenic Agents. *Tetrahedron Lett.* **1979**, *20* (46), 4449–4452.
- (65) Targett, N. M.; Keeran, W. S. A Terpenehydroquinone from the Marine Ascidian *Aplidium Constellatum*. *J. Nat. Prod.* **1981**, *1696* (3), 1975–1976.
- (66) Guella, G.; Mancini, I.; Pietra, F. Verapliquinones: Novel Diprenylquinones from an *Aplidium* sp. (Asciacea) of Ile-Verte Waters, Brittany. *Helv. Chim. Acta* **1987**, *70* (3), 621–626.
- (67) Fu, X.; Hossain, M. B.; Helm, D. Van Der; Schmitz, F. J. Longithorone A: Unprecedented Dimeric Prenylated Quinone from the Tunicate. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116* (26), 12125–12126.
- (68) Fu, X.; Hossain, M. B.; Schmitz, F. J.; Helm, D. Van Der. Longithorones, Unique Prenylated Para-and Metacyclophane Type Quinones from the Tunicate *Aplidium Longithorax*. *J. Org. Chem.* **1997**, *3263* (3), 3810–3819.
- (69) Faulkner, D. J. Marine Natural Products. *Nat. Prod. Rep.* **1993**, *10* (5), 497–539.
- (70) Son, B. W.; Kim, J. C.; Choi, H. D.; Kang, J. S. A Radical Scavenging Farnesylhydroquinone from a Marine-Derived fungus *Penicillium* Sp. *Arch. Pharm. Res.* **2002**, *25* (1), 77–79.
- (71) Li, X.; Choi, H. D.; Kang, J. S.; Lee, C.; Son, B. W. New Polyoxygenated Farnesylcyclohexenones, Deacetoxyanthone A and Its Hydro Derivative from the Marine-Derived Fungus *Penicillium* Sp. *J. Nat. Prod.* **2003**, *66* (11), 1499–1500.
- (72) Reddy, P.; Urban, S. Phytochemistry Meroditerpenoids from the Southern Australian Marine Brown Alga *Sargassum Fallax*. *Phytochemistry* **2009**, *70* (2), 250–255.
- (73) Quang, D. N.; Hashimoto, T.; Arakawa, Y.; Kohchi, C.; Nishizawa, T.; Soma, G.; Asakawa, Y. Grifolin Derivatives from *Albatrellus Caeruleoporus*, New Inhibitors of Nitric Oxide Production in RAW 264.7 Cells. *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, *14*, 164–168.
- (74) Eisohly, H. N.; Turner, C. E.; Clark, A. M.; Eisohly, M. A. Synthesis and Antimicrobial Activities of Certain Cannabichromene and Cannabigerol Related Compounds. *J. Pharm. Sci.* **1982**, *71* (12), 1319–1323.
- (75) Reynolds, G. W.; Rodriguez, E. Prenylated Phenols That Cause Contact Dermatitis from Trichomes of *Phacelia Ixodes*. *Planta Med.* **1981**, *43* (10), 187–193.
- (76) Rodriguez, E.; Hedin, P. American Chemical Society: Washington, DC. In *Defense mechanisms in Solanum Melongena Plant: Possible utilization of induced and static defense in insect herbivore Management*; 1983; pp 291–303.
- (77) Chanwitheesuk, A.; Teerawutgulrag, A.; Rakariyatham, N. Food Chemistry Screening of Antioxidant Activity and Antioxidant Compounds of Some Edible Plants of Thailand. *Food Chem.* **2005**, *92* (3), 491–497.
- (78) Yamaguchi, L. F.; Lago, J. H. G.; Tanizaki, T. M.; Di Mascio, P.; Kato, M. J. Antioxidant Activity of Prenylated Hydroquinone and Benzoic Acid Derivatives from

- Piper Crassinervium Kunth. *Phytochemistry* **2006**, 67 (16), 1838–1843.
- (79) Tziveleka, L.; Kourounakis, A. P.; Kourounakis, P. N. Antioxidant Potential of Natural and Synthesised Polyprenylated Hydroquinones. *Bioorg. Med. Chem.* **2002**, 10 (4), 935–939.
- (80) Sáez Vega, A., R.; Blair, S.; Segura, C.; Figadere, B.; Seone, B. Antimalarials and Antioxidants Compounds from Piper Tricuspe (Piperaceae). *Pharmacologyonline* **2008**, 1 (1), 1–8.
- (81) Mahiou, V.; Roblot, F.; Hocquemiller, R.; Cavé, A.; Rojas De Arias, A.; Inchausti, A.; Fournet, A. New Prenylated Quinones from Peperomia Galioides. *J. Nat. Prod.* **1996**, 59 (7), 694–697.
- (82) Lin, H. C.; Chang, W. L. Phytochemical and Pharmacological Study on Salvia Miltiorhiza (L) Isolation of New Tanshinones. *Chin. Pharm.* **1991**, 43, 11–17.
- (83) Manners, G. D.; Jurd, L. The Hydroquinone Terpenoids of Cordia Alliodora. *J. Chem. Soc. Perkin Trans.* **1977**, 1 (4), 405–410.
- (84) Reynolds, G.; Rodriguez, E. Geranylhydroquinone: A Contact Allergen from Trichomes of Phacelia Crenulata. *Phytochemistry* **1979**, 18 (9), 1567–1568.
- (85) Benslimane, A. F.; Pouchus, Y. F.; Le Boterff, J.; Verbist, J. F.; Roussakis, C.; Monniot, F. Substances Cytotoxiques et Antibacteriennes de L ' Ascidie Aplidium Antillense. *J. Nat. Prod.* **1988**, 51 (3), 582–583.
- (86) Sato, A.; Shindo, T.; Kasanuki, N.; Hasegawa, K. Antioxidant Metabolites from the Tunicate Amaroucium Multiplicatum. *J. Nat. Prod.* **1989**, 52 (5), 975–981.
- (87) Ioset, J.; Marston, A.; Gupta, M. P.; Hostettmann, K. Antifungal and Larvicidal Compounds from the Root Bark of Cordia Alliodora. *J. Nat. Prod.* **2000**, 63, 424–426.
- (88) Turunen, M.; Olsson, J.; Dallner, G. Metabolism and Function of Coenzyme Q. *Biochim. Biophys. Acta* **2004**, 1660 (1), 171–199.
- (89) Shubina, L. K.; Fedorov, S. N.; Radchenko, O. S.; Balaneva, N. N.; Kolesnikova, S. a.; Dmitrenok, P. S.; Bode, A.; Dong, Z.; Stonik, V. a. Desmethylubiquinone Q 2 from the Far-Eastern Ascidian Aplidium Glabrum: Structure and Synthesis. *Tetrahedron Lett.* **2005**, 46 (4), 559–562.
- (90) Lu, H.; Luo, M.; Niwa, M. Plants. *Planta Med.* **1990**, 56, 87–89.
- (91) Thomson, R. H. *Naturally Occurring Quinones*; Academic Press: London, UK, 1971.
- (92) Pennock, J. . *In Terpenoids in Plants*; Academic Press: London, UK, 1967.
- (93) Danelutte, A. P.; Lago, J. H. G.; Young, M. C. M.; Kato, M. J. Antifungal Flavanones and Prenylated Hydroquinones from Piper Crassinervium Kunth. *Phytochemistry* **2003**, 64 (2), 555–559.
- (94) Gutiérrez, M.; Theoduloz, C.; Rodríguez, J.; Lolas, M.; Schmeda-Hirschmann, G. Bioactive Metabolites from the Fungus Nectria Galligena , the Main Apple Canker Agent in Chile. *J. Agric. Food Chem.* **2005**, 53 (20), 7701–7708.
- (95) García, A.; Bocanegra-garcía, V.; Palma-nicolás, J. P.; Rivera, G. European Journal of Medicinal Chemistry Recent Advances in Antitubercular Natural Products. *Eur. J. Med. Chem.* **2012**, 49, 1–23.
- (96) Malami, I.; Gibbons, S.; Malkinson, J. P. Fitoterapia Synthesis and Antibacterial Evaluation of 3-Farnesyl-2-Hydroxybenzoic Acid from Piper Multiplinervium. *Fitoterapia* **2014**, 93, 189–193.
- (97) Araki, S; Manabe, S. . and B. Y. An Efficient Regio- And Stereospecific Alkenylation of Phenolic Ethers by Prenyl and Geranyl Diisopropyl Phosphates. *Chem. Lett.* **1982**, 797–800.
- (98) Yoshizawa, T.; Toyofuku, H.; Tachibana, K.; Kuroda, T. Regioselective Polyprenyl Rearrangement of Polyprenyl 2, 3, 4, 5-Tetrasubstituted Phenyl Ethers Promoted by

- Boron Trifluoride. *Chem. Lett.* **1982**, 11 (8), 1131–1134.
- (99) Keinan, E., & Eren, D. Total Synthesis of Polyprenoid Natural Products via Pd (0)-Catalyzed Oligomerizations. *Pure Appl. Chem.* **1988**, 60 (1), 89–98.
- (100) Scheepers, B. A.; Klein, R.; Davies-coleman, M. T. Synthesis of Triprenylated Toluquinone and Toluhydroquinone Metabolites from a Marine-Derived Penicillium Fungus. *Tetrahedron Lett.* **2006**, 47, 8243–8246.
- (101) Chukicheva, I. Y., Fedorova, I. V., Koroleva, A. A., & Kuchin, A. V. Synthesis of Natural Geranylhydroquinone Analogs. *Chem. Nat. Compd.* **2015**, 51 (6), 1055–1058.
- (102) Fedorov, S. N.; Radchenko, O. S.; Shubina, L. K.; Balaneva, N. N.; Bode, A. M.; Stonik, V. A.; Dong, Z. Evaluation of Cancer-Preventive Activity and Structure – Activity Relationships of 3-Demethylubiquinone Q 2 , Isolated from the Ascidian Aplidium Glabrum , and Its Synthetic Analogs. *Pharm. Res.* **2006**, 23 (1), 70–81.
- (103) Takenaka, K., Tanigaki, Y., Patil, M. L., Rao, C. L., Takizawa, S., Suzuki, T., & Sasai, H. Enantioselective 6-Endo-Trig Wacker-Type Cyclization of 2-Geranylphenols: Application to a Facile Synthesis of (–)-Cordiachromene. *Tetrahedron: Asymmetry* **2010**, 21 (7), 767–770.
- (104) Espinoza, L.; Taborga, L.; Díaz, K.; Olea, A. F.; Peña-cortés, H. Synthesis of Linear Geranylphenols and Their Effect on Mycelial Growth of Plant Pathogen Botrytis Cinerea. *Molecules* **2014**, 19 (2), 1512–1526.
- (105) Kataoka, K.; Harada, A.; Nagasaki, Y. Block Copolymer Micelles for Drug Delivery: Design, Characterization and Biological Significance. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2001**, 47 (1), 113–131.
- (106) Astafieva, I.; Zhong, X. F.; Eisenberg, A. Critical Micellization Phenomena in Block Polyelectrolyte Solutions. *Macromolecules* **1993**, 26, 7339–7352.
- (107) Alexandridis, P.; Lindman, B. *Amphiphilic Block Copolymers, Self-Assembly and Applications*; Elsevier Science: Amsterdam, 2000.
- (108) Kadam, Y.; Yerramilli, U.; Bahadur, A. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces Solubilization of Poorly Water-Soluble Drug Carbamezapine in Pluronic ® Micelles : Effect of Molecular Characteristics , Temperature and Added Salt on the Solubilizing Capacity. *Colloids Surfaces B Biointerfaces* **2009**, 72, 141–147.
- (109) Chiappetta, D. A.; Sosnik, A. Poly (Ethylene Oxide)– Poly (Propylene Oxide) Block Copolymer Micelles as Drug Delivery Agents : Improved Hydrosolubility , Stability and Bioavailability of Drugs. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2007**, 66, 303–317.
- (110) Salamanca, C. H.; Barraza, R. G.; Acevedo, B.; Olea, A. F. Hydrophobically Modified Polyelectrolytes as Potential Drugs Reservoirs of N-Alkyl-Nitroimidazoles. *J. Chil. Chem. Soc.* **2007**, 52 (1), 1115–1119.
- (111) Peteu, S. F.; Oancea, F.; Siciua, O. A.; Constantinescu, F.; Dinu, S. Responsive Polymers for Crop Protection. *Polymers (Basel)*. **2010**, 2, 229–251.
- (112) Zhang, Y.; Cheng, J.; Yang, S.; Liang, F.; Qu, X. Enhanced Acaricidal Activity of Ricinine Achieved by the Construction of Nano-Formulation Using Amphiphilic Block Copolymer. *RSC Adv.* **2017**, 7, 5970–5978.
- (113) Akhtar, N. et al. Development of Poly (Ethylene Glycol) Based Amphiphilic Copolymers for Controlled Release Delivery of Carbofuran. *J. Macromol. Sci.* **2014**, 47, 241–247.
- (114) Nagarajan, R. Solubilization of Hydrocarbons and Resulting Aggregate Shape Transitions in Aqueous Solutions of Pluronic®(PEO–PPO–PEO) Block Copolymers. *Colloids Surfaces B Biointerfaces* **1999**, 16 (1), 55–72.
- (115) Sepulveda, L., Lissi, E., & Quina, F. Interactions of Neutral Molecules with Ionic Micelles. *Adv. Colloid Interface Sci.* **1986**, 25, 1–57.

- (116) Reyes, P. Evaluación Del Efecto de Compuestos Derivados de Geranilhidroquinonas, En Forma Libre Y En Sistemas Encapsulados Sobre El Mecanismo de Defensavegetal En Vitis Spp. Frente a La Infección Por Botrytis Cinerea, Universidad Andrés Bello, 2015.
- (117) Taborga, L.; Katy, D.; Olea, F.; Reyes-bravo, P.; Flores, M. E.; Pen, H.; Espinoza, L. Effect of Polymer Micelles on Antifungal Activity of Geranylrocinol Compounds against Botrytis Cinerea. *J. Agric. Food Chem.* **2015**, *63*, 6890–6896.
- (118) Hou, Z., Yang, R., Zhang, C., Zhu, L. F., Miao, F., Yang, X. J., & Zhou, L. 2-(Substituted Phenyl)-3, 4-Dihydroisoquinolin-2-iums as Novel Antifungal Lead Compounds: Biological Evaluation and Structure-Activityrelationships. *Molecules* **2013**, *18* (9), 10413–10424.
- (119) Sreedhar, B.; Swapna, V.; Sridhar, C. Bismuth (III) Triflate: Novel and Efficient Catalyst for Claisen and Fries Rearrangements of Allyl Ethers and Phenyl Esters. *Synth. Commun.* **2004**, *34* (8), 1433–1440.
- (120) López, L.; Nery, S.; Silva, S.; Sáenz, A. Naphthoquinones : Biological Properties And Synthesis of Lawsone and Derivatives — A Structured Review. *Rev. la Fac. Química Farm.* **2014**, *21* (3), 248–258.
- (121) Bolton, J. L.; Trush, M. A.; Penning, T. M.; Dryhurst, G.; Monks, T. J. Role of Quinones in Toxicology †. *Chem. Res. Toxicol.* **2000**, *13* (3), 135–160.
- (122) Bolton, J. L.; Dunlap, T. Formation and Biological Targets of Quinones: Cytotoxic versus Cytoprotective Effects. *Chem. Res. Toxicol.* **2017**, *30*, 13–37.

ANEXO

Abreviaturas generales

- Ac_2O : Anhídrido Acético
- AcOEt : Acetato de etilo
- AcOH : Ácido acético
- anh, : Anhidro
- aq, : Acuoso
- $\text{BF}_3\cdot\text{Et}_2\text{O}$: Trifloruro de boro etearato
- CC : Cromatografía en columna
- CCF : Cromatografía en capa fina
- CuCN : Cianuro de cobre
- DCM : Diclorometano
- DMAP : 4-N,N-dimetil amino piridina
- DMSO : Dimetilsulfoxido
- Et_2O : Éter etílico
- Et_3N : Trietilamina
- EtOH : Etanol
- hex : Hexano
- Me_2SO_4 : Sulfato de dimetilo,
- Me_3SBr : Bromuro de trimetilsulfonio
- MeCN : Acetonitrilo
- MeOH : Metanol
- N_2 : Nitrógeno
- $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$: Hidrosulfito de sodio
- N-BuLi : n-butil Litio
- Net_4BF_4 : Tetrafluoroborato de tetraetilamonio
- pp : Precipitado
- SEAr : Sustitución Electrofílica Aromática
- $\text{T}^\circ\text{amb,}$: Temperatura ambiente
- THF : Tetrahidrofurano
- TMEDA : Tetrametiletilendiamina
- $1:9 \rightarrow 8:2$: Desde la polaridad 1:9 hasta polaridad 8:2

Abreviaturas en resonancia magnetica nuclear

- RMN : Resonancia Magnética Nuclear
- δ : desplazamiento químico
- ppm : partes por millón
- s : singlete
- d : doblete
- t : triplete
- dd : doble doblete
- dt : doble triplete
- ddd : doblete de doble doblete
- m : multiplete
- J : constante de acoplamiento
- 2J y 3J : acoplamiento escalar heteronuclear a dos y tres enlaces respectivamente
- DEPT : *Distortionless Enhancement by Polarization Transfer*
- NOESY : *Nuclear Overhauser Enhancement Spectroscopy*
- HSQC : *Heteronuclear Single Quantum Correlation*
- HMBC : *Heteronuclear Multiple Bond Connectivities*
- 1D : Espectro mono-dimensional
- 2D : Espectro bidimensional
- *H : Asignación intercambiable con otro Hidrogeno marcado con asterisco
- +C : Asignación intercambiable con otro Carbono marcado con cruz
- ++C : Asignación intercambiable con otro Carbono marcado con doble cruz
- +++C : Asignación intercambiable con otro Carbono marcado con triple cruz
- ++++C : Asignación intercambiable con otro Carbono marcado con cuadruple cruz

Abreviaturas en espectroscopia infrarojo

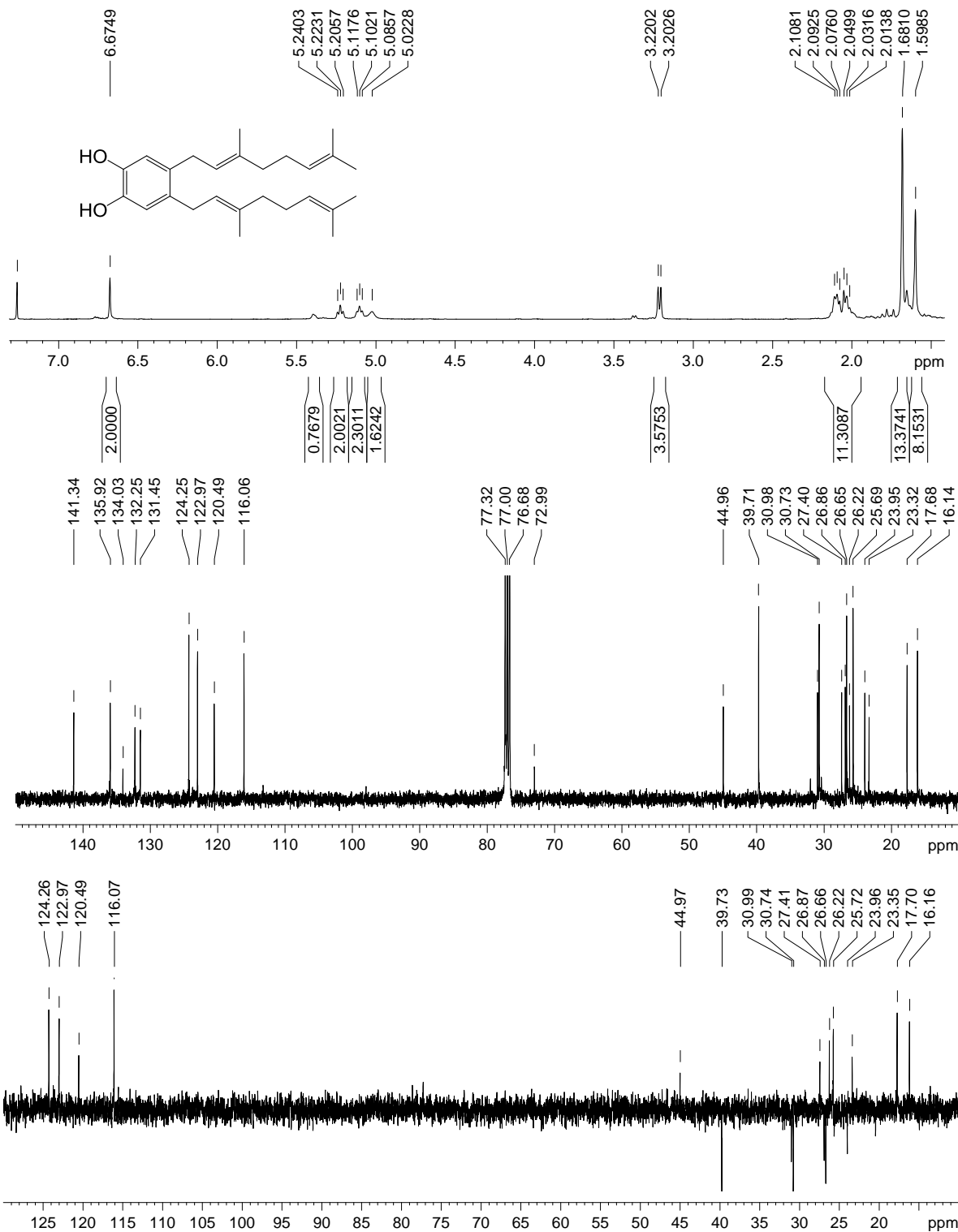
- IR : Espectro Infrarojo
- cm^{-1} : Frecuencia en centímetros a la inversa

Abreviaturas en espectroscopia de masas

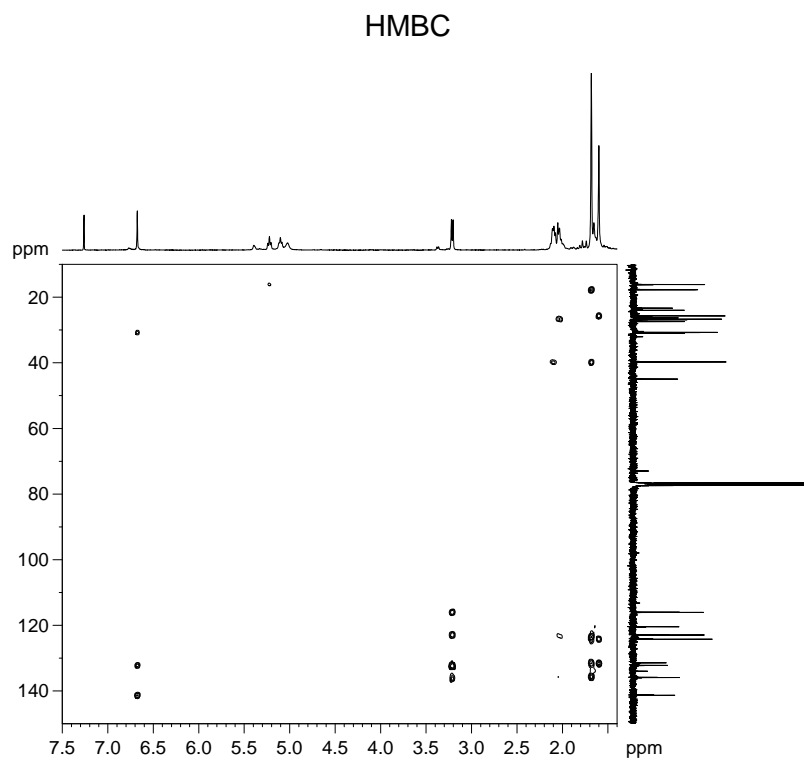
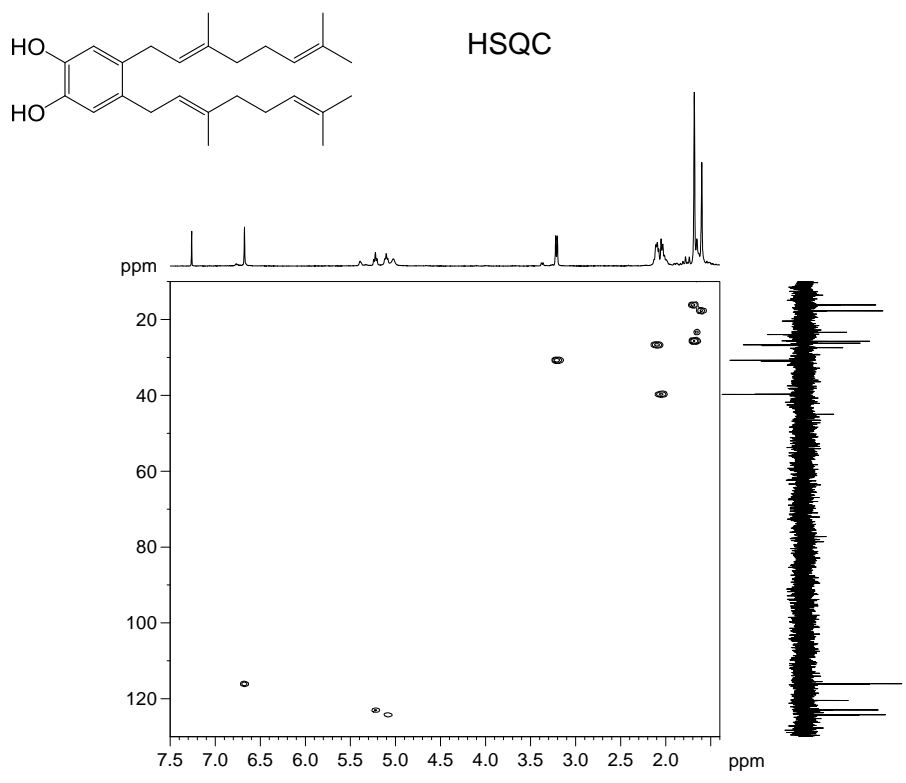
- EM : Espectro de masas de resolución unitaria
- EMAR : Espectro de masas de alta resolución
- m/z : Relación masa versus carga
- M^+ : Masa ion molecular
- $M+H^+$: Masa ion molecular más 1
- $M+Na^+$: Masa ion molecular más 23
- $M+NH_4^+$: Masa ion molecular más 14
- $M-H^+$: Masa ion molecular menos 1

Espectros RMN ^1H , ^{13}C , DEPT 135, 2D HSQC, 2D HMBC y 1D NOESY selectivo.

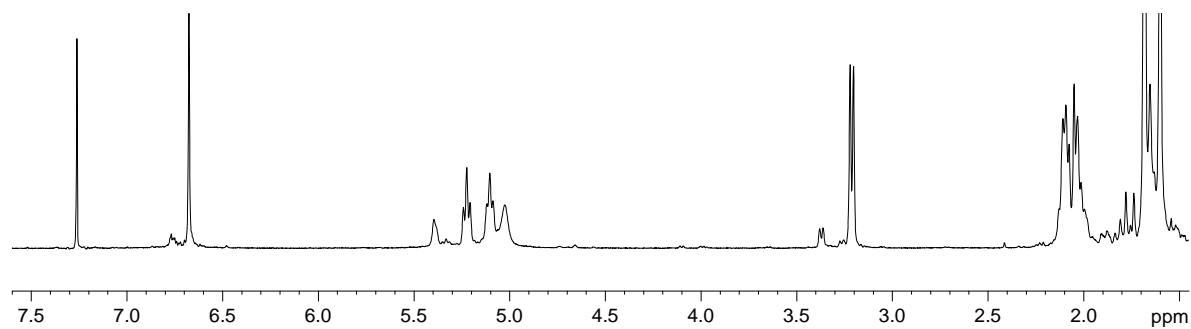
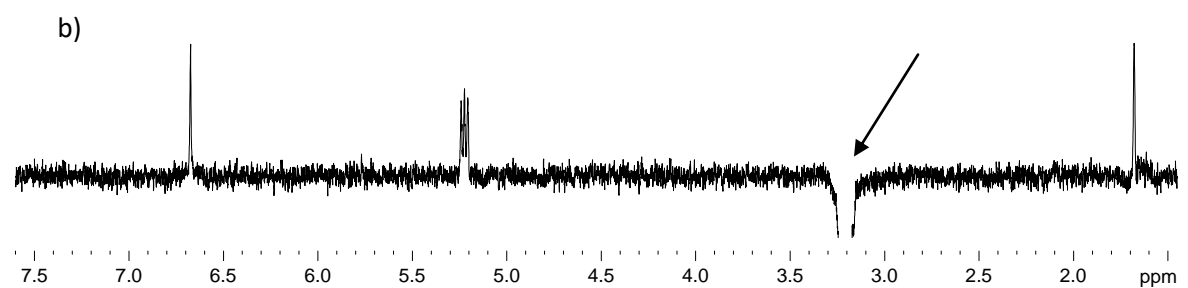
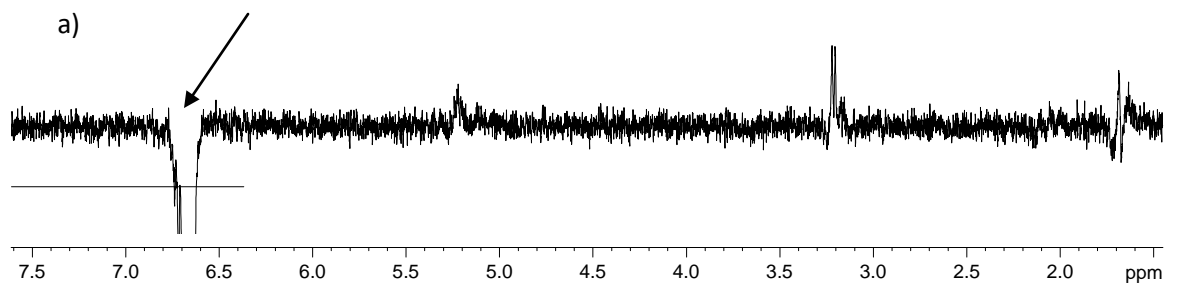
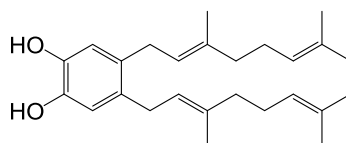
**Espectros RMN ¹H, ¹³C, DEPT 135, 2D HSQC, 2D HMBC y 1D NOESY selectivo.
COMPUESTO 44**



Espectros de RMN ¹H, ¹³C y DEPT 135 del compuesto 44.

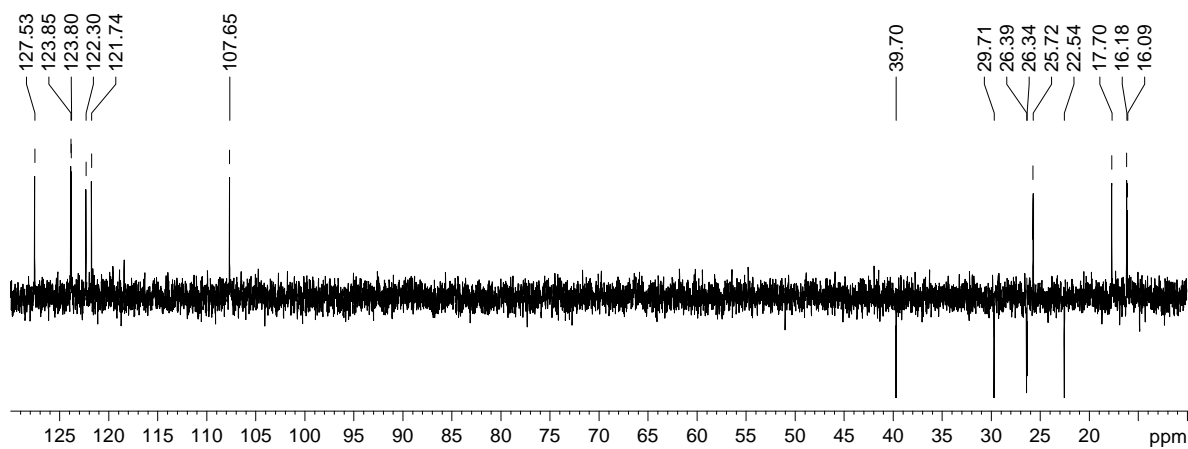
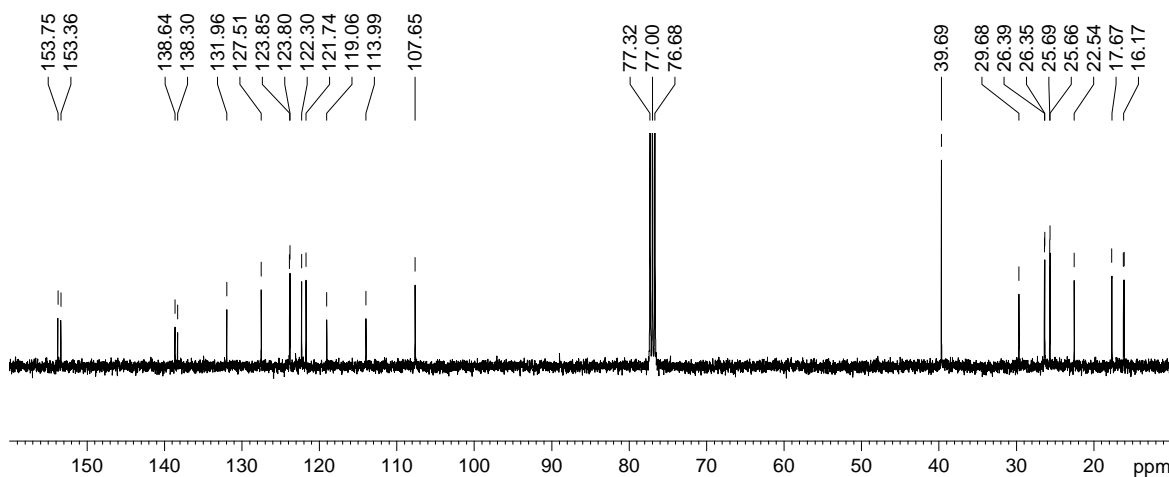
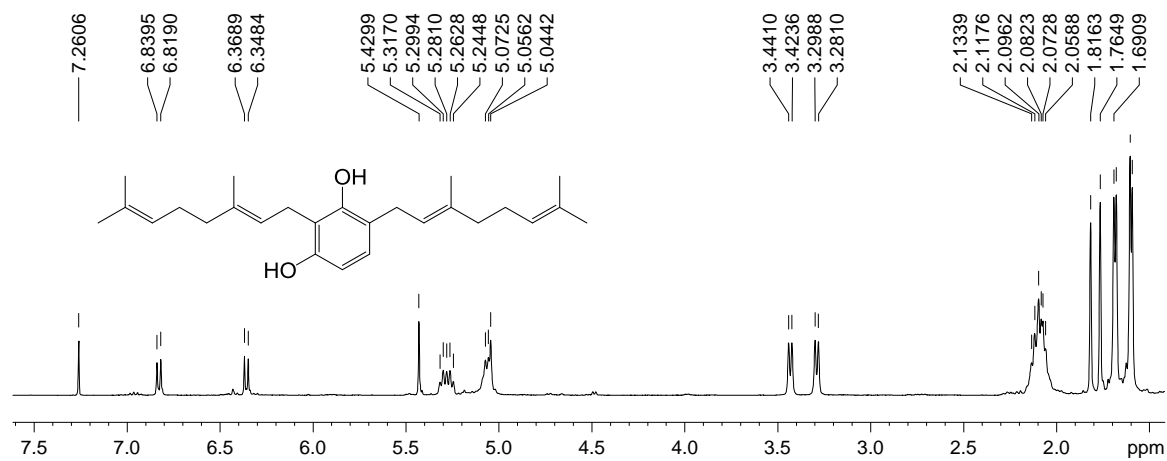


Espectro de RMN 2D HSQC y HMBC del compuesto **44**.

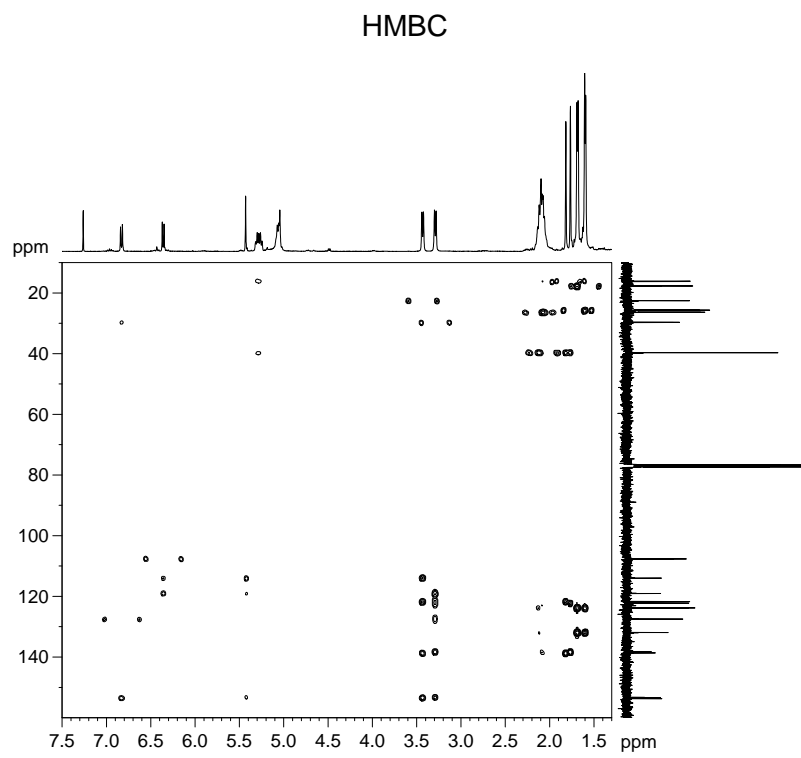
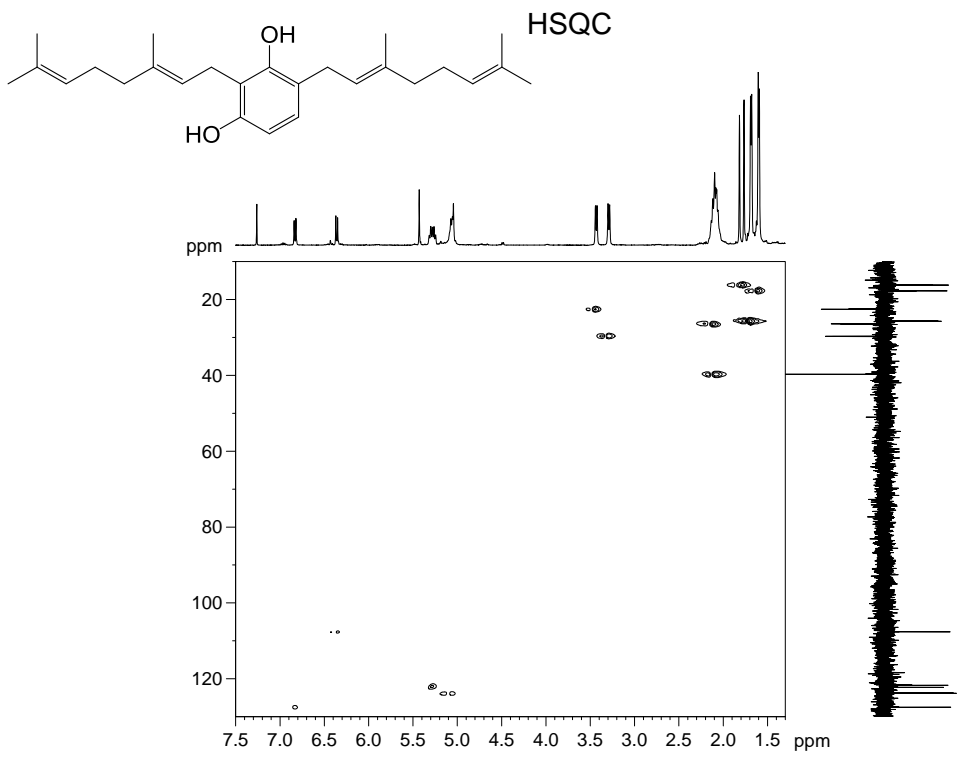


Espectros de RMN 1D NOESY de pulso selectivo a) $\delta = 6,68$ ppm; b) 3,21 ppm del compuesto **44**.

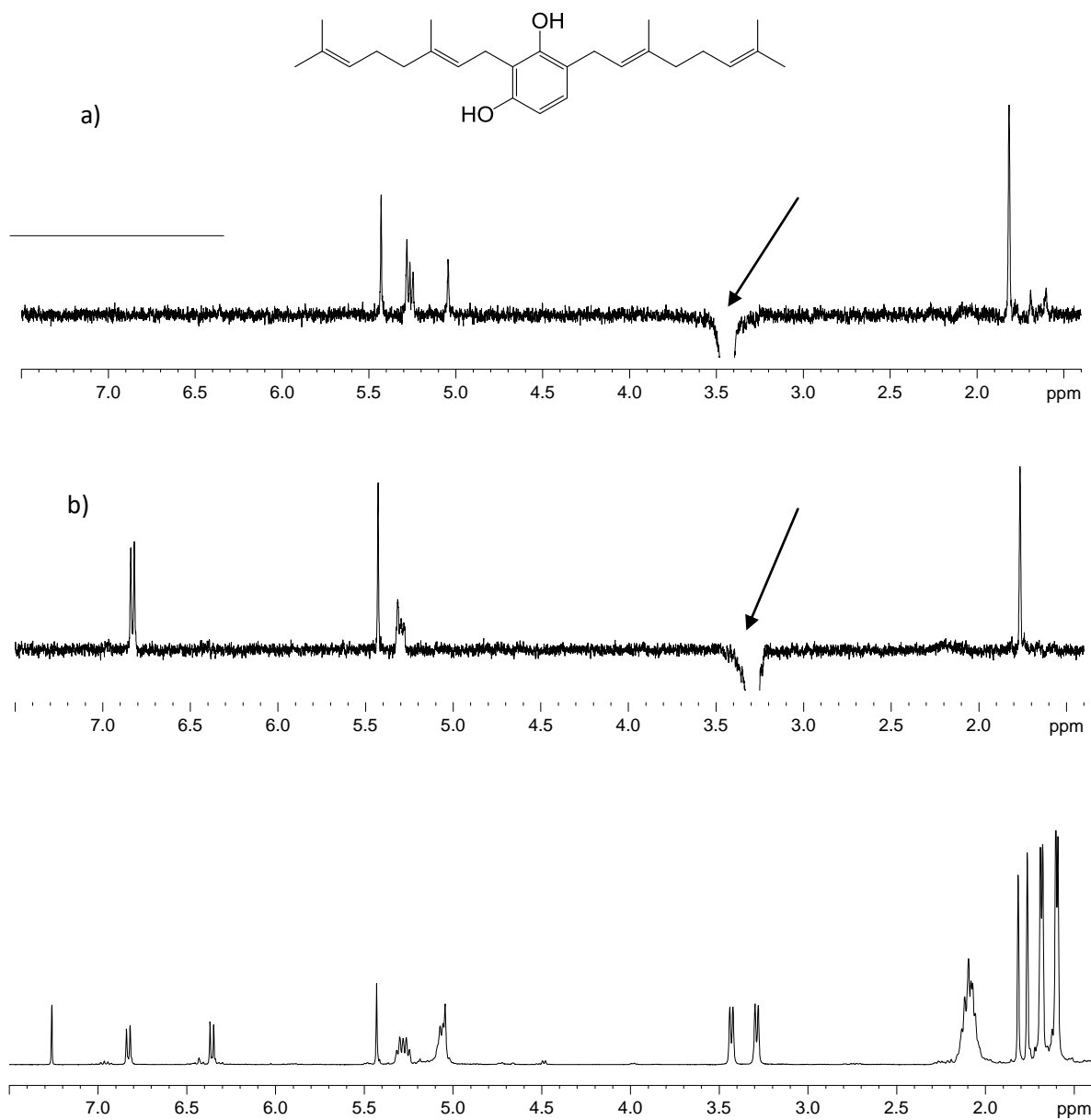
COMPUESTO 46



Espectros de RMN ¹H, ¹³C y DEPT 135 del compuesto 46.

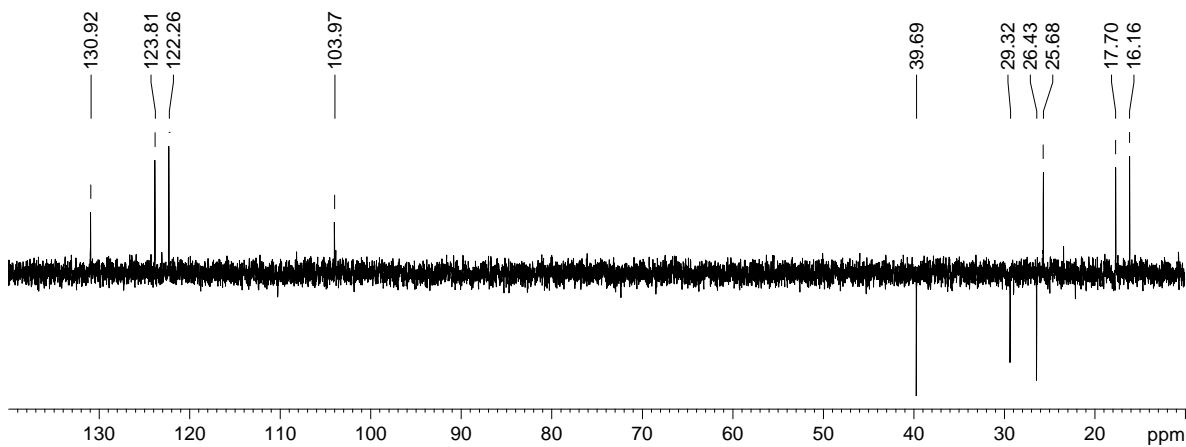
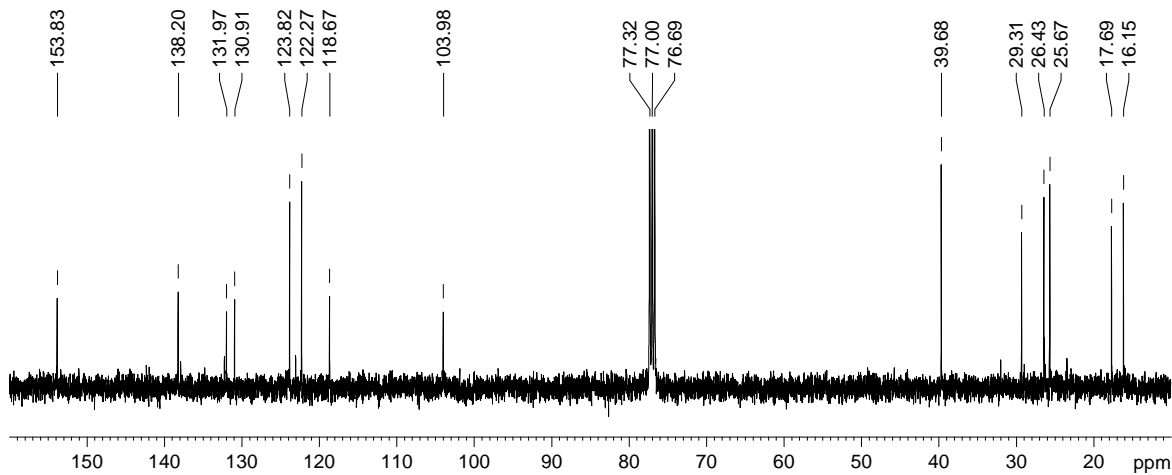
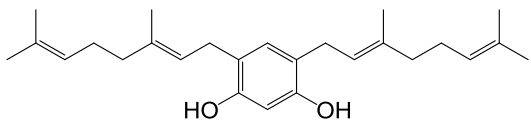
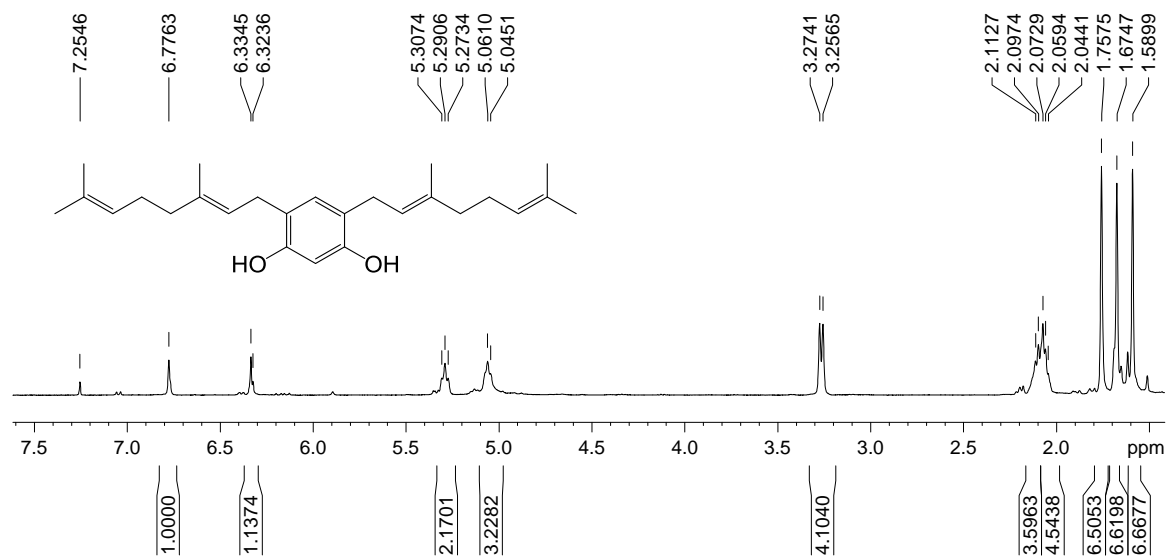


Espectro de RMN 2D HSQC y HMBC del compuesto **46**.

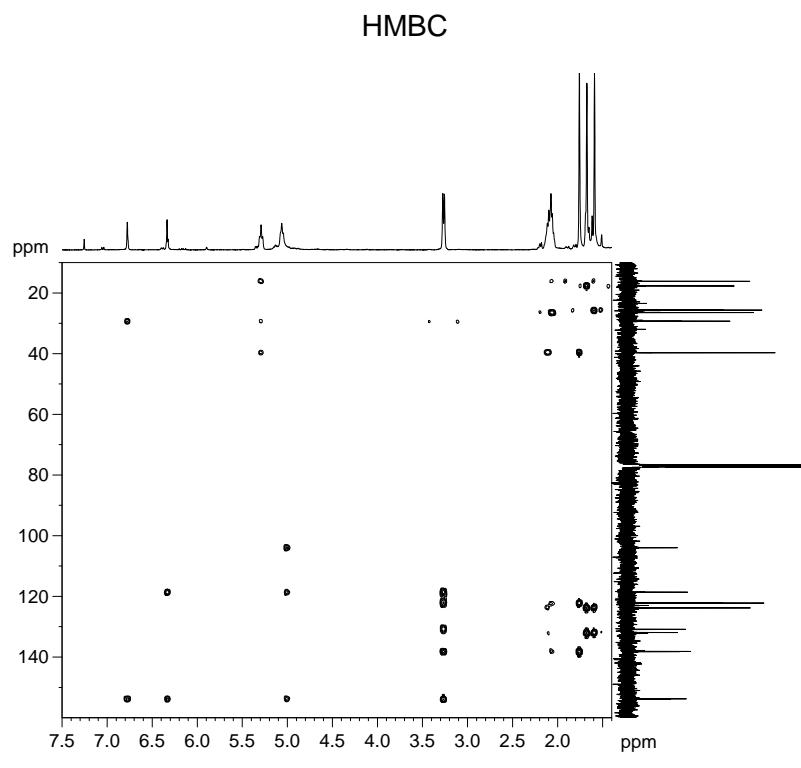
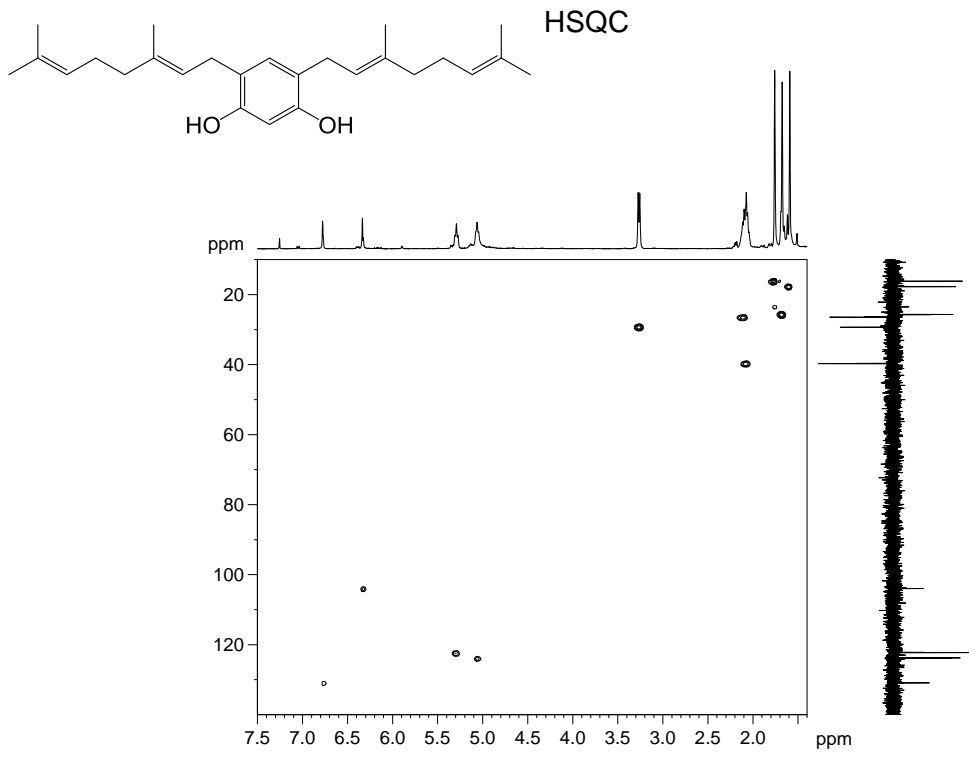


Espectros de RMN 1D NOESY de pulso selectivo a) $\delta = 3,43$ ppm; b) 3,29 ppm del compuesto **46**.

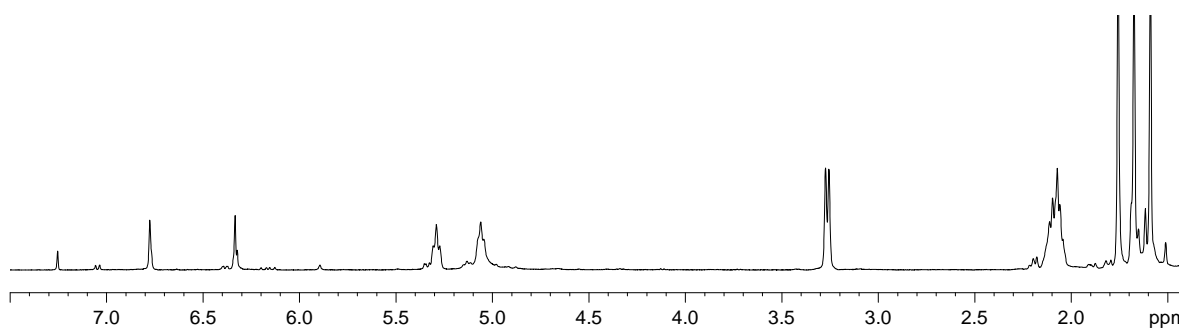
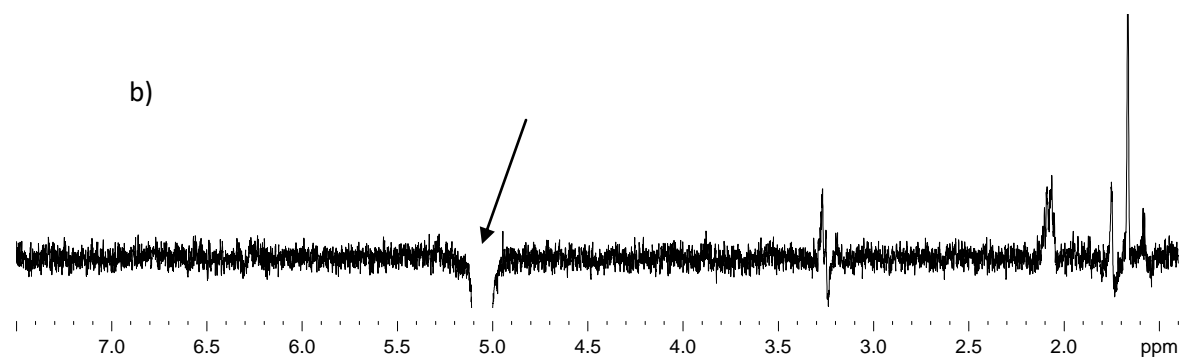
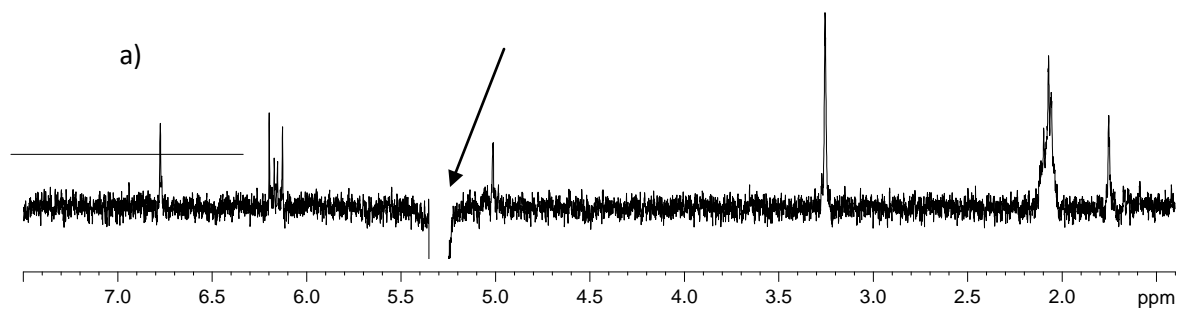
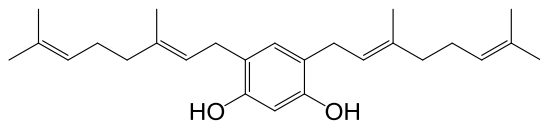
COMPUESTO 47



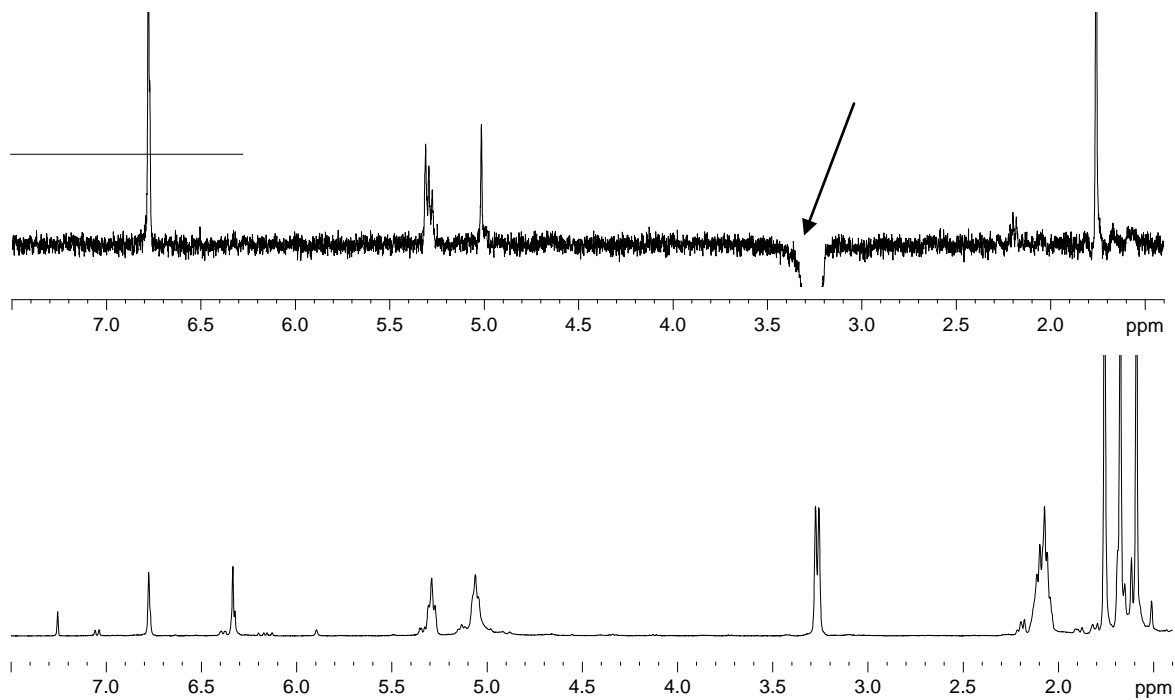
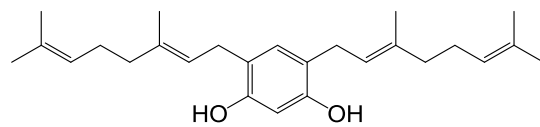
Espectros de RMN ¹H, ¹³C y DEPT 135 del compuesto 47.



Espectro de RMN 2D HSQC y HMBC del compuesto 47.

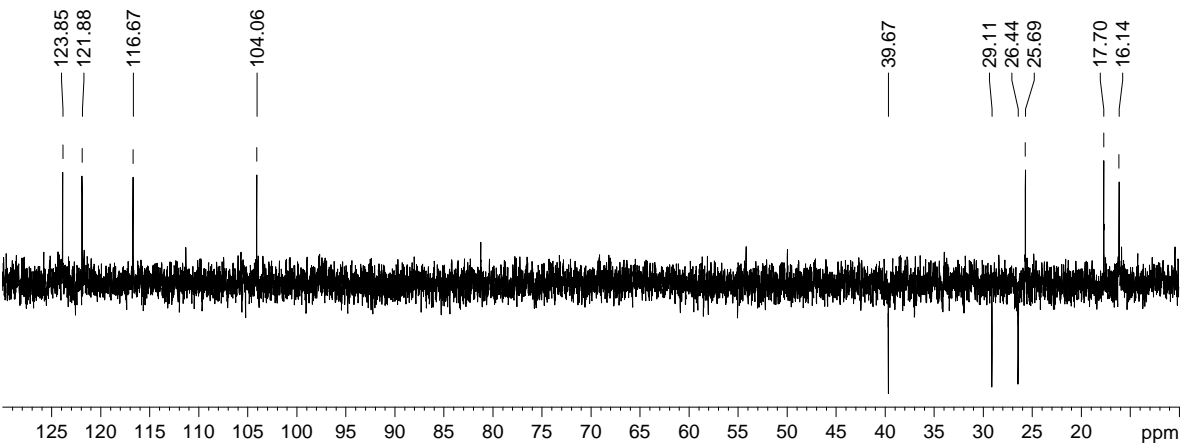
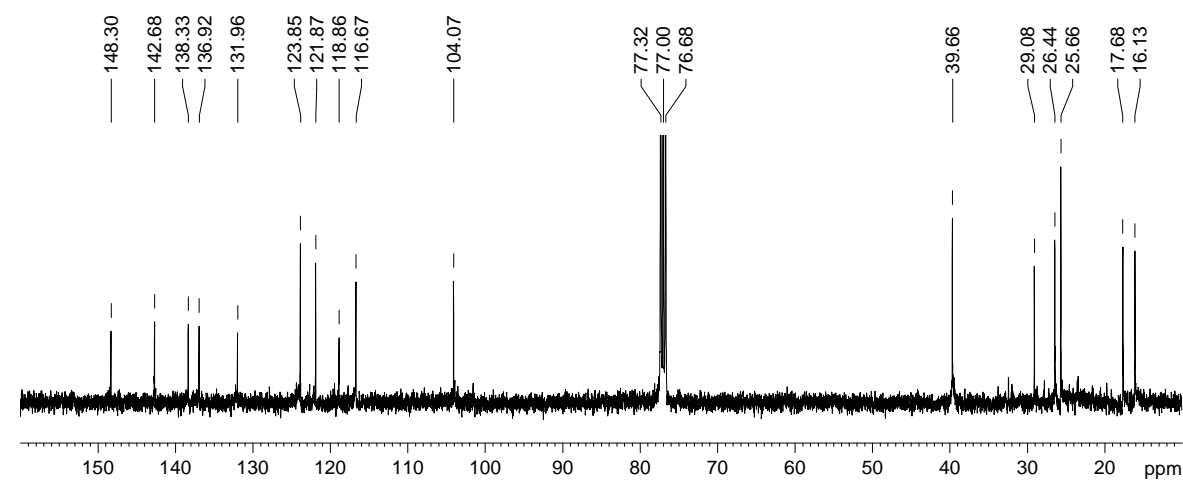
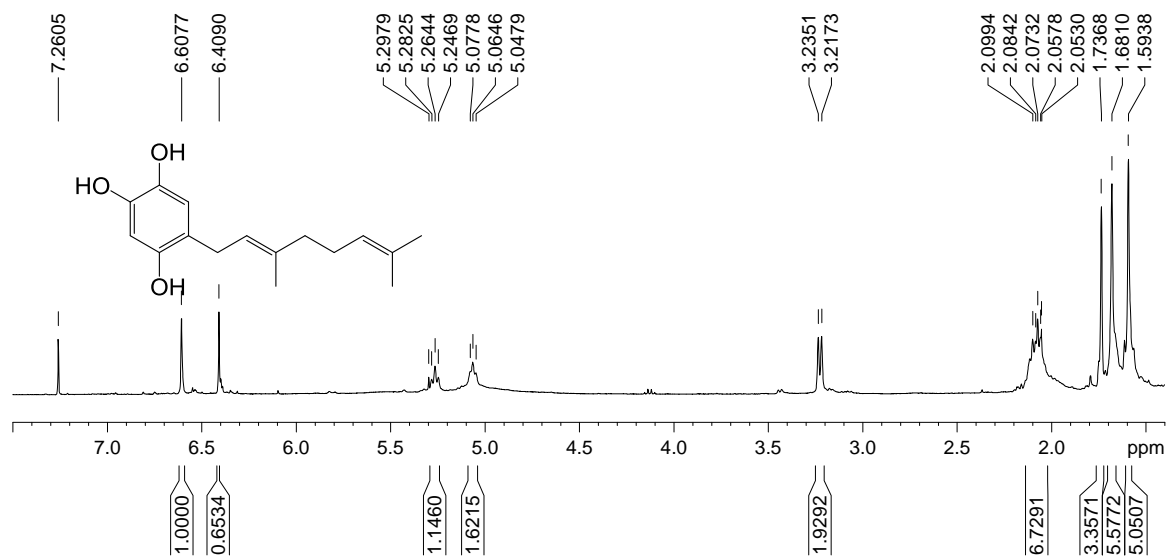


Espectros de RMN 1D NOESY de pulso selectivo a) $\delta = 5,29$ ppm; b) 5,06 ppm del compuesto **47**.

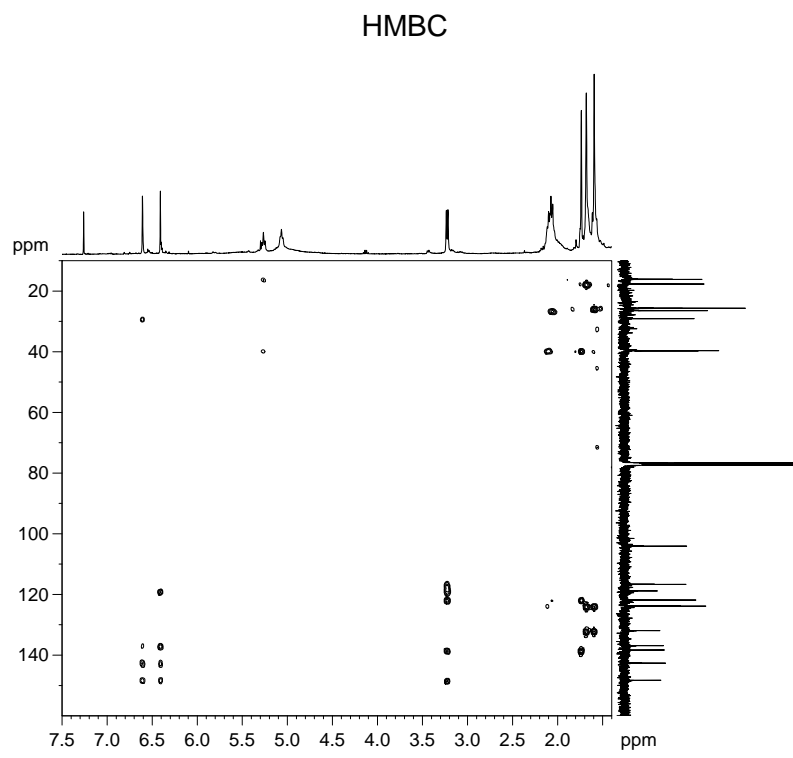
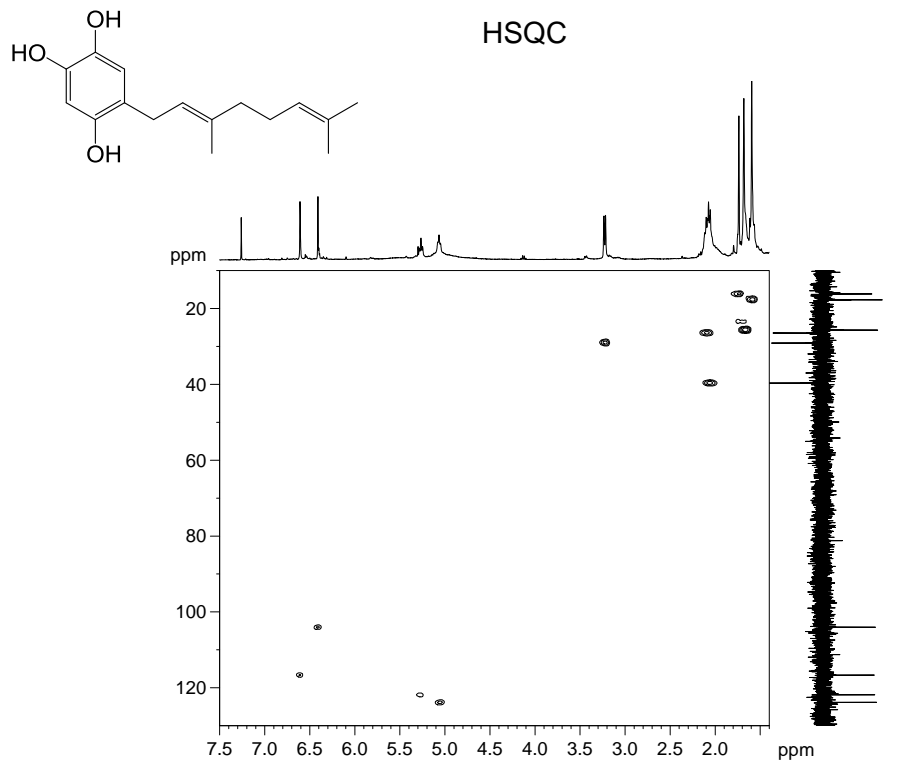


Espectros de RMN 1D NOESY de pulso selectivo $\delta = 3,26$ ppm del compuesto **47**.

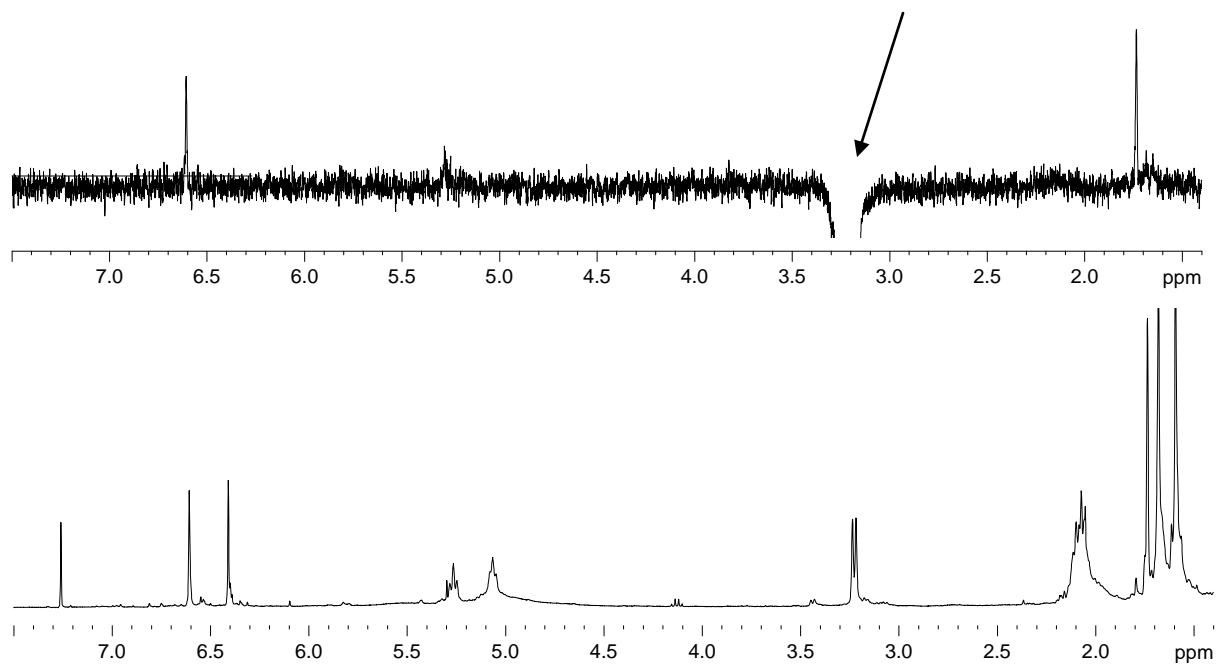
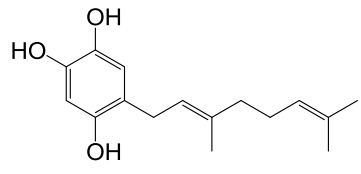
COMPUESTO 52



Espectros de RMN ¹H, ¹³C y DEPT 135 del compuesto 52.

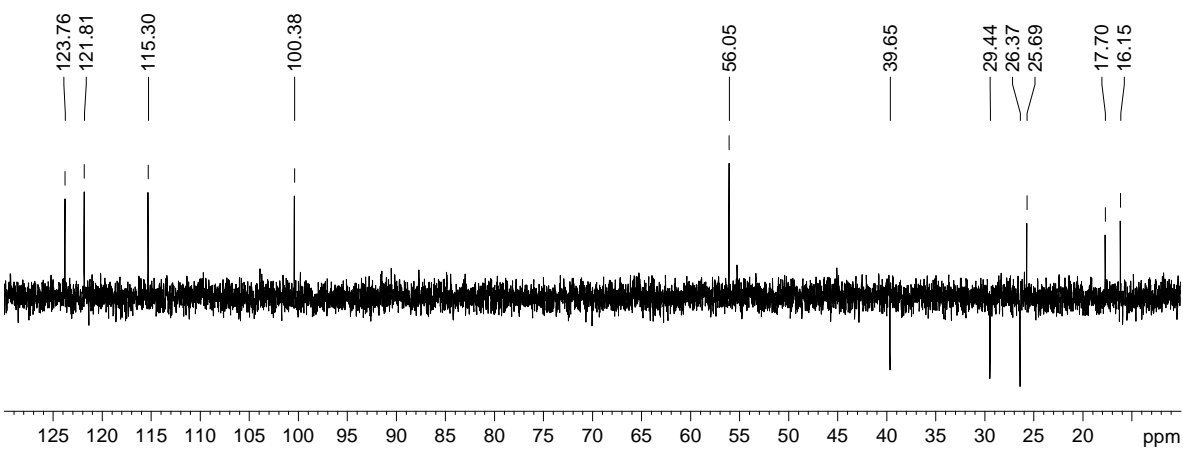
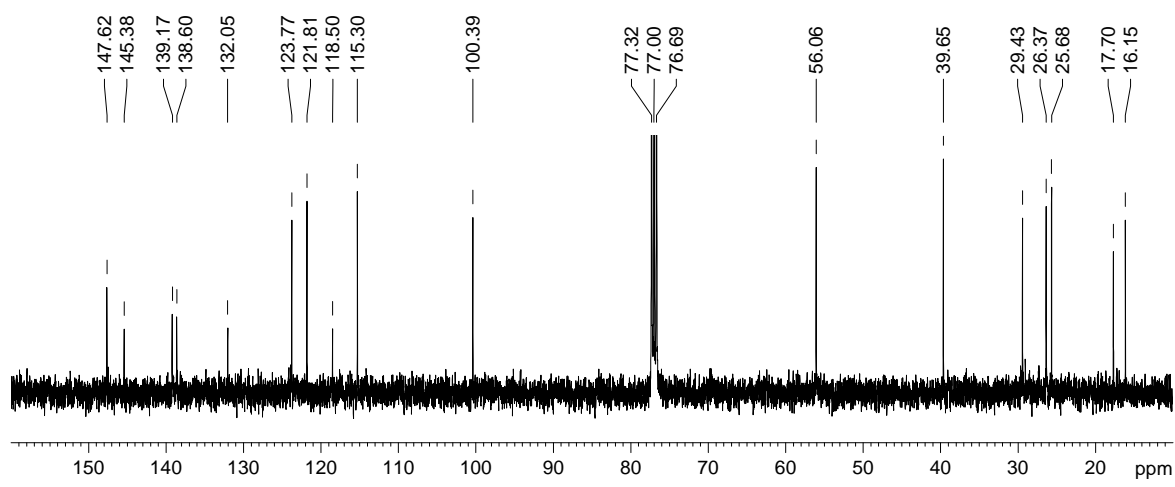
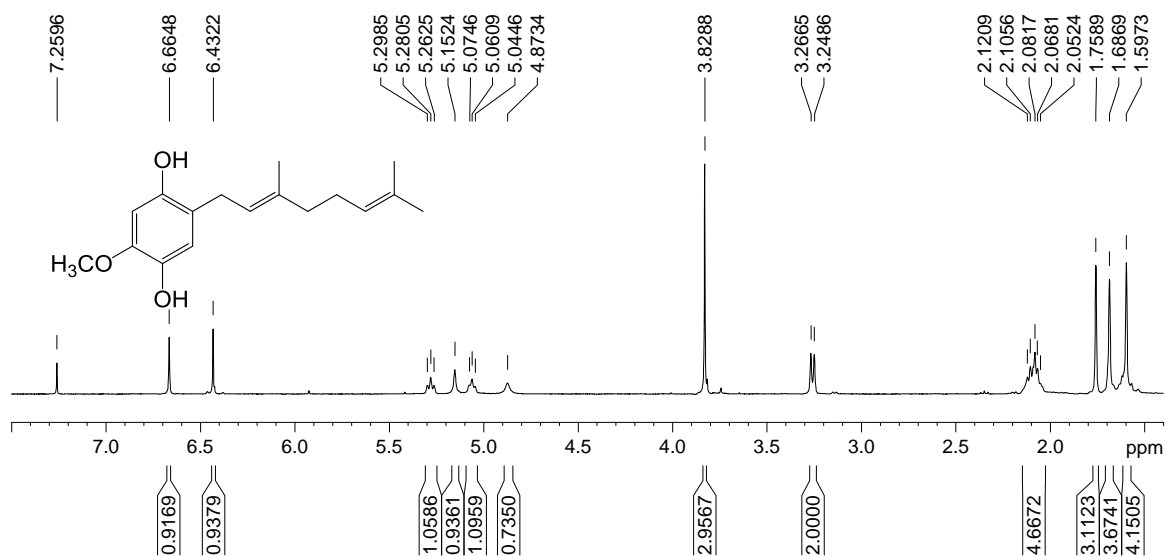


Espectro de RMN 2D HSQC y HMBC del compuesto 52.

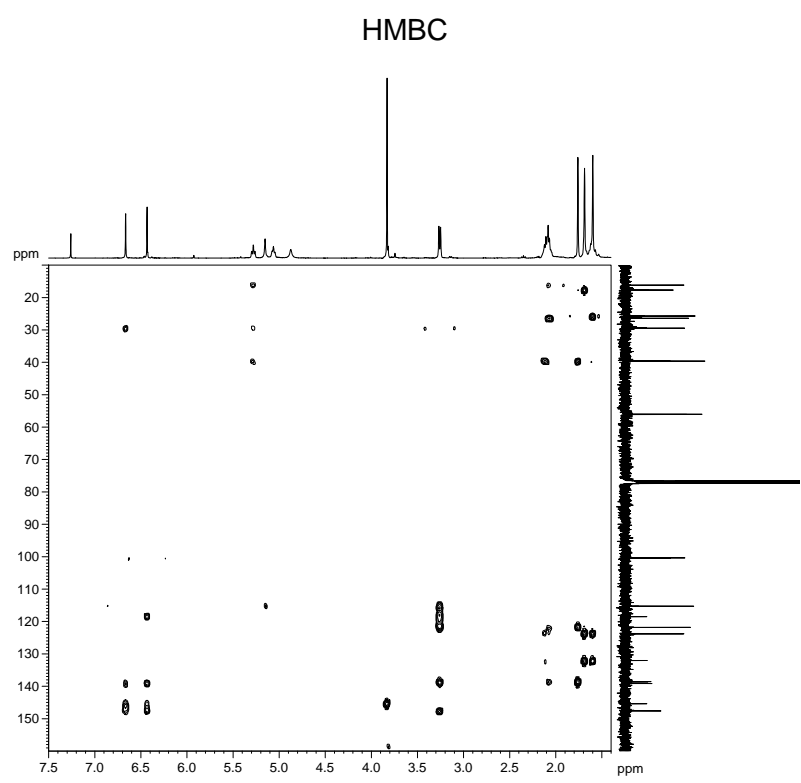
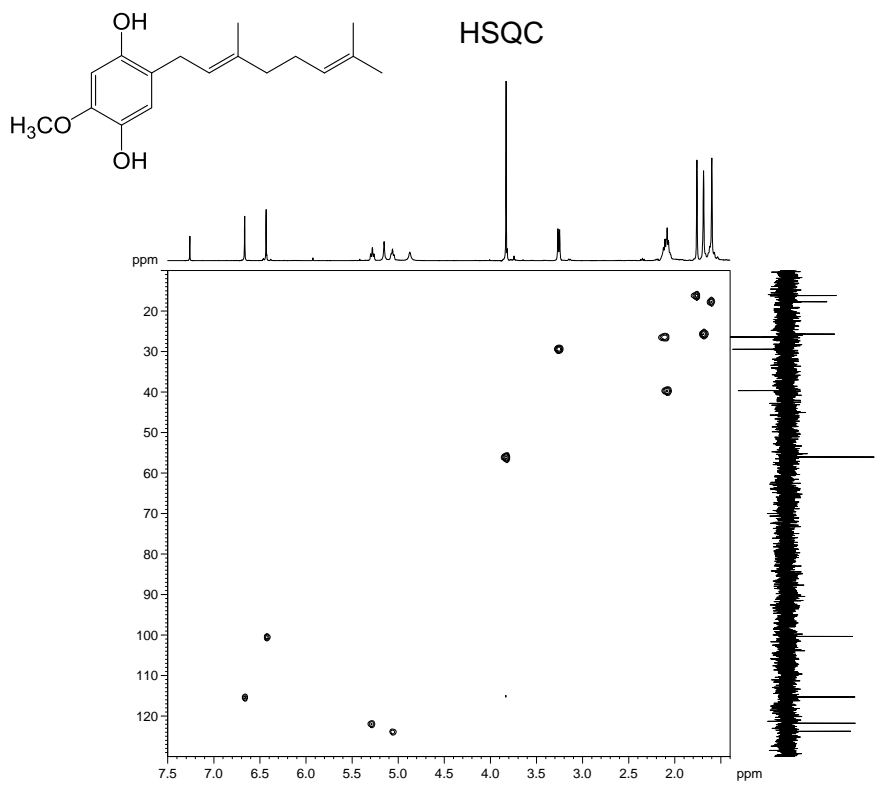


Espectros de RMN 1D NOESY de pulso selectivo $\delta = 3,23$ ppm del compuesto **52**.

COMPUESTO 53

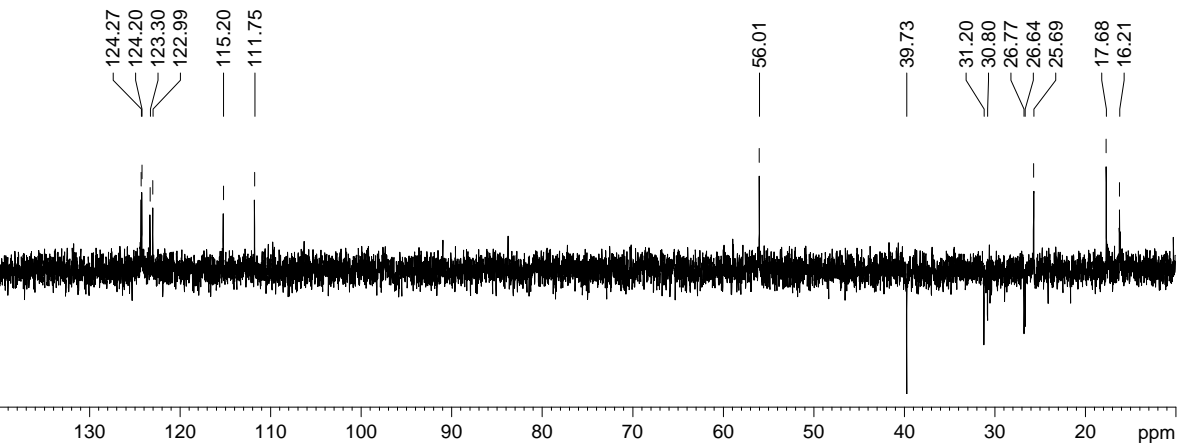
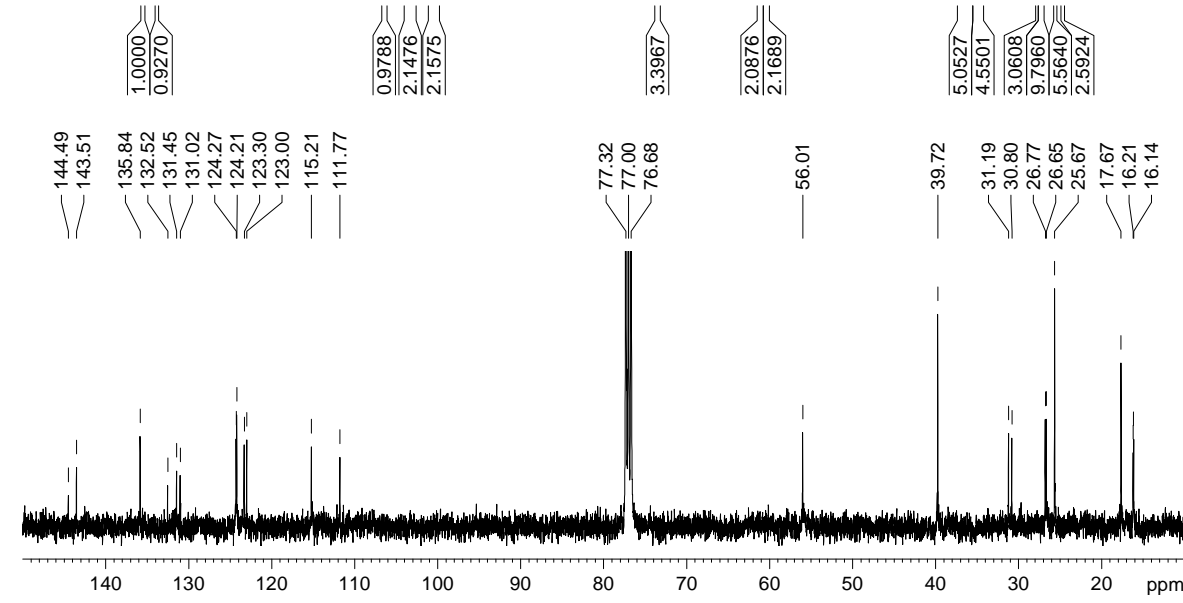
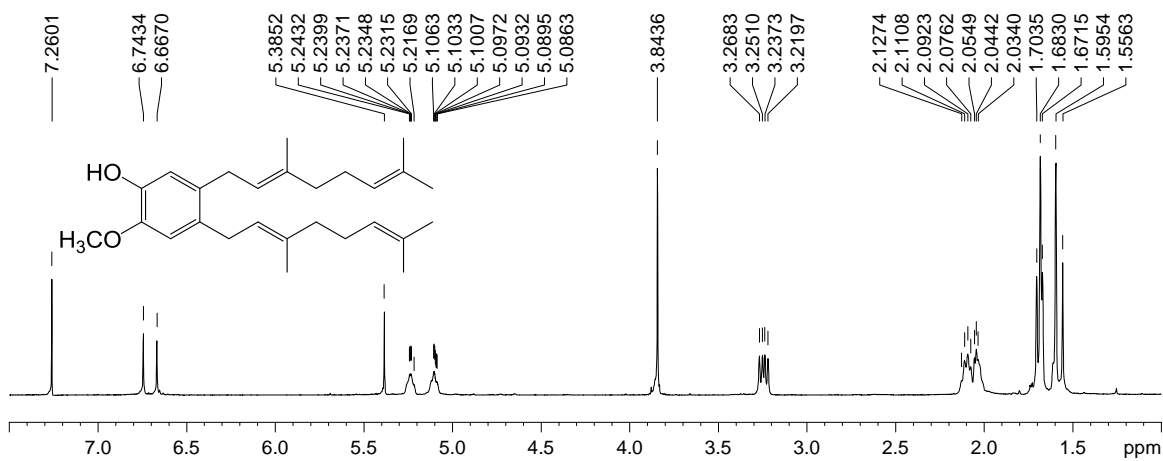


Espectros de RMN ¹H, ¹³C y DEPT 135 del compuesto 53.

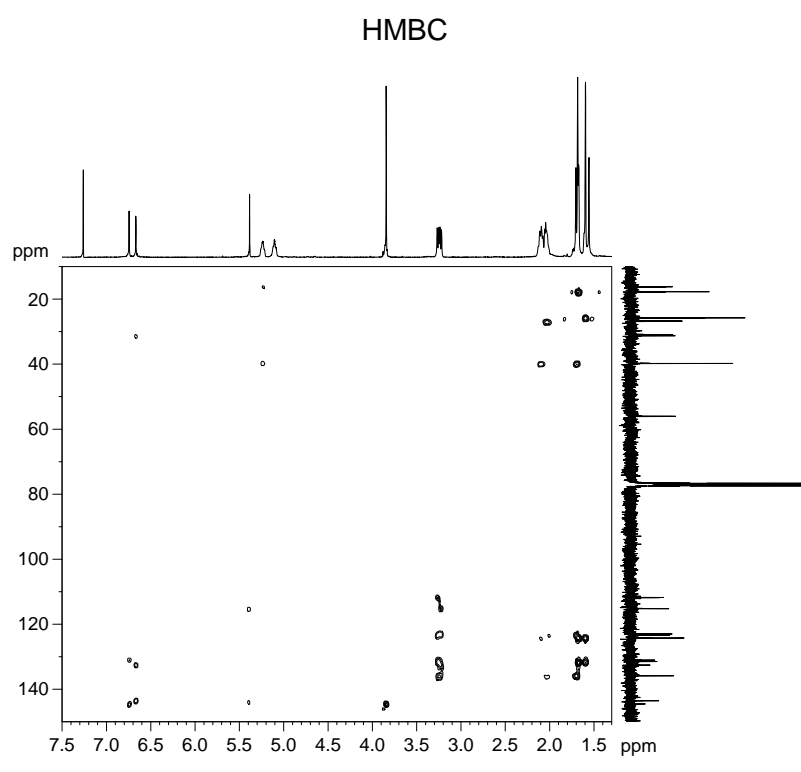
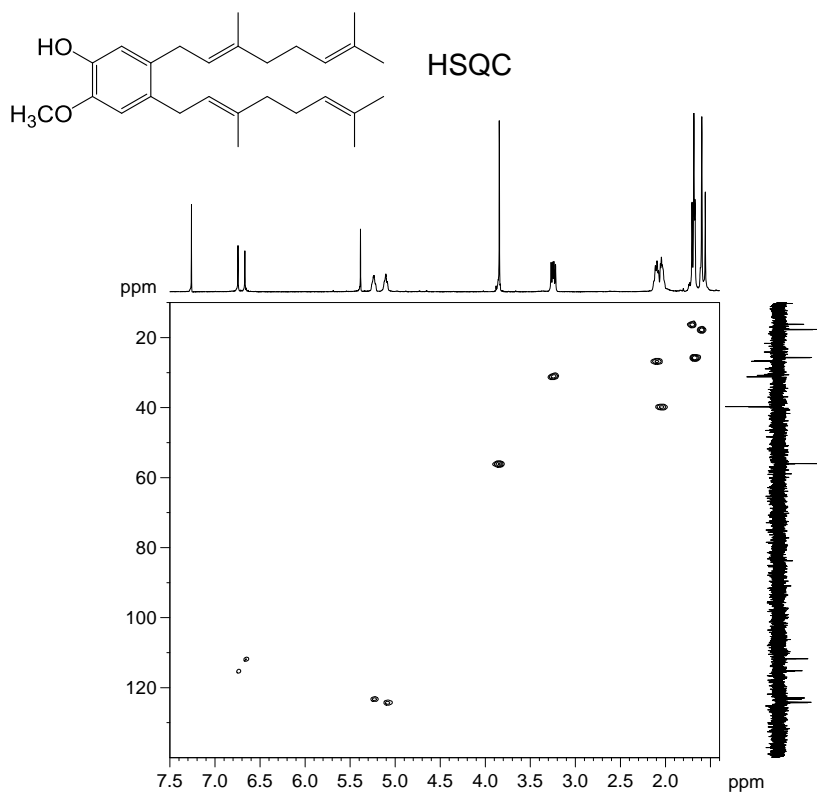


Espectro de RMN 2D HSQC y HMBC del compuesto **53**.

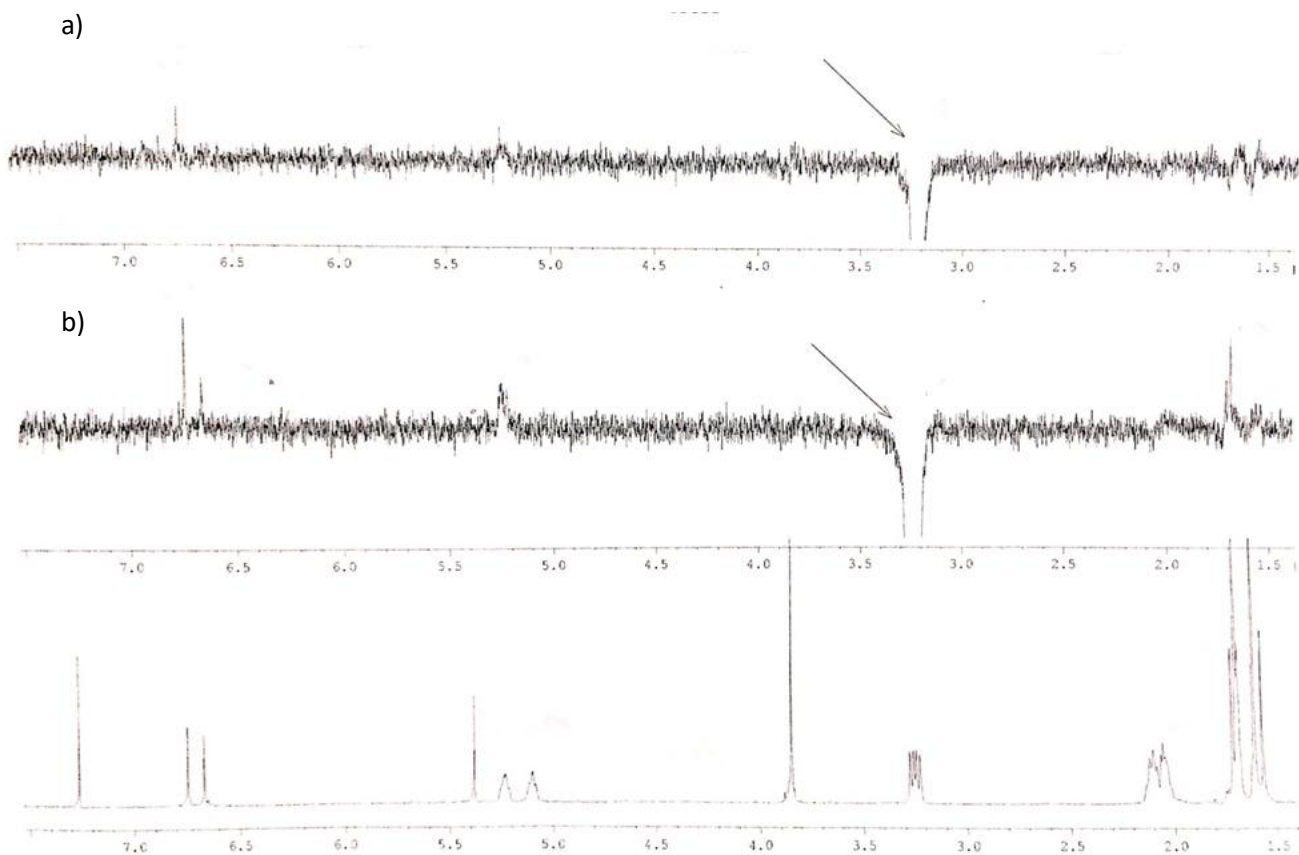
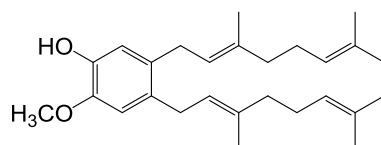
COMPUESTO 58



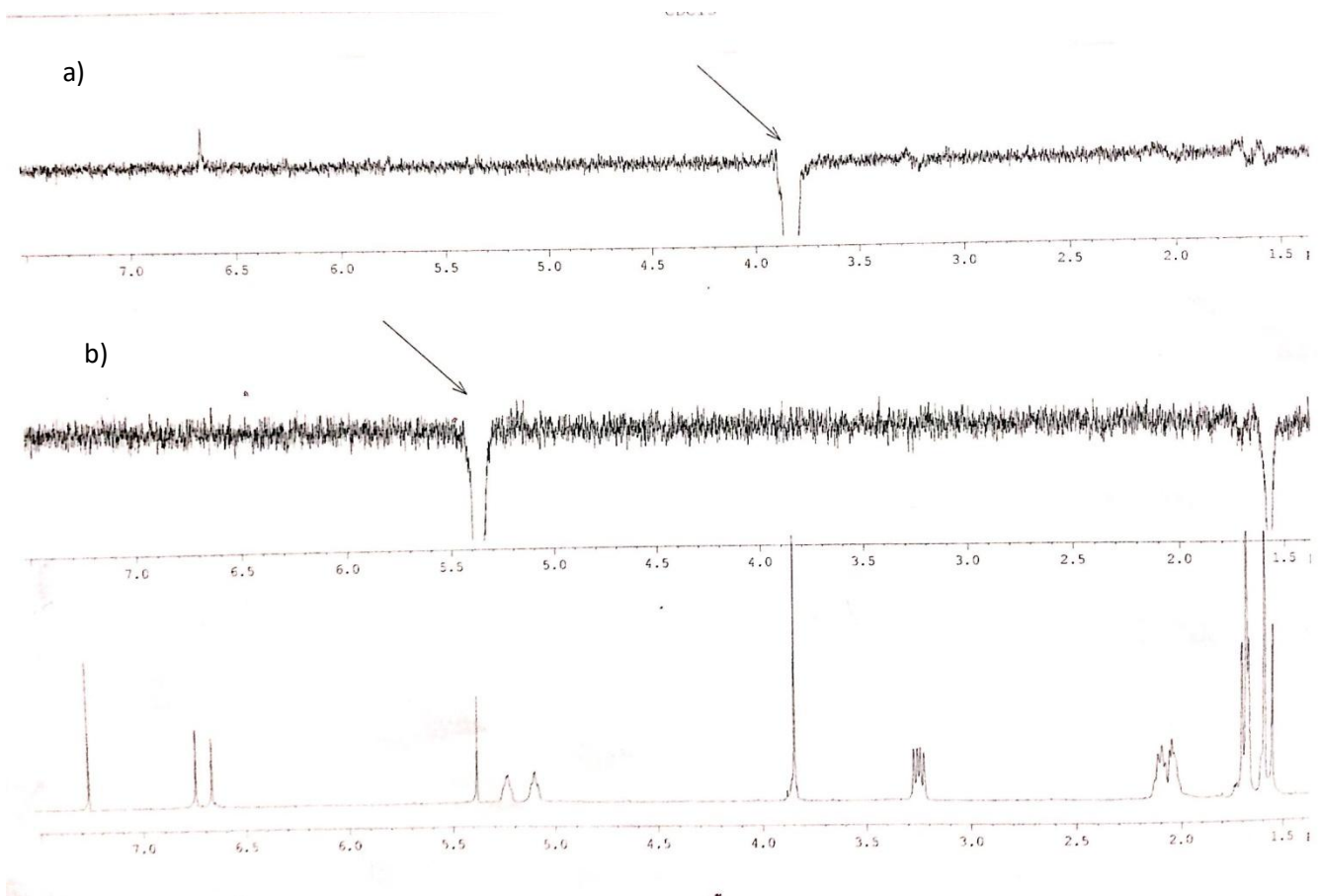
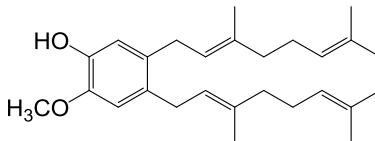
Espectros de RMN ¹H, ¹³C y DEPT 135 del compuesto 58.



Espectro de RMN 2D HSQC y HMBC del compuesto 58.

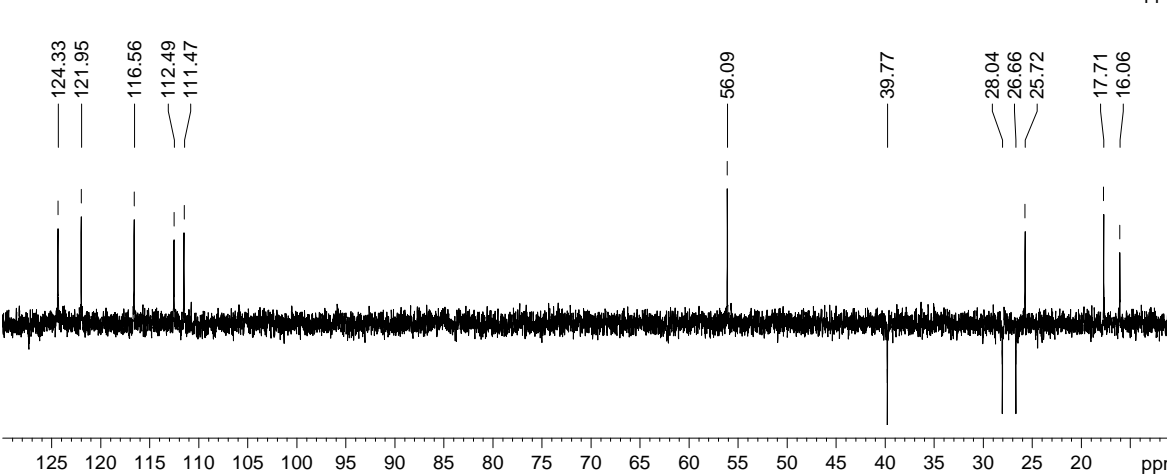
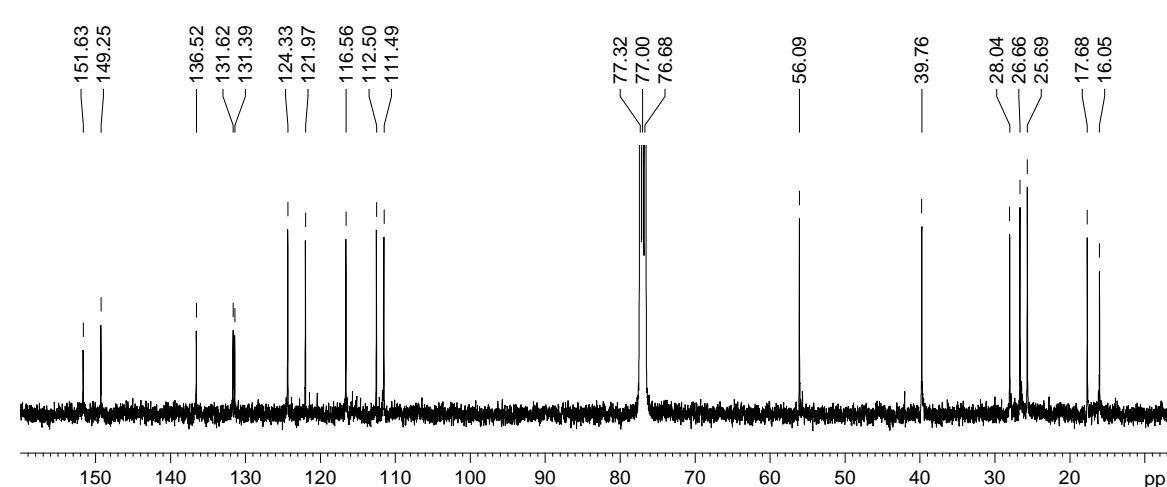
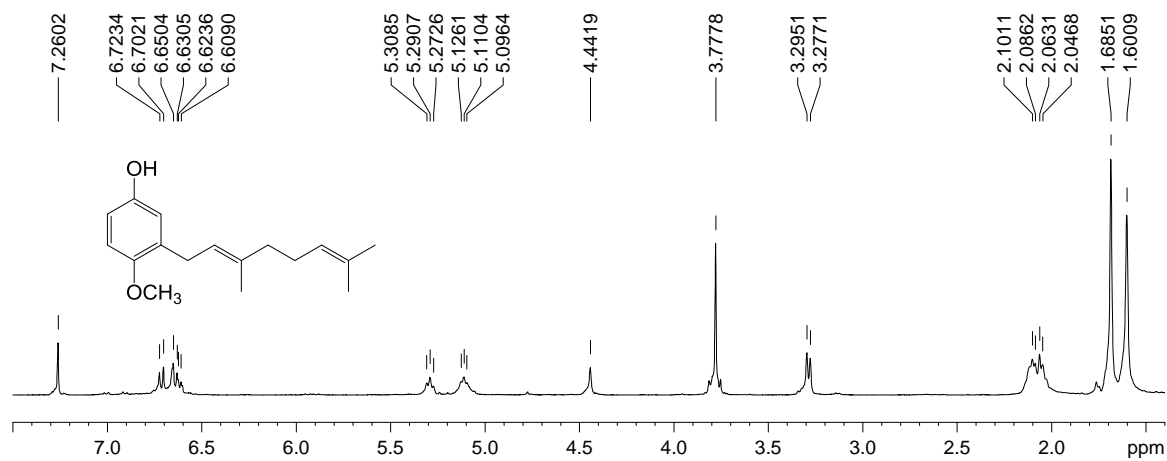


Espectros de RMN 1D NOESY de pulso selectivo a) $\delta = 3,26$ ppm; b) $3,24$ ppm del compuesto **58**.

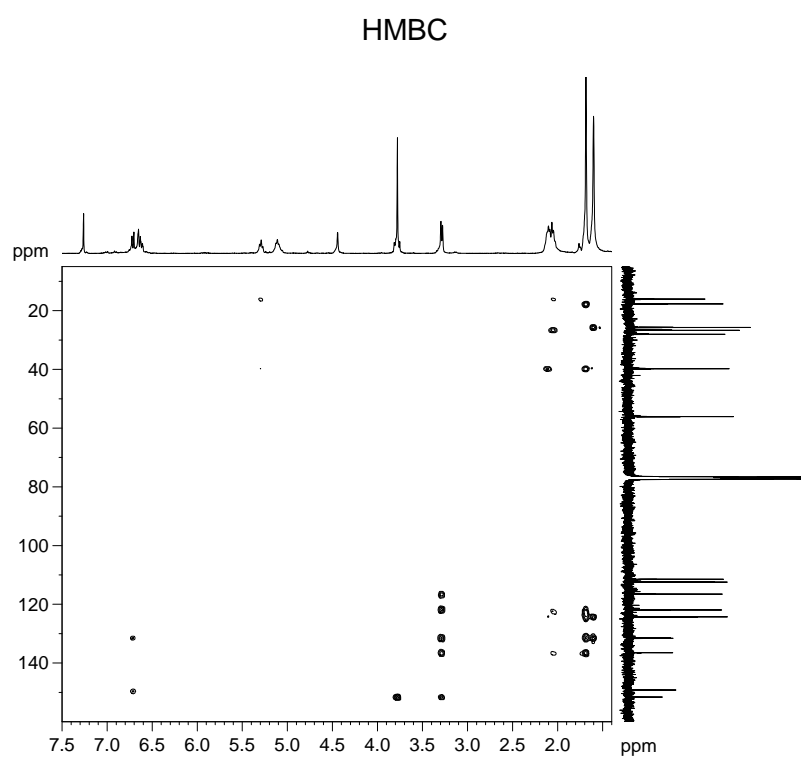
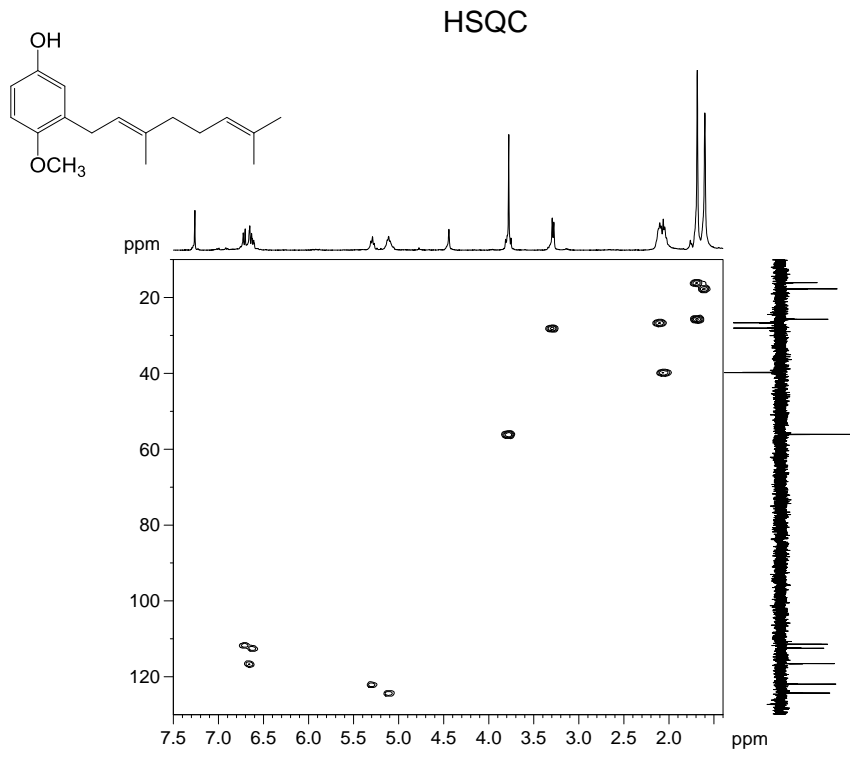


Espectros de RMN 1D NOESY de pulso selectivo a) $\delta = 3,84$ ppm; b) 5,39 ppm del compuesto **58**.

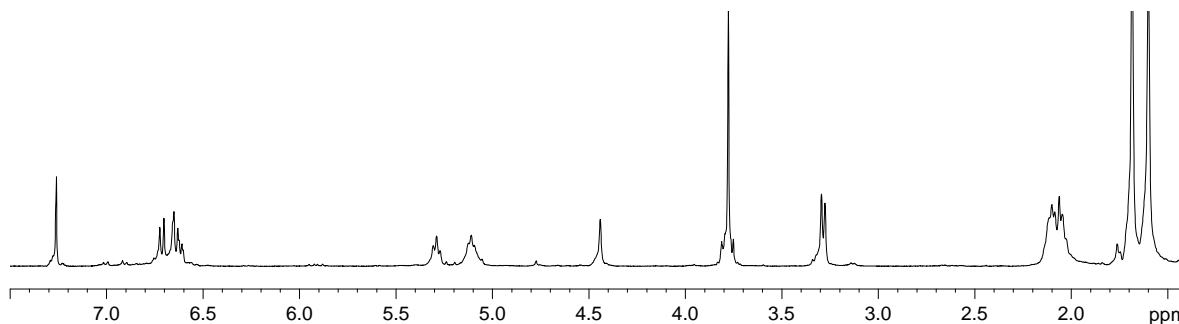
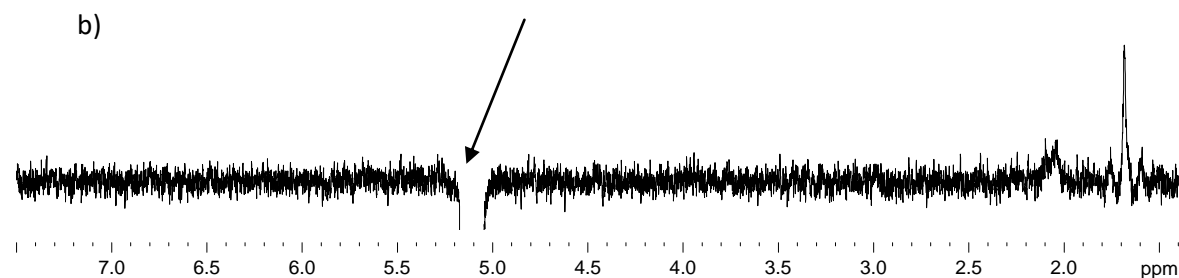
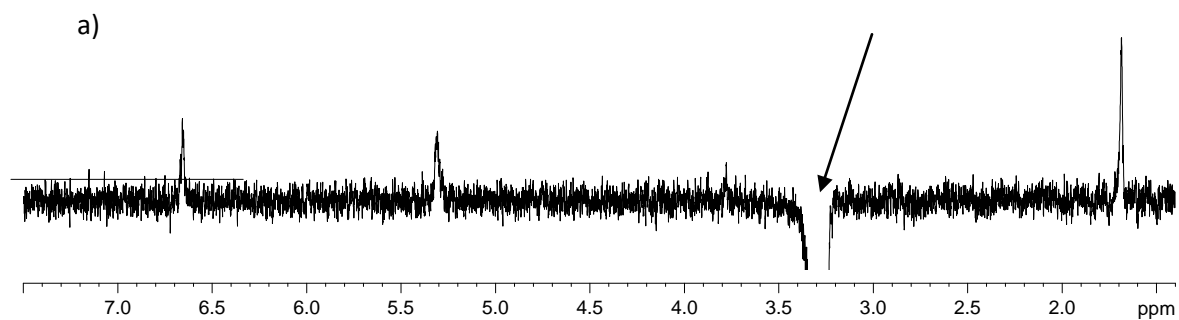
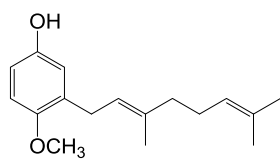
COMPUESTO 62



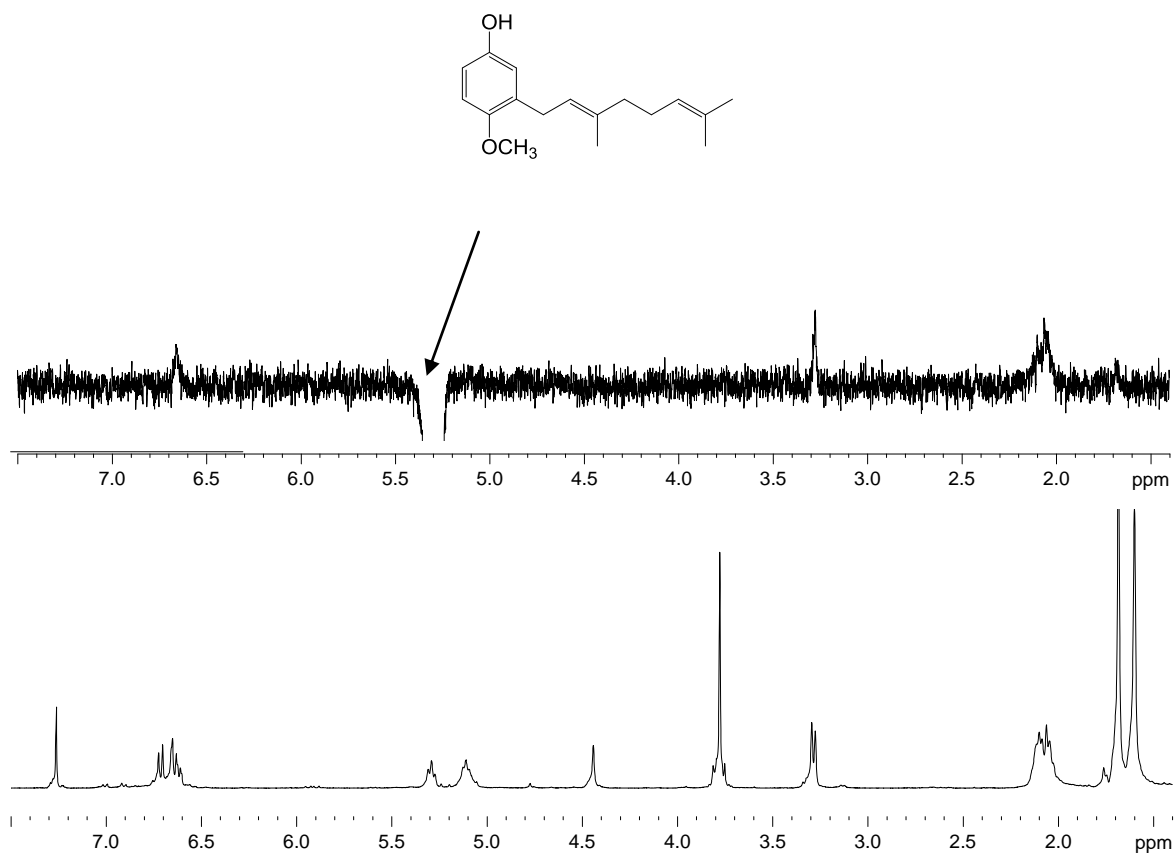
Espectros de RMN ¹H, ¹³C y DEPT 135 del compuesto 62.



Espectro de RMN 2D HSQC y HMBC del compuesto **62**.

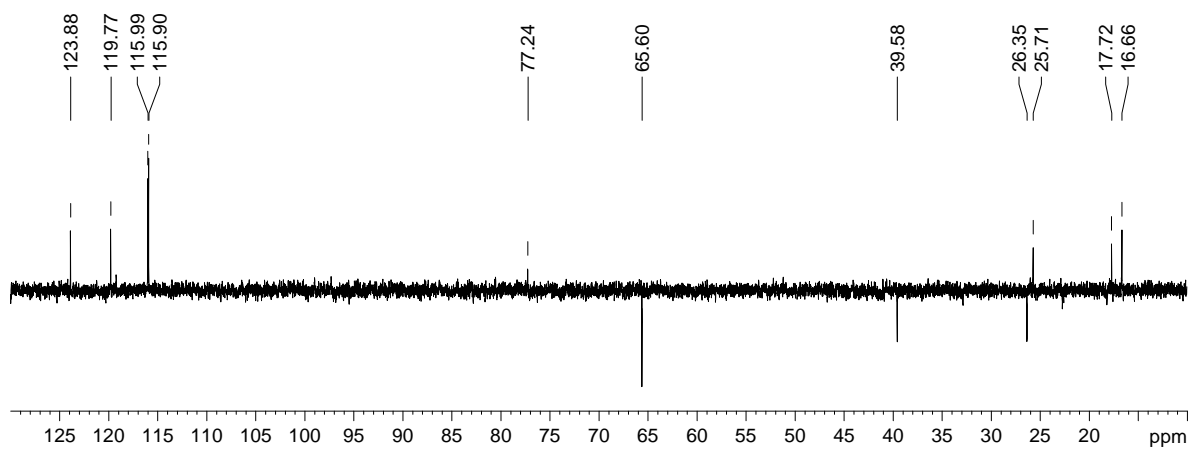
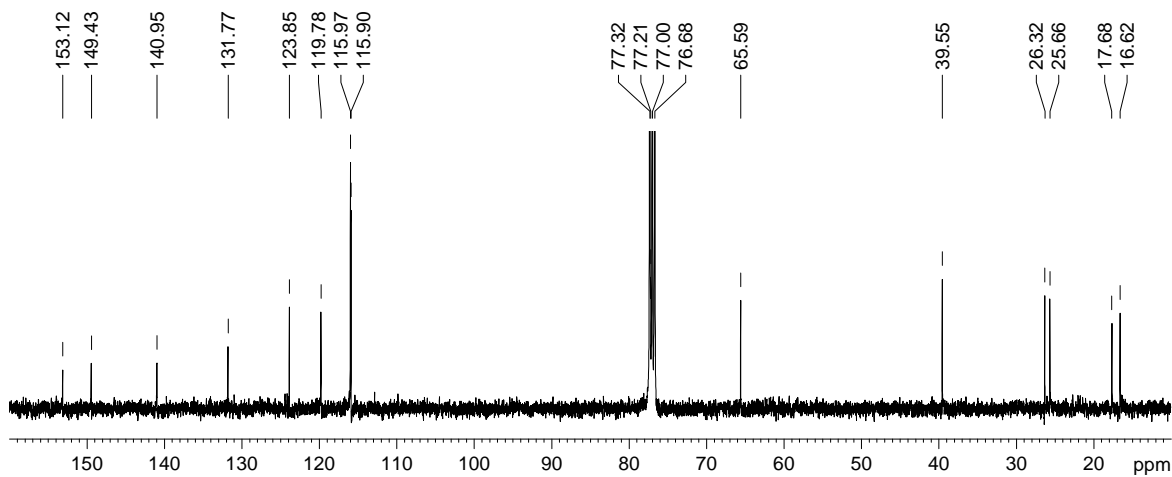
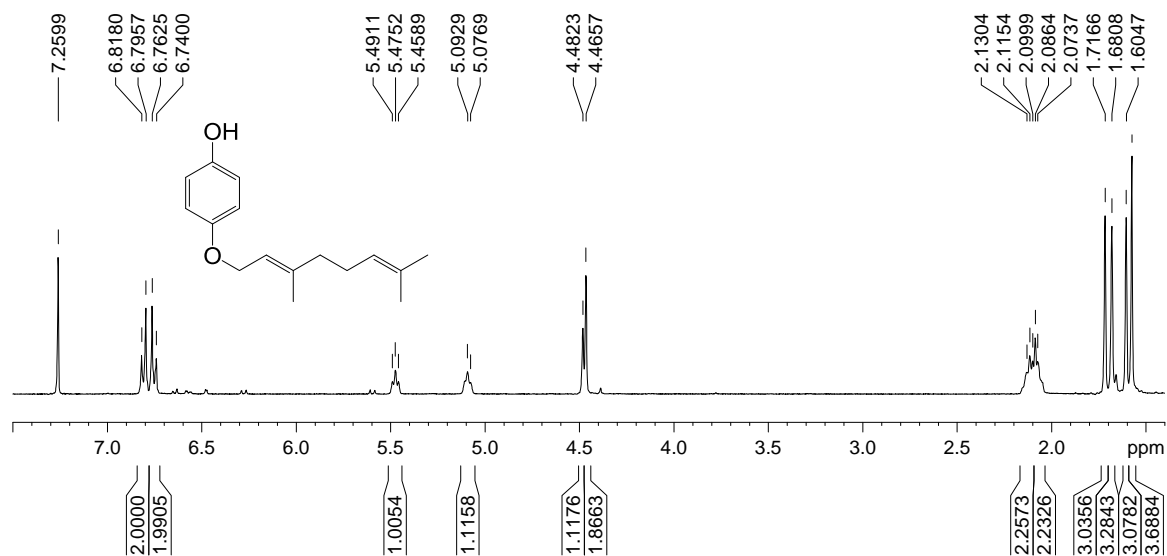


Espectros de RMN 1D NOESY de pulso selectivo a) $\delta = 3,28$ ppm; b) 5,11 ppm del compuesto **62**.

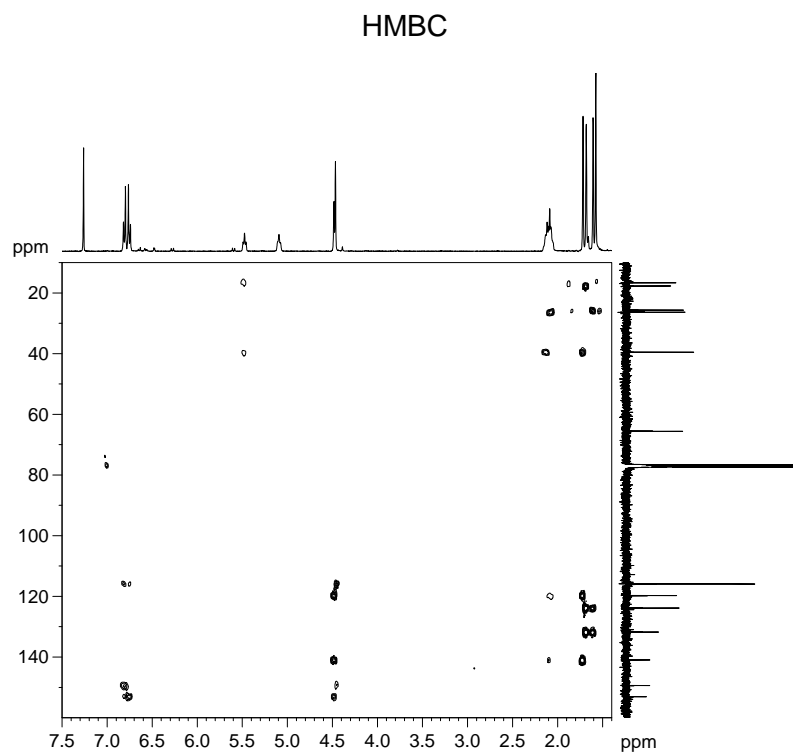
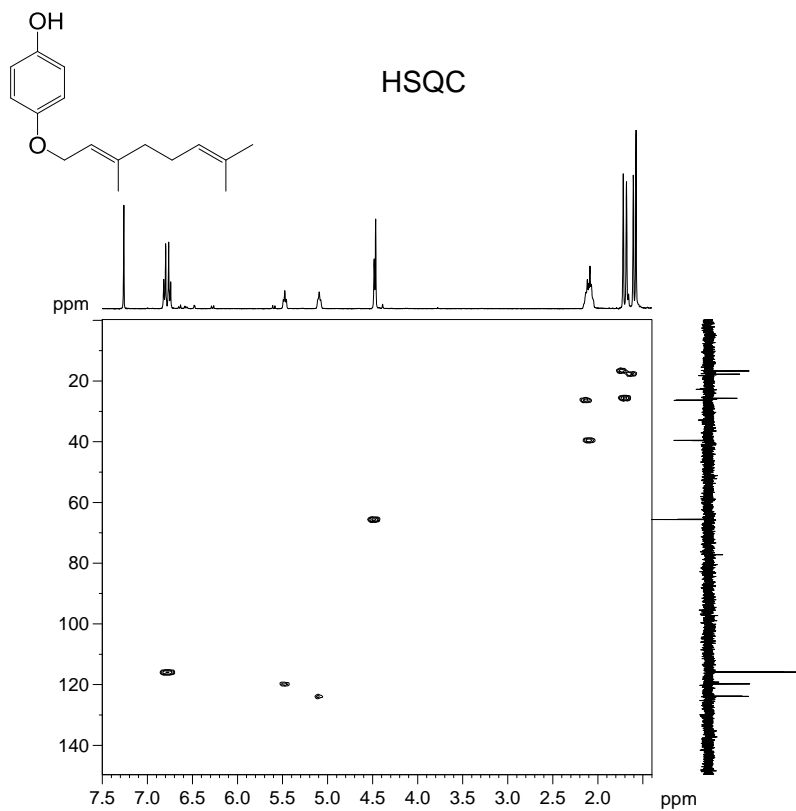


Espectros de RMN 1D NOESY de pulso selectivo $\delta = 5,29$ ppm del compuesto **62**.

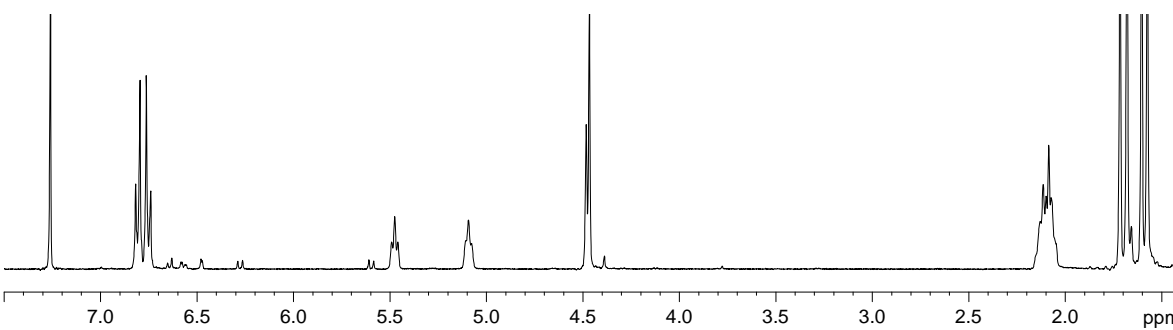
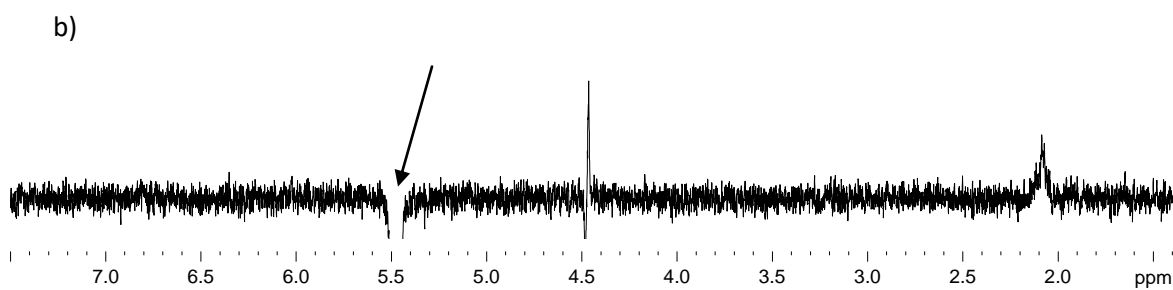
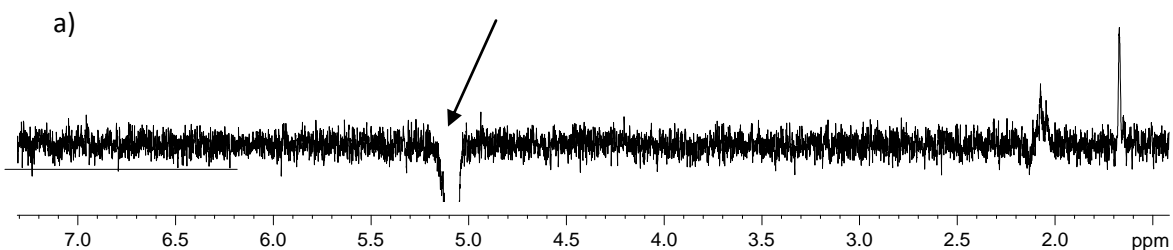
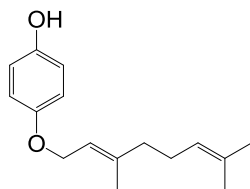
COMPUESTO 63



Espectros de RMN ¹H, ¹³C y DEPT 135 del compuesto 63.

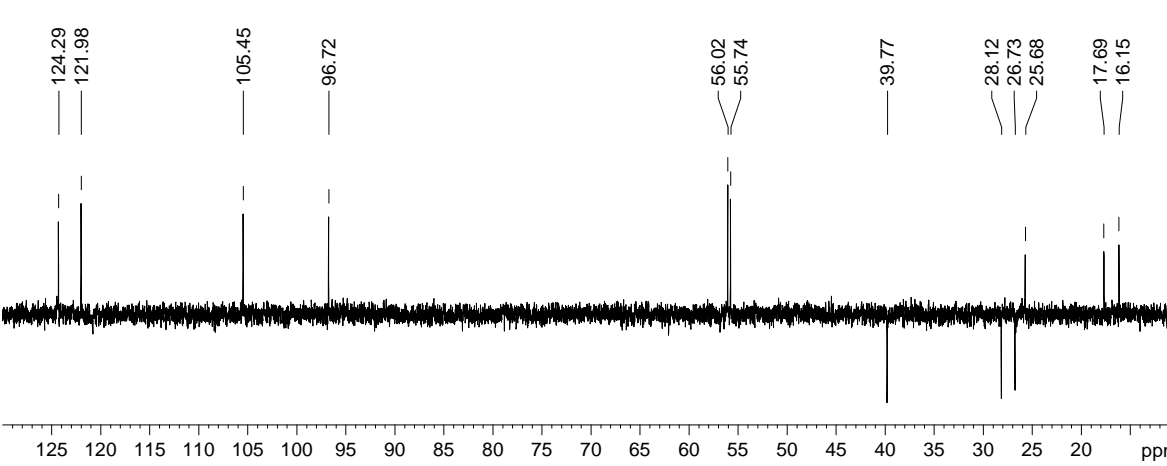
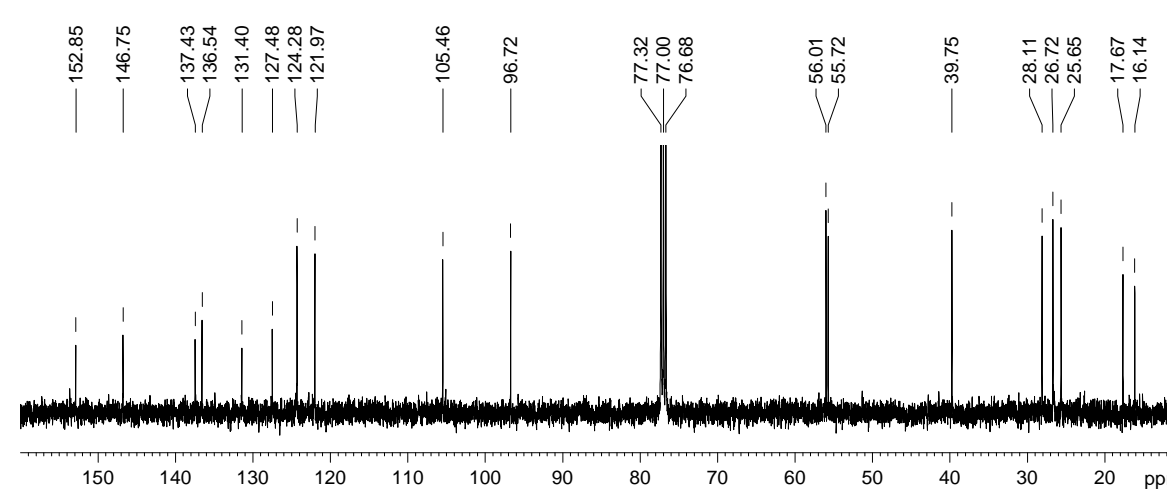
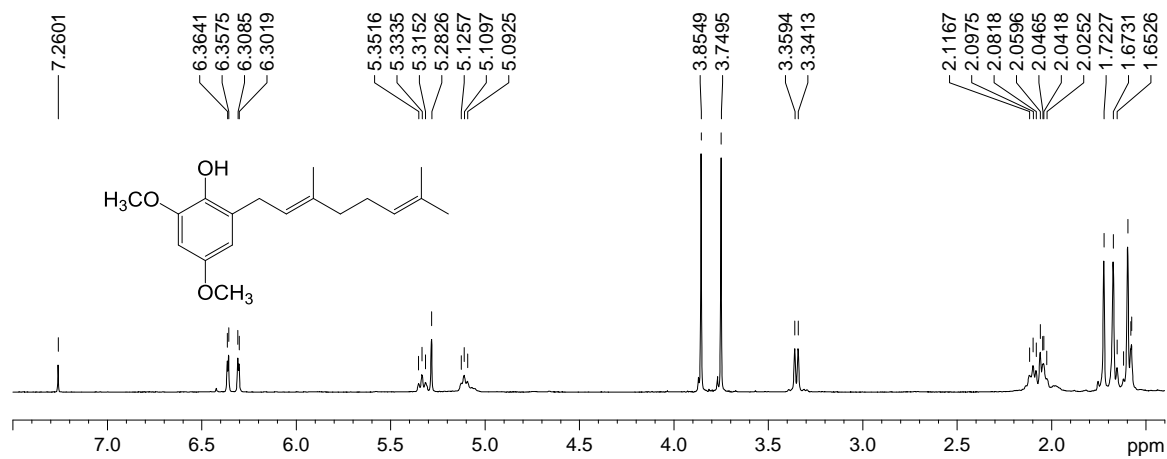


Espectro de RMN 2D HSQC y HMBC del compuesto **63**.

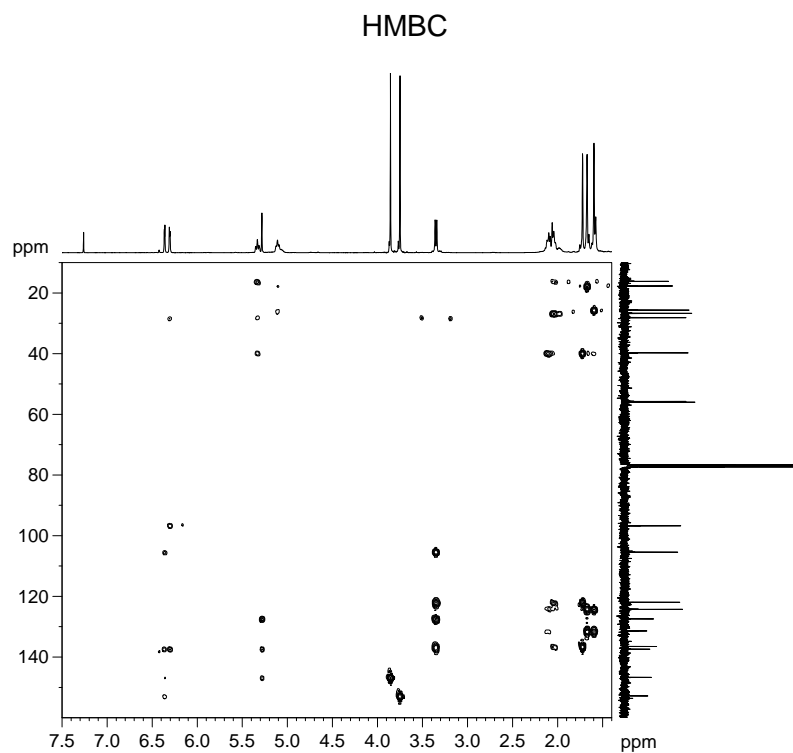
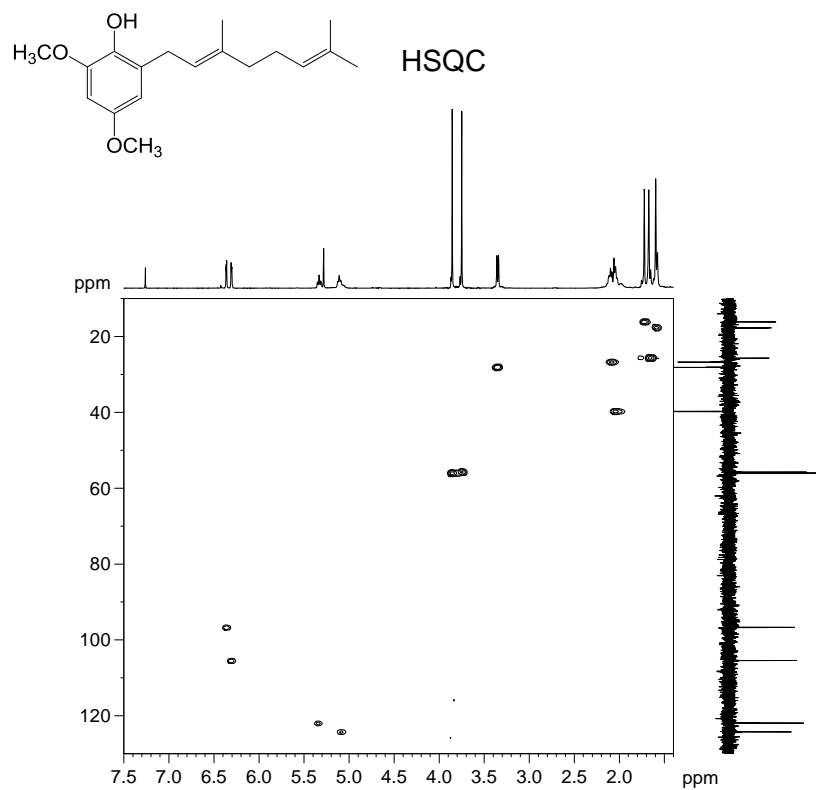


Espectros de RMN 1D NOESY de pulso selectivo a) $\delta = 5,09$ ppm; b) $5,49$ ppm del compuesto **63**.

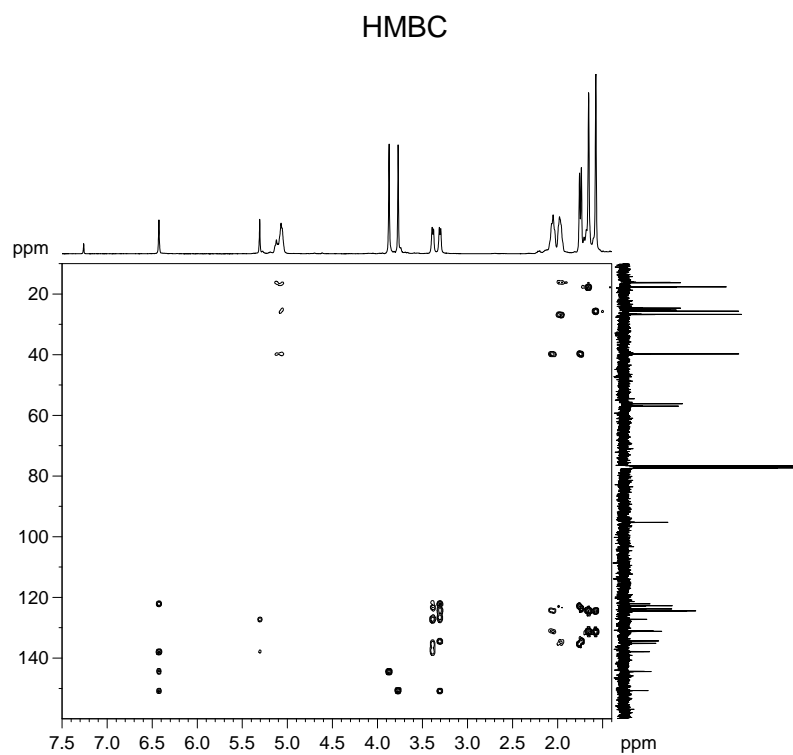
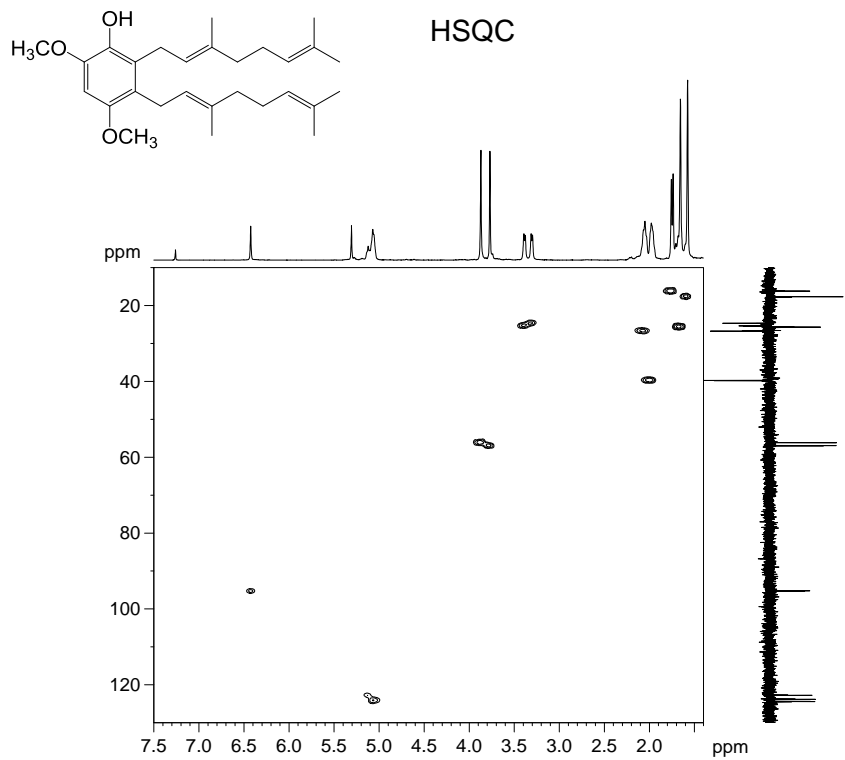
COMPUESTO 64



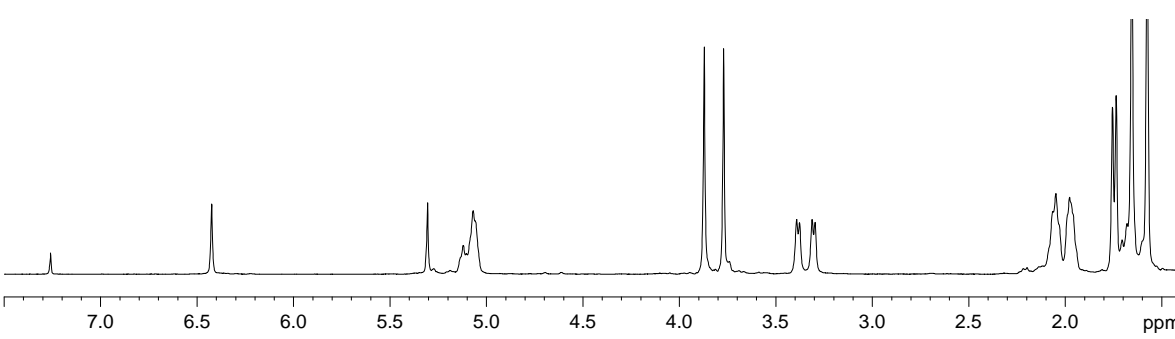
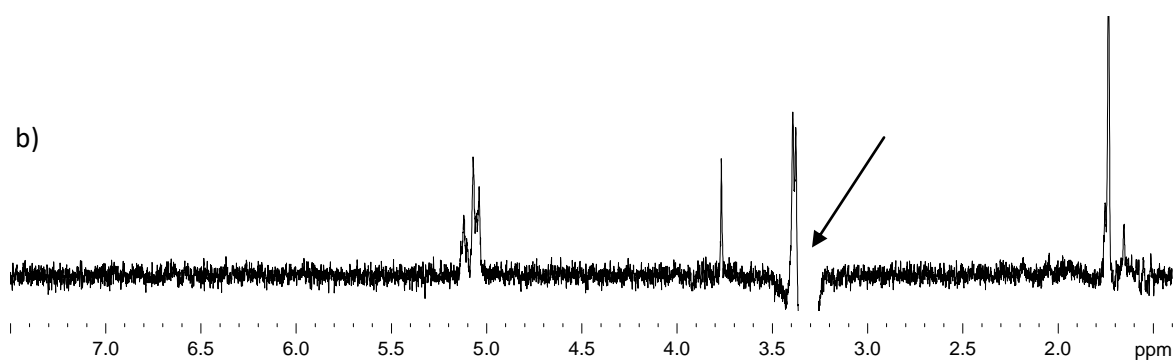
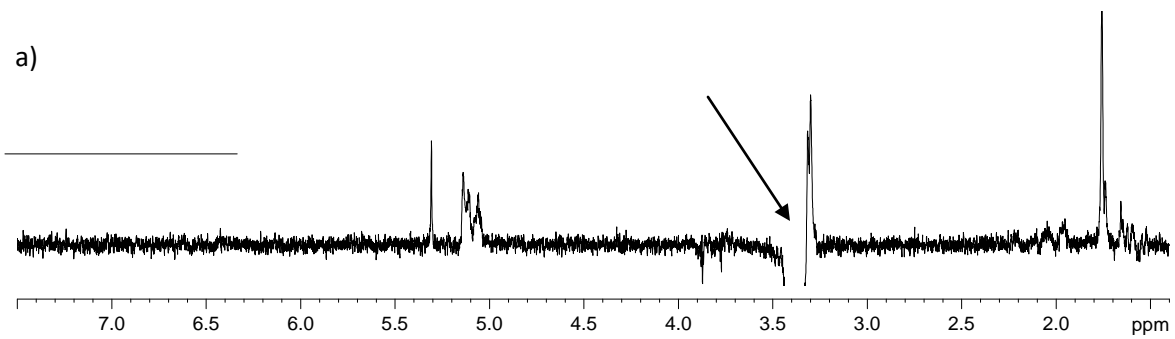
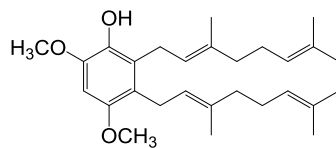
Espectros de RMN ¹H, ¹³C y DEPT 135 del compuesto 64.



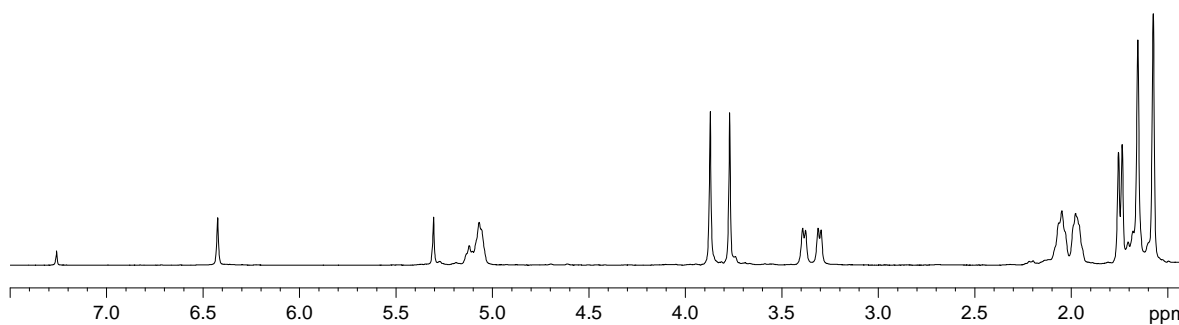
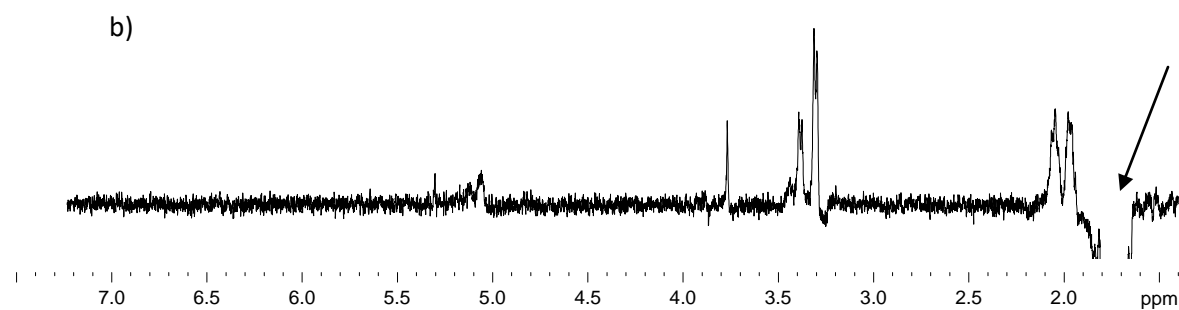
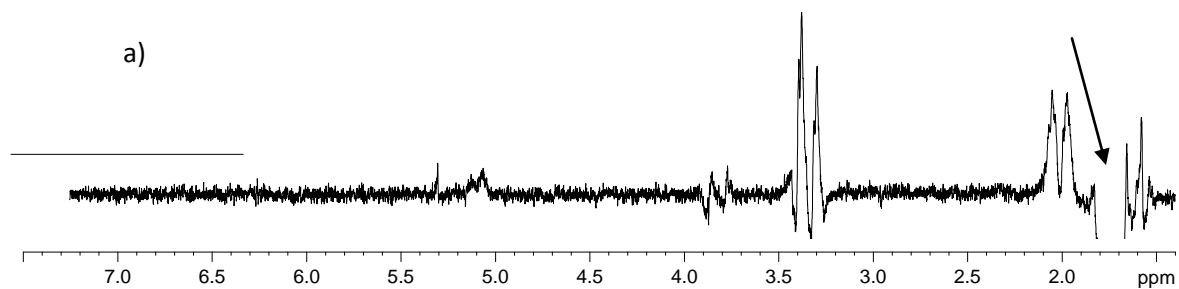
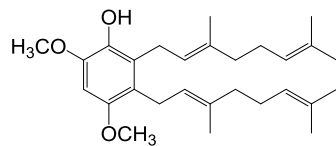
Espectro de RMN 2D HSQC y HMBC del compuesto 64



Espectro de RMN 2D HSQC y HMBC del compuesto 65.

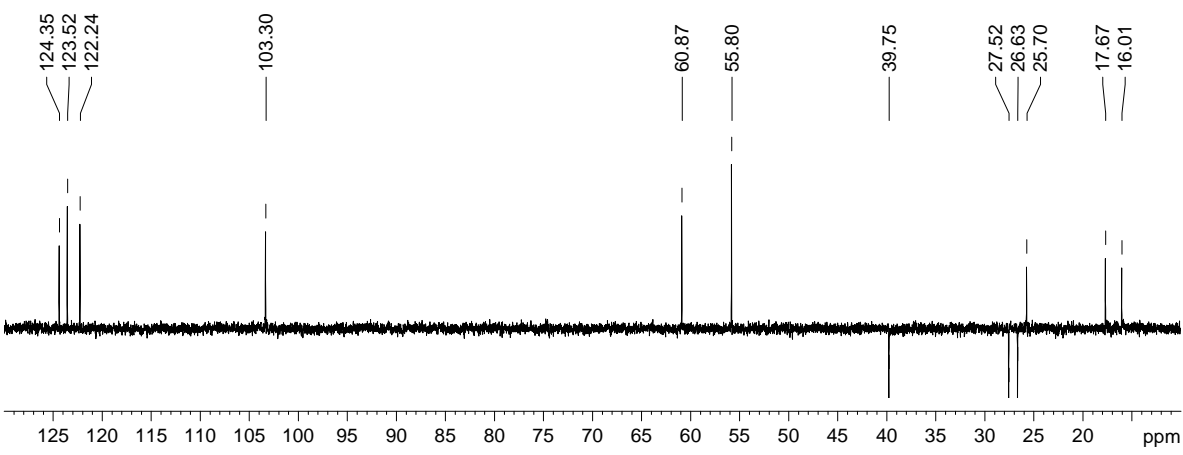
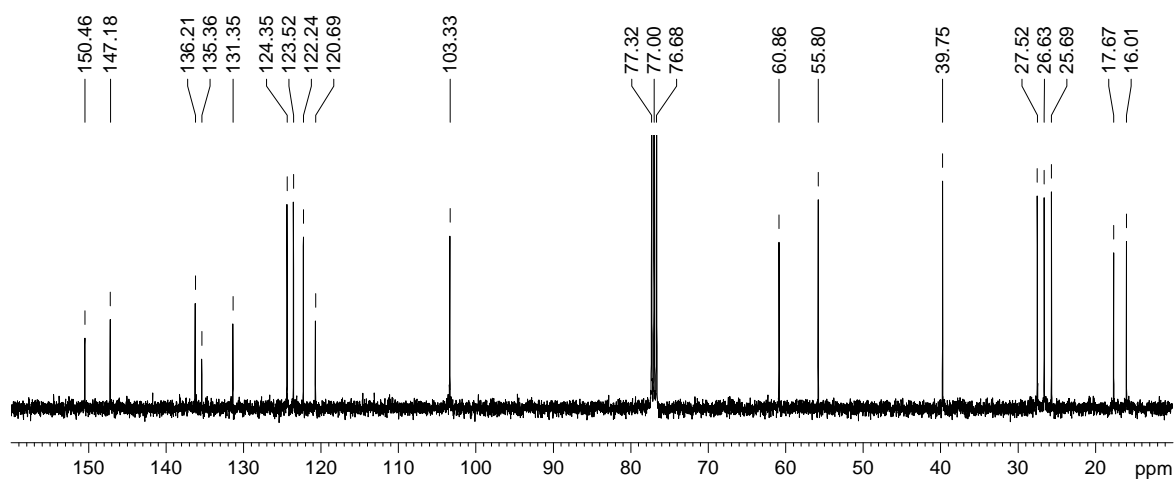
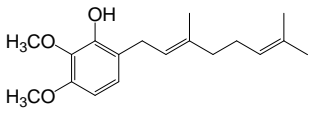
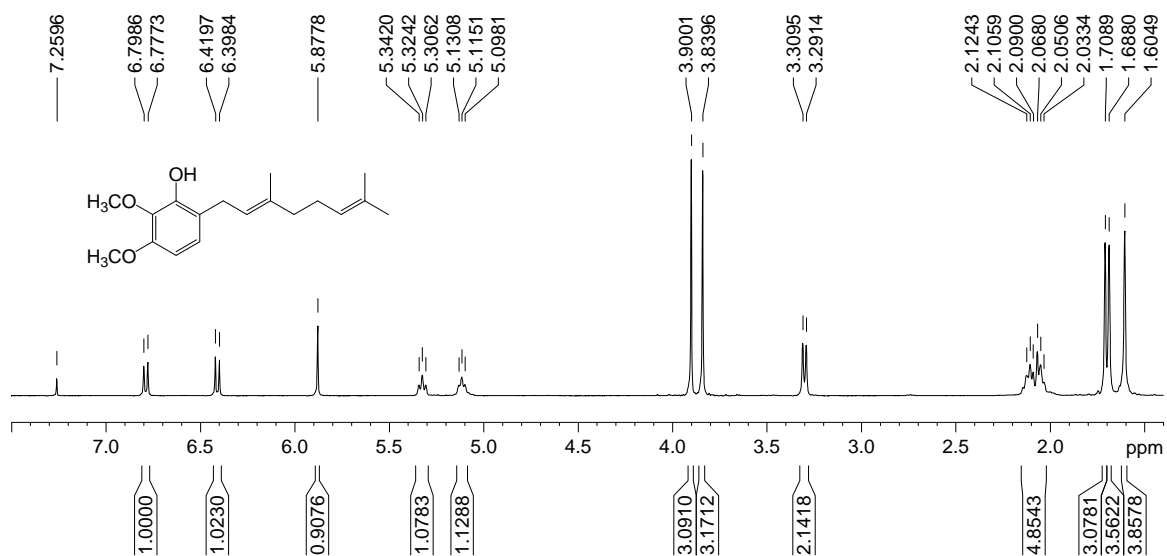


Espectros de RMN 1D NOESY de pulso selectivo a) $\delta = 3,39$ ppm; b) 3,30 ppm del compuesto **65**.

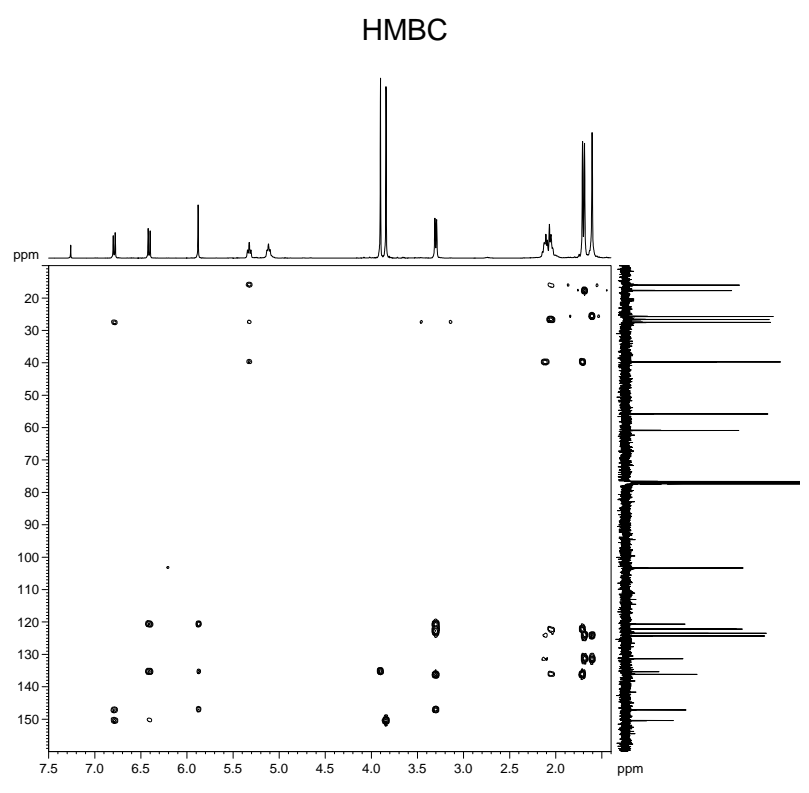
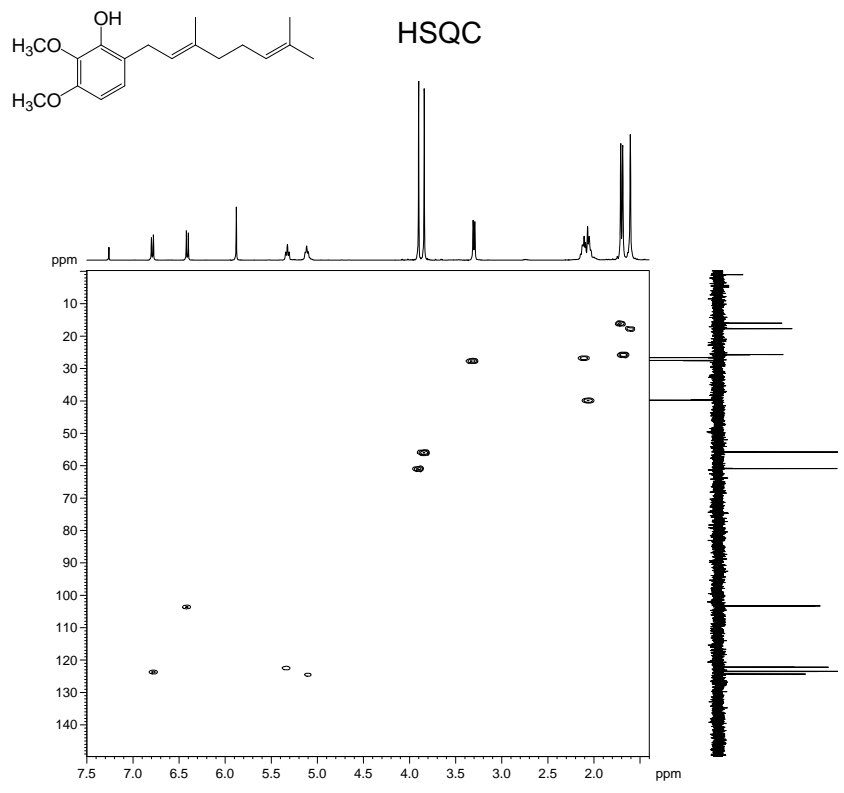


Espectros de RMN 1D NOESY de pulso selectivo a) $\delta = 1,76$ ppm; b) 1,65 ppm del compuesto **65**.

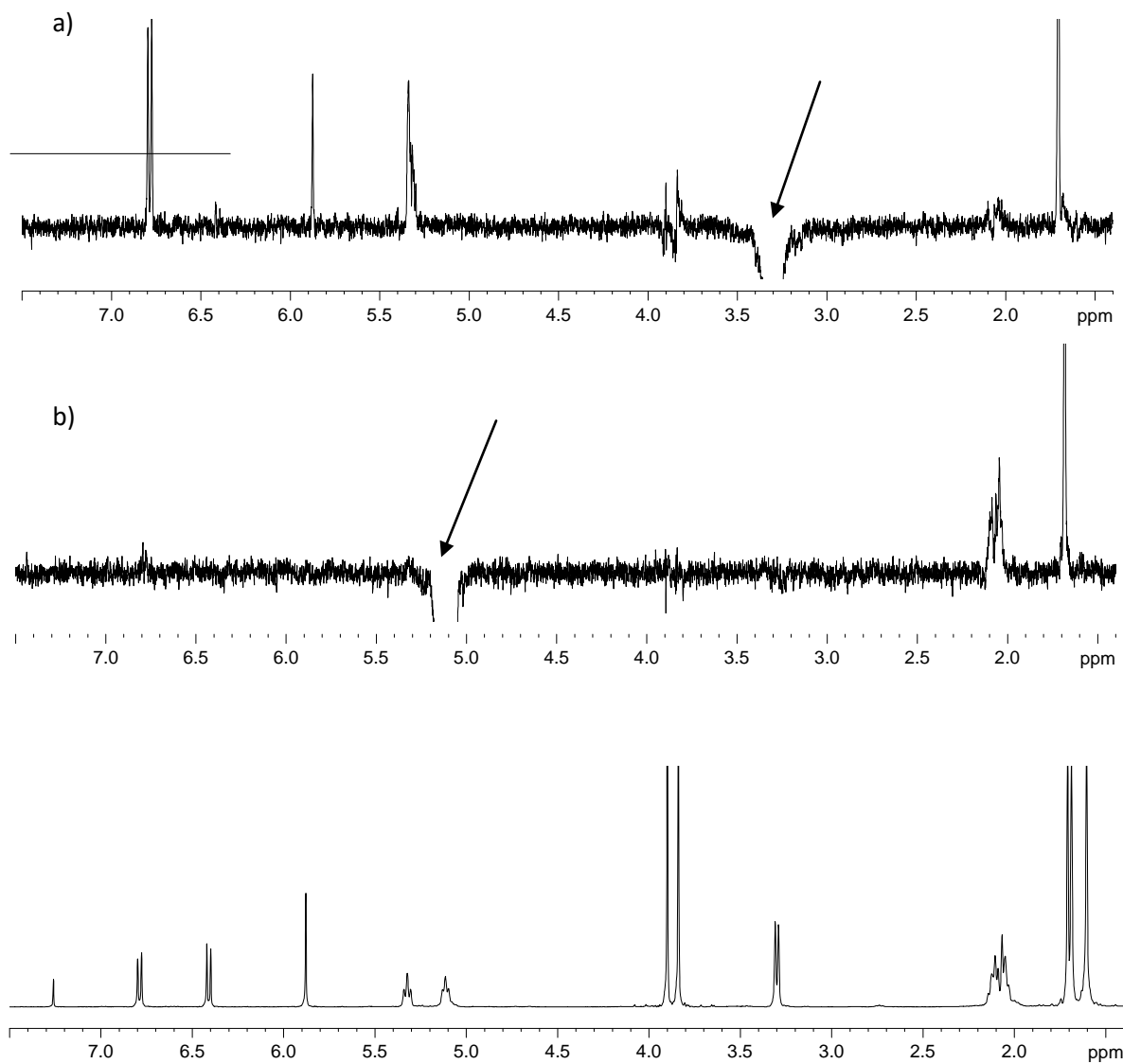
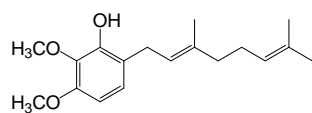
COMPUESTO 68



Espectros de RMN ¹H, ¹³C y DEPT 135 del compuesto 68.

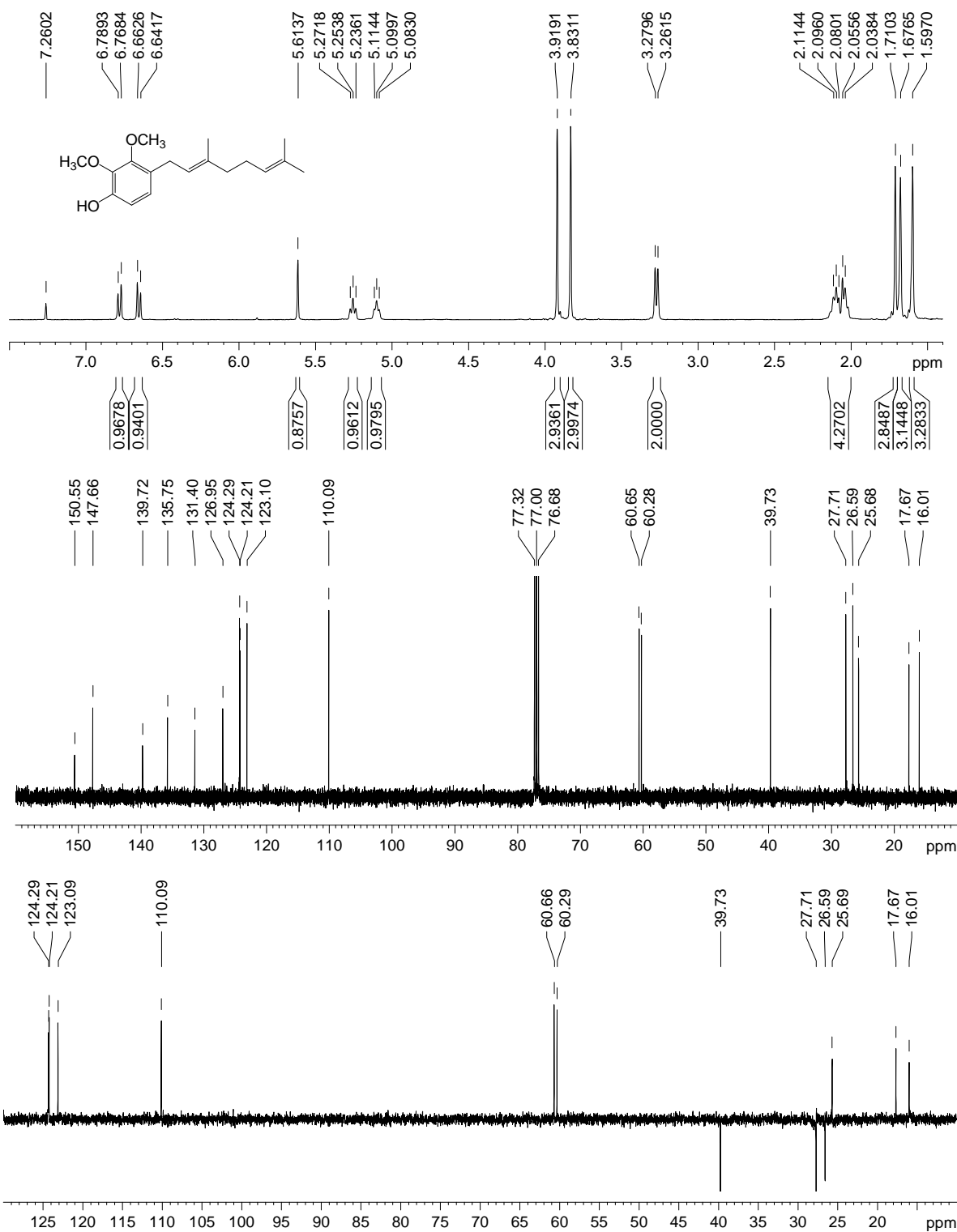


Espectro de RMN 2D HSQC y HMBC del compuesto **68**.

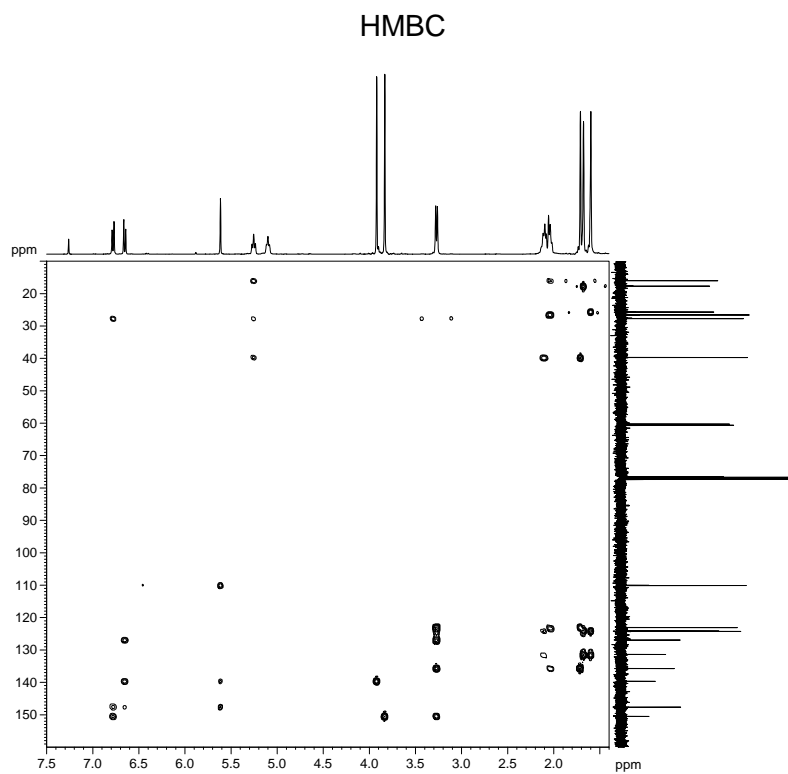
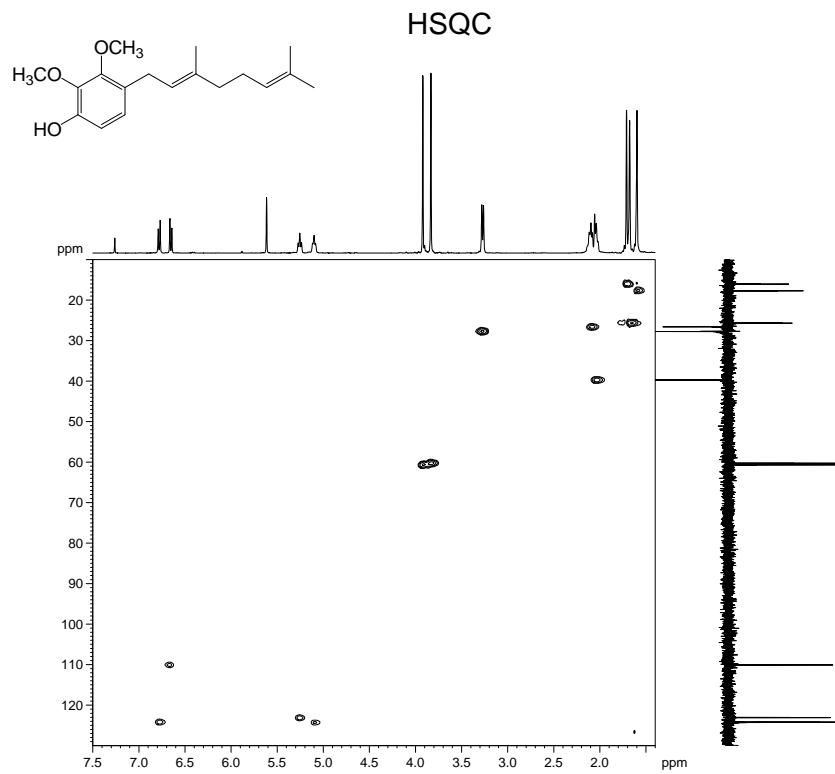


Espectros de RMN 1D NOESY de pulso selectivo a) $\delta = 3,30$ ppm; b) 5,12 ppm del compuesto **68**.

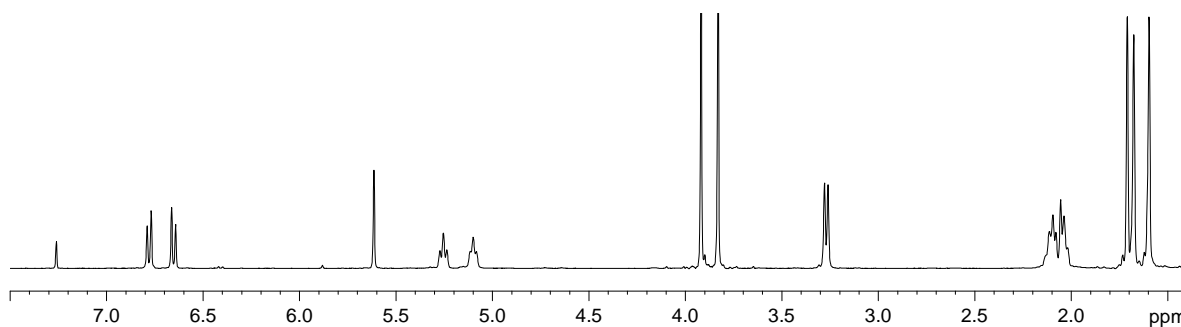
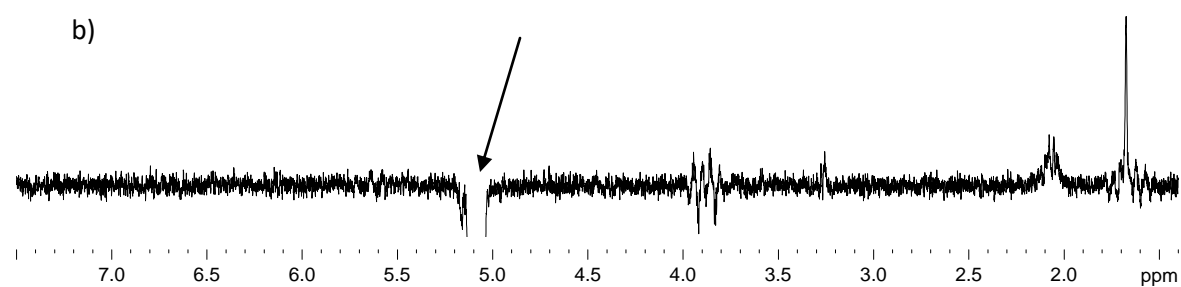
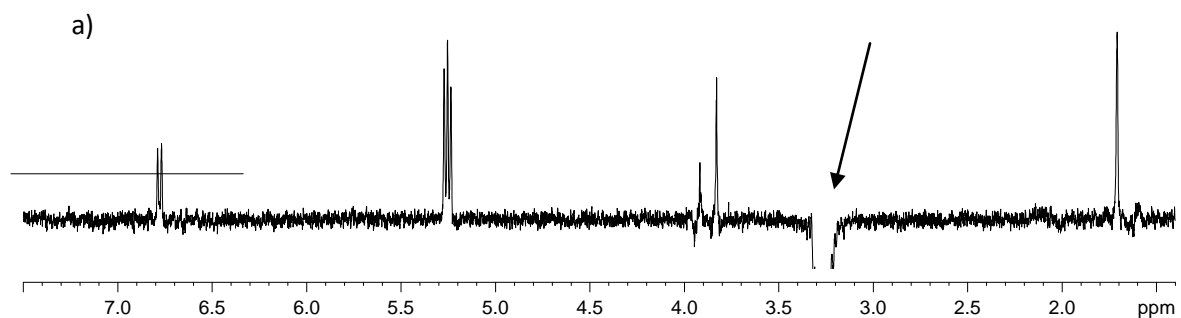
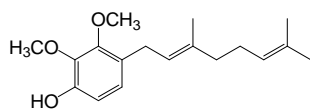
COMPUESTO 69



Espectros de RMN ¹H, ¹³C y DEPT 135 del compuesto 69.

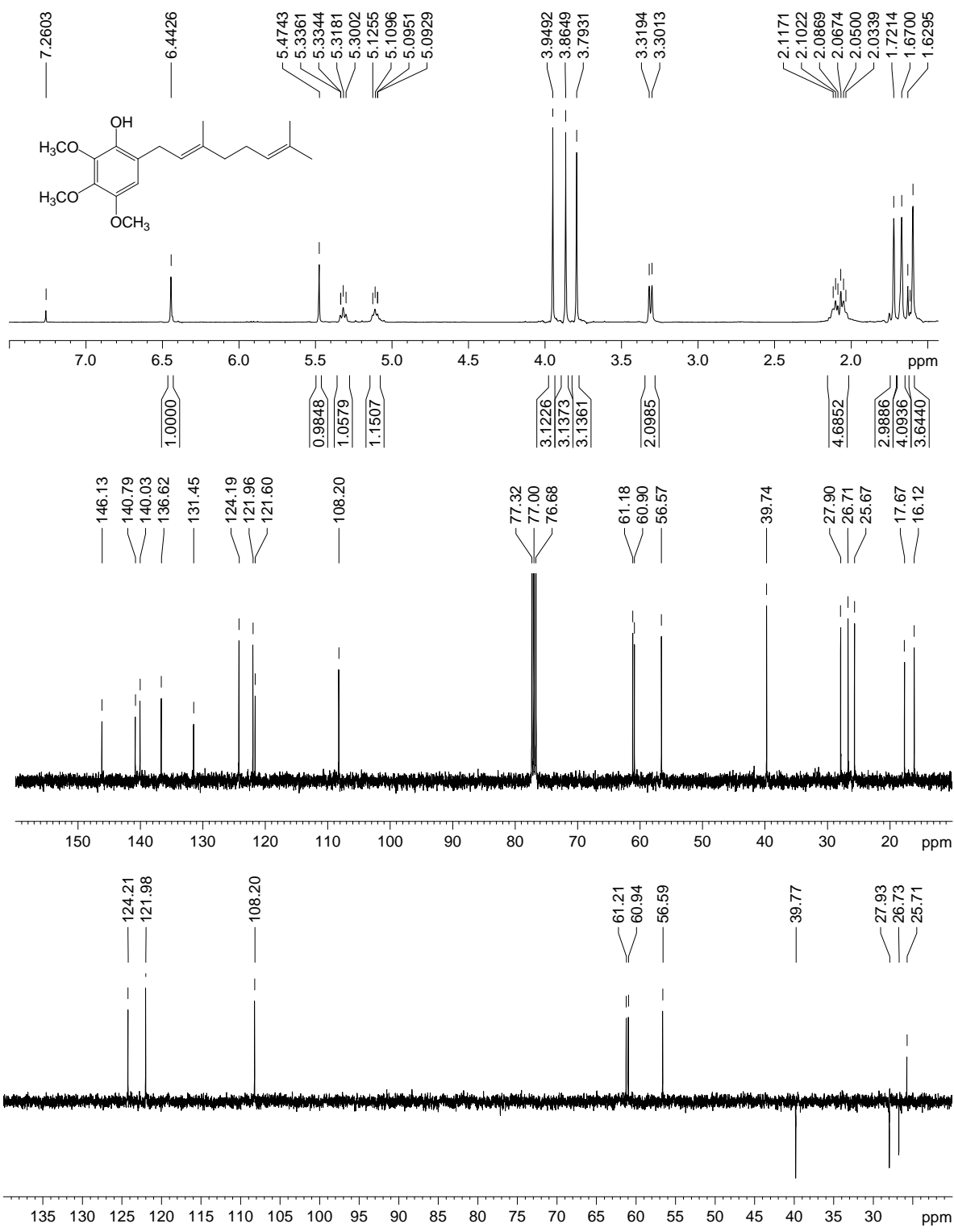


Espectro de RMN 2D HSQC y HMBC del compuesto **69**.

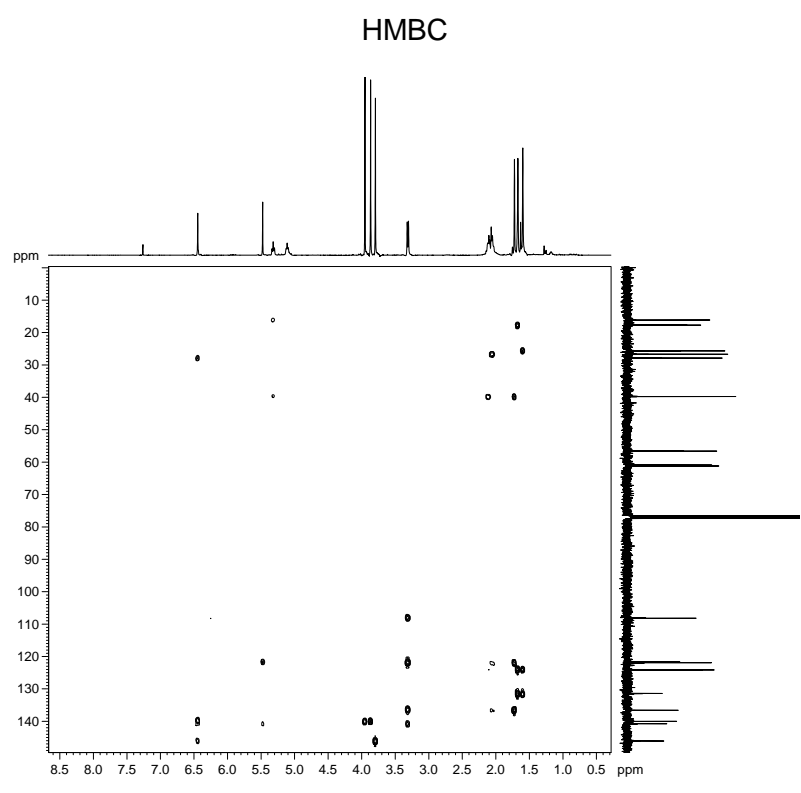
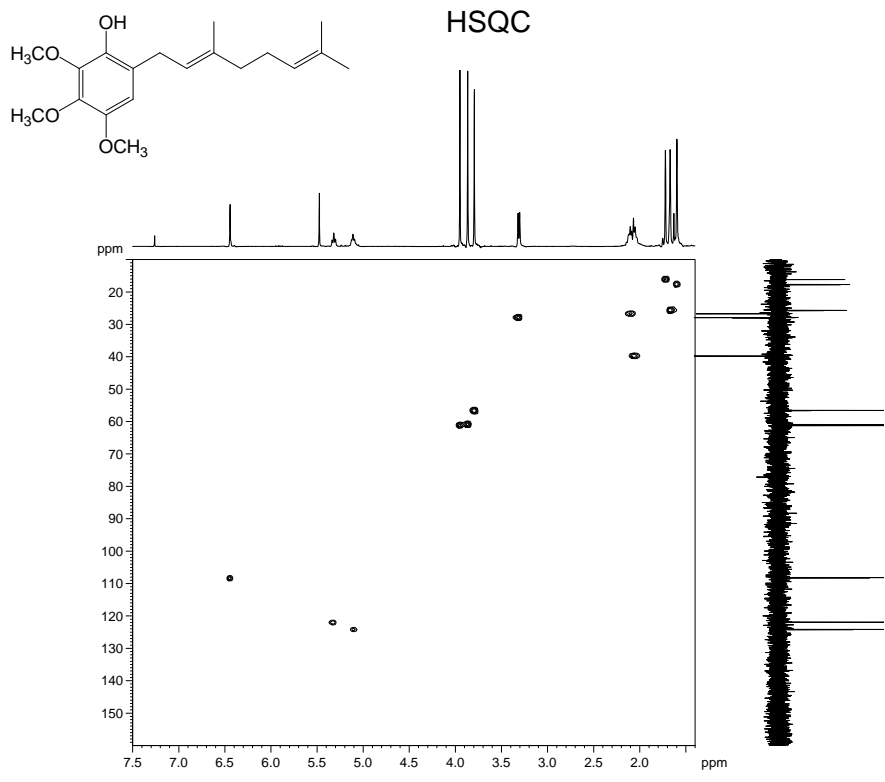


Espectros de RMN 1D NOESY de pulso selectivo a) $\delta = 3,27$ ppm; b) $5,10$ ppm del compuesto **69**.

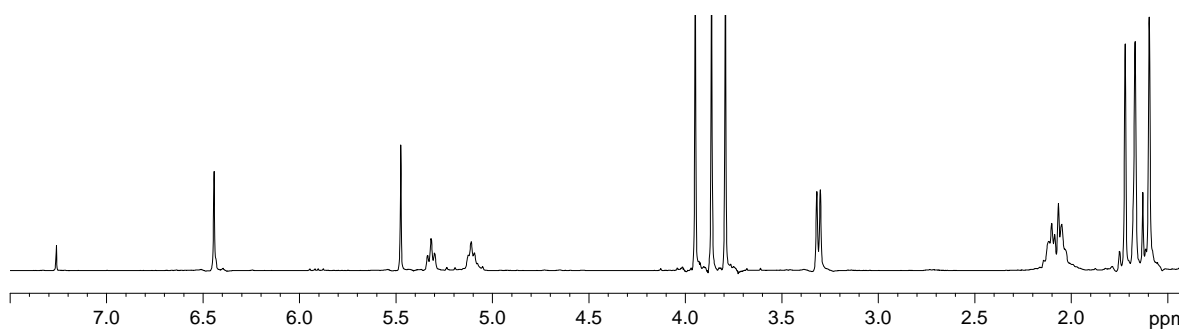
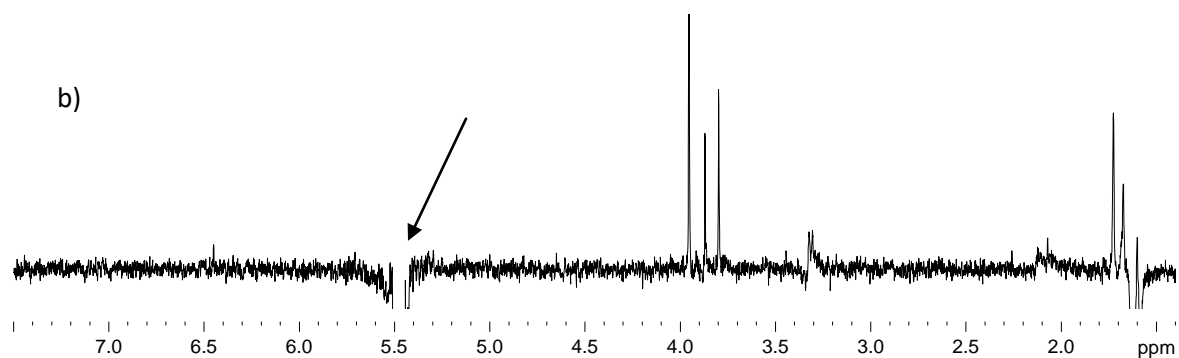
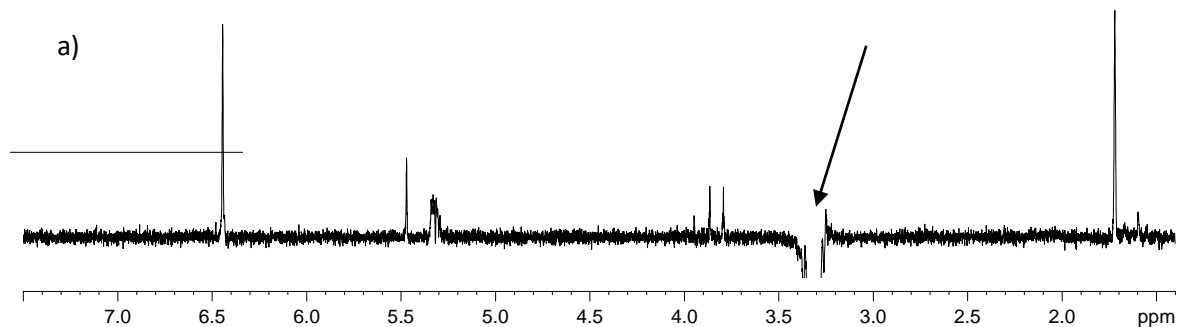
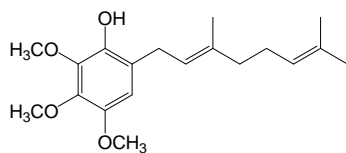
COMPUESTO 70



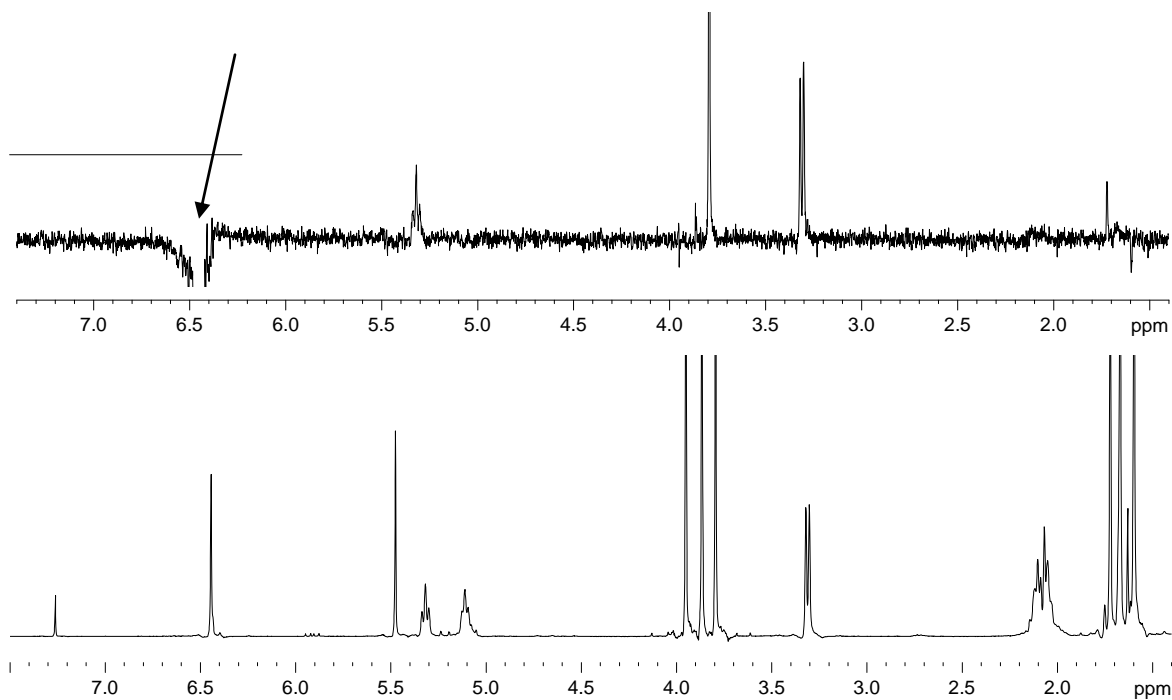
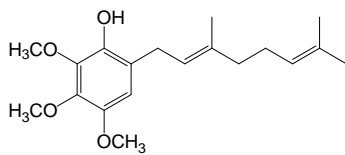
Espectros de RMN ¹H, ¹³C y DEPT 135 del compuesto 70.



Espectro de RMN 2D HSQC y HMBC del compuesto **70**.

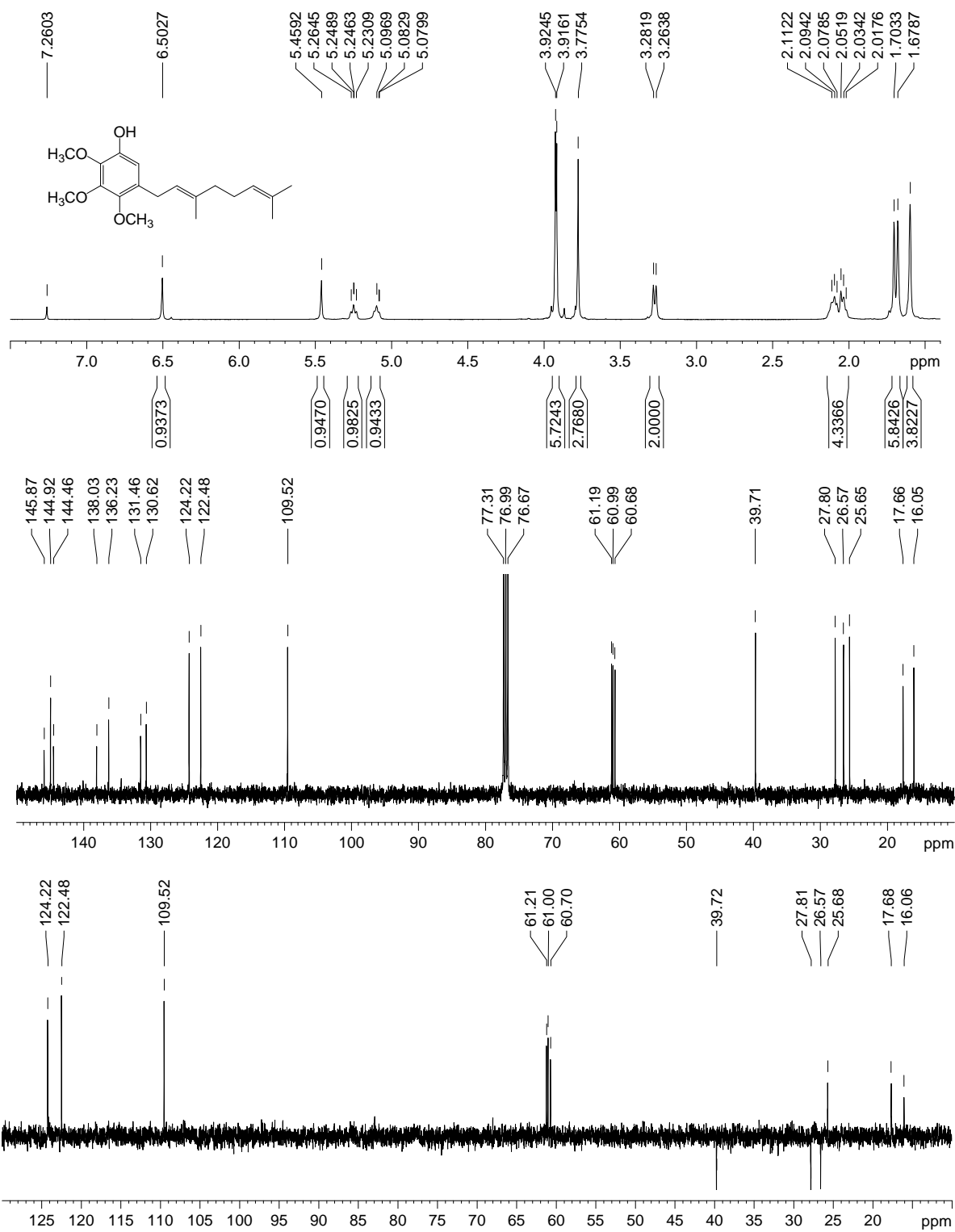


Espectros de RMN 1D NOESY de pulso selectivo a) $\delta = 3,30$ ppm; b) $5,32$ ppm del compuesto **70**.

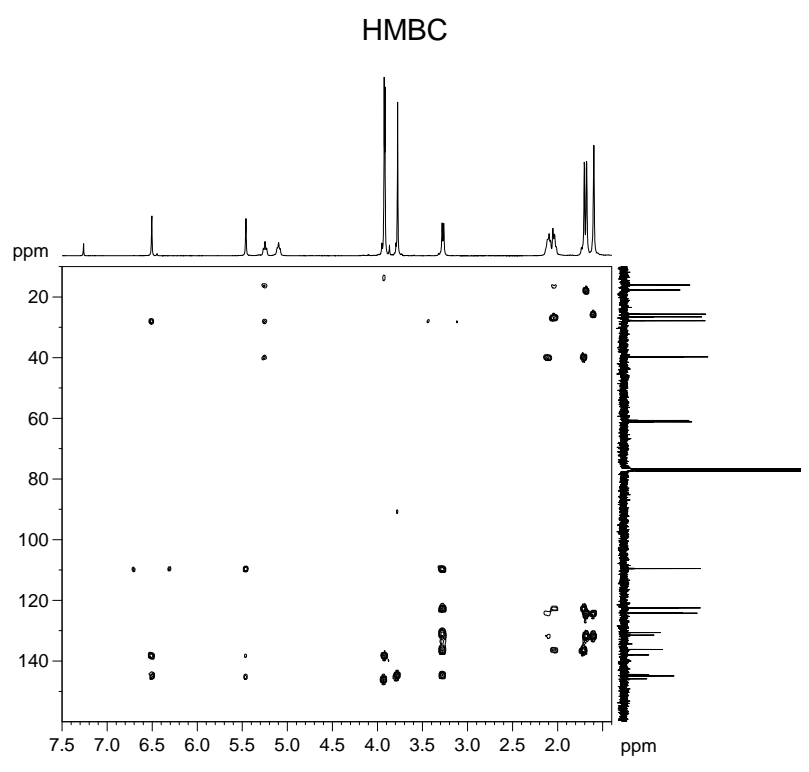
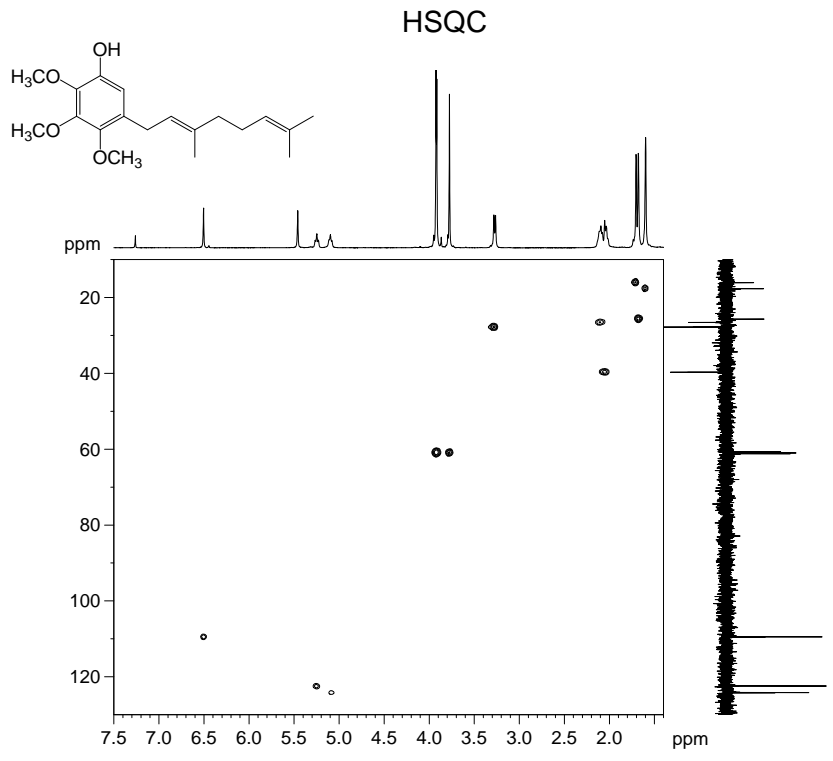


Espectros de RMN 1D NOESY de pulso selectivo 6,44 ppm del compuesto **70**.

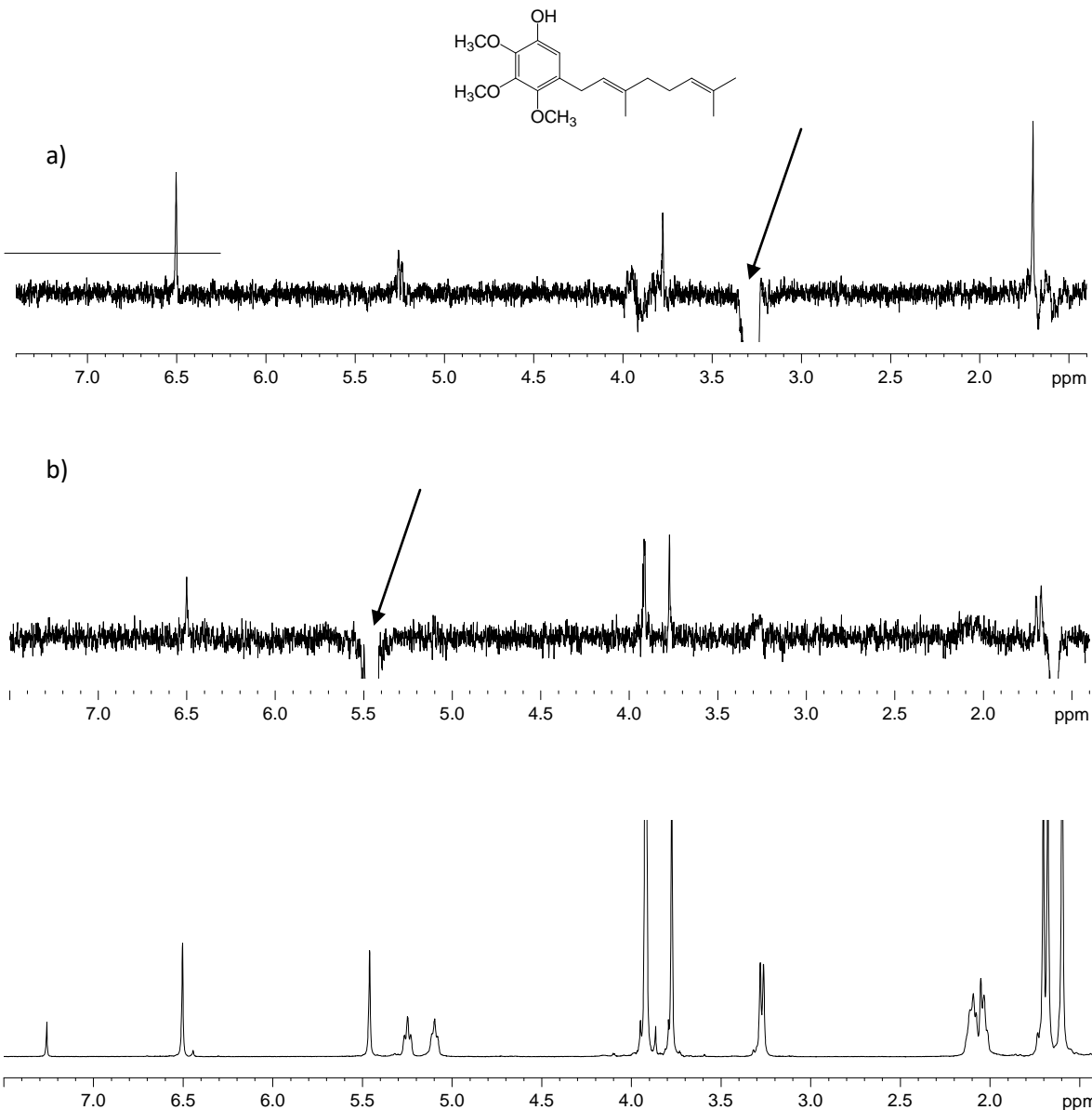
COMPUESTO 71



Espectros de RMN ¹H, ¹³C y DEPT 135 del compuesto 71.

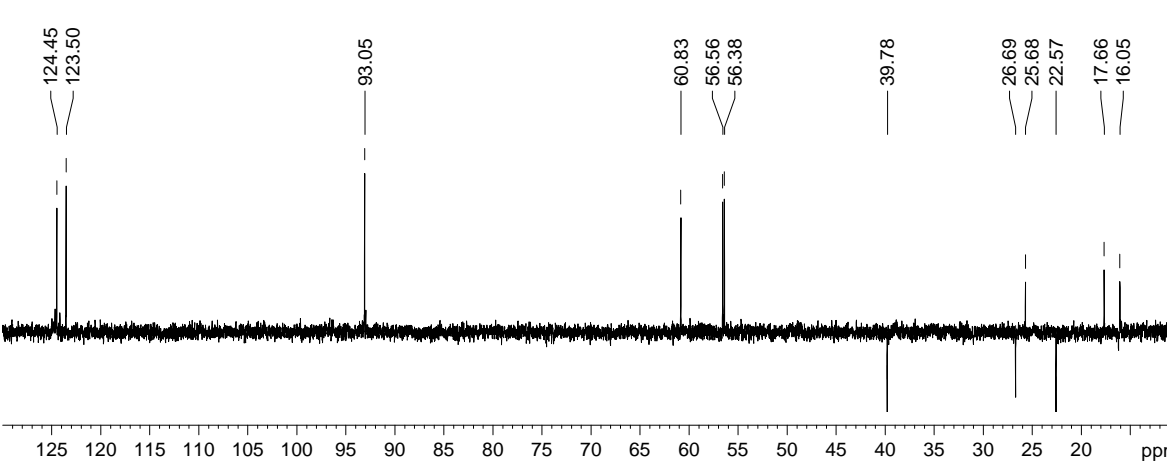
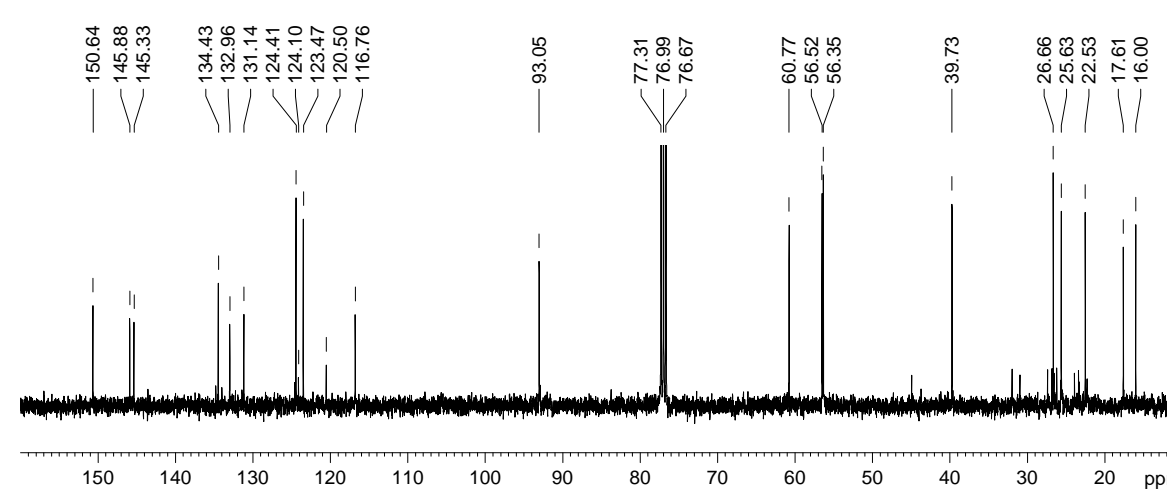
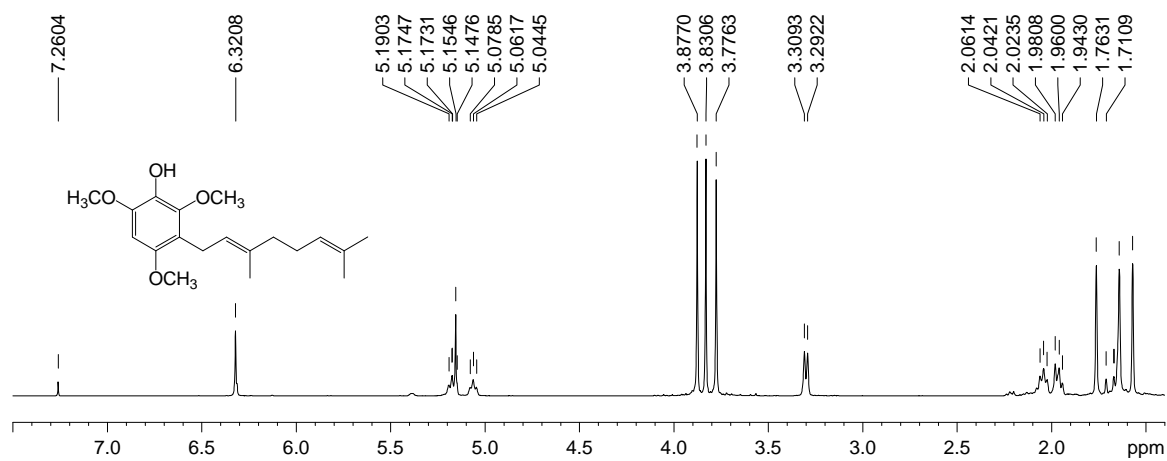


Espectro de RMN 2D HSQC y HMBC del compuesto 71.

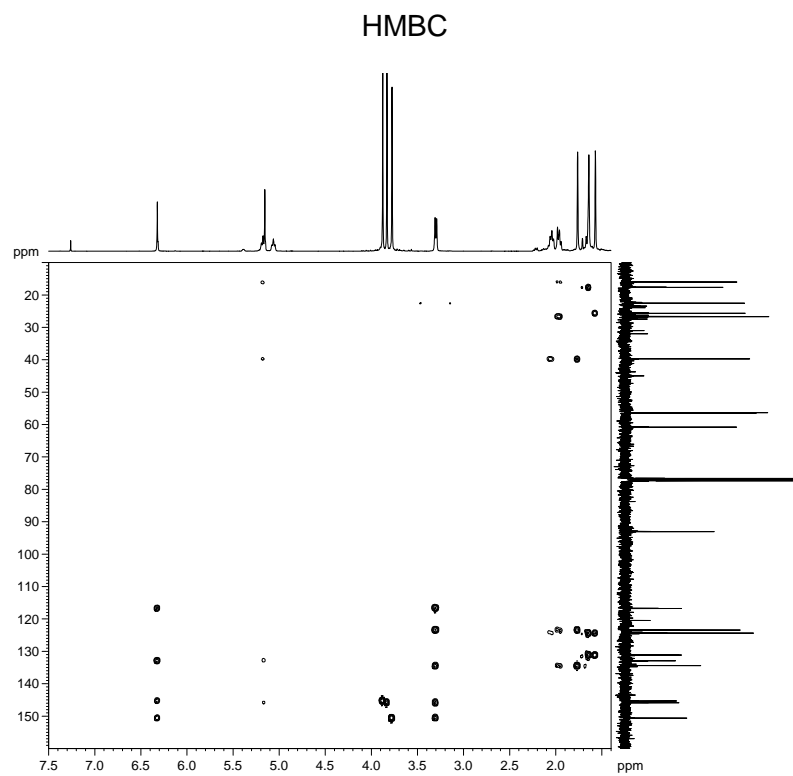
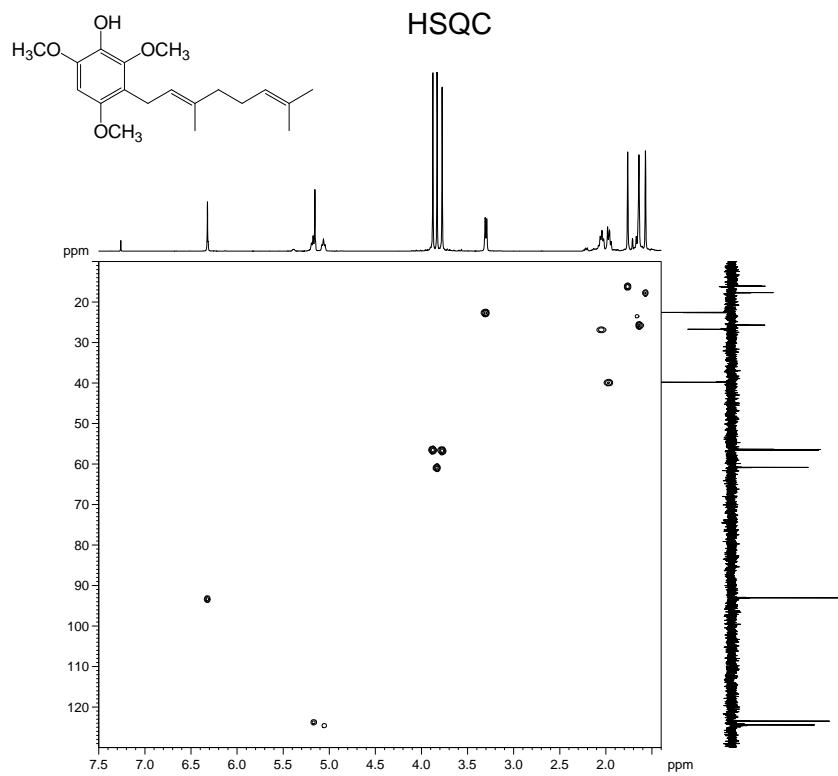


Espectros de RMN 1D NOESY de pulso selectivo a) $\delta = 3,27$ ppm; b) $5,46$ ppm del compuesto **71**.

COMPUESTO 72

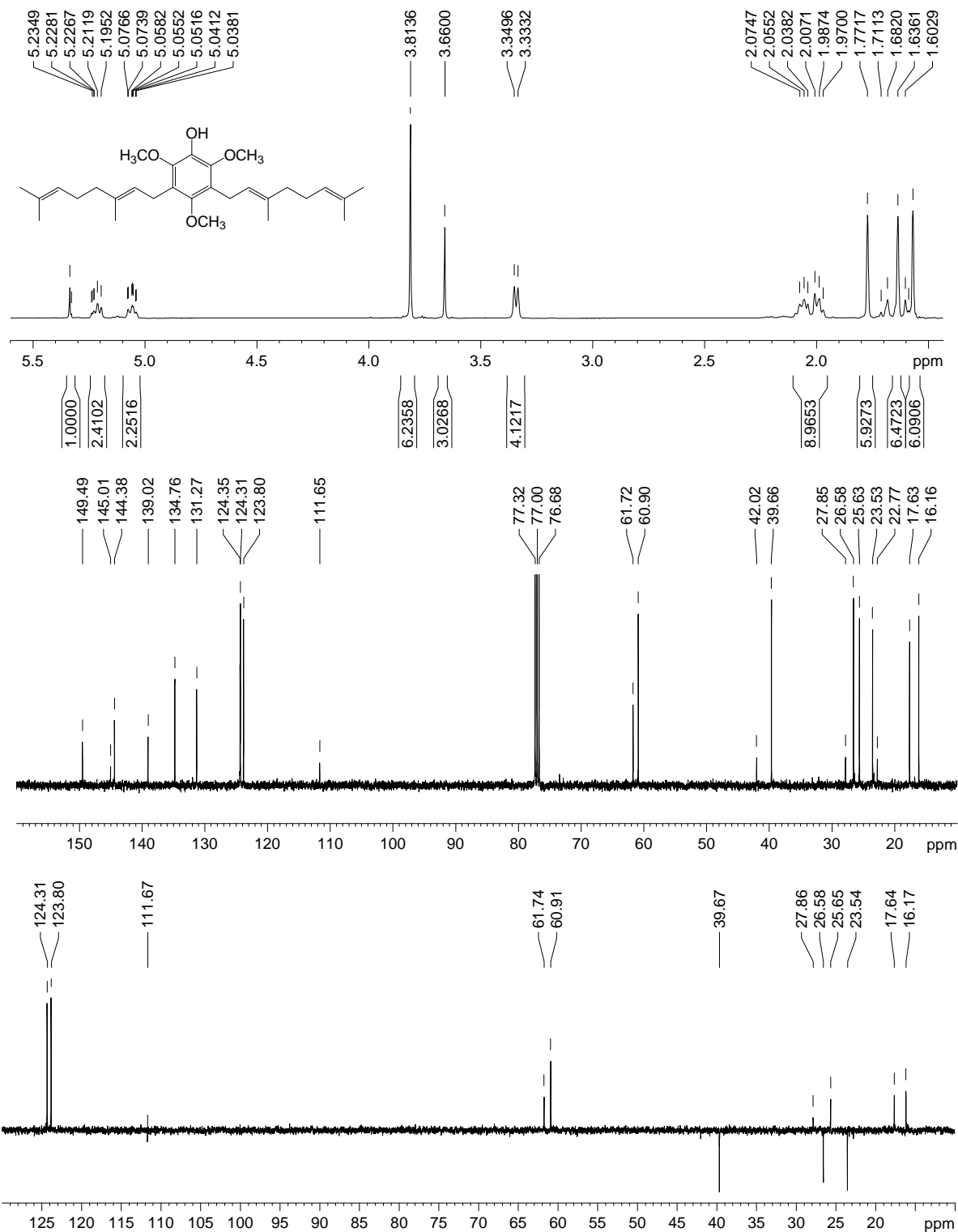


Espectros de RMN ¹H, ¹³C y DEPT 135 del compuesto 72.

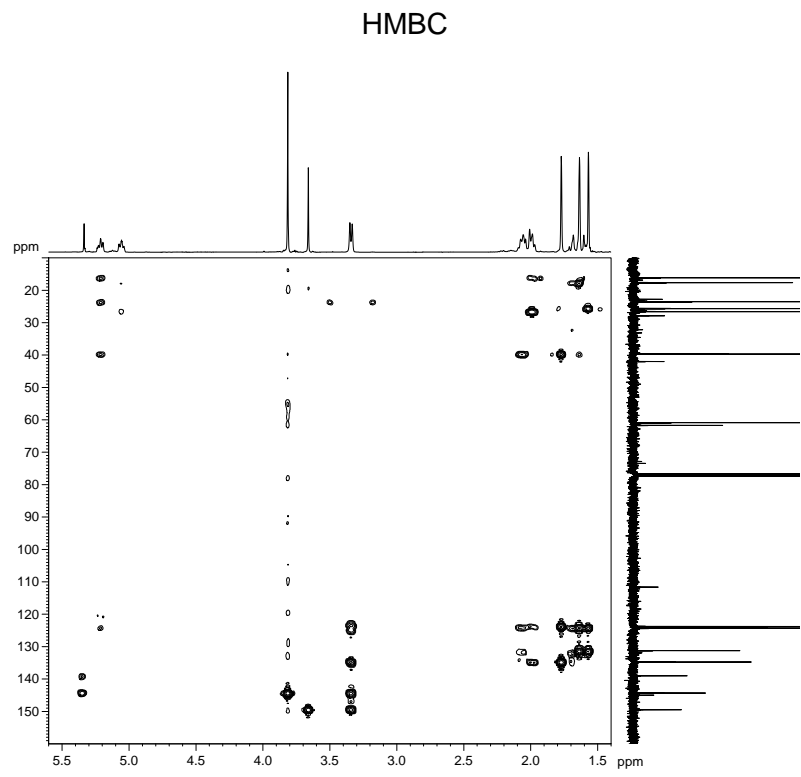
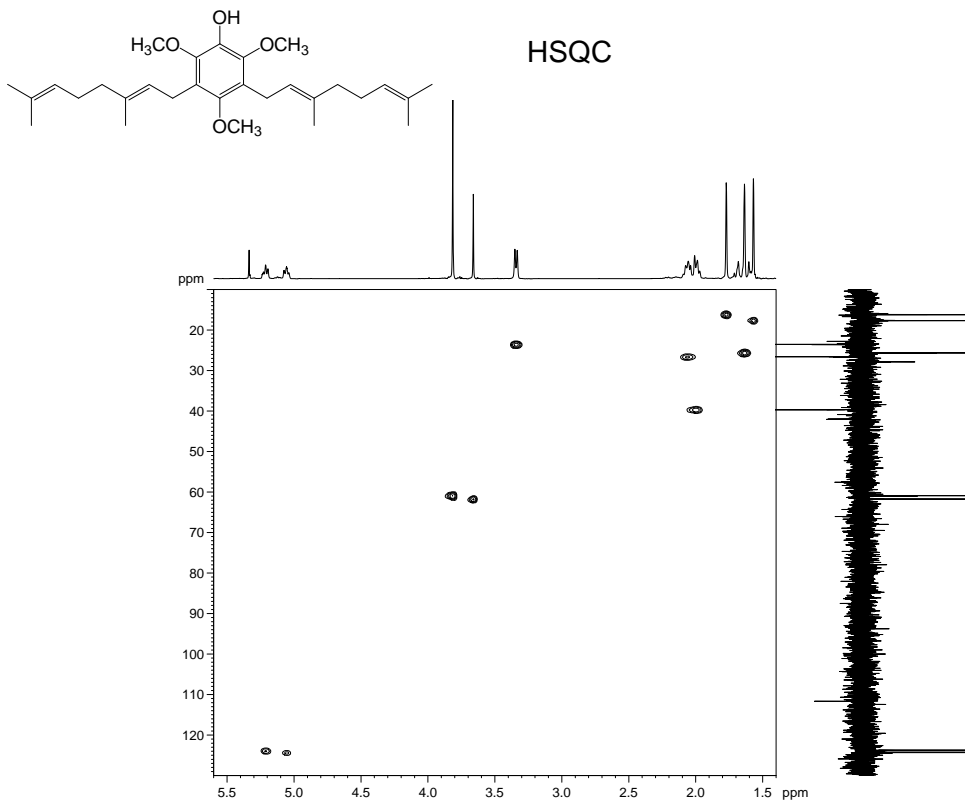


Espectro de RMN 2D HSQC y HMBC del compuesto **72**.

COMPUESTOS 73

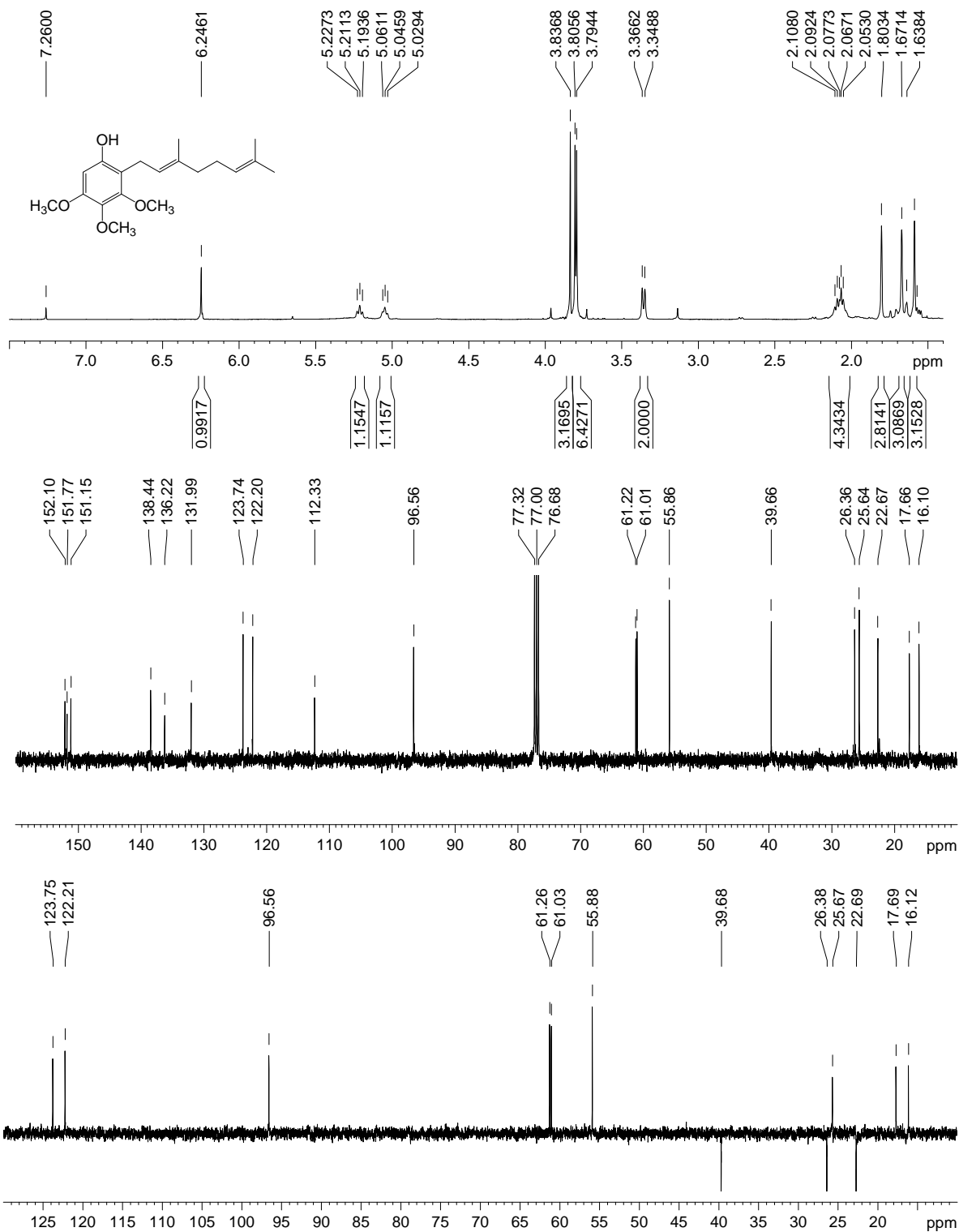


Espectros de RMN ¹H, ¹³C y DEPT 135 del compuesto 73.

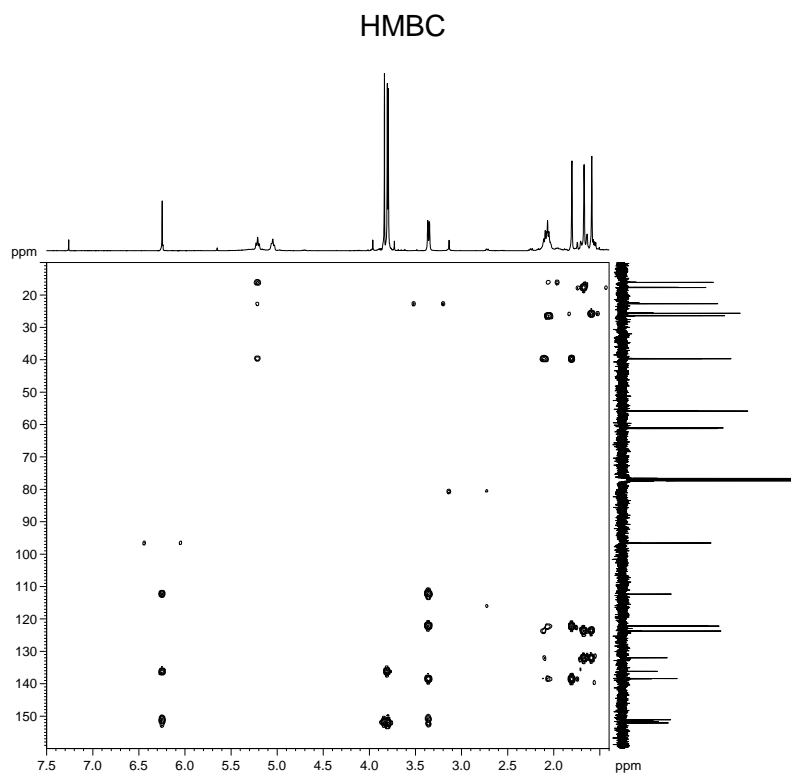
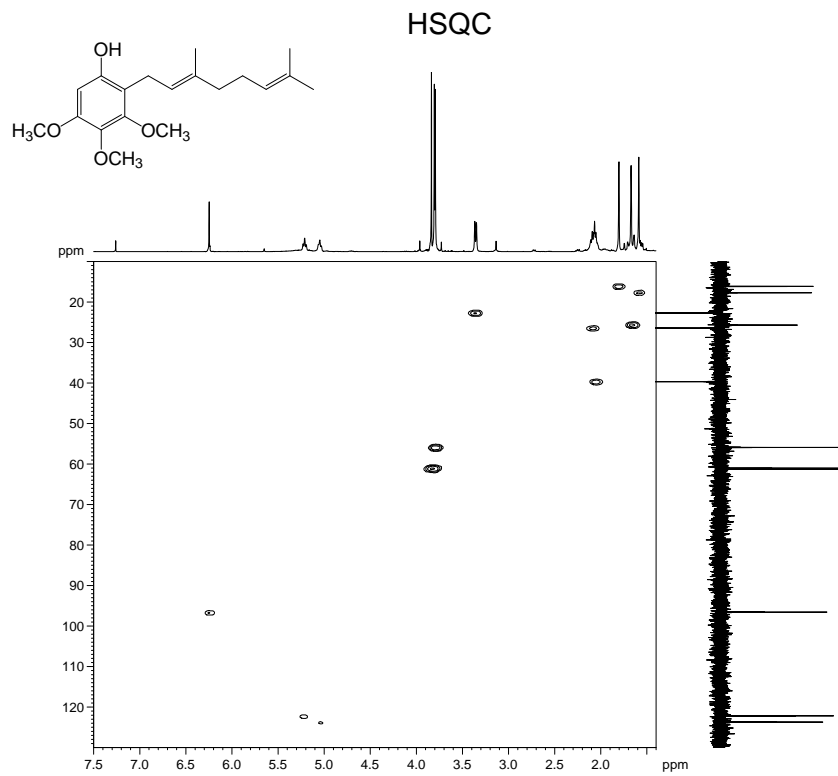


Espectro de RMN 2D HSQC y HMBC del compuesto 73.

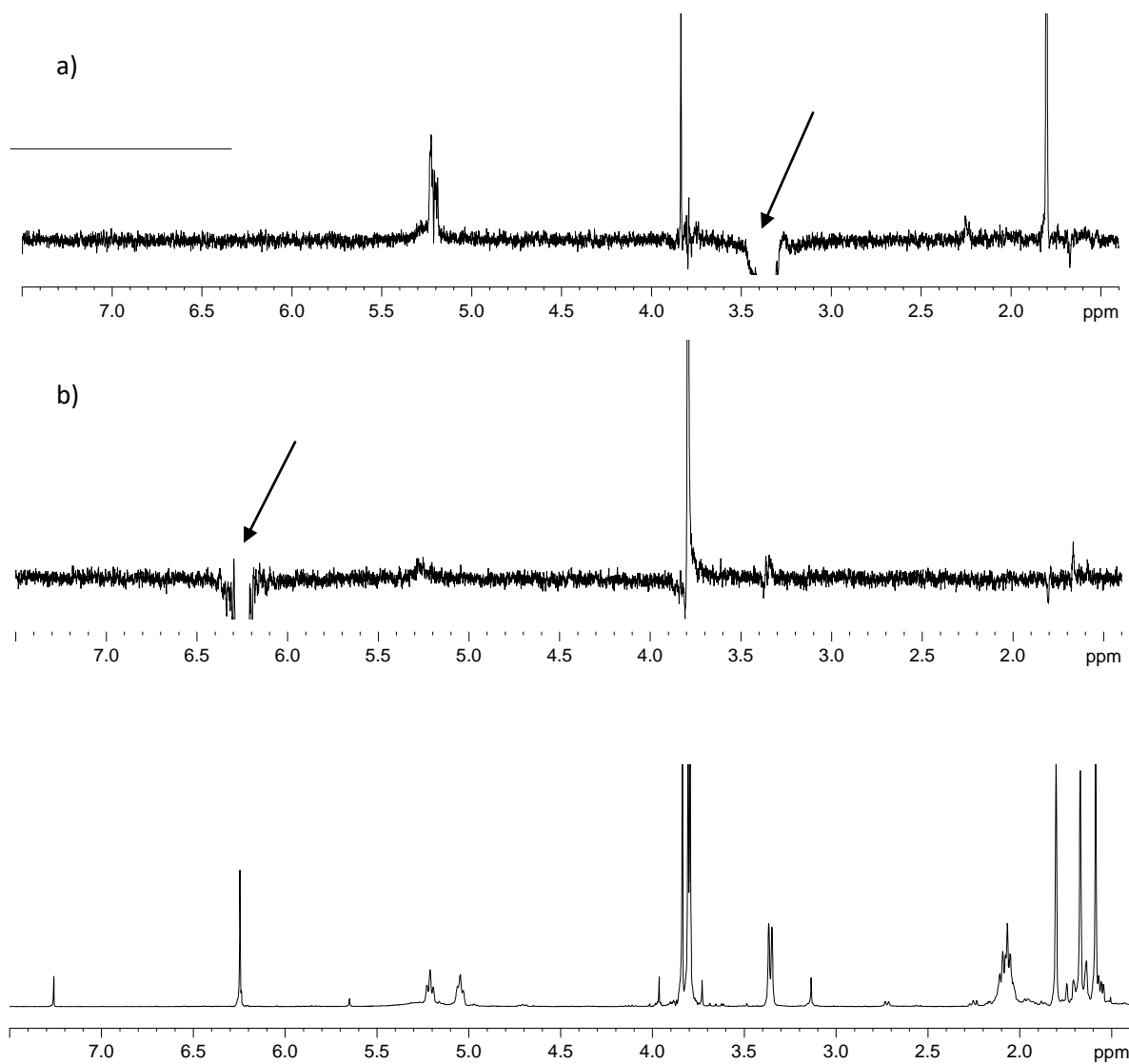
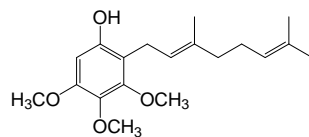
COMPUESTO 74



Espectros de RMN ¹H, ¹³C y DEPT 135 del compuesto 74.

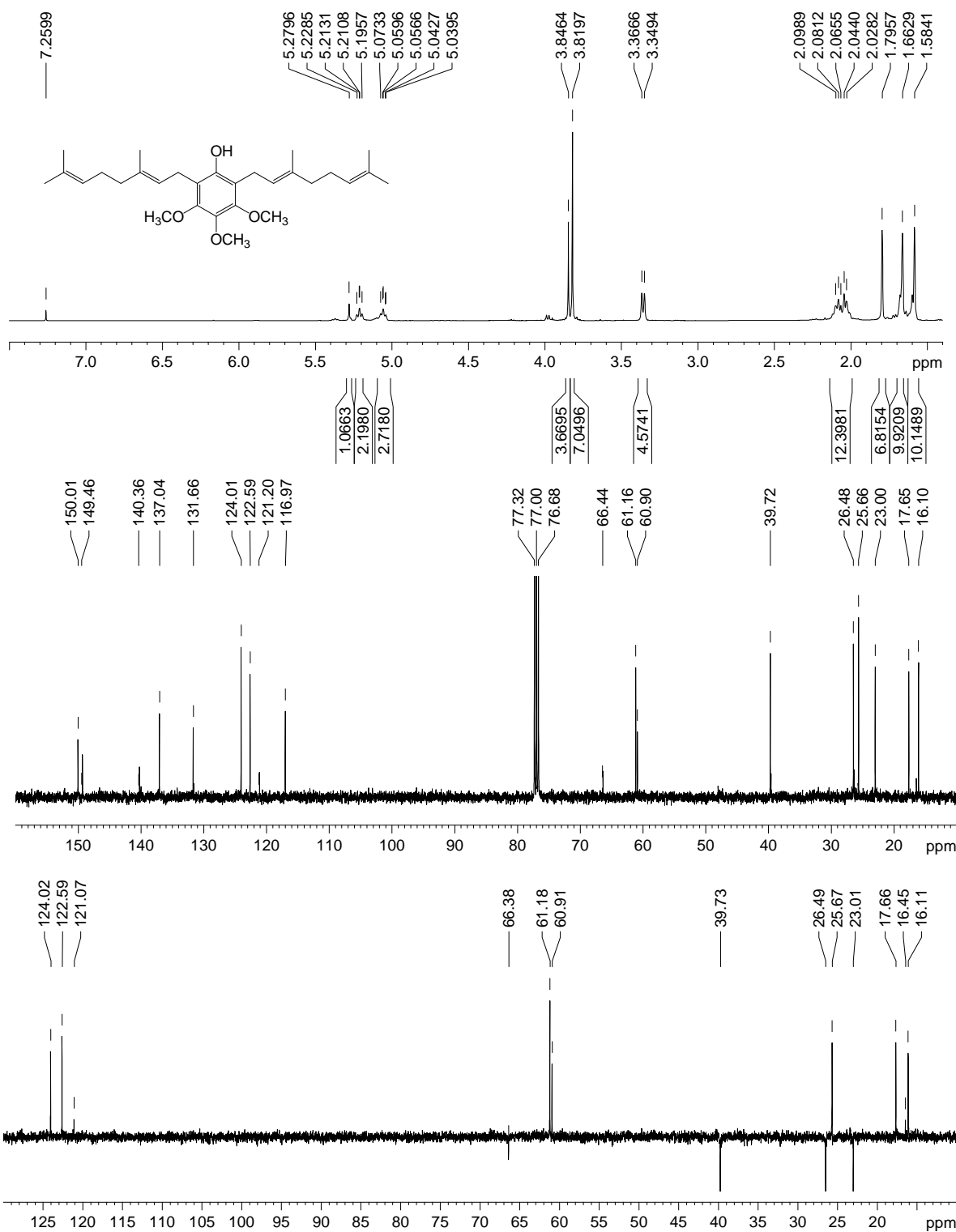


Espectro de RMN 2D HSQC y HMBC del compuesto **74**.

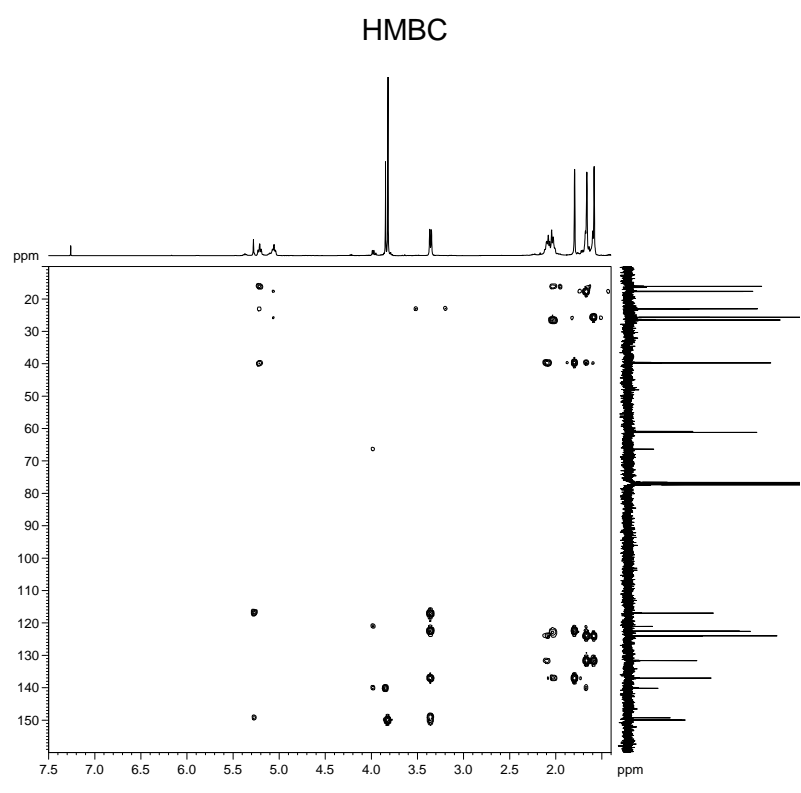
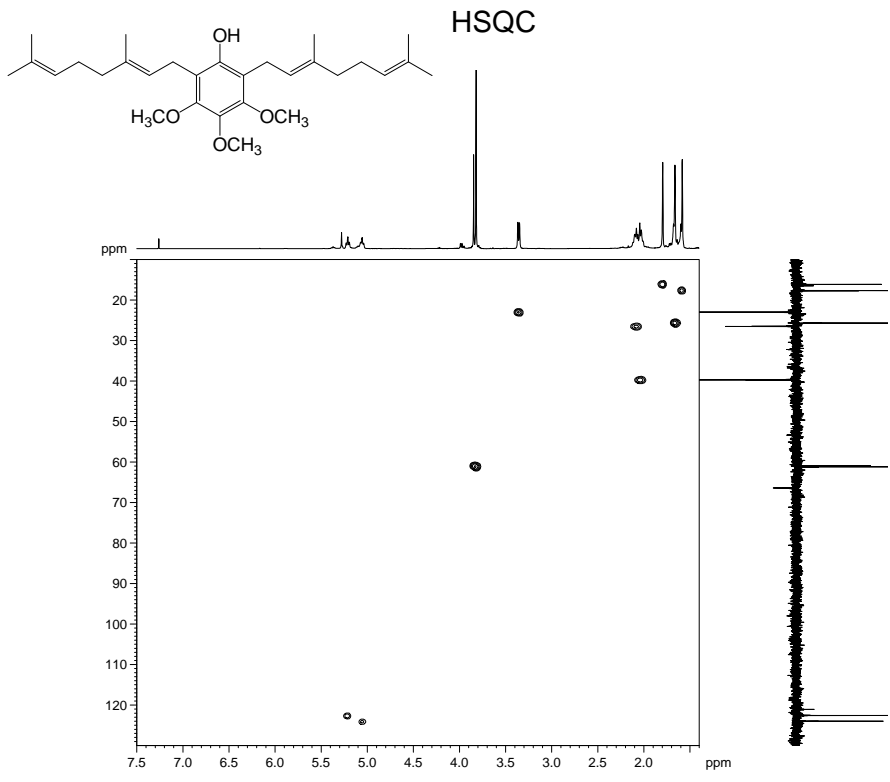


Espectros de RMN 1D NOESY de pulso selectivo a) $\delta = 3,36$ ppm; b) $6,25$ ppm del compuesto **74**.

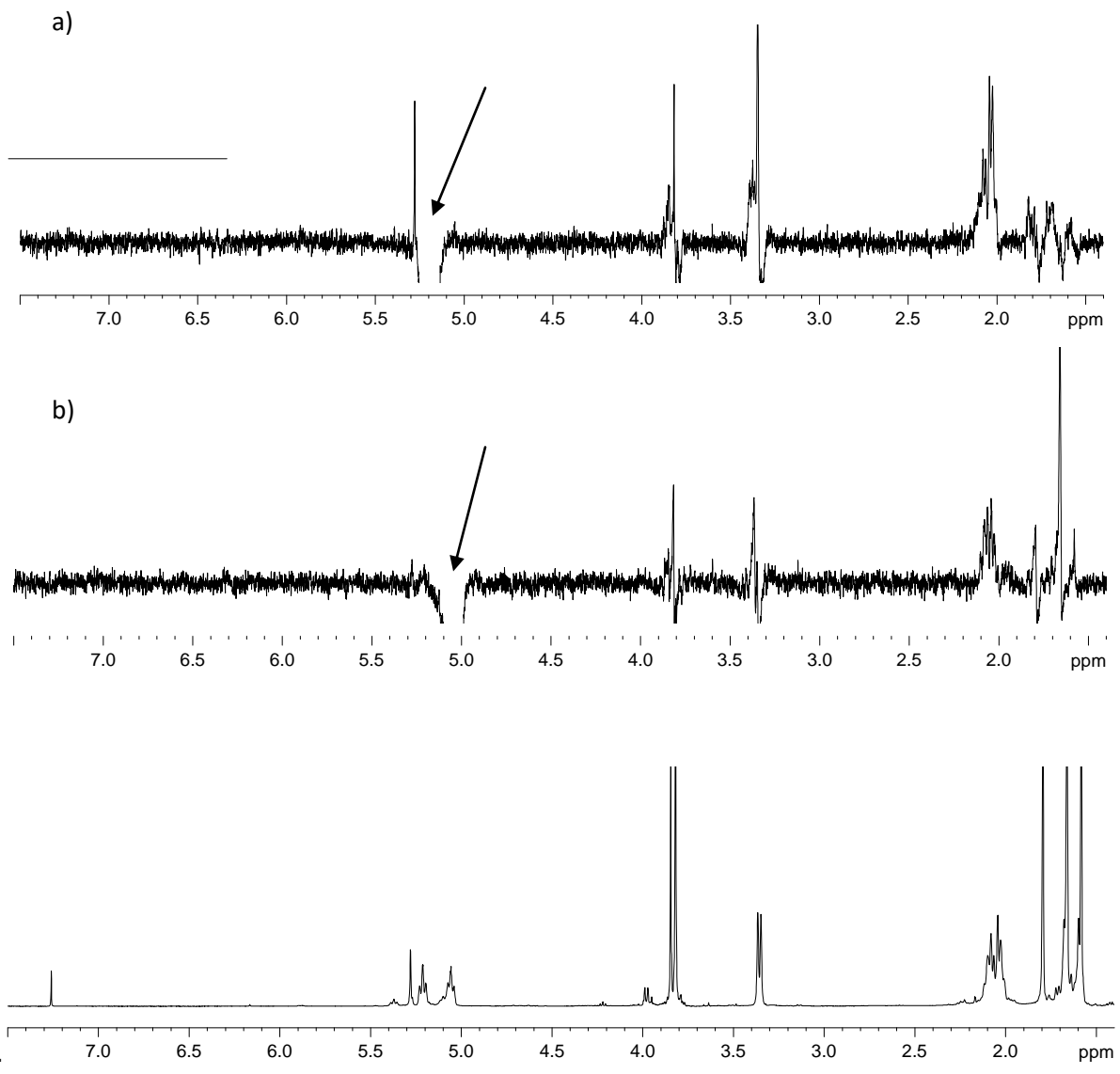
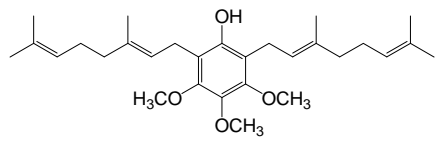
COMPUESTO 75



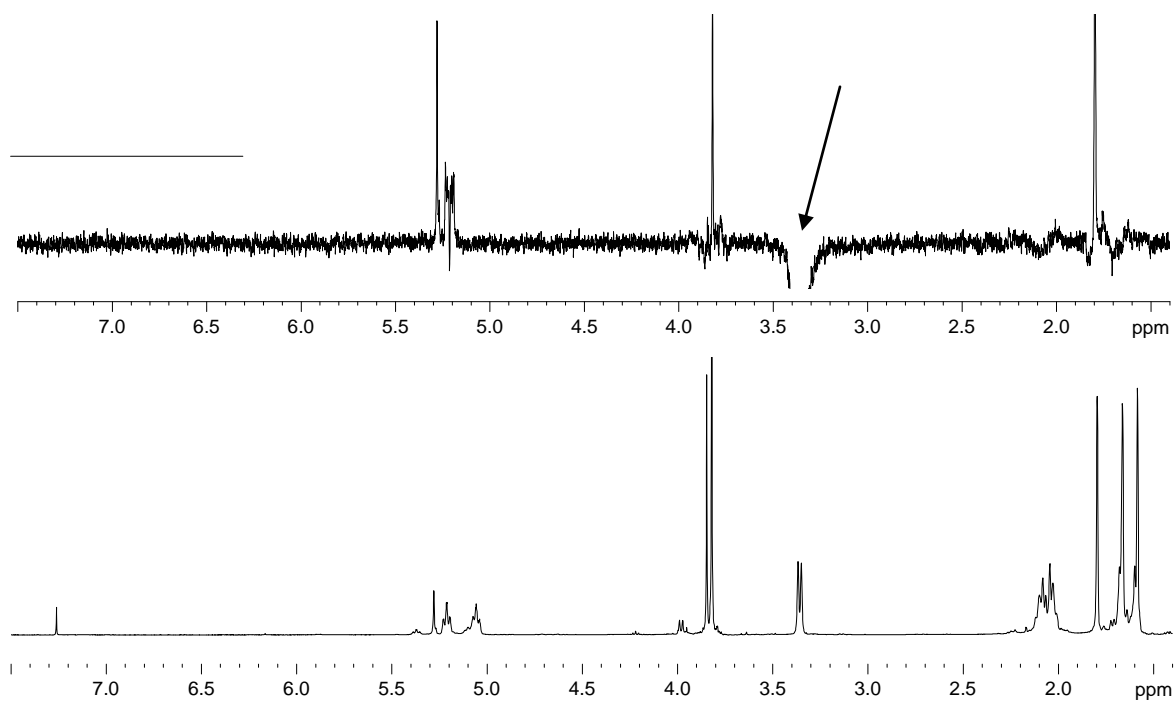
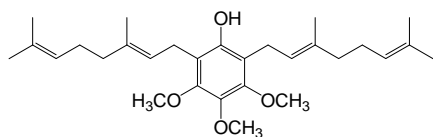
Espectros de RMN ¹H, ¹³C y DEPT 135 del compuesto 75.



Espectro de RMN 2D HSQC y HMBC del compuesto **75**.



Espectros de RMN 1D NOESY de pulso selectivo a) $\delta = 5,20$ ppm; b) 5,06 ppm del compuesto **75**.



Espectros de RMN 1D NOESY de pulso selectivo $\delta = 3,36$ ppm del compuesto **75**.