



FACULTAD DE FARMACIA  
ESCUELA DE QUIMICA Y FARMACIA

AISLACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE ACETOFENONAS  
NATURALES DESDE *SENECIO NUTANS*. APLICACIÓN EN  
SINTESIS DE CHALCONAS.

Tesis para optar al Título de Químico Farmacéutico

**PEDRO ALFONSO BELMAR REYES**

Director de Tesis: Mauricio Cuellar Fritis

Valparaíso

2014

*A mi familia, en especial a mis padres, esposa e hijo.....*

## Agradecimientos

*Desde que entre a la Universidad de Valparaíso, soñé con que llegara este momento, por fin lo he logrado y es el momento de agradecer a todos y cada una de las personas que se hicieron partícipes de esta larga travesía.*

*A mis padres, agradecer todo su amor y comprensión entregada en los momentos más complicado de mi vida estudiantil. Sin ellos jamás hubiese podido llegar a ser la persona que soy actualmente. Solo ustedes saben lo que tuvimos que pasar para llegar a la punta del iceberg. Los amo y los quiere mucho.*

*A mi esposa y mi futuro hijo “Cirilo”, por el apoyo constante y por toda la paciencia que han tenido conmigo. Ustedes son el motor de seguir en esto, los amo mucho a ambos.*

*A mi hermana Gabriela y mis 5 sobrinos: “Coke, Nicol, Bairon, Javi y Fernanda”, ya que en mis momentos más difíciles y triste lograron sacar una sonrisa de mi cara y poder seguir adelante con esta tarea.*

*A mis primos, cuñado, tíos, abuelos, y mi segunda familia Cárcamo- Urtubia por contar siempre con una palabra de apoyo por parte de ellos.*

*Al Dr. Mauricio Cuellar por su paciencia, confianza y apoyo durante estos años transcurridos en el laboratorio 21.*

*A los profesores Luis Espinoza y Cecilia Rubio, por su colaboración con este trabajo.*

*Al laboratorio de producto naturales, especialmente a Iván Montenegro y Marco Mellado por toda su gran ayuda, apoyo y consejos que me brindaron en esta gran etapa de mi vida.*

*A mis amigos Tirso, Alex, Roberto, Nicol, Domingo, Javier, mi primo Giovanni por todos los momentos que viví junto a ustedes y por todos los que vendrán de aquí en adelante. A todos ustedes muchas gracias, sin su cariño, ayuda y apoyo no hubiera llegado a donde estoy hoy. Los quiero.*

*¡Muchas Gracias!*

***“El futuro tiene muchos nombres. Para los débiles es lo inalcanzable. Para los temerosos, lo desconocido. Para los valientes es la oportunidad....”***

## ÍNDICE

<b>RESUMEN</b> .....	<b>i</b>
<b>SUMMARY</b> .....	<b>ii</b>
<b>1-INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>1</b>
<b>2-HIPOTESIS Y OBJETIVOS</b> .....	<b>11</b>
2.1. HIPOTESIS .....	<b>12</b>
2.2 OBJETIVOS .....	<b>13</b>
<b>3- MATERIALES Y METODOS</b> .....	<b>14</b>
3.1. MATERIALES.....	<b>15</b>
3.2. PROCEDIMIENTOS GENERALES .....	<b>16</b>
<b>4- RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	<b>18</b>
4.1. AISLAMIENTO Y PURIFICACIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS DE <i>SENECIO NUTANS</i> .....	<b>19</b>
4.1.1. 4-hidroxi-3-(3-metil-2-butenil)-acetofenonas.....	<b>19</b>
4.2. SINTESIS DE CHALCONAS ..	<b>20</b>
4.2.1 (2E)-3-[4-(dimetilamino)fenil]-1-[4-hidroxi-3-(3-metilbut-2-en-1-il) .....	<b>22</b>
4.2.2. (2E)-1-[4-hidroxi-3-(3-metilbut-2-en-1-il) fenil]-3-(2,3,5-trimetoxifenil) prop-2-en-1-ona .....	<b>23</b>
4.3.3. (2E)-1-[4-hidroxi-3-(3-metilbut-2-en-1-il)fenil]-3-fenilprop-2-en-1-ona .....	<b>25</b>
<b>5- CONCLUSIONES Y PROYECCIONES</b> .....	<b>28</b>
<b>6- BIBLIOGRAFÍA</b> .....	<b>31</b>
<b>7- ANEXOS</b> .....	<b>35</b>

## Resumen

El género *Senecio*, que pertenece a la tribu Senecioneae, es el género más grande y complejo en la familia de las Asteraceae (Compositae) e incluye a más de 1500 especies de amplia distribución mundial. *Senecio nutans* es un arbusto perenne, de 30-60 cm de altura, distribuidos en los valles andinos de América del Sur entre 3.500 a 4.800 m sobre el nivel del mar. Se sabe que algunos extractos crudos y compuestos aislados del género *Senecio*, poseen actividad antimicrobiana, actividad moduladora de estrógeno y efectos antiproliferativos en células MCF-7 de cáncer de mama.

En este trabajo se describe el estudio químico de *Senecio nutans*, en donde se pudo aislar, el compuesto 4-hidroxi-3-(3-metil-2-butenil)-acetofenona (**1**) (12,1%) por métodos convencionales en fitoquímica,

Por otra parte, debido a que las chalconas son una clase de compuestos con importancia biológica, donde destacan sus propiedades antiinflamatoria, analgésicas, antipirética y antimutagénicas, antileishmania, citotóxica, anticancerígeno, antifúngico entre otras. Se realizó la síntesis de tres nuevas chalconas preniladas, utilizando como fragmento la acetofenona prenilada (**1**). La síntesis de estas nuevas chalconas se realizó mediante la reacción de Claisen-Schmidt entre (**1**) y los benzaldehidos (**23**), (**25**) y (**27**). La elucidación estructural de todos los compuestos obtenidos en este trabajo se llevó a cabo a partir de datos espectroscópicos como Resonancia Magnética Nuclear mono y bidimensional de  $^1\text{H}$ -RMN,  $^{13}\text{C}$  -RMN, HMBC y HSQC, como también IR y parámetros físicos como punto de fusión.

### Summary.

The genus *Senecio*, which belongs to the tribe Senecioneae, is the biggest and most complicated genus in the family of the Asteraceae (Compositae) and includes more than 1500 species from a wide worldwide distribution. *Senecio nutans* is a perennial shrub of 30-60 cm tall, distributed in the Andean Valleys of South America from 3.500 to 4800 over the sea level. Some raw extracts and isolated compounds from the *Senecio* genus are known to have antimicrobial activity, estrogen modulating activity and antiproliferative effects in breast cancer MCF-7 cells.

This work describes the chemical study of the *Senecio nutans* where it was possible to isolate it by conventional methods in phytochemistry, the compound 4-hidroxi-3-(3-metil-2-butenil)-acetophenone. **(1)** (12,1%)

On the other hand, because of the Chalcones being a very important biological compound, where attributes like anti-inflammatory, analgesics, antipyretic, antimutagenic, antileishmania, cytotoxicity, anticarcinogenic, antifungus among other things are. A synthesis of new three prenylated chalcones was made, using as fragments the prenylated acetophenone **(1)**. The synthesis of these new chalcones was made by the reaction of Claisen-Schmidt between **(1)** and the benzaldehydes **(23)**, **(25)** y **(27)**. The structural elucidation of all the obtained compounds in this work was made out from spectroscopic data like mono and bidimensional nuclear magnetic resonance of  $^1\text{H}$ -RMN,  $^{13}\text{C}$  – RMN, HSQC y HMBC, as well as IR and physic parameters like melting point.

## **1.- INTRODUCCIÓN**

Muchos productos de origen vegetal se han utilizado con éxito variable para curar y prevenir enfermedades a lo largo de la historia. El fuerte vínculo histórico entre las plantas y la salud humana comenzó a reflejarse en 1897, cuando Friedrich Bayer y Co. introdujo el ácido acetilsalicílico sintético (Aspirina) a partir del ácido salicílico, un ingrediente activo que se extrae por primera vez desde la corteza del sauce (Raskin et. al., 2002).

Las plantas medicinales constituyen la principal fuente de nuevos fármacos y productos sanitarios. Metabolitos secundarios de las plantas sirven como mecanismos de defensa contra la depredación por parte de muchos microorganismos, insectos y herbívoros. El conocimiento de los componentes químicos de las plantas es imprescindible, ya que dicha información será de gran valor para la síntesis de sustancias químicas complejas (Pandey et. al., 2013).

El género *Senecio*, que pertenece a la tribu *Senecioneae*, es el género más grande y complejo en la familia de las Asteraceae (Compositae) e incluye a más de 1500 especies distribuidas alrededor del mundo (Yang et. al., 2011). Argentina y Chile son los países con el mayor número de representantes, con más de 300 especies descritas en cada país (Benites et. al., 2011).

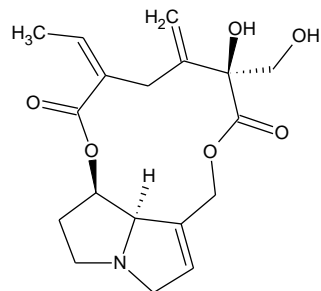
Algunos compuestos aislados del género *Senecio* e incluso extractos crudos poseen actividad antifúngica y antituberculosa, además de poseer actividad moduladora de estrógeno y efectos antiproliferativos en células MCF-7 de cáncer de mama (Maggiolini et al., 2002). Diversos compuestos han presentado cierta actividad biológica contra insectos y otros han mostrado actividad fitotóxica en algunas especies vegetales y actividad citotóxica en líneas celulares (Villanueva, 2010).

*Senecio nutans* (Asteraceae) es un arbusto perenne, de 30-60 cm de altura, distribuidos en los valles andinos de América del Sur entre 3.500 a 4.800 m sobre el nivel del mar (Villagrán et. al., 2003). Esta es una planta conocida vernáculamente como "Chachacoma" (Villagrán et. al., 2003). Desde el punto de vista etnobotánico, esta denominación agrupa a varias especies de *Senecio*, entre las que se encuentra además *Senecio eriophyton* y *Senecio polypodioides* (Villagrán et. al., 2003).

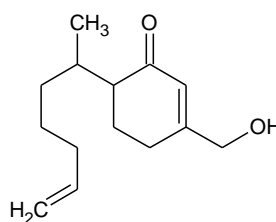


Como planta medicinal, *S. nutans* se ha identificado que posee efectos bacterioestáticos, actividades antimicrobianas y antihipertensivo (hojas, flores y frutos); el aceite esencial tiene actividad antimicrobiana como también antitripanosoma. Además se ha reportado actividades contra desórdenes del tracto respiratorio, hipotensivo, cicatrizante, digestivo (Barboza et. al., 2009; Lawal et. al, 2009).

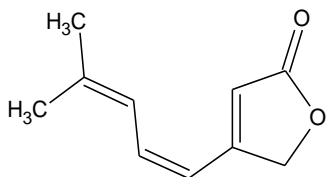
Desde el punto de vista fitoquímico, de este género se han aislado diversidades de compuestos como: Alcaloides pirrolizidina, diferentes terpenos, flavonoides.



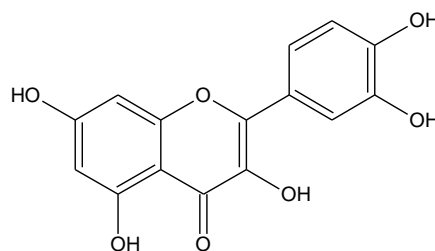
**Riddelliine**



**14-hidroxi-13-norbisabola-3,11-dien-2-one**



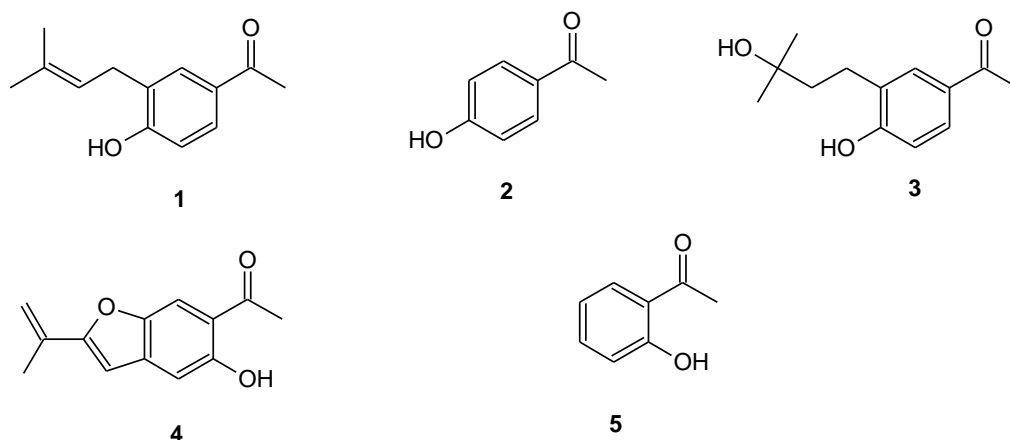
**(4Z)-4,5-Dihydrocleviolida**



**Quercitina**

**Figura 1:** Metabolitos secundarios aislados desde el género *Senecio*

Adicionalmente, desde *S. graveolens* se han aislados diversas acetofenonas con variables patrones de sustitución, como son los compuestos: 4-hidroxi-3-(3-metil-2-butenil)-acetofenona (**1**) (Lizárraga et. al., 2012), 4-hidroxiacetofenona (**2**), 3-(3'-hidroxi-iso-pentil)acetofenona (**3**) (Barboza et al., 2009), dihidroeuvarin (**4**) y o-hidroxi-acetofenona (**5**). (Ortega et. al., 2000)



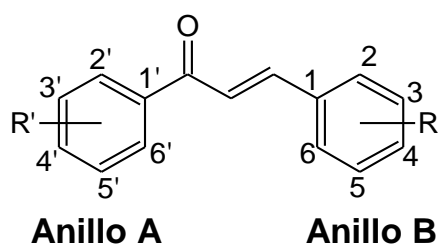
**Figura 2:** Metabolitos secundarios aislados desde *Senecio nutans* .(Asteraceae)

Muchos de los compuestos presentes en plantas del género *Senecio* muestran interesantes propiedades biológicas como por ejemplo: Antineoplásica, antifúngica, antiinflamatoria, antibacteriana. (Yang et al., 2011).

Echiburú et. al. , 2014, recientemente ha reportado la citotoxicidad del extracto crudo obtenido de *Senecio nutans* y el compuesto **(1)** en líneas celulares sensibles a estrógenos como son ZR-75-1, MCF-7, MDA-MB-231 y MCF-10F en condiciones normoxicas (21% O<sub>2</sub>) e Hipoxicas (1% O<sub>2</sub>). El efecto citotóxico del extracto crudo en líneas celulares MCF-10F fue mayor en células que estuvieron sometidas a hipoxia en contraste con aquellas células que se sometieron a condiciones normoxica. En general, la acetofenona prenilada fue más citotóxica que el extracto crudo. Sin embargo, el compuesto no fue capaz de reducir la viabilidad de las células malignas bajo condiciones de hipoxia en una proporción similar a la mostrada por el extracto.

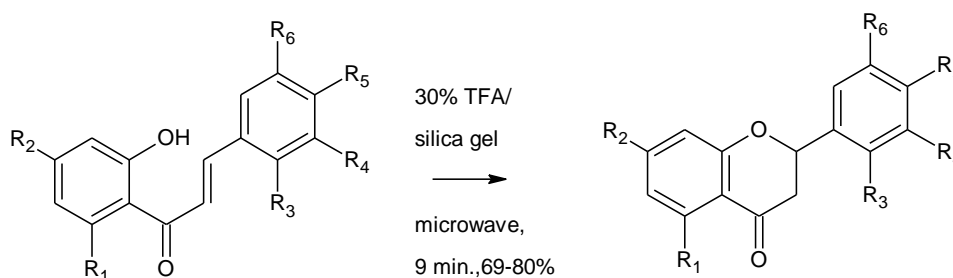
Las acetofenonas, desde el punto de vista sintético, son utilizadas para la síntesis de chalconas. Estos últimos son un grupo de agentes naturales dietéticos incluidos en frutas, vegetales y plantas. Estos han atraído la atención de la comunidad científica y el público en general debido a que han demostrado la habilidad de suprimir diversos tipos de cáncer.

Estos compuestos fenólicos tienen un fragmento 1,3-diaril-2-propen-1-ona (figura 3). Ellos participan en la biosíntesis de flavonoides como precursores de flavonas e isoflavonas (Pilatova et. al., 2010) y son con frecuencia responsables de la pigmentación amarilla en las plantas (Yadav et.al., 2011).



**Figura 3:** Estructura básica de chalconas

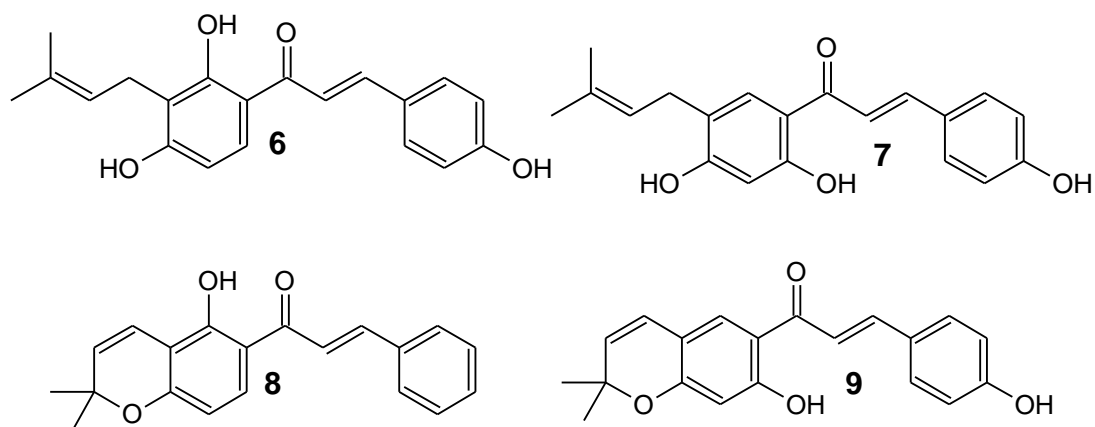
Ellos pueden fácilmente ciclarse por medio de una adición de Michael sobre el doble enlace  $\alpha,\beta$ -insaturado para formar flavanonas.



**Figura 4:** Síntesis de flavanonas a partir de Chalconas sustituidas.

Considerando las chalconas de origen natural ellas presentan diferentes patrones de sustitución, a menudo están polihidroxiladas y en algunos casos con grupos metoxilo en su estructura (Hsu et. al., 2006).

Por ejemplo, Isobavachalcona (**6**), Bavachalcona (**7**), 4-Hidroxiloncocarpina (**8**) y Bavacromeno (**9**) son metabolitos secundarios que han sido aislados desde varias plantas, entre las que se encuentran *Psoralea corilyfolia* (Fabaceae) (HJ et. al., 2008; Anis et. al. 2005).

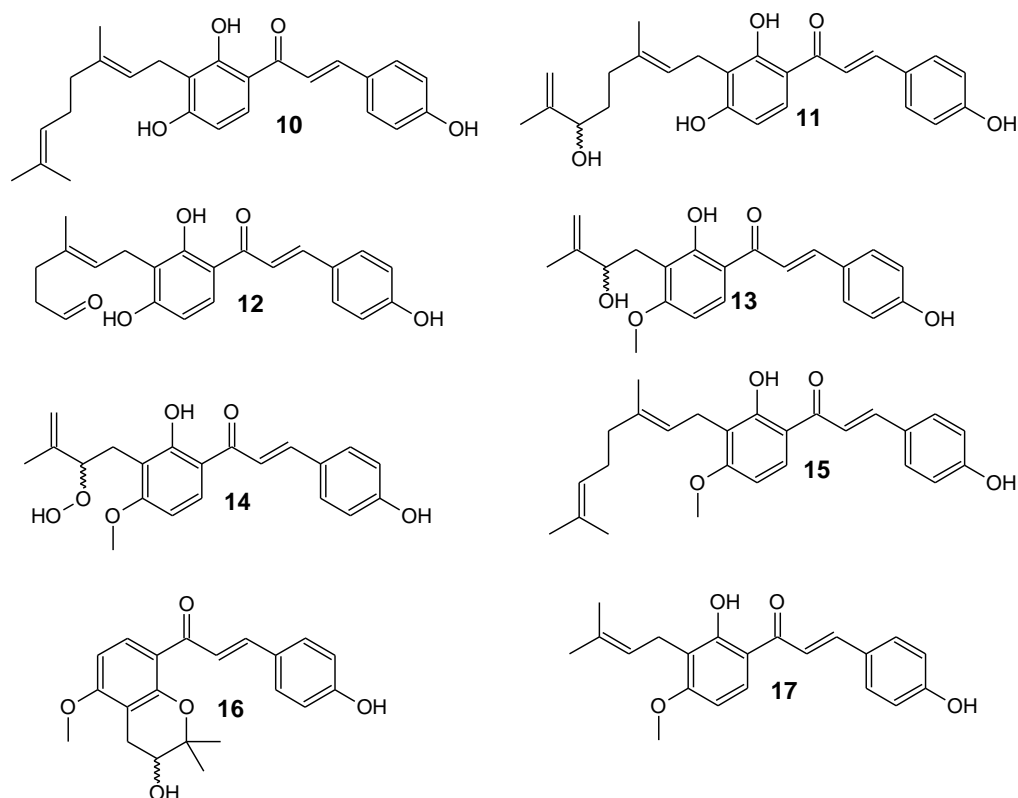


**Figura 5:** Metabolitos secundarios aislados de *Psoralea corilyfolia* (Fabaceae)

La etnofarmacología indica que las semillas, raíces y hojas de esta planta son utilizadas para el tratamiento de enfermedades de la piel como vitiligo. Por otra parte, ha sido utilizada contra la enuresis (HJ et. al., 2008), como diurético, antilepra, diabetes, diarrea, estreñimiento, insuficiencia cardíaca, tos, asma, antihelmíntico, antibacteriano, antifúngico, antioxidante, inmunomodulador y antitumoral (Pandey et. al., 2013). Además para aliviar dolores de espalda, antiinflamatorio y actualmente se ha reportado actividad estrogénica de los extractos como también su potencial antihiperglicémico. (SH et. al. 2011; Kamboj et. al. 2011). Estructuralmente, estas chalconas naturales presentan en su estructura una porción de isoprenil libre o formando un sistema cíclico de cromeno en uno de sus fragmentos aromáticos.

Sin embargo, existen otras plantas que pueden biosintetizar compuestos análogos, como es el caso de *Angelica keiskei* koidzumi (Umbelliferae). Es una planta japonesa llamada popularmente como “Ashitaba” y es utilizada tradicionalmente como diurético, analéptico (restablecimiento de fuerzas en un convaleciente) y galactogogo (sustancia que incrementa la producción de leche). Otros autores, indican que las raíces y las hojas de esta planta inducen a hipotensión, y tienen propiedades como antitumoral y antitrombótico, además de participar en la regulación de la glicemia (Luo et. al., 2012). A partir de los extractos se han aislado chalconas que presentan propiedades como vasodilatación, antitumoral y antimetástasis. Entre los compuestos aislados

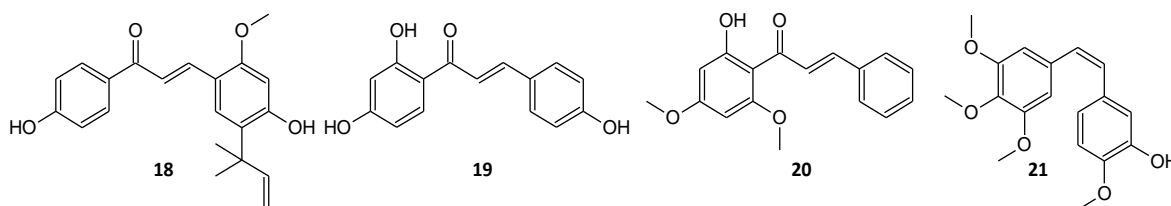
(desde las raíces y semillas), se encuentran: Xanthoangelol (**10**), B (**11**), C (**12**), D (**13**), E (**14**), F (**15**) y H (**16**), además de 4-hidroxiderricina (**17**). (Sugii et. al. 2005; Akihisa et. al. 2003)



**Figura 6:** Compuestos aislados desde *Angelica keiskei*.

Estos compuestos tienen varias actividades biológicas, incluyendo efectos antiinflamatorio, analgésico, antipirético y antimutagénicos, antileishmania, citotóxico, anticancerígeno, antifúngico (Kamal et.al. 2011). Por otra parte, muchos estudios e investigaciones apuntan a que las chalconas pueden inhibir la iniciación del tumor como su progresión, basados en ensayos con diferentes células y modelos animales (Pilatova y et. al., 2010). Por ejemplo, Licochalcona-A (**18**), Isoliquiritigenin (**19**) y Flavokawain-A (**20**), se han indicado que inducen a apoptosis deteniendo el ciclo celular en varias células cancerígenas (Hsu et. al., 2006). Ha llamado la atención que las chalconas muestran similares modos de acción comparado con combrestatin (**21**). Recientes estudios muestran que estos compuestos inducen a apoptosis en una variedad de tipos de células,

incluyendo cáncer de mamas. El desarrollo de agentes anticáncer mediante la realización de modificaciones han llevado a mejorar su bioactividad y algunos derivados sintéticos han mostrado selectividad contra la línea celular MCF-7 (Kamal et. al., 2011).

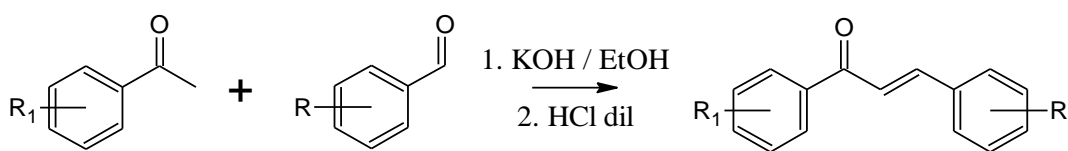


**Figura 7:** Chalconas con actividad anticancerígena

Según estudios realizados, a (**18**) se le atribuye actividad antileishmania por la capacidad de inhibir la enzima fumarato reductasa presente en el parásito. Chen et. al., 2001, concluyó que (**18**) no sólo inhibió el crecimiento in vitro de los parásitos promastigotes *L. major* y *L. donovani* sino que también eliminó a los amastigotes intracelulares de ambas especies. Además posee potente actividad antibacteriana especialmente en *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* y *Micrococcus luteus*. También se, observó que el grupo hidroxilo libre en la posición 4 del anillo A es el responsable del efecto antibacteriano de la licochalcona-A

Debido a las interesantes propiedades biológicas que presentan este tipo de compuestos, en los últimos años se ha enfocado la atención en la síntesis de estos metabolitos bioactivos y en desarrollar series análogas de estos mismos, con el fin de poder evaluar su actividad, establecer una relación estructura-actividad y optar a la obtención de nuevos compuestos de interés farmacológico.

Ejemplificación general de la Reacción de Claisen-Schmidt.

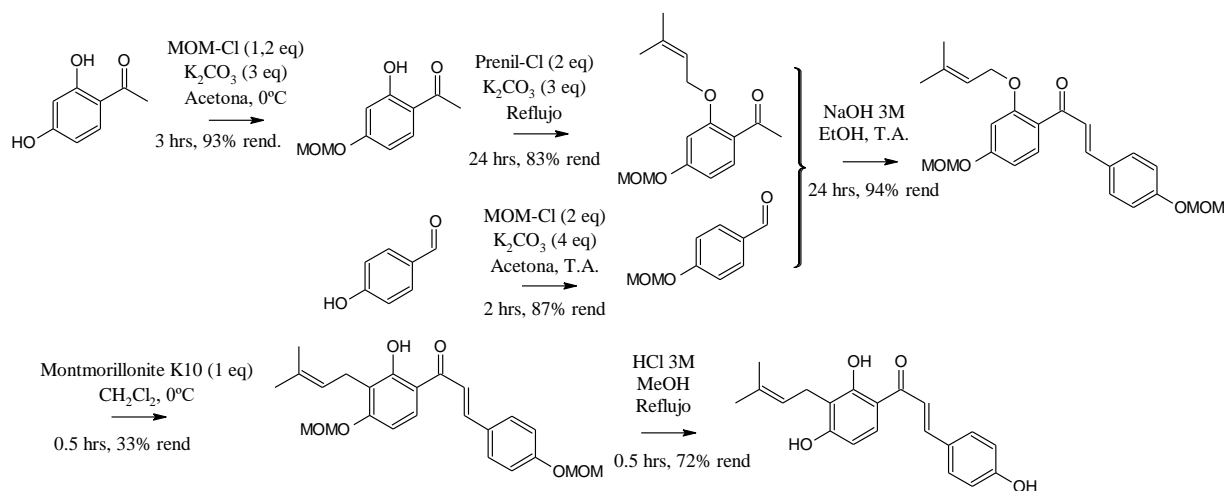


**Figura 8:**

Condensación de Claisen – Schmidt (Sivakumar et. al., 2001).

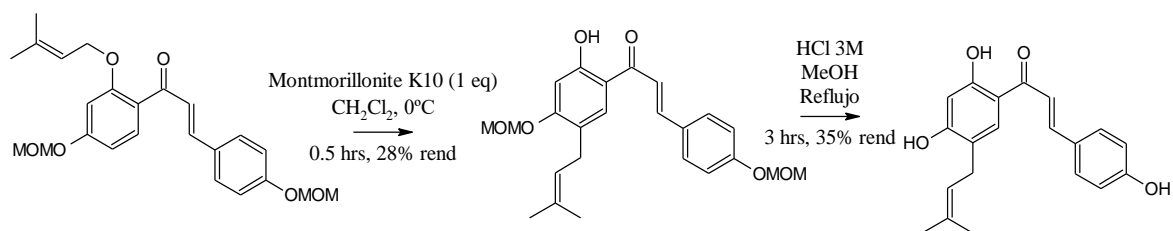
Los rendimientos de esta reacción son bastante elevados, utilizando condiciones alcalinas. Por ejemplo, Sivakumar, et. al. 2001, indican que al utilizar NaOH 2M en metanol a temperatura ambiente por 3 horas alcanzan rendimientos hasta 80%. Por otra parte, Liu, et al. 2011, obtienen rendimientos de hasta 47% en promedio, lo cual puede ser atribuido a los efectos resonantes de los sustituyentes, tanto en el benzaldehído como de la acetofenona, los cuales dificultan el ataque nucleofílico del enolato al carbono carbonílico, además de la presencia de protones ácidos fenólicos los cuales restan reactividad a la acetofenona como benzaldehído. Una variable de la reacción de Claisen – Schmidt, es la utilización de hidróxido de litio, como lo plantea Bhagat, *et al.* De acuerdo con los datos reportados de este autor, obtienen una conversión de hasta 100% en un tiempo de 0,66 h en la preparación de chalconas, particularmente 4-metoxichalcona y 4-N,N-dimetilchalcona (Bhagat et. al.,2006).

Sugamoto, K., et al 2011., realizaron la síntesis de Isobavachalcona a partir de 2,4-dihidroxiacetofenona y 4-hidroxibenzaldehído, la cual consiste en 6 pasos sintéticos los cuales se describen continuación con un rendimiento global de aproximadamente 18% .



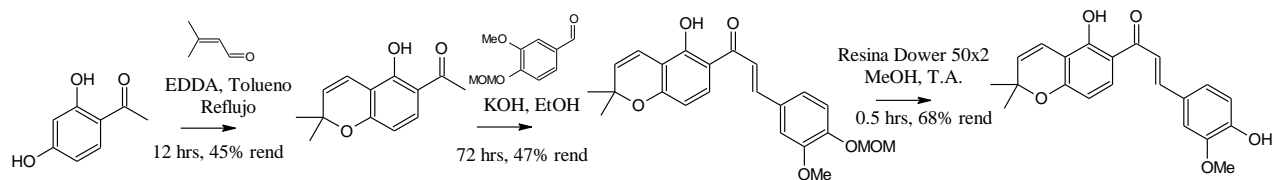
**Figura 9:** Síntesis de Isobavachalcona

De la misma forma que se realiza la síntesis de Isobavachalcona, se produce la formación de Bavachalcona, ello producido por un producto de reordenamiento tipo Claisen 1-4 (Sugamoto et. al., 2011).



**Figura 10:** Síntesis de Bavachalcona (Sugamoto et. al., 2011).

Jeon et. al. 2012, realizan la síntesis de 3-metoxi-4-hidroxiionocarpina a partir de 2,4-dihidroxiacetofenona con un rendimiento global de 14,4% .



**Figura 11:** Síntesis de 3-metoxi-4-hidroxiionocarpina (Jeon, et. al., 2012).



## **2-. HIPOTESIS Y OBJETIVOS.**

### Hipótesis.

La extracción, aislamiento y purificación de la 4-hidroxi-3-(3-metil-2-butenil)-acetofenona en *Senecio nutans* permitirá la obtención de nuevas chalconas preniladas mediante la reacción de Claisen- Schmidt.

### Objetivos Generales.

- Obtener y purificar la acetofenona **(1)**, desde *Senecio nutans*.
- Sintetizar nuevas Chalconas a partir de la 4-hidroxi-3-(3-metil-2-butenil)-acetofenona obtenidos desde *Senecio nutans*.

### Objetivos Específicos.

- Separar, aislar y purificar la **(1)** desde *Senecio nutans*.
- Caracterizar mediante técnicas espectroscópicas metabolitos aislados desde *Senecio nutans*.
- Realizar la síntesis de nuevas Chalconas preniladas, por medio de una reacción de condensación de Claisen-Schmidt y determinar sus respectivos rendimientos.
- Determinación estructural de los metabolitos aislados de *Senecio nutans* mediante técnicas espectroscópicas.

### **3.-MATERIALES Y MÉTODOS**

**3.1.- MATERIALES:**

- Balanza analítica RADWAG AS 220/C/2.
- Balanza granataria Beltronic Scales ES-1000 HA.
- Sílice gel Merck 60 G de 0,032-0,063 nm.
- Cromatoplasmas de sílice gel Merck 60 F 254.
- Lámpara UV (254nm – 365nm) Viber Lourmat®.
- Rotavapor Büchi R-210
- Estufa Memmert UMSCO
- Estufa SHINGSAENG® SDON-1
- Solventes orgánicos grado p.a., acetato de etilo y hexano.
- H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 10%
- Material de vidrio marca Glassco®

### 3.2.- PROCEDIMIENTOS GENERALES:

Para la extracción de los compuestos se utilizaron mezclas de solventes con polaridad creciente. La separación de los productos se realizó mediante cromatografía en columna (CC) y las fracciones obtenidas fueron monitoreadas por cromatografía en capa fina (CCF), agrupándose y concentrándose según similitud. La identificación de los compuestos se realizó mediante sus características físicas y análisis espectroscópicos.

Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear, ( $^1\text{H}$ -RMN,  $^{13}\text{C}$  -RMN, HSQC y HMBC), se registraron en un espectrofotómetro Bruker Spectrometer model AVANCE 400;  $^1\text{H}$  a 400 MHz y  $^{13}\text{C}$  a 100,623 MHz utilizando Tetrametilsilano (TMS) como referencia interna. Los desplazamientos químicos se expresan en escala de ppm. y las constantes de acoplamiento J en Hz. Las muestras se disolvieron en cloroformo deuterado ( $\text{CDCl}_3$ ).

Los puntos de fusión se determinaron en un equipo Stuart-Scientific SMP3.

#### Abreviaturas utilizadas en RMN

**d** = doblete

**s** = singlete

**sa** = singlete ancho

**t** = triplete

**m** = multiplete

**J** = constante de acoplamiento (Hz)

**TMS** = Tetrametilsilano

**$\text{CDCl}_3$**  = Cloroformo deuterado

Abreviaturas utilizadas.

AcOEt = Acetato de etilo

Et<sub>2</sub>O = Etanol

HCl = Ácido clorhídrico

MgSO<sub>4</sub> = Sulfato de Magnesio

CC = Cromatografía en columna

CCF = Cromatografía en capa fina

MeOH = Metanol

DCM = Diclorometano

**Material vegetal y extracto crudo**

*Senecio nutans* se recolectó en una región cercana al lago Chungará en el norte de Chile (18°,12',55"S; 69°,17',40"O) a 4500 metros sobre el nivel del mar. Se pesaron aproximadamente 180,87g del material vegetal, después de haber sido secado a 60°C y molido (principalmente hojas, tallos y flores). Posteriormente fueron maceradas en etanol al 95% por 72 h. El extracto fue filtrado y concentrado a presión reducida a 40°C, y se sometió a separación con una mezcla de acetato de etilo /agua (500ml cada uno). La fase orgánica resultante se concentró finalmente a presión reducida. Un total de 54,86 g del crudo se obtuvo a partir del material original de la planta.

## **4.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

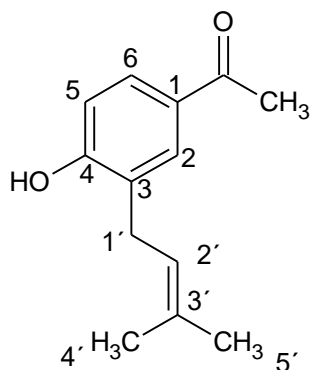


#### 4.1.- AISLAMIENTO Y PURIFICACIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS DE *SENECIO NUTANS*

##### 4.1.1.- 4-hidroxi-3-(3-metil-2-butenil)-acetofenona. (1)

##### Purificación e identificación del compuesto mayoritario

La fase orgánica (20 g) fue separada por cromatografía en columna usando sílica gel G-60 como fase estacionaria. Como fase móvil se utilizó una mezcla de hexano y acetato de etilo con polaridad creciente (49:1 y 1:49). Las fracciones obtenidas se monitorearon por CCF, realizadas en placas cromatográficas, agrupándose y concentrándose según su similitud en su corrimiento bajo sistemas de eluyentes Hexano/ AcOEt al 30%. Estos cromatogramas se revelaron a través de la aplicación de luz UV y H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 10% en agua. Como resultado se obtuvo un producto sólido impuro, que se recrystalizó usando Et<sub>2</sub>O: MeOH (1:1) proporcionando un sólido cristalino puro, identificado como 4-hidroxi-3-(3-metil-2-butenil) acetofenona **(1)** (2,42 g) de compuesto puro. (Rendimiento 12,1% a partir del extracto crudo)



**(1)**

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)** δ: 7,77-7,76 (2H, m, H-2 y H-6); 6,86 (1H, d, *J* = 8,0 Hz, H-5); 6,27 (1H, s, HO); 5,32 (1H, t, *J* = 7,0 Hz, H-2'); 3,40 (2H, d, *J* = 7,0 Hz, H-1'); 2,55 (3H, s, CH<sub>3</sub>O); 1,78 (6H, s, H-4' + H-5').

**<sup>13</sup>C-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 100,23 MHz)** δ: 197,5 (C=O); 159,1 (C-4); 135,5 (C-3`); 130,8 (C-2); 130,2 (C-1); 128,9 (C-6); 127,0 (C-3); 121,0 (C-2`); 115,5 (C-5); 29,6 (C-1`); 26,3 (C-2``); 25,8 (C-4`)\* ; 17,9 (C-5`)\*.

\*Asignación puede ser intercambiado de acuerdo a Lizárraga et. al.

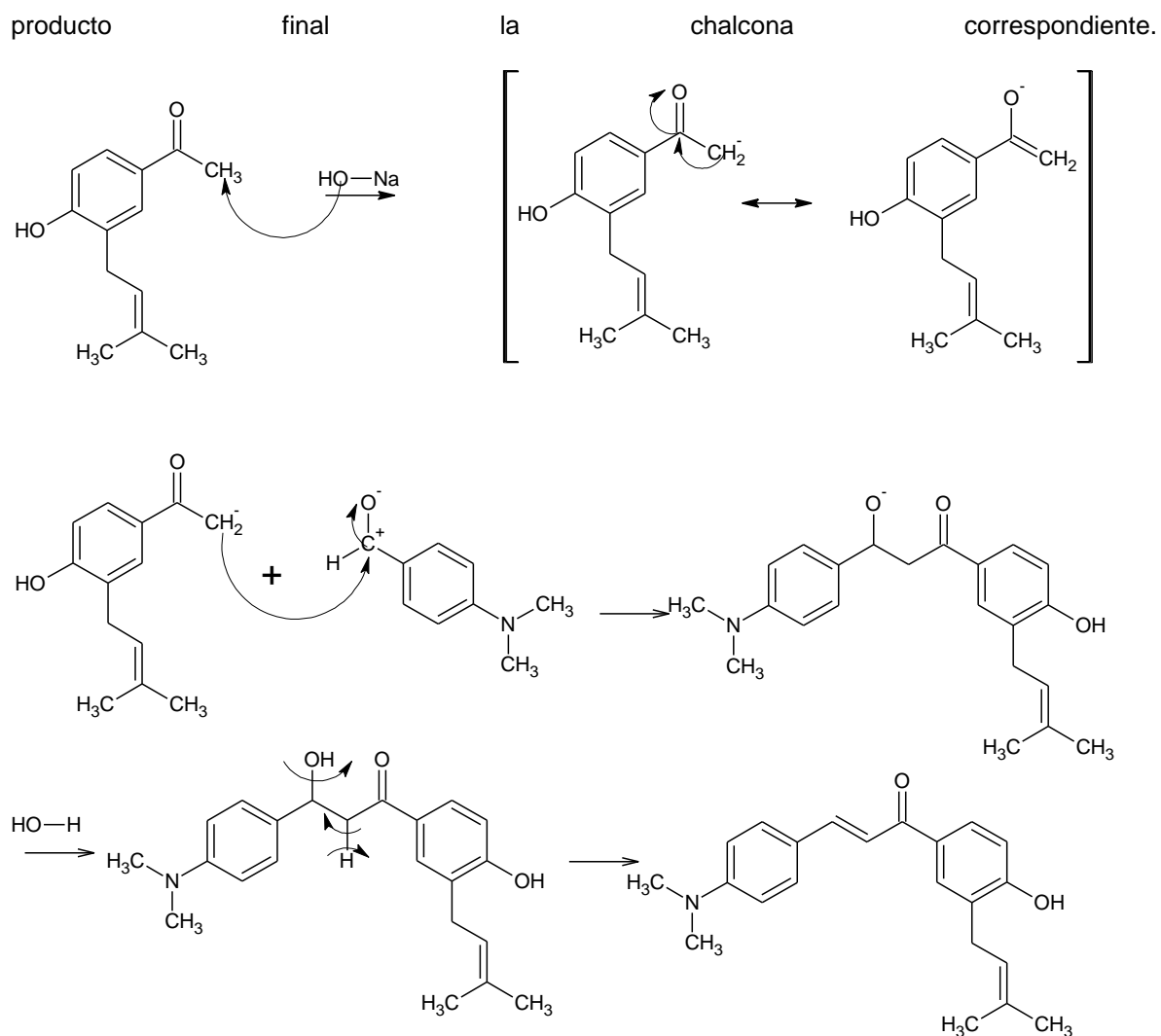
P.f.= 94,0-95,0 °C.

## **4.2 SINTESIS DE CHALCONAS**

### **Metodología para la síntesis de Chalconas**

#### **Condensación Aldólica de Claisen-Schmidt convencional**

Las reacciones basadas en las condensaciones aldólicas para dar como productos chalconas (1,3-diaril-2-propen-1-ona) se realizó, en solvente polar prótico (etanol) y en condiciones alcalinas (NaOH), generando inicialmente la formación del enolato, por rompimiento del protón metilénico de la acetofenona que reacciona. Posteriormente el enolato (carbanión), que actúa como nucleófilo, se adiciona al carbono carbonílico del benzaldehído con la consecuente protonación del aducto, formando así el aldol correspondiente. Finalmente ocurre una trans-eliminación que da como



**Figura 12: Mecanismo de acción en la formación de Chalconas.**

Mediante esta metodología se han obtenido los siguientes compuestos finales mediante la síntesis directa del compuesto **(1)** con los aldehídos 22,24 y 26 respectivamente. (Figura 13).

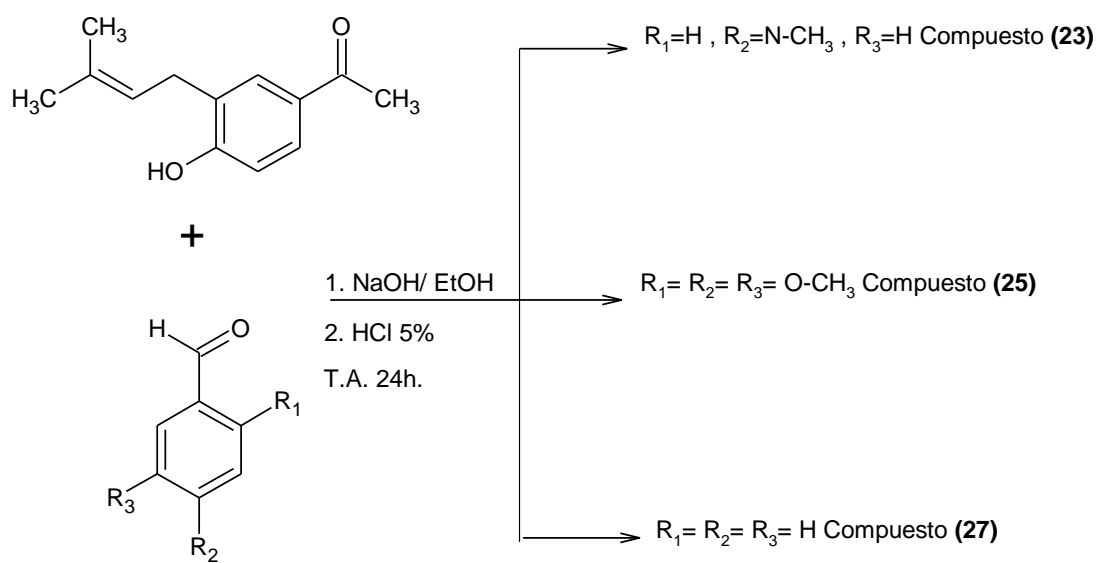
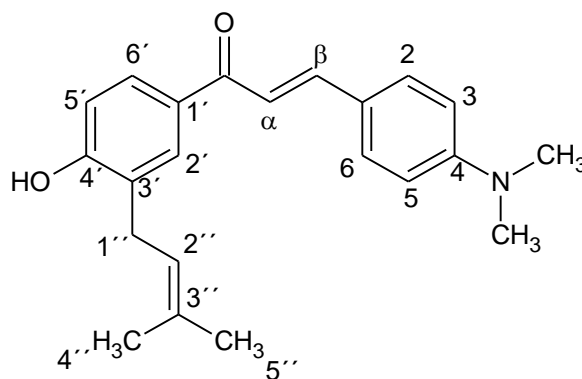


Figura 13: Resumen obtención de Chalconas

#### 4.2.1. Reacción entre acetofenona prenilada 1 y p-N,N- dimetilamino Benzaldehído.(22)

**(2E)-3-[4-(dimetilamino)fenil]-1-[4-hidroxi-3-(3-metilbut-2-en-1-il)fenil]prop-2-en-1 ona. (23)**



**(23)**

Se agregaron a un balón 0,1522g (1,020 mmol) de p- N,N- dimetilaminobenzaldehído y se mezcló con 0,1114g (0,5454 mmol) del compuesto **(1)** originando un color levemente amarillo. Posteriormente se adicionó gota a gota NaOH/EtOH manteniéndolo a temperatura ambiente y en agitación durante 24 h. La solución resultante se tornó de color Naranja intenso.

La reacción se monitoreó mediante CCF. El lavado del crudo se realizó con 30ml de HCl 5% hasta neutralizar el pH. Posteriormente se realizó extracciones sucesivas con diclorometano para luego ser anhidrado con Sulfato de Magnesio. Una vez filtrado, la mezcla obtenida se concentró a presión reducida.

Finalmente el crudo de reacción se purificó por CC con gradiente de polaridad creciente (Hexano-Acetato de etilo) obteniendo 0,0382 g. de producto final (%R= 44,5).

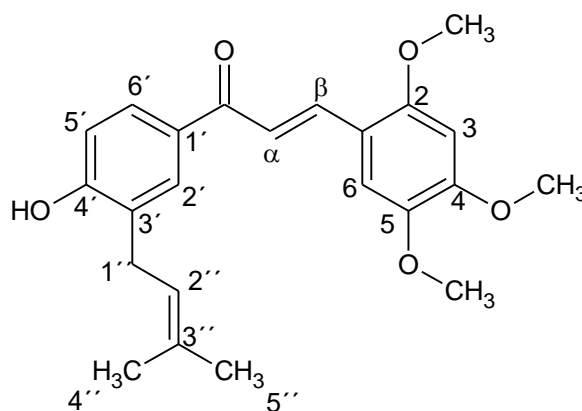
**$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):**  $\delta$ : 7,86-7,83 (2H, m, H-2' y H-6'); 7,79 (1H, d,  $J=15,4\text{Hz}$ , H- $\beta$ ); 7,53 (2H, d,  $J=8,6\text{ Hz}$ , H-2+H-6); 7,35 (1H, d,  $J=15,4\text{Hz}$ , H- $\alpha$ ); 6,91 (1H, d,  $J=8,4\text{Hz}$ , H-5'); 6,69 (2H, d,  $J=8,6\text{ Hz}$ , H-3+H-5); 5,36 (1H, t,  $J=7,0\text{ Hz}$ , H-2''); 3,43 (2H, d,  $J=7,0\text{ Hz}$ , H-1''); 3,03 (6H, s, N- $\text{CH}_3$ ); 1,78 (6H, s, H-4''+H-5'').

**$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ )**  $\delta$ : 189,6 (C=O); 158,8 (C-4'); 151,9 (C-4); 145,2 (C- $\beta$ ); 134,9 (C-3''); 131,5 (C-1'); 130,9 (C-2'); 130,3 (C-2+C-6); 128,7 (C-6'); 127,3 (C-3'); 122,8 (C-1); 121,4 (C-2''); 116,7 (C- $\alpha$ ); 115,4 (C-5'); 111,8 (C-3); 40,1 (2xN- $\text{CH}_3$ ); 29,5 (C-1''); 25,8 (C-5''); 17,9 (C-4'').

Pf.= 130,0-131,3°C.

#### 4.2.2. Reacción entre acetofenona prenilada y Trimetoxi-benzaldehído (24)

##### (2E)-1-[4-hidroxi-3-(3-metilbut-2-en-1-il) fenil]-3-(2, 4, 5-trimetoxifenil)prop-2-en-1-ona (25)



(25)

Se agregaron a un balón 0,1512g (0.7192 mmol) de 2,4,5- trimetoxibenzaldehído y se mezcló con 0,1069g (0,5233 mmol) del compuesto **(1)** originando un color levemente amarillo. Posteriormente se adicionan gota a gota NaOH/EtOH manteniéndolo a temperatura ambiente y en agitación durante 24 h. La solución resultante se tornó de color amarillo violáceo intenso.

La reacción se fue monitorizando mediante CCF. El término de la reacción se realizó 30ml de HCl 5% hasta neutralizar el pH. Posteriormente se realizan extracciones sucesivas con DCM para luego ser anhidrado con Sulfato de Magnesio. Una vez filtrado, la mezcla obtenida se concentró a vacío. Finalmente se realiza la columna en gradiente creciente de polaridad (Hexano-Acetato de etilo) logrando obtener 0,1050g de producto final (%R = 42,3).

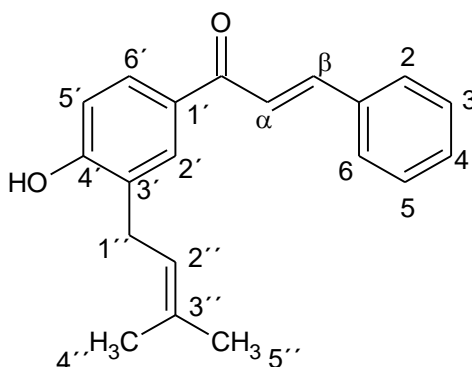
**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)** δ: 8,07 (1H, d, *J*=15,7 Hz, H-β); 7,85-7,84 (2H, m, H-2' y H-6'); 7,47 (1H, d, *J*=15,7 Hz, H-α); 7,12 (1H, s, H-6); 6,9 (1H, d, *J*=8,7 Hz, H-5'); 6,52 (1H, s, H-3); 6,35 (1H, sa, OH); 5,35 (1H, t, *J*=7,2 Hz, H-2''); 3,94 (3H, s, 4-OCH<sub>3</sub>); 3,90 (3H, s, 5-OCH<sub>3</sub>); 3,89 (3H, s, 2-OCH<sub>3</sub>); 3,43 (2H, d, *J*=7,2 Hz, H-1''); 1,78 (6H, s, H-4''+H-5'').

**<sup>13</sup>C-RMN (CDCl<sub>3</sub>)** δ: 189,8 (C=O); 158,7 (C-4'); 154,5 (C-2); 152,3 (C-4); 143,2 (C-5); 139,4 (C-β); 135,3 (C-3''); 131,5 (C-1'); 131,0 (C-2'); 128,9 (C-6'); 127,1 (C-3'); 121,3 (C-2''); 120,3 (C-5'); 115,5 (C-α); 111,5 (C-6); 96,9 (C-3); 56,6 (5-OCH<sub>3</sub>)\*; 56,4 (4-OCH<sub>3</sub>)\*; 56,1 (2-OCH<sub>3</sub>)\*; 29,7 (C-1''); 25,8 (C-5''); 17,9 (C-4''). \*: Señales intercambiables.

P.f.= 127,6-128,1°C.

### 4.2.3. Reacción entre la acetofenona prenilada y Benzaldehído (26)

#### (2E)-1-[4-hidroxi-3-(3-metilbut-2-en-1-il)fenil]-3-fenilprop-2-en-1-ona (27)



(27)

Se agregaron a un balón 0,1624g (1.5303 mmol) de benzaldehído y se mezcló con 0,1059g (0.5184 mmol) del compuesto (1). Posteriormente se adicionan gota a gota NaOH/EtOH manteniéndolo a temperatura ambiente y en agitación durante 24 h.

La reacción se fue monitorizando mediante CCF. El término de la reacción se realizó 30ml de HCl 5% hasta neutralizar el pH. Posteriormente se realizan extracciones sucesivas con DCM para luego ser anhidrado con Sulfato de Magnesio. Una vez filtrado, la mezcla obtenida se concentró al vacío.

Finalmente se realiza la columna en gradiente creciente de polaridad Hexano-Acetato de etilo logrando obtener 0,2503g de producto final (%R= 34,2%).

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz):** δ: 7,87-7,86 ( 2H, m, H-2' y H-6'); 7,80 (1H, d, J=15,6 Hz, H-β); 7,62 (2H, m, H-2, H-6); 7,54 (1H,d, J=15,6 Hz, H-α); 7,41 (3H, m,H-3, H-4, H-5); 6,91 (1H, d, J=8,2 Hz, H-5'); 6,28 (1H, s, OH); 5,35 (1H, d, J=7,1,H-2''); 3,44 (2H, d, J=7,1,H-1''); 1,79 (6H, s) .

**<sup>13</sup>C-RMN (CDCl<sub>3</sub>)** δ:189,2 (C=O); 159,1 ( C-4'); 144,0 (C-β); 135,5 (C-3'',C-2''); 135,1 (C-1); 131,0 (C-1'); 130,3 (C-4); 129,0 (C-6'); 128,9 (C-3, C-5); 128,4 (C-2,C-6); 127,3 (C-3'); 122,0 (C-α); 121,1 ( C-2''); 115,6 (C-5'); 29,7 ( C-1''); 25,8 ( C-5''); 18,0 (C-4'').

P.f.= 115,6-117,5°C.

## DISCUSIÓN

El género *Senecio* es reconocido por sus aplicaciones en la medicina popular. Estudios han mostrado que en diferentes especies de *Senecio*, tanto sus extractos como metabolitos aislados muestran interesantes propiedades biológicas. Desde la especie de *S. nutans* se han reportado la aislación de cinco acetofenonas con variables patrones de sustitución en el fragmento aromático. Ortega et. al., 2000, reporta el aislamiento de los compuestos **(4)** y **(5)**. Por su parte Barboza et. al., 2009, logra obtener moléculas del tipo **(2)** y **(3)**. Sin embargo, ambos autores obtienen porcentaje variables de acumulación y más aún no reporta la presencia de **(1)**. Por otra parte Lizárraga et. al., 2012 informa la aislación de la acetofenona prenilada **(1)**, no indicando el porcentaje de acumulación y/o algún otro metabolito relacionado.

En este estudio al igual que Lizárraga hemos determinado la presencia de la acetofenona **(1)**, el cual se encuentra como metabolito principal con un alto porcentaje de bioacumulación (12 % en relación a peso seco).

Estructuralmente este compuesto presenta un esqueleto interesante para su uso como sustrato de partida para la síntesis de chalconas preniladas.

### Síntesis de Chalconas

Diferentes condiciones de reacción han sido utilizadas en las reacciones de acoplamiento de Claisen-Schmidt, siendo la más utilizada las realizadas en condiciones alcalinas. Según lo mencionado por los autores, la síntesis de chalconas son obtenidas con un alto porcentaje de rendimiento bajo estas condiciones. En el caso de nuestro estudio, la reacción entre la acetofenona prenilada **(1)** y los aldehídos **(22)**, **(24)** y **(26)** se obtuvieron las respectivas chalconas con un rendimiento de 44,5%, 42,3% y 34,2% respectivamente. Si bien estos valores no alcanzan a valores reportados, esto puede ser debido a que, el fragmento de acetofenona presenta en su estructura un grupo OH libre, el cual por sus características ácidas disminuirían su reactividad



frente a estas condiciones. Por otra parte, estas condiciones favorecen la generación de subproductos de reacciones como la de Cannizzaro , ya que al no poseer hidrógenos  $\alpha$  al carbonilo, ocurre una adición del ión hidróxido al carbonilo con una posterior transferencia de hidruro , para formar los respectivos productos carboxílicos y/o del tipo alcohol.

A pesar de los moderados porcentajes de obtención de estas nuevas chalconas, esto ha permitido sintetizar tres nuevos derivados relacionados estructuralmente con Isobavachalcona que son reconocidas por sus variadas propiedades biológicas. (Sugamoto et. al, 2011)

## **5.-CONCLUSIONES**

- 1- De *Senecio nutans* se aisló e identificó, mediante técnicas fitoquímicas convencionales, métodos físicos y espectroscópicos- la acetofenona 4-hidroxi-3-(3-metil-2-butenil) acetofenona con un rendimiento del 12,1%, como componente principal de esta especie.
- 2- Se realizó la síntesis de tres chalconas preniladas **(23)**, **(25)**, y **(27)**, mediante la reacción de acoplamiento de Claisen-Schmidt de acetofenona prenilada natural **(1)** con los aldehídos comerciales *p*-N,N-dimetilaminobenzaldehído , 2,4,5-Trimetoxibenzaldehído y benzaldehído.
- 3- El Mejor resultado de reacción obtenido fue con *p*-N,N-dimetilaminobenzaldehído con un rendimiento de 44,5%, seguidos del compuesto **(25)** que se obtuvo con un rendimiento de 42,3% y el **(27)** con un rendimiento de 32,2%.

### Proyecciones.

- El diseño y la síntesis de nuevas chalconas preniladas, relacionadas estructuralmente a compuestos naturales (Isobavachalcona y bavachalconas), es un área de estudio muy interesante dentro de la síntesis orgánica debido a la amplia gama de actividades biológicas que presentan. Basados en estos datos, se hace necesario ahondar en mejorar los rendimientos obtenidos en este estudio, por lo que se propone que en futuras investigaciones relacionadas a la síntesis de chalconas, se proteja el hidroxilo libre presente en el anillo aromático "A" y una posterior reacción de acoplamiento tipo Claisen-Schmidt, originando posiblemente un aumento en el rendimiento de la reacción. Además se propone la utilización de diferentes catalizadores como ZrCl<sub>4</sub>, compuesto mixto de aluminio, silicio y ácido sulfónico, BF<sub>3</sub>-Et<sub>2</sub>O, entre otros, que logran mejorar los

rendimientos de la reacción y también disminuir los tiempos requeridos para cada reacción dada.

## **6.- BIBLIOGRAFIA**

- 1- Akihisa T., Tokuda H., Ukiya M., Iizuka, M., Schneider S., Ogasawara K., Mukainaka T., Iwatsuki K., Suzuki T., Nishino H., 2003. Chalcones, coumarins, and flavanones from the exudate of *Angelica keiskei* and their chemopreventive effects. *Cancer Letters*, 201, 133-137.
- 2- Anis M., and Faisal M., 2005. In vitro regeneration and mass multiplication of *Psoralea corylifolia*- An endangered medicinal plant. *Indian J Biotechnol*, Vol.4, pp 261-264.
- 3- Barboza G., Cantero J., Nuñez C., Pacciaroni A., Espinar L., 2009. Medicinal Plants: A general review and a phytochemical and ethnopharmacological screening of the native Argentine Flora. *Kurtziana*, 34 (1-2), 7-365.
- 4- Bhagat, S., Sharma, R., Sawant, D.M., Sharma, L., Chakraborty, A.K., 2006. LiOH-H<sub>2</sub>O as a novel dual activation catalyst for highly efficient and easy synthesis of 1,3-diaryl-2-propenones by Claisen-Schmidt condensation under mild conditions. *J. Mol. Cat.*, 224, 20-24.
- 5- Benites J., Bravo F., Rojas M., Fuentes R., Moiteiro C. y Venancio F., 2011. Composition and antimicrobial screening of the essential oil from the leaves and stems of *Senecio atacamensis*, phil. From Chile. *J. Chil. Chem. Soc.*, 56, N°2.
- 6- Chen M., Zhai L., Christensen S., Theander T., Kharazmi A., 2001. Inhibition of Fumarate Reductase in *Leishmania major* and *L. donovani* by Chalcones. *Antimicrob Agents Chemother*, 45(7): 2023–2029.
- 7- H.J. An., M.J., I.Y. Choi., R.K. Park., S. Jeong, J.Y. Lee, H.M. Kim, J.Y. Um, S.H. Hong, 2008. Induction of nitric oxide and tumour necrosis factor- $\alpha$  by *Psoralea corylifolia*. *Indian J. Med. Res*, 128, 752-758.
- 8- Hsu Y.L., Kuo P.L., Tzeng W.S., Lin C.C., 2006. Chalcone inhibits the proliferation of human breast cancer cell by blocking cell cycle progression and inducing apoptosis. *Food Chem. Toxicol.*, 44, 704-713.
- 9- Jeon, J.H., Kim, S.J., Kim, C.G., Kim, J.K., Jun, J.G. B., 2012. Synthesis of biologically active chalcones and their Anti-Inflammatory effects. *Kor. Chem. Soc.*, 33(3), 953-957
- 10- Kamal A., Prabhakar S., Ramaiah, M., Venkat Reddy P., Ratna Reddy Ch., Mallareddy A., Shankaraiah N., Narayan Reddy T.L., Pushpavalli S.N.C.V.L., Pal-Bhadra M, 2011. Synthesis

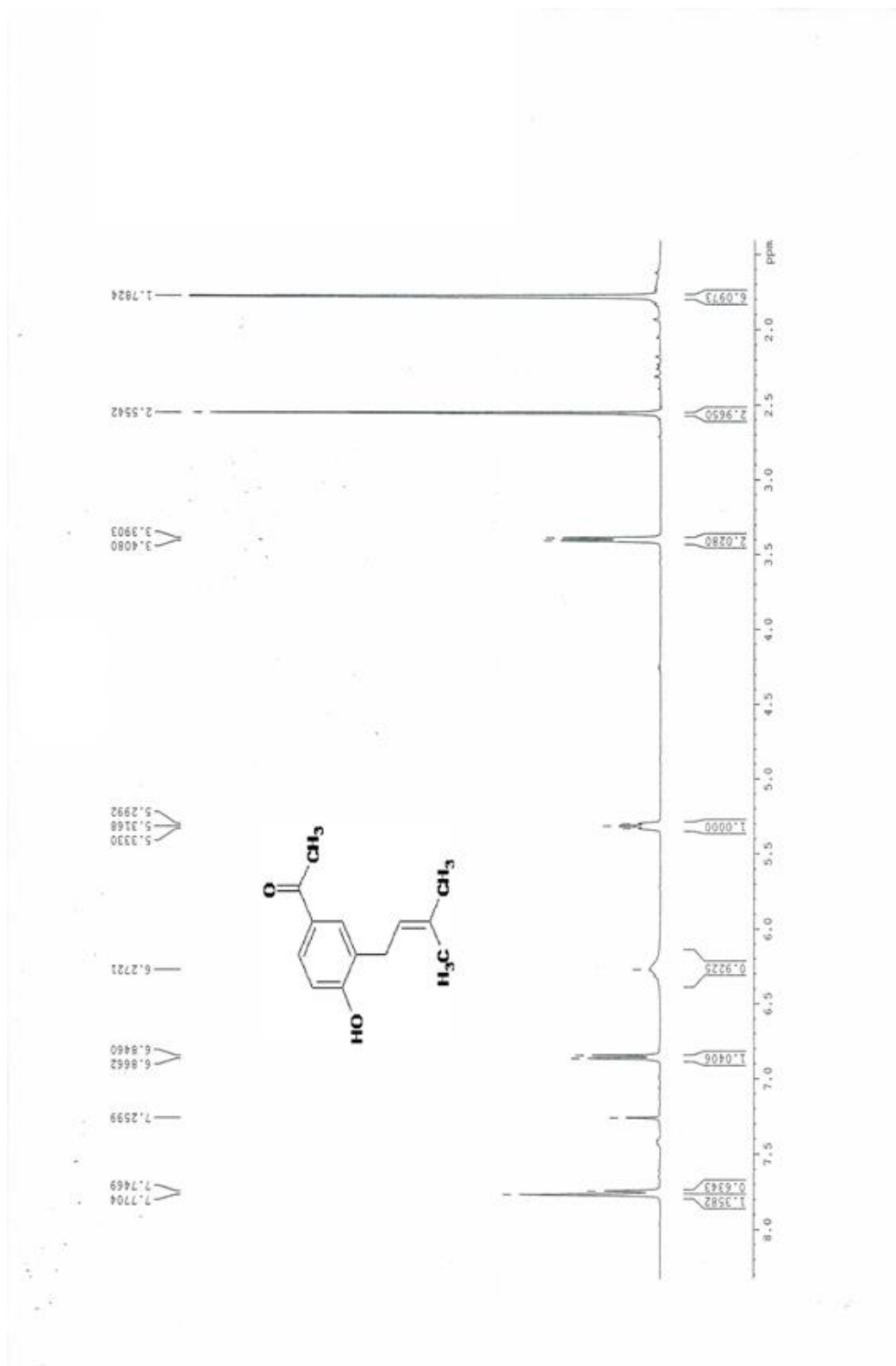
and anticancer activity of chalcone-pyrrolobenzodiazepine conjugates linked via 1,2,3- triazole ring side-armed with alkane spacers. *Eur. J. Med. Chem.*, 46, 3820-383.

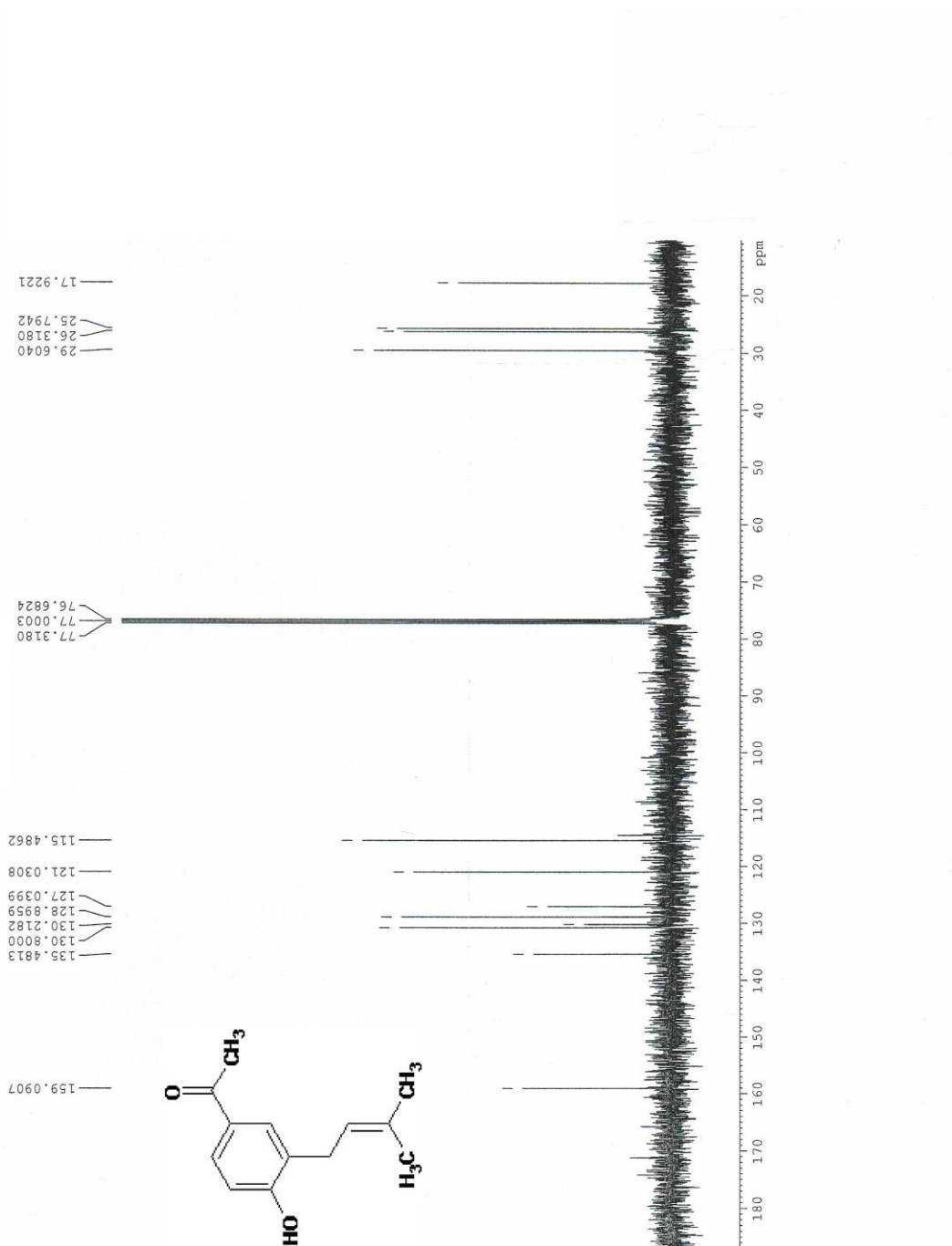
- 11- Kamboj J., Sharma S., Kumar S. In Vivo Anti-diabetic and Anti-oxidant Potential of *Psoralea corylifolia* Seeds in Streptozotocin Induced Type-2 Diabetic Rats. *J. Health Sci.* 57(3), 225-235.
- 12- Lawal A., Oladipupo L. and Adebola O., 2009. Chemical Composition of the Essential Oils of the Flowers, Leaves and Stems of Two *Senecio Polyanthemoides* Sch. Bip. Samples from South Africa. *Molecules*, 14, 2077-2086; doi: 10.3390/molecules14062077.
- 13- Liu Z., Lee W., Kim S.N., Yoon G., Cheon S.H., 2011. Design, synthesis, and evaluation of bromo-retrochalcone derivatives as protein tyrosine phosphatase 1B inhibitors. *Bioor. Med. Chem.*, 21, 3755-3758.
- 14- Lizárraga E., Romano E., Rudyk Roxana, Catalán C., Brandán S., 2012. Structural study, coordinated normal analysis and vibrational spectra of 4-hydroxy-3-(3-methyl-2-butenyl) acetophenone. *Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 97, 202–208.
- 15- Luo L., Wang R., Wang X., Ma Z., Li N., 2012. Compounds from *Angelica Keiskei* with NQO1 induction, DPPH· scavenging and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activities. *Food Chem.*, 3(1), 992-998.
- 16- Maggiolini M., Statti G., Vivacqua A., Gabriele S., Rago V., Loizzo M., Menichini F., Amdo S., 2002. Estrogenic and antiproliferative activities of isoliquiritigenin in MCF-7 breast cancer cells. *Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology* 82, 315-322.
- 17- Ortega, P.A., Guzmán, M.E., Vera, L.R., Velásquez, J.A., 2000. Dihydroeuparin as sunscreen. *Bol. Soc. Chil. Quim.*, 45(4), 629-636.
- 18- Pandey P., Mehta Rakesh., and Upadhyay R., 2013. Physico-chemical and preliminary phytochemical screening of *Psoralea corylifolia*. *Arch. Appl. Sci. Res.*, 5(2):261-265.
- 19- Pilatova M., Varinska L., Perjesi P., Sarissky M., Mirossay L., Solar P., Ostro A., Mojzis J., 2010. In vitro antiproliferative and antiangiogenic effects of synthetic chalcone analogues. *Toxicol in Vitro*, 24, 1347-1355

- 20- Raskin I., Ribnicky D., Komarnytsky S., Ilic N., Poulev A., Borisjuk N., Brinker A., Moreno D., Ripoll Ch., Yakoby N., O'Neal J., Cornwell T., Pastor I. and Fridlender B.. 2002. Plants and human health in the twenty-first century. *Trends Biotechnol. Vol.20 N°12*.
- 21- S.H. Lim, T.Y. Ha, J Ahn, S Kim, 2011. Estrogenic activities of *Psoralea corylifolia* L. seed extracts and main constituents. *Phytomedicine*, 18(5), 425-430.
- 22- Sivakumar P.M., Prabhakar P.K., Doble M., 2001. Synthesis, antioxidant evaluation, and quantitative structure-activity relationship studies of chalcones. *Med. Chem. Res.*, 20, 482-492.
- 23- Sugamoto K., Matsusita Y.I., Matsui K., Kurogi C., Matsui T., 2011. Synthesis and antibacterial activity of chalcones bearing prenyl or geranyl groups from *Angelica keiskei*. *Tetrahedron*, 67, 5346-5359.
- 24- Sugii M., Ohkita M., Taniguchi M., Baba K., Kawai Y., Tahara C., Takaoka M., Matsumura Y, 2005. Xanthoangelol D Isolated from the Roots of *Angelica Keiskei* Inhibits Endothelin-1 Production through the Suppression of Nuclear Factor- $\kappa\beta$ . *Biol. Pharm. Bull*, 28(4), 607-610.
- 25- Villagrán C., Romo M. y Castro V., 2003. Etnobotánica del sur de Los Andes de la primera región de Chile: un enlace entre las culturas altiplánicas y las de quebradas altas del Loa superior. *Revista de Antropología Chilena*, volumen 35, N° 1. Páginas 73-124.
- 26- Villanueva C., 2010. Caracterización estructural de los metabolitos secundarios de *Senecio polypodioides*. Instituto Politécnico Nacional, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Mexico. Consultado el 4 de abril del 2013 en <http://tesis.ipn.mx/xmlui/bitstream/handle/123456789/10434/328.pdf?sequence=1>
- 27- Yadav V., Prasad S., Sung B., Aggarwal B. B., 2011. The role of chalcones in suppression of NF- $\kappa\beta$ -mediated inflammation and cancer. *Int. Immunol.*, 11, 295-309.
- 28- Yang Y., Zhaoa L., Wang Y., Changa M., Huoa C. Gua Y., Shi Q., and Kiyota H, 2011. Chemical and Pharmacological Research on Plants from the Genus *Senecio*. *Chemistry & Biodiversity*-Vol.8.



## **7. - ANEXOS**

Figura 14: Espectro  $^1\text{H-RMN}$  (1)

Figura 15: Espectro  $^{13}\text{C}$ -RMN (1)

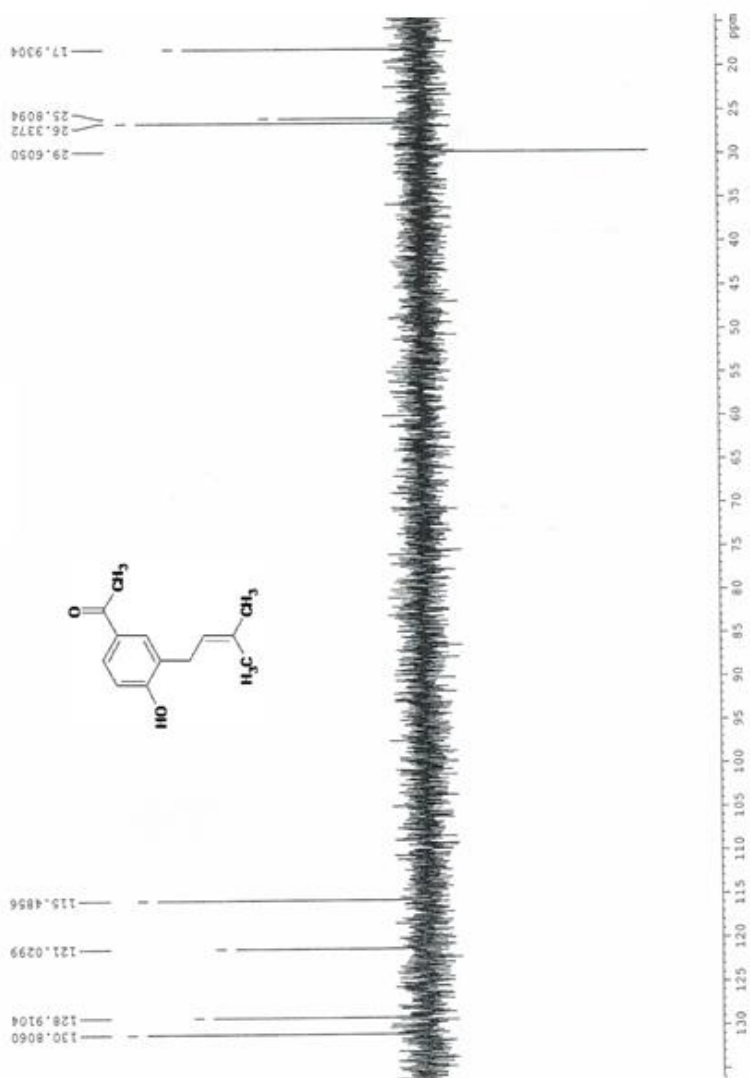


Figura 16: Espectro  $^{13}\text{C}$  DEPT-135 (1).

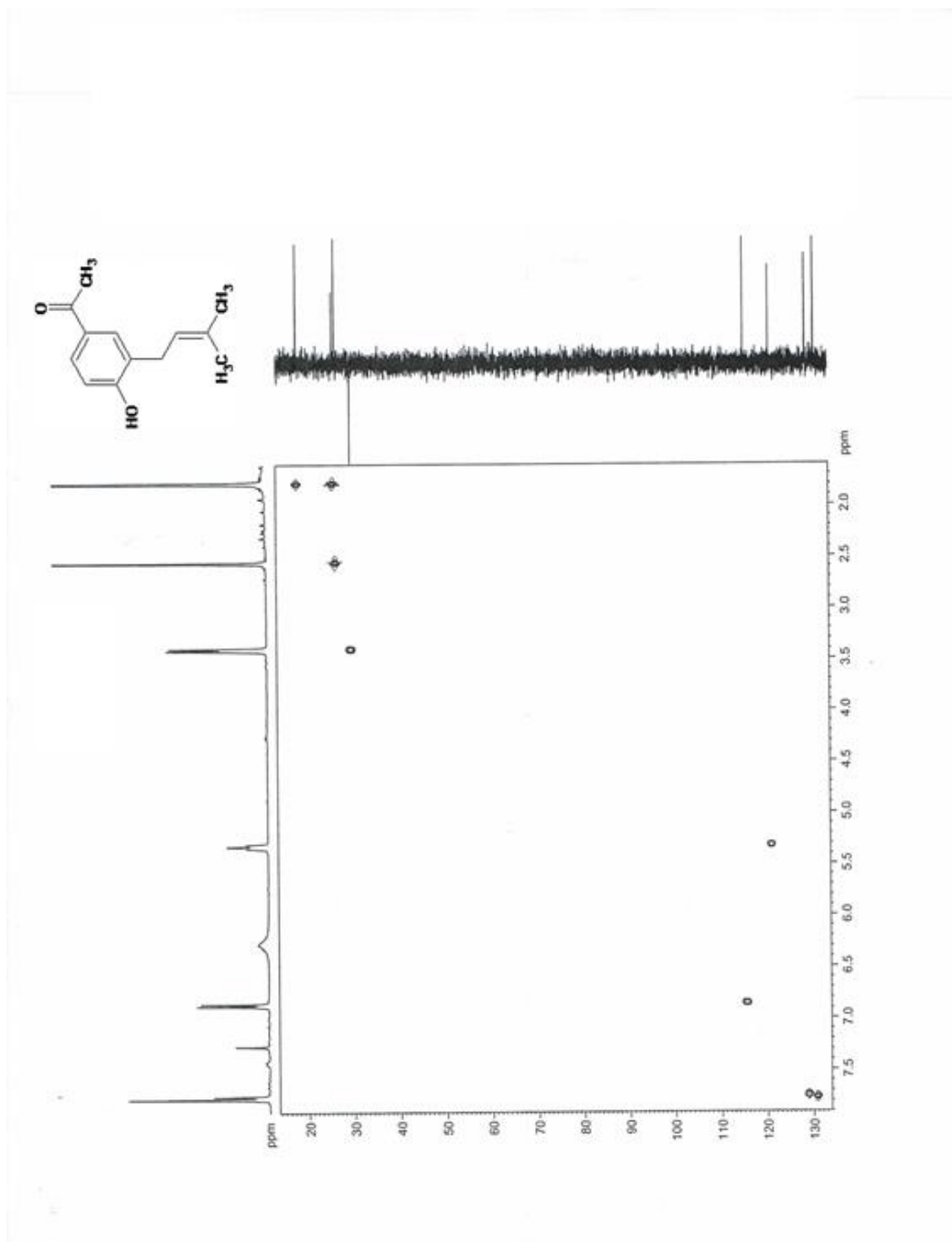


Figura 17: Espectro HSQC (1)

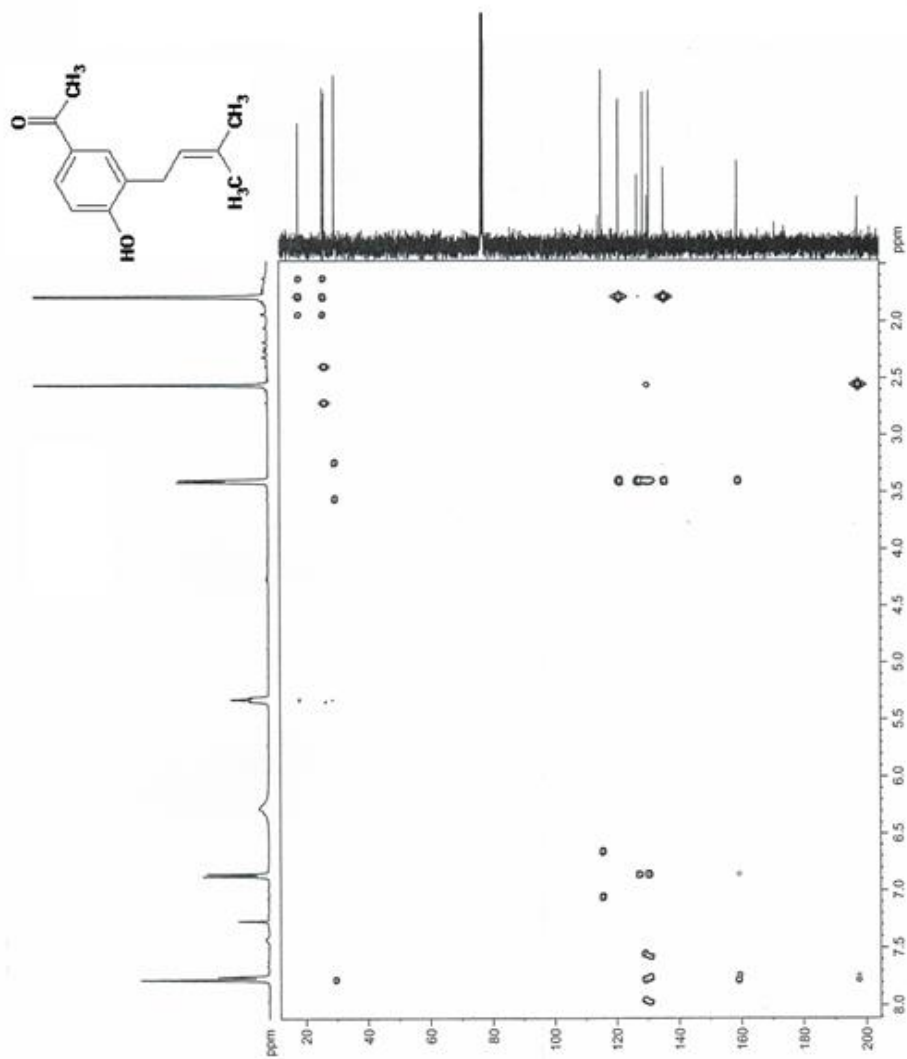
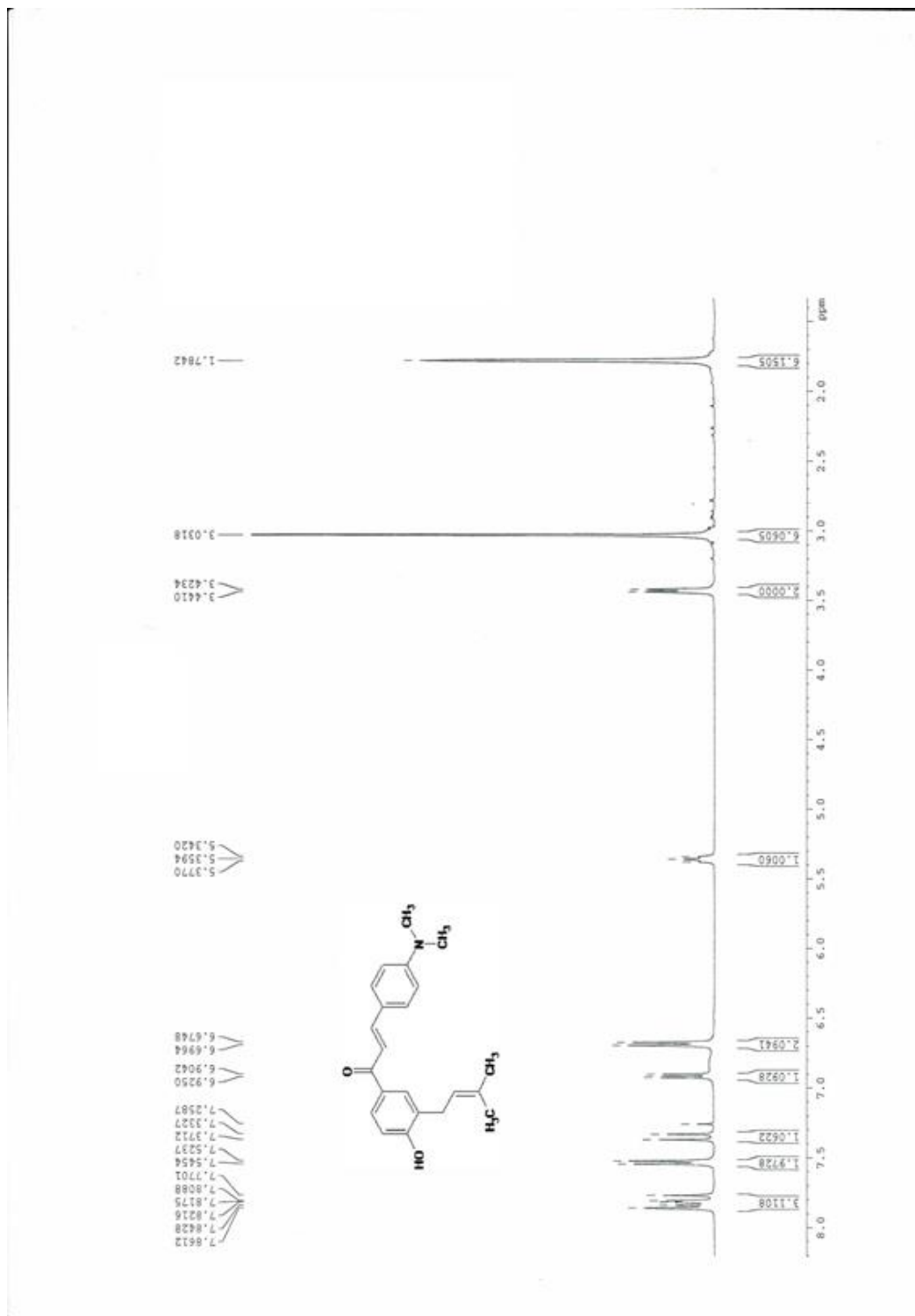
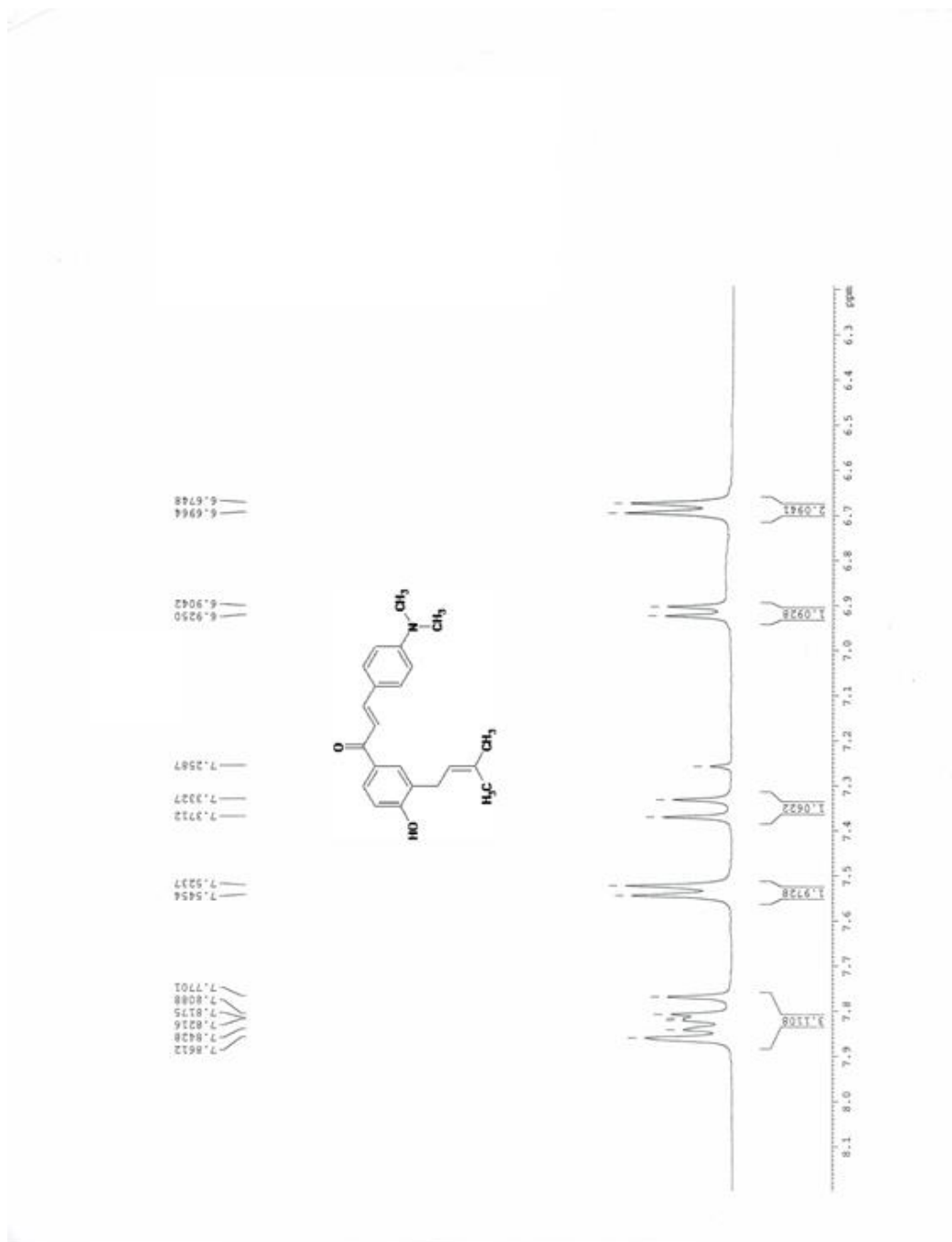
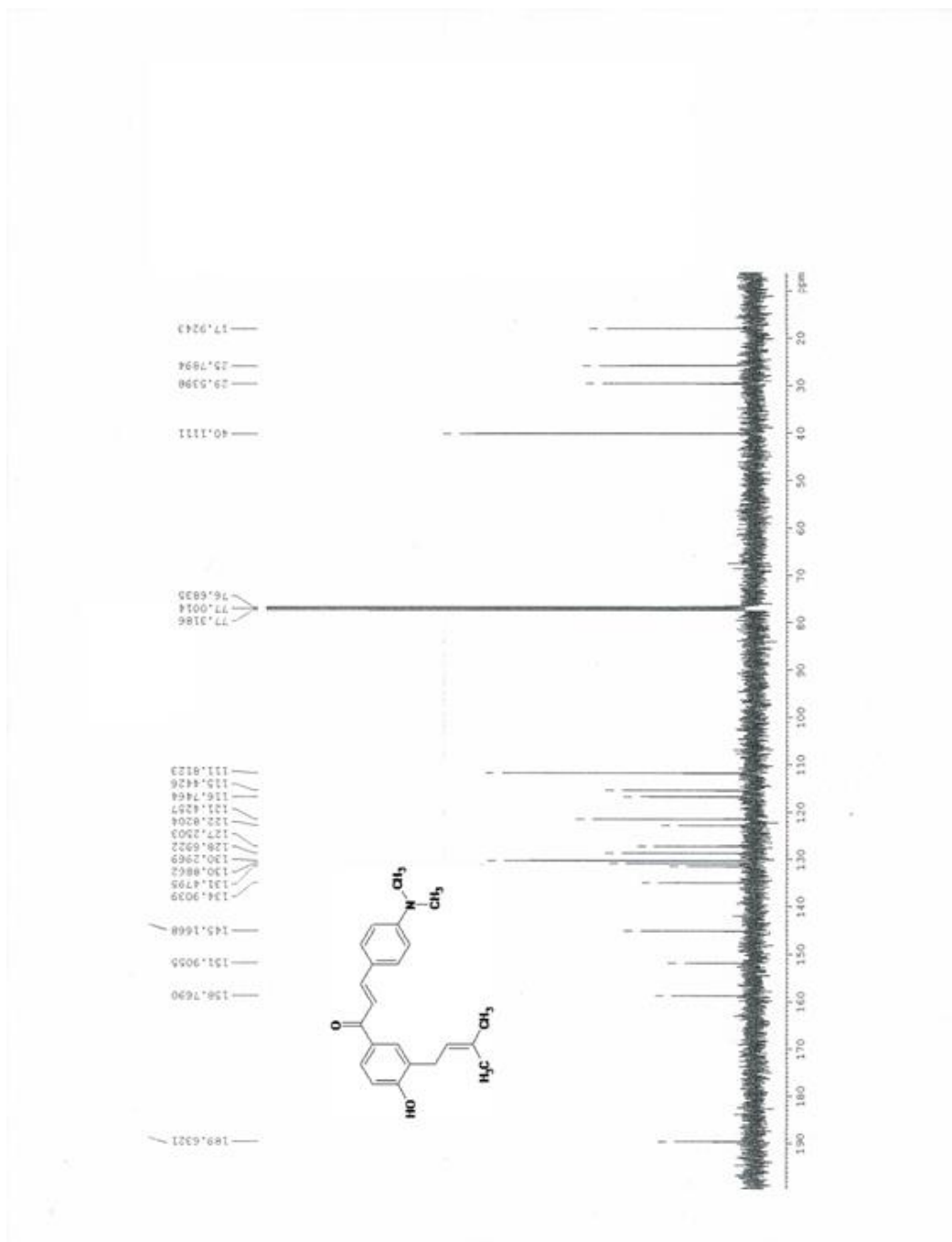


Figura 18: Espectro HMBC (1)

Figura 19: Espectro <sup>1</sup>H-RMN (23)

Figura 20: Espectro ampliado  $^1\text{H-RMN}$  (23)



Figura 21: Espectro  $^{13}\text{C}$ -RMN (23)

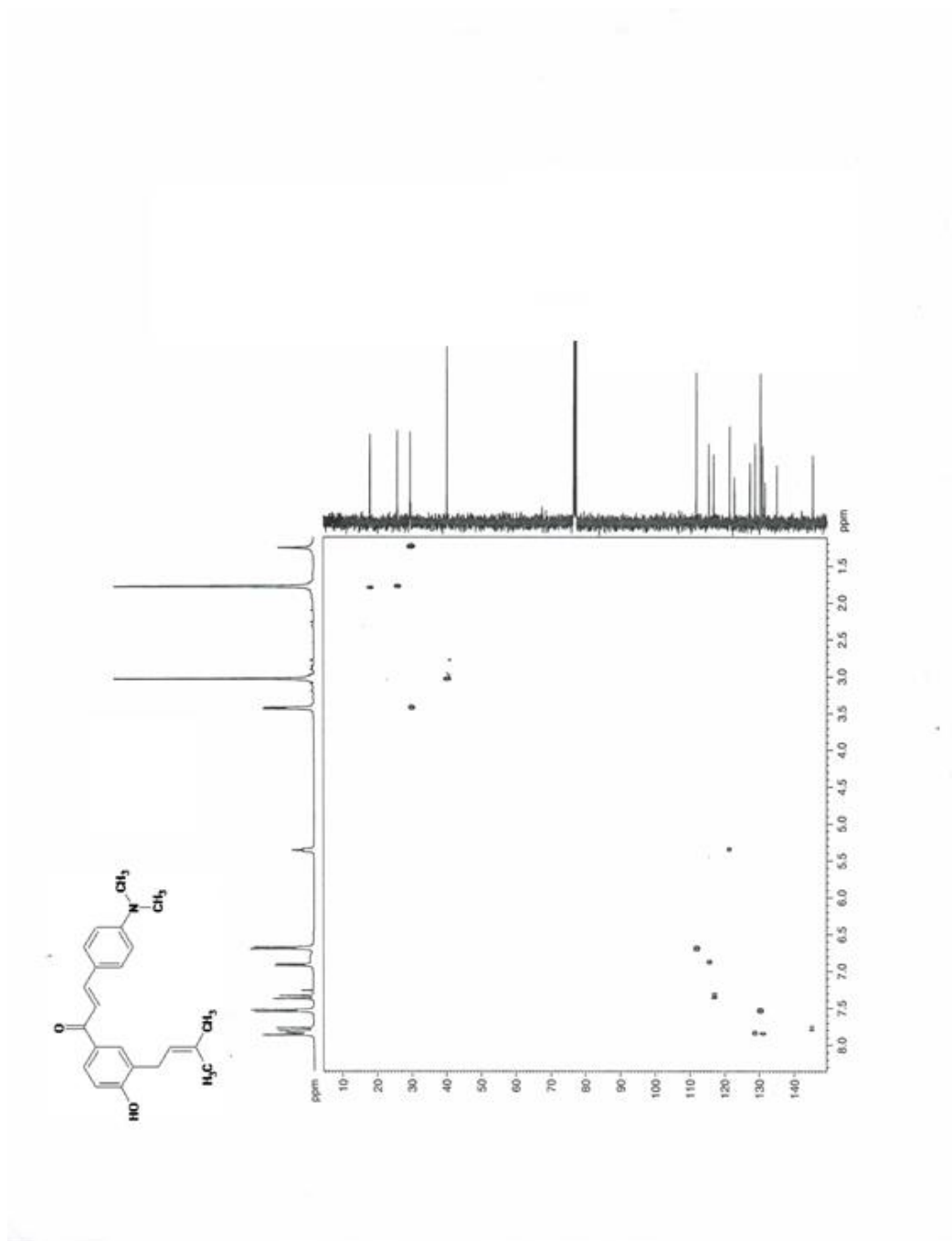


Figura 22: Espectro HSQC (23)

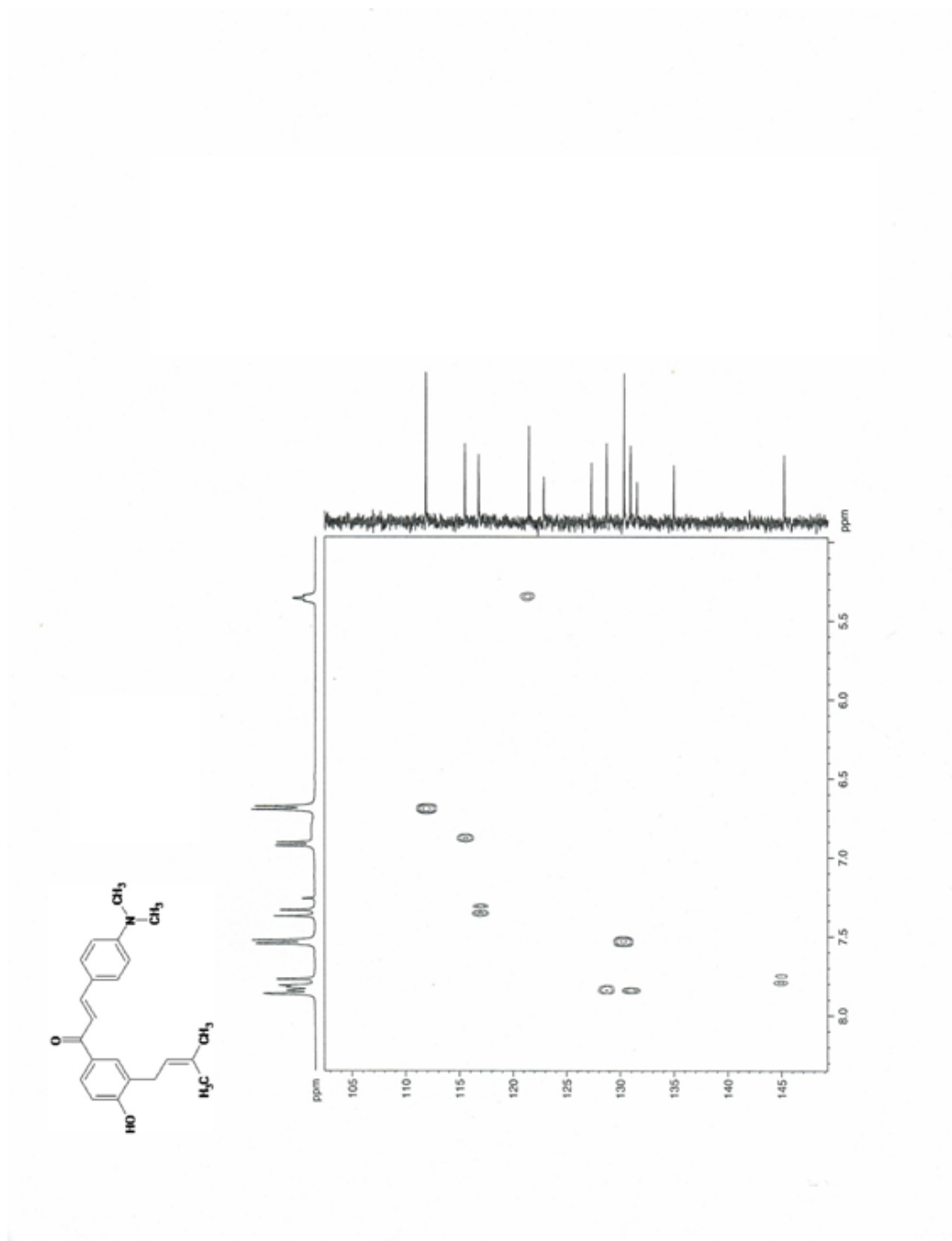
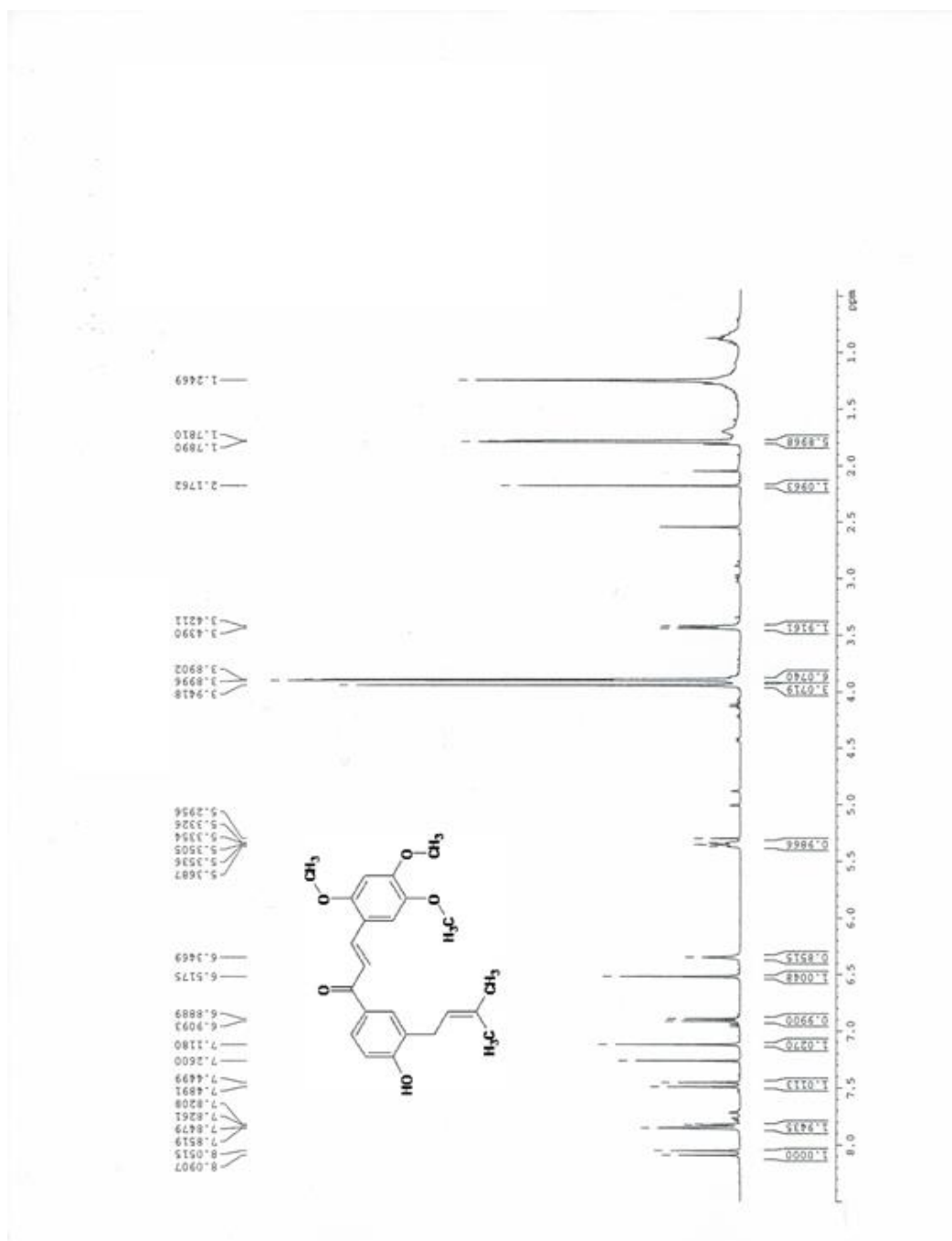
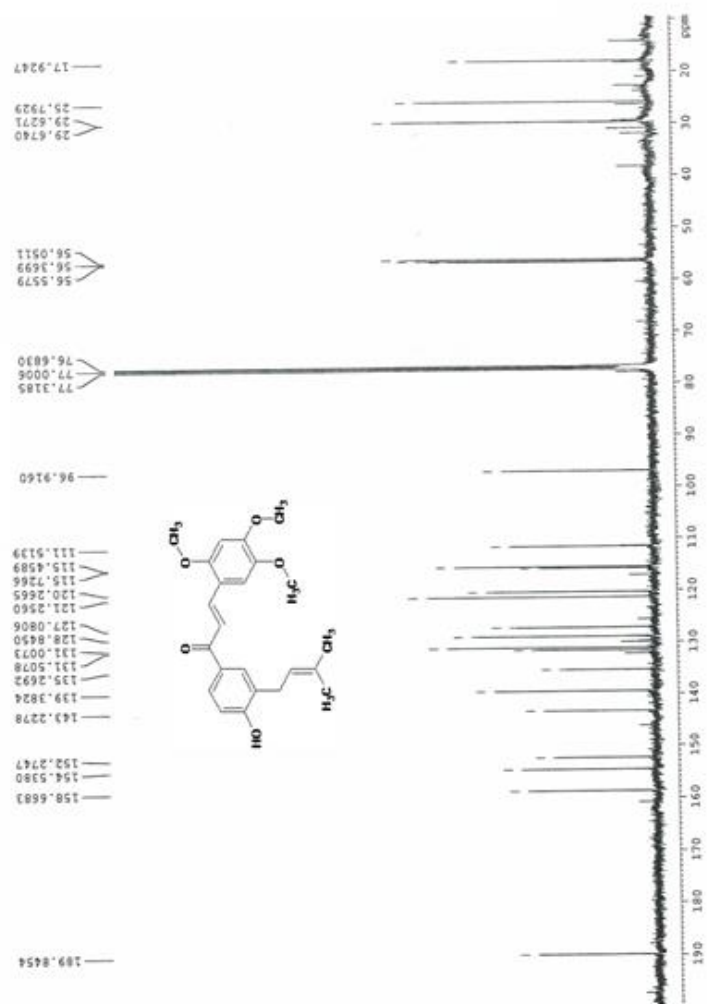


Figura 23: Espectro ampliado HSQC

Figura 24: Espectro <sup>1</sup>H-RMN (25)

Figura 25: Espectro  $^{13}\text{C}$ -RMN (25)

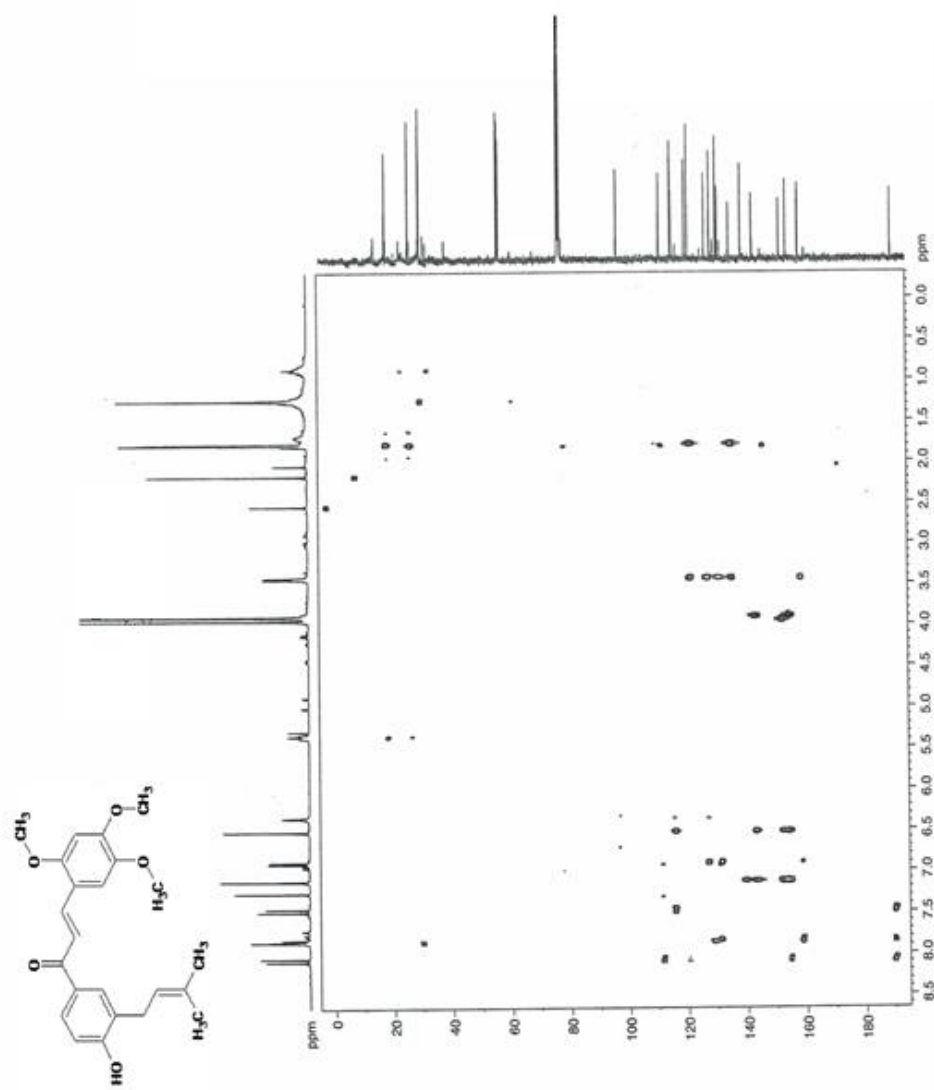


Figura 26: Espectro HMBC (25)

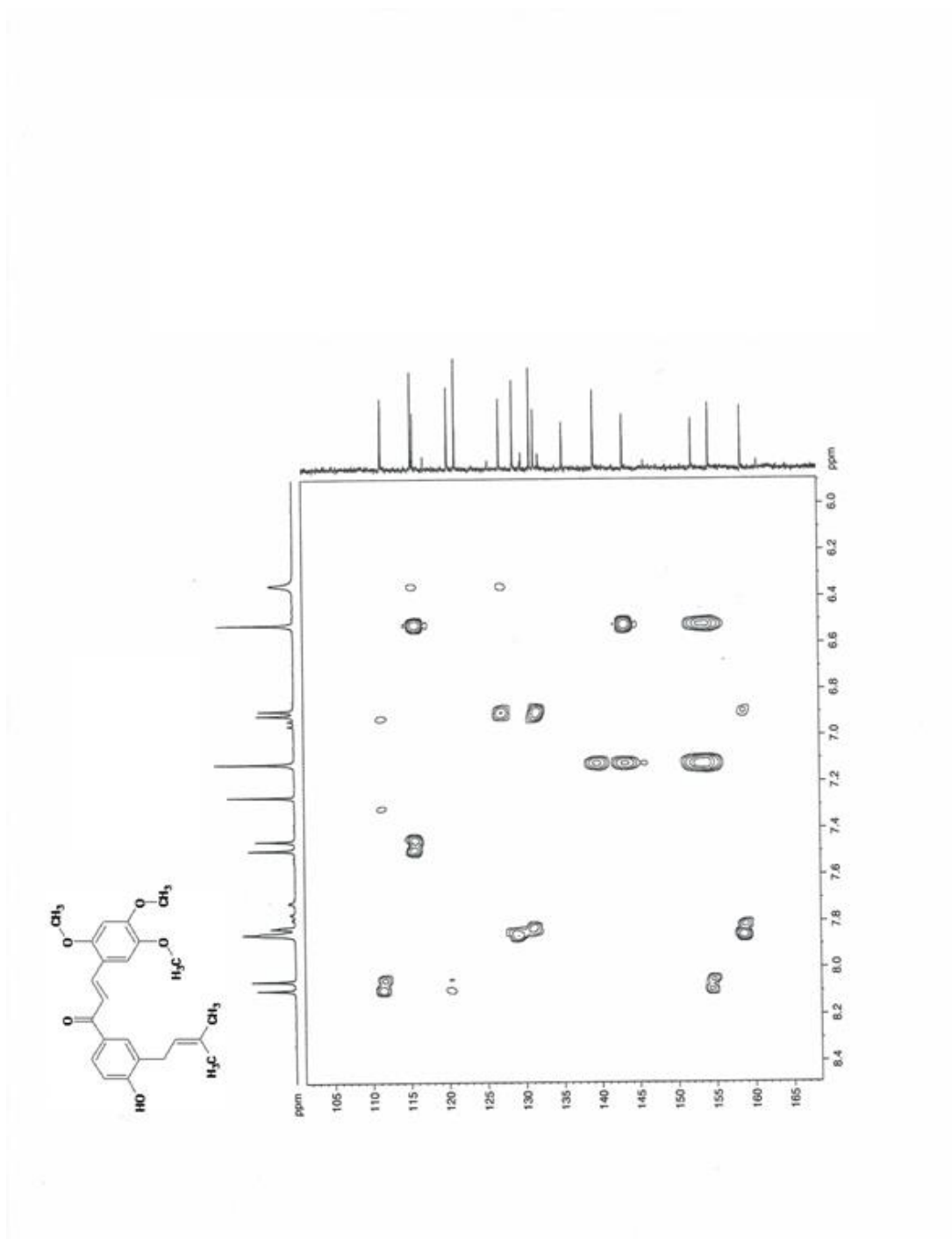


Figura 27: Espectro HMBC (25)

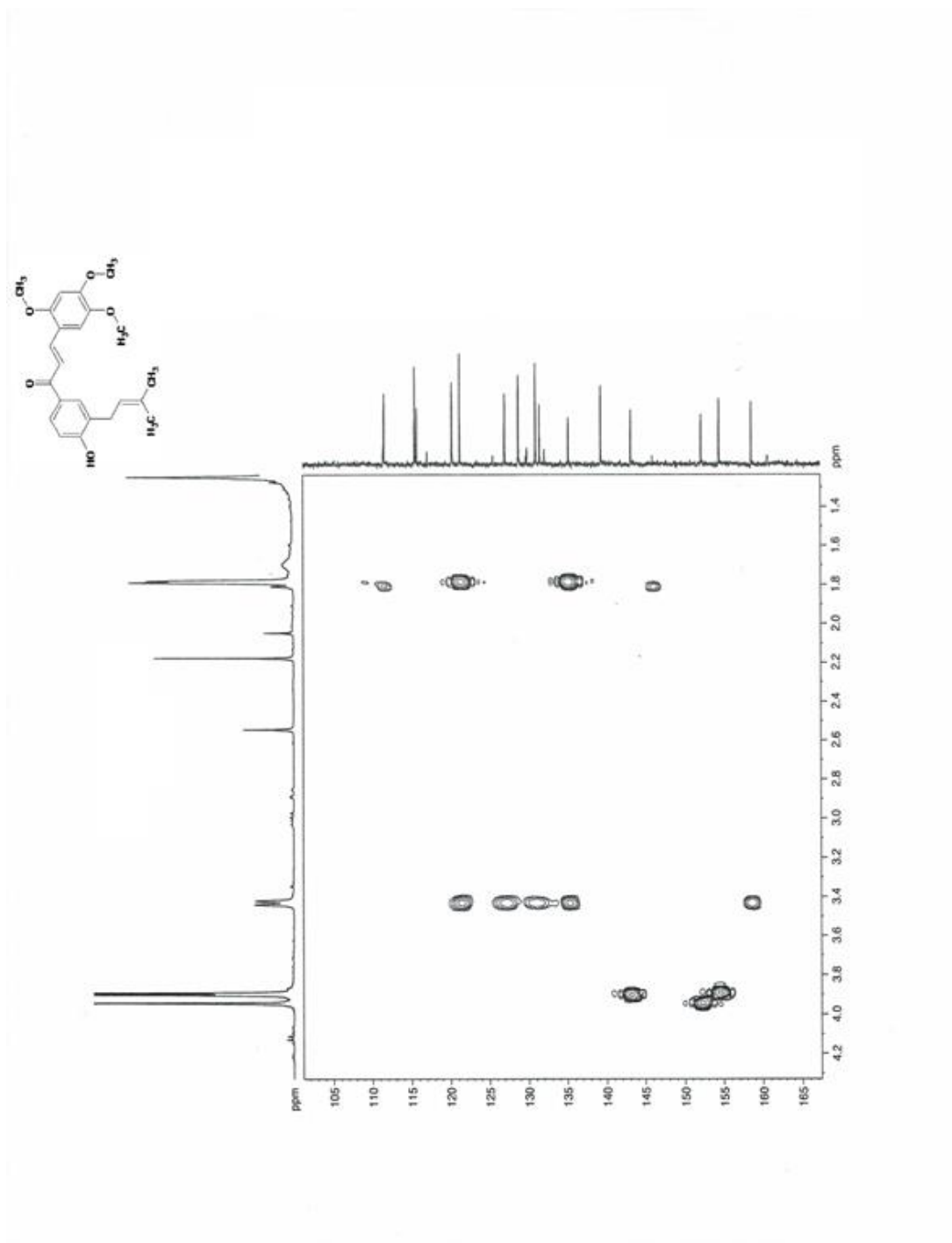


Figura 28: Espectro ampliado HMBC (25)



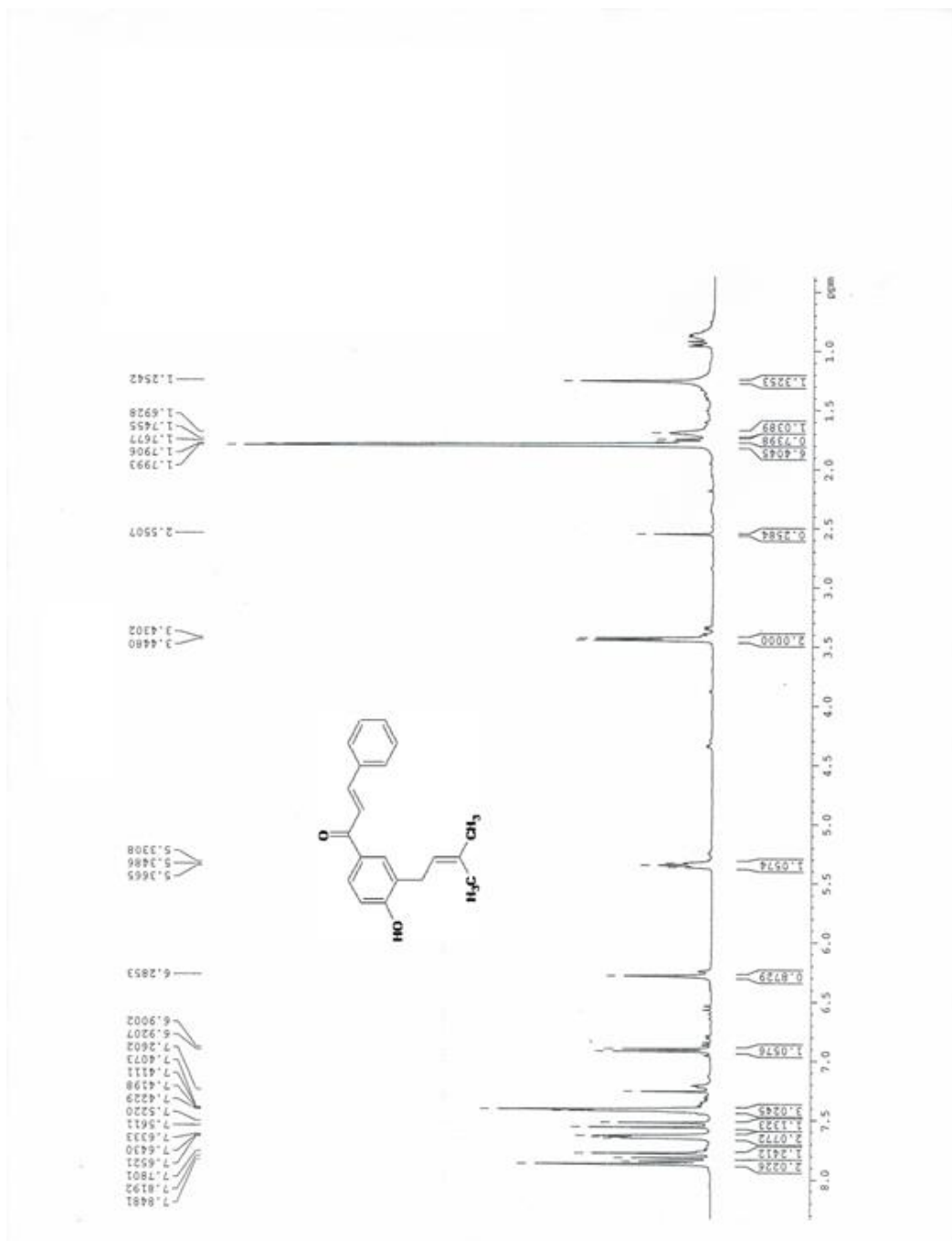
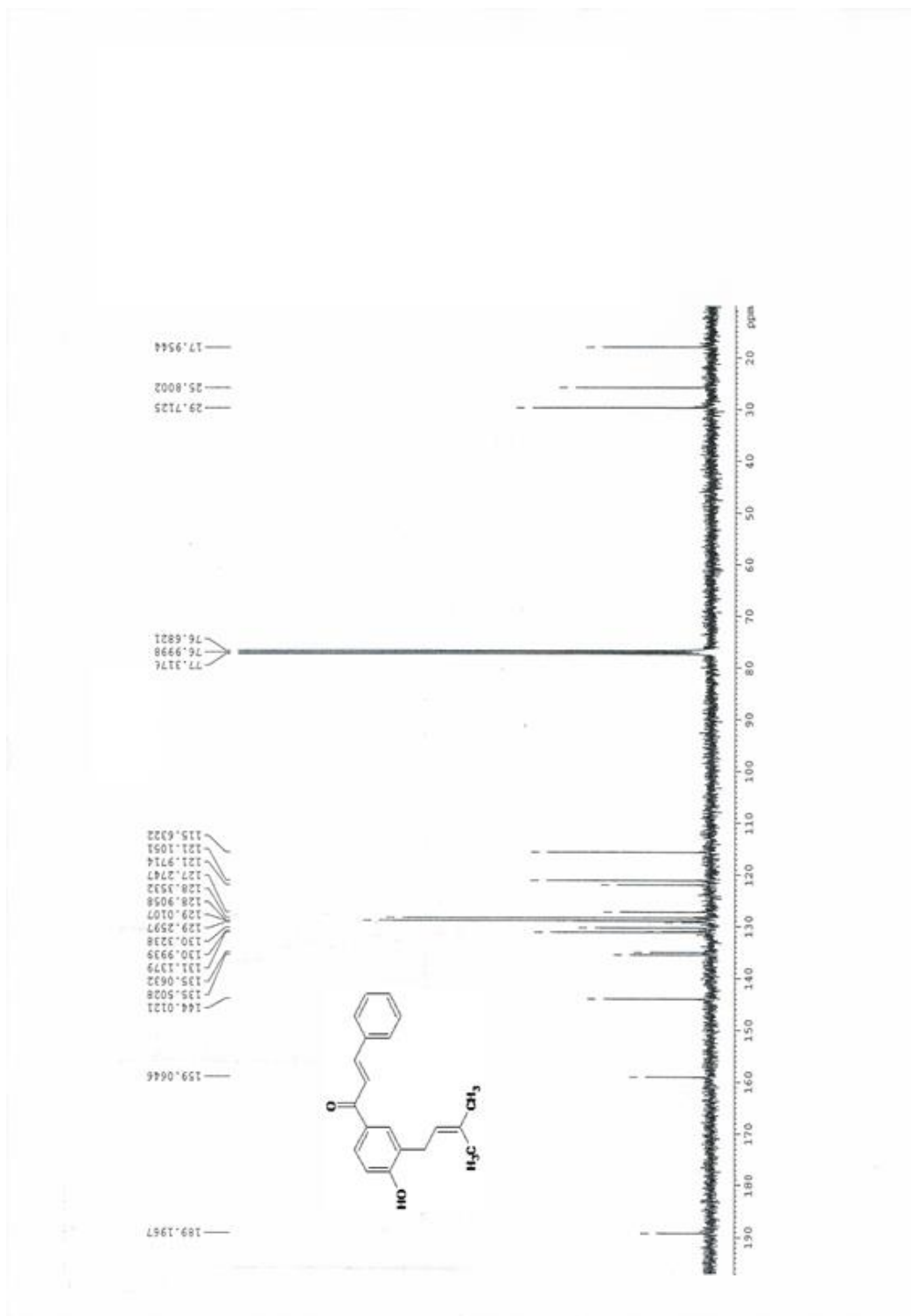


Figura 29: Espectro <sup>1</sup>H-RMN (27)

Figura 30: Espectro  $^{13}\text{C}$ -RMN (27)

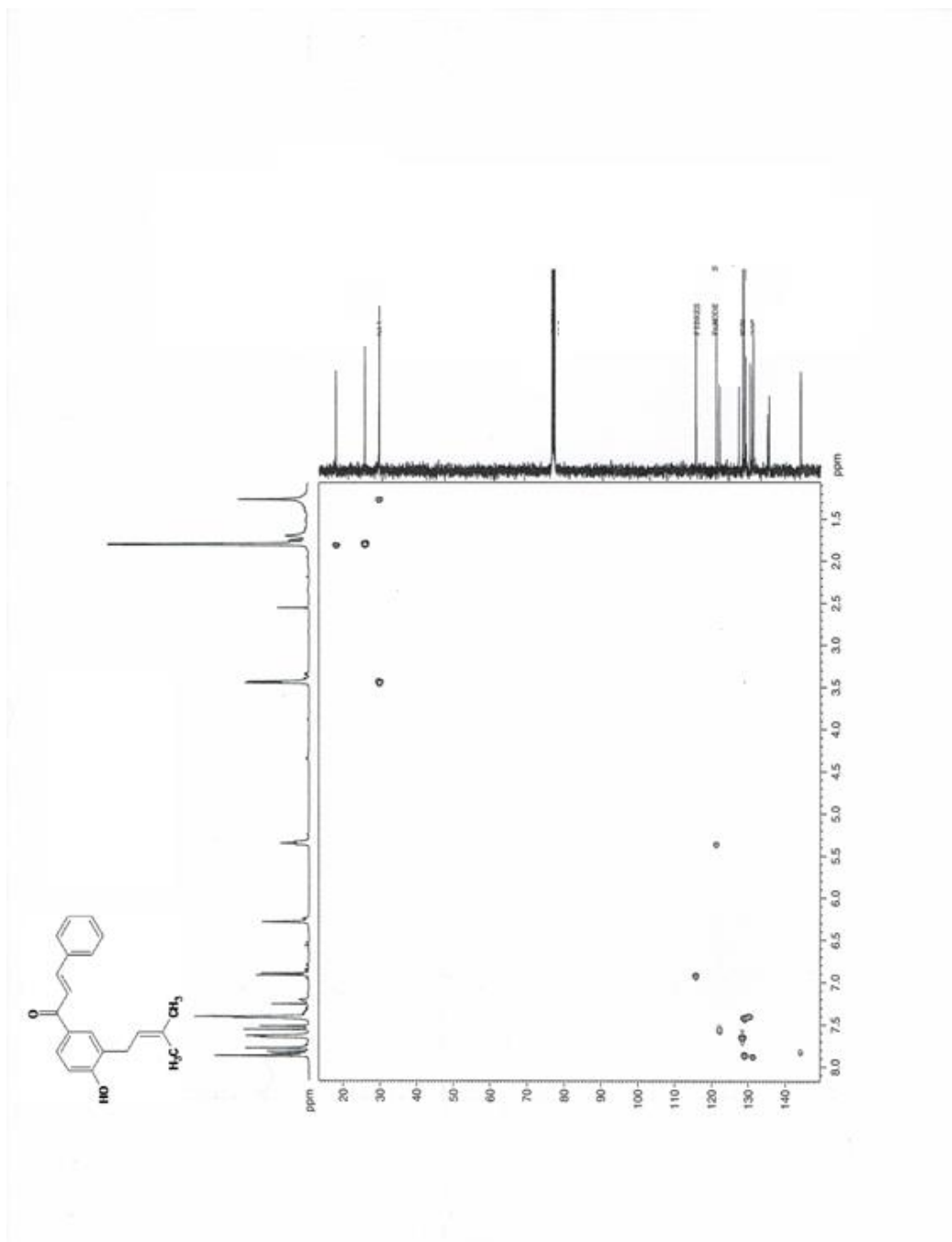


Figura 31: Espectro HSQC (27)

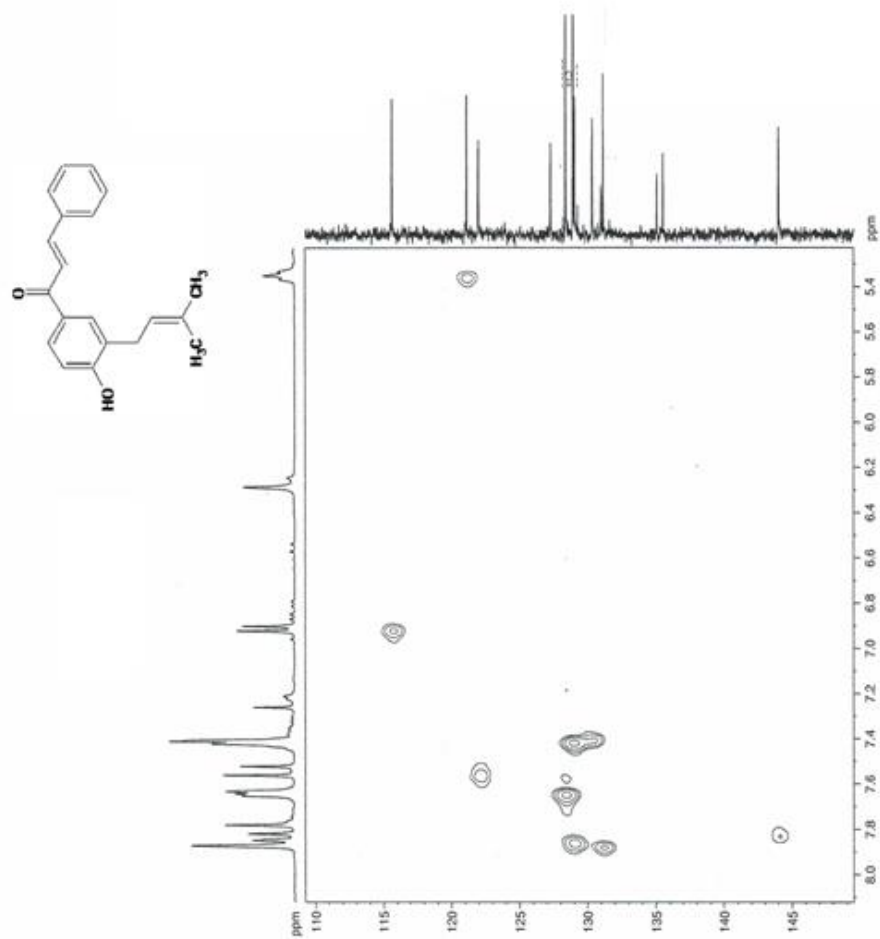


Figura 32: Espectro ampliado HSQC (27)

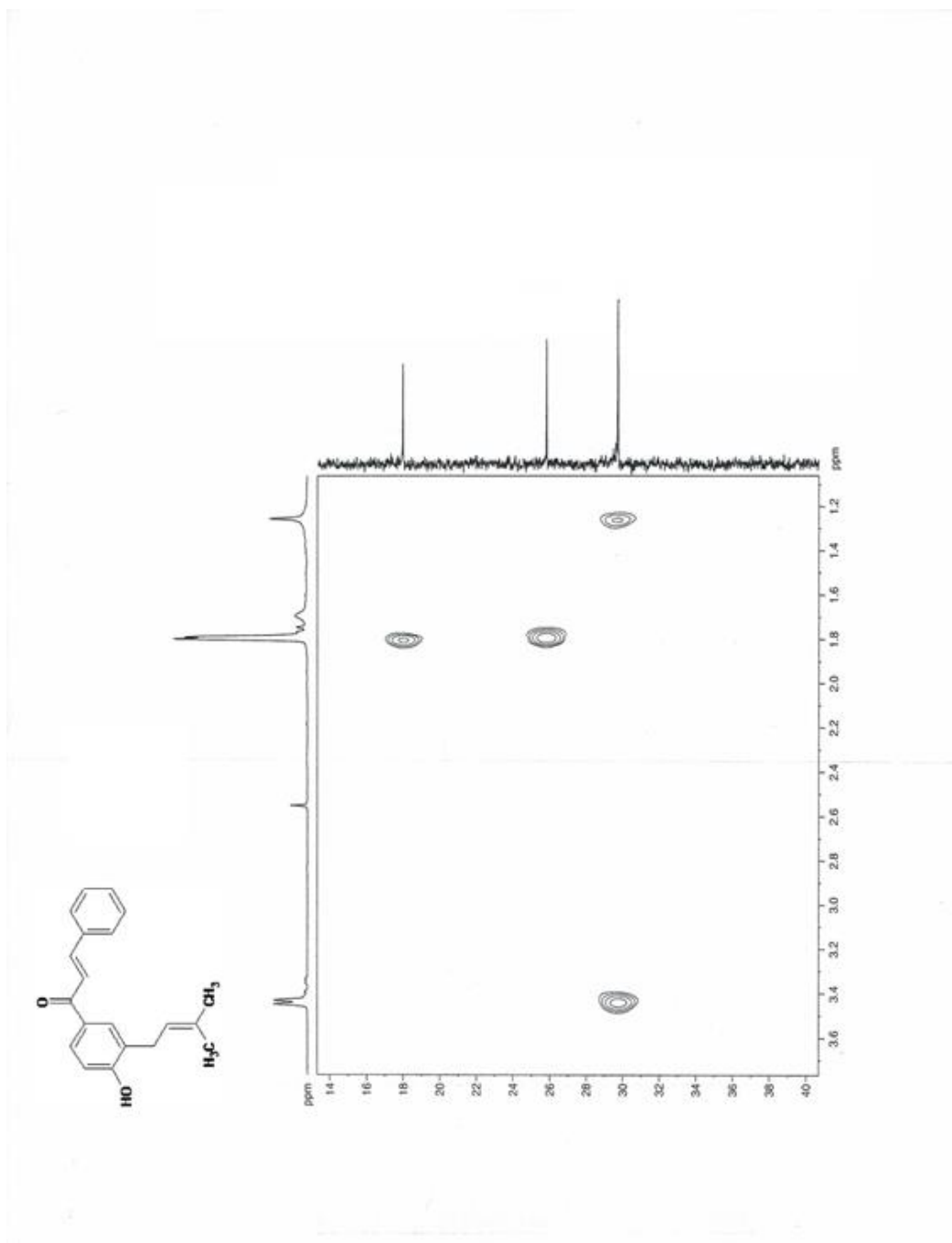


Figura 33: Espectro ampliado HSQC (27)

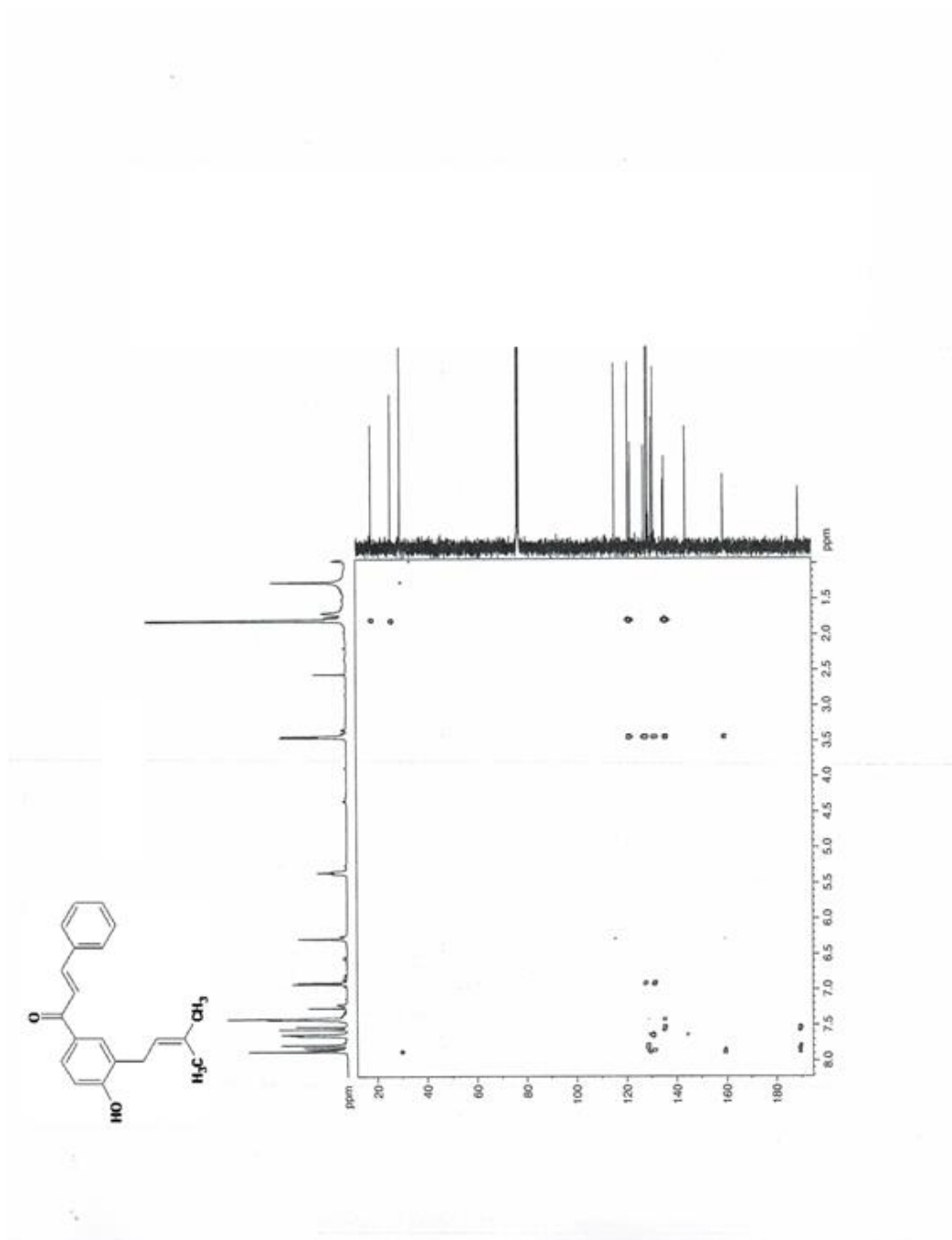


Figura 34: Espectro HMBC (27)

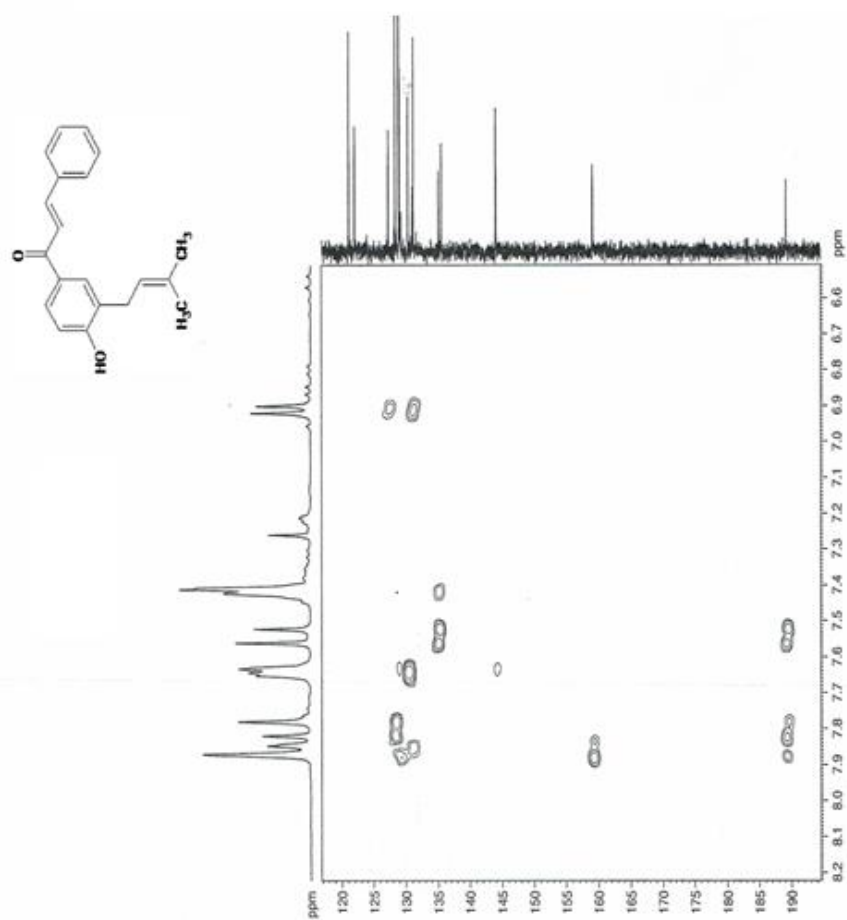


Figura 35: Espectro ampliado HMBC (27)

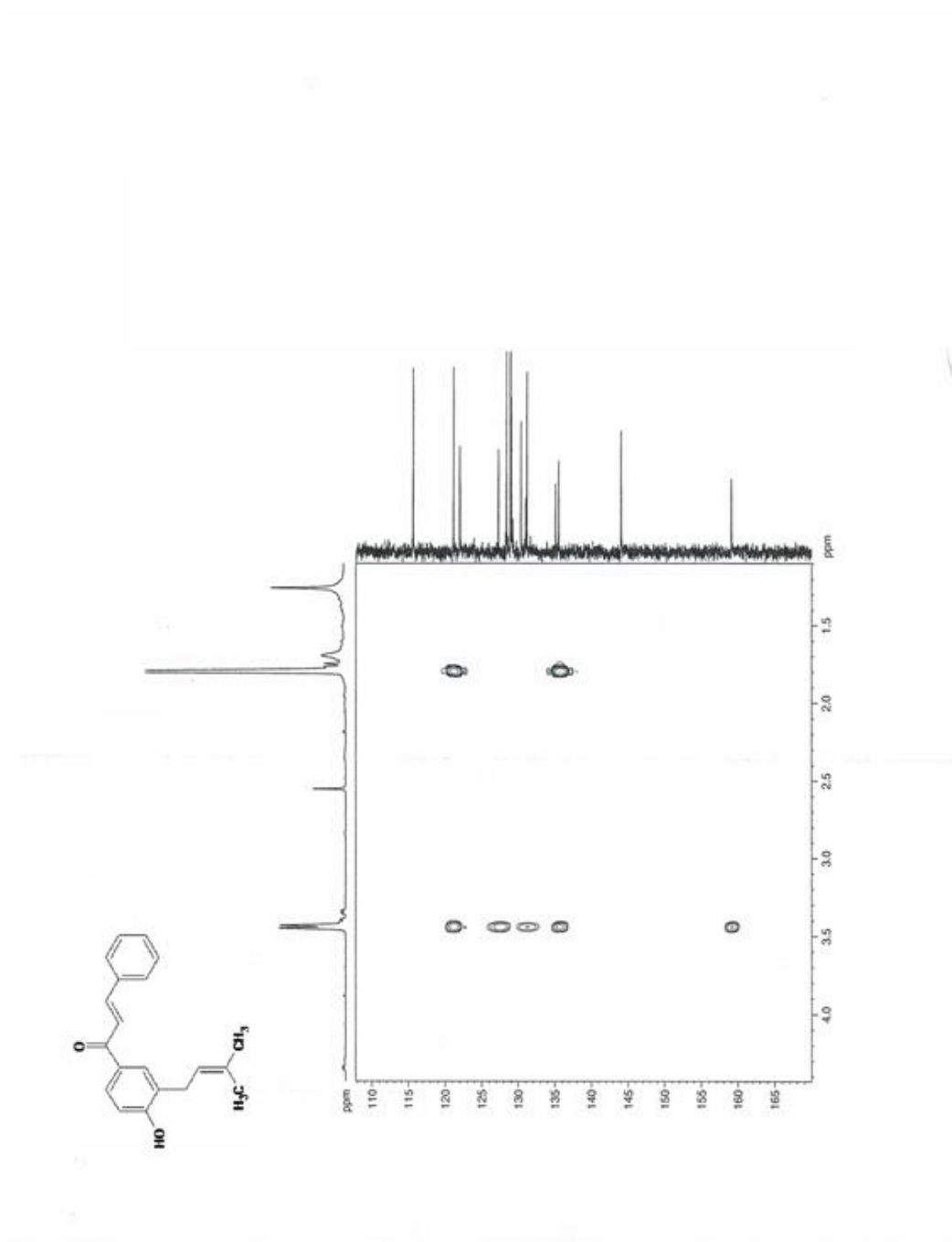


Figura 36: Espectro Ampliado HMBC



