



UNIVERSIDAD TÉCNICA
FEDERICO SANTA MARÍA



Magíster en Ciencias
Mención **Química**



Departamento
de **Química**

Universidad Técnica Federico Santa María

Programa de Magister en Ciencias, mención Química

Estudio de los efectos fitotóxicos y citotóxicos de
compuestos alil- y prenil-fenoles y sus derivados
hidratados sintéticos sobre plantas de tomate y sobre
esporas de *Botrytis cinerea* B-05

Gerard Gabriel Núñez Morales

Valparaíso, Chile
2023



Universidad Técnica Federico Santa María

Programa de Magister en Ciencias, mención Química

Estudio de los efectos fitotóxicos y citotóxicos de compuestos alil- y prenil-
fenoles y sus derivados hidratados sintéticos sobre plantas de tomate y
sobre esporas de *Botrytis cinerea* B-05

Tesis de grado presentada por
Gerard Gabriel Núñez Morales

Como requisito parcial para optar al grado de
Magister en Ciencias, mención Química,

Director(a) de Tesis
Dr. Lautaro Taborga

Codirector(a) de tesis
Dr. Luis Espinoza

Valparaíso, Chile
2023



UNIVERSIDAD TÉCNICA
FEDERICO SANTA MARÍA



Magíster en Ciencias
Mención **Química**



Departamento
de **Química**

Universidad Técnica Federico Santa María

Programa de Magister en Ciencias, mención Química

Título de la Tesis:

Estudio de los efectos fitotóxicos y citotóxicos de compuestos alil- y prenil-
fenoles y sus derivados hidratados sintéticos sobre plantas de tomate y
sobre esporas de *Botrytis cinerea* B-05

Autor:

Gerard Gabriel Núñez Morales

Trabajo de Tesis, presentado en cumplimiento parcial de los requisitos para
el Grado de Magister en Ciencias, mención Química de la Universidad
Técnica Federico Santa María,

Dra. Azucena González

.....

Dr. Pugazhenthiran Nalandhiran

.....

Dr. Mauricio Osorio

.....

Valparaíso, Chile 2023

“La mayoría de las ideas fundamentales de la ciencia son esencialmente sencillas y, por regla general pueden ser expresadas en un lenguaje comprensible para todos”. **Albert Einstein**

1 Agradecimientos

Agradezco enormemente a todas las personas que siempre han estado a mi lado brindándome incondicionalmente su apoyo y dando lo mejor de sí para que siga progresando personal y profesionalmente.

Agradezco a mi madre **Carol Morales**, por su amor, su trabajo, su confianza, sus consejos y su apoyo incondicional en esta nueva etapa académica.

Agradezco a mi profesor guía, **Dr. Lautaro Taborga**, por su paciencia, dedicación, motivación y consejos que han sido fundamental para el avance de este escrito.

Agradezco al **Dr. Luis Espinoza** por su ayuda, consejos y recomendaciones en este proceso investigativo.

Agradezco al **Sr. Carlos Jara** por su ayuda y consejos en el análisis estadístico ya que me fueron de gran ayuda para poder interpretar los datos obtenidos.

Agradezco al proyecto FONDECYT regular N° 1201097 por permitir llevar a cabo todos mis ensayos biológicos que fueron indispensables para los resultados de esta tesis.

Agradezco al **Instituto de Ciencias Agrarias**, ICA-CSIC, por permitirme realizar mi estancia de investigación durante cinco meses.

Agradezco a la **Dra. Azucena González** por abrirme las puertas de ICA-CSIC y ser un pilar fundamental en la interpretación de mis resultados biológicos.

Agradezco a todas las personas que conocí en el ICA-CSIC, quienes me acogieron amablemente y que fueron un gran aporte en mi estadía.

Agradezco a la **Universidad Técnica Federico Santa María**, al laboratorio de **Síntesis Orgánica y Productos Naturales** y al **Consejo Superior de Investigaciones Científicas**, Madrid-España.

Y, por último, agradezco a mis colegas de laboratorio, por su ayuda, su amistad y su apoyo en esta etapa final de mi etapa académica.

Resumen

Estudio de los efectos fitotóxicos y citotóxicos de compuestos alil- y prenil-fenoles y sus derivados hidratados sintéticos sobre plantas de tomate y sobre esporas de *Botrytis cinerea* B-05

Palabras Claves: síntesis, cromatografía, fitotoxicidad, citotoxicidad.

En Chile, uno de los problemas fitosanitario que limita la producción agrícola se debe al hongo fitopatógeno *Botrytis cinerea* que es causante de la enfermedad del moho gris. El empleo de fungicidas químicos para tratar a una amplia variedad de hongos patógeno ha generado una resistencia frente a estos compuestos, lo que ha motivado el estudio de compuestos de origen natural como una alternativa a los fungicidas químicos sintéticos.

En este contexto, el objetivo general de esta investigación es optimizar el rendimiento de una serie de compuestos de alil- y prenil-fenoles usando un esquema sintético vía Friedels-Crafts para la obtención de los correspondientes acoplados aromáticos como también estudiar los efectos fitotóxicos de los compuestos sintetizados de alil- y prenil-fenoles y sus derivados hidratados sintéticos en semillas y plantas de tomate empleando parámetros no destructivos estandarizados. Asimismo, las reacciones serán promovidas por irradiación de microondas como una alternativa al calentamiento tradicional.

Los compuestos **23**, **24**, **36**, **47**, **48**, **50** y **68** exhibieron excelentes resultados tanto en los % de germinación como en el crecimiento de raíces de tomate, mostrando una inocuidad aceptable. Además, todos los compuestos ensayados en la prueba de fitotoxicidad en hojas de tomate mostraron ser inocuos y no causaron daño foliar en plantas de tomate de 21 días, a excepción del compuesto **43** que fue el que causó más daño foliar, especialmente a las 48 h. Finalmente, el compuesto **31b** mostró ser el mejor candidato para realizar pruebas frente al hongo *Botrytis cinerea*, ya que presentó excelentes resultados tanto en semillas, raíces y hojas de tomate como también en los ensayos de citotoxicidad en esporas de *B. cinerea*, exhibiendo actividad citotóxica significativa en un rango de 100-800 mg/mL.

Abstract

Study of phytotoxic and cytotoxic effects of allyl- and prenyl-phenol compounds and their synthetic hydrated derivatives on tomato plants and on *Botrytis cinerea* B-05 spores.

Keywords: synthesis, chromatography, phytotoxicity, cytotoxicity.

In Chile, one of the phytosanitary problems limiting agricultural production is due to the phytopathogenic fungus *Botrytis cinerea*, which causes gray mold disease. The use of chemical fungicides to treat a wide variety of pathogenic fungi has generated resistance to these compounds, which has motivated the study of compounds of natural origin as an alternative to synthetic chemical fungicides.

In this context, the general objective of this research is to optimize the yield of a series of allyl- and prenyl-phenol compounds using a synthetic scheme via Friedels-Crafts to obtain the corresponding aromatic couplings as well as to study the phytotoxic effects of the synthesized allyl- and prenyl-phenol compounds and their synthetic hydrated derivatives on seeds and tomato plants using standardized nondestructive parameters. Also, the reactions will be promoted by microwave irradiation as an alternative to traditional heating.

Compounds **23**, **24**, **36**, **47**, **48**, **50** and **68** exhibited excellent results in both % germination and tomato root growth, showing acceptable safety. In addition, all compounds tested in the phytotoxicity test on tomato leaves showed to be innocuous and did not cause foliar damage in 21-day-old tomato plants, except for compound **43** which caused the most foliar damage, especially at 48 h. Finally, compound **31b** proved to be the best candidate for testing against the fungus *Botrytis cinerea*, since it showed excellent results on tomato seeds, roots and leaves as well as in cytotoxicity tests on *B. cinerea* spores, exhibiting significant cytotoxic activity in the range of 100-800 mg/mL.

Contenido

1	Agradecimientos	v
2	Introducción	1
3	Marco teórico.....	3
3.1	Agricultura: Conceptos Generales.....	3
3.1.1	Fungicidas Sintéticos Comerciales.....	4
3.1.2	Fungicidas de origen natural	5
3.2	Hongos Fitopatógenos: Conceptos Generales	6
3.2.1	<i>Botrytis cinerea</i>	7
3.2.2	Signos y síntomas causado por <i>Botrytis cinerea</i>	7
3.2.3	Mecanismo de propagación de la <i>Botrytis cinerea</i>	8
3.3	Defensa de las plantas y mecanismos de acción de los fungicidas.....	9
3.3.1	Defensa de las plantas.....	9
3.3.2	Mecanismo de acción de los fungicidas	10
3.4	Terpenil-fenoles: Antecedentes y hemisíntesis orgánica	11
4	Antecedentes	14
4.1	Síntesis alil- y prenil-fenoles y sus derivados sintéticos hidratados	14
4.1.1	Geranil-fenoles: Antecedentes.....	14
4.2	Concentración efectiva máxima de los compuestos sintetizado alil- y prenilfenoles	20
4.3	Ensayos de Citotoxicidad en Esporas de <i>Botrytis cinerea</i>	21
5	Planteamiento del problema	22
5.1	Hipótesis.....	22
5.2	Objetivo General	22
5.2.1	Objetivos específicos.....	23
6	Metodología	24

6.1	Sección Química	24
6.1.1	Materiales y equipos	24
6.1.2	Síntesis Orgánica	26
	Figura 7: Estructura química de los diferentes núcleos aromáticos del tipo fenol sustituido empleados en las reacciones de alilación y prenilación.....	26
6.2	Sección biológica	47
6.2.1	MATERIALES	47
6.2.2	Germinación de semillas y Crecimiento de raíces de tomate	48
6.2.3	Ensayos en hojas de tomate.....	50
7	Resultados y Discusión	51
7.1	Objetivo específico 1	51
7.1.1	Reacciones de prenilación, alilación e hidratación	51
7.1.1.1	Reacciones de prenilación: vía Friedels-Crafts.....	51
7.1.2	Acoplamiento de la cadena de alilo	58
7.1.3	Reacción de ciclación	61
7.1.4	Reacción de hidratación.....	66
7.2	Objetivo Específico 2	69
7.2.1	Germinación de semillas de tomate (<i>Solanum lycopersicum</i> L).....	69
7.2.2	Análisis estadísticos.....	69
7.2.3	Crecimiento de raíces de tomate	83
7.2.4	Análisis estadísticos.....	83
7.2.5	Fitotoxicidad en hojas de tomate.....	91
7.2.6	Análisis estadísticos.....	91
7.2.7	Resultados	91
7.2.8	Citotoxicidad en esporas de <i>B. cinerea</i>	93
7.2.9	Análisis estadísticos.....	93

8	Conclusiones.....	102
9	Abreviaturas.....	104
10	Bibliografía	106
11	Anexos.....	112

Lista de Figuras

Figura 1: Estructuras químicas de alguna fitoalexinas encontradas en la naturaleza.	10
Figura 2: Diferentes monoterpenos encontrados ampliamente en la naturaleza.	12
Figura 3: Diferentes terpenilfenoles encontrados en algunos organismos marinos.....	13
Figura 4: Estructura química del 2-geranilbenzoquinona y 2-geranilhidroquinona presentes en plantas superiores.	15
Figura 5: Estructuras químicas de diferentes alil-fenoles de origen natural con propiedades biológicas.....	16
Figura 6: Series de los compuestos de alil- y prenil-fenoles y sus derivados hidratados sintéticos. Donde (P) es prenilo, (A) es alilo, (PH) es prenilo hidratado y (AH) es alilo hidratado.	23
Figura 7: Estructura química de los diferentes núcleos aromáticos del tipo fenol sustituido empleados en las reacciones de alilación y prenilación.	26
Figura 8: (A) Análisis del espectro bidimensional de correlación heteronuclear ^1H - ^{13}C HMBC del compuesto 23 . Las fechas rojas corresponden a las señales a $^2J_{\text{HC}}$ y las flechas azules corresponden a las señales a $^3J_{\text{HC}}$. (B) Espectro 2D HMBC del compuesto 23 . Las líneas rojas corresponden a las señales a $^2J_{\text{HC}}$ y las líneas azules a las señales a $^3J_{\text{HC}}$	29
Figura 9: (A) Correlación 1D <i>NOESY</i> selectivo, la flecha de doble cara roja indica la interacción espacial entre los núcleos de hidrógenos. (B) Espectro 1D <i>NOESY</i> selectivo, la flecha roja indica la señal irradiada.....	30
Figura 10: (A) Análisis del espectro bidimensional de correlación heteronuclear ^1H - ^{13}C HMBC del compuesto 36 . Las fechas rojas corresponden a las señales a $^2J_{\text{HC}}$ y las flechas azules corresponden a las señales a $^3J_{\text{HC}}$. (B) Espectro 2D HMBC del compuesto 36	38
Figura 11: (A) Análisis del espectro bidimensional de correlación heteronuclear ^1H - ^{13}C HMBC del compuesto 45 . Las fechas rojas corresponden a las señales a $^2J_{\text{HC}}$ y las flechas azules corresponden a las señales a $^3J_{\text{HC}}$. (B) Espectro 2D HMBC del compuesto 45	40
Figura 12: Se muestran los tres compuestos de la serie de alil-fenoles estudiados en el ensayo de germinación de semillas de tomate. La cadena de alilo se encuentra acoplado al anillo aromático en posición <i>orto</i> al grupo -OH.	70
Figura 13: Porcentajes de germinación de semillas en un periodo de 7 días (168 h). En (a) % de germinación a 5,0 mg/mL; en (b) % de germinación a 2,5 mg/mL y en (c) % de germinación a 1,25	

mg/mL. Los datos fueron reportados como %G \pm ES (n = 40). La significación de las diferencias se analizó mediante una prueba de <i>Kruskal-Wallis ANOVA</i> ($p < 0,05$).	71
Figura 14: Se muestran siete compuestos de la serie de prenil-fenoles estudiados en el ensayo de germinación de semillas de tomate.	73
Figura 15: Se muestran los % de germinación de las semillas de tomate en función del tiempo (en horas). En (a) 5,0 mg/mL; en (b) 2,5 mg/mL y (c) 1,25 mg/mL. Todos los datos representan la media de cuatro repeticiones independientes y se expresaron en % de germinación \pm ES (n = 40). La significación de las diferencias se analizó mediante una prueba de <i>Kruskal-Wallis ANOVA</i> ($p < 0,05$).	74
Figura 16: Serie de prenil-fenoles ciclados estudiados en el ensayo de germinación de semillas de tomate.	77
Figura 17: Se muestran los % de germinación de las semillas de tomate en función del tiempo (en horas). En (a) 5,0 mg/mL; en (b) 2,5 mg/mL y (c) 1,25 mg/mL. Todos los datos representan la media de cuatro repeticiones independientes y se expresaron en % de germinación \pm ES (n = 40). La significación de las diferencias se analizó mediante una prueba de <i>Kruskal-Wallis ANOVA</i> ($p < 0,05$).	78
Figura 18: Estructuras químicas de los compuestos hidratados 50 y 53 de la serie de prenil-fenoles.	80
Figura 19: Se muestran los % de germinación de las semillas de tomate en función del tiempo (en horas). En (a) 5,0 mg/mL; en (b) 2,5 mg/mL y (c) 1,25 mg/mL. Todos los datos representan la media de cuatro repeticiones independientes y se expresaron en % de germinación \pm ES (n = 40). La significación de las diferencias se analizó mediante una prueba de <i>Kruskal-Wallis ANOVA</i> ($p < 0,05$).	81

Lista de tablas

Tabla 1: Actividad Antifúngica contra <i>Botrytis cinerea</i> (B-05)	20
Tabla 2: Coeficiente de correlación de <i>Spearman</i> (R) entre la concentración y el % de germinación para los compuestos de la serie de alil-fenoles.	72
Tabla 3: Coeficiente de correlación de <i>Spearman</i> (R) entre la concentración y el % de germinación de los compuestos de la serie de prenil-fenoles.....	76
Tabla 4: Coeficiente de correlación de <i>Spearman</i> (R) entre la concentración y el % de germinación de los compuestos de la serie de prenil-fenoles ciclados.....	79
Tabla 5: Pruebas de <i>U Mann Withney</i> para la comparación de dos muestras independientes.....	80
Tabla 6: Coeficiente de correlación de <i>Spearman</i> (R) entre la concentración y el % de germinación de los compuestos de la serie de prenil-fenoles ciclados.....	82
Tabla 7: Pruebas de <i>U Mann Withney</i> para la comparación de dos muestras independientes.....	83
Tabla 8: Pruebas de <i>U Mann Withney</i> para la comparación de dos muestras independientes entre los compuestos de la serie de prenil-fenoles lineales y ciclados	88
Tabla 9: Pruebas de <i>U Mann Withney</i> para la comparación de dos muestras independientes entre los compuestos de la serie de prenil-fenoles lineales e hidratados	90
Tabla 10: Valores de LC ₅₀ para los 18 compuestos aplicados en los bioensayos de citotoxicidad de esporas de <i>B. cinerea</i> . Los valores de LC ₅₀ están expresados en mg/mL.	100
Tabla 11: Promedios del número de germinación de semillas de tomate (<i>Solanum lycopersicum</i> L) en un periodo de 7 días (168 h). Los compuestos fueron aplicados a tres concentraciones: 5,0; 2,5 y 1,25 mg/mL. Los promedios fueron reportados como $G \pm DS$	147
Tabla 12: Promedios del número de germinación de semillas de tomate (<i>Solanum lycopersicum</i> L) en un periodo de 7 días (168 h). Los compuestos fueron aplicados a tres concentraciones: 5,0; 2,5 y 1,25 mg/mL. Los promedios fueron reportados como $G \pm DS$	148
Tabla 13: Promedios del número de germinación de semillas de tomate (<i>Solanum lycopersicum</i> L) en un periodo de 7 días (168 h). Los compuestos fueron aplicados a tres concentraciones: 5,0; 2,5 y 1,25 mg/mL. Los promedios fueron reportados como $G \pm DS$	150
Tabla 14: Promedios del número de germinación de semillas de tomate (<i>Solanum lycopersicum</i> L) en un periodo de 7 días (168 h). Los compuestos fueron aplicados a tres concentraciones: 5,0; 2,5 y 1,25 mg/mL. Los promedios fueron reportados como $G \pm DS$	151

Tabla 15: Promedios de las longitudes de las raíces de tomate (<i>Solanum lycopersicum</i> L) a las 168 h. Los compuestos fueron aplicados a tres concentraciones: 5,0; 2,5 y 1,25 mg/mL. Los promedios fueron reportados como $C \pm DS$	152
Tabla 16: Promedios de las longitudes de las raíces de tomate (<i>Solanum lycopersicum</i> L) a las 168 h. Los compuestos fueron aplicados a tres concentraciones: 5,0; 2,5 y 1,25 mg/mL. Los promedios fueron reportados como $C \pm DS$	152
Tabla 17: Promedios de las longitudes de las raíces de tomate (<i>Solanum lycopersicum</i> L) a las 168 h. Los compuestos fueron aplicados a tres concentraciones: 5,0; 2,5 y 1,25 mg/mL. Los promedios fueron reportados como $C \pm DS$	153
Tabla 18: Promedios de las longitudes de las raíces de tomate (<i>Solanum lycopersicum</i> L) a las 168 h. Los compuestos fueron aplicados a tres concentraciones: 5,0; 2,5 y 1,25 mg/mL. Los promedios fueron reportados como $C \pm DS$	153
Tabla 19: Promedio del Área Afectada (AA) en hojas de tomate de 21 días de crecimiento. La aplicación de los compuestos fue a 24 h y 48 h. Los promedios fueron reportados como $AA \pm DS$	154
Tabla 20: Promedios de los porcentajes de crecimiento de esporas de <i>B. cinerea</i> B-05 para la serie de prenil-fenoles. La citotoxicidad se midió a cinco concentraciones diferentes. Los datos fueron expresados en $\%C \pm DS$	155
Tabla 21: Promedios de los porcentajes de crecimiento de esporas de <i>B. cinerea</i> B-05 para la serie de alil-fenoles. La citotoxicidad se midió a cinco concentraciones diferentes. Los datos fueron expresados en $\%C \pm DS$	156
Tabla 22: Promedios de los porcentajes de crecimiento de esporas de <i>B. cinerea</i> B-05 para la serie de prenil-fenoles ciclados. La citotoxicidad se midió a cinco concentraciones diferentes. Los datos fueron expresados en $\%C \pm DS$	157
Tabla 23: Promedios de los porcentajes de crecimiento de esporas de <i>B. cinerea</i> B-05 para la serie de prenil-fenoles hidratados. La citotoxicidad se midió a cinco concentraciones diferentes. Los datos fueron expresados en $\%C \pm DS$	158

Lista de esquemas

Esquema 1: Reacción de acoplamiento directo entre el geraniol y un núcleo aromático mediante la reacción de Friedels-Crafts catalizada por $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$	15
Esquema 2: Mecanismo de reacción para la síntesis de alil-fenoles a través de una alilación de Friedels-Crafts.	17
Esquema 3: síntesis del alil-fenol mediante la síntesis de éter de Williamson seguido de un Reordenamiento de Claisen.	18
Esquema 4: estrategia sintética para la síntesis de geranil-fenoles mediante acoplamiento directo entre el geraniol y diferentes núcleos aromáticos sustituidos.	18
Esquema 5: Síntesis de dos compuestos geranil-fenoles hidratados a partir de la reacción de acoplamiento directo entre el <i>o</i> -cresol y geraniol. Se empleó $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ como catalizador en presencia de pequeñas cantidades de agua añadida y dioxano como solvente [114].	19
Esquema 6: Reducción del MTT a formazán por las enzimas oxidorreductasas celulares presentes en la mitocondria. [122].....	21
Esquema 7: Reacción de acoplamiento entre el Orcinol y prenol en presencia de un ácido de Lewis como catalizador.	52
Esquema 8: Reacción de acoplamiento entre la hidroquinona y prenol en presencia de un ácido de Lewis como catalizador.	53
Esquema 9: Reacción de acoplamiento entre el resorcinol y prenol en presencia de un ácido de Lewis como catalizador.	54
Esquema 10: Reacción de acoplamiento entre el catecol y prenol en presencia de un ácido de Lewis como catalizador.	55
Esquema 11: Reacción de acoplamiento entre el 4-metilcatecol y prenol en presencia de un ácido de Lewis como catalizador.	56
Esquema 12: Reacción de acoplamiento entre el 2-metilresorcinol y prenol en presencia de un ácido de Lewis como catalizador.	56
Esquema 13: Reacción de acoplamiento entre el metilhidroquinona y prenol en presencia de un ácido de Lewis como catalizador.	57
Esquema 14: Reacción de acoplamiento entre el hidroquinona y cloruro de alilo a través de un reordenamiento de Claisen.....	59

Esquema 15: Reacción de acoplamiento entre el floroglucinol y cloruro de alilo en presencia de un ácido de Lewis como catalizador.	60
Esquema 16: Coordinación del $ZnCl^+$ con el cloruro de alilo. El ataque ocurre por el lado opuesto al del átomo de cloro.	60
Esquema 17: Mecanismo de reacción que explica el proceso de ciclación de los compuestos de la serie de prenil-fenoles sustituidos.	61
Esquema 18: Reacción de ciclación del compuesto 23 en medio ácido empleando APTS en agua. El calentamiento se llevó a cabo a reflujo.	61
Esquema 19: Reacción de ciclación del compuesto 24 en medio ácido empleando APTS en agua. El calentamiento se llevó a cabo a reflujo.	62
Esquema 20: Reacción de ciclación del compuesto 25 en medio ácido empleando APTS en agua. El calentamiento se llevó a cabo a reflujo.	63
Esquema 21: Reacción de ciclación del compuesto 26 en medio ácido empleando APTS en agua. El calentamiento se llevó a cabo a reflujo.	64
Esquema 22: Reacción de ciclación del compuesto 27 en medio ácido empleando APTS en agua. El calentamiento se llevó a cabo a reflujo.	65
Esquema 23: Reacción de ciclación del compuesto 32 en medio ácido empleando APTS en agua. El calentamiento se llevó a cabo a reflujo.	66
Esquema 24: Mecanismo de reacción que explica el proceso de hidratación de los compuestos de la serie de prenil-fenoles sustituidos.	66
Esquema 25: Reacción de hidratación del compuesto 28 en medio ácido empleando APTS en agua. El calentamiento se llevó a cabo a reflujo.....	67
Esquema 26: Reacción de hidratación del compuesto 31 en medio ácido empleando APTS en agua. El calentamiento se llevó a cabo a reflujo.....	68

Lista de anexos

Anexo 1: RMN de ^1H , RMN de ^{13}C y Dept-135, respectivamente. (Compuesto 23)	112
Anexo 2: HSQC y HMBC, respectivamente. (Compuesto 23)	113
Anexo 3: NOESY 1D selectivo (Compuesto 23)	114
Anexo 4: RMN de ^1H , RMN de ^{13}C y Dept-135, respectivamente. (Compuesto 24)	115
Anexo 5: HSQC y HMBC, respectivamente. (Compuesto 24)	116
Anexo 6: RMN de ^1H , RMN de ^{13}C y Dept-135, respectivamente. (Compuesto 27)	117
Anexo 7: HSQC y HMBC, respectivamente. (Compuesto 27)	118
Anexo 8: RMN de ^1H , RMN de ^{13}C y Dept-135, respectivamente. (Compuesto 28b)	119
Anexo 9: HSQC y HMBC, respectivamente. (Compuesto 28b)	120
Anexo 10: RMN de ^1H , RMN de ^{13}C y Dept-135, respectivamente. (Compuesto 31b)	121
Anexo 11: HSQC y HMBC, respectivamente. (Compuesto 31b)	122
Anexo 12: RMN de ^1H , RMN de ^{13}C y Dept-135, respectivamente. (Compuesto 32)	123
Anexo 13: HSQC y HMBC, respectivamente. (Compuesto 32)	124
Anexo 14: RMN de ^1H , RMN de ^{13}C y Dept-135, respectivamente. (Compuesto 33)	125
Anexo 15: HSQC y HMBC, respectivamente. (Compuesto 33)	126
Anexo 16: RMN de ^1H , RMN de ^{13}C y Dept-135, respectivamente. (Compuesto 36)	127
Anexo 17: HSQC y HMBC, respectivamente. (Compuesto 36)	128
Anexo 18: RMN de ^1H , RMN de ^{13}C y Dept-135, respectivamente. (Compuesto 43)	129
Anexo 19: HSQC y HMBC, respectivamente. (Compuesto 43)	130
Anexo 20: RMN de ^1H , RMN de ^{13}C y Dept-135, respectivamente. (Compuesto 45)	131
Anexo 21: HSQC y HMBC, respectivamente. (Compuesto 45)	132
Anexo 22: RMN de ^1H , RMN de ^{13}C y Dept-135, respectivamente. (Compuesto 46)	133
Anexo 23: HSQC y HMBC, respectivamente. (Compuesto 46)	134
Anexo 24: RMN de ^1H , RMN de ^{13}C y Dept-135, respectivamente. (Compuesto 47)	135
Anexo 25: HSQC y HMBC, respectivamente. (Compuesto 47)	136
Anexo 26: RMN de ^1H , RMN de ^{13}C y Dept-135, respectivamente. (Compuesto 48)	137
Anexo 27: HSQC y HMBC, respectivamente. (Compuesto 48)	138
Anexo 28: RMN de ^1H , RMN de ^{13}C y Dept-135, respectivamente. (Compuesto 49)	139
Anexo 29: HSQC y HMBC, respectivamente. (Compuesto 49)	140
Anexo 30: RMN de ^1H , RMN de ^{13}C y Dept-135, respectivamente. (Compuesto 50)	141

Anexo 31: HSQC y HMBC, respectivamente. (Compuesto 50)	142
Anexo 32: RMN de ^1H , RMN de ^{13}C y Dept-135, respectivamente. (Compuesto 53)	143
Anexo 33: HSQC y HMBC, respectivamente. (Compuesto 53)	144
Anexo 34: RMN de ^1H , RMN de ^{13}C y Dept-135, respectivamente. (Compuesto 54)	145
Anexo 35: HSQC y HMBC, respectivamente. (Compuesto 54)	146
Anexo 36: Datos de germinación de semillas para los compuestos de la serie de alil-fenoles.....	147
Anexo 37: Datos de germinación de semillas para los compuestos de la serie de prenil-fenoles.	149
Anexo 38: Datos de germinación de semillas para los compuestos de la serie de alil-fenoles ciclados	150
Anexo 39: Datos de germinación de semillas para los compuestos de la serie de alil-fenoles hidratados	151
Anexo 40: Datos de crecimientos de raíces de tomate para los compuestos de la serie de alil- y prenil-fenoles, respectivamente	152
Anexo 41: Datos de crecimientos de raíces de tomate para los compuestos de la serie de alil- y prenil-fenoles ciclados e hidratados, respectivamente	153
Anexo 42: Datos de crecimientos de raíces de tomate para los compuestos de la serie de alil- y prenil-fenoles ciclados e hidratados, respectivamente	154
Anexo 43: Promedios de los porcentajes de crecimiento de esporas de B. cinerea B-05 para la serie de prenil-fenoles	155
Anexo 44: Promedios de los porcentajes de crecimiento de esporas de B. cinerea B-05 para la serie de alil-fenoles	156
Anexo 45: Promedios de los porcentajes de crecimiento de esporas de B. cinerea B-05 para la serie de prenil-fenoles ciclados.	158
Anexo 46: Promedios de los porcentajes de crecimiento de esporas de B. cinerea B-05 para la serie de prenil-fenoles hidratados.	159

2 Introducción

En Chile, la agricultura se ha mantenido en un constante proceso de modernización y progreso desde la década de 1980, posicionándose en importantes mercados internacionales. En primer trimestre del año 2022, el Producto Interno Bruto (PIB) creció un 7,2% respecto de igual periodo del año anterior [1], donde la fruticultura durante el periodo enero-mayo 2022, registró un aumento en volumen de 10%, lo que equivale a USD 3.657 millones en ventas de frutas frescas [1, 2]. Chile se ubica en el lugar 21° entre los principales productores de tomates del mundo, que según las estadísticas del Instituto Nacional de Estadística de Chile (INE), representó el 14% de la superficie hortícola nacional para el año 2020 [3].

Por otra parte, el hongo *Botrytis cinerea* junto con otras especies de *Botrytis* son patógenos que afectan los cultivos de hortalizas, plantas ornamentales y frutales, así como también de los productos agrícola almacenados y transportados. Esta característica de la *Botrytis* de adaptarse a distintos ambientes y estados de la planta ha llevado a invertir en esfuerzos considerables para proteger este tipo de productos antes como después de la cosecha, donde se estima que el mercado anti-*Botrytis* en el mundo ha sido de 15 a 25 millones de dólares para el año 2014 [4]

El uso de fungicidas modernos ha contribuido en gran medida a aumentar la producción de alimentos mediante la protección de los cultivos contra las enfermedades fúngicas [5]. Sin embargo, este tipo de manejo se ve a menudo amenazada por la aparición de cepas resistentes a los plaguicidas. La especie de *B. cinerea* tiene una alta variabilidad genética, lo que genera un alto riesgo de resistencia a los fungicidas, en especial a aquellos que son de acción específica [6]. Por lo tanto, el control químico de enfermedades causadas por este hongo está en peligro debido a la aparición de la resistencia a muchos agentes boticidas y las percepciones públicas negativas sobre la seguridad de los plaguicidas, con lo cual se ha ido encaminando hacia una fuerte tendencia mundial para el desarrollo sostenible y el uso de sustancias que seas respetuosas y amigables con el medio ambiente [7].

Esta tesis se enfocará en la síntesis selectiva de compuestos del tipo terpenil-fenoles empleando la reacción de Friedels-Crafts y el Reordenamiento de Claisen para acoplar directamente una cadena de terpenilo en diferentes anillos aromáticos, ambas estrategias sintéticas serán promovidas por irradiación de microondas. Los compuestos de las series de alil- y prenil-fenoles junto con sus respectivos compuestos hidratados han demostrado una buena respuesta en la actividad

antifúngica contra *B. cinerea*; sin embargo, no hay estudios precedentes que aseguren que dichos compuestos sean inocuos frente a cultivos de importancia comercial sin causar efectos fitotóxicos adversos.

El objetivo general consiste, en una primera etapa, sintetizar las diferentes series de los compuestos de alil- y prenil-fenoles junto con sus derivados hidratados mediante reacciones de alilación/prenilación vía Friedels-Crafts y Reordenamiento de Claisen, empleando diferentes núcleos aromáticos y, una segunda etapa, donde se evaluará los efectos fitotóxicos y citotóxicos de los compuestos objetivos en plantas de tomate y en esporas de *B. cinerea* B-05.

3 Marco teórico

En este apartado se describe el rol y la importancia que tiene la agricultura en estos últimos años, en particular en Chile, donde uno de los principales obstáculos ha sido la pérdida del rendimiento agrícola causada por cientos o miles de especies de microorganismos fitopatógenos que afectan directa e indirectamente a la agricultura, lo que ha llevado a un intenso estudio de estos microorganismos con el fin de combatirlos, minimizando las pérdidas y maximizando el rendimiento. Con este contexto, el sector agrícola ha estado invirtiendo en la síntesis de diferentes fungicidas químicos; sin embargo, debido a su uso desmesurado, han provocado un aumento de la resistencia en los patógenos. En consecuencia, se ha creado una nueva línea de fungicidas de origen natural, específicamente a partir de los metabolitos secundarios de diferentes plantas y organismos marinos que han presentado interesantes propiedades biológicas, lo que ha impulsado y motivado una ingente cantidad de estudios en la aplicación de diversas moléculas naturales contra un amplio rango de hongos fitopatógenos en especial contra *B. cinerea*, que ha causado pérdidas de millones de dólares anualmente.

3.1 Agricultura: Conceptos Generales

En Chile, la agricultura ha mantenido un constante proceso de modernización y progreso desde la década de 1980, que se ha ido sosteniendo en una exitosa diversificación de nuestra agricultura, además de un mayor posicionamiento de sus productos en los mercados internacionales, lo que ha obligado a los empresarios y productores agrícolas a obtener productos de alta calidad y aumentar la competitividad [8].

En el primer trimestre del año 2022, el Producto Interno Bruto (PIB) creció un 7,2% respecto de igual periodo del año anterior [1], donde la fruticultura durante el periodo enero-mayo 2022, registró un aumento en volumen de 10%, lo que equivale a USD 3.657 millones en ventas de frutas frescas [2]. Los cultivos más importantes a nivel nacional continúan siendo el trigo, avena, maíz y arroz, que en su conjunto representan el 75% de la superficie total sembrada, mientras que, dentro de las hortalizas, las especies más cultivadas para el consumo fresco destacan la lechuga, cebolla de guarda, tomate, zapallo y zanahoria, siendo las especies más importantes para el consumo fresco el maíz choclero, la lechuga y el tomate [8, 9].

El tomate, con una superficie mundial de 5 millones de hectáreas cosechadas para el 2019, es una de las hortalizas más importante cultivadas en el mundo, superada solo por la superficie de cebolla [3]. Chile se ubica en el lugar 21° entre los principales productores de tomates del mundo y, de acuerdo con las estadísticas del Instituto Nacional de Estadísticas de Chile (INE) representó el 14% de la superficie hortícola nacional para el año 2020, lo que lo ubica como la especie hortícola más cultivada en el país, con poco más de 13 mil hectáreas para el año 2020 [3, 9].

El principal obstáculo en el sector agrícola ha sido la pérdida del rendimiento causada por insectos [10, 11], plantas-malezas [11, 12] y fitopatógenos [13]. Esto ha llevado a invertir de 15 a 25 millones de dólares en productos anti-*Botrytis* que permitan proteger a los productos agrícolas [4].

3.1.1 Fungicidas Sintéticos Comerciales

El uso de agentes químicos ha permitido contener a las diferentes plagas que afectan a un amplio espectro de plantas, dando inicio, hace más de un siglo, a la primera generación de fungicidas, caracterizados por utilizar químicos inorgánicos como el cobre y el azufre [14]. El primer fungicida preparado por el hombre fue la mezcla de Burdeos, que consistía en una disolución de sulfato de cobre II neutralizada con cal hidratada, que se empleó ampliamente a partir de 1885 [15]. A principios del siglo XX, se desarrolló el tratamiento de semillas con mercurio orgánico como el acetato de fenilmercurio (alquil) [16], seguido del desarrollo de los primeros fungicidas de ditiocarbamato [17]. En la década de 1930 fue el turno de los organoestaños, esta segunda generación de fungicidas incluye químicos que actúan como superficies protectoras. En el último tiempo, se han ido desarrollando distintos fungicidas sistémicos con diferentes mecanismos de acción para mitigar los efectos negativos de los distintos fitopatógenos y entre los cuales podemos encontrar los siguientes fungicidas: *fludioxonil* perteneciente al grupo de fenilpirroles (interfieren en la transducción de señal osmótica) [18], *ciprodinil* y *pirimetanil* pertenecientes al grupo de anilopiridinas (inhiben la síntesis del aminoácido metionina) [19, 20], *tiabendazole* perteneciente al grupo de benzimidazoles (inhiben el ensamblaje de la β -tubulina afectando la división celular) [21], *captan* perteneciente al grupo de las phtalamidas (inhiben múltiples sitios) [22], *fenhexamida* perteneciente al grupo de hidroxianilidas (inhibe la ketoreductasa en síntesis de la membrana) [23] e *iprodione* perteneciente al grupo de las dicarboximidias (interfieren en la transducción de la señal osmótica) [24].

El uso de fungicidas modernos ha contribuido en gran medida a aumentar la producción de alimentos mediante la protección de los cultivos contra las enfermedades fúngicas. Sin embargo,

este tipo de producción se ve a menudo amenazada por la aparición de cepas resistentes a los plaguicidas [5]; en este contexto, se ha ido encaminando hacia una fuerte tendencia mundial para el desarrollo sostenible y el uso de sustancias que sean respetuosas y amigables con el medio ambiente [7].

3.1.2 Fungicidas de origen natural

Los biofungicidas pertenecen a la nueva generación de la denominada Agricultura Ecológica, la cual promueve la obtención de alimentos sanos y libres de residuos tóxicos [25]. Estos presentan grandes ventajas comparativas frente a los fungicidas sintéticos o químicos: son biodegradables, fáciles de usar y presentan un bajo nivel de toxicidad [25]. Por lo tanto, los biofungicidas se han ido posicionando como una alternativa viable, eficiente y opcional al control químico de plagas [26]. En 1935, ya se conocía el potencial de los hongos para controlar insectos [27, 28] y no fue sino hasta 1980 que esta práctica adquiere una mayor relevancia, por la preocupación de la preservación del ambiente y la inocuidad alimentaria [25]. En un contexto más amplio, el uso de organismos vivos tales como hongos [29], plantas [30, 31], algas [32], etc., han llevado al estudio e identificación de diferentes compuestos que presenten alguna propiedad fungicida frente a los diferentes fitopatógenos que afectan a cientos de cultivos a nivel mundial [25].

Por otra parte, las plantas se han considerado como una opción sustentable frente a patógenos y una fuente importante de diversidad debido a la gran cantidad de compuestos que se sintetizan en el metabolismo secundario [33]; donde se han reportado más de 100.000 metabolitos secundarios de los cuales muchos han demostrado tener efectos biológicos como propiedades fungicidas y bactericidas [34]. Los metabolitos secundarios, son compuestos derivados de las rutas de biosíntesis del metabolismo secundario del carbono en las plantas, que aparecen en el citoplasma de la mayoría de las células vegetales [35]. Estos compuestos juegan un rol ecológico importante ya que, muchos de los compuestos, participan en la comunicación, reproducción y entre otros como mecanismo de defensa contra herbívoros, virus, bacterias y hongos [36].

Los terpenil-fenoles son metabolitos secundarios que se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza. Dentro de este grupo podemos encontrar a los alil- y prenil-fenoles presentes en organismos marinos como los tunicados [37, 38], *Aplydium sp* y *Phacelia crenulata* [37, 38] y *Pyrola japónica* [39]. Este subgrupo ha presentado una amplia variedad de actividades biológicas, incluyendo actividad antiinflamatoria, antifúngica, anti-VIH, anti-Alzheimer y, más recientemente, propiedades antineoplásicas [40]. Con base a lo descrito previamente, los compuestos de las series

de alil- y prenil-fenoles se han convertido en el objetivo de esta tesis, ya que presentan actividades biológicas contra el hongo *B. cinerea* [41].

3.2 Hongos Fitopatógenos: Conceptos Generales

Las enfermedades en las plantas constituyen una de las principales limitantes en los cultivos agrícolas, causando pérdidas de hasta un 20% de rendimiento a escala mundial y una pérdida adicional post-cosecha del 10% [42]. En la actualidad, se han reportado decenas de enfermedades que afectan a las plantas cultivadas y, en promedio, cada tipo de cultivo puede ser afectado por un centenar o más enfermedades [43]. Para facilitar el estudio de las enfermedades de las plantas, es necesario agruparlas de forma ordenada:

- Según los síntomas que ocasionan, como pudrición de la raíz, canchales, marchitamiento, manchas foliares, sarna, tizones, amarillamiento, manchas anulares, entre otros.
- Según el tipo de planta afectada como lo son las hortalizas, los árboles frutales, del bosque, del césped, de las plantas ornamentales, entre otros.

Sin embargo, el criterio más útil en la clasificación de una enfermedad es el tipo de agente patógeno que la ocasiona [43]. A partir de entonces, se ha determinado una ingente cantidad de enfermedades infecciosas ocasionadas por distintos microorganismos:

- Enfermedades ocasionadas por hongos
- Enfermedades ocasionadas por procariontes (bacterias y micoplasmas)
- Enfermedades ocasionadas por plantas superiores parásitas
- Enfermedades ocasionadas por virus y viroides
- Enfermedades ocasionadas por nemátodos
- Enfermedades ocasionadas por protozoarios

Además, se estima que existen alrededor de 1.500.000 especies de hongos, de las cuales unas 8.000 especies serían fitopatógenos y causarían aproximadamente 80.000 enfermedades [44]. Dentro de los hongos fitopatógenos podemos encontrar distintas clases de hongos que se diferencian en su forma de obtener sus nutrientes y de desarrollarse. Los hongos saprofitos obligados son aquellos que viven sólo de la materia orgánica muerta o en descomposición; los hongos saprofitos facultativos, son aquellos que permanecen la mayor parte del tiempo como parásitos; los hongos

biótrofos facultativos, se caracterizan porque transcurren la mayor parte de su vida sobre la materia orgánica muerta o en descomposición y, finalmente, los hongos biótrofos obligados son los que necesitan de un huésped vivo para desarrollarse [44].

3.2.1 *Botrytis cinerea*

El género *Botrytis*, erigido originalmente por Micheli en 1729 [45], se ha convertido en un distinguido grupo de hongos que causan enfermedades en las plantas de importancia económica. La especie más importante y reconocida de este género es *Botrytis cinerea* [46] pertenece a la clase *Ascomycetes filamentosos*, del orden de las hifas [47]. Su nombre en griego significa “racimo de uvas” [46]. Este hongo infecta una gran variedad de especies de plantas en una amplia gama de condiciones y áreas geográficas, ya sea en campo abierto o en invernadero [48]. Además, *B. cinerea* es capaz de arruinar los productos agrícolas después de la cosecha, ya que puede sobrevivir a temperaturas muy bajas [48]. En Chile se ha descrito como un patógeno que afecta a muchos cultivos anuales y perennes [49]. *B. cinerea* es un fitopatógeno que se caracteriza por invadir tejidos vegetales directamente a través de heridas y órganos o muertos senescentes; sin embargo, se ha informado de casos de invasión de tejidos jóvenes [48]. Este fitopatógeno se caracteriza por causar lesiones necróticas [48]. Durante epidemias severas puede destruir todo el follaje. Los tallos de las plantas pueden infectarse por invasión del hongo a través del pecíolo o por infección directa de heridas después de podar y cosechar. Las infecciones en los tallos pueden rodear el tronco y matar a toda la planta, siendo la principal razón para terminar con un cultivo antes de lo previsto [48]. Por otra parte, se puede desarrollar en restos florales senescentes y permanecer adheridos al fruto durante la cosecha y el almacenamiento de los frutos en postcosecha [50]. Esta infección es un grave problema económico en cultivos de uvas de mesa, fresas, frambuesas, lechugas, pepinos, frijoles, tomates, flores y viveros forestales [48, 51]. En Chile este hongo ha sido reportado como hospedero en más de 60 diferentes plantas cultivadas de disímiles categorías taxonómicas [52, 53].

3.2.2 Signos y síntomas causado por *Botrytis cinerea*

Estudios anteriores, exponen que la manifestación del moho gris está dada en función de la parte de la planta afectada, así como del estado fisiológico de los tejidos [54]. En este sentido, de acuerdo con la parte de la planta afectada, los síntomas pueden ser:

- Hojas: pueden ser infectadas y no mostrar sintomatología aparente (causado por la latencia del hongo); sin embargo, durante la maduración de las hojas infectadas, es decir, al inicio

de la senescencia, se produce una cubierta gris aterciopelada causada por la actividad del hongo [55].

- Flores y fruto: los pétalos con sintomatología se vuelven de color café en los sépalos y el receptáculo. Además, la proliferación del hongo sobre la flor causará la muerte del pedículo, ocasionando la muerte tanto de la flor como del fruto no maduro [56]. Sin embargo, el hongo no consigue colonizar los tejidos internos de la flor, pero apenas comience la etapa de crecimiento del fruto, el patógeno se activa y genera la pudrición, presentándose una coloración café [57].
- Tallo: pueden ser infectado a través de cortes y heridas durante las podas de limpieza. Durante la infección por *B. cinerea*, se observan la aparición de manchas foliares pardas y/o atizamiento de tallos. En plántulas de almácigo, las manchas se extienden rápidamente por el tallo y hojas causando su pudrición [58].

3.2.3 Mecanismo de propagación de la *Botrytis cinerea*

B. cinerea puede existir en diferentes ambientes y condiciones como también en distintas fases de su propio ciclo biológico: micelio, micro y macro conidias, clamidosporas, esclerocios, apotecios y ascosporas. Las conidias de *B. cinerea* (estructuras reproductivas asexuales) son estructuras unicelulares, hialinas, ligeramente coloreadas, de borde lisos y de formas ovoides a elipsoides, que generalmente miden entre 6 – 102 x 7,5 – 14 μm [50]. Las conidias se forman desde conidióforos que son erectos (aéreos), libres y ramificados, produciendo las conidias tipo racimos [50, 52]. Las conidias son transportadas principalmente por el viento, escurrimiento de productos de precipitaciones [57] o por diversos insectos que pueden actuar como vectores de dispersión tales como la mosca del vinagre (*Drosophila melanogaster*) [59], polilla del racimo (*Lobesia botrana*) [60] y mosca de la fruta (*Ceratitis capitata*) [61]. La germinación de las conidias está influenciada por la presencia de agua libre o alta humedad relativa [53]. La formación del tubo germinativo comienza tras 1-3 horas después de la infección y da lugar a apresorios simples y/o compuestos a las 6 horas post-infección [62]. Existe un amplio rango de condiciones de temperatura y humedad para el desarrollo de la infección por *B. cinerea*, siendo la temperatura óptima entre 15-20 °C y humedad relativa sobre el 90%, por al menos 4 horas, las que favorecen mayormente el desarrollo del hongo [53]. Las infecciones se pueden desarrollar incluso durante el almacenamiento a 0 °C, mostrando la capacidad de *B. cinerea* de crecer a bajas temperaturas [48, 50]. La sobrevivencia de *B. cinerea* es primordialmente por esclerocios y también como micelios asociados a restos de frutos enfermos

que quedan en el suelo o en plantas [52]. *B. cinerea* no sólo afecta a las hortalizas, sino que también se ha informado que afecta a las plantaciones forestales, siendo *Pinus radiata* y *Eucalyptus globulus*, donde esta última es la especie más susceptible en los viveros forestales chilenos [51]. En este contexto, los problemas causados por *B. cinerea* se observaron en la mayoría de los viveros forestales del hemisferio sur con diferentes niveles de incidencia y severidad, provocando pérdidas, en algunos casos superiores al 50% [51].

3.3 Defensa de las plantas y mecanismos de acción de los fungicidas

3.3.1 Defensa de las plantas

Las plantas pueden poseer mecanismos constitutivos de defensa que proveen, de forma pasiva, resistencia contra patógenos. Estos mecanismos de resistencia constitutiva o preformada se pueden dividir en mecanismos de defensa: estructurales constitutivos y químicos constitutivos. El primer mecanismo de defensa se caracteriza por la presencia de capas gruesas de cutícula, presencia de tricomas, deposición de ceras, entre otros; en cambio, el segundo mecanismo de defensa se caracteriza por la acumulación de compuestos tóxicos en las células vegetales [63]. Otro mecanismo de defensa son los denominados mecanismos inducidos de defensa que se activan solamente como una respuesta al ataque de un patógeno. La resistencia inducida es un mecanismo activo que involucra cambios en el metabolismo provocados por la expresión diferencial de genes [63]. Por lo tanto, para que ocurra la inducción de la defensa, es necesario la mediación de sistemas de reconocimiento específico, mediante los cuales la planta reconoce la presencia del patógeno [63, 64]. Con base a lo descrito anteriormente, la activación de la defensa en plantas supone la existencia de mecanismos de reconocimiento mediante los cuales la planta determina la presencia del patógeno; por ejemplo, los polímeros de azúcar que conforman la pared celular tanto de hongos como de las células vegetales han sido reconocido desde hace varios años como agentes capaces de inducir la expresión de genes de defensa en plantas [63].

Una vez que el patógeno ha sido reconocido se activan una serie de mecanismos de defensa mediante cascadas de señales. Estos mecanismos de defensa, que son inducidos como consecuencia del reconocimiento, son los responsables de la resistencia. Estos mecanismos incluyen principalmente la muerte celular por reacción hipersensible, la acumulación de metabolitos secundarios con actividad antifúngica, la acumulación de enzimas hidrolíticas y la deposición de sustancias de refuerzo que evitan el avance del fitopatógeno [63, 65].

Algunos de los cambios bioquímicos que ocurren en las plantas después de una infección se han asociado con la producción de sustancias llamadas fitoalexinas [66]. Los primeros reportes sobre la presencia de estos metabolitos fueron descritos por Muller y Borger en 1995 [67], quienes mostraron evidencias de la resistencia de las plantas a enfermedades al observar la resistencia de la papa al hongo *Phytophthora infestans* causada por la producción de compuestos fungitóxicos por la planta hospedera. Las fitoalexinas se sintetizan en las células sanas adyacentes a las células dañadas y se acumulan tanto en tejidos necróticos resistentes como susceptibles. La resistencia ocurre cuando una o más fitoalexinas alcanzan una concentración suficiente para inhibir el desarrollo del patógeno [43]. Antes de una infección, las fitoalexinas se encuentran en una concentración casi detectable; sin embargo, después de una infección son sintetizadas rápidamente, casi en horas después del ataque del patógeno y son tóxicas para un amplio espectro de hongos y bacterias patógenas [68].

La **Figura 1** muestra las estructuras de algunas fitoalexinas como la pisantina (1) aislada de chícharo (*Pisum sativum*), faseolina (2) aislada del frijol (*Phaseolus vulgaris*), gliceolina I (3) aislada de la soya (*Glycine max*), risitina (4) aislada del tomate (*Lycopersicon esculentum*) y la ipomeamarona (5) aislada de la papa dulce (*Ipomoea batatas*) [66].

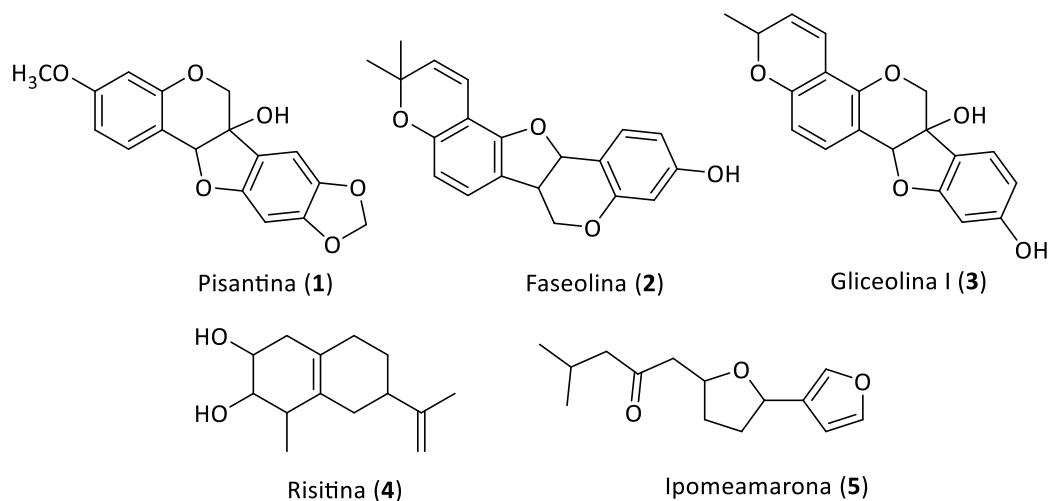


Figura 1: Estructuras químicas de alguna fitoalexinas encontradas en la naturaleza.

3.3.2 Mecanismo de acción de los fungicidas

Roger *et al.*, definieron que los biofungicidas es el nombre general que se les da a los microorganismos (plaguicidas microbianos) y a los compuestos naturales que poseen la capacidad de controlar las enfermedades de las plantas (plaguicidas bioquímicos) [69]. En el mercado,

encontramos productos químicos que controlan las enfermedades mediante los efectos que producen en las plantas afectada. De esta manera, los fungicidas pueden activar ciertos mecanismos de defensa que existen en las plantas afectadas, estimulando la producción de sustancias fungitóxicas como también alteraciones físicas de la planta tales como el cierre de estomas, alteración de la anatomía vascular y formación de tilosas [70]. Además, teniendo en cuenta la interacción de la planta tratada con los fungicidas, los podríamos agrupar en: fungicidas protectantes o de contacto y fungicidas sistémicos. Los primeros fungicidas se caracterizan por presentar un mecanismo de acción múltiple, afectando al mismo tiempo una variada gama de funciones celulares, mientras que los fungicidas sistémicos actúan, generalmente, un solo sitio de la estructura o fisiología del patógeno [70]. Sin embargo, aunque varios de los mecanismos de acción son desconocido o se están investigando, se pueden agrupar cuatro tipos básicos de cómo los fungicidas ejercen su acción:

- Inhibición del metabolismo energético: Este grupo de fungicidas está asociado a procesos como la respiración celular. Pueden afectar al ciclo de Krebs en una o varias de sus etapas, impidiendo la producción de ATP, afectando el metabolismo de la glucosa e impidiendo la oxidación de ácidos grasos y aminoácidos [70].
- Interferencia con la biosíntesis: Este grupo de fungicidas intervienen en la producción de nuevos materiales celulares de crecimiento o mantenimiento del organismo como por ejemplo la interferencia con la síntesis de aminoácidos y proteínas [70].
- Interferencia con la estructura celular: Este grupo de fungicidas intervienen en la síntesis de la pared celular de los hongos. Pueden afectar la síntesis de la pared celular afectando la formación de glucolípidos como también la fijación de C-glucosamina a la quitina dentro de las paredes celulares [70].
- Actividad multisitio: Este grupo de compuestos presentan un amplio espectro de actividades y de minimizar el riesgo a resistencias [70].

3.4 Terpenil-fenoles: Antecedentes y hemisíntesis orgánica

Los terpenos o isoprenoides son un amplio grupo de compuestos que se caracterizan por estar formados por la unión de unidades pentacarbonadas ramificadas que están directamente relacionadas con el isopreno (2-metil-1,3-butadieno) [71] y son el principal constituyente de los aceites esenciales de algunas plantas y flores [71]. Según el número de unidades pentacarbonadas

(C₅), los terpenos se pueden clasificar en hemiterpenos, monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos, sesterterpenos, triterpenos y tetraterpenos [72]. El grupo de los monoterpenos se caracteriza por la unión de dos unidades de isopreno y por ser los componentes de las esencias volátiles de las flores y como parte de los aceites esenciales de algunas plantas. Algunos de los monoterpenos más importantes son el pineno (**6**) presente en los pinos [73], el mirceno (**7**) presente en el lúpulo [74], el limoneno (**8**) presente en los cítricos [75], el linalol (**9**) presente en la lavanda [76] y el geraniol (**10**) presente en las rosas [77]. Estos compuestos derivan de la ruta biogénica del ácido mevalónico, el cual, mediante una serie de reacciones orgánicas clásicas catalizadas por enzimas, da lugar a los precursores de los principales tipos de terpenos [71]. En la naturaleza, participan en casi todas las interacciones entre plantas-animales, plantas-plantas y plantas-microorganismos, actuando como fitoalexinas, antialimentarios de insectos o agentes de defensa [72].

La **Figura 2** muestran algunos de los diferentes monoterpenos encontrados en la naturaleza, todas estas estructuras tienen en común la unidad básica de isopreno. Estos terpenos se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza como parte de metabolitos secundarios de plantas.

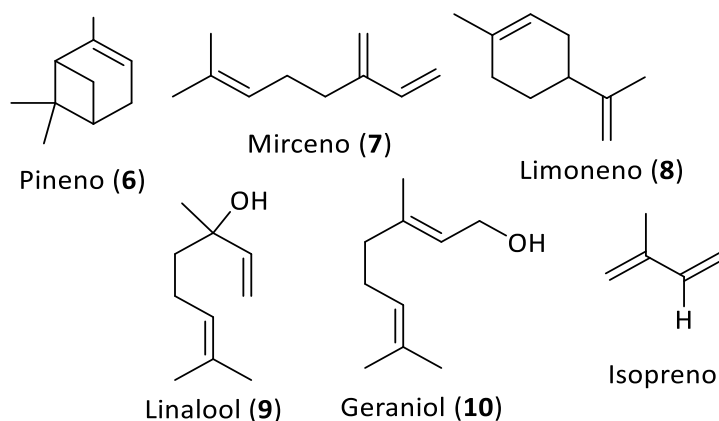


Figura 2: Diferentes monoterpenos encontrados ampliamente en la naturaleza.

Aunque la inmensa mayoría de los terpenos son compuestos específicos del reino vegetal (metabolitos secundarios) también se pueden encontrar en los animales, como por ejemplo los diterpenos del tipo geraniolfenoles presentes en organismos marinos. Un caso particular es los terpenilfenoles que contienen un núcleo aromático asociado a un grupo terpenilo como sustituyente. Por ejemplo, el compuesto farnesilhidroquinona (**11**) se ha encontrado en la especie *Leminda millercra* [78], mientras que los compuestos **12** y **13** fueron obtenidos desde la esponja marina *Thorecta choacnoides*. Estos compuestos han exhibido actividad antioxidante, antimalárica y citotóxicas [79] (véase **Figura 3**)

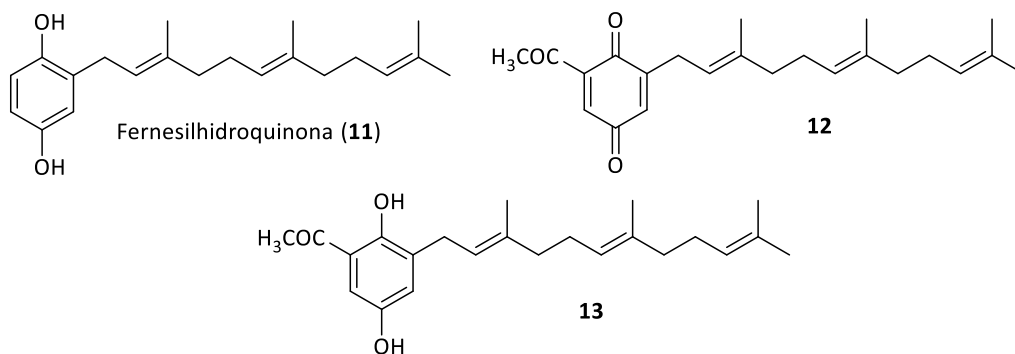


Figura 3: Diferentes terpenilfenoles encontrados en algunos organismos marinos.

Debido a las actividades biológicas reportadas y su bajo rendimiento de obtención desde fuentes naturales, se han desarrollado diversos esfuerzos para obtener este tipo de compuestos. En general, la síntesis consiste en acoplamiento de núcleos aromáticos con distintos terpenos. Una de las primeras rutas sintéticas reportadas para acoplar una cadena de terpenilo a un anillo aromático fue reportado por Koenigs en 1891 donde observó que la trementina reaccionaba fácilmente con el fenol y con resorcinol en presencia de un catalizador de ácido sulfúrico y ácido acético [80]. Por otra parte, Wuyts reconoció que la reacción de terpenos con fenoles daba lugar a unas mezclas de terpenil éteres de fenoles y fenoles nucleados alquilados con grupos terpenilo [80].

Entre los años 1990-2000 se informaron varias rutas sintéticas para generar enlaces C-C entre un anillo aromático y un sustituyente terpenilo. Las reacciones de acoplamiento cruzado emplean haluros de arilo y compuestos organometálicos seguido de un bromuro de terpenilo para generar fenoles terpénicos [81-83]. Otras reacciones de acoplamiento cruzado son la reacción de Stille que emplea un catalizador con paladio $\text{Pd}(\text{dba})_3$ [84], la ortometalación dirigida que funciona bien para la ortoterpenilación de derivados de fenoles simétricos [85] e intercambio metal-halógeno con acoplamiento mediado por metal [86].

Por último, las reacciones de Friedel-Crafts y Reordenamiento de Claisen han sido reportadas como dos rutas sintéticas para generar enlaces C-C entre un núcleo aromático y un sustituyente terpenilo. Ambas vías sintéticas se caracterizan por emplear un núcleo aromático y un terpenol (alcohol) para producir un terpenil-fenol acoplado [87].

4 Antecedentes

Los compuestos de las series de alil- y prenil-fenoles son un subgrupo de los terpenil-fenoles, diferenciándose en la cadena lateral alquenílica: alilo y prenilo, respectivamente. Estos compuestos han sido reportados en diferentes organismos marinos como también en especies vegetales superiores y que han demostrado presentar interesantes actividades biológicas entre las cuales se destacan las propiedades antifúngicas y citotóxicas para un amplio espectro de hongos patógenos [88]. Con este contexto, se han llevado diferentes estrategias sintéticas para sintetizar terpenil-fenoles lineales como también modificaciones químicas en la cadena lateral alquenílica. Las reacciones de Friedels-Crafts y Reordenamiento de Claisen han sido dos estrategias sintéticas que han demostrado un éxito en el acoplamiento directo entre la cadena de alilo/prenilo a un anillo aromático.

4.1 Síntesis alil- y prenil-fenoles y sus derivados sintéticos hidratados

4.1.1 Geranil-fenoles: Antecedentes

Este subgrupo de monoterpenilfenoles lineales (dos unidades de isopreno) está representado por un importante número de compuestos los que han sido aislados de diversos organismos tanto marinos como terrestres. Además, ha sido ampliamente documentado que múltiples metabolitos, obtenido de especies pertenecientes al reino vegetal, tienen propiedades biológicas especiales aptas para el control de varios tipos de patógenos animales y vegetales [89]. Por ejemplo, las geranilquinonas lineales o las geranilhidroquinonas, presentes en las plantas superiores y en los urocordatos marinos [90], exhiben actividad citotóxica e inhiben el crecimiento y el desarrollo de larvas [89]. Algunos compuestos particulares como 2-geranilbenzoquinona (**14**) aislado de *Ascidian Synoidum castellatum* [91], 2-geranilhidroquinona (**15**) aislado del árbol *Cordia alliodora* [92], *Phacelia crenulata* [93], *Aplidium antillense* [94] y el tunicado *Amaroucium multiplicatum* [95], se han relacionado con actividades biológicas que incluyen toxicidad, citotoxicidad, efectos antimicrobianos, protectores anticancerígenos y antioxidantes [89]. La **Figura 4** muestra las

estructuras químicas del 2-geranilbenzoquinona y 2-geranilhidroquinona, dos metabolitos presentes en las plantas superiores.

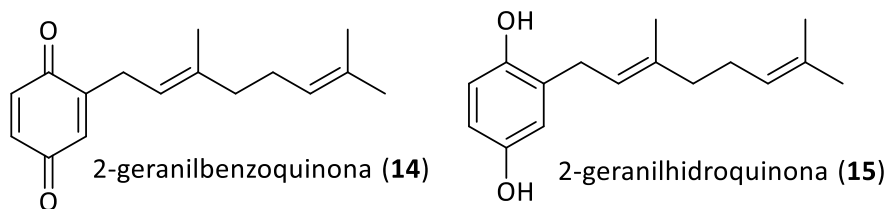
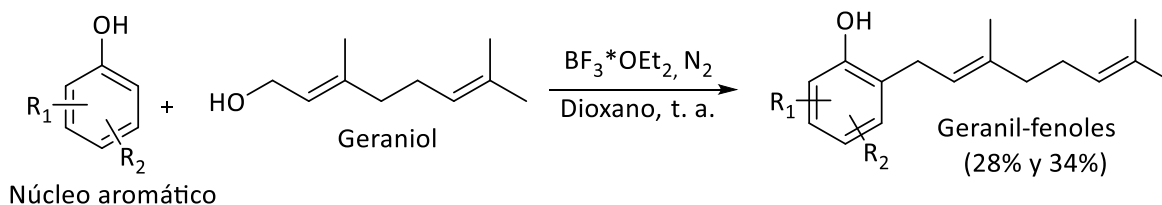


Figura 4: Estructura química del 2-geranilbenzoquinona y 2-geranilhidroquinona presentes en plantas superiores.

Espinoza *et al.*, reportaron la síntesis del compuesto 2-geranilhidroquinona usando el acoplamiento entre el geraniol e hidroquinona empleando acetonitrilo como solvente y AgNO_3 como catalizador secundario, obteniendo un rendimiento del 32% [89]. Asimismo, la estrategia sintética más común para la preparación de geranilfenoles, consiste en el acoplamiento directo de la cadena de geraniol y el núcleo aromático catalizado por un ácido de Lewis como el $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ como catalizador (Friedels-Crafts) [96-100] (véase **Esquema 1**).



Esquema 1: Reacción de acoplamiento directo entre el geraniol y un núcleo aromático mediante la reacción de Friedels-Crafts catalizada por $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$.

Para esta estrategia de síntesis se reportaron rendimientos cercanos al 60% [101, 102]. Sin embargo, publicaciones recientes donde se ha utilizado esta estrategia de síntesis para la obtención de geranilfenoles lineales, los rendimientos de reacción se encuentran entre un 28% y 34% [103, 104]. Hasta ahora, nuestro grupo de investigación de Productos Naturales ha estudiado los geranil fenoles por sus interesantes actividades biológicas, evaluando la actividad citotóxica *in vitro* en algunas líneas celulares cancerosas [98, 104] y los efectos inhibidores sobre el crecimiento micelial de patógenos vegetales *Botrytis cinerea* [99, 105, 106]. En este contexto, el análisis de los datos recopilados hasta el momento permite establecer una relación entre las actividades biológicas y la estructura química de los compuestos de la serie de alil- y prenil-fenoles; sin embargo, existen pocos estudios sobre la actividad fungicida de compuestos que lleven una cadena de alilo o prenilo modificada, por ejemplo, alilo y prenilo hidratados.

4.1.1.1 Síntesis de la serie de alil- fenoles

El 2-alilfenol (**16**), un fungicida biomimético cuya estructura es similar a la del ginkgol (**17**), que se encuentra presente en la especie Ginko (*Ginkgo biloba* L) [41, 107], ha presentado una actividad antifúngica contra un amplio espectro de hongos, incluyendo *Rhizoctonia cerealis*, *Botrytis cinerea*, *Fulvia fulva*, *Sporisorium reilianum*, *Physalospora piricola*, *Valsa mali*, *Magnaporthe gryzae* y *Pythium aphanidermatum* [108]. Además, estudios recientes han demostrado que el 2-alilfenol exhibe una potente actividad preventiva y una baja actividad residual contra el hongo gris en tomates causado por *B. cinerea*. Este compuesto ha sido patentado y registrado bajo el nombre Yinguo® y que se encuentra disponible comercialmente como un concentrado emulsionado para controlar el hongo gris causado por *B. cinerea*. En China, se ha alcanzado más de 12 millones de hectáreas durante el periodo 2001-2009 [41]. Por otra parte, el eugenol (**18**), un terpenoide fenólico, se presenta en forma de líquido incoloro y que ha mostrado propiedades anestésicas, antifúngicas e insecticidas [109] (véase **Figura 5**).

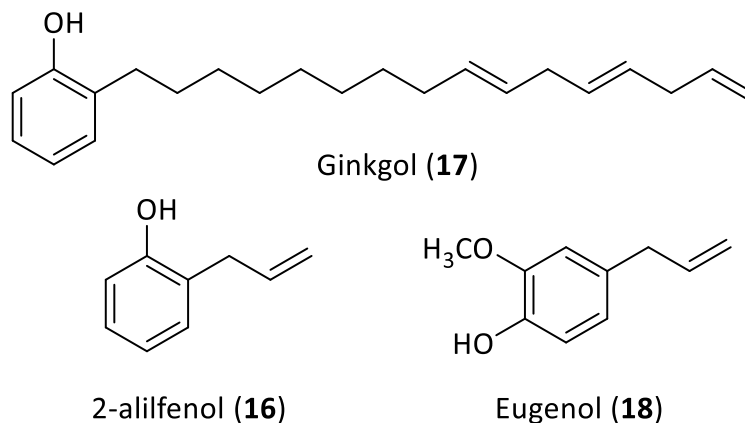


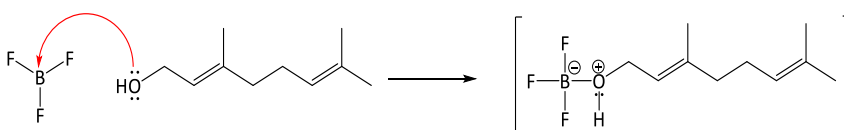
Figura 5: Estructuras químicas de diferentes alil-fenoles de origen natural con propiedades biológicas.

La síntesis de alilfenoles ha sido explorada por diversos grupos de investigación, motivados por la actividad biológica encontrada en el 2-alilfenol de origen natural y, por tanto, se ha intentado sintetizar compuestos biomiméticos con el fin de mejorar la actividad antifúngica de 2-alilfenol y de otros alil-fenoles al sustituir distintos grupos químicos en el anillo aromático [110] como también en la cadena lateral de alilo [41].

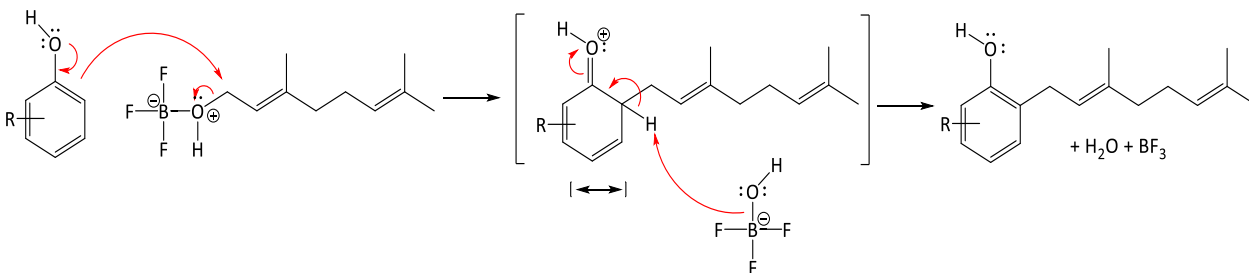
La síntesis de compuestos de la serie de alil-fenoles se han llevado a cabo replicando la estrategia sintética empleada anteriormente por nuestro grupo de investigación de Productos Naturales para la síntesis de compuestos de geranilfenoles [89, 111]. Esta estrategia de síntesis asociada consiste

en unir directamente la cadena lateral de alilo al fenol o a un grupo aromático de interés a través de una alquilación de Friedels-Crafts [89]. Esta alquilación ocurre en dos etapas: la primera etapa consiste en la reacción entre el $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$, que actúa como un ácido de Lewis, y el alcohol alílico dando lugar a una especie reactiva que tiene la suficiente electrofilia para ser atacado posteriormente por el sistema aromático y, la segunda etapa consiste en una sustitución electrofílica aromática ($\text{S}_{\text{E}}\text{Ar}$) entre el sistema aromático y la especie reactiva electrofílica dando lugar a un intermediario catiónico estabilizado por resonancia que rápidamente se reordena y genera el compuesto acoplado. El **Esquema 2** muestra el mecanismo de reacción para la alilación de Friedels-Crafts.

Etapa 1: Formación de la especie reactiva electrofílica

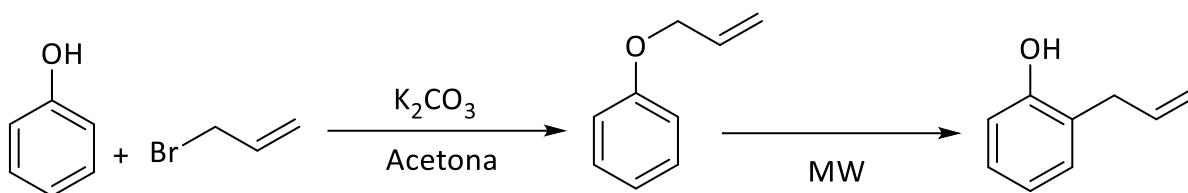


Etapa 2: Sustitución Electrofílica Aromática ($\text{S}_{\text{E}}\text{Ar}$)



Esquema 2: Mecanismo de reacción para la síntesis de alil-fenoles a través de una alilación de Friedels-Crafts [89, 111]

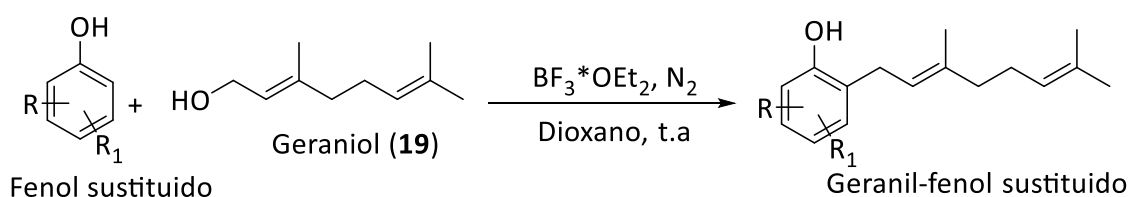
Otra estrategia sintética consiste en combinar la síntesis de éter de Williamson seguido de un Reordenamiento de Claisen [112]. De esta forma, se puede solucionar la formación de sub-productos como los compuestos di-acoplados. En estudios anteriores, se ha propuesto una nueva ruta sintética a partir del fenol, bromuro de alilo y carbonato de potasio calentado a reflujo. La primera etapa consiste en una reacción ácido-base entre el fenol, que actúa como ácido, y el carbonato de potasio (base) lo que da lugar al ion fenóxido seguido de una sustitución nucleofílica bimolecular, $\text{S}_{\text{N}}2$, resultando en el correspondiente éter. En la segunda etapa, consiste en el Reordenamiento de Claisen que es promovida por irradiación de microondas, el producto final da el alil-fenol (véase **Esquema 3**).



Esquema 3: síntesis del alil-fenol mediante la síntesis de éter de Williamson seguido de un Reordenamiento de Claisen [112]

4.1.1.2 Síntesis de la serie de prenil- fenoles

Los primeros antecedentes sintéticos fue el acoplamiento directo entre el geraniol (**19**) con los respectivos fenoles o metoxifenoles para obtener fenoles/metoxifenoles geranilados lineales, respectivamente. Esta reacción ha sido ampliamente estudiada por muchos autores porque está directamente relacionada con la síntesis de terpenoides fenólicos biológicamente activos [96, 98-100]. El acoplamiento es realizado comúnmente en presencia de ácidos fuertes o disolventes apróticos con ácidos de Lewis, por ejemplo, $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$, en dioxano para la síntesis de tocoferoles y análogos de geranilos (véase **Esquema 4**). Además, se ha informado que los rendimientos están en torno al 60% [101, 102]. Por otra parte, publicaciones recientes que han utilizado esta estrategia para el acoplamiento de hidroquinona y geraniol, los rendimientos de reacción de síntesis están entre el 28 y el 34% [103, 104]. Y, por último, investigaciones recientes en la síntesis de geranilfloroglucinol han reportado un método rápido y eficiente, usando irradiación de microondas en un sistema libre de solventes y logrando rendimientos de 46 a 49% para el producto mono-acoplado [113].

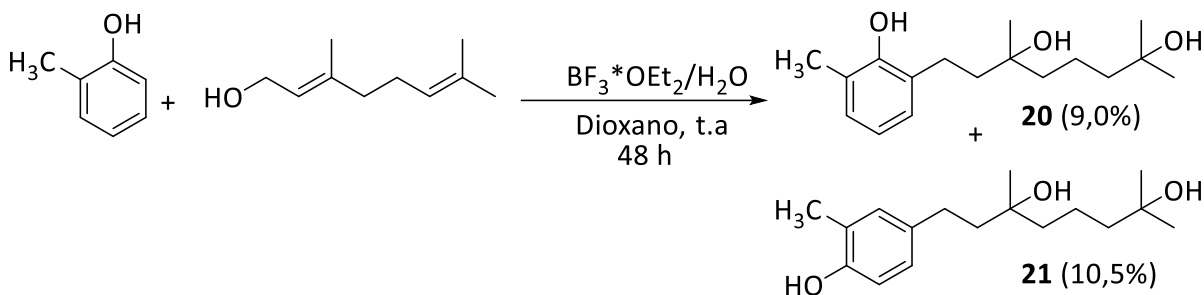


Esquema 4: estrategia sintética para la síntesis de geranil-fenoles mediante acoplamiento directo entre el geraniol y diferentes núcleos aromáticos sustituidos [101, 102]

4.1.1.3 Síntesis de geranil-fenoles hidratados

Soto *et al.*, llevó a cabo una ruta sintética para obtener geranilfenoles hidratados, empleando dioxano como solvente, $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ como catalizador y pequeñas cantidades de agua añadida [114]. Además, se informó que los productos obtenidos dependen de la naturaleza química del anillo aromático (fenol) que reacciona. A continuación, se muestra la síntesis de los compuestos **20** y **21**

por acoplamiento directo entre el *o*-cresol y geraniol, en presencia de agua y en ausencia de atmósfera de nitrógeno [114] (véase **Esquema 5**).



Esquema 5: Síntesis de dos compuestos gerani-fenoles hidratados a partir de la reacción de acoplamiento directo entre el *o*-cresol y geraniol. Se empleó $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ como catalizador en presencia de pequeñas cantidades de agua añadida y dioxano como solvente [114]

4.1.1.4 Síntesis asistida por microondas

Procurando optimizar los tiempos y aumentar los rendimientos de reacción, una tendencia actual en síntesis orgánica consiste en catalizar las reacciones a través del uso de microondas. El uso de una fuente de radiación para acelerar una reacción química tiene sus ventajas [115].

Los reactores de microondas modernos están diseñados para resistir altas temperaturas y presiones lo que permite conseguir condiciones de energía mucho más altas que las de un reactor de reflujo convencional [116]. La forma más común de conseguir velocidad de reacción mayores es aumentar la temperatura, en un reactor de balón a reflujo esta temperatura está limitada por la temperatura de ebullición del solvente y la cantidad de presión que resista el material [115].

En la actualidad, son varios grupos de investigaciones que han reportado síntesis orgánicas promovidas por irradiación de microondas con rendimientos de reacción moderadas a altas [117]. Nuestro grupo de investigación de Síntesis Orgánica y Productos Naturales ya ha comenzado a trabajar con un reactor de microondas para promover las reacciones de Friedels-Crafts y Reordenamiento de Claisen para la serie de alil- y prenil-fenoles y sus derivados hidratados sintéticos. Además, el empleo de la radiación de microondas permite aumentar la temperatura de trabajo de los solventes y reducir el tiempo de reacción a solo minutos.

4.2 Concentración efectiva máxima de los compuestos sintetizado alil- y prenilfenoles

Recientemente, nuestro grupo de investigación de Síntesis Orgánica y Productos Naturales ha llevado a cabo un estudio de la actividad antifúngica de los distintos compuestos sintetizados de alil- y prenil-fenoles junto con algunos derivados sintéticos contra el hongo *Botrytis cinerea* (véase **Tabla 1**). Los datos de la **Tabla 1** aún no han sido publicados.

Tabla 1: Actividad Antifúngica contra *Botrytis cinerea* (B-05)

Compuestos	CE ₅₀ µg/mL	CE ₈₀ µg/mL	R
	<i>Botrytis cinerea</i> B-05	<i>Botrytis cinerea</i> B-05	
23	97.38±1.2	>250(272.57±1.2)	0.9571
23 [®]	92.54±1.2	>250(533.16±1.2)	0.9580
24	97.03±1.4		0.9800
24 [®]	60.51±1.0	211,29±1.0	0.8848
25	NA		-
27	96.37±1.1		0.9424
28	56.89±1.2	104.72±1.2	0.9479
31	28.89±0.7	76.10±0.7	0.9805
31 [®]	49.59±0.7	202.42±0.7	0.9662
32	NA		-
33	166±2.0		0.9936
36	NA	NA	-
40	NA	NA	-
43	>250(474.21±0.7)	>250(2638.5±0.7)	0.9295
45	51.54±1.3	137.54±1.3	0.9665
45 [®]	40.56±1.7	130.81±1.7	0.9944
46	122.86±1.7		0.9932
46 [®]	60.08±1.3	221.51±1.3	0.9616
47	NA	NA	-
48	103.56±1.3	>250(312.46±1.3)	0.9662
49	65.43±1.5	225.74±0.71.5	0.9849
50	42.16±1.1	98.12±1.1	0.9326
50b	NA	NA	-
53	NA	NA	-
54	108.99±1.6	>250(315.25±1.6)	0.9913
Fungicida comercial BC-1000 [®]	81.67±1.1		0.9314

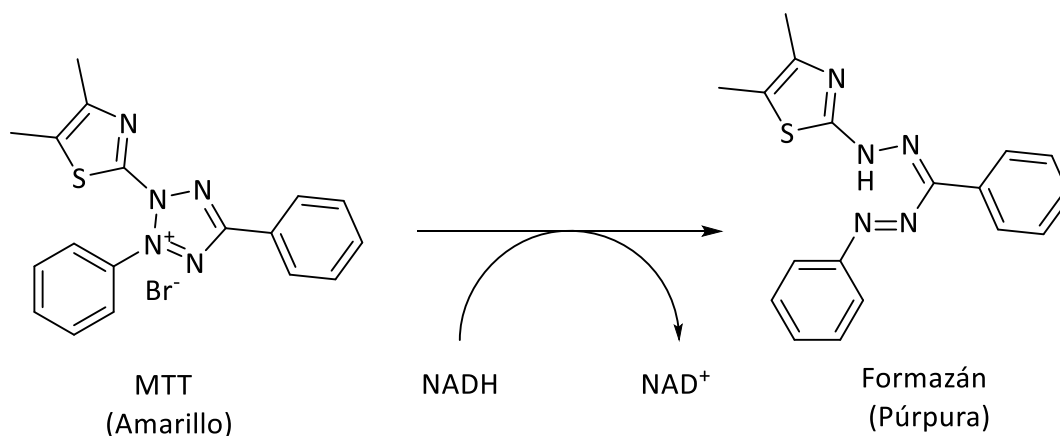
(NA: No Activo; R: Coeficiente de correlación)

Los compuestos **25, 32, 36, 40, 47 y 50** no presentaron actividad antifúngica contra *B. cinerea*, siendo no activos. En cambio, los compuestos **23, 45 y 49** presentaron una mejor actividad antifúngica en comparación con el fungicida comercial B 1000®. Por lo tanto, se tendrá en cuenta la concentración efectiva máxima, EC₈₀, para llevar a cabo algunos ensayos de fitotoxicidad en plantas de tomate.

4.3 Ensayos de Citotoxicidad en Esporas de *Botrytis cinerea*

Para los ensayos de citotoxicidad en esporas de *Botrytis cinerea* (B-05) se llevaron a cabo empleando el procedimiento del grupo del Instituto de Ciencias Agrarias (ICA). Este procedimiento que utiliza el medio de cultivo de RPMI-MOPS ha sido usado en otros grupos de investigación para llevar a cabo la inoculación de esporas de hongos [118, 119]. Por otra parte, Liu Lu *et al.*, ha realizado estudio sobre la inhibición de *Botrytis cinerea* en fresas empleando una concentración de 1×10^7 esporas/mL [120, 121], que será la misma concentración de esporas que se utilizará en los bioensayos de citotoxicidad.

Para los ensayos colorimétricos se utilizará el procedimiento con bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio (MTT) y menadiona. Este ensayo colorimétrico es ampliamente utilizado en ensayos de viabilidad celular [121]. Este procedimiento permite medir la actividad metabólica celular, donde las enzimas oxidoreductasas celulares dependiente de NAD(P)-H. Estas enzimas son capaces de reducir el compuesto de MTT en su forma insoluble formazán, que posee un color púrpura [122] (véase **Esquema 6**).



Esquema 6: Reducción del MTT a formazán por las enzimas oxidoreductasas celulares presentes en la mitocondria. [122]

5 Planteamiento del problema

Con base a la bibliografía previamente descrita, esta tesis se enfocará en la síntesis de los compuestos de alil- y prenil-fenoles junto con sus derivados hidratados sintéticos que han demostrado tener una buena actividad antifúngica contra *Botrytis cinerea*. Por lo tanto, nos planteamos las siguientes preguntas: ¿Serán los compuestos alil- y prenil-fenoles junto con sus derivados hidratados sintéticos ser tóxicos sobre las semillas y plantas de tomate? ¿Se podrán obtener con buenos rendimientos estos compuestos mediante una estrategia de síntesis Friedels-Crafts y Reordenamiento de Claisen?

5.1 Hipótesis

Con base a los fundamentos teóricos-conceptuales es posible formular la siguiente hipótesis:

Los compuestos objetivos alil- y prenil-fenoles y sus derivados hidratados sintéticos han demostrado ser buenos candidatos para sintetizarlos en el laboratorio; sin embargo, se podrá optimizar el rendimiento de estos compuestos mediante una estrategia de síntesis de Friedels-Crafts y Reordenamiento de Claisen. Además, los compuestos antes mencionados, han demostrado tener una buena actividad antifúngica contra *Botrytis cinerea*; por lo tanto, serán los compuestos de alil- y prenil-fenoles junto con sus derivados hidratados sintéticos ser inocuos en semillas y plantas de tomate sin causar efectos fitotóxicos importantes.

5.2 Objetivo General

Optimizar el rendimiento de una serie de compuestos de alil- y prenil-fenoles usando un esquema sintético vía Friedels-Crafts para la obtención de los correspondientes acoplados aromáticos como también estudiar los efectos fitotóxicos de los compuestos sintetizados de alil- y prenil-fenoles y sus derivados hidratados sintéticos en semillas y plantas de tomate empleando parámetros no destructivos estandarizados.

5.2.1 Objetivos específicos

- Sintetizar los compuestos de la serie de Alil- y prenil-fenoles (véase **Figura 6**) mediante alilación/prenilación de Friedels-Crafts y reordenamiento de Claisen para llevar a cabo el acoplamiento en el anillo aromático correspondiente.
- Sintetizar los derivados hidratados de la serie de alil- y prenil-fenoles mediante hidrólisis ácida para llevar a cabo la hidratación en la cadena lateral de alilo/prenilo.
- Separar y purificar los productos de reacción utilizando la técnica de cromatografía preparativa.
- Identificar los compuestos acoplados e hidratados por diferentes técnicas espectroscópicas,
- Cultivar las semillas de plantas tomate de la especie *Solanum lycopersicum*, mediante cultivo convencional en invernadero.
- Estudiar los efectos fitotóxicos mediante parámetros no destructivos en las semillas y plantas de tomate

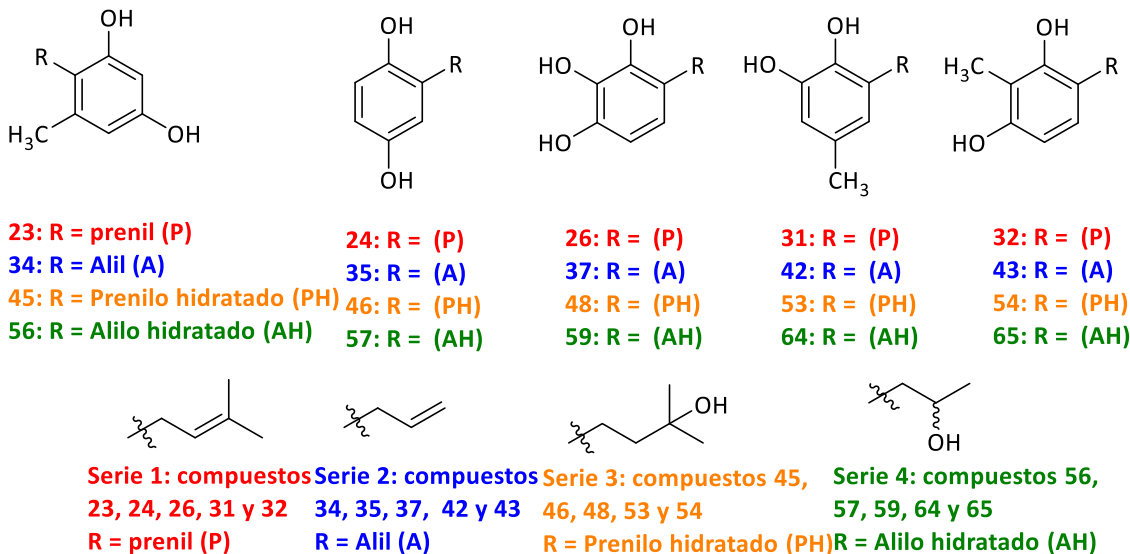


Figura 6: Series de los compuestos de alil- y prenil-fenoles y sus derivados hidratados sintéticos. Donde (P) es prenilo, (A) es alilo, (PH) es prenilo hidratado y (AH) es alilo hidratado.

6 Metodología

En esta sección se describen las estrategias desarrolladas para lograr los objetivos de esta tesis, las cuales permitieron sintetizar, ensayar y estudiar los efectos fitotóxicos de los compuestos de alil- y prenil-fenoles y sus derivados hidratados sintéticos en semillas y plantas de tomate. Primero se explicará detalladamente la sección química junto con las vías sintéticas para la obtención de los compuestos objetivos, la separación de las diferentes mezclas de reacción y su caracterización por técnicas espectroscópicas. En la segunda parte se explicará la sección biológica donde se detallará el método de cultivo y los distintos ensayos biológicos no destructivos llevados a cabo.

6.1 Sección Química

En esta sección se describirá los materiales, reactivos, solventes y equipos que se usaron en las distintas vías sintéticas para la obtención de los compuestos de alil- y prenil-fenoles y sus derivados hidratados sintéticos como también para la etapa de separación de las diferentes mezclas de reacción.

6.1.1 Materiales y equipos

6.1.1.1 SOLVENTES:

Los solventes utilizados tanto para síntesis orgánica como para la separación por cromatografía preparativa fueron adquiridos desde los siguientes proveedores de reactivos químicos: Sigma-Aldrich, Merck y Fluka A, G, en grado analítico (p. a),

- Acetonitrilo
- Metanol
- Dioxano
- Acetona

Los solventes de grado técnico fueron purificados por destilación y posteriormente secado con sulfato de magnesio anhidro (MgSO_4),

- Hexano ($P_{\text{ebullición}}^{\circ} = 69\text{ }^{\circ}\text{C}$)
- Acetato de etilo ($P_{\text{ebullición}}^{\circ} = 77\text{ }^{\circ}\text{C}$)
- Diclorometano ($P_{\text{ebullición}}^{\circ} = 40\text{ }^{\circ}\text{C}$)

6.1.1.2 INSUMOS:

- Cromatoplasmas de silicagel 60 F₂₅₄ (TLC), Merck.
- Silica gel para cromatografía en columna (0,040 – 0,063 mm), Merck.
- Bicarbonato de sodio, p.a., Merck.
- Hidróxido de potasio, Merck.
- Cloruro de zinc, Sigma-Aldrich.
- Prenol 99%, Sigma-Aldrich.
- Cloruro de alilo 98%, Sigma-Aldrich.
- Orcinol, Sigma-Aldrich.
- Hidroquinona, Sigma-Aldrich.
- Resorcinol, Merck.
- Catecol, Sigma-Aldrich.
- 4-metilcatecol, Sigma-Aldrich.
- 2-metilresorcinol, Sigma-Aldrich.
- Metilhidroquinona, Sigma-Aldrich.
- Floroglucinol, Sigma-Aldrich.
- Pirogalol, Sigma-Aldrich.
- Ácido *p*-toluenosulfónico (APTS), Sigma-Aldrich.
- Polietilenglicol-400 (PEG-400), Sigma-Aldrich.

6.1.1.3 EQUIPOS:

- Balanza Analítica, CROMTEK – Oni Bloc.
- Reactor de Microondas, Anton-Paar.
- PLC 2250, Gibson.
- Rotavapor R-300, Cientec – Buchi.

6.1.1.4 TÉCNICA ESPECTROSCÓPICAS Y CROMATOGRÁFICAS:

- **Espectrometría de resonancia magnética nuclear (¹H, ¹³C, 2D HSQC y 2D HMBC):** los compuestos sintetizados puros fueron registrados en un espectrómetro digital Bruker Avance 400, Los compuestos fueron disueltos en cloroformo deuterado (CDCl₃) 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 ^{13}C , respectivamente.

- **Cromatografía en capa fina:** Se emplearon placas cromatográficas de silica gel F₆₀ 254, Merck. La fase móvil fue preparada con mezclas de hexano y acetato de etilo en distintas proporciones para cada mezcla de reacción. Los cromatogramas se revelaron en luz ultravioleta (UV 254 nm) y por pulverización de la placa con una disolución acuosa de ácido sulfúrico al 10% v/v, con posterior calentamiento sobre una placa calefactora.
- **Cromatografía Líquida Preparativa:** La separación de las diferentes mezclas de reacción se llevaron a cabo empleando cartuchos con silica gel (0,032 – 0,063 mm), Merck. Para la fase móvil se emplearon hexano y acetato de etilo en distintos gradientes de polaridad según cada caso.

6.1.2 Síntesis Orgánica

En la presente tesis se logró sintetizar **18** compuestos de la serie de alil- y prenil-fenoles y sus derivados hidratados sintéticos a partir de distintos núcleos aromáticos del tipo fenol sustituidos (véase **Figura 7**). Para las reacciones de prenilación se empleó prenilol (3-metil-2-buten-1-ol), un terpenoide simple, y para las reacciones de alilación se empleó cloruro de alilo, un derivado clorado del propileno.

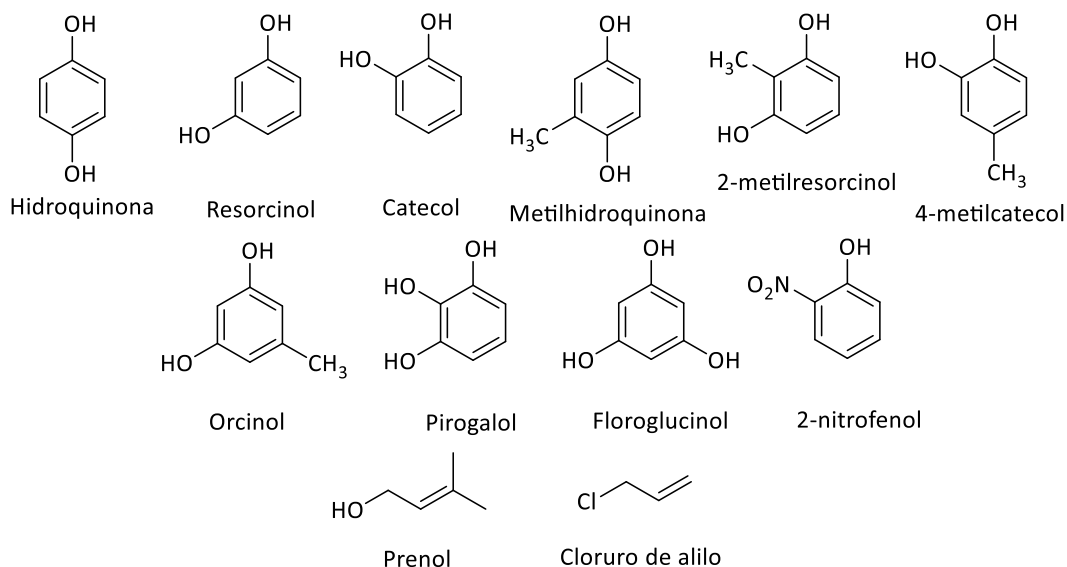


Figura 7: Estructura química de los diferentes núcleos aromáticos del tipo fenol sustituido empleados en las reacciones de alilación y prenilación.

Las reacciones de prenilación se llevaron a cabo mediante el acoplamiento directo entre el prenol y el correspondiente núcleo aromático a través de la reacción de Friedels-Crafts y empleando como catalizador $ZnCl_2$. Por otra parte, las reacciones de alilación se llevaron a cabo mediante el acoplamiento entre el cloruro de alilo y el correspondiente núcleo aromático a través de dos etapas: primero la formación del éter seguido de un Reordenamiento tipo Claisen. Ambas estrategias sintéticas fueron promovidas por irradiación de microondas. La reacción de hidratación de los compuestos alil- y prenil-fenoles se llevó a cabo en un medio ácido y a reflujo empleando APTS en PEG-400 y en presencia de agua.

Para la identificación y caracterización de los compuestos de acoplamiento, se asignó la numeración a cada compuesto de acuerdo con las reglas de *International Union of Pure and Applied Chemistry* (IUPAC). La asignación espectroscópica de RMN seguirá el mismo patrón de numeración según corresponda.

6.1.2.1 Procedimiento general: Prenilación de Friedels-Crafts

En un vial de reacción se masó los respectivos anillos aromáticos, prenol y $ZnCl_2$ y se agregó 10 mL de AcOEt, como disolvente. La mezcla se agitó a temperatura ambiente hasta la total homogenización de los compuestos. La reacción fue promovida por irradiación de microondas durante 30 min a 60 °C. El término de la reacción fue monitoreado por cromatografía en capa fina (CCF). La mezcla resultante fue lavada con H_2O destilada (3 x 20 mL), para luego extraer la fase orgánica con AcOEt (3 x 30 mL), para posteriormente ser secada sobre $MgSO_4$ anhidro, filtrada y evaporada a sequedad en el rotavapor.

6.1.2.2 Procedimiento general: Alilación de Friedels-Crafts

En un vial de reacción se masó los respectivos anillos aromáticos, cloruro de alilo y $ZnCl_2$ y se agregó 10 mL de AcOEt como disolvente. La mezcla se agitó a temperatura ambiente hasta la total homogenización de los compuestos. La reacción fue promovida por irradiación de microondas durante 15 min a 85 °C. El término de la reacción fue monitoreado por CCF. La mezcla resultante fue lavada con H_2O destilada (3 x 20 mL), para luego extraer la fase orgánica con AcOEt (3 x 30 mL), para posteriormente ser secada sobre $MgSO_4$ anhidro, filtrada y evaporada a sequedad en el rotavapor.

6.1.2.3 Procedimiento general: Reordenamiento de Claisen

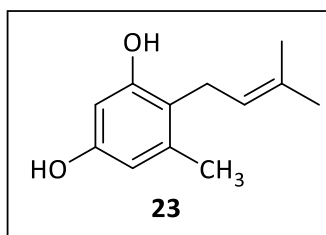
En un vial de reacción se masó los respectivos anillos aromáticos, cloruro de alilo y KOH y se agregó 10 mL de AcOEt como disolvente. La mezcla se agitó a temperatura ambiente hasta la total

homogenización de los compuestos. La reacción fue promovida por irradiación de microondas durante 120 min a 100 °C. El término de la reacción fue monitoreado por CCF. La mezcla resultante fue lavada con H₂O destilada (3 x 20 mL), para luego extraer la fase orgánica con AcOEt (3 x 30 mL), para posteriormente ser secada sobre MgSO₄ anhidro, filtrada y evaporada a sequedad en el rotavapor. Posteriormente, se masó una cierta cantidad del aril alil éter y 5 mL de dioxano como disolvente. Se agitó a temperatura ambiente hasta la total homogenización del compuesto. La reacción fue promovida por irradiación de microondas durante 60 min a 200 °C. El término de la reacción fue monitoreado por CCF.

6.1.2.4 Procedimiento general: Reacción de hidratación

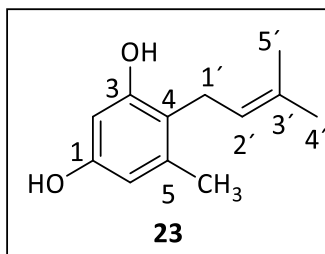
En un balón de dos bocas se masó 0,5 g de los respectivos compuestos alil- y prenil-fenoles, APTS, 20 mL de PEG-400 y 40 mL de agua destilada. La reacción fue promovida por calentamiento convencional a reflujo durante 30 min a 100 °C. El término de la reacción fue monitoreado por CCF. La mezcla resultante fue lavada con H₂O destilada (3 x 50 mL), para luego extraer la fase orgánica con AcOEt (3 x 30 mL), para posteriormente ser secada sobre MgSO₄ anhidro, filtrada y evaporada a sequedad en un rotavapor.

SÍNTESIS DEL COMPUESTO 23



Se masó inicialmente 1,0 g de orcinol (8,1 mmol), 0,69 g de prenil (8,1 mmol) y 2,20 g de ZnCl₂ (16,12 mmol). Después del procedimiento general descrito en la sección 6.1.2.1, 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 hexano/AcOEt de polaridad creciente (100% Hex:0% AcOEt → 0% Hex:100% AcOEt), obteniéndose finalmente una fracción de 182,5 mg (11,8% de rendimiento) de un sólido de color naranja, compuesto **23**.

COMPUESTO 23 [5-metil-4-(3-metilbut-2-en-1-il)benzeno-1,3-diol]:



RMN de ^1H (CDCl_3): 6,26 (d, $J = 2,4$ Hz, 1H, $H-6$); 6,21 (d, $J = 2,4$ Hz, 1H, $H-2$); 5,47 (br, s, 2H, $\text{OH}-1$ y $\text{OH}-3$); 5,13 (td, $J = 6,8$ Hz y $1,2$ Hz, 1H, $H-2'$); 3,27 (d, $J = 6,8$ Hz, 2H, $H-1'$); 2,22 (d, $J = 0,8$ Hz, 3H, CH_3-5); 1,79 (s, 3H, $H-4'$); 1,72 (s, 3H, $H-5'$), **RMN de ^{13}C (CDCl_3):** 17,81 ($C-5'$); 19,97 (CH_3-5); 25,06 ($C-1'$); 25,67 ($C-4'$); 100,96 ($C-2$); 109,74 ($C-6$); 118,15 ($C-4$); 122,21 ($C-2'$); 133,49 ($C-3'$); 138,60 ($C-5$); 153,95 ($C-3$); 155,01 ($C-1$), **EM (m/z , %):** 193,12 (M^+ , 45,95).

2D HMBC

La confirmación del acoplamiento se desprende del análisis del espectro bidimensional de correlación heteronuclear $^1\text{H}-^{13}\text{C}$ HMBC, donde el protón $H-1'$ se correlaciona a $^2J_{\text{CH}}$ con las señales de carbono $C-4$ y $C-2'$ a $\delta = 118,15$ y $122,21$ ppm, respectivamente, y a $^3J_{\text{CH}}$ con los carbonos $C-3$, $C-3'$ y $C-5$ a $\delta = 153,95$, $133,49$ y $138,60$ ppm, respectivamente (véase **Figura 8**).

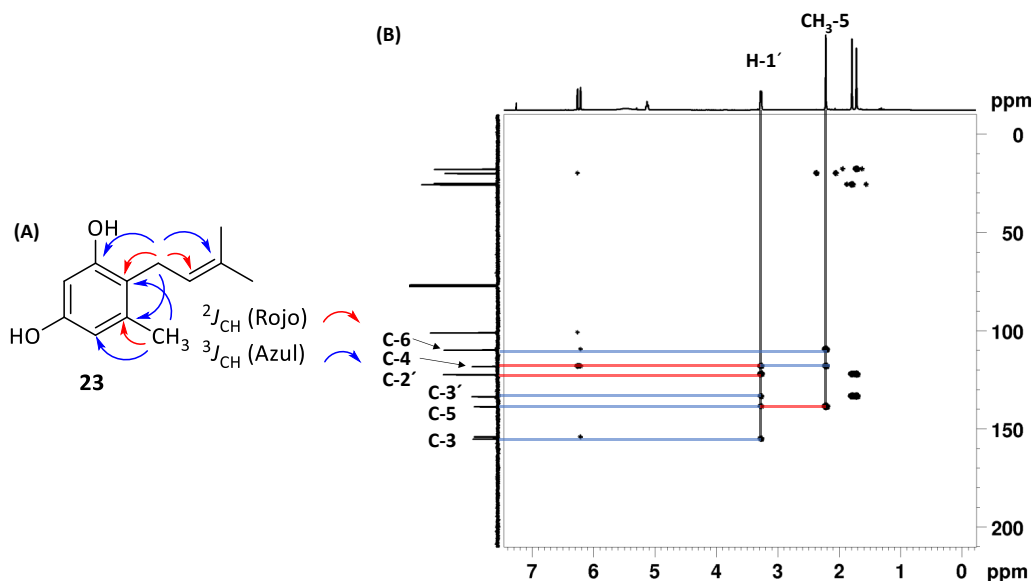


Figura 8: (A) Análisis del espectro bidimensional de correlación heteronuclear $^1\text{H}-^{13}\text{C}$ HMBC del compuesto **23**. Las flechas rojas corresponden a las señales a $^2J_{\text{HC}}$ y las flechas azules corresponden a las señales a $^3J_{\text{HC}}$. (B) Espectro 2D HMBC del compuesto **23**. Las líneas rojas corresponden a las señales a $^2J_{\text{HC}}$ y las líneas azules a las señales a $^3J_{\text{HC}}$.

Para el resto de las moléculas de la serie de prenil-fenoles, se les realizó el mismo análisis del espectro bidimensional de correlación heteronuclear ^1H - ^{13}C HMBC tanto a $^2J_{\text{CH}}$ como a $^3J_{\text{CH}}$. Por tanto, podemos tomar el análisis del compuesto **23** como modelo para el resto de los compuestos de la serie de prenil-fenoles (véase anexo).

Correlación 1D NOESY selectivo

Se realizó un pulso selectivo en la señal 3,27 ppm que corresponde a los hidrógenos $H-1'$. A partir de esta interacción, se pudo correlacionar las señales de los hidrógenos irradiados con los núcleos de hidrógenos cercanos espacialmente. La **Figura 9 (A)** muestra que los núcleos de hidrógenos $H-1'$ están correlacionados con los hidrógenos $H-5'$ y CH_3-5 , que corresponden a las señales 1,72 y 2,21 ppm, respectivamente. Con base a estas correlaciones 1D NOESY, se pudo confirmar que el acoplamiento de la cadena de prenilo se produjo entre el grupo -OH y el grupo CH_3 . La **Figura 9 (B)** se muestra el espectro de correlación 1D NOESY selectivo, donde la flecha roja indica la señal irradiada.

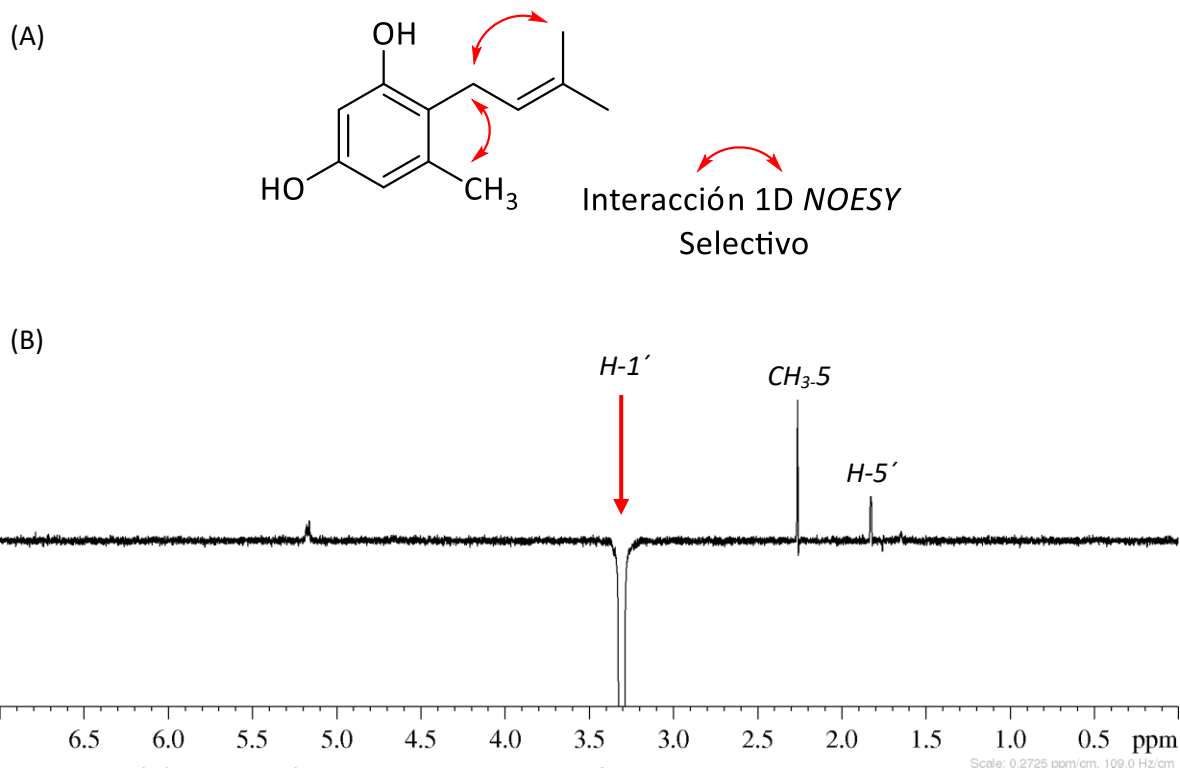
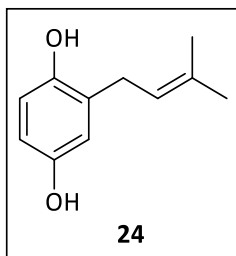


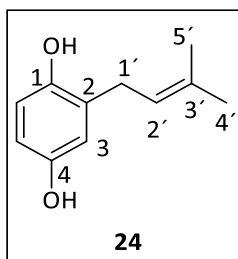
Figura 9: (A) Correlación 1D NOESY selectivo, la flecha de doble cara roja indica la interacción espacial entre los núcleos de hidrógenos. (B) Espectro 1D NOESY selectivo, la flecha roja indica la señal irradiada a 3,27 ppm.

SÍNTESIS DEL COMPUESTO 24



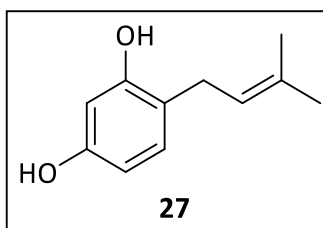
Se masó inicialmente 2,0 g de hidroquinona (18,2 mmol), 0,78 g de prenol (9,1 mmol) y 4,95 g de $ZnCl_2$ (36,32 mmol). Después del procedimiento general descrito en la sección 6.1.2.1, el crudo de la reacción fue purificado por cromatografía en columna (CC), usando como fase estacionaria silica gel y como fase móvil una mezcla de hexano/AcOEt de polaridad creciente (100% Hex:0% AcOEt \rightarrow 0% Hex:100% AcOEt), obteniéndose finalmente una fracción de 221,3 mg (13,7% de rendimiento) de un sólido de color blanco, compuesto **24**.

COMPUESTO 24: [2-(3-metilbut-2-en-1-il)benceno-1,4-diol]



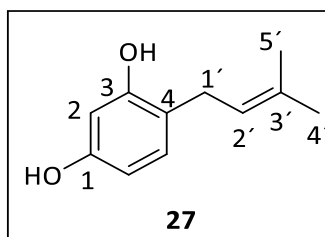
RMN de 1H ($CDCl_3$): 6,68 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H, $H-6$); 6,61 (d, $J = 2,8$ Hz, 1H, $H-3$); 6,58 (dd, $J = 8,4$ Hz y 3,2 Hz, 1H, $H-5$); 5,29 (t, $J = 7,2$ Hz, 1H, $H-2'$); 4,76 (s, 1H, $OH-1$); 4,49 (s, 1H, $OH-4$); 3,29 (d, $J = 7,2$ Hz, 2H, $H-1'$); 1,77 (s, 3H, $H-4'$); 1,76 (s, 3H, $H-5'$), **RMN de ^{13}C ($CDCl_3$):** 17,84 ($C-5'$); 25,76 ($C-4'$); 29,66 ($C-1'$); 113,69 ($C-5$); 116,43 ($C-6$); 116,57 ($C-3$); 121,37 ($C-2'$); 128,21 ($C-2$); 134,94 ($C-3'$); 148,07 ($C-1$); 149,27 ($C-4$). **EM (m/z , %):** 177,09 (M^+ , 100).

SÍNTESIS DEL COMPUESTO 27



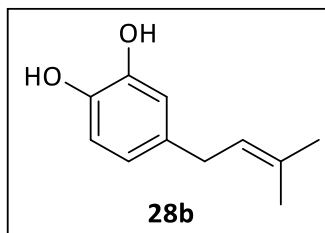
Se masó inicialmente 1,0 g de resorcinol (9,1 mmol), 0,78 g de prenol (9,1 mmol) y 2,47 g de ZnCl_2 (18,16 mmol). Después del procedimiento general descrito en la sección 6.1.2.1, el crudo de la reacción fue purificado por cromatografía en columna (CC), usando como fase estacionaria silica gel y como fase móvil una mezcla de hexano/AcOEt de polaridad creciente (100% Hex:0% AcOEt \rightarrow 0% Hex:100% AcOEt), obteniéndose finalmente una fracción de 304,2 mg (18,8% de rendimiento) de un semi-sólido de color naranja, compuesto **27**.

COMPUESTO 27: [4-(3-metilbut-2-en-il)bencono-1,3-diol]



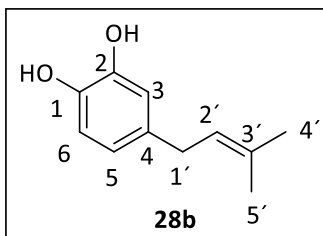
RMN de ^1H (CDCl_3): 6,93 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H, $H-5$); 6,37 (d, $J = 2,4$ Hz, 1H, $H-6$); 6,35 (d, $J = 1,2$ Hz, 1H, $H-2$); 5,67 (br. s, 1H, $\text{OH}-3$); 5,59 (s, 1H, $\text{OH}-1$); 5,29 (qt. $J = 7,2, 1,5$ Hz, 1H, $H-2'$); 3,27 (d, $J = 7,2$ Hz, 2H, $H-1'$); 1,76 (t, $J = 1,2$ Hz, 6H, CH_3). **RMN de ^{13}C (CDCl_3):** 17,84 ($C-5'$); 25,79 ($C-4'$); 29,02 ($C-1'$); 103,32 ($C-2$); 107,70 ($C-6$); 119,33 ($C-4$); 122,20 ($C-2'$); 130,60 ($C-5$); 134,60 ($C-3'$); 154,96 ($C-1$); 155,07 ($C-3$). **EM (m/z , %):** 179,11 (M^+ , 90,73).

SÍNTESIS DEL COMPUESTO 28



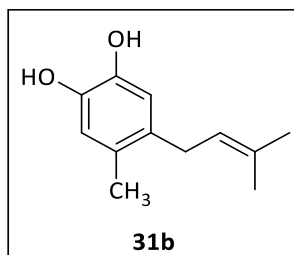
Se masó inicialmente 2,0 g de catecol (18,16 mmol), 1,56 g de prenol (18,16 mmol) y 4,95 g de ZnCl_2 (36,32 mmol). Después del procedimiento general descrito en la sección 6.1.2.1, el crudo de la reacción fue purificado por cromatografía en columna (CC), usando como fase estacionaria silica gel y como fase móvil una mezcla de hexano/AcOEt de polaridad creciente (100% Hex:0% AcOEt \rightarrow 0% Hex:100% AcOEt), obteniéndose finalmente una fracción de 143,4 mg (4,4% de rendimiento) de un sólido de color blanco, compuesto **28b**.

COMPUESTO 28: [4-(3-metilbut-2-en-1-il)bencono-1,2-diol]



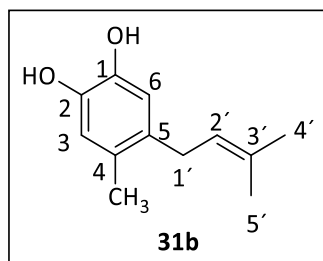
RMN de ^1H (CDCl_3): 6,77 (d, $J = 8,1$ Hz, 1H, $H-6$); 6,70 (d, $J = 1,6$ Hz, 1H, $H-3$); 6,62 (dd, $J = 8,0$ Hz y 1,8 Hz, 1H, $H-5$); 5,28 (t, $J = 7,4$ Hz, 1H, $H-2'$); 5,20 (s, 1H, $\text{OH}-2$); 5,09 (s, 1H, $\text{OH}-1$); 3,23 (d, $J = 7,4$ Hz, 2H, $H-1'$); 1,74 (s, 3H, $H-5'$); 1,70 (s, 3H, $H-4'$). **RMN de ^{13}C (CDCl_3):** 143,40 (C-2); 141,32 (C-1); 135,12 (C-4); 132,46 (C-3'); 123,32 (C-2'); 120,70 (C-5); 115,43 (C-3); 115,33 (C-6); 33,58 (C-1'); 25,77 (C-4'); 17,78 (C-5').

SÍNTESIS DEL COMPUESTO 31



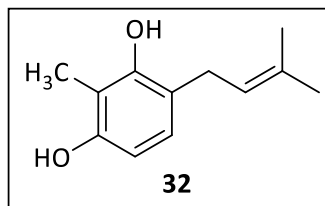
Se masó inicialmente 2,0 g de 4-metilcatecol (16,12 mmol), 1,39 g de prenol (16,12 mmol) y 4,39 g de ZnCl_2 (32,24 mmol). Después del procedimiento general descrito en la sección 6.1.2.1, el crudo de la reacción fue purificado por cromatografía en columna (CC), usando como fase estacionaria silica gel y como fase móvil una mezcla de hexano/AcOEt de polaridad creciente (100% Hex:0% AcOEt \rightarrow 0% Hex:100% AcOEt), obteniéndose finalmente una fracción de 539,8 mg (17,4% de rendimiento) de un sólido de color blanco, compuesto **31b**.

COMPUESTO 31: [5-metil-5-(3-metilbut-2-en-1-il)benceno-1,2-diol]



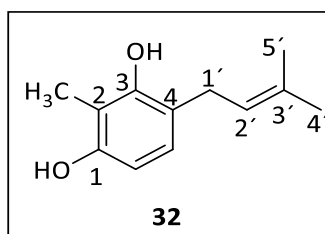
RMN de ^1H (CDCl_3): 6,67 (s, 2H, $H-3$, $H-6$); 5,20 (qt, $J = 7,12$; 1,4 Hz, 1H, $H-2'$); 5,03 (s, 1H, $OH-2$); 5,00 (s, 1H, $OH-1$); 3,17 (d, $J = 7,2$ Hz, 2H, $H-1'$); 2,17 (s, 3H, CH_3-4); 1,74 (d, $J = 1,2$ Hz, 3H, $H-4'$); 1,70 (s, 3H, $H-5'$). **RMN de ^{13}C (CDCl_3):** 17,78 ($C-5'$); 18,66 (CH_3-5); 25,72 ($C-4'$); 31,29 ($C-1'$); 115,85 ($C-4$); 117,20 ($C-6$); 122,65 ($C-2'$); 128,63 ($C-3$); 132,35 ($C-3'$); 132,57 ($C-5$); 141,06 ($C-2$); 141,13 ($C-1$). **EM (m/z , %):** 191,11 (M^+ , 100,0).

SÍNTESIS DEL COMPUESTO 32



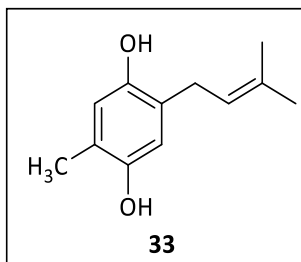
Se masó inicialmente 2,0 g de 2-metilresorcinol (16,12 mmol), 1,39 g de prenol (16,12 mmol) y 4,39 g de ZnCl_2 (32,24 mmol). Después del procedimiento general descrito en la sección 6.1.2.1, el crudo de la reacción fue purificado por cromatografía en columna (CC), usando como fase estacionaria sílica gel y como fase móvil una mezcla de hexano/AcOEt de polaridad creciente (100% Hex:0% AcOEt \rightarrow 0% Hex:100% AcOEt), obteniéndose finalmente una fracción de 997,4 mg (42,9% de rendimiento) de un semi-sólido de color naranja, compuesto **32**.

COMPUESTO 32: [2-metil-4-(3-metilbut-2-en-1-il)benceno-1,3-diol]



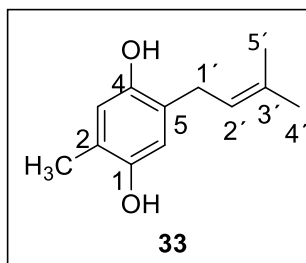
RMN de ^1H (CDCl_3): 6,80 (dd, $J = 8,8$; 0,6 Hz, 1H, $H-5$); 6,34 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H, $H-6$); 5,33 (s, 1H, $OH-3$); 5,30 (qt, $J = 7,2$; 1,5 Hz, 1H, $H-2'$); 3,30 (d, $J = 7,2$ Hz, 2H, $H-1'$); 2,14 (s, 3H, CH_3-2); 1,80 (d, $J = 0,4$ Hz, 3H, $H-4'$); 1,78 (d, $J = 1,2$ Hz, 3H, $H-5'$). **RMN de ^{13}C (CDCl_3):** 8,08 (CH_3-2); 17,78 ($C-5'$); 25,75 ($C-4'$); 30,03 ($C-1'$); 106,96 ($C-6$); 110,88 ($C-2$); 118,44 ($C-4$); 122,23 ($C-2'$); 126,83 ($\text{AC}-5$); 135,01 ($C-3'$); 153,16 ($C-1$); 153,44 ($C-3$). **EM (m/z , %):** 191,11 (M^+ , 100,0).

SÍNTESIS DEL COMPUESTO 33



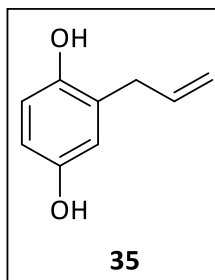
Se masó inicialmente 1,0 g de metilhidroquinona (8,06 mmol), 0,69 g de prenol (8,06 mmol) y 2,20 g de $ZnCl_2$ (16,12 mmol). Después del procedimiento general descrito en la sección 6.1.2.1, el crudo de la reacción fue purificado por cromatografía en columna (CC), usando como fase estacionaria silica gel y como fase móvil una mezcla de hexano/AcOEt de polaridad creciente (100% Hex:0% AcOEt \rightarrow 0% Hex:100% AcOEt), obteniéndose finalmente una fracción de 73,09 mg (2,4% de rendimiento) de un semi-sólido de color blanco, compuesto **33**.

COMPUESTO 33: [2-metil-5-(3-metilbut-2-en-1-il)benceno-1,4-diol]



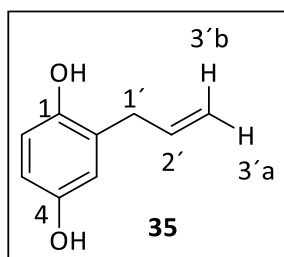
RMN de 1H ($CDCl_3$): 6,55 (s, 2H, $H-6$; $H-3$); 5,11 (qt, $J = 6,8$; 1,4 Hz, 1H, $H-2'$); 4,68 (s, 1H, $OH-4$); 4,44 (s, 1H, $OH-1$); 3,37 (dt, $J = 6,8$; 1,0 Hz, 2H, $H-2'$); 2,19 (s, 3H, CH_3-2); 1,80 (d, $J = 1,2$ Hz, 3H, $H-4'$); 1,72 (d, $J = 1,3$ Hz, 3H, $H-5'$). **RMN de ^{13}C ($CDCl_3$):** 11,95 (CH_3-2); 17,96 ($C-5'$); 25,74 ($C-4'$); 26,11 ($C-1'$); 113,24 ($C-6$); 113,35 ($C-3$); 121,67 ($C-2'$); 123,43 ($C-2$); 127,38 ($C-5$); 133,75 ($C-3'$); 147,67 ($C-1$); 148,04 ($C-4$). **EM (m/z , %):** M^+ 191,11 (M^+ , 100,0).

SÍNTESIS DEL COMPUESTO 35



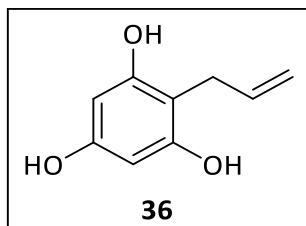
Se masó inicialmente 2,0 g de hidroquinona (18,18 mmol), 0,66 g cloruro de alilo (8,63 mmol) y 0,48 g de KOH (8,55 mmol). Después del procedimiento general descrito en la sección 6.1.2.3, el crudo de la reacción fue purificado por cromatografía en columna (CC), usando como fase estacionaria silica gel y como fase móvil una mezcla de hexano/AcOEt de polaridad creciente (100% Hex:0% AcOEt → 0% Hex:100% AcOEt), obteniéndose finalmente una fracción de 1077,1 mg (79,0% de rendimiento) de un sólido blanco, éter (compuesto intermedio). En otro vial de reacción se masó 0,5 g (3,33 mmol) del compuesto intermedio. El crudo de la reacción fue purificado por CC, usando como fase estacionaria silica gel y como fase móvil una mezcla de hexano/AcOEt de polaridad creciente (100% Hex:0% AcOEt → 0% Hex:100% AcOEt), obteniéndose finalmente una fracción de 285,9 mg (57,2% de rendimiento) de un sólido de color blanco, compuesto **35**.

COMPUESTO 35: [2-alilbenceno-1,4-diol]



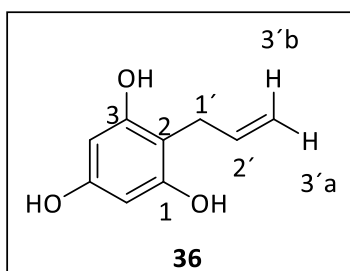
RMN de ^1H (CDCl_3): 6,70 (dd, $J = 7,6$ Hz y $1,2$ Hz, 1H, $H-3$); 6,62 (s, 1H, $H-6$); 6,60 (d, $J = 2,8$ Hz, 1H, $H-5$); 5,99 (m, 1H, $H-2'$); 5,17 (dd, $J = 1,6$ Hz, 1H, $H-3'a$); 5,14 (dc, $J = 5,8$ Hz y $1,8$ Hz, 1H, $H-3'b$); 3,35 (d, $J = 6,4$ Hz, 2H, $H-1'$). **RMN de ^{13}C (CDCl_3):** 149,50 (C-4); 147,90 (C-1); 136,10 (C-2'); 126,7 (C-2); 117,00 (C-6); 116,70 (C-3); 116,65 (C-3'); 114,20 (C-5); 35,10 (C-1').

SÍNTESIS DEL COMPUESTO 36



Se masó inicialmente 2,0 g de floroglucinol (15,86 mmol), 1,21 g de cloruro de alilo (15,86 mmol) y 4,32 g de $ZnCl_2$ (31,72 mmol). Después del procedimiento general descrito en la sección 6.1.2.2, el crudo de la reacción fue purificado por cromatografía en columna (CC), usando como fase estacionaria silica gel y como fase móvil una mezcla de hexano/AcOEt de polaridad creciente (100% Hex:0% AcOEt \rightarrow 0% Hex:100% AcOEt), obteniéndose finalmente una fracción de 365,0 mg (13,9% de rendimiento) de un sólido de color blanco, compuesto **36**.

COMPUESTO 36: [2-alilbenceno-1,3,5-triol]



RMN de 1H ($(CD_3)_2CO$): 7,95 (s, 2H, OH-1 y OH-3); 7,89 (s, 1H, OH-5); 5,96 (s, 2H, H-4 y H-6); 5,92 (m, 1H, H-2'); 4,96 (ddt, $J = 17,1$ Hz; 2,9 Hz y 1,7 Hz, 1H, H-3'b); 4,83 (ddt, $J = 10,1$ Hz; 2,7 Hz y 1,2 Hz, 1H, H-3'a); 3,30 (dt, $J = 6,3$ Hz y 1,5 Hz, 2H, H-1'). **RMN de ^{13}C ($(CD_3)_2CO$):** 27,77 (C-1'); 95,47 (C-4 y C-6); 104,40 (C-2); 113,65 (C-3'); 138,65 (C-2'); 156,60 (C-5); 157,57 (C-1 y C-3).

2D HMBC

La confirmación del acoplamiento se desprende del análisis del espectro bidimensional de correlación heteronuclear 1H - ^{13}C HMBC, donde el protón H-1' se correlaciona a $^2J_{CH}$ con las señales de carbono C-2 y C-2' a $\delta = 104,40$ y 138,65 ppm, respectivamente, y a $^3J_{CH}$ con los carbonos C-1, C-3 y C-3' a $\delta = 157,57$ y 113,65 ppm, respectivamente (véase **Figura 10**).

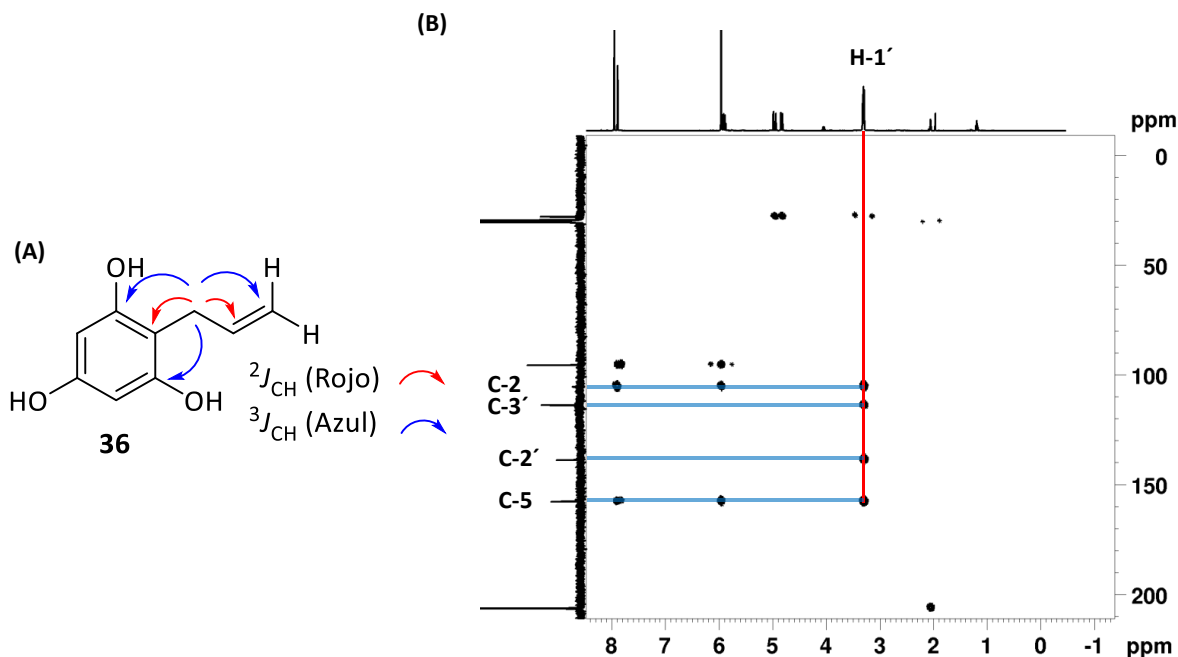
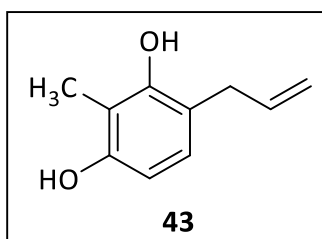


Figura 10: (A) Análisis del espectro bidimensional de correlación heteronuclear 1H - ^{13}C HMBC del compuesto **36**. Las flechas rojas corresponden a las señales a $^2J_{CH}$ y las flechas azules corresponden a las señales a $^3J_{CH}$. (B) Espectro 2D HMBC del compuesto **36**.

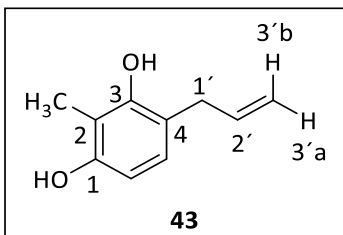
Para el resto de las moléculas de la serie de alil-fenoles, se les realizó el mismo análisis del espectro bidimensional de correlación heteronuclear 1H - ^{13}C HMBC tanto a $^2J_{CH}$ como a $^3J_{CH}$. Por tanto, podemos tomar el análisis del compuesto **36** como modelo para el resto de los compuestos de la serie de alil-fenoles (véase anexo).

SÍNTESIS DEL COMPUESTO 43



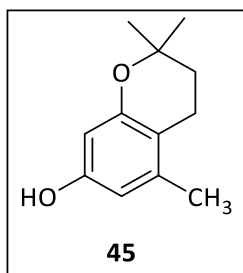
Se masó inicialmente 2,0 g de 2-metilresorcinol (15,86 mmol), 1,21 g de cloruro de alilo (15,86 mmol) y 4,39 de $ZnCl_2$ (31,24 mmol). Después del procedimiento general descrito en la sección 6.1.2.2, el crudo de la reacción fue purificado por cromatografía en columna (CC), usando como fase estacionaria silica gel y como fase móvil una mezcla de hexano/AcOEt de polaridad creciente (100% Hex:0% AcOEt \rightarrow 0% Hex:100% AcOEt), obteniéndose finalmente una fracción de 290,7 mg (11,0% de rendimiento) de un semi-sólido de color naranja, compuesto **43**.

COMPUESTO 43: [4-alil-2-metilbenceno-1,3-diol]



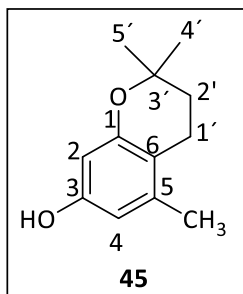
RMN de ^1H (CDCl_3): 6,80 (dd, $J = 8,0$ Hz y $0,4$ Hz, 1H, $H-6$); 6,37 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H, $H-5$); 6,00 (tct, $J = 16,6$ Hz; 6,5 Hz y 6,4 Hz, 1H, $H-2'$); 5,20 (dc, $J = 11,0$ Hz y 1,7 Hz, 1H, $H-3'b$); 5,16 (dc, $J = 5,6$ Hz y 1,6 Hz, 1H, $H-3'a$); 3,35 (dt, $J = 6,4$ Hz y 1,4 Hz, 2H, $H-1'$); 2,15 (s, 3H, CH_3-2). **RMN de ^{13}C (CDCl_3):** 8,13 (CH_3-2); 35,38 ($C-1'$); 107,24 ($C-5$); 110,91 ($C-2$); 116,48 ($C-3'$); 116,84 ($C-4$); 127,32 ($C-6$); 136,86 ($C-2'$); 153,32 ($C-1$); 153,40 ($C-3$).

SÍNTESIS DEL COMPUESTO 45



Se masó 1,0 g del compuesto **23** (5,2 mmol), 3,956 g de APTS en PEG-40 y agua destilada. Después del procedimiento general descrito en la sección 6.1.2.4, el crudo de la reacción fue purificado por cromatografía en columna (CC), usando como fase estacionaria silica gel y como fase móvil una mezcla de hexano/AcOEt de polaridad creciente (100% Hex:0% AcOEt \rightarrow 0% Hex:100% AcOEt), obteniéndose finalmente una fracción de 332,9 mg (30,3% de rendimiento) de un aceite de color naranja, compuesto **45**.

COMPUESTO 45: [2,2,5-trimetilcroman-7-ol]



RMN de ^1H ($(\text{CD}_3)_2\text{CO}$): 7,99 (s, 1H, OH-3); 6,23 (d, $J = 2,4$ Hz, 1H, H-4); 6,07 (d, $J = 2,4$ Hz, 1H, H-2); 2,52 (t, $J = 6,8$ Hz, 2H, H-2'); 2,10 (s, 3H, CH₃-5); 1,77 (t, $J = 7,0$ Hz, 2H, H-1'); 1,24 (s, 6H, H-4' y H-5').
RMN de ^{13}C ($(\text{CD}_3)_2\text{CO}$): 156,10 (C-3); 154,72 (C-1); 137,55 (C-5); 110,56 (C-6); 108,96 (C-4); 101,35 (C-2); 72,94 (C-3'); 32,76 (C-1'); 25,97 (C-4' y C-5'); 19,37 (C-2'); 18,44 (CH₃-5). **EM (m/z, %):** 191,11 (M⁺, 100,0); 135,04 (93,57).

2D HMBC

La confirmación del acoplamiento se desprende del análisis del espectro bidimensional de correlación heteronuclear ^1H - ^{13}C HMBC, donde el protón H-1' se correlaciona a $^2J_{\text{CH}}$ con las señales de carbono C-2' y C-6 a $\delta = 19,37$ y 110,56 ppm, respectivamente, y a $^3J_{\text{CH}}$ con el carbono C-5 a $\delta = 137,55$ ppm (véase **Figura 11**).

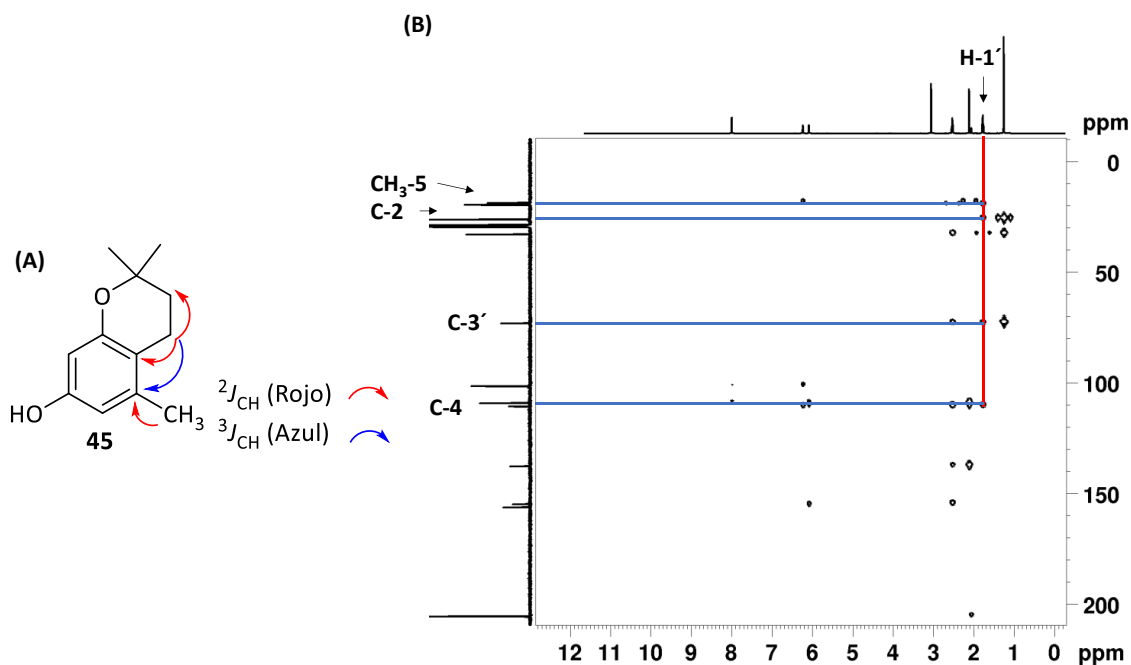
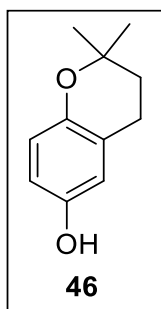


Figura 11: (A) Análisis del espectro bidimensional de correlación heteronuclear ^1H - ^{13}C HMBC del compuesto **45**. Las flechas rojas corresponden a las señales a $^2J_{\text{CH}}$ y las flechas azules corresponden a las señales a $^3J_{\text{CH}}$. (B) Espectro 2D HMBC del compuesto **45**.

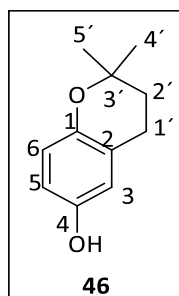
Para el resto de las moléculas de la serie de prenil-fenoles ciclados, se les realizó el mismo análisis del espectro bidimensional de correlación heteronuclear ^1H - ^{13}C HMBC tanto a $^2J_{\text{CH}}$ como a $^3J_{\text{CH}}$. Por tanto, podemos tomar el análisis del compuesto **45** como modelo para el resto de los compuestos de la serie de prenil-fenoles ciclados (véase anexo).

SÍNTESIS DEL COMPUESTO 46



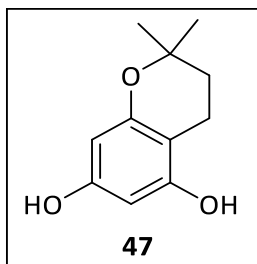
Se masó 1,0 g del compuesto **24** (5,6 mmol), 1,666 g de APTS en PEG-40 y agua destilada. Después del procedimiento general descrito en la sección 6.1.2.4, el crudo de la reacción fue purificado por cromatografía en columna (CC), usando como fase estacionaria silica gel y como fase móvil una mezcla de hexano/AcOEt de polaridad creciente (100% Hex:0% AcOEt \rightarrow 0% Hex:100% AcOEt), obteniéndose finalmente una fracción de 633,1 mg (57,5% de rendimiento) de un sólido de color blanco, compuesto **46**.

COMPUESTO 46: [2,2-dimetilcroman-6-ol]



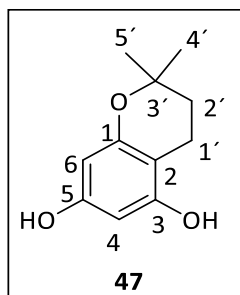
RMN de ^1H ($(\text{CD}_3)_2\text{CO}$): 7,63 (s, 1H, OH-4); 6,54 (m, 3H, H-6, H-3 y H-5); 2,69 (t, $J = 6,8$ Hz, 2H, H-2'); 1,74 (t, $J = 6,8$ Hz, 2H, H-1'); 1,25 (s, 6H, H-4' y H-5'). **RMN de ^{13}C ($(\text{CD}_3)_2\text{CO}$):** 150,28 (C-4); 147,04 (C-1); 121,33 (C-2); 117,36 (C-6); 115,11 (C-3); 114,23 (C-5); 73,01 (C-3'); 32,58 (C-1'); 26,08 (C-4' y C-5'); 22,33 (C-2'). **EM (m/z, %):** 177,09 (M^+ , 100,0).

SÍNTESIS DEL COMPUESTO 47



Se masó 1,0 g de floroglucinol prenilado (5,6 mmol), 1,666 g de APTS en PEG-40 y agua destilada. Después del procedimiento general descrito en la sección 6.1.2.4, el crudo de la reacción fue purificado por cromatografía en columna (CC), usando como fase estacionaria silica gel y como fase móvil una mezcla de hexano/AcOEt de polaridad creciente (100% Hex:0% AcOEt → 0% Hex:100% AcOEt), obteniéndose finalmente una fracción de 633,1 mg (31,8% de rendimiento) de un sólido de color blanco, compuesto **47**.

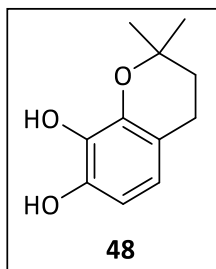
COMPUESTO 47: [2,2-dimetilcroman-5,7-diol]



RMN de ^1H ($(\text{CD}_3)_2\text{CO}$): 8,01 (s, 1H, OH-3); 7,87 (s, 1H, OH-5); 5,95 (d, $J = 2,4$ Hz, 1H, H-6); 5,79 (d, $J = 2,4$ Hz, 1H, H-4); 2,54 (t, $J = 6,8$ Hz, 2H, H-2'); 1,72 (t, $J = 6,8$ Hz, 2H, H-1');

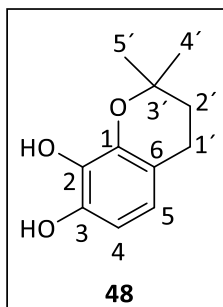
RMN de ^{13}C ($(\text{CD}_3)_2\text{CO}$): 158,07 (C-1); 157,42 (C-3); 156,88 (C-5); 101,19 (C-2); 96,75 (C-4); 95,87 (C-6); 74,69 (C-3'); 33,69 (C-1'); 27,40 (C-4' y C-5'); 17,88 (C-2'). **EM (m/z, %):** $\text{M}^+ = 193,09$ (M^+ , 100,0).

SÍNTESIS DEL COMPUESTO 48



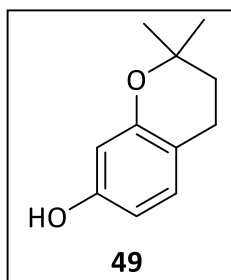
Se masó 2,0 g del compuesto **26** (10,30 mmol), 1,5000 g de APTS en PEG-40 y agua destilada. Después del procedimiento general descrito en la sección 6.1.2.4, el crudo de la reacción fue purificado por cromatografía en columna (CC), usando como fase estacionaria silica gel y como fase móvil una mezcla de hexano/AcOEt de polaridad creciente (100% Hex:0% AcOEt → 0% Hex:100% AcOEt), obteniéndose finalmente una fracción de 219,0 mg (10,0% de rendimiento) de un sólido de color naranja, compuesto **48**.

COMPUESTO 48: [2,2-dimetilcroman-7,8-diol]



RMN de ¹H (CDCl₃): 6,51 (dt, *J* = 8,4 Hz y 0,8 Hz, 1H, *H*-5); 6,47 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H, *H*-4); 5,40 (s, 1H, *OH*-3); 5,21 (s, 1H, *OH*-2); 2,71 (td, *J* = 6,8 Hz y 0,8 Hz, 2H, *H*-2'); 1,80 (t, *J* = 6,6 Hz, 2H, *H*-1'); 1,35 (s, 6H, *H*-4' y *H*-5'). **RMN de ¹³C (CDCl₃):** 141,91 (*C*-3); 141,21 (*C*-1); 131,72 (*C*-2); 119,53 (*C*-5); 113,07 (*C*-6); 107,09 (*C*-4); 75,45 (*C*-3'); 32,98 (*C*-1'); 26,82 (*C*-4' y *C*-5'); 21,51 (*C*-2'). **EM (m/z, %):** 193,09 (*M*⁺, 100,0).

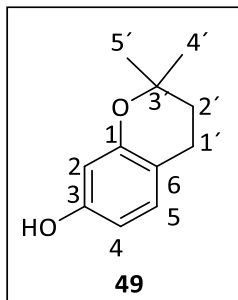
SÍNTESIS DEL COMPUESTO 49



Se masó 0,4646 g del compuesto **27** (2,61 mmol), 1,9783 g de APTS en PEG-40 y agua destilada. Después del procedimiento general descrito en la sección 6.1.2.4, el crudo de la reacción fue purificado por cromatografía en columna (CC), usando como fase estacionaria silica gel y como fase móvil una mezcla de hexano/AcOEt de polaridad creciente (100% Hex:0% AcOEt → 0% Hex:100%

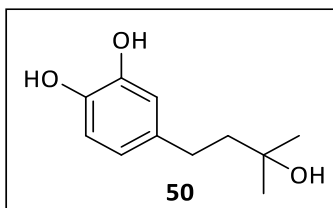
AcOEt), obteniéndose finalmente una fracción de 130,9 mg (25,7% de rendimiento) de un sólido de color blanco, compuesto **49**.

COMPUESTO 49: [2,2-dimetilcroman-7-ol]



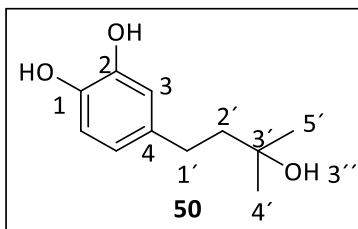
RMN de ^1H ($(\text{CD}_3)_2\text{CO}$): 8,11 (s, 1H, OH-3); 6,84 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H, H-5); 6,31 (dd, $J = 8,2$ Hz y 2,4 Hz, 1H, H-4); 6,20 (d, $J = 2,4$ Hz, 1H, H-2); 2,65 (t, $J = 6,8$ Hz, 2H, H-2'); 1,74 (t, $J = 6,8$ Hz, 2H, H-1'); 1,26 (s, 6H, H-4' y H-5'). **RMN de ^{13}C (CDCl_3):** 156,68 (C-3); 154,76 (C-1); 129,79 (C-3); 111,71 (C-6); 107,44 (C-4); 103,40 (C-2); 73,58 (C-3'); 32,76 (C-1'); 26,17 (C-4' y C-5'); 21,42 (C-2'). **EM (m/z, %):** 177,09 (M^+ , 100,0).

SÍNTESIS DEL COMPUESTO 50



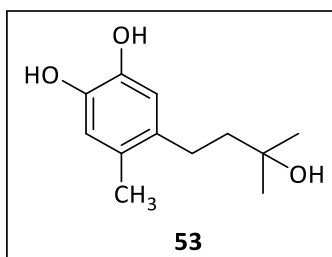
Se masó 0,5 g del compuesto **28b** (2,81 mmol), 1,50 g de APTS en PEG-40 y agua destilada. Después del procedimiento general descrito en la sección 6.1.2.4, el crudo de la reacción fue purificado por cromatografía en columna (CC), usando como fase estacionaria silica gel y como fase móvil una mezcla de hexano/AcOEt de polaridad creciente (100% Hex:0% AcOEt \rightarrow 0% Hex:100% AcOEt), obteniéndose finalmente una fracción de 297,8 mg (54,1% de rendimiento) de un sólido de color blanco, compuesto **50**.

COMPUESTO 50: [4-(3-hidroxi-3-metilbutil)benzeno-1,2-diol]



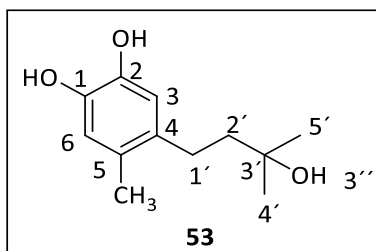
RMN de ^1H ($(\text{CD}_3)_2\text{CO}$): 7,63 (s, 1H, OH-2); 7,60 (s, 1H, OH-1); 6,71 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H, H-6); 6,69 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H, H-3); 6,52 (dd, $J = 8,0$ Hz y 2,0 Hz, 1H, H-5); 3,31 (s, 1H, H-3'); 2,55 (m, 2H, H-2'); 1,68 (m, 2H, H-1'); 1,21 (s, 6H, H-4' y H-5'). **RMN de ^{13}C ($(\text{CD}_3)_2\text{CO}$):** 145,69 (C-2); 143,62 (C-1); 135,69 (C-4); 120,16 (C-5); 116,13 (C-3); 115,90 (C-6); 69,99 (C-3'); 47,14 (C-1'); 30,18 (C-2'); 29,80 (C-4' y C-5'). **EM (m/z, %):** 195,10 (M^+ , 100,0).

SÍNTESIS DEL COMPUESTO 53



Se masó 0,54 g del compuesto **31b** (2,81 mmol), 0,898 g de APTS en PEG-40 y agua destilada. Después del procedimiento general descrito en la sección 6.1.2.4, el crudo de la reacción fue purificado por cromatografía en columna (CC), usando como fase estacionaria silica gel y como fase móvil una mezcla de hexano/AcOEt de polaridad creciente (100% Hex:0% AcOEt \rightarrow 0% Hex:100% AcOEt), obteniéndose finalmente una fracción de 150,3 mg (25,6% de rendimiento) de un sólido de color blanco, compuesto **53**.

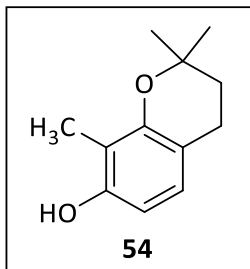
COMPUESTO 53: [4-(3-hidroxi-3-metilbutil)-5-metilbenceno-1,2-diol]



RMN de ^1H ($(\text{CD}_3)_2\text{CO}$): 7,46 (s, 2H, OH-2 y OH-1); 6,62 (s, 1H, H-3); 6,60 (s, 1H, H-6); 3,45 (s, 1H, H-3'); 2,54 (m, 2H, H-2'); 2,13 (s, 3H, CH_3 -5); 1,62 (m, 2H, H-1'); 1,24 (s, 6H, H-4' y H-5'). **RMN de ^{13}C**

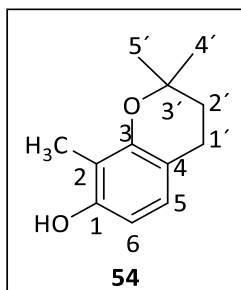
$(\text{CD}_3)_2\text{CO}$: 144,43 (C-1); 144,16 (C-2); 133,88 (C-4); 127,98 (C-5); 118,72 (C-6); 117,54 (C-3); 70,01 (C-3'); 46,68 (C-1'); 30,30 (C-4' y C-5'); 28,96(C-2'); 19,23 (CH₃-5). **EM (m/z, %)**: 209,12 (M⁺, 100,0).

SÍNTESIS DEL COMPUESTO 54



Se masó 0,4 g del compuesto **32** (2,08 mmol), 1,60 g de APTS en PEG-40 y agua destilada. Después del procedimiento general descrito en la sección 6.1.2.4, el crudo de la reacción fue purificado por cromatografía en columna (CC), usando como fase estacionaria silica gel y como fase móvil una mezcla de hexano/AcOEt de polaridad creciente (100% Hex:0% AcOEt → 0% Hex:100% AcOEt), obteniéndose finalmente una fracción de 137,1 mg (31,2% de rendimiento) de un sólido de color blanco, compuesto **54**.

COMPUESTO 54: [2,2,8-trimetilcroman-7-ol]



RMN de ¹H $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$: 7,80 (s, 1H, OH-1); 6,68 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H, H-5); 6,35 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H, H-6); 2,66 (t, *J* = 6,8 Hz, 2H, H-2'); 2,01 (s, 3H, CH₃-2); 1,73 (t, *J* = 6,8 Hz, 2H, H-1'); 1,29 (s, 6H, H-4' y H-5').

RMN de ¹³C $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$: 154,89 (C-1); 153,41 (C-3); 126,91 (C-5); 112,35 (C-4); 112,15 (C-2); 107,53 (C-6); 74,28 (C-3'); 33,48 (C-1'); 27,20 (C-4' y C-5'); 22,65(C-2'); 8,46 (CH₃-2). **EM (m/z, %)**: 209,12 (M⁺, 100,0).

6.2 Sección biológica

En esta sección se describirán los materiales, reactivos, solventes y equipos que se usaron en los ensayos de germinación-crecimiento de semillas de tomate, ensayos de fitotoxicidad en hojas de plantas de tomates y ensayos de citotoxicidad en esporas de *B. cinerea* (B-0.5).

6.2.1 MATERIALES

6.2.1.1 SOLVENTES:

Todos los solventes empleados en los diferentes ensayos biológicos fueron adquiridos desde los siguientes proveedores de reactivos químicos: *Acros Organics* y *Sigma-Aldrich*, en grado analítico (p. a):

- Etanol puro
- Dimetil sulfóxido, DMSO.

6.2.1.2 INSUMOS:

- Thiazolyl blue tetrazolium bromide 98% (MTT), Acros Organics.
- RPMI-1640 medium, Sigma-Aldrich.
- Methyl-1,4-naphtoquinona (menadiona), Acros Organics.
- Estreptomicina y penicilina 1%, Gibco.
- Sodium hydroxide 97%, Acros Organics.
- Semillas de Tomate,
- Vermiculita
- Nutrischem
- Micropipetas de 20 – 200 y 100 – 1000 μ L, Sorenson BioScience Inc – One Touch.
- Micropipeta multicanal de 10 - 100 μ L, Fischerbrand.
- Placa para muestras de hongos, Thermo Scientific.
- Placa/pocillo para germinación de semillas.

6.2.1.3 EQUIPOS:

- Vortex Mixer, Velp Scientifica – Classic Advanced Vortex Mixer.

- Balanza Analítica, Ohaus.
- pH-metro, Hama Instruments – Edge.
- Cámara estéril Biological Safety Cabinet, Haier – HR 900 IL A2.
- Estufa, Kowell
- Espectrofotómetro, Biotek – ELX 800.

6.2.2 Germinación de semillas y Crecimiento de raíces de tomate

Las semillas de tomate (*Solanum lycopersicum*) se dejaron remojando en agua destilada durante 12 horas. A continuación, se prepararon cajas multiceldas de 12 pocillos (2 cm de diámetro) con 10 semillas/celda sobre discos de papel filtro y por un total de 4 repeticiones por tratamiento. A cada pocillo se le añadió 20 μL del compuesto ensayado y a diferentes concentraciones: 5,0, 2,50 y 1,25 mg/mL. Luego, se añadió 500 μL de agua destilada en cada pocillo. Las cajas multiceldas se dejaron germinar en cámaras de cría durante 7 días. Finalmente, al día 7 del ensayo se cogieron 25 raíces al azar de todas las repeticiones de cada tratamiento y se midieron la longitud de sus raíces con el software *ImageJ*.

6.2.2.1 Preparación de medios de cultivo

- **RPMI (Roswell Park Memorial Institute) y su variante con MOPS: 500 mL de disolución**

En un matraz Erlenmeyer de 1 L de capacidad se pesó 5,210 g de RPMI-1640 en polvo, 17,25 g de MOPS y se enrasó con agua destilada hasta completar 500 mL. El pH de la disolución se ajustó con una disolución de NaOH 10N hasta un pH final de 7. El matraz Erlenmeyer se llevó a una autoclave durante 40 minutos a 121 °C. Una vez enfriado el medio de cultivo RPMI-MOPS, se trabajó bajo campana estéril donde se adicionó 1000 μL de un stock de antibiótico 1%. El medio de cultivo RPMI-MOPS se guardó en tubos falcón de 50 mL y se congeló hasta su uso.

6.2.2.2 Preparación de las muestras, controles y agentes reveladores

- **Preparación de las muestras stock 10 mg/mL:**

En un tubo Eppendorf se pesó 0,25 mg de cada compuesto y se añadió 25 μL de DMSO al 100%. De estos stocks, se tomaron 20 μL y los disolvieron con 780 μL de agua estéril para crear alícuotas de stock intermedio a 2000 $\mu\text{g/mL}$.

- **Control negativo: DMSO al 1%**

En un tubo Eppendorf se tomó 20 μL de DMSO y se añadió 780 μL de agua destilada.

- Preparación de disoluciones reveladores: MTT a 5 mg/mL y menadiona 1 mM

En un tubo falcón se masó 0,0403 g de MTT y 0,0016 g de menadiona. En la cámara estéril, se añadió 8 mL de la disolución RPMI-MOPS y se homogeneizó en un vortex.

- **Preparación de una disolución de isopropanol ácido**

En un tubo falcón se tomaron 71,25 mL de isopropanol y 3,75 mL de HCl concentrado, mezclar y reservar.

6.2.2.3 Trabajo en placa

Los volúmenes que se aplicaron por pocillos fueron: 80 μL de la muestra (stock intermedio) + 100 μL del medio RPMI-MOPS y 20 μL de suspensión de esporas de *Botrytis cinerea* B0.5. Las placas multipocillos constan de 12 columnas cada una con 8 pocillos (véase el anexo). La placa se enumerará del 1 al 12 (columnas) y del A al H (filas).

Primero se añadió 80 μL de agua estéril en las columnas 2 a 5 y 7 a 10, mientras que en las columnas 1 y 6 se añadió 160 μL de nuestra muestra (stock intermedio). Luego, se tomaron 80 μL de los pocillos 1 y 6 y se transfirieron a la siguiente columna de manera sucesiva (creando un volumen de 160 μL cada vez) de este modo se fue diluyendo la muestra. Al llegar a las columnas 5 y 10, se volvió a tomar 80 μL y se eliminaron. Posteriormente, se añadió 100 μL del medio RPMI-MOPS a todas las columnas y se finalizó añadiendo 20 μL de una solución de esporas de *Botrytis cinerea* B0.5. Las placas fueron incubadas en una estufa a 25 °C durante 24 horas.

6.2.2.4 Revelado

Pasado las 24 horas de incubación, a cada pocillo de la placa se añadieron 25 μL de la disolución reveladora MTT-menadiona. Y se volvió a incubar la placa durante 3 horas a 25 °C. Tras incubar, las esporas se habrán precipitado al fondo del pocillo. Mediante una trampa de succión, se eliminó tanto medio como fuera posible. Después, se añadió 200 μL de isopropanol ácido a cada pocillo y se incubó durante 30 minutos.

Las lecturas de las absorbancias se midieron en un ordenador acoplado a un lector ELISA y se empleó el software Gen5 2.01. Las absorbancias se midieron a 490 y 630 nm.

6.2.3 Ensayos en hojas de tomate

En micro-aspersores, se prepararon 1 mL de cada compuesto y se disolvió en EtOH puro, donde la concentración de cada producto se calculó a través de ED_{80-90} μg del pocillo/100 μL . Se eligieron plantas de tomate de 21 días y en réplicas de 4 plantas, se trataron dos hojas por planta con 50 μL /pulso del compuesto dos veces. Una vez pasado el tiempo de ensayo (24 h o 48 h), el área de las zonas afectadas se midió utilizando el software *imageJ*. Los resultados se reportaron en cm^2 de área afectada.

7 Resultados y Discusión

A continuación, se detallarán las reacciones de prenilación, alilación e hidratación, como también la formación de la serie de prenil-fenoles ciclados.

7.1 Objetivo específico 1

Sintetizar los compuestos de la serie de Alil- y prenil-fenoles mediante alilación/prenilación de Friedels-Crafts y Reordenamiento de Claisen para llevar a cabo el acoplamiento en el anillo aromático correspondiente.

7.1.1 Reacciones de prenilación, alilación e hidratación

7.1.1.1 Reacciones de prenilación: vía Friedels-Crafts

Los núcleos aromáticos de partida utilizados en la reacción de acoplamiento se caracterizan por presentar grupos -OH y grupos -CH₃. El grupo -OH activa al anillo aromático donando densidad electrónica mediante efecto mesomérico mientras que el grupo -CH₃ lo hace mediante efecto inductivo. En ambos casos, los dos tipos de sustituyentes activan los núcleos aromáticos frente a la sustitución electrofílica aromática (S_EAr).

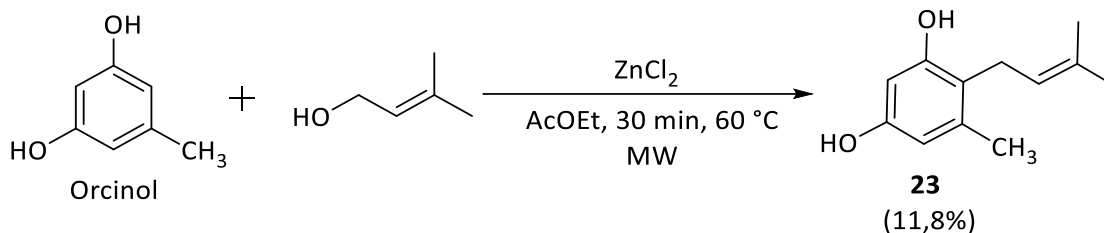
La reacción de prenilación se llevó a cabo entre el prenilol y un núcleo aromático, mediante una reacción del tipo Friedels-Crafts. La reacción fue catalizada empleando ZnCl₂ y promovida por irradiación de microondas (MW). El empleo del ácido de Lewis, ZnCl₂, permitió la formación de un complejo entre el catión Zn⁺² y el grupo -OH del prenilol, lo que provocó un aumento en la polaridad del enlace C-O, haciéndolo más electrofílico al átomo de carbono y, por tanto, más susceptible de ser atacado por el núcleo aromático. No obstante, un aumento significativo en la cantidad del catalizador de Lewis llevaría a desactivar el anillo por la formación de complejos entre el Zn⁺² y los grupos -OH del anillo aromático, como también la formación, débil pero significativa, entre el doble enlace C=C del prenilol y el catión Zn⁺², lo que minimizó la formación de los compuestos objetivos mono-acoplados.

Los crudos de reacción fueron observados en placas de sílica mediante la técnica de CCF, donde se empleó una fase móvil de hexano:AcOEt (7:3) para eluir la mezcla de reacción y de esta manera identificar la presencia de los diferentes compuestos formados durante la reacción. Estos compuestos presentaron coeficientes de retención, R_f, mayores a los de sus respectivos anillos

aromáticos. Por lo tanto, cada sub-producto sobre el anillo aromático representó a compuestos más apolares tales como compuestos mono-acoplados, di-acoplados, tri-acoplados e incluso compuestos ciclados.

- **Reacción de acoplamiento entre orcinol y prenol**

La reacción directa entre el prenol y el orcinol permitió sintetizar el compuesto mono-acoplado **23** donde se obtuvo un 11,8% de rendimiento (véase **Esquema 7**)



Esquema 7: Reacción de acoplamiento entre el Orcinol y prenol en presencia de un ácido de Lewis como catalizador.

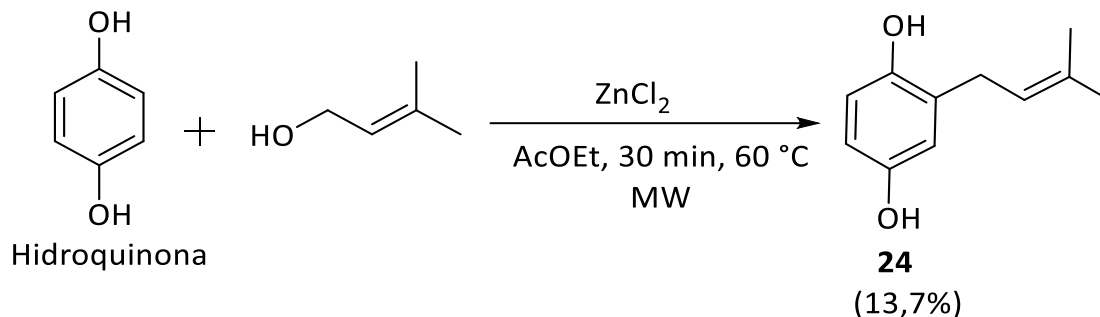
La molécula de orcinol presenta dos grupos -OH y un grupo -CH₃, además, esta molécula presenta un plano de simetría lo que permitiría reducir los sitios de acoplamientos entre los grupos -OH y -CH₃. Experimentalmente, el rendimiento de la reacción de acoplamiento fue de un 11,8%. Una consecuencia de la reacción de Friedels-Crafts, sería una mayor activación del anillo de orcinol, por lo que el anillo prenilado sería más reactivo y estaría, por tanto, más susceptible a un nuevo acoplamiento. Finalmente, el acoplamiento de la cadena de prenilo ocurrió en la posición *orto* al grupo -OH y al grupo -CH₃.

La determinación estructural de todos los compuestos se realizó por técnicas espectroscópicas de EM y, por experimentos mono- y bidimensionales de RMN.

El compuesto **23** mostró una señal de ion molecular a m/z M⁺ 193,12 cuyo valor coincide con la masa molecular teórica predicha. Desde el espectro de protones se identifica una señal a un $\delta = 3,27$ ppm (d, $J = 6,8$ Hz, 2H) que corresponde a los protones bencílicos/alílicos, confirmando el éxito del acoplamiento entre el prenol y el orcinol, mientras que a campo bajo se observaron las señales correspondientes a los protones aromáticos $\delta = 6,26$ (d, $J = 2,4$ Hz, 1H, *H-6*) y $\delta = 6,21$ (d, $J = 2,4$ Hz, 1H, *H-2*); además podemos inferir a partir del valor de la constante de acoplamiento, que los protones aromático están en posición *meta* uno con respecto al otro.

- **Reacción de acoplamiento entre hidroquinona y prenol**

La reacción directa entre el prenol y la hidroquinona permitió sintetizar el compuesto mono-acoplado **24** donde se obtuvo un 13,7% de rendimiento (véase **Esquema 8**).



Esquema 8: Reacción de acoplamiento entre la hidroquinona y prenol en presencia de un ácido de Lewis como catalizador.

La hidroquinona presenta dos grupos -OH en las posiciones 1,4, por lo que presenta dos planos de simetría con lo cual disminuiría las posibilidades de acoplamiento para el producto mono-acoplado, ya que los cuatro protones son absolutamente iguales. Experimentalmente, el rendimiento de la reacción fue de un 13,7%. Al igual que en la síntesis anterior, la hidroquinona prenilada estaría más activada y, por tanto, sería más susceptible a un nuevo acoplamiento. Finalmente, el acoplamiento de la cadena de prenilo ocurrió en posición *orto* a uno de los grupos -OH. La determinación estructural de todos los compuestos se realizó por técnicas espectroscópicas de EM y, por experimentos mono- y bidimensionales de RMN.

El compuesto **24** mostró una señal de ion molecular a m/z M^+ 177,10 cuyo valor coincide con la masa molecular teórica predicha. Desde el espectro de protones se identifica una señal a un $\delta = 3,29$ ppm (d, $J = 7,2$ Hz, 2H) que corresponde a los protones bencílicos/alílicos, confirmando el éxito del acoplamiento entre el prenol y la hidroquinona, mientras que a campo bajo se observan las señales correspondientes a los protones aromáticos $\delta = 6,68$ (d, $J = 8,4$ Hz, 1H, *H*-6), $\delta = 6,61$ (d, $J = 2,8$ Hz, 1H, *H*-3) y $\delta = 6,58$ (dd, $J = 8,4$ Hz y 3,2 Hz, 1H, *H*-5); además podemos inferir a partir de los valores de la constante de acoplamiento, que los protones aromático están en posición *orto* y *meta* uno con respecto al otro.

- **Reacción de acoplamiento entre resorcinol y prenol**

La reacción directa entre el prenol y la hidroquinona permitió sintetizar el compuesto mono-acoplado **27** obteniéndose un 4,8% de rendimiento (véase **Esquema 9**).



Esquema 9: Reacción de acoplamiento entre el resorcinol y prenol en presencia de un ácido de Lewis como catalizador.

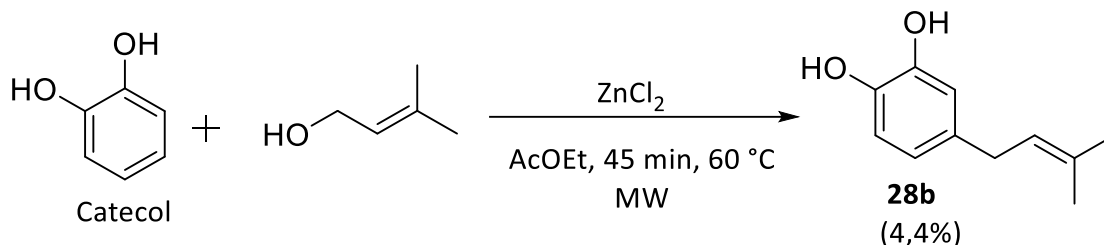
El resorcinol presenta dos grupos -OH en las posiciones 1,3. De acuerdo con la disposición de los dos grupos -OH, esta molécula presenta un plano de simetría con lo que disminuiría los sitios de acoplamiento; además, la posición del C2 estaría menos disponible para el acoplamiento debido a posibles efectos estéricos que impedirían la prenilación. El rendimiento de la reacción fue de un 4,8%. Finalmente, el acoplamiento ocurrió en la posición *orto* al grupo -OH.

La determinación estructural de todos los compuestos se realizó por técnicas espectroscópicas de EM y, por experimentos mono- y bidimensionales de RMN.

El compuesto **27** mostró una señal de ion molecular a m/z M^+ 179,10 cuyo valor coincide con la masa molecular teórica predicha. Desde el espectro de protones se identifica una señal a un $\delta = 3,27$ ppm (d, $J = 7,2$ Hz, 2H) que corresponde a los protones bencílicos/alílicos, confirmando el éxito del acoplamiento entre el prenol y el resorcinol, mientras que a campo bajo se observan las señales correspondientes a los protones aromáticos $\delta = 6,93$ ppm (d, $J = 8,4$ Hz, 1H, *H*-5), $\delta = 6,37$ (d, $J = 2,4$ Hz, 1H, *H*-6) y $\delta = 6,35$ (d, $J = 1,2$ Hz, 1H, *H*-2); además podemos inferir a partir de los valores de la constante de acoplamiento, que los protones aromático están en posición *orto* y *meta* uno con respecto al otro.

- **Reacción de acoplamiento entre catecol y prenol**

La reacción directa entre el prenol y el catecol permitió sintetizar el compuesto acoplado **28b** obteniéndose un 4,4% de rendimiento (véase **Esquema 10**).



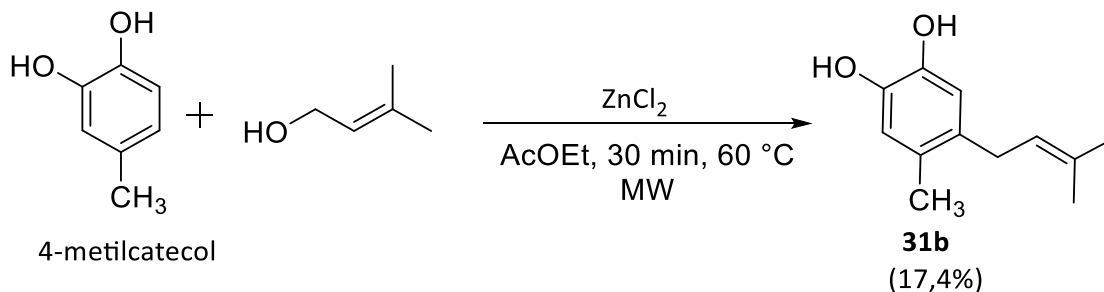
Esquema 10: Reacción de acoplamiento entre el catecol y prenol en presencia de un ácido de Lewis como catalizador.

La molécula de catecol presenta dos grupos -OH en las posiciones 1,2. De acuerdo con esta disposición de los grupos -OH, el catecol presenta un plano de simetría que disminuiría las posibilidades de acoplamiento; sin embargo, estos sitios serían no equivalentes y se esperaría una mezcla de dos isómeros. Experimentalmente, el acoplamiento ocurrió en la posición *para* al grupo -OH, donde el rendimiento de la reacción fue de un 4,4%.

Desde el espectro de protones se identifica una señal a un $\delta = 3,23$ ppm (d, $J = 7,4$ Hz, 2H, $H-1'$) que corresponde a los protones bencílicos/alílicos, confirmando el éxito del acoplamiento entre el prenol y el catecol, mientras que a campo bajo se observan las señales correspondientes a los protones aromáticos $\delta = 6,77$ ppm (d, $J = 8,1$ Hz, 1H, $H-6$), $\delta = 6,70$ ppm (d, $J = 1,6$ Hz, 1H, $H-3$); y $\delta = 6,62$ ppm (dd, $J = 8,0$ Hz y 1,8 Hz, 1H, $H-5$), además podemos inferir a partir de los valores de la constante de acoplamiento, que los protones aromático están en posición *orto* y *meta* uno con respecto al otro.

- **Reacción de acoplamiento entre 4-metilcatecol y prenol**

La reacción directa entre el prenol y el 4-metilcatecol permitió sintetizar el compuesto acoplado **31b** obteniéndose un 17,4% de rendimiento (véase **Esquema 11**).



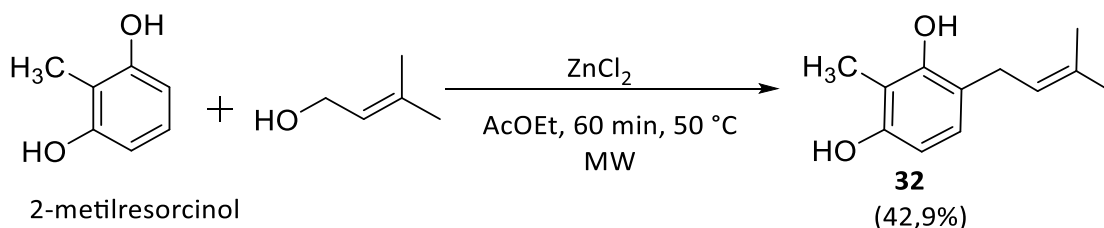
Esquema 11: Reacción de acoplamiento entre el 4-metilcatecol y prenol en presencia de un ácido de Lewis como catalizador.

La molécula de 4-metilcatecol presenta dos grupos -OH y un grupo -CH₃. De acuerdo con la disposición de estos tres sustituyentes, la molécula no presenta plano de simetría. Con base a lo anterior, el acoplamiento de la cadena de prenilo ocurriría tanto en las posiciones *orto* y *para* con respecto a los grupos -OH; además, el C3 estaría menos disponible para el acoplamiento debido a posibles efectos estéricos entre el grupo -OH y el grupo -CH₃. Experimentalmente, el acoplamiento ocurrió en la posición *para* con respecto al grupo -OH y *orto* con respecto al grupo -CH₃. El rendimiento de la reacción fue de un 17,4%.

El compuesto **31b** mostró una señal de ion molecular a m/z M⁺ 191,11 cuyo valor coincide con la masa molecular teórica predicha. Desde el espectro de protones se identifica una señal a un $\delta = 3,17$ ppm (d, $J = 7,2$ Hz, 2H) que corresponde a los protones bencílicos/alílicos, confirmando el éxito del acoplamiento entre el prenol y el 4-metilcatecol, mientras que a campo bajo se observan las señales correspondientes a los protones aromáticos $\delta = 6,67$ (s, 2H, H-4, H-6).

- **Reacción de acoplamiento entre 2-metilresorcinol y prenol**

La reacción directa entre el prenol y el 2-metilresorcinol permitió sintetizar el compuesto mono-acoplado **32** obteniéndose un 42,9% de rendimiento (véase **Esquema 12**)



Esquema 12: Reacción de acoplamiento entre el 2-metilresorcinol y prenol en presencia de un ácido de Lewis como catalizador.

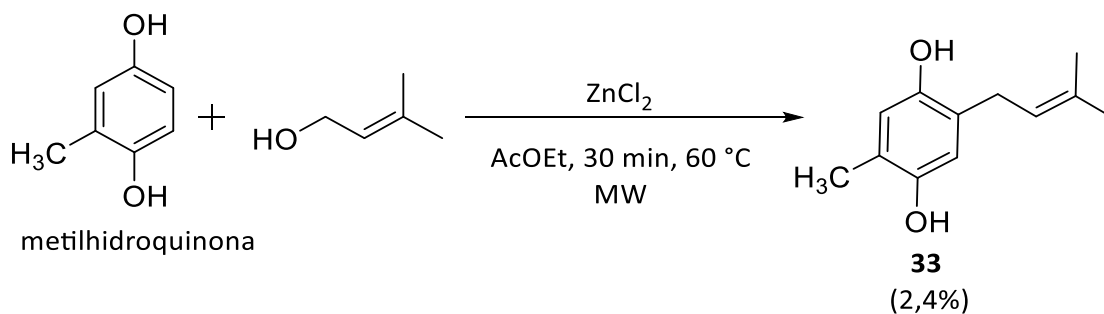
La molécula de 2-metilresorcinol presenta dos grupos -OH y un grupo -CH₃. De acuerdo con la disposición de estos tres sustituyentes, la molécula presenta un plano de simetría, con lo cual se disminuiría los sitios de acoplamiento, ya que los dos protones *orto* a los grupos -OH, son químicamente iguales. Experimentalmente, el acoplamiento de la cadena de prenilo ocurrió en la posición *orto* al grupo -OH, obteniéndose un rendimiento de un 42,9%.

El compuesto **32** mostró una señal de ion molecular a m/z M⁺ 191,11 cuyo valor coincide con la masa molecular teórica predicha. Desde el espectro de protones se identifica una señal a un $\delta = 3,30$ ppm (d, $J = 7,2$ Hz, 2H) que corresponde a los protones bencílicos/alílicos, confirmando el éxito del

acoplamiento entre el prenol y el 2-metilresorcinol, mientras que a campo bajo se observan las señales correspondientes a los protones aromáticos $\delta = 6,80$ ppm (dd, $J = 8,8; 0,6$ Hz, 1H, *H-5*) y 6,34 ppm (d, $J = 8,4$ Hz, 1H, *H-6*); además podemos inferir a partir de los valores de la constante de acoplamiento, que los protones aromático están en posición *orto* uno con respecto al otro.

- **Reacción de acoplamiento entre metilhidroquinona y prenol**

La reacción directa entre el prenol y el metilhidroquinona permitió sintetizar el compuesto monoacoplado **33** obteniéndose un 2,4% de rendimiento (véase **Esquema 13**).



Esquema 13: Reacción de acoplamiento entre el metilhidroquinona y prenol en presencia de un ácido de Lewis como catalizador.

La molécula de metilhidroquinona presenta dos grupos -OH y un grupo -CH₃. De acuerdo con la disposición de estos sustituyentes, la metilhidroquinona, no presenta plano de simetría, por lo que se esperaría tres sitios posibles para el acoplamiento de la cadena de prenilo. Sin embargo, el C3 estaría menos disponible para el acoplamiento debido a posibles efectos estéricos entre el grupo -OH y el grupo -CH₃. Experimentalmente, el acoplamiento ocurrió en la posición *orto* al grupo -OH del C4, obteniéndose un rendimiento de reacción de un 2,4%.

El compuesto **33** mostró una señal de ion molecular a $m/z M^+$ 191,11 cuyo valor coincide con la masa molecular teórica predicha. Desde el espectro de protones se identifica una señal a un $\delta = 3,37$ ppm (dt, $J = 6,8; 1,0$ Hz, 2H) que corresponde a los protones bencílicos/alílicos, confirmando el éxito del acoplamiento entre el prenol y la metilhidroquinona, mientras que a campo bajo se observan las señales correspondientes a los protones aromáticos $\delta = 6,55$ (s, 2H, *H-6; H-3*). La ausencia de una constante de acoplamiento permite confirmar que ambos protones se encuentran en posición *para* uno con respecto al otro.

7.1.2 Acoplamiento de la cadena de alilo

7.1.2.1 Reacción de alilación: vía Friedel-Crafts.

La reacción de alilación se llevó de manera similar a lo descrito en la sección 7.1.1.1, empleando cloruro de alilo y un núcleo aromático.

7.1.2.2 Reacción de alilación: vía Reordenamiento de Claisen

La reacción de acoplamiento se llevó a cabo en dos etapas. Primero, se realizó una reacción de neutralización entre el núcleo aromático y KOH (base fuerte), seguido de la adición de cloruro de alilo; en la segunda etapa, se llevó a cabo el Reordenamiento de Claisen. En ambas etapas, las reacciones fueron promovidas por MW.

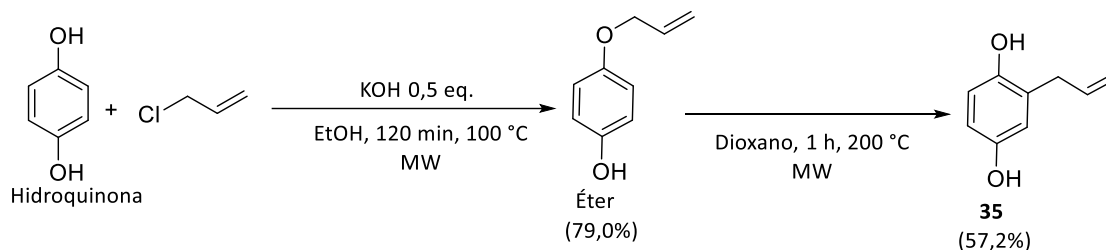
Durante la primera etapa, ocurrió una reacción de neutralización entre los hidrógenos de los grupos -OH del correspondiente núcleo aromático, ya que estos son ligeramente ácidos ($pK_a \sim 9,9$). Las proporciones utilizadas fueron 1:0,5 (núcleo aromático:KOH), de esta forma, se aseguró la neutralización de uno de los dos grupos -OH, generando el mono-anión fenóxido, que actúa como un buen nucleófilo. La formación del éter inicia cuando se adiciona cloruro de alilo a la mezcla; el átomo de cloro, que actúa como buen grupo saliente, promueve un mecanismo del tipo S_N2 . Al prescindir de un catalizador de Lewis, no se esperan reacciones secundarias, ya que la formación del éter se lleva a cabo mediante un paso concertado, evitando así la formación de sub-productos. Sin embargo, es importante controlar la cantidad de base, ya que una neutralización completa implicaría la formación de di-éteres. Por otra parte, las condiciones de reacción fueron mayores que las empleadas para el acoplamiento del tipo Friedels-Crafts, empleando un tiempo de 120 min a 100 °C.

Los sub-productos se observaron en placas de sílica mediante la técnica de CCF, donde se empleó una fase móvil hexano:AcOEt (7:3) para eluir la mezcla de reacción e identificar la presencia de los diferentes compuestos formados durante la reacción.

En la segunda etapa, corresponde al Reordenamiento de Claisen, un tipo de reacción pericíclica exotérmica concertada. En este paso se lleva a cabo el acoplamiento de la cadena de alilo sobre el núcleo aromático. Estudios anteriores, han informado que el Reordenamiento se lleva a cabo a temperaturas superiores a 190 °C, incluso llegando a los 230 °C. Este tipo de Reordenamiento es regioselectiva hacia las posiciones *orto* con respecto al grupo -OH y depende de la presencia de grupos activantes o desactivante en el anillo aromático.

- **Reacción de acoplamiento entre hidroquinona y cloruro de alilo**

La reacción entre la hidroquinona y el cloruro de alilo en presencia de KOH seguido de un Reordenamiento de Claisen permitió sintetizar el compuesto mono-acoplado **35** obteniéndose un 57,2% de rendimiento (véase **Esquema 14**).



Esquema 14: Reacción de acoplamiento entre el hidroquinona y cloruro de alilo a través de un reordenamiento de Claisen.

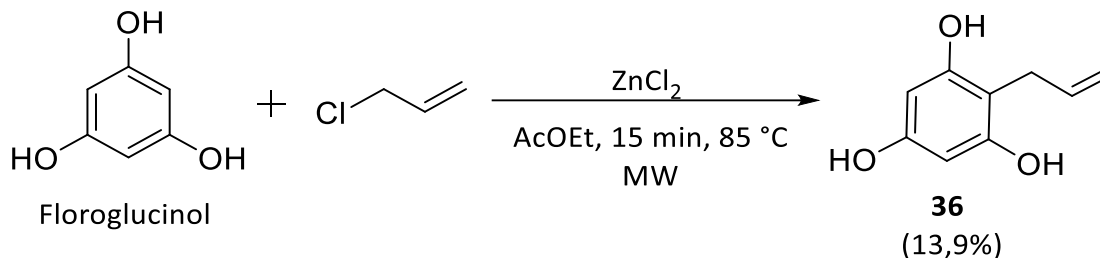
En la primera etapa del **Esquema 14**, se llevó a cabo la reacción de neutralización seguido de una S_N2 . En esta nueva ruta sintética se pudo solucionar la activación del anillo aromático por parte de la cadena de alilo, ya que el acoplamiento ocurrió entre el grupo -OH y el cloruro de alilo. Experimentalmente, el rendimiento de la reacción del alil aril éter mono-sustituido fue de un 79,0%. Por otra parte, en la segunda etapa, ocurrió el Reordenamiento de Claisen, donde la cadena de prenilo se acopló en la posición *orto* al grupo -OH, obteniéndose un rendimiento de un 57,2%.

Con base a esta nueva ruta sintética, se pudo reemplazar el catalizador de Lewis (usado en la reacción de prenilación de Friedels-Crafts) por KOH, mucho más económico donde se pudo obtener un rendimiento aceptable. Además, el uso de MW permitió aumentar significativamente el punto de ebullición de los solventes, por ejemplo, el dioxano a presión normal tiene un punto de ebullición de 101,1 °C mientras que a presiones más altas dentro de un equipo de MW se puede alcanzar los 240 °C (a 20 bar) y los 270 °C (a 30 bar), respectivamente. Asimismo, se logró un rendimiento de un 57,2%.

Desde el espectro de protones se identifica una señal a un $\delta = 3,35$ ppm (d, $J = 6,4$ Hz, 2H, $H-1'$) que corresponde a los protones bencílicos/alílicos, confirmando el éxito del acoplamiento entre el cloruro de alilo y la hidroquinona, mientras que a campo bajo se observan las señales correspondientes a los protones aromáticos $\delta = 6,70$ ppm (dd, $J = 7,6$ Hz y 1,2 Hz, 1H, $H-3$), $\delta = 6,62$ ppm (s, 1H, $H-6$); $\delta = 6,60$ ppm (d, $J = 2,8$ Hz, 1H, $H-5$). A partir de los valores de las constantes de acoplamiento podemos inferir que los protones aromáticos se encuentran en posiciones *orto* y *meta* uno con respecto a otro.

- **Reacción de acoplamiento entre floroglucinol y cloruro de alilo**

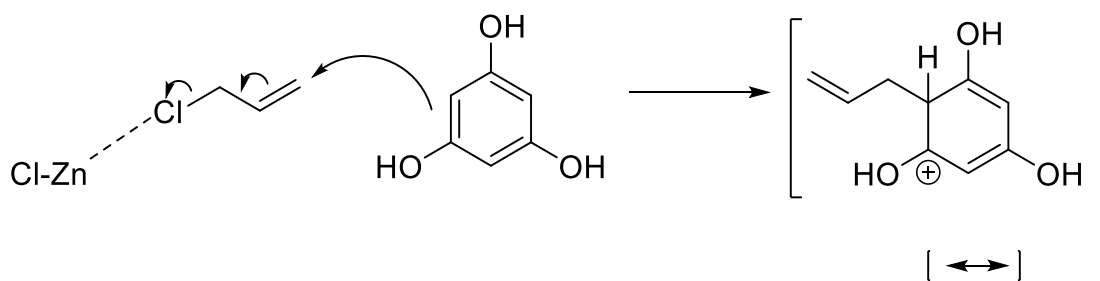
La reacción directa entre el cloruro de alilo y el floroglucinol vía Friedels-Crafts, permitió sintetizar el compuesto mono-acoplado **36** obteniéndose un 13,9% de rendimiento (véase **Esquema 15**)



Esquema 15: Reacción de acoplamiento entre el floroglucinol y cloruro de alilo en presencia de un ácido de Lewis como catalizador.

El floroglucinol presenta 3 grupos -OH alternados en el anillo aromático. De acuerdo con esta disposición de los grupos -OH, las posiciones susceptibles para que ocurra el acoplamiento de la cadena de alilo son todas equivalentes entre sí, lo que disminuiría los sitios de acoplamientos. Experimentalmente, el acoplamiento ocurrió en la posición *orto* a dos grupos -OH, obteniéndose un rendimiento de un 13,9%.

La activación de la especie electrofílica fue entre el cloruro de alilo y ZnCl_2 , este último formaría un complejo entre el ion Zn^{+2} y el -Cl del cloruro de alilo- El acoplamiento ocurriría desde el lado opuesto al átomo de Cl a través de un movimiento de electrones pi (véase **Esquema 16**).

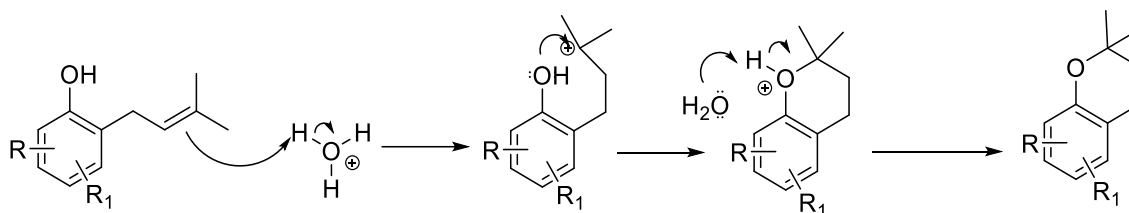


Esquema 16: Coordinación del ZnCl^+ con el cloruro de alilo. El ataque ocurre por el lado opuesto al del átomo de cloro.

Desde el espectro de protones se identifica una señal a un $\delta = 3,30$ ppm (dt, $J = 6,3$ Hz y $1,5$ Hz, 2H, $H-1'$) que corresponde a los protones bencílicos/alílicos, confirmando el éxito del acoplamiento entre el cloruro de alilo y la hidroquinona, mientras que a campo bajo se observan las señales correspondientes a los protones aromáticos $\delta = 5,96$ ppm (s, 2H, $H-4$ y $H-6$). Los protones aromáticos están en posición *meta* uno con respecto al otro.

7.1.3 Reacción de ciclación

La reacción de ciclación se puede explicar a partir del siguiente mecanismo de reacción mostrado en el **Esquema 17**. El primer paso es la protonación del doble enlace vinílico generando un carbocatión terciario, que se encuentra estabilizado por efecto inductivo y por hiperconjugación; en el segundo paso ocurre la ciclación por un reordenamiento intramolecular, ya que los orbitales moleculares (OM) sp^3-sp^2 tienen la capacidad de rotar libremente, esto provoca que la carga positiva del carbocatión terciario quede cercano espacialmente al grupo -OH aromático, promoviendo la formación de un nuevo enlace C-O y, por último, la tercera etapa consiste en la desprotonación de éter protonado para generar el compuesto ciclado neutro.

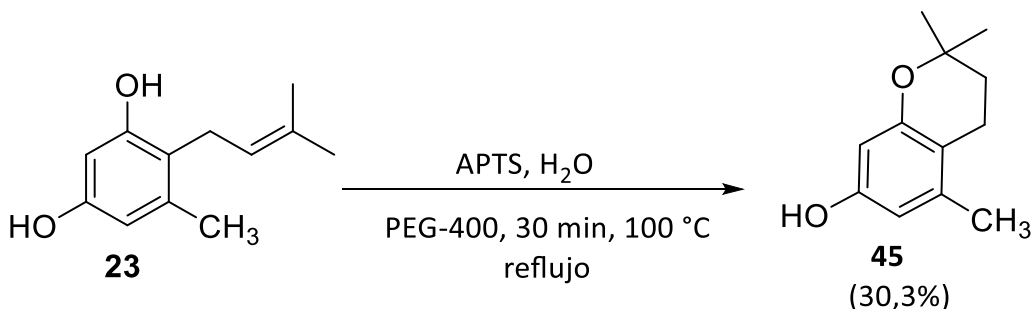


Esquema 17: Mecanismo de reacción que explica el proceso de ciclación de los compuestos de la serie de prenil-fenoles sustituidos.

Con base al mecanismo de reacción mostrado anteriormente, la formación del carbocatión terciario generaría dos reacciones competitivas entre sí: la hidratación y la ciclación. Durante la ciclación se formaría un nuevo anillo de seis miembros, cuya conformación cíclica presentaría la menor energía angular, lo cual sería la fuerza promotora de la ciclación.

- Reacción de ciclación del compuesto **23**

El producto ciclado **45** se obtuvo a partir del compuesto **23** en un medio ácido y calentado a 100 °C y a reflujo (véase **Esquema 18**).



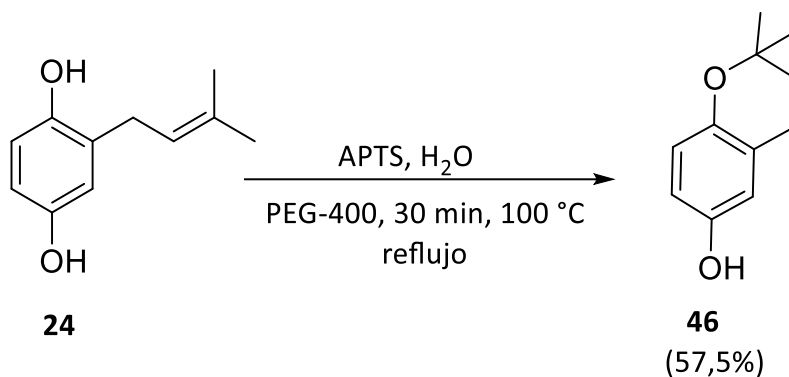
Esquema 18: Reacción de ciclación del compuesto **23** en medio ácido empleando APTS en agua. El calentamiento se llevó a cabo a reflujo.

El compuesto **23** se hizo reaccionar en un medio ácido empleando para obtener un derivado hidratado sintético; sin embargo, se obtuvo un derivado ciclado bajo las mismas condiciones de reacción. Este proceso de ciclación se puede explicar a partir del siguiente mecanismo de reacción mostrado en el **Esquema 17**. El rendimiento de reacción fue de un 30,3 %, lo que confirma que la reacción de ciclación está favorecida frente a la hidratación.

Desde el espectro de protones se identifica una única señal para un grupo -OH a $\delta = 7,99$ ppm (s, 1H, OH-3), la “pérdida” de la segunda señal del grupo -OH es indicativo del éxito de la ciclación. mientras que a campo bajo se observan las señales correspondientes a los protones aromáticos $\delta = 6,23$ ppm (d, $J = 2,4$ Hz, 1H, H-4) y $\delta = 6,07$ ppm (d, $J = 2,4$ Hz, 1H, H-2). A partir del valor de la constante de acoplamiento podemos inferir que los protones aromáticos se encuentran en posición *meta* uno con respecto al otro. Además, la señal $\delta = 73,7$ ppm (C-1') indica la presencia del carbono unido al oxígeno aromático. Y, por último, la señal obtenida a partir del EM dio un $M^+ = 191,11$ con lo cual se confirmaría la ciclación del compuesto **45**.

- Reacción de ciclación del compuesto **24**

El producto ciclado **46** se obtuvo a partir del compuesto **24** en un medio ácido y calentado a 100 °C y a reflujo (véase **Esquema 19**).



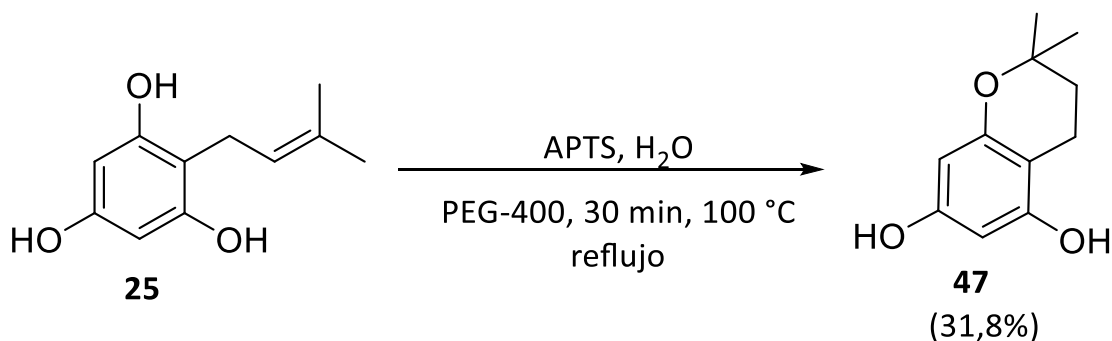
Esquema 19: Reacción de ciclación del compuesto **24** en medio ácido empleando APTS en agua. El calentamiento se llevó a cabo a reflujo.

El compuesto **24** se hizo reaccionar en un medio ácido empleando APTS, obteniendo principalmente un compuesto cíclico. Este proceso de ciclación se puede explicar a partir del **Esquema 17** mostrado anteriormente. A pesar de que el núcleo aromático es diferente al del compuesto **23**, el mecanismo de reacción es muy similar. El rendimiento de reacción fue de un 57,5 %.

Desde el espectro de protones se identifica una única señal para un grupo -OH aromático a $\delta = 7,63$ ppm (s, 1H, OH-4), la “pérdida” de la segunda señal del grupo -OH es indicativo del éxito de la ciclación. mientras que a campo bajo se observan las señales correspondientes a los protones aromáticos $\delta = 6,54$ (m, 3H, H-6, H-3 y H-5). Debido a la presencia del multiplete aromático es difícil individualizar a los protones aromáticos. Desde el espectro de carbonos, la señal $\delta = 74,0$ ppm (C-1') indica la presencia del carbono unido al oxígeno aromático. Y, por último, la señal obtenida a partir del EM dio un $M^+ = 177,09$ con lo cual se confirmaría la ciclación del compuesto **46**.

- **Reacción de ciclación del compuesto 25**

El producto ciclado **47** se obtuvo a partir del compuesto **25** en un medio ácido y calentado a $100\text{ }^\circ\text{C}$ y a reflujo (véase **Esquema 20**).



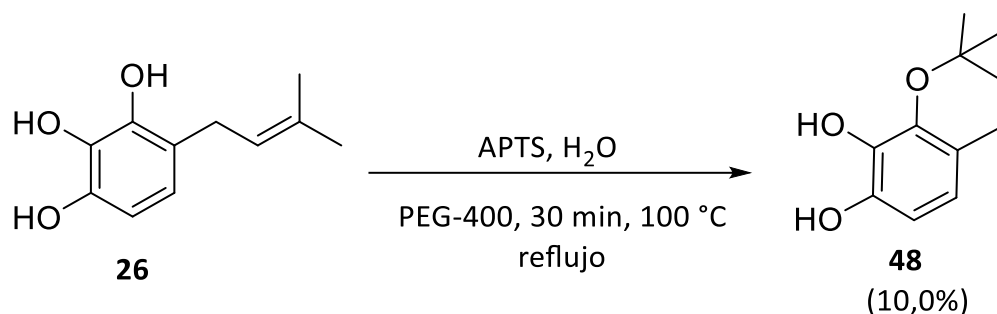
Esquema 20: Reacción de ciclación del compuesto **25** en medio ácido empleando APTS en agua. El calentamiento se llevó a cabo a reflujo.

El compuesto **25** se hizo reaccionar en un medio ácido empleando APTS, obteniendo principalmente un compuesto cíclico **47**. Este proceso de ciclación se puede explicar a partir del **Esquema 17** mostrado anteriormente. El rendimiento de reacción fue de un 31,8 %.

Desde el espectro de protones se identifican dos señales para los grupo -OH aromáticos a $\delta = 8,01$ ppm (s, 1H, OH-3) y $\delta = 7,87$ ppm (s, 1H, OH-1), la “pérdida” de la tercera señal del grupo -OH es indicativo del éxito de la ciclación, mientras que a campo bajo se observan las señales correspondientes a los protones aromáticos $\delta = 5,95$ (d, $J = 2,4$ Hz, 2H, H-6) y $\delta = 5,79$ (d, $J = 2,4$ Hz, 2H, H-4). A partir del valor de la constante de acoplamiento podemos inferir que los protones aromáticos están en posición *meta* uno con respecto al otro. Desde el espectro de carbonos, la señal $\delta = 74,3$ ppm (C-1') indica la presencia del carbono unido al oxígeno aromático. Y, por último, la señal obtenida a partir del EM dio un $M^+ = 193,09$ con lo cual se confirmaría el compuesto ciclado **47**.

- **Reacción de ciclación del compuesto 26**

El producto ciclado **48** se obtuvo a partir del compuesto **26** en un medio ácido y calentado a 100 °C y a reflujo (véase **Esquema 21**).



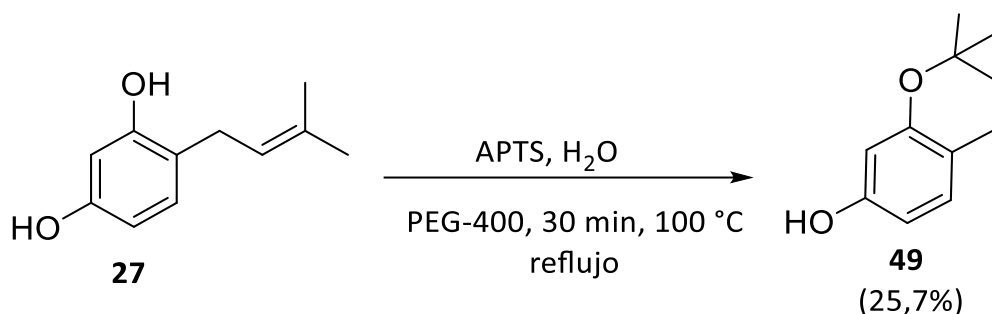
Esquema 21: Reacción de ciclación del compuesto **26** en medio ácido empleando APTS en agua. El calentamiento se llevó a cabo a reflujo.

El compuesto **26** se hizo reaccionar en un medio ácido empleando APTS, obteniendo principalmente un compuesto cíclico **48**. Este proceso de ciclación se puede explicar a partir del **Esquema 17** mostrado anteriormente. El rendimiento de reacción fue de un 10,0 %.

Desde el espectro de protones se identifican dos señales para los grupos -OH aromáticos a $\delta = 5,40$ ppm (s, 1H, OH-3) y $\delta = 5,21$ ppm (s, 1H, OH-2), la “pérdida” de la tercera señal del grupo -OH es indicativo del éxito de la ciclación, mientras que a campo bajo se observan las señales correspondientes a los protones aromáticos $\delta = 6,51$ ppm (dt, $J = 8,4$ Hz y 0,8 Hz, 1H, H-5) y $\delta = 6,47$ ppm (d, $J = 8,4$ Hz, 1H, H-4). A partir del valor de la constante de acoplamiento podemos inferir que los protones aromáticos están en posición *orto* uno con respecto al otro. Desde el espectro de carbonos, la señal $\delta = 75,5$ ppm (C-1') indica la presencia del carbono unido al oxígeno aromático. Y, por último, la señal obtenida a partir del EM dio un $M^+ = 193,08$ con lo cual se confirmaría el compuesto ciclado **48**.

- **Reacción de ciclación del compuesto 27**

El producto ciclado **49** se obtuvo a partir del compuesto **27** en un medio ácido y calentado a 100 °C y a reflujo (véase **Esquema 22**).



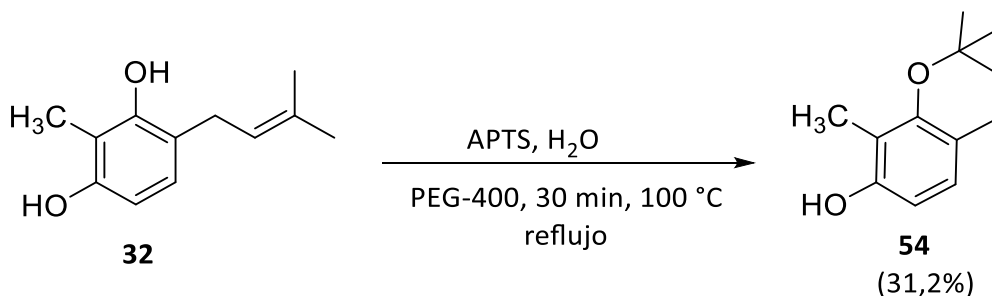
Esquema 22: Reacción de ciclación del compuesto **27** en medio ácido empleando APTS en agua. El calentamiento se llevó a cabo a reflujo.

El compuesto **27** se hizo reaccionar en un medio ácido empleando APTS, obteniendo principalmente un compuesto cíclico **49**. Este proceso de ciclación se puede explicar a partir del **Esquema 17** mostrado anteriormente. El rendimiento de reacción fue de un 25,7 %.

Desde el espectro de protones se identifica una única señal para el grupo -OH aromáticos a $\delta = 8,11$ (s, 1H, ArC-3-OH), la “pérdida” de la segunda señal del grupo -OH es indicativo del éxito de la ciclación, mientras que a campo bajo se observan las señales correspondientes a los protones aromáticos $\delta = 6,84$ ppm (d, $J = 8,0$ Hz, 1H, H-5), $\delta = 6,31$ ppm (dd, $J = 8,2$ Hz y 2,4 Hz, 1H, H-4) y $\delta = 6,20$ ppm (d, $J = 2,4$ Hz, 1H, H-2). A partir de los valores de las constantes de acoplamiento podemos inferir que los protones aromáticos están en posición *orto* y *meta* uno con respecto al otro. Desde el espectro de carbonos, la señal $\delta = 74,3$ ppm (C-1') indica la presencia del carbono unido al oxígeno aromático. Y, por último, la señal obtenida a partir del EM dio un $M^+ = 177,09$ con lo cual se confirmaría el compuesto ciclado **49**.

- Reacción de ciclación del compuesto **32**

El producto ciclado **54** se obtuvo a partir del compuesto **32** en un medio ácido y calentado a 100 °C y a reflujo obteniéndose un 31,2% de rendimiento (véase **Esquema 23**).



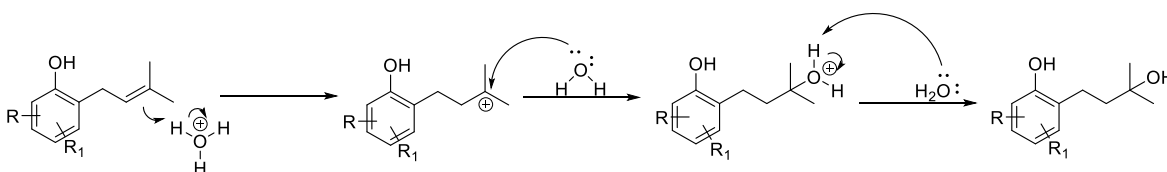
Esquema 23: Reacción de ciclación del compuesto **32** en medio ácido empleando APTS en agua. El calentamiento se llevó a cabo a reflujo.

El compuesto **32** se hizo reaccionar en un medio ácido empleando APTS, obteniéndose el compuesto ciclado **54**. Este proceso de ciclación se puede explicar a partir del **Esquema 17** mostrado anteriormente. El rendimiento de reacción fue de un 31,2 %.

Desde el espectro de protones se identificó una única señal para el grupos -OH aromáticos a $\delta = 7,80$ ppm (s, 1H, OH-1), mientras que a campo alto se observan las señales correspondientes a los protones aromáticos $\delta = 6,68$ ppm (d, $J = 8,4$ Hz, 1H, H-5) y $\delta = 6,35$ ppm (d, $J = 8,4$ Hz, 1H, H-6). A partir del valor de la constante de acoplamiento podemos inferir que los protones aromáticos se encuentran en posición *orto* uno con respecto al otro. Por otra parte, no se observó la señal característica a $\delta = 3,45$ ppm (s, 1H, OH-3') que correspondería a la señal del grupo -OH de la cadena lateral, de esta manera confirmaríamos el éxito de la reacción de ciclación. Y, por último, la señal obtenida a partir del EM dio un $M^+ = 209,12$ con lo cual se confirmaría el compuesto ciclado **54**.

7.1.4 Reacción de hidratación

La reacción de hidratación se puede explicar a partir del siguiente mecanismo de reacción mostrado en el **Esquema 24**. Este mecanismo es muy similar al mostrado en el **Esquema 17**, donde el primer paso consistió en la protonación del doble enlace C=C de la cadena de prenilo generando un carbocatión terciario que se encontraría estabilizado por efecto inductivo y por hiperconjugación. La diferencia en el mecanismo se encuentra en el paso dos, donde una molécula de agua actúa como nucleófilo y ataca al carbocatión terciario generando un alcohol protonado seguido de una desprotonación para formar finalmente un alcohol neutro en la cadena de prenilo.



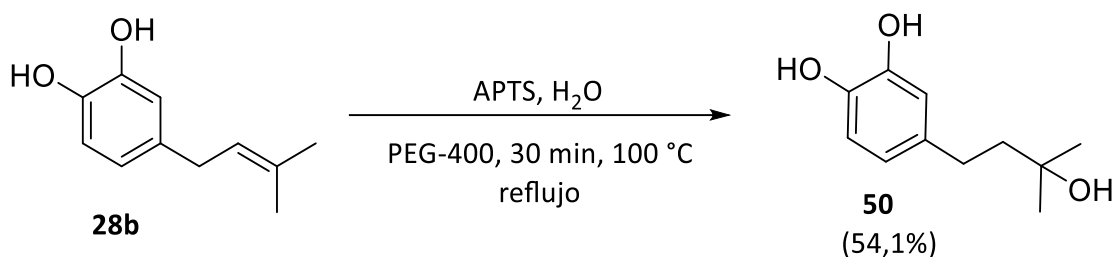
Esquema 24: Mecanismo de reacción que explica el proceso de hidratación de los compuestos de la serie de prenil-fenoles sustituidos.

La elución del crudo de reacción fue observado a través de placas de silica mediante la técnica de CCF empleando una mezcla de hexano:AcOEt en diferentes proporciones (polaridades). Una observación general de la reacción de ciclación corresponde a los valores de R_f obtenidos, donde los productos con R_f inferiores a la de los anillos aromáticos corresponderían a compuestos más polares

y afines a la fase estacionaria mientras que los compuestos con R_f superiores a los anillos aromáticos, corresponderían a compuestos menos polares y poco afines a la fase estacionaria.

- **Reacción de hidratación del compuesto 28**

El producto hidratado **50** se obtuvo a partir del compuesto **28** en un medio ácido y calentado a 100 °C y a reflujo obteniéndose un 54,1% de rendimiento (véase **Esquema 25**).



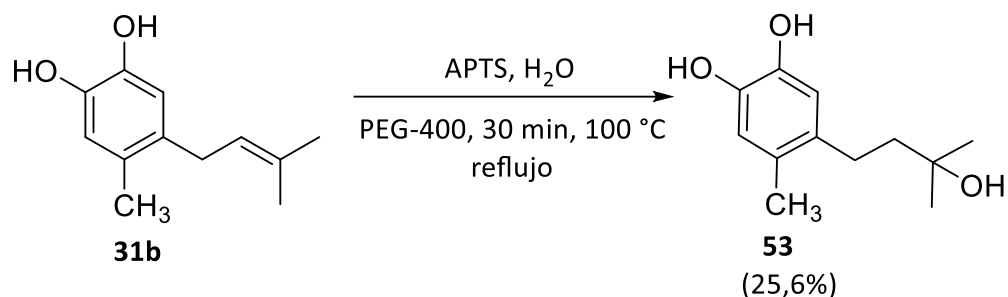
Esquema 25: Reacción de hidratación del compuesto **28** en medio ácido empleando APTS en agua.

El calentamiento se llevó a cabo a reflujo. El compuesto **28b** se hizo reaccionar en un medio ácido empleando APTS, obteniéndose el derivado hidratado **50** como el producto mayoritario. El mecanismo de reacción de hidratación para el compuesto **28b** se muestra en el **Esquema 24**. Experimentalmente, el rendimiento de la reacción fue de un 54,1%.

Desde el espectro de protones se identificaron dos señales para los grupos -OH aromáticos a $\delta = 7,63$ ppm (s, 1H, OH-2) y $\delta = 7,60$ ppm (s, 1H, OH-1), mientras que a campo bajo se observan las señales correspondientes a los protones aromáticos $\delta = 6,71$ ppm (d, $J = 8,0$ Hz, 1H, H-6); $\delta = 6,69$ ppm (d, $J = 2,0$ Hz, 1H, H-3) y $\delta = 6,52$ ppm (dd, $J = 8,0$ Hz y 2,0 Hz, 1H, H-5). A partir de los valores de las constantes de acoplamiento podemos inferir que los protones aromáticos están en posición *orto* y *meta* uno con respecto al otro. Otra señal característica la encontramos a $\delta = 3,31$ ppm (s, 1H, OH-3') que corresponde a la señal del grupo -OH de la cadena lateral, confirmando el éxito de la reacción de hidratación. Y, por último, la señal obtenida a partir del EM dio un $M^+ = 195,10$ con lo cual se confirmaría el compuesto hidratado **50**.

- **Reacción de hidratación del compuesto 31**

El producto hidratado **53** se obtuvo a partir del compuesto **31** en un medio ácido y calentado a 100 °C y a reflujo obteniéndose un 25,6% de rendimiento (véase **Esquema 26**).



Esquema 26: Reacción de hidratación del compuesto **31** en medio ácido empleando APTS en agua. El calentamiento se llevó a cabo a reflujo.

El compuesto **31b** se hizo reaccionar en un medio ácido empleando APTS, obteniéndose el derivado **53** hidratado. El mecanismo de reacción de hidratación para el compuesto **31b** es similar al que se muestra en el **Esquema 24**. El rendimiento de reacción fue de un 25,6%.

Desde el espectro de protones se identificó una señal para los grupos -OH aromáticos a $\delta = 7,46$ ppm (s, 2H, *OH-2* y *OH-1*), mientras que a campo alto se observan las señales correspondientes a los protones aromáticos $\delta = 6,62$ ppm (s, 1H, *H-3*) y $\delta = 6,60$ ppm (s, 1H, *H-6*). La ausencia de una constante de acoplamiento permite inferir que los protones están en posición *para* uno con respecto al otro. Otra señal característica la encontramos a $\delta = 3,45$ ppm (s, 1H, *OH-3''*) que corresponde a la señal del grupo -OH de la cadena lateral, confirmando el éxito de la reacción de hidratación. Y, por último, la señal obtenida a partir del EM dio un $M^+ = 209,12$ con lo cual se confirmaría el compuesto hidratado **53**.

La principal diferencia que se encontró entre los productos de ciclación y los productos de hidratación fue la ubicación de la cadena de prenilo en el anillo aromático. En los primeros, el acoplamiento ocurrió en la posición *orto* a un grupo -OH mientras que, en los segundos, el acoplamiento ocurrió en la posición *para* a uno de los grupos -OH. En este último caso, el carbocatión terciario queda más alejado espacialmente de un grupo -OH, por lo que quedaría propenso a sufrir un ataque por parte de una molécula de agua.

7.2 Objetivo Específico 2

Estudiar los efectos fitotóxicos mediante parámetros no destructivos en las semillas y plantas de tomate.

7.2.1 Germinación de semillas de tomate (*Solanum lycopersicum* L)

La germinación de las semillas de tomate se llevó a cabo durante 7 días (168 h) en una cámara de cría bajo las siguientes condiciones: 16/8 h día/noche y a 23,5 °C/21 °C día/noche. En este ensayo de germinación de semillas se trataron los 18 compuestos sintetizados y que fueron aplicados a distintas concentraciones: 5,0; 2,5 y 1,25 mg/mL.

Durante las primeras 48 horas no se observó ningún proceso de germinación y sólo a partir de las 72 h comenzaron a observarse las primeras germinaciones y a las 96 h el número de semillas germinadas fue homogénea entre los pocillos de un mismo tratamiento.

El retraso en la germinación de las semillas se debió al proceso de imbibición, que consiste en un proceso físico de capilaridad, donde el agua ingresa desde la disolución hacia el seno de la semilla, como consecuencia, la entrada de agua limita la velocidad de germinación ya que se necesita tiempo para que las moléculas de agua entren y activen los distintos mecanismos de los compuestos de reservas del embrión y dé inicio la germinación. Una forma de acelerar el proceso de germinación consistió en dejar a las semillas remojando en agua, de esta forma, la episperma que recubre a la semilla se ablande y se permeabilice dejando entrar más fácilmente a las moléculas de agua. Otros factores que afectan al proceso de germinación y su ausencia lo ralentiza son: la concentración de oxígeno disuelto y la temperatura óptima para que el embrión se desarrolle adecuadamente.

7.2.2 Análisis estadísticos

Todos los datos de los compuestos de las series de alil- y prenil-fenoles junto con sus derivados ciclados e hidratados fueron evaluados mediante ajustes de distribución y, posteriormente, se realizaron pruebas estadísticas *post Hoc ANOVA*; además, se realizaron pruebas de correlación de *Spearman* para determinar los coeficientes de correlación para cada uno de los tratamientos. Los programas usados en los análisis estadísticos están incluidos en el Software *Statistica 7*.

7.2.2.1 Serie de los alil-fenoles

Los compuestos de la serie de alil-fenoles se caracterizan por la presencia de un grupo alilo acoplado a un anillo aromático. La **Figura 12** muestra las estructuras químicas de los tres compuestos de la

serie de alil-fenoles tratados en el ensayo de germinación de semillas de tomate; donde el compuesto **36** contiene un núcleo aromático de floroglucinol, el compuesto **43** un núcleo aromático de 2-metilresorcinol y el compuesto **68** un núcleo aromático de 2-nitrofenol.

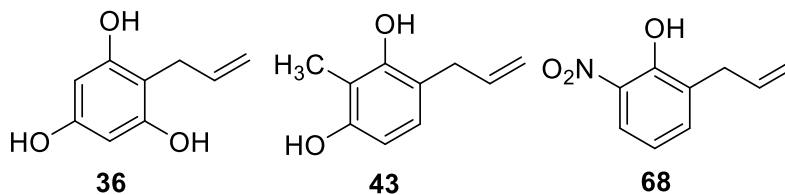


Figura 12: Se muestran los tres compuestos de la serie de alil-fenoles estudiados en el ensayo de germinación de semillas de tomate. La cadena de alilo se encuentra acoplado al anillo aromático en posición *orto* al grupo -OH.

Los porcentajes (%) de germinación, en función del tiempo (en horas), se registraron a partir de las 96 h hasta las 168 h. El control consistió en 20 μ L de EtOH en 500 μ L de agua destilada. La **Figura 13** muestra los % de germinación de las semillas para tres concentraciones: en (a) % de germinación a 5,0 mg/mL; en (b) 2,5 mg/mL y, en (c) 1,25 mg/mL, respectivamente. Los datos fueron expresados en %G \pm error estándar (ES).

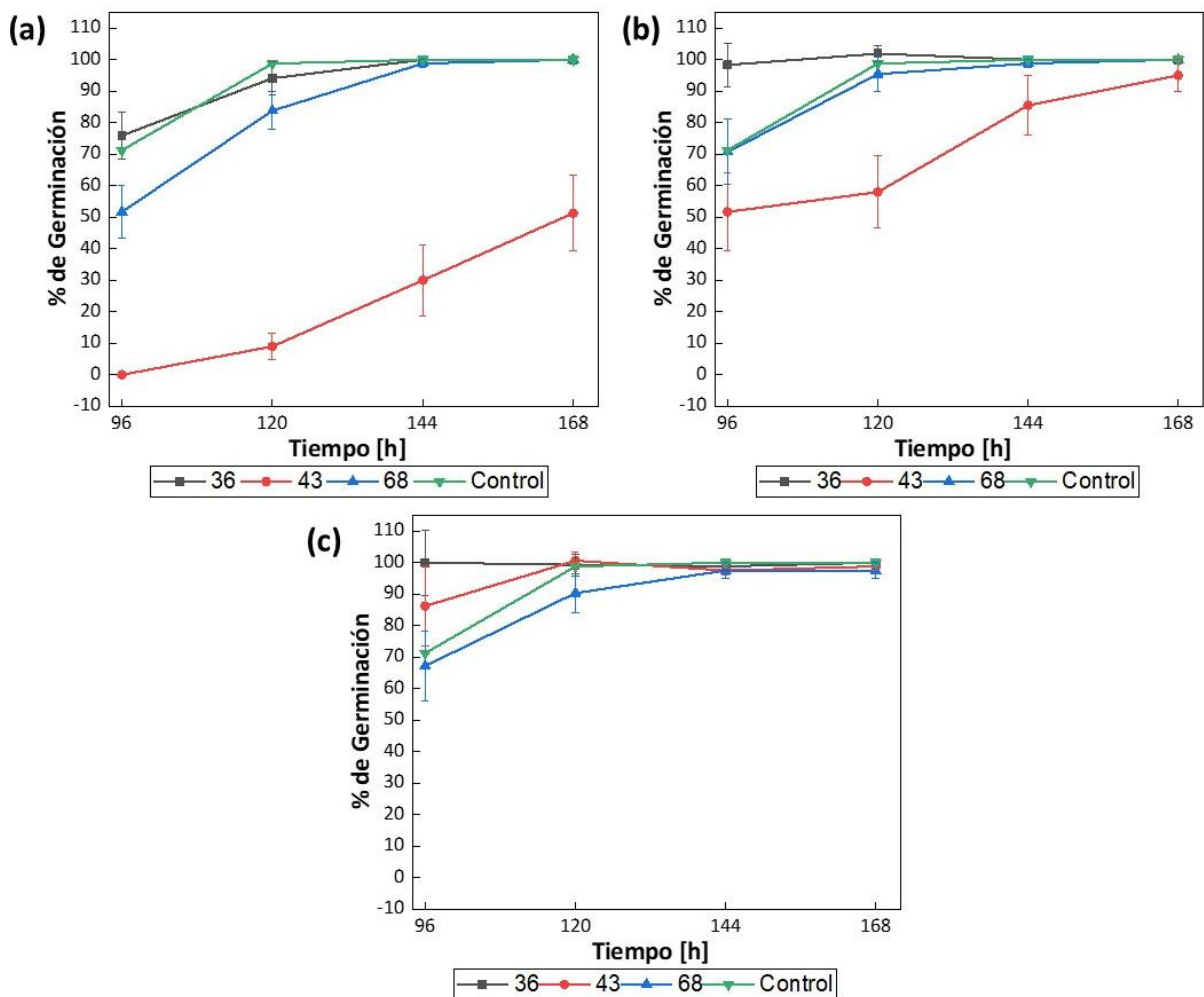


Figura 13: Porcentajes de germinación de semillas en un periodo de 7 días (168 h). En (a) % de germinación a 5,0 mg/mL; en (b) % de germinación a 2,5 mg/mL y en (c) % de germinación a 1,25 mg/mL. Los datos fueron reportados como %G \pm ES (n = 40). La significación de las diferencias se analizó mediante una prueba de *Kruskal-Wallis ANOVA* ($p < 0,05$).

El compuesto **36** no mostró actividad fitotóxica lo que se vio reflejado en los % de germinación, siendo este superior al 77% de germinación para una concentración de 5,0 mg/mL y a las 96 h de iniciado el ensayo. Para las concentraciones de 2,5 y 1,25 mg/mL se alcanzó el 100% de la germinación de las semillas de tomate, no presentando diferencias significativas a ninguna de las concentraciones estudiadas ($p = 0,760$) con respecto al control (véase **Figura 13**). Con base a estos datos experimentales, el compuesto **36** exhibió una actividad fitotóxica baja con respecto a la germinación.

El compuesto **68**, al igual que el compuesto **36**, tampoco mostró una actividad fitotóxica sobre la germinación de las semillas, la cual se vio reflejado en los % de germinación, siendo este superior al 50% de germinación para una concentración de 5,0 mg/mL (96 h). Para las concentraciones de 2,5

y 1,25 mg/mL, los % de germinación fueron superiores al 72%, no presentando diferencias significativas con respecto al control ($p = 0,570$) (véase **Figura 13**). Con base a estos datos experimentales, el compuesto **68** exhibió una actividad fitotóxica baja con respecto a la germinación de semillas.

El compuesto **43** fue el único de los tres compuestos de la serie de alil-fenoles que sí mostró una actividad fitotóxica sobre la germinación, lo que se vio reflejado en los % de germinación (véase **Figura 13**). Para una concentración de 5,0 mg/mL, el % de germinación solo alcanzó un 51% (a las 168 h) mientras que para las concentraciones de 2,5 y 1,25 mg/mL, los % de germinación fueron superiores al 52% (a las 96 h). Con base a estos datos experimentales, el compuesto **43** exhibió una actividad fitotóxica alta con respecto a la germinación de semillas.

Por otra parte, se evaluaron las correlaciones entre las diferentes concentraciones ensayadas y la germinación de las semillas mediante una prueba de correlación de *Spearman* (véase **Tabla 2**). A partir de los coeficientes de correlación, se pudo determinar la relación entre el número de germinación (% de germinación) en función de la concentración aplicada de los compuestos. Para valores de R menores a 0,20 (en valor absoluto), la correlación es muy débil y no tiene una relevancia biológica importante. Los compuestos **36** ($R = -0,089$) y **68** ($R = -0,052$) presentaron valores de coeficientes de correlación inferiores a 0,2. Con base a estos valores, los % de germinación fueron independientes de la concentración que se aplicó del compuesto. Esto nos permitiría emplear concentración de 5,0 mg/mL sin perjuicio en los % de germinación de las semillas de tomate. En cambio, el compuesto **43** ($R = -0,573$) presentó un coeficiente de correlación moderada, por lo que los % de germinación exhibieron una dependencia con las concentraciones de los compuestos aplicados, especialmente para una concentración de 5,0 mg/mL; además, el signo negativo nos indicó que la correlación fue inversamente proporcional, con lo cual concuerda con las observaciones experimentales (véase **Figura 13**). A mayor concentración del compuesto aplicado menores fueron los % de germinación y viceversa.

Tabla 2: Coeficiente de correlación de *Spearman* (R) entre la concentración y el % de germinación para los compuestos de la serie de alil-fenoles.

	Concentración versus Germinación	
	R	p-value
36	-0,089	$p < 0.05$
43*	-0,573	$p < 0.05$
68	-0,052	$p < 0.05$

* $p < 0,05$: diferente significativamente.

7.2.2.2 Serie de los prenil-fenoles

Los compuestos de la serie prenil-fenoles se caracterizan por tener una cadena de prenilo lineal; los compuestos **23**, **24**, **27**, **32** y **33**, la cadena de prenilo se encuentra en posición *orto* a uno de los grupos -OH; mientras que los compuestos **28b** y **31b**, el grupo prenilo se encuentra en posición *meta* con respecto al grupo -OH. La **Figura 14** muestra las estructuras químicas de los compuestos de la serie de prenil-fenoles tratados en el ensayo de germinación de semillas de tomate. Dentro de esta serie de compuestos podemos encontrar los siguientes anillos aromáticos: catecol, resorcinol e hidroquinona y algunos de sus derivados sustituidos.

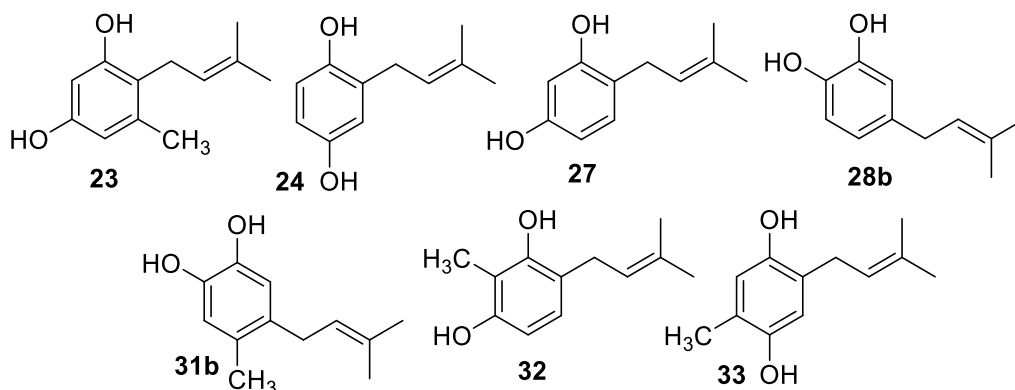


Figura 14: Se muestran siete compuestos de la serie de prenil-fenoles estudiados en el ensayo de germinación de semillas de tomate.

La **Figura 15** muestra los % de germinación en función del tiempo (en horas) a partir de las 96 h hasta las 168 h. Los ensayos de germinación se realizaron a tres concentraciones diferentes: en (a) 5,0 mg/mL; en (b) 2,5 mg/mL y, en (c) 1,25 mg/mL. El control consistió en 20 μ L de EtOH en 500 μ L de agua destilada.

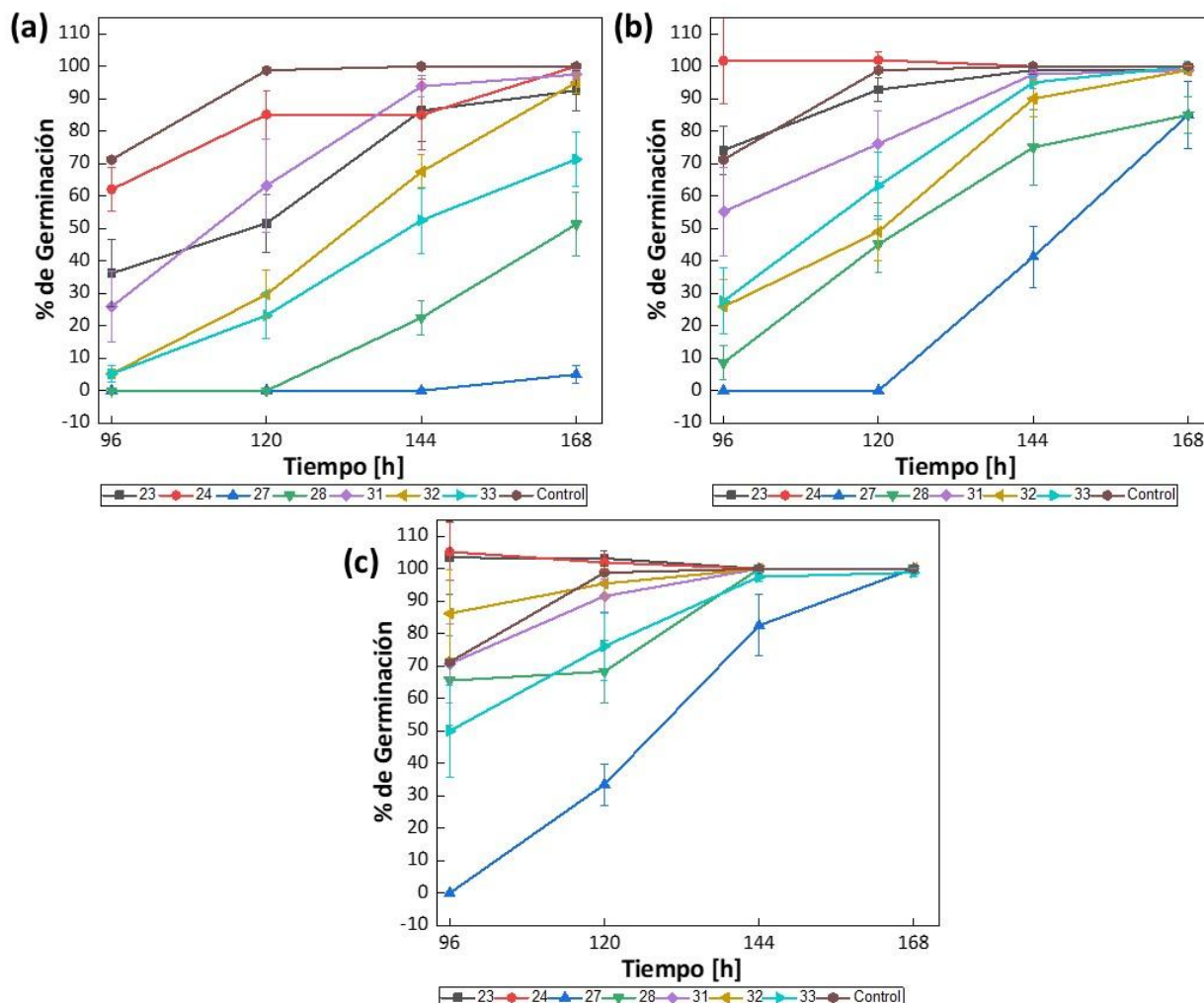


Figura 15: Se muestran los % de germinación de las semillas de tomate en función del tiempo (en horas). En (a) 5,0 mg/mL; en (b) 2,5 mg/mL y (c) 1,25 mg/mL. Todos los datos representan la media de cuatro repeticiones independientes y se expresaron en % de germinación \pm ES ($n = 40$). La significación de las diferencias se analizó mediante una prueba de *Kruskal-Wallis ANOVA* ($p < 0,05$).

Los compuestos **24** y **31b** no mostraron actividad fitotóxica sobre la germinación de las semillas de tomate; además, no presentaron diferencias significativas con respecto al control ($p > 0,05$). Los % de germinación fueron superiores a 60% y 25%, respectivamente (véase **Figura 15**).

El compuesto **23** mostró actividad fitotóxica sobre la germinación de las semillas de tomate, lo cual se vio reflejado en los % de germinación. Para la concentración de 5,0 mg/mL, el % de germinación fue superior al 37% (a las 96 h), presentando diferencias significativas con respecto al control ($p = 0,0023$). Por otra parte, para las concentraciones de 2,5 y 1,25 mg/mL, los % de germinación fueron superiores al 75% y 100%, respectivamente (véase **Figura 15**). Con base a los datos experimentales, el compuesto **23** sólo exhibió efecto fitotóxico a la concentración de 5,0 mg/mL, mientras que para

las concentraciones de 2,5 y 1,25 mg/mL, la actividad del compuesto **23** fue baja sobre la germinación de las semillas.

El compuesto **27** mostró actividad fitotóxica para todas las concentraciones ensayadas, lo cual se vio reflejada en los % de germinación, siendo estos los más bajos de la serie de prenil-fenoles. Para las concentraciones de 5,0 y 2,5 mg/mL, los % de germinación fueron del 0%, por lo que no se registraron germinación por parte de las semillas de tomate, mientras que a 1,25 mg/mL, se observó % de germinación superior al 33% (a las 120 h) (véase **Figura 15**). Para las tres concentraciones ensayadas, se presentaron diferencias significativas con respecto al control ($p = 0,0000$). Con base a los datos experimentales, el compuesto **27** exhibió una actividad fitotóxica alta para las concentraciones de 5,0 y 2,5 mg/mL mientras que a 1,25 mg/mL, la actividad fitotóxica fue moderada sobre la germinación de las semillas.

El compuesto **28b** mostró actividad fitotóxica sobre la germinación de las semillas de tomate, con lo cual se vio reflejado en los % de germinación. Para la concentración de 5,0 mg/mL, los % de germinación no superaron el 51% (a las 168 h), mientras que para las concentraciones de 2,5 y 1,25 mg/mL, los % de germinación fueron los siguientes: 9% y 67%, respectivamente, ambas a las 96 h (véase **Figura 15**). Para las tres concentraciones ensayadas, se presentaron diferencias significativas con respecto al control ($p = 0,0000$); además, el compuesto **28b** fue el segundo compuesto que presentó los % de germinación más bajos de la serie de prenil-fenoles. Con base a los datos experimentales, el compuesto **28b** exhibió una actividad fitotóxica moderado-alto sobre la germinación de las semillas.

El compuesto **32** mostró actividad fitotóxica sobre la germinación de las semillas de tomate, lo cual se vio reflejado en los valores de los % de germinación. Para la concentración de 5,0 mg/mL, los % de germinación fue de un 5% (a las 96 h), mientras que para las concentraciones de 2,5 y 1,25 mg/mL, los % de germinación fueron superiores al 26% y 87%, respectivamente, a las 96 h (véase **Figura 15**). Sin embargo, solo se presentó diferencias significativas para la concentración de 5,0 mg/mL ($p = 0,0001$). Con base a los datos experimentales, el compuesto **32** sólo exhibió actividad fitotóxica moderada a una concentración de 5,0 mg/mL, mientras que para las concentraciones de 2,5 y 1,25 mg/mL, la actividad del compuesto **32** fue baja.

Y, por último, el compuesto **33** mostró actividad fitotóxica sobre la germinación de las semillas de tomate, lo cual se vio reflejado en los % de germinación. Para la concentración de 5,0 mg/mL, el % de germinación fue de un 5% (a las 96 h), mientras que para las concentraciones de 2,5 y 1,25

mg/mL, los % de germinación fueron superiores a los 28% y 51%, respectivamente (véase **Figura 15**). Con base a los datos experimentales, el compuesto **33** exhibió actividad fitotóxica moderada para la concentración de 5,0 mg/mL, mientras que para las concentraciones de 2,5 y 1,25 mg/mL, la actividad del compuesto **33** fue baja.

Por otra parte, se evaluaron las correlaciones entre las diferentes concentraciones y la germinación de las semillas mediante una prueba de correlación de *Spearman* (véase **Tabla 3**). El compuesto **31b** presentó un coeficiente de correlación menor a un 0,2 (en valor absoluto), por lo que la germinación de las semillas de tomate sería independiente de las concentraciones del compuesto aplicado. En cambio, los compuestos **23**, **24**, **32** y **33** presentaron coeficientes de correlación entre un 0,20 y 0,37, estos valores de correlación indicarían un efecto débil pero significativo entre las germinaciones de las semillas de tomate y las concentraciones de los compuestos aplicados, este efecto significativo sería importante a una concentración de 5,0 mg/mL; además, el signo negativo indicó que los % de germinación fueron inversamente proporcionales a la concentración aplicada. Por último, los compuestos **27** y **28b**, presentaron coeficientes de correlación entre un 0,45 y 0,5, cuyos valores indicarían un efecto moderado en la germinación de las semillas y la concentración del compuesto aplicado. La relación entre la germinación y la concentración aplicada fue inversamente proporcional, donde el efecto fitotóxico fue más importante a concentraciones de 5,0 mg/mL que a concentraciones más bajas.

Con base a los valores de los coeficientes de correlación (véase **Tabla 3**), solo el compuesto **31b** se puede emplear a una concentración de 5,0 mg/mL sin perjuicio del % de germinación de las semillas de tomate, ya que el % de germinación fue independiente de la concentración del compuesto aplicado.

Tabla 3: Coeficiente de correlación de *Spearman* (R) entre la concentración y el % de germinación de los compuestos de la serie de prenil-fenoles.

	Concentración versus Germinación	
	R	p-value
23	-0,330530	p<0,05
24	-0,213839	p<0,05
27*	-0,471128	p<0,05
28*	-0,481535	p<0,05
31	-0,155402	p<0,05
32	-0,367136	p<0,05
33	-0,349657	p<0,05

*Correlación moderada

7.2.2.3 Prenil-fenoles ciclados

Los compuestos prenil-fenoles ciclados se caracterizan por tener un ciclo acoplado al anillo aromático. Estos compuestos son derivados sintéticos de la serie de prenil-fenoles, donde la cadena de prenilo se terminó ciclando intramolecularmente. La **Figura 16** muestra las estructuras químicas de los compuestos de la serie de prenilfenoles ciclados tratados en el ensayo de germinación de semillas de tomate. Dentro de esta serie de compuestos podemos encontrar los siguientes anillos aromáticos: catecol, resorcinol e hidroquinona y algunos de sus derivados sustituidos.

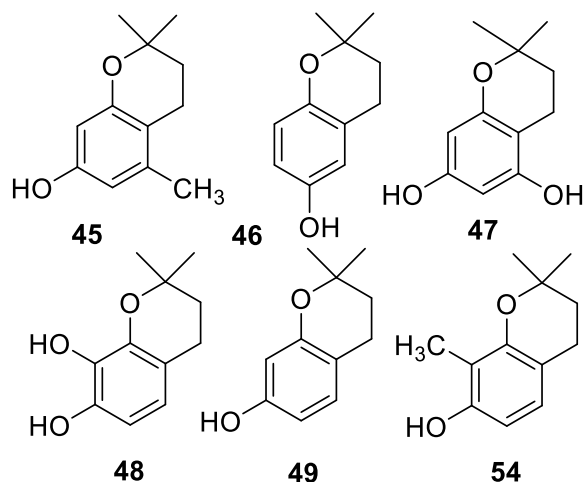


Figura 16: Serie de prenil-fenoles ciclados estudiados en el ensayo de germinación de semillas de tomate.

La **Figura 17** muestra los % de germinación en función del tiempo (en horas) a partir de las 96 h hasta las 168 h. Los ensayos de germinación se realizaron a tres concentraciones diferentes: en (a) 5,0 mg/mL; en (b) 2,5 mg/mL y, en (c) 1,25 mg/mL. El control consistió en 20 μ L de EtOH en 500 μ L de agua destilada.

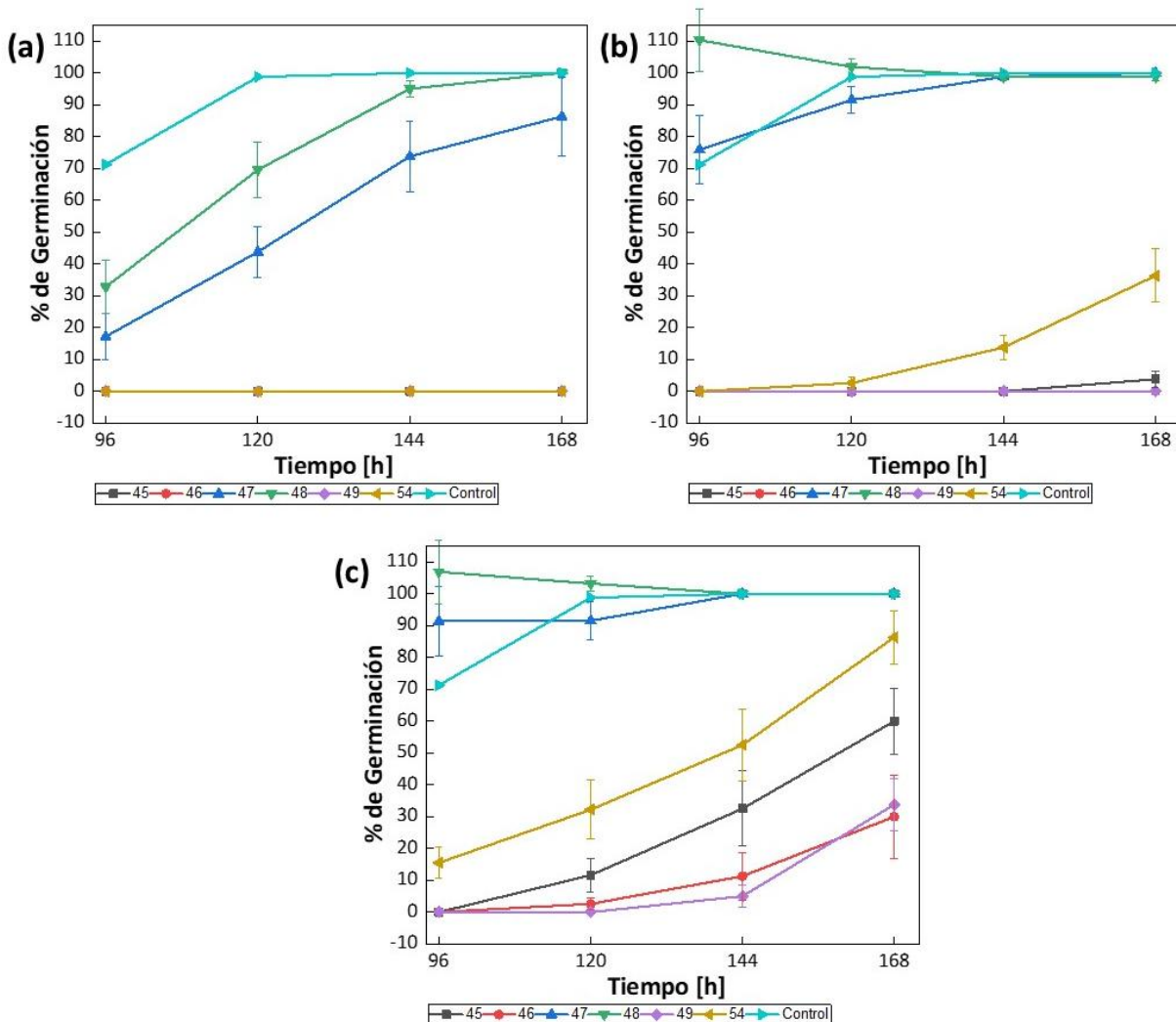


Figura 17: Se muestran los % de germinación de las semillas de tomate en función del tiempo (en horas). En (a) 5,0 mg/mL; en (b) 2,5 mg/mL y (c) 1,25 mg/mL. Todos los datos representan la media de cuatro repeticiones independientes y se expresaron en % de germinación \pm ES ($n = 40$). La significación de las diferencias se analizó mediante una prueba de *Kruskal-Wallis ANOVA* ($p < 0,05$).

Los compuestos **47** y **48** mostraron actividad fitotóxica sobre la germinación de las semillas de tomate, lo cual se vio reflejado en los % de germinación bajos. Para la concentración de 5,0 mg/mL, los % de germinación fueron los siguientes: 18% y 33%, respectivamente, mientras que para las concentraciones de 2,5 y 1,25 mg/mL, los % de germinación fueron superiores al 70%. Por el contrario, los compuestos **45**, **46**, **49** y **54** mostraron la mayor actividad fitotóxica sobre la germinación de las semillas, especialmente para la concentración de 5,0 mg/mL, donde los % de germinación fueron del 0%. Sin embargo, para las concentraciones de 2,5 y 1,25 mg/mL, se observó un aumento en los % de germinación, alcanzando el valor máximo en los % de germinación para la concentración de 1,25 mg/mL (véase **Figura 17**). Con base a los datos experimentales, dos de los

seis compuestos de la serie prenil-fenoles ciclados exhibieron una actividad fitotóxica baja sobre la germinación, mientras que el resto de los compuestos de la misma serie, exhibieron actividades fitotóxicas elevadas, inhibiendo completamente la germinación de las semillas de tomate.

Por otra parte, se evaluaron las correlaciones entre las diferentes concentraciones y la germinación de las semillas mediante una prueba de correlación de *Spearman* (véase **Tabla 4**). Los compuestos **46, 47, 48** y **49**, presentaron valores de coeficientes de correlación entre 0,25 y 0,35. Estos valores indicaron una relación baja entre los % de germinación y las concentraciones de los compuestos aplicados, es decir, que las germinaciones de las semillas de tomate son prácticamente independientes de la concentración a la cual se aplicaron los compuestos. Por lo tanto, la actividad presentada por estos cuatro compuestos ciclados fue baja (véase **Figura 17**). En cambio, los compuestos **45** y **54**, presentaron valores de coeficientes de correlación entre 0,51 y 0,59. Estos valores indicaron una relación moderada entre los % de germinación y las concentraciones de los compuestos aplicados; además, el signo negativo indicó que la correlación fue inversamente proporcional a la concentración aplicada. Por lo tanto, la actividad presentada por estos dos compuestos ciclados fue alta, especialmente para las concentraciones de 5,0 y 2,5 mg/mL.

Tabla 4: Coeficiente de correlación de *Spearman* (R) entre la concentración y el % de germinación de los compuestos de la serie de prenil-fenoles ciclados.

	Concentración versus Germinación	
	R	p-value
45*	-0,512425	p<0,05
46	-0,348409	p<0,05
47	-0,333718	p<0,05
48	-0,270185	p<0,05
49	-0,327090	p<0,05
54*	-0,593743	p<0,05

*Correlación moderada

También se realizó una comparación para dos muestras independiente a través de una prueba no paramétrica de *U Mann Withney*, que permitió comparar cuatro pares de compuestos. Las comparaciones se realizaron entre los compuestos de las series de prenil-fenoles: **23, 24, 27** y **32** con sus respectivos compuestos ciclados: **45, 46, 49** y **54**, respectivamente (véase **Tabla 5**).

Con base a esta prueba estadística, los pares de compuestos **23-45, 24-46** y **32-54** presentaron diferencias significativas, por lo tanto, la formación de un anillo a partir de la cadena lateral de prenilo sí tuvo actividad sobre la germinación de las semillas de tomate. Esto se vio reflejado en los

bajos % de germinación de los compuestos ciclados en comparación con sus análogos sin ciclar. En cambio, el par **27-49** solo presentó diferencias significativas para las concentraciones de 2,5 y 1,25 mg/mL, donde la formación de un anillo a partir de la cadena de prenilo tuvo un efecto sobre la germinación.

Tabla 5: Pruebas de *U Mann Withney* para la comparación de dos muestras independientes.

Compuestos	Concentración mg/mL	p-value
	5	
23-45	2,5	p < 0,0000
	1,25	
	5	
24-46	2,5	p < 0,0000
	1,25	
	5	
27-49	5*	p > 0,5637
	2,5	p < 0,0039
	1,25	p < 0,0004
32-54	5	
	2,5	p < 0,0000
	1,25	

*Estadísticamente no significativo

7.2.2.4 Serie prenil-fenoles hidratados

Los compuestos de la serie prenil-fenoles hidratados se caracterizan por tener un grupo -OH en la cadena lateral alquílica. La cadena lateral se encuentra en posición *meta* con respecto a un grupo -OH aromático. La **Figura 18** muestra las estructuras químicas de los compuestos de la serie de prenil-fenoles hidratados tratados en el ensayo de germinación de semillas de tomate. Dentro de esta serie de compuestos podemos encontrar los siguientes anillos aromáticos: catecol metilado y resorcinol.

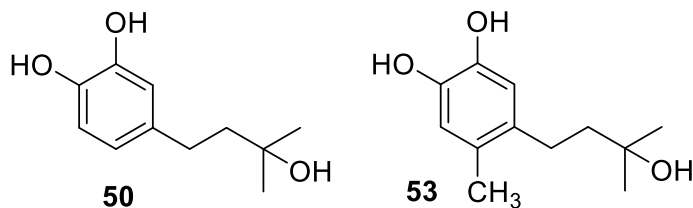


Figura 18: Estructuras químicas de los compuestos hidratados **50** y **53** de la serie de prenil-fenoles.

La **Figura 19** muestra los % de germinación en función del tiempo (en horas) a partir de las 96 h hasta las 168 h. Los ensayos de germinación se realizaron a tres concentraciones diferentes: en (a)

5,0 mg/mL; en (b) 2,5 mg/mL y, en (c) 1,25 mg/mL. El control consistió en 20 μ L de EtOH en 500 μ L de agua destilada.

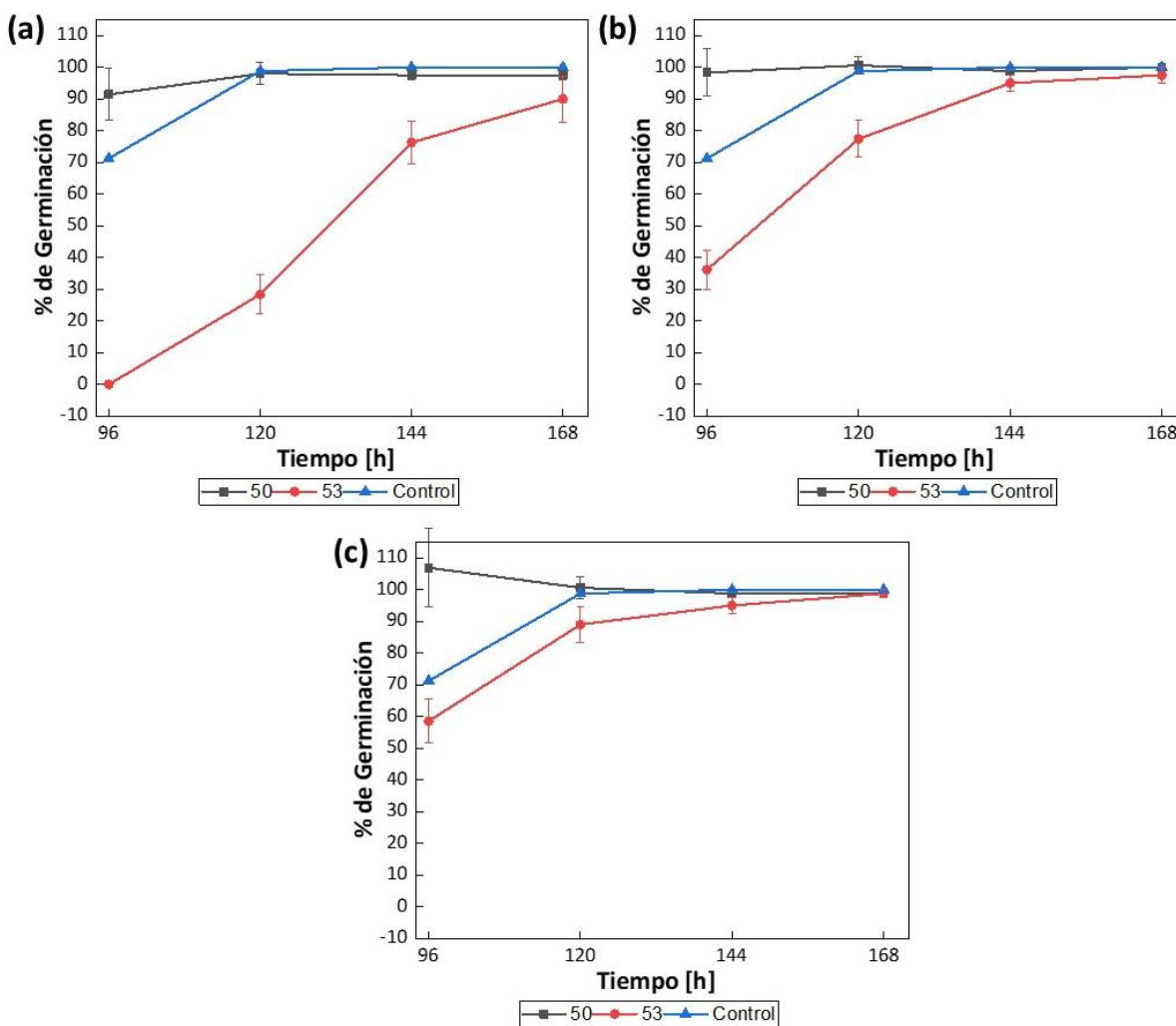


Figura 19: Se muestran los % de germinación de las semillas de tomate en función del tiempo (en horas). En (a) 5,0 mg/mL; en (b) 2,5 mg/mL y (c) 1,25 mg/mL. Todos los datos representan la media de cuatro repeticiones independientes y se expresaron en % de germinación \pm ES ($n = 40$). La significación de las diferencias se analizó mediante una prueba de Kruskal-Wallis ANOVA ($p < 0,05$).

El compuesto **50** no mostró actividad fitotóxica sobre la germinación de las semillas de tomate. Los % de germinación fueron cercano al 100% para todas las concentraciones ensayadas. Por lo tanto, el compuesto **50** exhibió una inocuidad elevada sobre las germinaciones de las semillas.

El compuesto **53** mostró actividad fitotóxica sobre la germinación de las semillas de tomate, lo cual se vio reflejado en los valores de los % de germinación. Para la concentración de 5,0 mg/mL, los % de germinación fueron entre un 0% (96 h) y 90% (168 h); en cambio, para las concentraciones de

2,5 y 1,25 mg/mL, los % de germinación fueron aumentando, alcanzando valores superiores a los 37% y 60%, respectivamente (véase **Figura 19**). Con base a estos datos experimentales, el compuesto **53** exhibió actividad fitotóxica moderado sobre la germinación de las semillas, especialmente para la concentración de 5,0 mg/mL.

Por otra parte, se evaluaron las correlaciones entre las diferentes concentraciones y la germinación de las semillas mediante una prueba de correlación de *Spearman* (véase **Tabla 6**). El compuesto **50** presentó un coeficiente de correlación inferior a 0,2 (en valor absoluto), esto indicó que las germinaciones de las semillas de tomate son independientes de la concentración a la cual se aplicó el compuesto hidratado, ya que la correlación es muy baja y, por lo tanto, no hubo un efecto biológico importante. Asimismo, el compuesto **53** presentó un coeficiente de correlación de 0,25, esto indicó que las germinaciones de las semillas de tomate tienen una baja dependencia con la concentración a la cual se aplicó el compuesto; además, el signo negativo indicó que dicha dependencia fue inversamente proporcional, es decir, que a mayor concentración del compuesto aplicado menor será el % de germinación y, viceversa.

Tabla 6: Coeficiente de correlación de *Spearman* (R) entre la concentración y el % de germinación de los compuestos de la serie de prenil-fenoles ciclados.

	Concentración versus Germinación	
	R	p-value
50	-0,106684	p<0,05
53	-0,254666	p<0,05

Además, se realizó una comparación para dos muestras independientes a través de una prueba de *U Mann Withney*, que permitió comparar los compuestos **28b-50** y **31b-53** (véase **Tabla 7**). El par **28b-50** fue el único que presentó diferencias significativas entre el compuesto sin hidratar y el compuesto hidratado. Por lo tanto, la hidratación de la cadena de prenilo sí tuvo un efecto sobre la germinación de las semillas de tomate; sin embargo, los % de germinación fueron más alto para el compuesto hidratado que para el compuesto sin hidratar. Con base a lo anterior, la presencia de un grupo -OH en la cadena lateral tuvo un efecto positivo en la tasa de germinación. En cambio, el par **31b-53** no presentó diferencias significativas, por lo que la hidratación de la cadena de prenilo no mostró una actividad sobre la germinación de las semillas.

Tabla 7: Pruebas de *U Mann Withney* para la comparación de dos muestras independientes.

Compuestos	Concentración mg/mL	p-value
28-50*	5	$p < 0,0000$
	2,5	$p < 0,0000$
	1,25	$p < 0,0496$
31-53	5	$p > 0,0682$
	2,5	$p > 0,5966$
	1,25	$p > 0,3971$

*Estadísticamente significativo

7.2.3 Crecimiento de raíces de tomate

La medida de la longitud de las raíces de tomate se llevó a cabo al séptimo día (168 h) finalizado el proceso de germinación. Las raíces fueron escaneadas a una resolución de 300 ppp y la longitud se midió con el software *ImageJ*. Dependiendo del grado de toxicidad de los compuestos tratados esto se vio reflejado en la longitud de las raíces. Para los compuestos con un % de inhibición alto (en valor absoluto), la longitud de las raíces fue de menos de 2 cm de largo, mientras que para los compuestos con un % de inhibición bajo (en valor absoluto), la longitud de las raíces fue mayores a 5 cm.

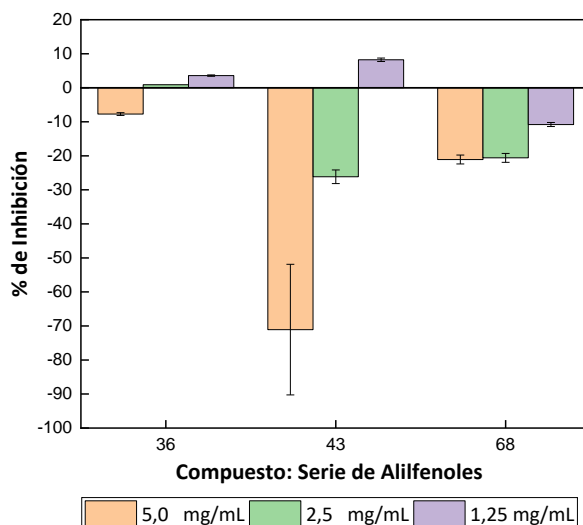
7.2.4 Análisis estadísticos

Todos los datos de los compuestos de las series de alil- y prenil-fenoles junto con sus derivados ciclados e hidratados fueron evaluados mediante ajustes de distribución y, posteriormente, se realizaron ensayos *post Hoc ANOVA*. Los programas usados en los análisis estadísticos están incluidos en el Software *Statistica 7*.

7.2.4.1 Serie de alil-fenoles

En el **Gráfico 1** se muestran los % de inhibición (%) en el crecimiento de las raíces de tomate a 168 h de germinación de los compuestos de la serie de alil-fenoles a tres concentraciones diferentes. Además, la longitud de las raíces se midió en centímetros (cm).

Gráfico 1: Porcentajes de crecimiento de raíces de tomate a las 168 h para los compuestos de la serie de alil-fenoles. Los datos fueron reportados como %I ± ES. Los compuestos **36** y **43** exhibieron una distribución normal ($p > 0,05$); mientras que el compuesto **68** mostró una distribución no paramétrica ($p < 0,05$). La significación de las diferencias se analizó mediante una prueba de *Scheffe* y *Kruskal-Wallis*.



El compuesto **36** no mostró inhibición sobre el crecimiento de las raíces de tomate, lo cual se vio reflejado en los % de inhibición bajos. Para las concentraciones ensayadas, los datos experimentales fueron los siguientes: -7,7%, 0,8% y 3,6%. Con base a los datos experimentales, no se presentaron diferencias significativas con respecto al control ($p > 0,05$).

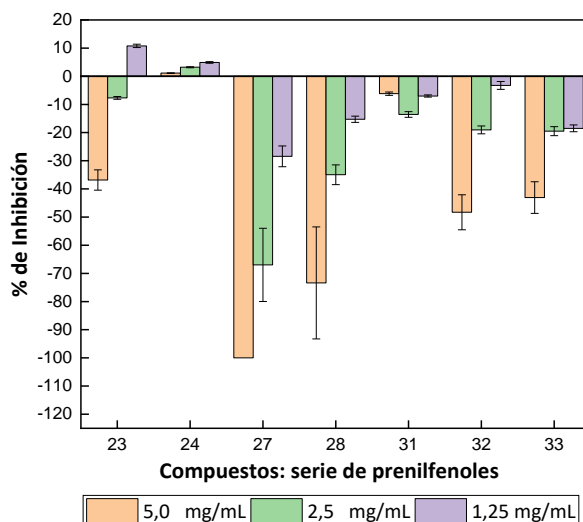
El compuesto **43** mostró actividad fitotóxica sobre el crecimiento de las raíces de tomate, lo que se vio reflejado en los valores de los % de inhibición. Para las concentraciones de 5,0 y 2,5 mg/mL, los % de inhibición fueron los siguientes: -71% y -26%, respectivamente. A estas dos concentraciones ensayadas, sí se presentaron diferencias significativas con respecto al control ($p < 0,05$). Con base a los datos experimentales, el compuesto **43** exhibió actividad fitotóxica moderada-alta sobre el crecimiento de las raíces, especialmente para las concentraciones de 5,0 y 2,5 mg/mL, donde las longitudes de las raíces fueron menores al promedio de las longitudes del control.

Por último, el compuesto **68** mostró actividad fitotóxica sobre el crecimiento de las raíces de tomate, lo cual se vio reflejado en los valores de los % de inhibición. Para las concentraciones de 5,0 y 2,5 mg/mL, los % de inhibición fueron los siguientes: -21% y 20,6%, respectivamente. A estas dos concentraciones ensayadas, sí se presentaron diferencias significativas con respecto al control ($p < 0,0011$). Con base a los datos experimentales, el compuesto **68** exhibió actividad fitotóxica moderada-baja sobre el crecimiento de las raíces.

7.2.4.2 Serie de prenil-fenoles

En el **Gráfico 2** se muestran los % de inhibición en el crecimiento de las raíces de tomate a 168 h de germinación de los compuestos de la serie de prenil-fenoles a tres concentraciones diferentes. Además, la longitud de las raíces se midió en centímetros (cm).

Gráfico 2: Porcentajes de crecimiento de raíces de tomate a las 168 h para los compuestos de la serie de prenil-fenoles. Los datos fueron reportados como %I ± ES. Todos los compuestos de la serie de prenil-fenoles presentaron datos con distribución normal ($p > 0,05$) a excepción del compuesto **27** que presentó un comportamiento no paramétrico ($p < 0,05$). La significación de las diferencias se analizó mediante una prueba de *Scheffe* para datos no pareados.



El compuesto **23** mostró efecto fitotóxico sobre el crecimiento de las raíces solo para la concentración de 5,0 mg/mL, por lo que presentó diferencias significativas con respecto a los datos del control. Experimentalmente, el % de inhibición del crecimiento de las raíces fue de un -37%. Sin embargo, para las concentraciones de 2,5 y 1,25 mg/mL, no se observó efectos fitotóxicos sobre el crecimiento de las raíces de tomate.

El compuesto **24** no mostró efectos fitotóxicos sobre el crecimiento de las raíces en ninguna de las concentraciones ensayadas, por lo que no presentó diferencias significativas con respecto a los datos del control.

El compuesto **27** mostró efectos fitotóxicos sobre el crecimiento de las raíces para las concentraciones de 5,0 y 2,5 mg/mL, presentando diferencias significativas con respecto al control. Experimentalmente, los % de inhibición fueron los siguientes: -100% y -67%, respectivamente. Con base a estos datos experimentales, para la concentración de 5,0 mg/mL, no se observó germinación

de semillas de tomate y, por ende, de crecimiento de raíces, mientras que para la concentración de 2,5 mg/mL, la germinación de semillas fue lenta. Por lo tanto, el compuesto **27** exhibió una actividad fitotóxica alta sobre el crecimiento de las raíces de tomate, especialmente para las concentraciones de 5,0 y 2,5 mg/mL.

El compuesto **28b** mostró actividades fitotóxicas sobre el crecimiento de las raíces para las concentraciones de 5,0 y 2,5 mg/mL, presentando diferencias significativas con respecto al control. A estas concentraciones, los % de inhibición fueron los siguientes: -73% y -35%, respectivamente. Para la concentración de 5,0 mg/mL, se observó una germinación lenta y, por lo tanto, un crecimiento de raíces pequeñas; asimismo, para la concentración de 2,5 mg/mL, se observó un mayor número de germinación de semillas, lo que se vio reflejado en la longitud de las raíces. Por lo tanto, el compuesto **28b** exhibió una actividad fitotóxica moderada-alta sobre el crecimiento de las raíces de tomate.

El compuesto **31b** no mostró actividades fitotóxicas sobre el crecimiento de las raíces en ninguna de las concentraciones ensayadas, no presentando diferencias significativas con respecto al control. Experimentalmente, los % de inhibición fueron inferiores a -13%. Por lo tanto, el compuesto **31b** no exhibió actividad fitotóxica, lo cual se traduciría en una inocuidad alta con respecto al crecimiento de las raíces de tomate.

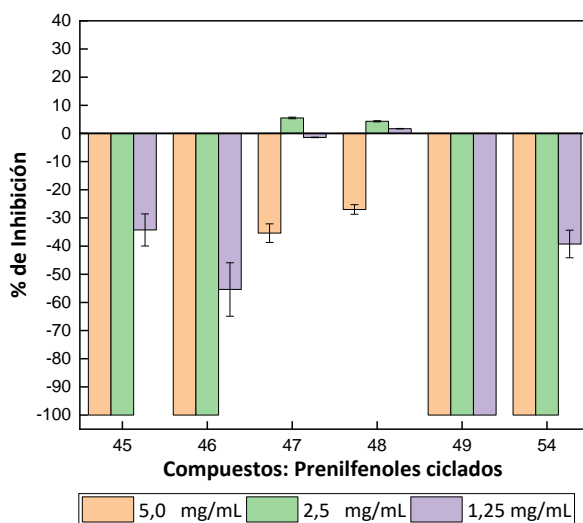
El compuesto **32** mostró actividad fitotóxica sobre el crecimiento de las raíces solo para la concentración de 5,0 mg/mL, presentando diferencias significativas con respecto al control. Experimentalmente, el % de inhibición fue de un -48%. Con base a lo anterior, el compuesto **32** exhibió una actividad fitotóxica baja sobre el crecimiento de las raíces, lo que se vio reflejado en el crecimiento de raíces más largas.

Y, por último, el compuesto **33** mostró actividad fitotóxica sobre el crecimiento de las raíces solo para la concentración de 5,0 mg/mL, presentando diferencias significativas. Experimentalmente, el % de inhibición fue de un -43%. Con base a lo anterior, el compuesto **33** exhibió una actividad fitotóxica baja sobre el crecimiento de las raíces de tomate.

7.2.4.3 Serie de prenil-fenoles ciclados

En el **Gráfico 3** se muestran los % de inhibición en el crecimiento de las raíces de tomate a 168 h de germinación de los compuestos de la serie de prenil-fenoles ciclados a tres concentraciones diferentes. Además, la longitud de las raíces se midió en centímetros (cm).

Gráfico 3: Porcentajes de crecimiento de raíces de tomate a las 168 h para los compuestos de la serie de prenil-fenoles ciclados. Los datos fueron reportados como $\% \pm ES$. Los compuestos **45**, **46**, **49** y **54** presentaron datos con distribución no paramétrica ($p < 0,05$) mientras que los compuestos **47** y **48** presentaron datos con distribución normal ($p > 0,05$). La significación de las diferencias se analizó mediante pruebas de *Kruskal-Wallis* y *Scheffe*, respectivamente.



Los compuestos **45**, **46**, **49** y **54** mostraron actividades fitotóxicas sobre el crecimiento de las raíces de tomate especialmente para las concentraciones de 5,0 y 2,5 mg/mL. A estas dos concentraciones, los cuatro compuestos presentaron diferencias significativas con respecto al control. Experimentalmente, las mayores actividades se observaron para las concentraciones de 5,0 y 2,5 mg/mL, donde los % de inhibición fueron de un -100%, por lo que no se observó germinación de las semillas y, por lo tanto, crecimiento de las raíces de tomate. Sin embargo, para la concentración de 1,25 mg/mL, se observó una disminución en los % de inhibición, esto debido al efecto de dilución de los compuestos ensayados. Con base a los datos experimentales, estos cuatro compuestos exhibieron actividades fitotóxicas altas sobre el crecimiento de las raíces, en especial el compuesto **49**, quien fue el único compuesto que no se observó crecimiento de raíces a ninguna de las tres concentraciones ensayadas.

Por el contrario, los compuestos **47** y **48** mostraron actividades fitotóxicas sobre el crecimiento de las raíces solo para la concentración de 5,0 mg/mL. A esta concentración, los dos compuestos presentaron diferencias significativas con respecto al control. Experimentalmente, los % de inhibición fueron los siguientes: -35% y -27%, respectivamente. Con base a lo anterior, los dos compuestos exhibieron actividad fitotóxica moderada-baja sobre el crecimiento de las raíces de tomate.

Además, se realizaron comparaciones de dos muestras independientes (compuesto con la cadena de prenilo lineal versus compuesto ciclado) a través de una prueba de *U Mann Withney*, que permitió comparar los pares de compuestos **23-45**, **24-46**, **27-49** y **32-54**. Los compuestos ciclados exhibieron una mayor actividad fitotóxica sobre el crecimiento de las raíces en comparación con sus análogos no ciclados (o lineales), lo que se vio reflejado en los % de inhibición altos, especialmente para los compuestos **45**, **46**, **49** y **54** que presentaron 100% de inhibición en el crecimiento de las raíces, donde no hubo germinación de semillas de tomate. Para estos pares de compuestos, sí se presentaron diferencias significativas entre el compuesto con la cadena de prenilo lineal y el compuesto ciclado. Con base a lo anterior, la ciclación de la cadena de prenilo produjo un aumento en la actividad fitotóxica sobre la germinación de las semillas y que se vio reflejado en el crecimiento de las raíces de tomate (véase **Tabla 8**).

Tabla 8: Pruebas de *U Mann Withney* para la comparación de dos muestras independientes entre los compuestos de la serie de prenil-fenoles lineales y ciclados

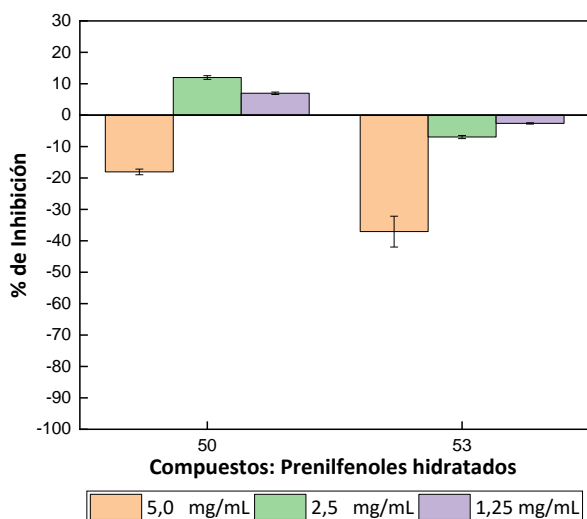
Compuestos	Concentración mg/mL	p-value
23-45*	5	p = 0,0000
	2,5	
	1,25	
24-46*	5	p = 0,0000
	2,5	
	1,25	
27-49*	5 ^(a)	p > 0,05
	2,5	p = 0,0000
	1,25	p = 0,0000
32-54*	5	p = 0,0000
	2,5	
	1,25	

*Estadísticamente significativo; ^(a) No hay diferencias significativas

7.2.4.4 Serie de prenil-fenoles hidratados

En el **Gráfico 4** se muestran los % de inhibición en el crecimiento de las raíces de tomate a 168 h de germinación de los compuestos de la serie de prenil-fenoles hidratados a tres concentraciones diferentes. Además, la longitud de las raíces se midió en centímetros (cm).

Gráfico 4: Porcentajes de crecimiento de raíces de tomate a las 168 h para los compuestos de la serie de prenil-fenoles hidratados. Los datos fueron reportados como $\% \pm ES$. Los compuestos **50** y **53** presentaron datos con distribución normal ($p > 0,05$). La significación de las diferencias se analizó mediante prueba de *Scheffe* para datos no pareados.



El compuesto **50** mostró actividad fitotóxica sobre el crecimiento de las raíces de tomate para las concentraciones de 5,0 y 2,5 mg/mL. A estas dos concentraciones, se presentaron diferencias significativas con respecto al control. Experimentalmente, los % de inhibición fueron de un -15% y 12%, respectivamente. Con base a lo anterior, el compuesto **50** exhibió una actividad fitotóxica baja sobre el crecimiento de raíces, incluso para la concentración de 2,5 mg/mL, se observó un valor de % de inhibición positivo, por lo que hubo un mayor crecimiento de las raíces con respecto al control.

El compuesto **53** mostró actividad fitotóxica sobre el crecimiento de las raíces de tomate solo para la concentración de 5,0 mg/mL. A esta concentración, se presentó diferencias significativas con respecto al control. Experimentalmente, el % de inhibición fue de un -35%. Con base a lo anterior, el compuesto **53**, exhibió una actividad fitotóxica baja sobre el crecimiento de las raíces.

Además, se realizaron comparaciones de dos muestras independientes (compuesto lineal versus compuesto hidratado) a través de una prueba de *U Mann Withney*, que permitió comparar los pares de compuestos **28b-50** y **31b-53**. El compuesto **50** exhibió una menor actividad fitotóxica sobre el

crecimiento de las raíces en comparación con el compuesto **28b** sin hidratar. Para este par de compuestos, se presentaron diferencias significativas entre ellos. Con base a lo anterior, sí habría una diferencia entre la cadena de prenilo lineal y la cadena lateral hidratada. Experimentalmente, se observó una disminución en los % de inhibición para el compuesto **50**, lo que se vio reflejado en un aumento de las longitudes de las raíces de tomate (véase **Tabla 9**).

Tabla 9: Pruebas de *U Mann Withney* para la comparación de dos muestras independientes entre los compuestos de la serie de prenil-fenoles lineales e hidratados

Compuestos	Concentración mg/mL	p-value
28-50*	5	P < 0,05
	2,5	
	1,25	
31-53	5	p > 0,05
	2,5	
	1,25	

*Estadísticamente significativo

7.2.5 Fitotoxicidad en hojas de tomate

Para los ensayos de fitotoxicidad *in vivo* en las hojas de tomate, se emplearon plantas de 21 días. Las semillas de tomate fueron germinadas en una cámara de cría bajo las siguientes condiciones: 16/8 h día/noche y a 23,5 °C/21 °C día/noche. El tratamiento se realizó con micro-aspersores de 1 mL de cada compuesto disuelto en EtOH puro, donde la concentración de cada producto se calculó a través de los valores de EC_{80-90} μg del pocillo/100 μL . El área afectada se midió con la ayuda del software *imageJ* y se expresan en cm^2 .

7.2.6 Análisis estadísticos

Todos los datos de los compuestos fueron evaluados mediante ajustes de distribución y, posteriormente, se realizaron ensayos *post Hoc* mediante una prueba de ANOVA de Tukey para datos normales y pareados y una prueba de ANOVA de Scheffe para datos normales no pareados. Los programas usados en los análisis estadísticos están incluidos en el Software *Statistica 7*.

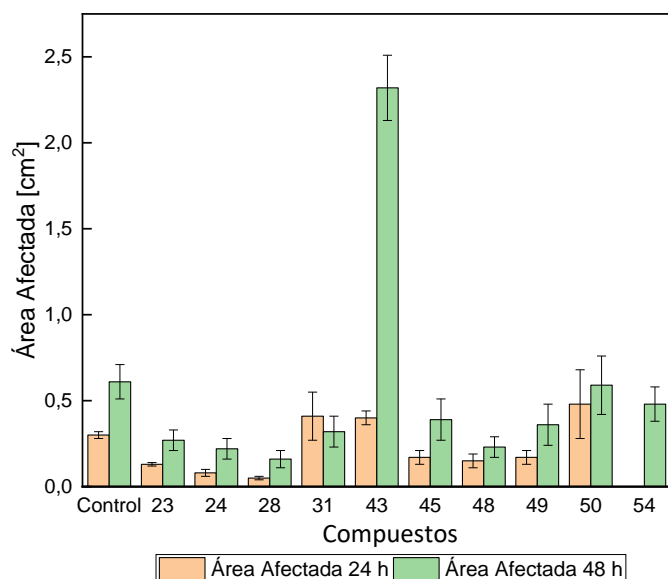
7.2.7 Resultados

En las pruebas de fitotoxicidad se ensayaron un total de 10 compuestos, pertenecientes a las series de alil-fenoles (**43**), prenil-fenoles (**23**, **24**, **28** y **31**), derivados ciclados (**45**, **48**, **49** y **54**) y un derivado hidratado (**50**). Estos compuestos mostraron actividad contra el crecimiento micelial del hongo *B. cinerea* B-05; sin embargo, se desconoce el efecto que puedan causar estos compuestos sobre la hoja de tomate. Para este propósito, se realizaron pruebas estadísticas para observar si existen diferencias significativas entre el daño causado por el compuesto o el daño causado por el EtOH (usado como solvente).

El **Gráfico 5** muestra los promedios de las áreas afectadas (AA) sobre las hojas de tomate a 24 h y 48 h de exposición para los 10 compuestos antes mencionados. Para el ensayo de fitotoxicidad en hojas de tomate para 24 h de exposición, no se observó daño foliar significativo sobre las hojas de tomate, por lo que los compuestos ensayados serían inocuos para las concentraciones aplicadas. En estas condiciones, no se presentaron diferencias significativas con respecto al control. Por lo tanto, el AA en las hojas de tomate estuvo relacionado con la actividad del EtOH usado como solvente, que posiblemente provocó lesiones necróticas sobre las mismas.

De manera similar, se realizó ensayos de fitotoxicidad en hojas de tomate a 48 h de exposición. Nueve compuestos no mostraron actividad fitotóxica sobre las hojas de tomate a excepción del compuesto **43** que sí mostró actividad fitotóxica en hojas de tomate, lo que se vio reflejado en un aumento del área destruida (necrótica). En estas condiciones, el compuesto **43**, sí presentó diferencias significativas con respecto al control. Experimentalmente, el AA del compuesto **43** fue de 2,32 cm² mientras que el área total de la hoja fue de 5,00 cm², lo que se tradujo en un 46% de daño foliar total, que sería la suma del efecto del disolvente puro (EtOH) más el efecto provocado por el compuesto **43**.

Gráfico 5: Efecto de los compuestos de la serie de alil- y prenil-fenoles y sus derivados ciclados e hidratados en hojas de tomate de 21 días. La significación de las diferencias se analizó mediante prueba de *Scheffe* para datos no pareados. Los datos se reportaron como AA ± EE.



7.2.8 Citotoxicidad en esporas de *B. cinerea*

En la primera etapa de los ensayos de citotoxicidad de las esporas de *B. cinerea* (cepa B0.5), se emplearon las siguientes cantidades de reactivos: 100 μL del medio de cultivo RPMI_{MOPS}, 80 μL stock de los compuestos a tratar y 20 μL de suspensión de esporas de concentración 10^7 esporas/mL. El medio de cultivo RPMI_{MOPS} se empleó para la germinación de esporas de *B. cinerea*. La incubación de las placas de cultivos se llevó a cabo durante 24 h a 25 °C en una estufa. Para estos ensayos de citotoxicidad, se llevaron a cabo a cinco concentraciones diferentes: 800, 400, 200, 100 y 50 $\mu\text{g/mL}$. La segunda etapa, se llevó a cabo el revelado de las placas empleando dos compuestos fotosensibles: MTT (5 mg/mL) y menadiona (1 mM), seguido de 200 μL de isopropanol ácido. En el caso de que las esporas de *B. cinerea* hayan resistido a los distintos compuestos, habrán metabolizado los reactivos y provocado un viraje de color que es directamente proporcional a la concentración de esporas, de esta manera, se puede determinar las absorbancias para cada pocillo de la placa. Por lo tanto, a mayor % de crecimiento se espera una mayor absorbancia; por el contrario, a menor % de crecimiento menor absorbancia. Las lecturas de las absorbancias se llevaron a cabo mediante un lector ELISA.

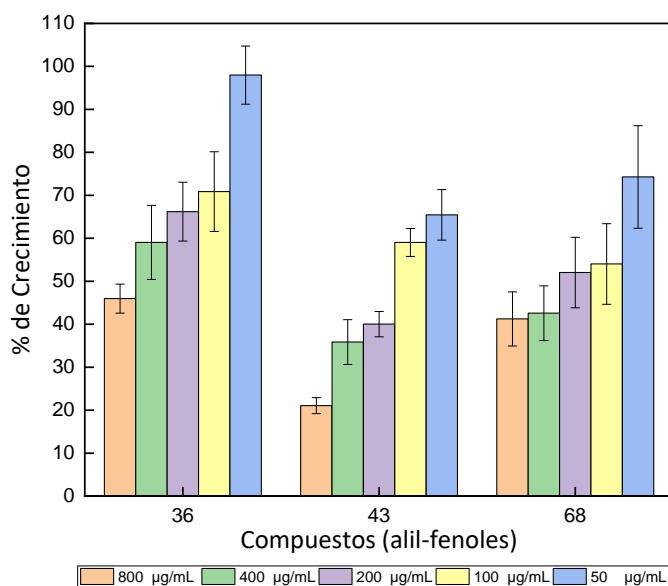
7.2.9 Análisis estadísticos

Todos los datos de los compuestos fueron evaluados mediante ajustes de distribución y, posteriormente, se realizaron ensayos *post Hoc* mediante una prueba de ANOVA *Kruskal-Wallis* para datos no paramétricos. Los programas usados en los análisis estadísticos están incluidos en el Software *Statistica 7*. En cambio, los valores de LC₅₀ se realizaron con el Software *Statgraphics*.

7.2.9.1 Serie de alil-fenoles

Los porcentajes de crecimiento de las esporas de *B. cinerea* se realizaron a cinco concentraciones diferentes: 800, 400, 200, 100 y 50 $\mu\text{g/mL}$. El control fue una disolución de DMSO. Los datos fueron reportados como $\%C \pm EE$ (véase **Gráfico 6**).

Gráfico 6: Promedios de los porcentajes de crecimiento de esporas de *B. cinerea* B-05 para la serie de alil-fenoles. La citotoxicidad se midió a cinco concentraciones diferentes. Los datos fueron expresados en $\%C \pm EE$. La significación de las diferencias se analizó mediante prueba de ANOVA *Kruskal-Wallis*.



El compuesto **36** mostró actividad citotóxica sobre las esporas de *B. cinerea* solo para la concentración de 800 $\mu\text{g/mL}$. A esta concentración, se presentó diferencias significativas con respecto al control. Experimentalmente, se observó un 45% de crecimiento de esporas de *B. cinerea*. Sin embargo, para concentraciones menores a 800 $\mu\text{g/mL}$ no se observaron actividades citotóxicas, donde los % de crecimiento fueron superiores al 58%, a estos valores la actividad citotóxica no tuvo un efecto biológico relevante debido a que estadísticamente no se presentaron diferencias significativas con respecto al control.

El compuesto **43** mostró actividades citotóxicas sobre las esporas de *B. cinerea* para tres concentraciones: 800, 400 y 200 $\mu\text{g/mL}$. Para estas concentraciones, sí se presentaron diferencias significativas con respecto al control. Experimentalmente, los % de crecimiento de esporas de *B. cinerea* fueron los siguientes: 21%, 36% y 40%, respectivamente. Con base a estos resultados, se observaron dos cosas: la primera es que sí hubo actividad citotóxica sobre las esporas y la segunda

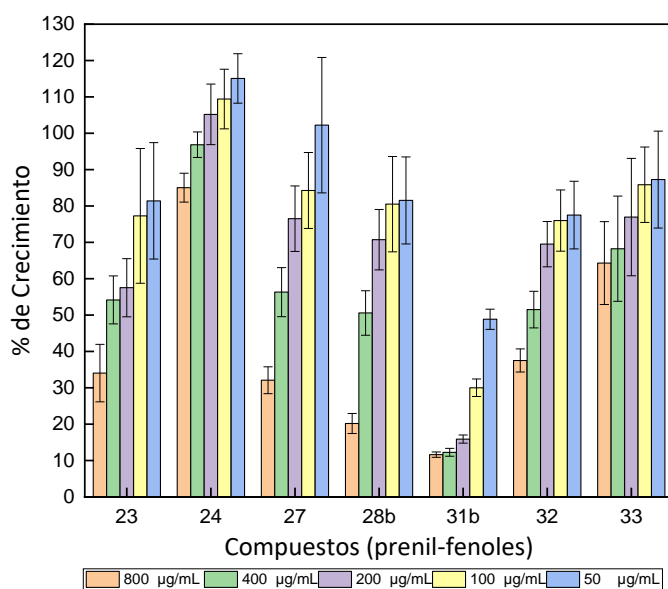
es que dicha actividad fue disminuyendo a razón de la disminución de la concentración del compuesto ensayado, lo que se vio reflejado en % de crecimiento más altos. Además, la actividad citotóxica fue máxima para la concentración de 800 $\mu\text{g}/\text{mL}$ y mínima para la concentración de 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

Y, por último, el compuesto **68** mostró actividades citotóxicas sobre las esporas de *B. cinerea* para las concentraciones de 800 y 400 $\mu\text{g}/\text{mL}$. A estas dos concentraciones, sí se presentaron diferencias significativas con respecto al control. Experimentalmente, los % de crecimiento fueron cercanas al 45%. Para concentraciones menores a 400 $\mu\text{g}/\text{mL}$, la actividad citotóxica no tuvo un efecto biológico importante debido a que estadísticamente no se presentaron diferencias significativas con respecto al control.

7.2.9.2 Serie de prenil-fenoles

Los porcentajes de crecimiento de las esporas de *B. cinerea* se realizaron a cinco concentraciones diferentes: 800, 400, 200, 100 y 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$. El control fue una disolución de DMSO. Los datos fueron reportados como $\%C \pm \text{EE}$ (véase **Gráfico 7**).

Gráfico 7: Promedios de los porcentajes de crecimiento de esporas de *B. cinerea* B-05 para la serie de alil-fenoles. La citotoxicidad se midió a cinco concentraciones diferentes. Los datos fueron expresados en $\%C \pm \text{EE}$. La significación de las diferencias se analizó mediante prueba de ANOVA *Kruskal-Wallis*.



El compuesto **23** mostró actividad citotóxica sobre las esporas de *B. cinerea* solo para la concentración de 800 µg/mL. A esta concentración, se presentó diferencias significativas con respecto al control. Experimentalmente, se observó un % de crecimiento de un 34%. Sin embargo, a concentraciones inferiores a 800 µg/mL, no se observaron actividades citotóxicas importante debido a que estadísticamente no se presentaron diferencias significativas.

El compuesto **24** no mostró actividades citotóxicas sobre las esporas de *B. cinerea* para ninguna de las concentraciones aplicadas. Para estas concentraciones, no se presentaron diferencias significativas con respecto al control. Experimentalmente, los % de crecimiento fueron superiores al 85%, incluso se alcanzó valores mayores al 100%, lo que significaría que hubo un aumento en la concentración de esporas con respecto al control.

El compuesto **27** mostró actividad citotóxica sobre las esporas de *B. cinerea* solo para la concentración de 800 µg/mL. A esta concentración, sí se presentó diferencias significativas con respecto al control. Experimentalmente, el % de crecimiento fue de un 32%. Para concentraciones más bajas a 800 µg/mL, no se observó actividades citotóxicas debido a que no se presentaron diferencias significativas con respecto al control.

El compuesto **28b** mostró actividad citotóxica sobre las esporas de *B. cinerea* solo para la concentración de 800 µg/mL. A esta concentración, sí se presentó diferencias significativas con respecto al control. Experimentalmente, el % de crecimiento fue de un 20%. Con base a lo anterior, el compuesto **28b** exhibió una actividad citotóxica alta con respecto al crecimiento de las esporas de *B. cinerea*, lo cual se vio reflejado en un valor de crecimiento bajo. Para concentraciones más bajas a 800 µg/mL, no se observaron actividades citotóxicas debido a que no se presentaron diferencias significativas con respecto al control.

El compuesto **31b** mostró actividades citotóxicas sobre las esporas de *B. cinerea* para cuatro concentraciones: 800, 400, 200 y 100 µg/mL. A estas concentraciones, sí se presentaron diferencias significativas con respecto al control. Experimentalmente, los % de crecimiento fueron los siguientes: 11,6%, 12%, 16% y 30%, respectivamente. Con base a lo anterior, el compuesto **31b** tuvo una actividad citotóxica máxima para la concentración de 800 µg/mL y una actividad citotóxica mínima para la concentración de 100 µg/mL. De los siete compuestos de la serie de prenil-fenoles, el compuesto **31b**, fue el que exhibió la actividad citotóxica más alta sobre las esporas de *B. cinerea*.

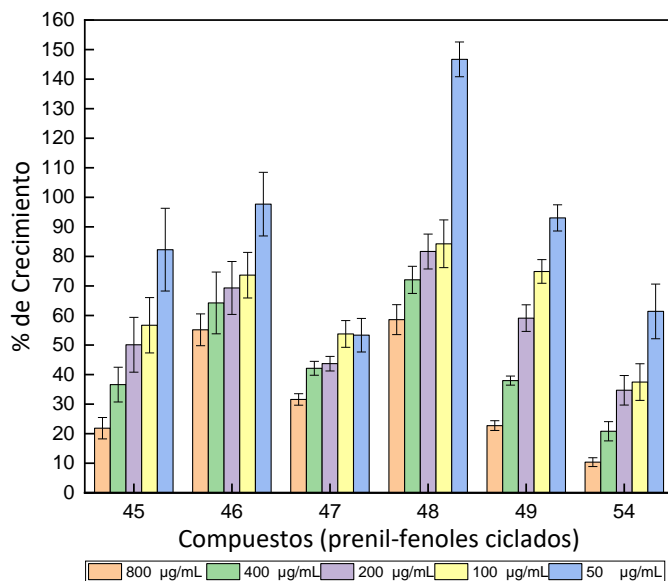
El compuesto **32** mostró actividad citotóxica sobre las esporas de *B. cinerea* solo para la concentración de 800 $\mu\text{g/mL}$. A esta concentración, sí se presentó diferencias significativas con respecto al control. Experimentalmente, el % de crecimiento fue de un 32%. Para concentraciones más bajas a 800 $\mu\text{g/mL}$, no se observaron actividades citotóxicas sobre las esporas de *B. cinerea* debido a que no se presentaron diferencias significativas con respecto al control.

El compuesto **33** no mostró actividades citotóxicas sobre las esporas de *B. cinerea* a ninguna de las concentraciones aplicadas. En estas condiciones, no se presentaron diferencias significativas con respecto al control. Experimentalmente, los % de crecimiento fueron superiores al 64%.

7.2.9.3 Serie de prenil-fenoles ciclados

Los porcentajes de crecimiento de las esporas de *B. cinerea* se realizaron a cinco concentraciones diferentes: 800, 400, 200, 100 y 50 $\mu\text{g/mL}$. El control fue una disolución de DMSO. Los datos fueron reportados como $\%C \pm EE$ (véase **Gráfico 8**).

Gráfico 8: Promedios de los porcentajes de crecimiento de esporas de *B. cinerea* B-05 para la serie de alil-fenoles. La citotoxicidad se midió a cinco concentraciones diferentes. Los datos fueron expresados en $\%C \pm EE$. La significación de las diferencias se analizó mediante prueba de ANOVA *Kruskal-Wallis*.



El compuesto **45** mostró actividades citotóxicas sobre las esporas de *B. cinerea* para las concentraciones de 800 y 400 $\mu\text{g/mL}$. A estas concentraciones, sí se presentaron diferencias significativas con respecto al control. Experimentalmente, los % de crecimiento fueron los

siguientes: 22% y 37%, respectivamente. La máxima actividad citotóxica se observó a una concentración de 800 µg/mL, donde el crecimiento de las esporas fue menor, mientras que la mínima actividad citotóxica se observó a una concentración de 400 µg/mL. Sin embargo, a concentraciones inferiores a 400 µg/mL, no se observaron actividades citotóxicas debido a que no se presentaron diferencias significativas con respecto al control.

El compuesto **46** no mostró actividades citotóxicas sobre las esporas de *B. cinerea* para ninguna de las concentraciones aplicadas. En estas concentraciones, no se presentaron diferencias significativas con respecto al control. Experimentalmente, los % de crecimiento fueron superiores a los 55%.

El compuesto **47** mostró actividad citotóxica sobre las esporas de *B. cinerea* solo para la concentración de 800 µg/mL. A esta concentración, sí se presentó diferencias significativas con respecto al control. Experimentalmente, el % de crecimiento fue de un 31,5%. Para concentraciones inferiores a 800 µg/mL, no se observaron actividades citotóxicas debido a que no se presentaron diferencias significativas. Los % de crecimiento, fueron superiores al 45%.

El compuesto **48** mostró actividades citotóxicas sobre las esporas de *B. cinerea* para las concentraciones de 800 y 400 µg/mL. A estas dos concentraciones, sí se presentaron diferencias significativas con respecto al control. Experimentalmente, los % de crecimiento fueron los siguientes: 58% y 72%, respectivamente. Para concentraciones inferiores a 400 µg/mL, no se observaron actividades citotóxicas debido a que no se presentaron diferencias significativas con respecto al control.

El compuesto **49** mostró actividades citotóxicas sobre las esporas de *B. cinerea* para las concentraciones de 800 y 400 µg/mL. A estas dos concentraciones, sí se presentaron diferencias significativas con respecto al control. Experimentalmente, los % de crecimiento fueron los siguientes: 23% y 38%, respectivamente. La máxima actividad citotóxica se observó para una concentración de 800 µg/mL mientras que a 400 µg/mL, la actividad citotóxica fue mínima. Para concentraciones inferiores a 400 µg/mL, no se observaron actividades citotóxicas debido a que no se presentaron diferencias significativas con respecto al control.

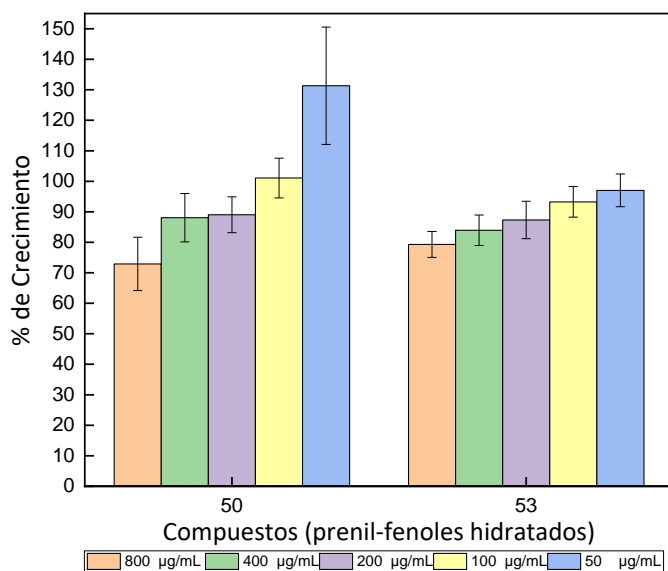
Y, por último, el compuesto **54** mostró actividades citotóxicas sobre las esporas de *B. cinerea* para las concentraciones de 800, 400, 200 y 100 µg/mL. A estas concentraciones, sí se presentaron diferencias significativas con respecto al control. Experimentalmente, los % de crecimiento estuvieron entre un 10% y un 37%, respectivamente. La máxima actividad citotóxica se observó para

la concentración de 800 µg/mL mientras que la mínima actividad citotóxica fue a la concentración de 100 µg/mL. El compuesto **54**, fue el compuesto más activo de la serie de prenil-fenoles ciclados.

7.2.9.4 Serie de prenil-fenoles hidratados

Los porcentajes de crecimiento de las esporas de *B. cinerea* se realizaron a cinco concentraciones diferentes: 800, 400, 200, 100 y 50 µg/mL. El control fue una disolución de DMSO. Los datos fueron reportados como %C ± EE (véase **Gráfico 9**).

Gráfico 9: Promedios de los porcentajes de crecimiento de esporas de *B. cinerea* B-05 para la serie de alil-fenoles. La citotoxicidad se midió a cinco concentraciones diferentes. Los datos fueron expresados en %C ± EE. La significación de las diferencias se analizó mediante prueba de ANOVA *Kruskal-Wallis*.



El compuesto **50** no mostró actividades citotóxicas sobre las esporas de *B. cinerea* para ninguna de las concentraciones aplicadas. En estas concentraciones, no se presentaron diferencias significativas con respecto al control. Experimentalmente, los % de crecimiento fueron superiores al 70%.

Y, por último, el compuesto **53** no mostró actividades citotóxicas sobre las esporas de *B. cinerea* para ninguna de las concentraciones aplicadas. En estas concentraciones, no se presentaron diferencias significativas con respecto al control. Experimentalmente, los % de crecimiento fueron superiores al 79%.

Por lo tanto, para ambos compuestos hidratados, las actividades citotóxicas tuvieron un efecto despreciable sobre el crecimiento de las esporas de *B. cinerea* y se puede despreciar cualquier efecto biológico sobre estas.

7.2.9.5 Concentración letal media (LC₅₀)

Los valores de LC₅₀, junto con los límites inferiores y superiores, fueron determinados a partir del *Software Statgraphics*. A continuación, la **Tabla 10** se exponen los valores de LC₅₀ para cada uno de los compuestos ensayados en el crecimiento de esporas de *B. cinerea*, además del intervalo inferior y superior.

Tabla 10: Valores de LC₅₀ para los 18 compuestos aplicados en los bioensayos de citotoxicidad de esporas de *B. cinerea*. Los valores de LC₅₀ están expresados en mg/mL.

Compuestos	LC ₅₀ [mg/mL]	Límite Inferior [mg/mL]	Límite superior [mg/mL]	R
23	0,379	0,732	0,196	-0,660798
24	29,468	454,018	1,913	-0,677578
27	0,461	0,679	0,313	-0,854836
28b	0,325	0,468	0,226	-0,82918
31b	0,028	0,045	0,016	-0,909031
32	0,455	0,739	0,280	-0,793751
33	3,617	87,342	0,150	-0,429243
36	0,588	1,000	0,345	-0,804305
43	0,140	0,174	0,112	-0,92036
45	0,195	0,246	0,155	-0,902646
46	1,005	2,831	0,357	-0,670221
47	0,105	0,163	0,068	-0,798733
48	0,829	1,429	0,481	-0,843452
49	0,269	0,295	0,244	-0,982746
50	2,392	9,371	0,610	-0,6952
53	73,625	2053,950	2,639	-0,665257
54	0,074	0,092	0,058	-0,950307
68	0,258	0,378	0,175	-0,793051

(R = coeficiente de correlación).

A partir de la tabla anterior, todos los compuestos exhibieron valores de R superiores a 0,6 (en valor absoluto) a excepción del compuesto **33**, con lo cual se obtuvo correlaciones moderada – muy fuerte entre los valores de LC₅₀ y la actividad citotóxica. Además, los coeficientes de correlaciones mostraron valores negativos, lo que indicó que la relación entre las variables fue inversamente proporcional, es decir, que a menor concentración mayor fue la actividad citotóxica y que se vio

reflejado en valores de LC_{50} más bajos. Por lo tanto, los compuestos con las actividades citotóxicas más fuertes fueron precisamente los que presentaron valores de LC_{50} más bajos. Con base a lo descrito anteriormente, los compuestos **31b** y **54**, fueron los que exhibieron los valores de LC_{50} más bajos: 0,028 y 0,074 mg/mL, respectivamente. Asimismo, fueron los que mostraron las actividades citotóxicas más importantes sobre el crecimiento de las esporas de *B. cinerea*. Por el contrario, los compuestos **24** y **53** fueron los que exhibieron los valores de LC_{50} más altos: 29,468 y 73,625 mg/mL, respectivamente. Para estos compuestos, se observaron actividades citotóxicas sin relevancia biológicas sobre el crecimiento de las esporas de *B. cinerea*. Y, por último, el resto de los compuestos, los valores de LC_{50} se encuentran entre 0,074 y 29,468 mg/mL.

8 Conclusiones

1. Se lograron sintetizar siete compuestos de la serie de prenil-fenoles a partir de una reacción de alquilación de Friedels-Crafts. Esta reacción permitió el acoplamiento directo entre una cadena de prenilo y el correspondiente anillo aromático. Además, se empleó el $ZnCl_2$ como catalizador de Lewis y la reacción fue promovida por irradiación de microondas, con lo cual se acortaron los tiempos de reacción. Finalmente, los rendimientos obtenidos mediante esta ruta sintética fueron de un 2,4% y un 19,4%.
2. Se logró sintetizar dos compuestos de la serie de alil-fenoles a partir de los correspondientes fenoles y bromuro de alilo. Además, se utilizó una nueva estrategia sintética que combinó la síntesis de éter de Williamson seguido de un Reordenamiento de Claisen, ambas etapas fueron promovidas por irradiación de microondas. Esta estrategia sintética demostró una mejor selectividad para la obtención del compuesto **35** cuyo rendimiento de reacción fue de un 57,2%. Además, la reacción fue más económica porque se reemplazó el catalizador de Lewis ($ZnCl_2$) por una base fuerte (KOH), más barato.
3. Se lograron separar y purificar 19 compuestos de las series de alil- y prenil-fenoles y sus respectivos derivados ciclados e hidratados, mediante la técnica de separación por Cromatografía Líquida Preparativa con eluciones isocráticas y por gradientes de polaridad.
4. Los compuestos **23, 24, 31, 36, 47, 48, 50 y 60** fueron los que exhibieron los mejores % de germinación de las semillas de tomate para todas las concentraciones ensayadas. Asimismo, estos mismos compuestos exhibieron los % de inhibición más bajos sobre el crecimiento de las raíces de tomate. Con base a estos resultados experimentales, estos ocho compuestos fueron los que presentaron la inocuidad más alta frente a la germinación de semillas y al crecimiento de raíces. Por otro lado, en el ensayo de fitotoxicidad en hojas de tomate, todos los compuestos ensayados, a excepción del compuesto **43**, demostraron ser inocuos y causar el mínimo de daño foliar posible, por lo que los hace buenos candidatos para aplicarlos directamente en hojas de tomate. Por último, en los ensayos de citotoxicidad en esporas de *B. cinerea*, los compuestos **31b, 43, 45, 54** fueron los que mostraron los % de crecimiento de esporas más bajos; además, estos compuestos exhibieron actividad citotóxica en un rango de 200-800 mg/mL. Además, 15 de los 18 compuestos ensayados exhibieron valores de LC_{50} aptos para inhibir el crecimiento de esporas de *B. cinerea*.

5. Los compuestos **27, 28, 43, 45, 46, 49, 53 y 54** fueron los que exhibieron los % de germinación de semillas más bajos para todas las concentraciones ensayadas. Asimismo, estos mismos compuestos exhibieron los % de inhibición más altos sobre el crecimiento de las raíces de tomate. Con base a estos resultados experimentales, estos ocho compuestos fueron los que mostraron la inocuidad más baja y, por lo tanto, fueron los que causaron más daño tanto a la germinación como al crecimiento de raíces, especialmente los compuestos sintéticos de prenil-fenoles ciclados. Además, el compuesto **43** presentó el daño foliar más importante, especialmente a las 48 h. Estos compuestos no serían apropiados para aplicarlos directamente a las semillas, raíces y hojas.
6. El compuesto **31b** demostró excelentes resultados en todos los ensayos biológicos ensayos, lo cual lo convierte en el mejor candidato ya que presentó buenos % de germinación de semillas, % de inhibición bajas, un daño foliar mínimo tanto a 24 h como a 48 h; además, fue el que exhibió el % de crecimiento de esporas de *B. cinerea* más baja incluso a concentración de 100 mg/mL. Adicionalmente, mostró un valor de LC_{50} 0,028 mg/mL, siendo este el valor más bajo de los 18 compuestos ensayados. Por el contrario, el compuesto **43** sería el peor compuesto candidato ya que presentó % de germinación de semillas bajos, % de inhibición alto y causó un importante daño foliar en hojas de tomate, especialmente a las 48 h.
7. Finalmente, con base a los resultados experimentales obtenidos, se puede concluir que 10 de los 18 compuestos ensayados presentaron una inocuidad aceptable en semillas, raíces y hojas de tomates; por lo tanto, se acepta la hipótesis planteada en la subsección 5.1, ya que dichos compuestos no causaron efectos fitotóxicos importantes. Por otro lado, y con base a lo escrito anteriormente, las proyecciones de este trabajo podrían ser la optimización de las reacciones de prenilación/alilación de Friedels-Crafts para aumentar los rendimientos de reacción, como también ampliar los objetivos del trabajo a otros tipos de verduras/frutas de importancia comercial y a diferentes fitopatógenos presentes en los cultivos nacionales.

9 Abreviaturas

- CC : Cromatografía en Columna
- CCF : Cromatografía en Capa Fina
- DCM : DiCloroMetano
- MgSO₄ : Sulfato de magnesio
- ZnCl₂ : Cloruro de zinc
- EtOH : Etanol
- AcOEt : Acetato de etilo
- SEAr : Sustitución Electrofílica Aromática
- T, a, : Temperatura ambiente
- C⁺ : Control positivo
- C⁻ : Control negativo
- MW : MicroWave = microonda
- RMN : Resonancia Magnética Nuclear
- δ : Desplazamiento químico
- ppm : Parte por millón
- s : Singlete
- d : Doblete
- t : Triplete
- dd : Doble doblete
- m : Multiplete
- J : Constante de acoplamiento
- 2J y 3J : Acoplamiento escalar heteronuclear a dos y tres enlaces, respectivamente
- DEPT : *Distortionalless 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

- IUPAC

*INTERNATIONAL UNION OF
PURE AND APPLIED CHEMISTRY*

10 Bibliografía

- [1] Banco Central. Informe de Cuentas Nacionales de Chile Primer Trimestre 2022.
- [2] ODEPA Informativo Ficha Nacional; Santiago de Chile, 2022.
- [3] ODEPA Tomate: una especie de exportación; Santiago de Chile, 2021.
- [4] Russell, P. E. (2005). A century of fungicide evolution. *The Journal of Agricultural Science*, 143(1), 11-25.
- [5] Wedge, D.E.; Camper, N.D. (2000) Agrochemicals and Pharmaceuticals. In *Biologically Active Natural Products*; Cutler, H.G., Cutler, S.J., Eds.; CRC Press: Boca Raton, FL, USA.
- [6] Leroux, P., Fritz, R., Debieu, D., Albertini, C., Lanen, C., Bach, J., Gredt, M., & Chapeland, F. (2002). Mechanisms of resistance to fungicides in field strains of *Botrytis cinerea*. *Pest management science*, 58(9), 876–888.
- [7] Rojas Salas, M. C., & Luque Turriago, J. E. (2012). Biofungicida a partir del jugo de fique (*Furcraea spp.*) y evaluación de su efectividad sobre la gota (*Phytophthora infestans*) en el cultivo de papa (*Solanum tuberosum*). *Revista Educación En Ingeniería*, 7(13), 13–22.
- [8] ODEPA Panorama de la Agricultura Chilena; Santiago de Chile, 2012; ISBN 9789567244263.
- [9] ODEPA Panorama de la agricultura chilena (Chilean agriculture overview); 2019; ISBN 9789567244317.
- [10] Schoonhoven, A. V., & Cardona, C. (1980). Insectos y otras plagas del frijol en América Latina.
- [11] Van Driesche, R., Hoddle, M., Center, T. D., Ruíz, C. E., Coronada, B. J., & Manuel, A. J. (2007). Control de plagas y malezas por enemigas naturales (No. 632.96 V33). US Department of Agriculture, US Forest Service, Forest Health Technology Enterprise Team. Guzmán, M., & Martínez-Ovalle, M. J. (2019). Las malezas, plantas incomprendidas. *Ciencia, Tecnología Y Salud*, 6(1), 68–76.
- [12] Butin, H.; Peredo, H. L. Hongos parásitos en coníferas de América del Sur: con especial referencia a Chile; J. Cramer: Berlin, 1986; Vol. 101; ISBN 3443590020.
- [13] Elad, Y., Stewart, A. (2007). Microbial Control of Botrytis spp. In: Elad, Y., Williamson, B., Tudzynski, P., Delen, N. (eds) *Botrytis: Biology, Pathology and Control*. Springer, Dordrecht.
- [14] Cruz, A. (2004). El caldo bordelés. Preparación y usos. Informativo INIA Quilamapu.
- [15] Sepúlveda, L.; Agudelo, L.; Arengas, A. (2006). El mercurio, sus implicaciones en la salud y en el medio ambiente. *Revistas Científicas Lun Azul*, Universidad de Caldas.
- [16] Guerrero, J., & Velandia, Y. (2013). Evaluación de Metodologías para el Análisis de Productos Tóxicos de la Degradación de Fungicidas Ditiocarbamatos. *Revista Colombiana de Química*, 42(3), 344-364.
- [17] Brandhorst, T. Tristan; Klein, Bruce S. (2018). Uncertainty surrounding the mechanism and safety of the post-harvest fungicide fludioxonil. *Food and Chemical Toxicology*.
- [18] Niki Petsikos-Panayotarou; E. Markellou; A.E. Kalamarakis; D. Kyriakopoulou; N.E. Malathrakis (2003). In vitro and In vivo Activity of Cyprodinil and Pyrimethanil on *Botrytis cinerea* Isolates Resistant to other Botryticides and Selection for Resistance to Pyrimethanil in a Greenhouse Population in Greece., 109(2), 173–182.
- [19] Sholberg, P. L., Bedford, K. E., & Stokes, S. (2003). Effect of preharvest application of cyprodinil on postharvest decay of apples caused by *Botrytis cinerea*. *Plant Disease*, 87(9), 1067-1071.
- [20] Zhao, H., Kim, Y. K., Huang, L., & Xiao, C. L. (2010). Resistance to thiabendazole and baseline sensitivity to fludioxonil and pyrimethanil in *Botrytis cinerea* populations from apple and pear in Washington State. *Postharvest biology and technology*, 56(1), 12-18.
- [21] Legard, D. E.; Xiao, C. L.; Mertely, J. C.; Chandler, C. K. (2001). Management of *Botrytis* Fruit Rot in Annual Winter Strawberry Using Captan, Thiram, and Iprodione. *Plant Disease*, 85(1), 31–39.
- [22] Saito, S.; Cadle-Davidson, L.; Wilcox, Wayne F. (2014). Selection, Fitness, and Control of Grape Isolates of *Botrytis cinerea* Variably Sensitive to Fenhexamid. *Plant Disease*, 98(2), 233–240.
- [23] Yei-Shung, W.; Chih-Yuan, W.; Tzu-Chuan, C.; Jui-Hung, Y. (2004). Effect of fungicide

- iprodione on soil bacterial community., 59, 0–132.
- [24] Ishii, H. (2006). Impact of Fungicide Resistance in Plant Pathogens on Crop Disease Control and Agricultural Environment. *Japan Agricultural Research Quarterly: JARQ*, 40(3), 205–211.
- [25] Colmenares Lima, GT y Arcia Moctezuma, MA (2019). Gestión sostenible para la producción de biofungicidas y fortalecimiento del sector de bioinsumos agrícolas venezolanos. *Enfoque UTE*, 10 (1), págs. 26 - 40.
- [26] Motta-Delgado, PA, & Murcia-Ordoñez, B. (2011). Hongos entomopatógenos como alternativa para el control biológico de plagas. *Ambiente & Agua - Revista Interdisciplinaria de Ciencias Aplicadas*, 6 (2),77-90.
- [27] Colmenares, G., & Arcia M., M. A. (2017). Innovación en la producción de biofungicidas. *Revista Científica "Conecta Libertad"* ISSN 2661-6904, 1(2), 26–43.
- [28] García, R., Riera, R., Zambrano, C., & Gutiérrez, L. (2006). Desarrollo de un fungicida biológico a base de una cepa del hongo *Trichoderma Harzianum* proveniente de la región andina venezolana. *Fitosanidad*, 10 (2),115-121.
- [29] García Hernández, DG, Oranday Cárdenas, A., Verde Star, MJ, Quintanilla Licea, R., Leos Rivas, C., Garza González, E., & Rivas Morales, C. (2015). Actividad fungicida, antioxidante e identificación de los compuestos más activos de 20 plantas utilizadas en la medicina tradicional mexicana. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 46 (3),73-79.
- [30] Montes-Belmont, R. (2009). Diversidad de compuestos químicos producidos por las plantas contra hongos fitopatógenos. *Revista mexicana de micología*, 29, 73-82.
- [31] Medjdoub, R. (2005). Las algas marinas y la agricultura. División agrícola Catsaigier.
- [32] Hernández-Alvarado, J.; Zaragoza-Bastida, A.; López-Rodríguez, G.; Peláez-Acero, A.; Olmedo-Juárez, A.; & Rivero-Perez, N. (2018). Actividad antibacteriana y sobre nematodos gastrointestinales de metabolitos secundarios vegetales: enfoque en Medicina Veterinaria. *Abanico veterinario*, 8(1), 14-27.
- [33] Sepúlveda, G., PortaDucoing, H., & RochaSosa, M. (2003). La Participación de los Metabolitos Secundarios en la Defensa de las Plantas. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 21 (3),355-363.
- [34] Augustin, J. M., Kuzina, V., Andersen, S. B., & Bak, S. (2011). Molecular activities, biosynthesis, and evolution of triterpenoid saponins. *Phytochemistry*, 72(6), 435–457.
- [35] Pérez, A.; Jiménez E. (2011). Producción de metabolitos secundarios de plantas mediante el cultivo in vitro. *Biología Vegetal*. 11(4).195-211. ISSN 2074-8647.
- [36] Reynolds, G., & Rodriguez, E. (1979). Geranyl hydroquinone: a contact allergen from trichomes of *Phacelia crenulata*. *Phytochemistry*, 1567–1568
- [37] Inouye, H.; Tokura, K.; Tobita, S. On the structure of pirolatins. *Chem. Ber.* 1968, 101, 4057–4065.
- [38] Reynolds, G., Epstein, W., Terry, D., & Rodriguez, E. (1980). A potent contact allergen of *Phacelia* (Hydrophyllaceae). *Contact Dermatitis*, 6(4), 272-274.
- [39] Siregar, T. M., Budianto, E., Cahyana, H., & Wibowo, W. (2018). Synthesis and antioxidant activity of prenylated resveratrol. *Rasayan Journal of Chemistry*, 11(4), 1765-1770.
- [40] Muñoz R., Violeta, Cisterna O., Viviana y France I., Andre (2020) Aislamiento de microorganismos fitopatógenos [en línea]. Chillan: Boletín INIA - Instituto de Investigaciones Agropecuarias. no. 428. p. 77-91.
- [41] Qu, T., Zhang, J., Meng, Z., Liu, X., Cao, Y., Li, J., & Hao, J. J. (2014). Metabolism of fungicide 2-allylphenol in *Rhizoctonia cerealis*. *Ecotoxicology and environmental safety*, 102, 136-141.
- [42] Agrios, N. G. (2013). Enfermedades causadas por Ascomycetos y hongos imperfectos.
- [43] Zapata, J. C. (2015). Principios básicos de hongos fitopatógenos (1st ed.). Sello Editorial Universidad de Caldas.
- [44] Quiroz, K. (2003). Determinación del efecto fungicida de extractos de canelo (*Drimys winteri*), matico (*Buddleja globosa*), peumo (*Cryptocarya alba*), boldo (*Peumus boldus*) y bailahuén (*Haplopappus taeda* y *H. multifolius*) sobre hongos fitopatógenos (*Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea* y *Penicillium spp.*). Memoria de título, Ing. Agron. Universidad de Talca. Fac. de Cs. Agrarias. Talca, Chile.
- [45] Elad, Y. (1997). Responses of plants to infection by *Botrytis cinerea* and novel means involved in reducing their susceptibility to infection. *Biological Reviews*, 72(3), 381-422.
- [46] Hennebert, G. L.; Korf, Richard P. (1975). The Peat Mould, *Chromelosporium Ollare*, Conidial

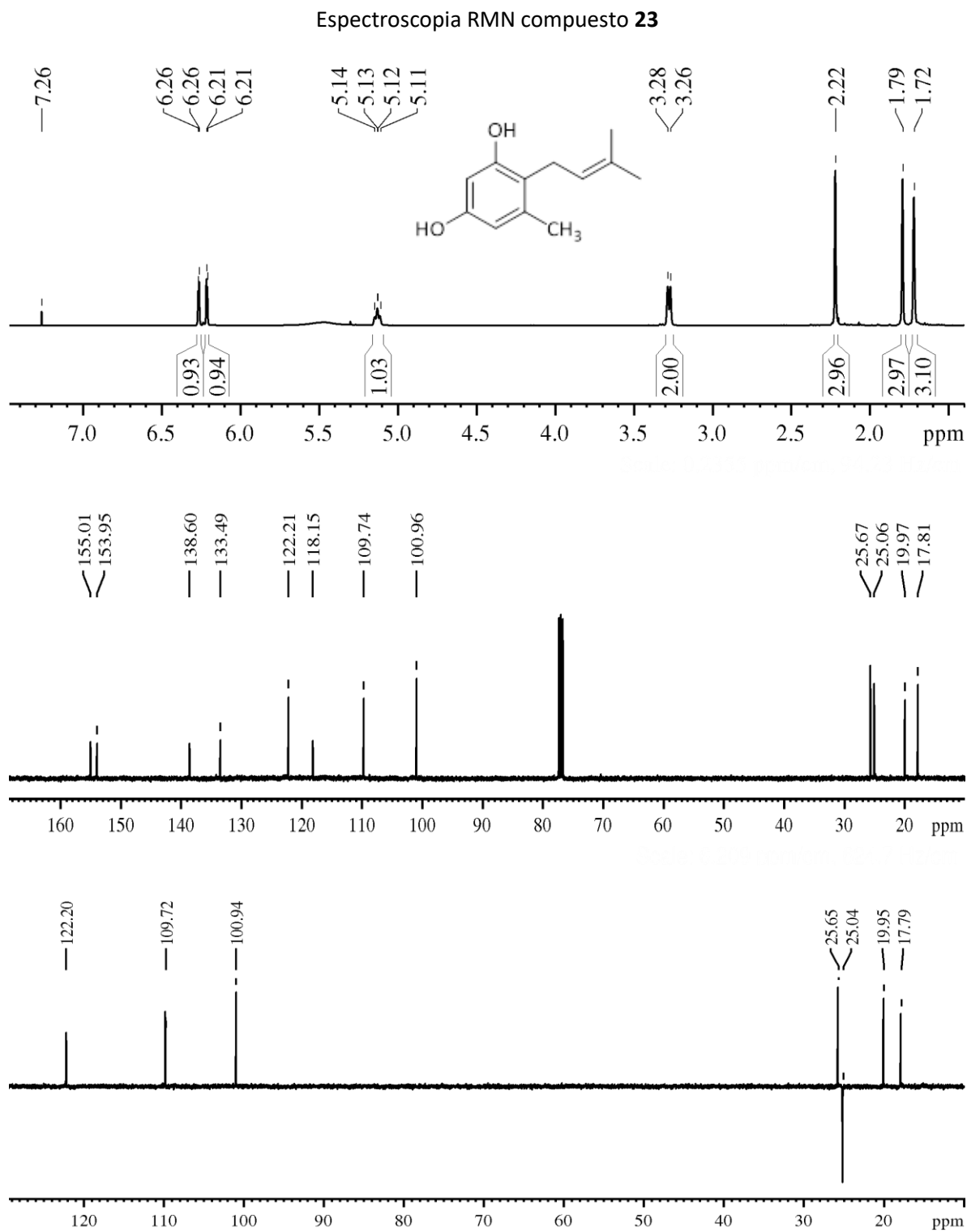
- State of *Peziza Ostracoderm*, and its Misapplied Names, *Botrytis Crystalline*, *Botrytis Spectabilis*, *Ostracoderm Epigaeum* and *Peziza Atrovinosa*. *Mycologia*, 67, 214–240.
- [47] Rosslenbroich, H.-J., & Stuebler, D. (2000). *Botrytis cinerea* — history of chemical control and novel fungicides for its management. *Crop Protection*, 19(8-10), 557–561.
- [48] Latorre, B. A. (2007). Pudrición gris ("*Botrytis cinerea*"), un factor limitante de la producción de uva de mesa en Chile. *Fitopatología*, 42, 9-20.
- [49] Elad, Y., & Shtienberg, D. (1995). *Botrytis cinerea* in greenhouse vegetables: chemical, cultural, physiological, and biological controls and their integration. *Integrated Pest Management Reviews*, 1, 15-29.
- [50] Matute, P. (2019). "Control Biológico del Moho Gris (*Botrytis cinerea*) en Cultivo de Fresa (*Fragaria vesca* L.) Mediante Hongos Filamentosos Antagonistas". Memoria de título, Ing. Ambiental. Universidad Politécnica Salesiana. Sede Cuenca. Cuenca, Ecuador.
- [51] Guzmán, Bernardo Latorre. Compendio de las enfermedades de las plantas. Ediciones UC, 2018.
- [52] Guzmán, B. L. (2004). Enfermedades de las plantas cultivadas. Ediciones UC.
- [53] Sutton, T. B., Aldwinckle, H. S., Agnello, A. M., & Walgenbach, J. F. (Eds.). (2014). Compendium of apple and pear diseases and pests (pp. 20-21). St. Paul, MN: American Phytopathological Society.
- [54] Rivera, R. R. (2019). Efecto de la aplicación poscosecha de un recubrimiento natural y aceites esenciales en el sistema antioxidante y metabolismo secundario de aguacate (*Persea americana* MILL., CV. 'HASS') ORGÁNICO.
- [55] De Miccolis Angelini, R.M., Pollastro, S., Faretra, F. (2016). Genetics of *Botrytis cinerea*. In: Fillinger, S., Elad, Y. (eds) *Botrytis – the Fungus, the Pathogen, and its Management in Agricultural Systems*. Springer, Cham.
- [56] Ayoub, F.; oujji, N.; Ayoub, M.; Hafidi, A.; Salghi, R.; Jodeh, S. (2018). In field control of *Botrytis cinerea* by synergistic action of a fungicide and organic sanitizer. *Journal of Integrative Agriculture*, 17, 1401–1408.
- [57] Palmucci, HE, Rivera, MC y Wright, ER (1997). *Botrytis cinerea* Pers. en plantas ornamentales cultivadas en Argentina.
- [58] Louis, C., Girard, M., Kuhl, G. y López-Ferber, M. (1996). Persistencia de *Botrytis cinerea* en su vector *Drosophila melanogaster*. *Fitopatología*, 86, 934-939.
- [59] Fermaud, M. & Giboulot, A. (1992). Influence of *Lobesia botrana* larvae on field severity of *Botrytis* rot of grape berries. *Plant Disease*, 76, 404-409.
- [60] Engelbrecht, R., Holz, G., & Kl, P. (2017). Occurrence of fruit-decaying fungi on adult male Mediterranean fruit flies (*Ceratitis capitata*) captured in orchards and adjacent vineyards. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 25, 48-53.
- [61] Fourie, J.F., & Holz, G. (1995). Initial infection processes by *Botrytis cinerea* on nectarine and plum fruit and the development of decay. *Phytopathology*, 85, 82-87.
- [62] GarcíaMateos, R., & PérezLeal, R. (2003). Fitoalexinas: mecanismo de defensa de las plantas. *Revista Chapingo. Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, 9,5-10.
- [63] Hutcheson S. W. (1998). Current concepts of active defense in plants. *Annual review of phytopathology*, 36, 59–90.
- [64] Basra, A. (Ed.). (1994). *Mechanisms of Plant Growth and Improved Productivity Modern Approaches* (1st ed.). CRC Press.
- [65] Melgarejo, J. (2011). Fungicidas: Mecanismos de acción de los fungicidas.
- [66] Kuc, J (1995). Phytoalexins, Stress Metabolism, and Disease Resistance in Plants. *Annual Review of Phytopathology*, 33(1), 275–297.
- [67] Lazar T. (2003). Taiz, L. and Zeiger, E. *Plant physiology*. 3rd edn. *Annals of Botany*, 91(6), 750–751.
- [68] Madriz-Ordeñana, K. (1998). Mecanismos de defensa en las interacciones planta-patógeno. *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)*, 22-32.
- [69] Joel A. Abbey, David Percival, Lord Abbey, Samuel K. Asiedu, Balakrishnan Prithiviraj & Annemiek Schilder (2019) Biofungicides as alternative to synthetic fungicide control of grey mould (*Botrytis cinerea*) – prospects and challenges, *Biocontrol Science and Technology*, 29:3, 207-228.
- [70] Bonkanka, C. (2007). Evolución farmacológica de terpenos y flavonoides de origen vegetal.

- Memoria de título, Farmacología. Universidad de La Laguna. Departamento de Medicina Física y Farmacología. La Laguna, España.
- [71] Wagner, K. H., & Elmadfa, I. (2003). Biological relevance of terpenoids. Overview focusing on mono-, di- and tetraterpenes. *Annals of nutrition & metabolism*, 47, 95–106.
- [72] Leyva, M.; Acoronte, J.; Marquetti, M.; Scull, R.; Tiomno, O.; Mesa, A.; & Montada, D. (2009). Utilización de aceites esenciales de pináceas endémicas como una alternativa en el control del *Aedes aegypti*. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 61, 239-243
- [73] Tovar, V.; Cepeda, L.; Rubio-Ríos, A.; & Galindo, A. (2019). Estudio de la polimerización en emulsión utilizando mircenol como monómero natural. *Rev. Iberoam. Polímeros*, 20, 146–155.
- [74] Thomas, A. F.; Bessiére, Y. (1989). Limonene. *Natural Product Reports*, 6, 291-309.
- [75] Kamatou, Guy P. P.; Viljoen, Alvaro M. (2008). Linalool – a Review of a Biologically Active Compound of Commercial Importance. *Natural Product Communications*, 3.
- [76] Lei, Y., Fu, P., Jun, X., & Cheng, P. (2019). Pharmacological Properties of Geraniol - A Review. *Planta médica*, 85, 48–55.
- [77] Kitchen L. J. (1948). Terpene phenols and phenol ethers. *Journal of the American Chemical Society*, 70, 3608–3610.
- [78] McPhail, K. L.; Davies-Coleman, M. T.; Starmer, J. (2001). Sequestered Chemistry of the Arminacean Nudibranch *Leminda Millerca* in Algoa Bay, South Africa. *J. Nat. Prod.* 64, 1183-1190.
- [79] Bonny, M.; Capon, R. A. (1994). A Sesquiterpene Quinone and Hydroquinone from the Southern Australian Marine Sponge, *Thorecta Choanoides*. *J. NAat. Prod.* 57, 539-540.
- [80] Inoue, A., Kitagawa, K., Shinokubo, H., & Oshima, K. (2001). Selective halogen-magnesium exchange reaction via organomagnesium ate complex. *The Journal of organic chemistry*, 66, 4333–4339.
- [81] Kondo, Y., Takazawa, N., Yamazaki, C., & Sakamoto, T. (1994). Halogen-Zinc Exchange Reaction of Haloaromatics with Lithium Trimethylzincate. *Journal of Organic Chemistry*, 59, 4717-4718.
- [82] Gomes, P., Gosmini, C., & Périchon, J. (2003). New chemical cross-coupling between aryl halides and allylic acetates using a cobalt catalyst. *Organic letters*, 5, 1043–1045.
- [83] Littke, A. F., & Fu, G. C. (1999). The First General Method for Stille Cross-Couplings of Aryl Chlorides. *Angewandte Chemie (International ed. in English)*, 38, 2411–2413.
- [84] Mula, S., Patro, BS, Kalena, GP y Chattopadhyay, S. (2006). Nueva síntesis de fenoles prenilados y sus propiedades antioxidantes. *Comunicaciones de productos naturales*, 1, 131–137.
- [85] Hoarau, C., & Pettus, T. R. (2003). Strategies for the preparation of differentially protected ortho-Prenylated Phenols. *Synlett*, 2003, 0127-0137.
- [86] Pochini, A. (1975). Insertion of isoprene units into phenol systems. II. Rearrangement of 3-methyl-2-buten-1-yl aryl ethers in weak protic acids.
- [87] Espinoza, L., Taborga, L., Díaz, K., Olea, A. F., & Peña-Cortés, H. (2014). Synthesis of linear geranylphenols and their effect on mycelial growth of plant pathogen *Botrytis cinerea*. *Molecules*, 19, 1512-1526.
- [88] Reynolds G., Rodríguez E. Geranylhydroquinone: A contact allergen from trichomes of *Phacelia crenulata*. *fitoquímica*. 1979; 18 :1567–1568.
- [89] Fenical, W. (1974). 4th Proceeding of Food Drugs from the Sea. *Marine Technological Society: Washington DC*.
- [90] Wang, Jie; Xu, Jianping; Gong, Xue; Yang, Min; Zhang, Chunhong; Li, Minhui (2019). Biosynthesis, Chemistry, and Pharmacology of Polyphenols from Chinese *Salvia* Species: A Review. *Molecules*, 24, 155–.
- [91] Manners, Gary D.; Jurd, Leonard (1977). The hydroquinone terpenoids of *Cordia alliodora*. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions* 1, 405–.
- [92] Reynolds, G.W., & Rodríguez, E. (1981). Prenylated hydroquinones: contact allergens from trichomes of *Phacelia minor* and *P. parryi*. *Phytochemistry*, 20, 1365-1366.
- [93] Benslimane, A. F., Pouchus, Y. F., Le Boterff, J., Verbist, J. F., Roussakis, C., & Monniot, F. (1988). Substances cytotoxiques et antibacteriennes de l'ascidie *Aplidium* antillense. *Journal of Natural Products*, 51, 582-583.
- [94] Sato, A., Shindo, T., Kasanuki, N., & Hasegawa, K. (1989). Antioxidant metabolites from the

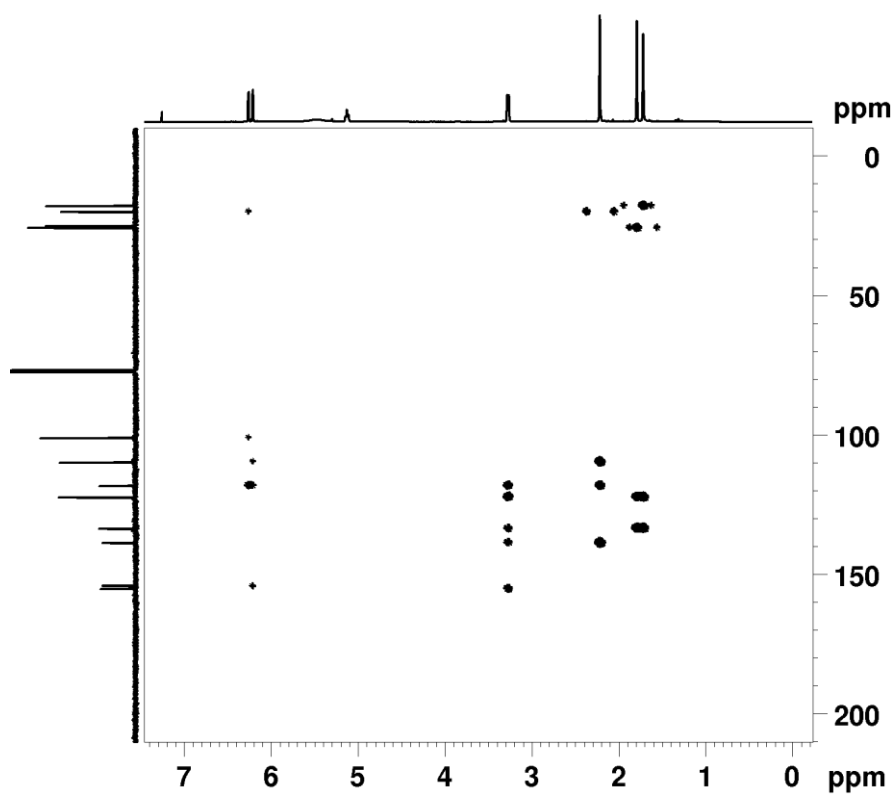
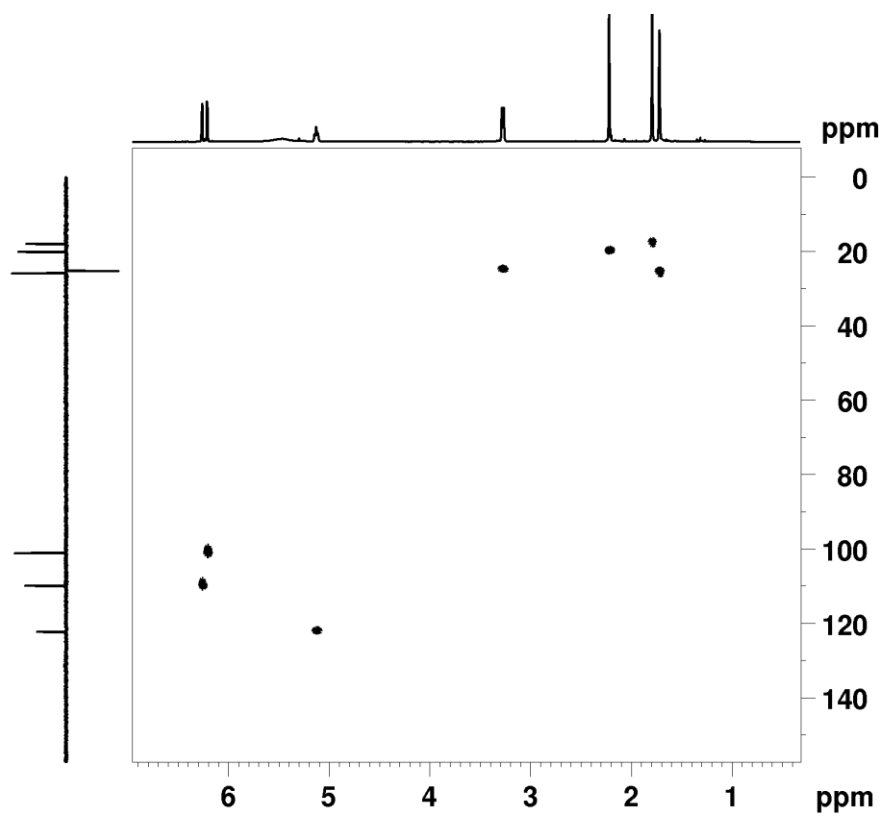
- tunicate *Amaroucium multiplicatum*. Journal of natural products, 52, 975-981.
- [95] Baeza Maturana, E., Catalán Marín, K., Villena García, J., Carrasco Altamirano, H., Cuellar Fritis, M., & Espinoza Catalán, L. (2012). Synthesis and cytotoxic activity of geranylmethoxyhydroquinone derivatives. Journal of the Chilean Chemical Society, 57, 1219-1223.
- [96] Osorio, M. E., Quiroz, K. A., Carvajal, M. A., Vergara, A. P., Sánchez, E. Y., González, C. E., & Catalán, K. S. (2016). Synthesis, anti-phytopathogenic and DPPH radical scavenging activities of C-prenylated acetophenones and benzaldehydes. Journal of the Chilean Chemical Society, 61, 3095-3101.
- [97] Catalán, L. E., Marín, K. C., Villegas, A. M., Altamirano, H. C., García, J. V., & Fritis, M. C. (2009). Synthesis of two new hemisynthetic diterpenylhydroquinones from natural Ent-labdanes. Molecules, 14, 2181-2194.
- [98] Espinoza, L., Taborga, L., Díaz, K., Olea, A. F., & Peña-Cortés, H. (2014). Synthesis of linear geranylphenols and their effect on mycelial growth of plant pathogen *Botrytis cinerea*. Molecules, 19, 1512-1526.
- [99] Taborga, L., Vergara, A., Fernández, M. J., Osorio, M., Carvajal, M., Madrid, A., ... & Espinoza Catalan, L. (2013). Synthesis and NMR structure determination of new linear geranylphenols by direct geranylation of activated phenols. Journal of the Chilean Chemical Society, 58, 1790-1796.
- [100] Fedorov, S. N., Radchenko, O. S., Shubina, L. K., Balaneva, N. N., Bode, A. M., Stonik, V. A., & Dong, Z. (2006). Evaluation of cancer-preventive activity and structure-activity relationships of 3-demethylubiquinone Q2, isolated from the ascidian *Aplidium glabrum*, and its synthetic analogs. Pharmaceutical research, 23, 70-81.
- [101] Shubina, L. K., Fedorov, S. N., Radchenko, O. S., Balaneva, N. N., Kolesnikova, S. A., Dmitrenok, P. S., ... & Stonik, V. A. (2005). Desmethylubiquinone Q2 from the far-eastern ascidian *Aplidium glabrum*: Structure and synthesis. Tetrahedron letters, 46, 559-562.
- [102] Takenaka, K., Tanigaki, Y., Patil, M. L., Rao, C. L., Takizawa, S., Suzuki, T., & Sasai, H. (2010). Enantioselective 6-endo-trig Wacker-type cyclization of 2-geranylphenols: Application to a facile synthesis of (-)-cordiachromene. Tetrahedron: Asymmetry, 21, 767-770.
- [103] Baeza, E., Catalán, K., Peña-Cortés, H., Espinoza, L., Villena, J., & Carrasco, H. (2012). Synthesis of geranylhydroquinone derivatives with potential cytotoxic activity. Química Nova, 35, 523-526.
- [104] Chávez, M. I., Soto, M., Taborga, L., Díaz, K., Olea, A. F., Bay, C., ... & Espinoza, L. (2015). Synthesis and in vitro antifungal activity against *Botrytis cinerea* of geranylated phenols and their phenyl acetate derivatives. International journal of molecular sciences, 16, 19130-19152.
- [105] Taborga, L., Díaz, K., Olea, A. F., Reyes-Bravo, P., Flores, M. E., Peña-Cortés, H., & Espinoza, L. (2015). Effect of polymer micelles on antifungal activity of geranylrocinol compounds against *Botrytis cinerea*. Journal of agricultural and food chemistry, 63, 6890-6896.
- [106] Qu, T., Gao, S., Li, J., Hao, J. J., & Ji, P. (2017). Synthesis and antifungal activity of 2-allylphenol derivatives against fungal plant pathogens. Pesticide Biochemistry and Physiology, 135, 47-51.
- [107] Gong, S., Hao, J., Xia, Y., Liu, X., & Li, J. (2009). Inhibitory effect of bionic fungicide 2-allylphenol on *Botrytis cinerea* (Pers. ex Fr.) in vitro. Pest Management Science: formerly Pesticide Science, 65, 1337-1343.
- [108] Kowalcze, M., & Jakubowska, M. (2019). Multivariate approach in voltammetric identification and simultaneous determination of eugenol, carvacrol, and thymol on boron-doped diamond electrode. Monatshefte für Chemie-Chemical Monthly, 150, 991-1002.
- [109] Carvalho, L. I. S. D., Alvarenga, D. J., Carmo, L. C. F. D., Oliveira, L. G. D., Silva, N. C., Dias, A. L. T., ... & Carvalho, D. T. (2017). Antifungal activity of new eugenol-benzoxazole hybrids against *Candida spp*. Journal of Chemistry, 2017.
- [110] Soto, M., Estevez-Braun, A., Amesty, Á., Kluepfel, J., Restrepo, S., Diaz, K., ... & Taborga, L. (2021). Synthesis and fungicidal activity of hydrated geranylated phenols against *Botrytis cinerea*. Molecules, 26, 6815.
- [111] Sanford, E. M., Lis, C. C., & McPherson, N. R. (2009). The preparation of allyl phenyl ether and 2-allylphenol using the williamson ether synthesis and Claisen rearrangement. Journal of chemical education, 86, 1422.

- [112] Vergara, A. P., Contreras, J. A., Osorio, M. E., & Carvajal, M. A. (2015). Rapid method of Friedel-Crafts alkylation of phloroglucinol by microwave in dry media and reusable catalyst. *Journal of the Chilean Chemical Society*, 60, 3069-3073.
- [113] Rana, K. K., & Rana, S. (2014). Microwave reactors: A brief review on its fundamental aspects and applications. *Open Access Library Journal*, 1, 1-20.
- [114] Soto, Mauricio; Espinoza, Luis; Chávez, María; Díaz, Katy; Olea, Andrés; Taborga, Lautaro (2016). Synthesis of New Hydrated Geranylphenols and in Vitro Antifungal Activity against *Botrytis cinerea*. *International Journal of Molecular Sciences*, 17, 840–
- [115] Eskilsson, C. S., & Björklund, E. (2000). Analytical-scale microwave-assisted extraction. *Journal of chromatography A*, 902, 227-250.
- [116] Hayes, B. L. (2004). Recent advances in microwave-assisted synthesis. *Aldrichimica Acta*, 37, 66-77.
- [117] de Carvalho Dias, K., Barbugli, P. A., & Vergani, C. E. (2016). Influence of different buffers (HEPES/MOPS) on keratinocyte cell viability and microbial growth. *Journal of microbiological methods*, 125, 40-42.
- [118] Barreto, T. L., Rossato, L., de Freitas, A. L. D., Meis, J. F., Lopes, L. B., Colombo, A. L., & Ishida, K. (2020). Miltefosine as an alternative strategy in the treatment of the emerging fungus *Candida auris*. *International journal of antimicrobial agents*, 56, 106049.
- [119] Liu, L., Wang, H., Lin, L., Gao, Y., & Niu, X. (2022). Mulberrin inhibits *Botrytis cinerea* for strawberry storage by interfering with the bioactivity of 14 α -demethylase (CYP51). *Food & Function*, 13, 4032-4046.
- [120] Garn, H., Krause, H., Enzmann, V., & Dröbler, K. (1994). An improved MTT assay using the electron-coupling agent menadione. *Journal of immunological methods*, 168, 253-256.
- [121] Mosmann, T. (1983). Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of immunological methods*, 65, 55-63.
- [122] Präbst, K., Engelhardt, H., Ringgeler, S., & Hübner, H. (2017). Basic colorimetric proliferation assays: MTT, WST, and resazurin. In *Cell viability assays* (pp. 1-17). Humana Press, New York, NY.

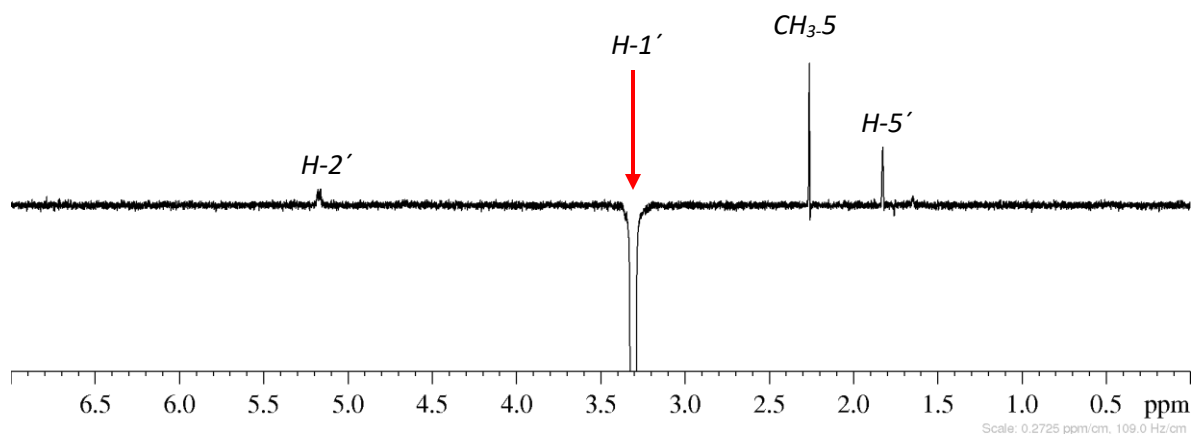
11 Anexos



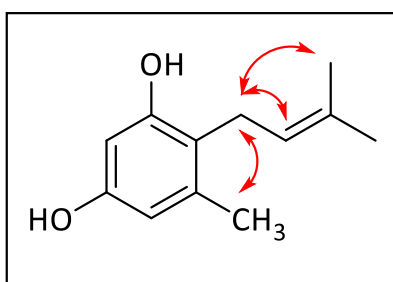
Anexo 1: RMN de ¹H, RMN de ¹³C y Dept-135, respectivamente. (Compuesto 23)



Anexo 2: HSQC y HMBC, respectivamente. (Compuesto 23)

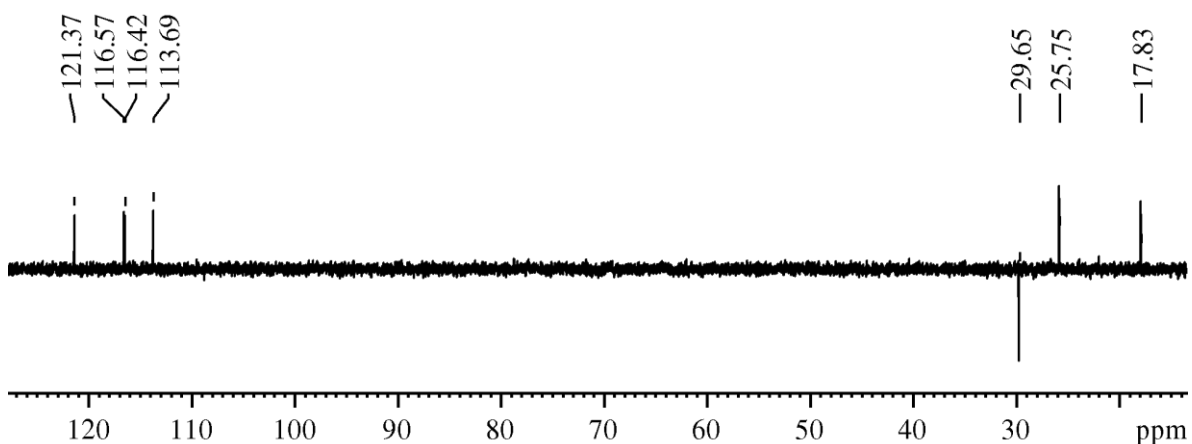
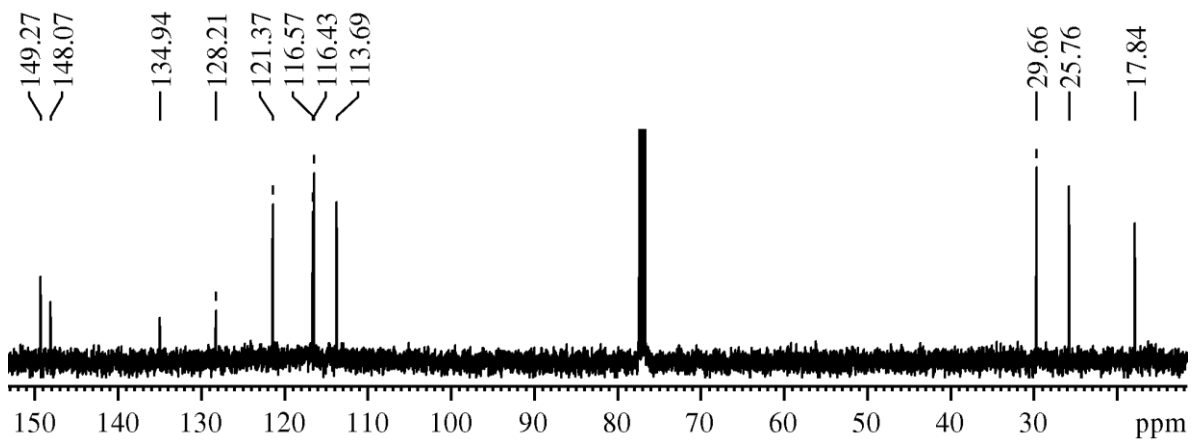
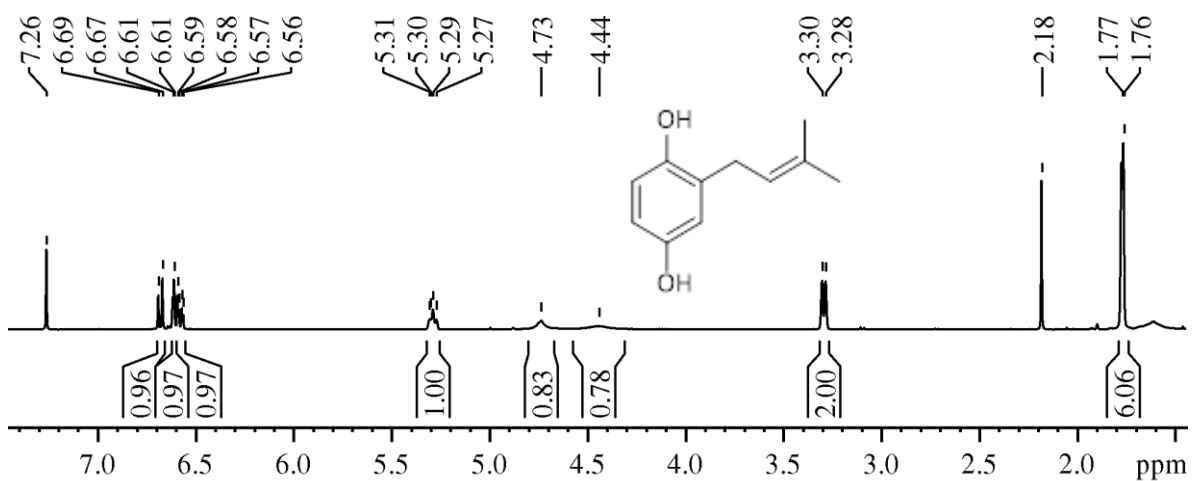


Correlación 1D *NOESY* selectivo para la molécula **23**

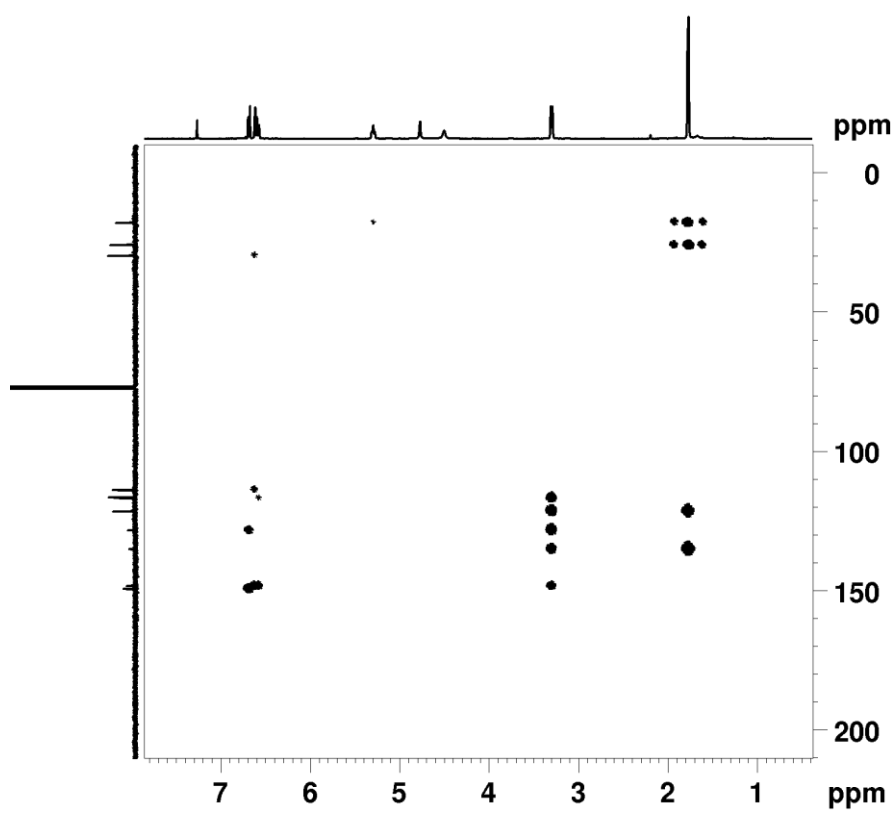
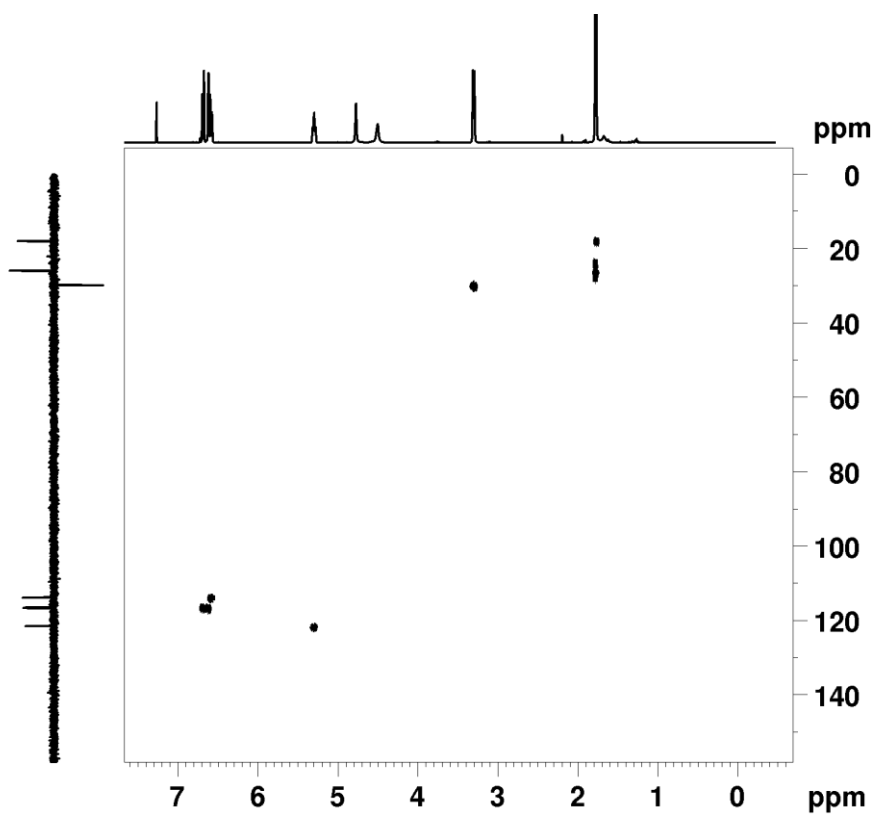


Anexo 3: NOESY 1D selectivo (Compuesto **23**)

Espectroscopia RMN compuesto 24

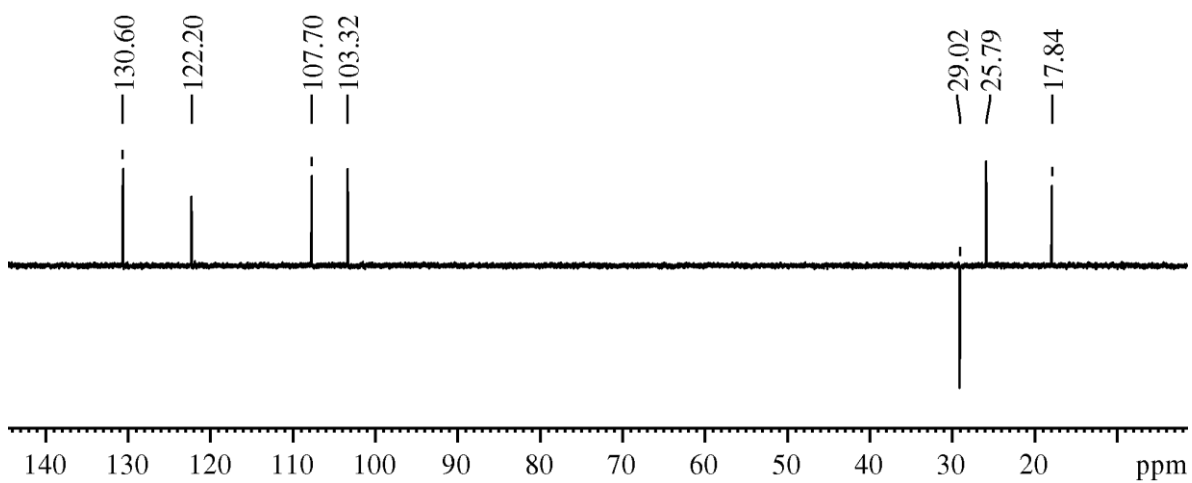
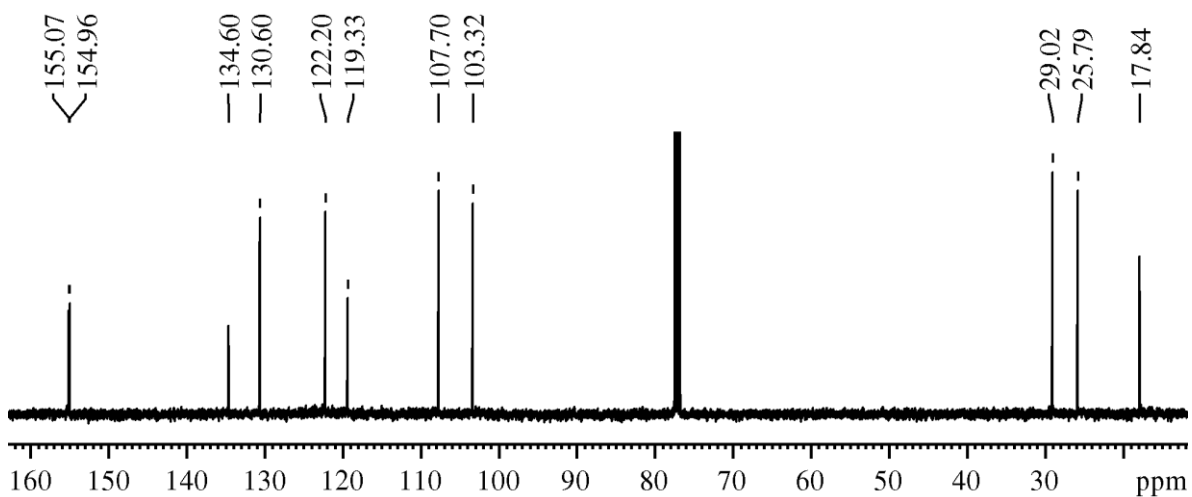
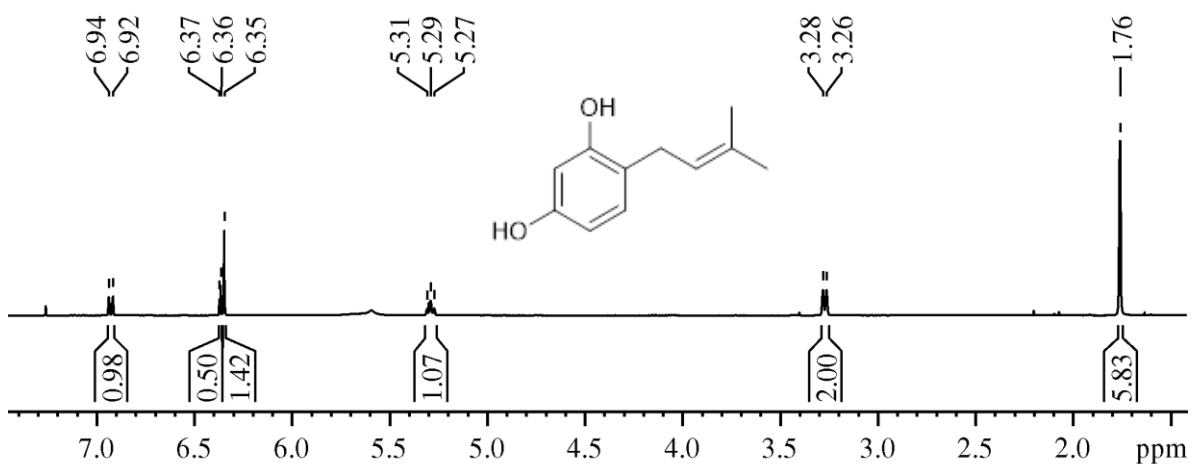


Anexo 4: RMN de ¹H, RMN de ¹³C y Dept-135, respectivamente. (Compuesto 24)

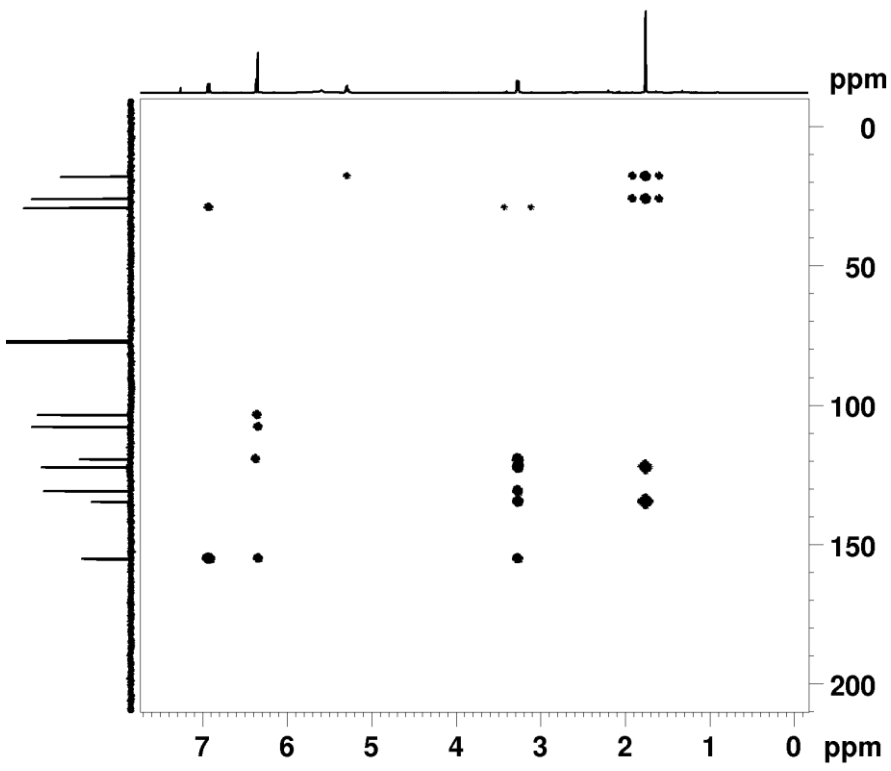
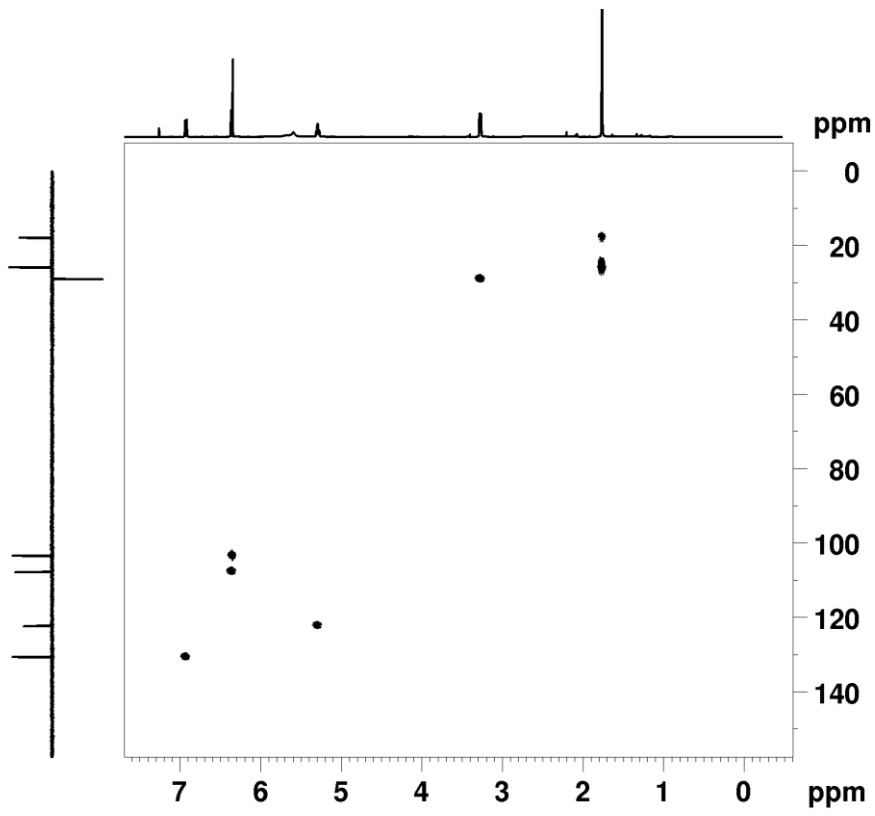


Anexo 5: HSQC y HMBC, respectivamente. (Compuesto 24)

Espectroscopia RMN compuesto 27

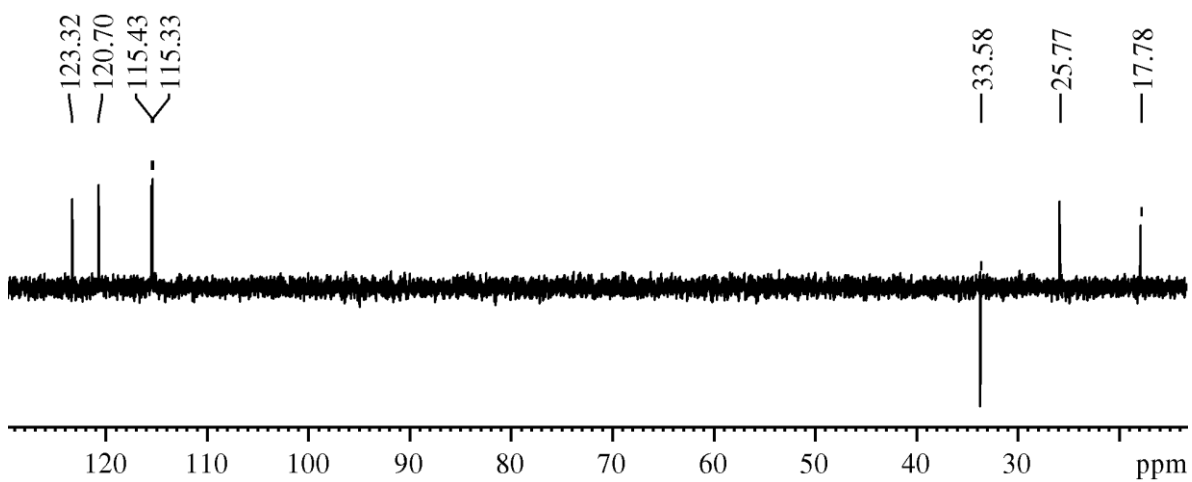
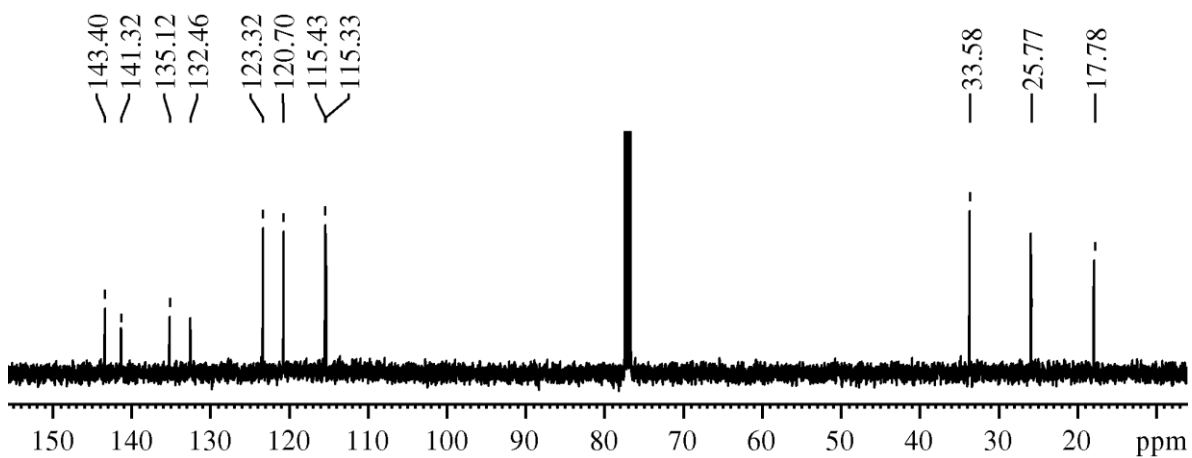
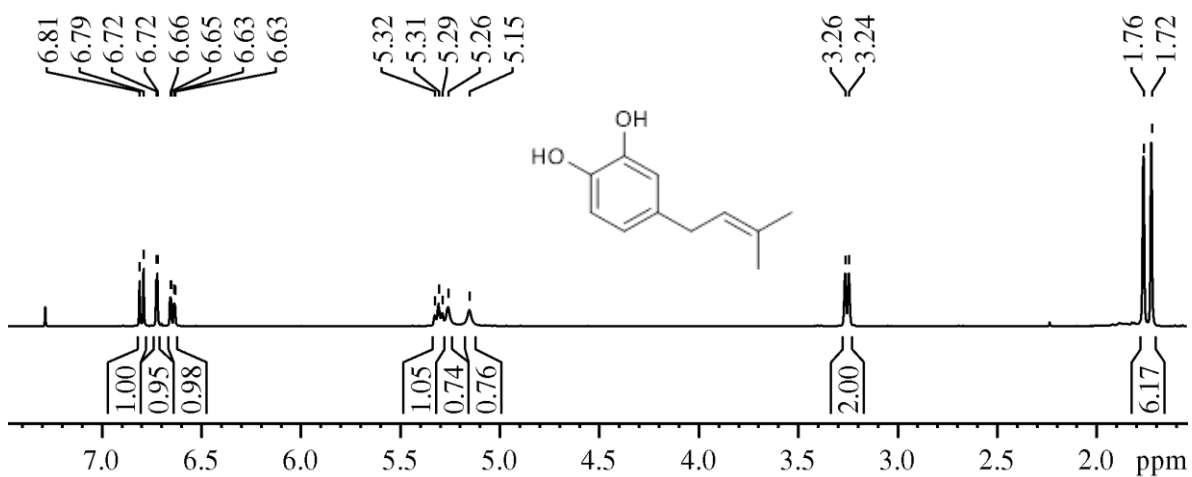


Anexo 6: RMN de ¹H, RMN de ¹³C y Dept-135, respectivamente. (Compuesto 27)

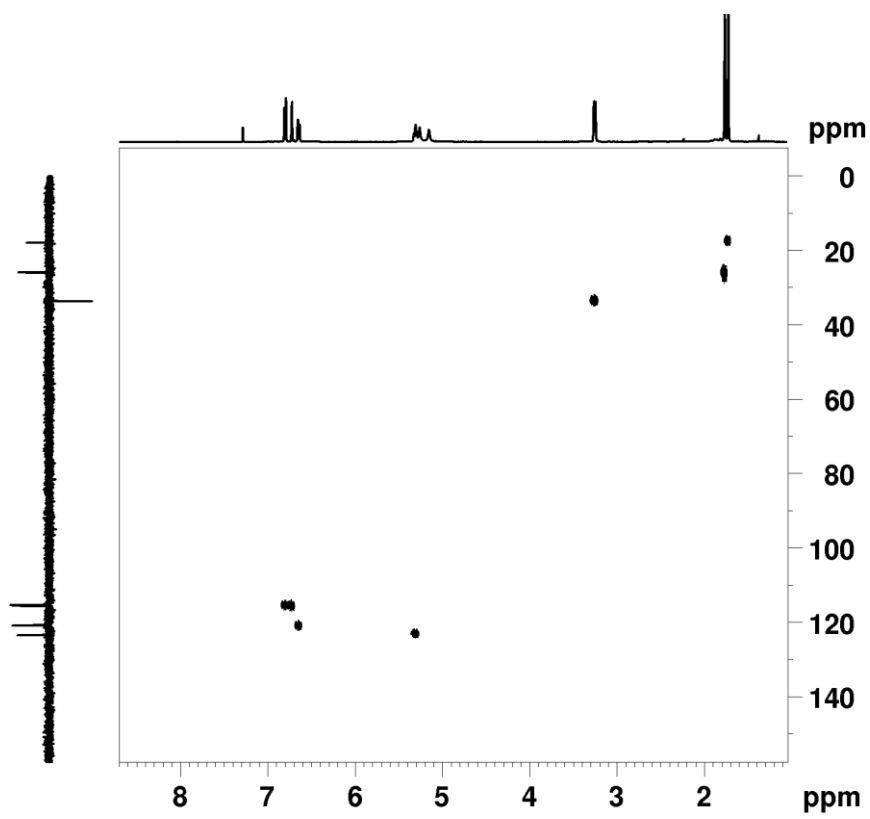


Anexo 7: HSQC y HMBC, respectivamente. (Compuesto 27)

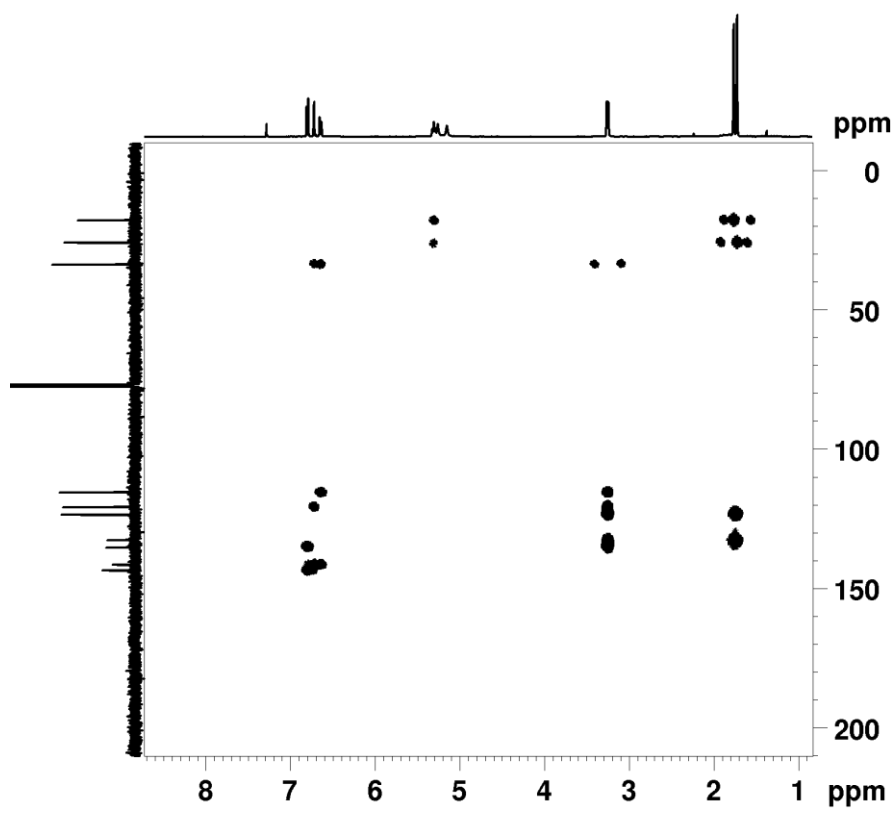
Espectroscopia RMN compuesto 28b



Anexo 8: RMN de ¹H, RMN de ¹³C y Dept-135, respectivamente. (Compuesto 28b)



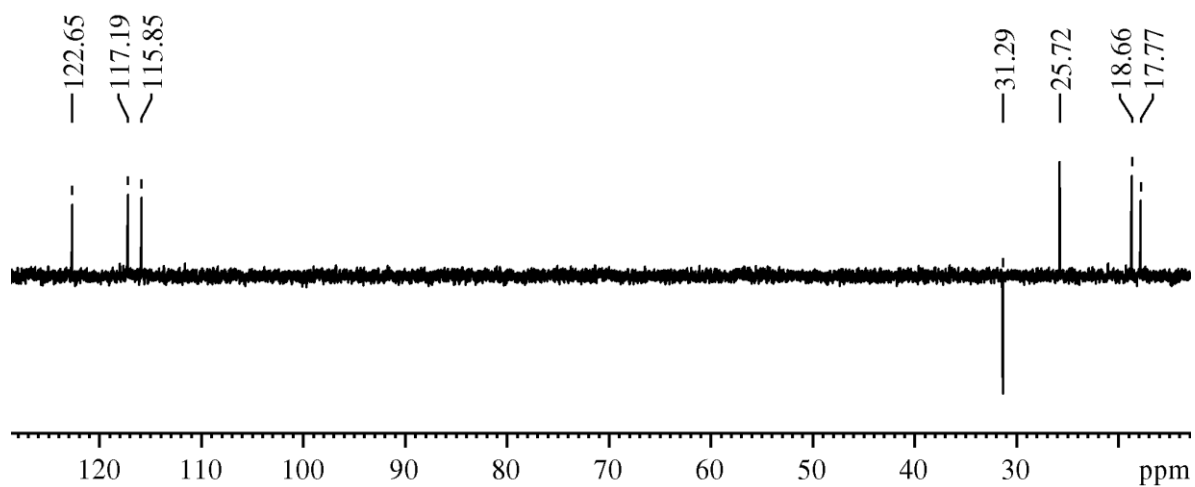
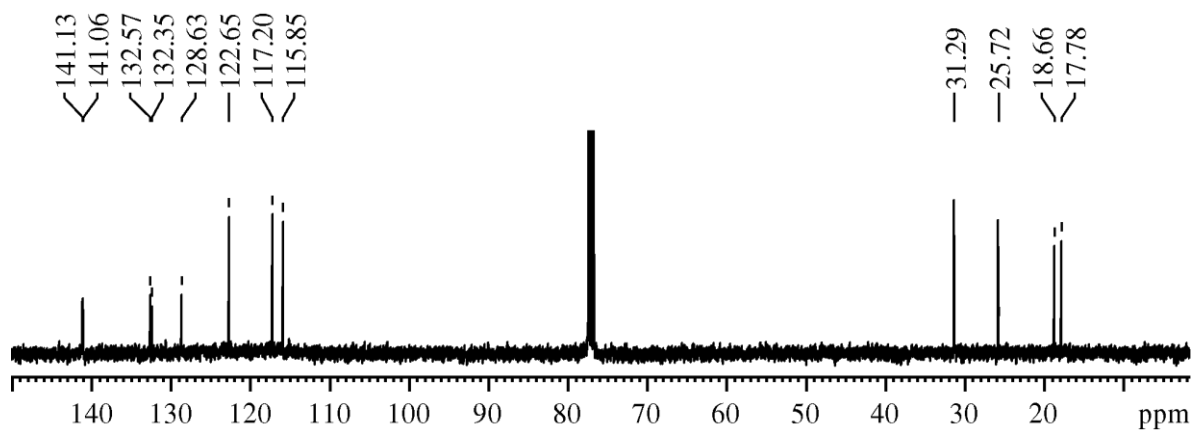
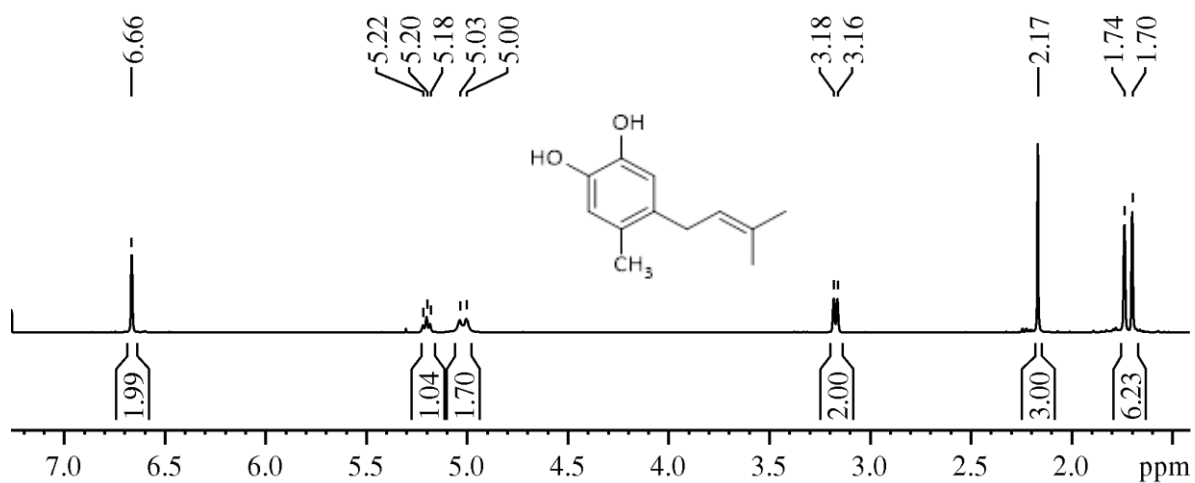
2D- HSQC



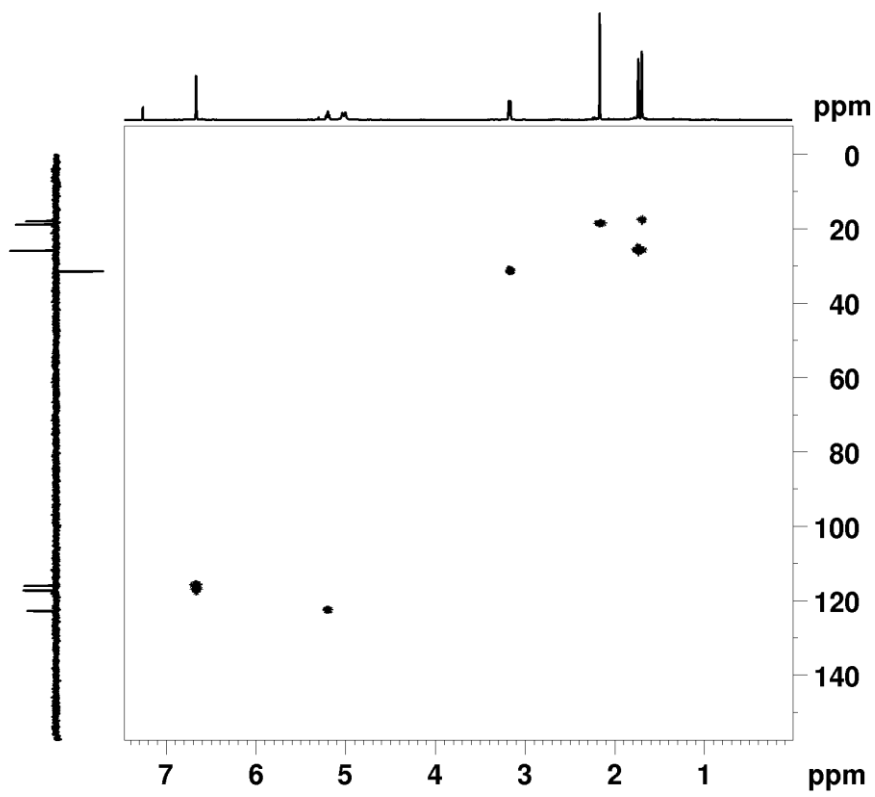
2D- HMBC

Anexo 9: HSQC y HMBC, respectivamente. (Compuesto 28b)

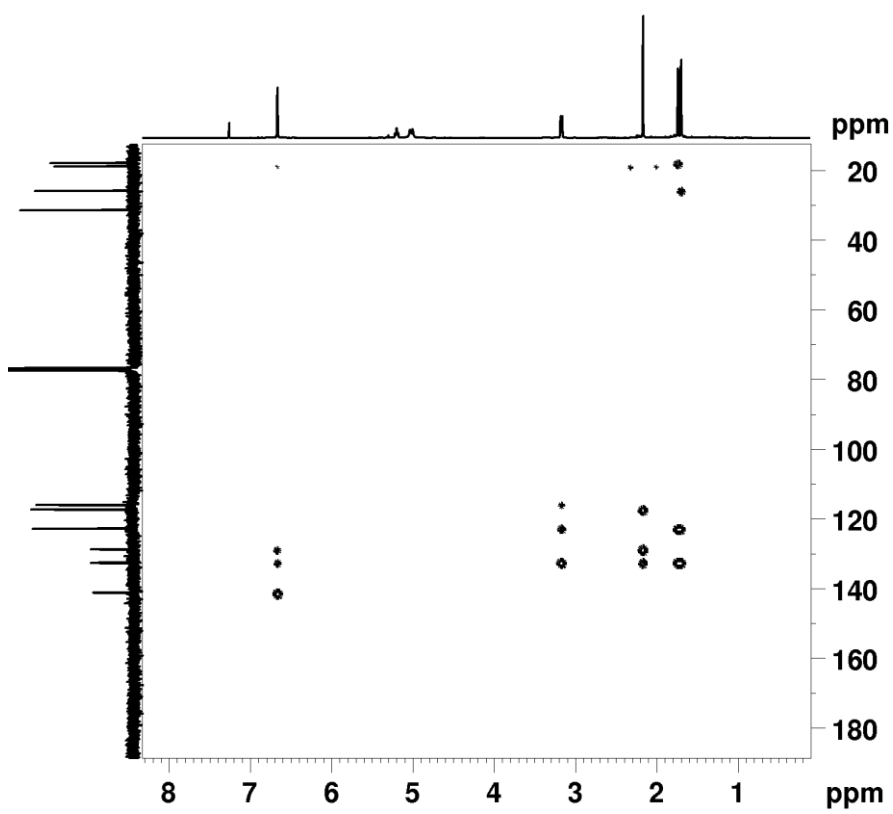
Espectroscopia RMN compuesto **31b**



Anexo 10: RMN de ¹H, RMN de ¹³C y Dept-135, respectivamente. (Compuesto **31b**)



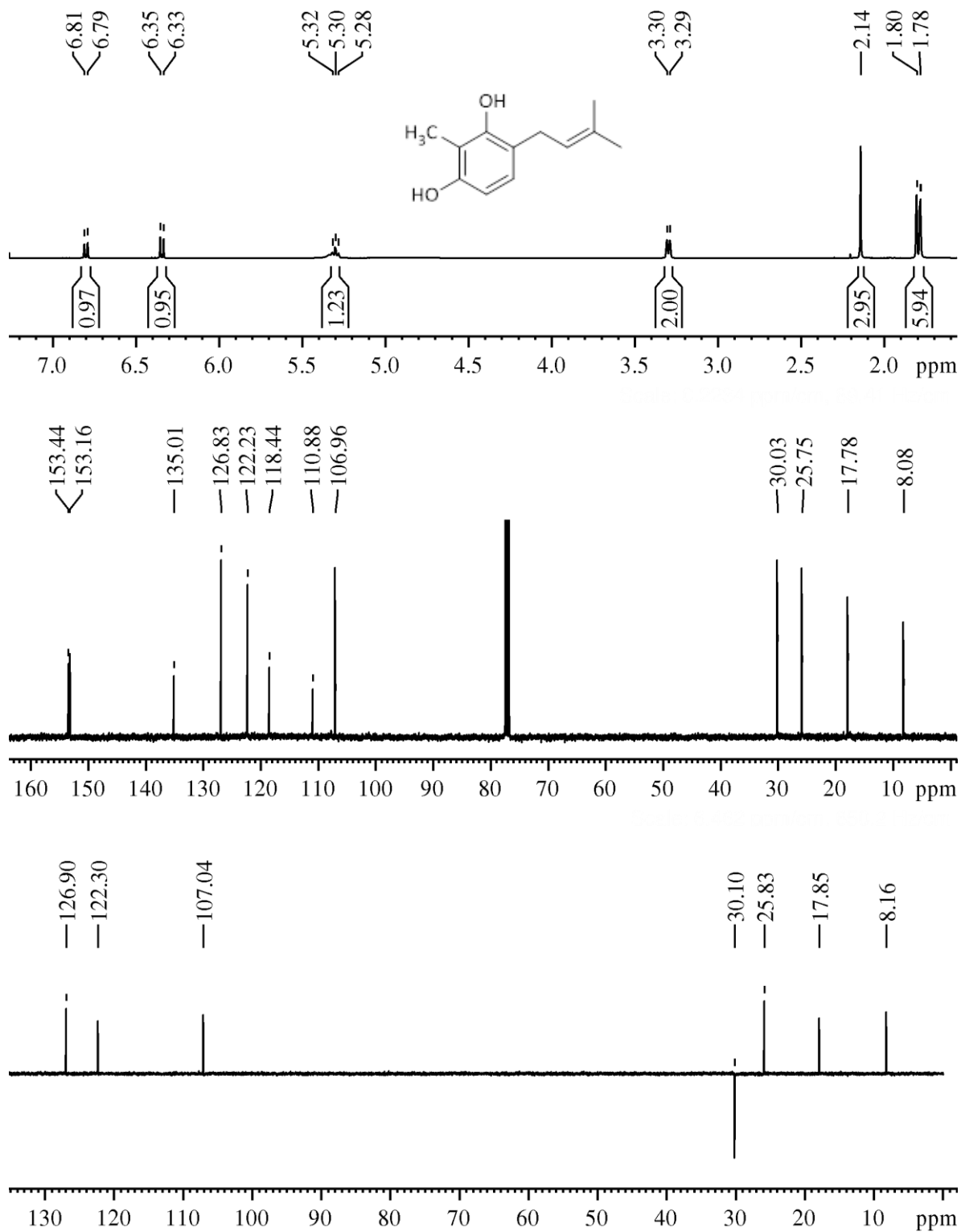
2D- HSQC



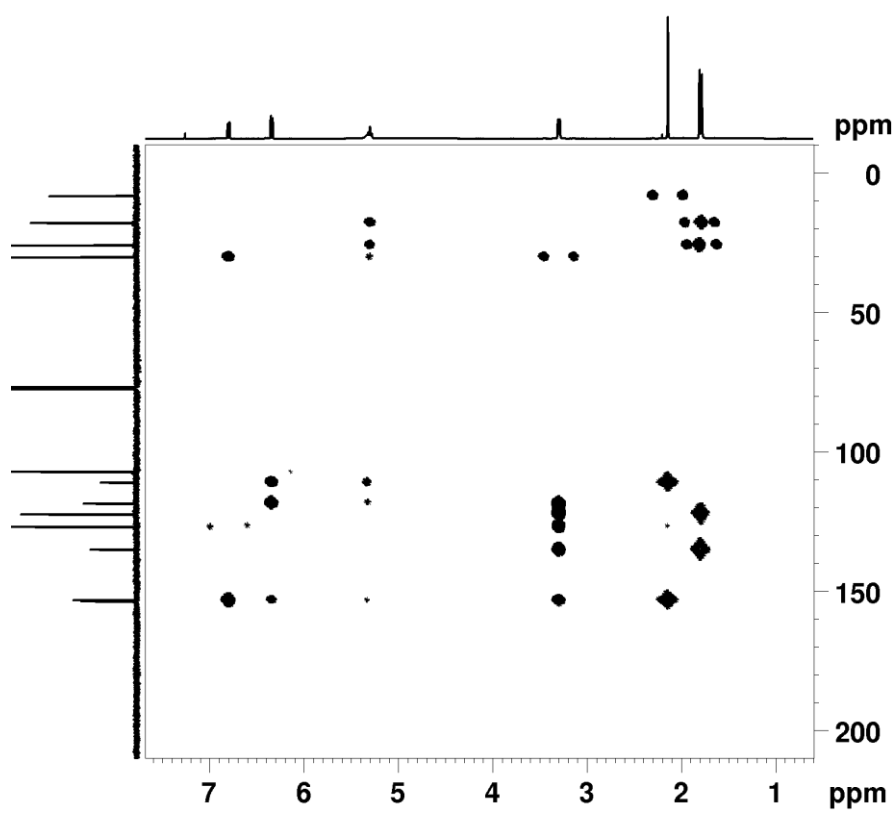
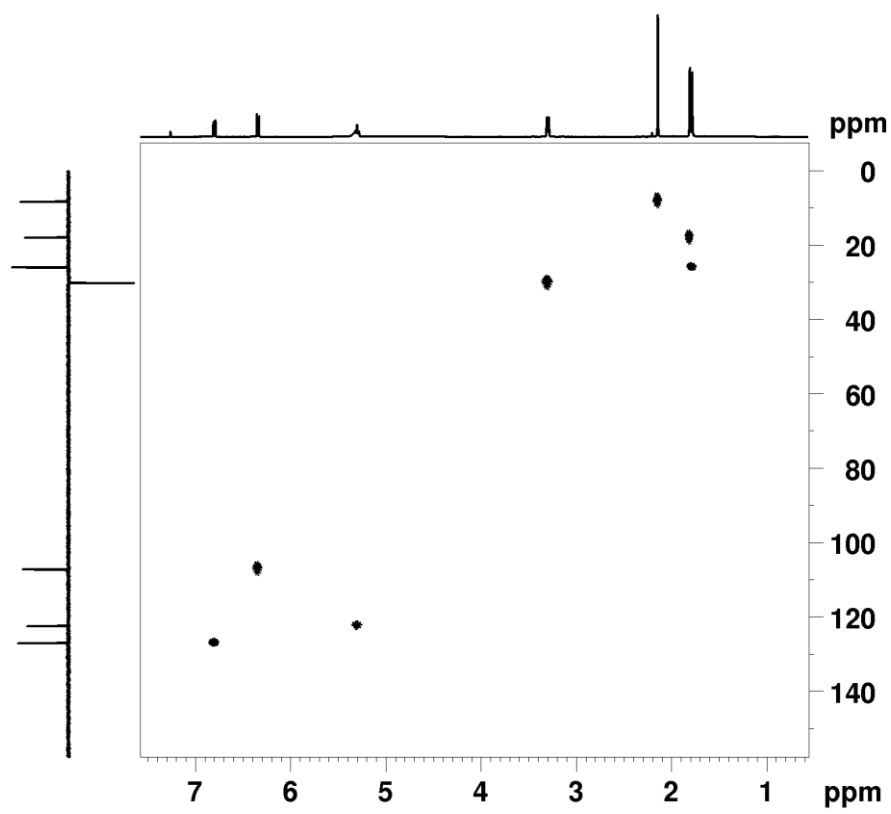
2D- HMBC

Anexo 11: HSQC y HMBC, respectivamente. (Compuesto 31b)

Espectroscopia RMN compuesto **32**

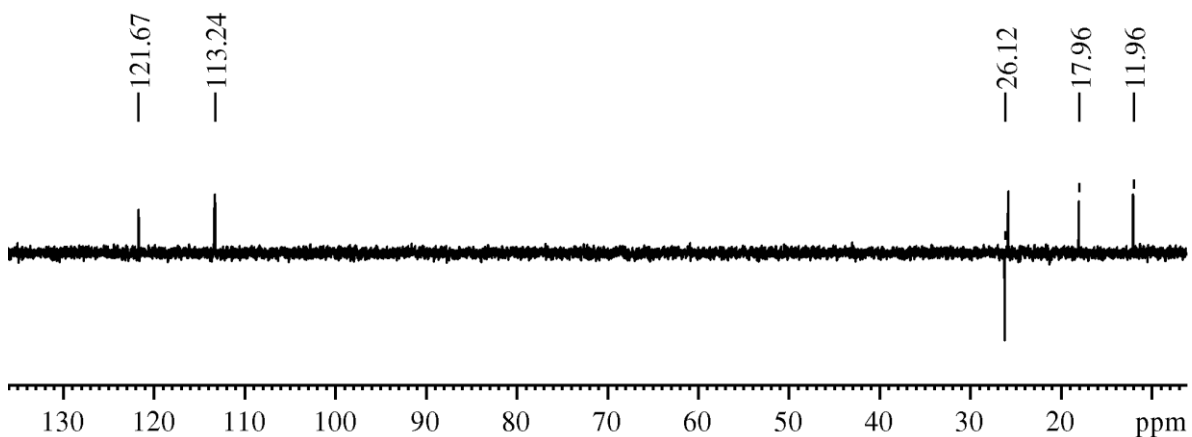
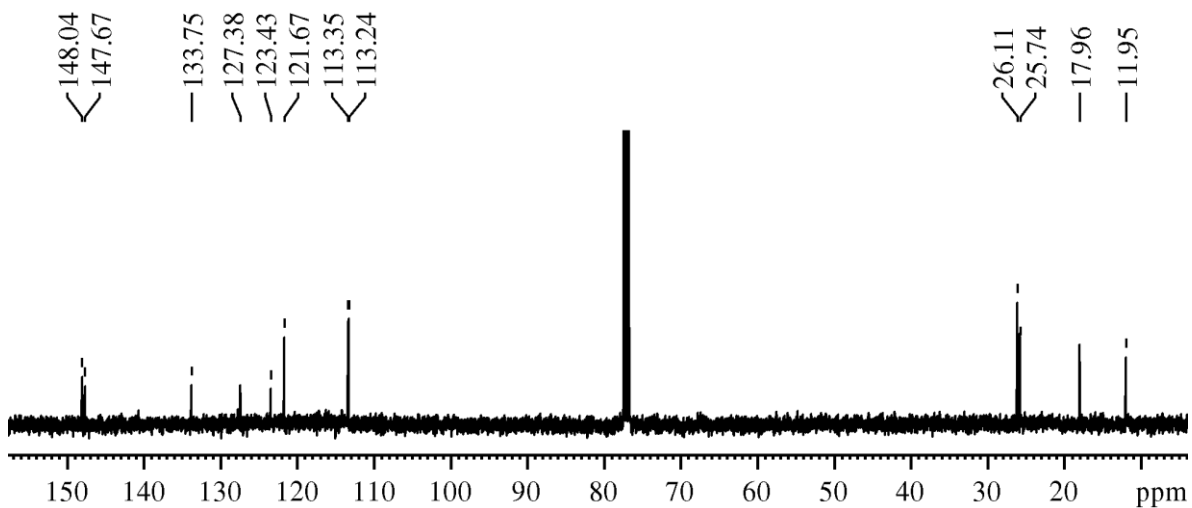
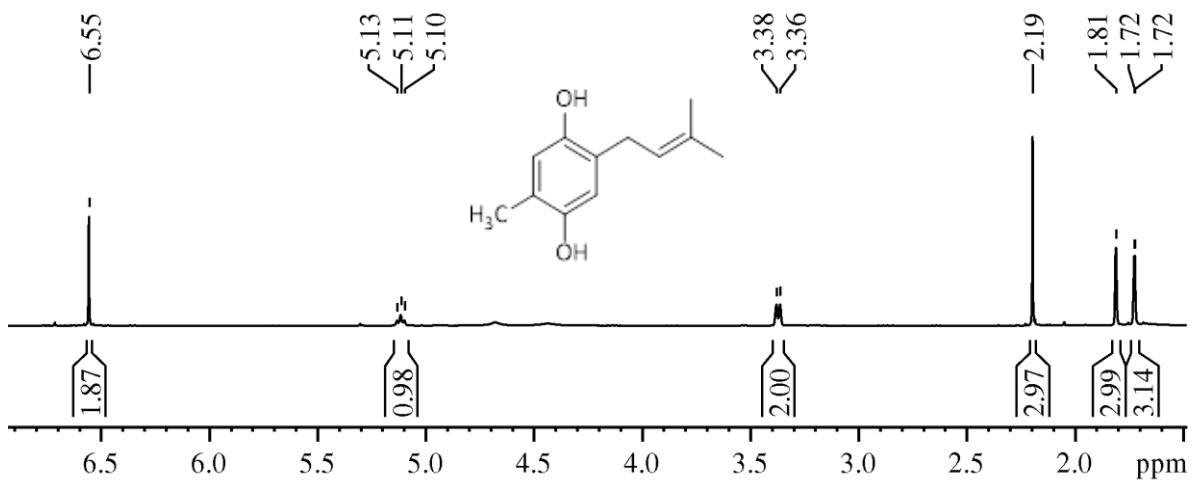


Anexo 12: RMN de ¹H, RMN de ¹³C y Dept-135, respectivamente. (Compuesto **32**)

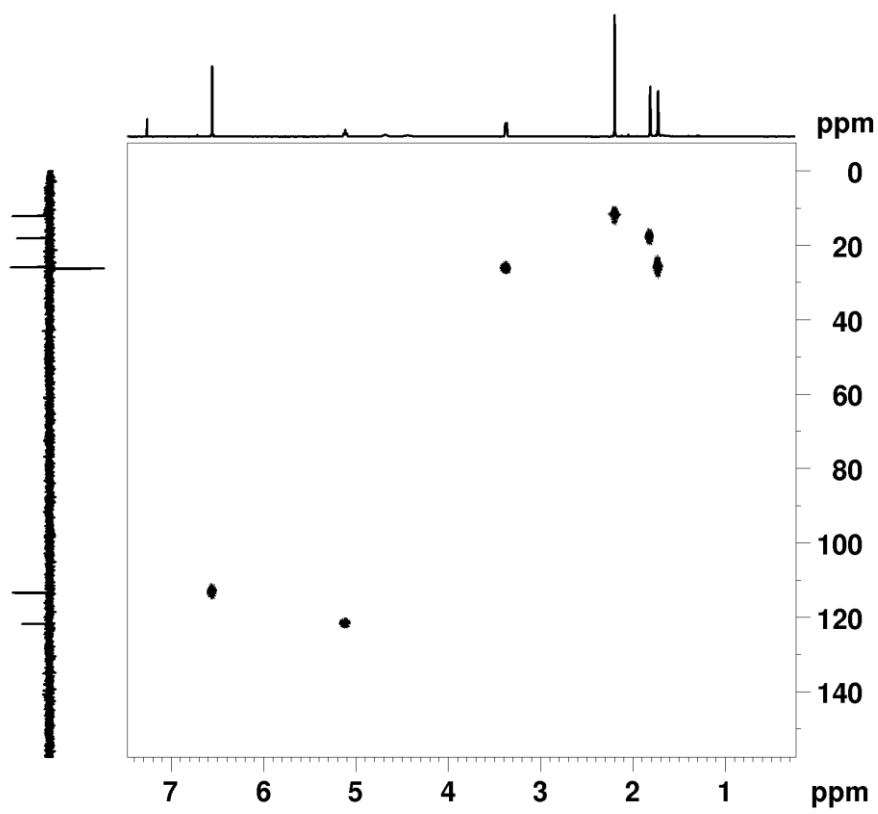


Anexo 13: HSQC y HMBC, respectivamente. (Compuesto 32)

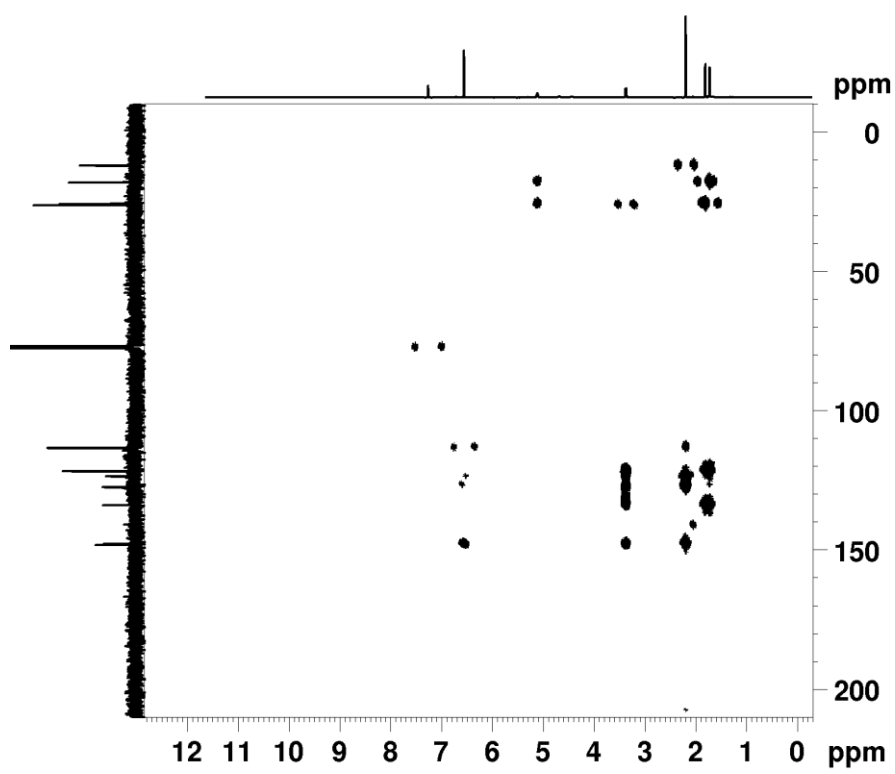
Espectroscopia RMN compuesto 33



Anexo 14: RMN de ¹H, RMN de ¹³C y Dept-135, respectivamente. (Compuesto 33)



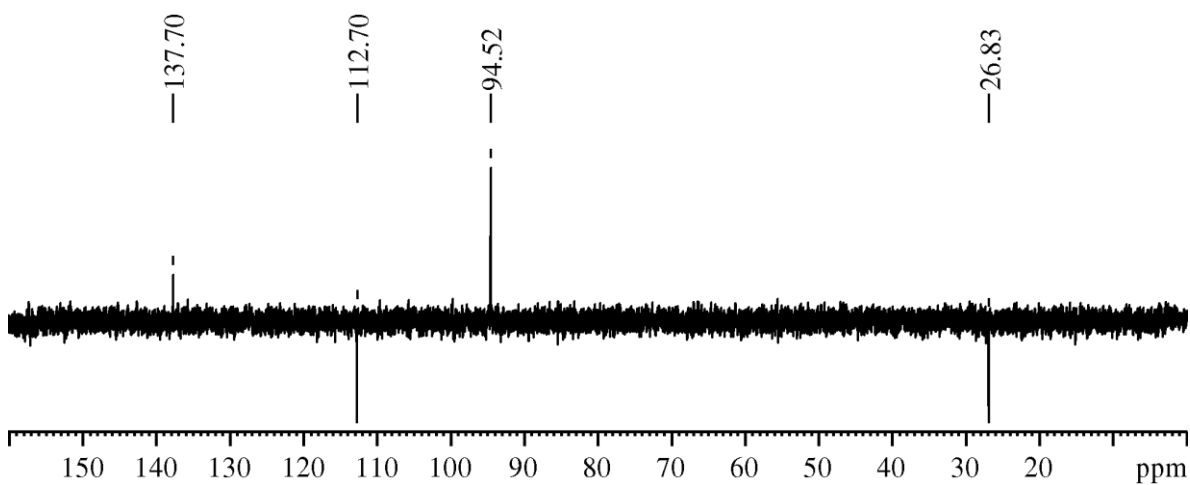
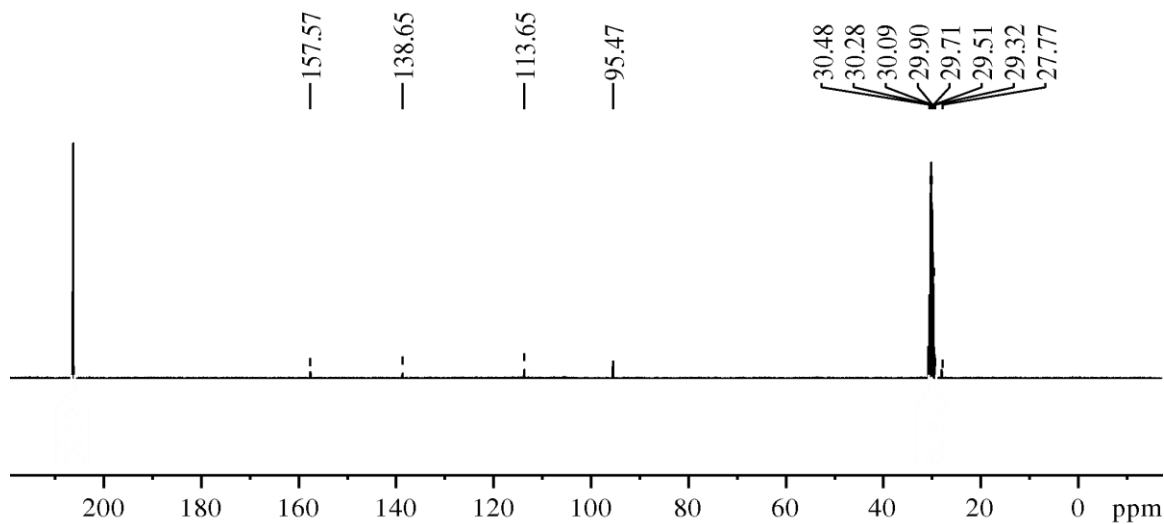
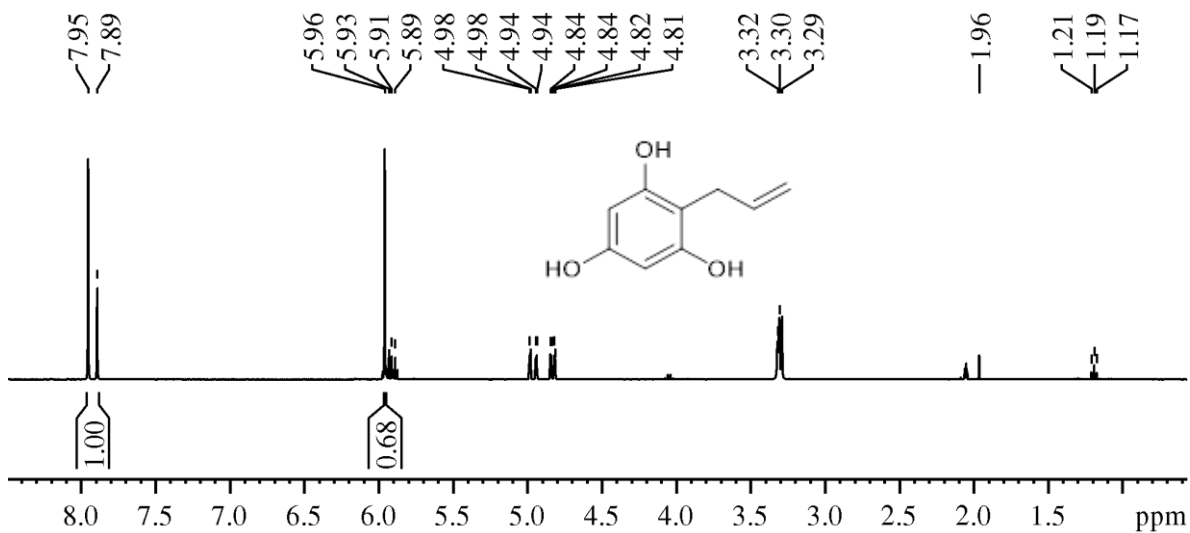
2D- HSQC



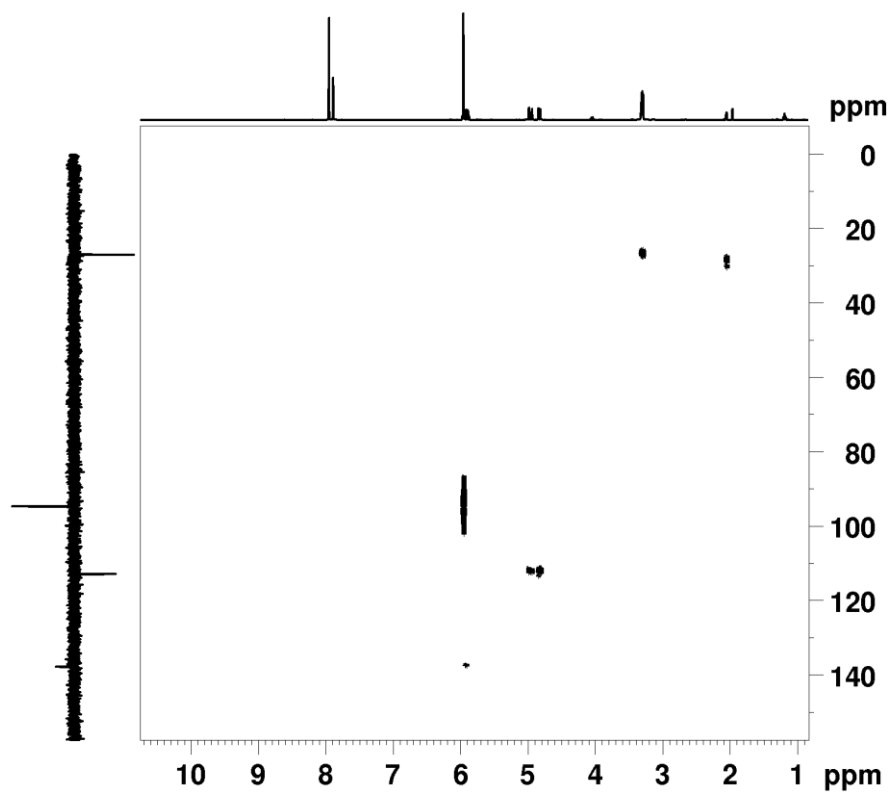
2D- HSQCAnexo

Anexo 15: HSQC y HMBC, respectivamente. (Compuesto 33)

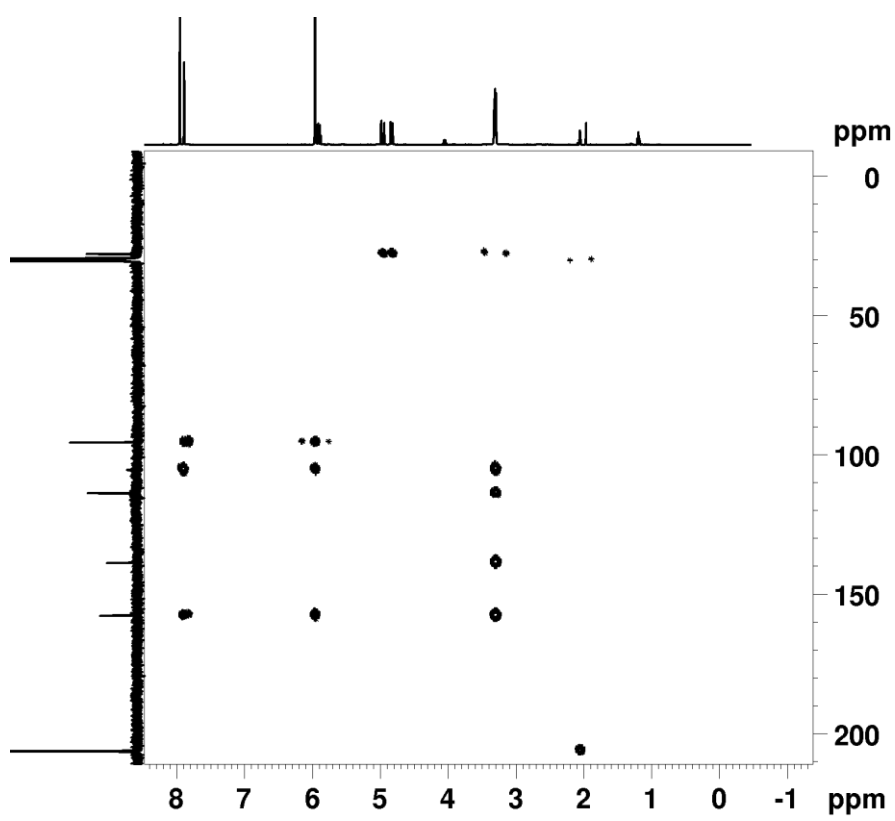
Espectroscopia RMN compuesto 36



Anexo 16: RMN de ¹H, RMN de ¹³C y Dept-135, respectivamente. (Compuesto 36)



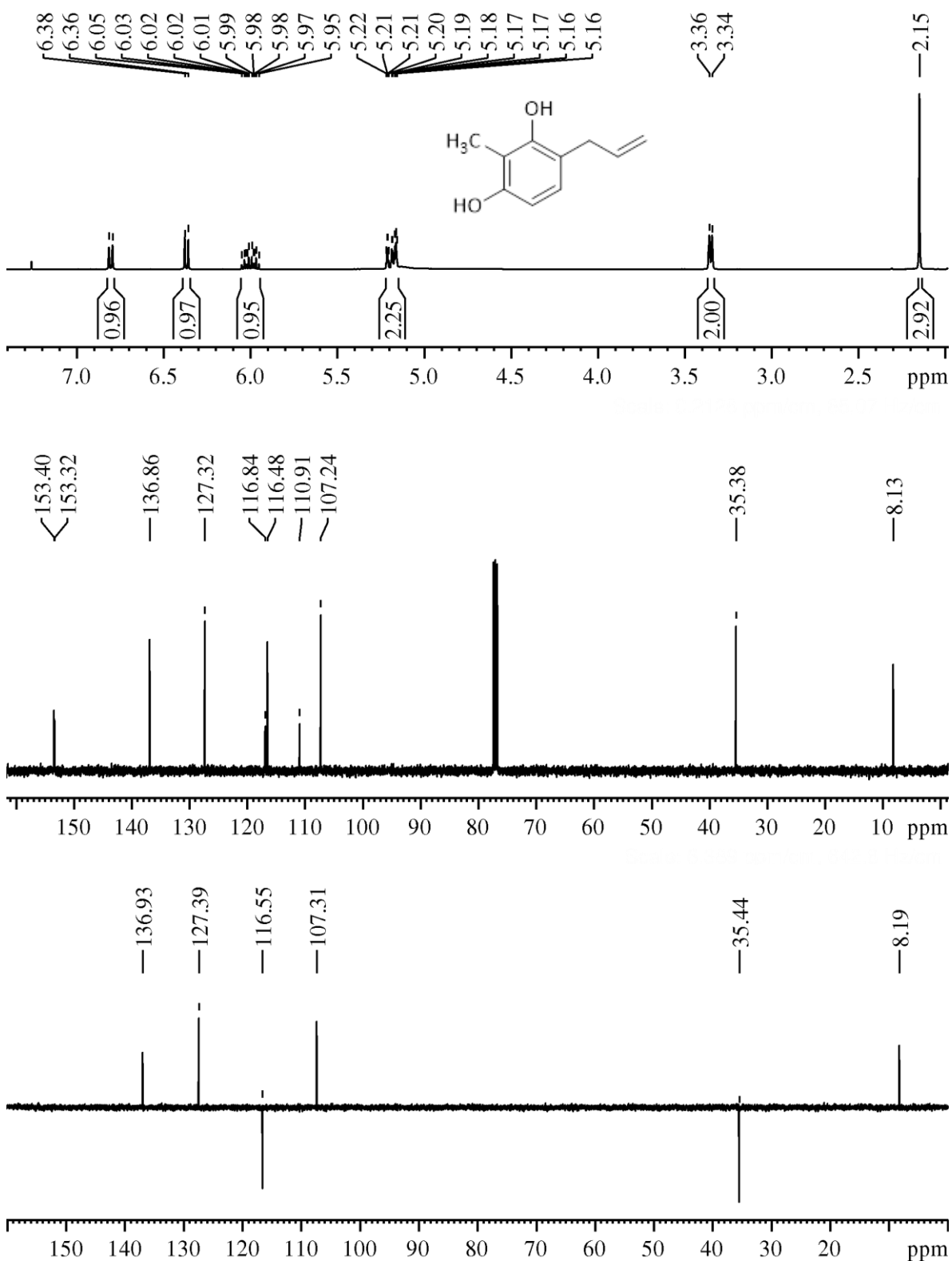
2D- HSQC



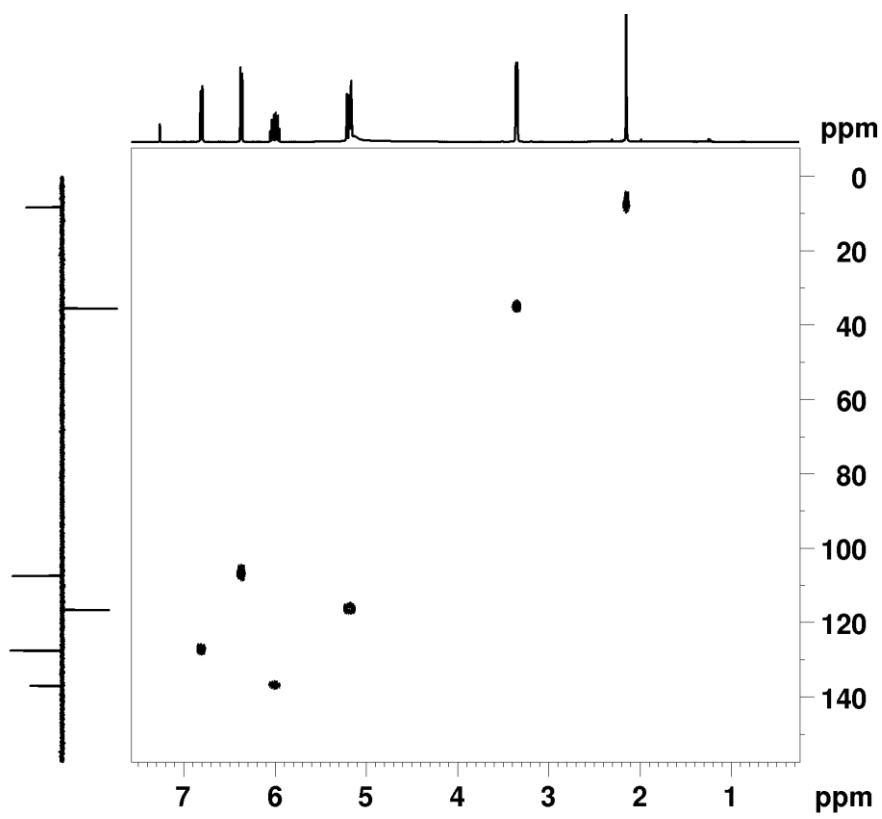
2D- HMBC

Anexo 17: HSQC y HMBC, respectivamente. (Compuesto 36)

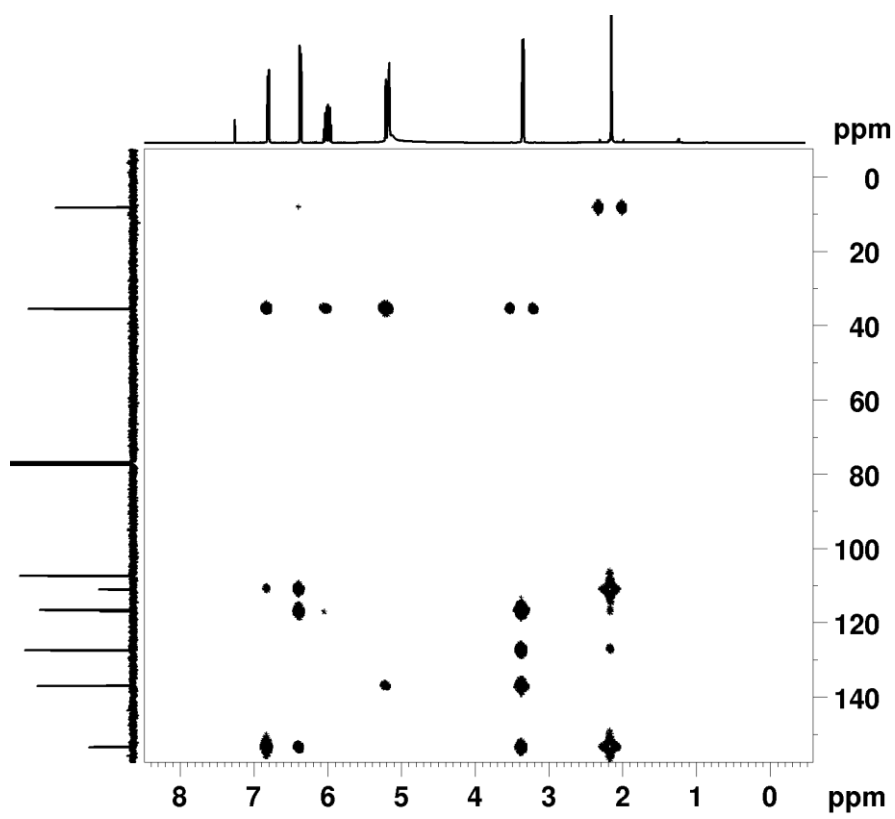
Espectroscopia RMN compuesto 43



Anexo 18: RMN de ¹H, RMN de ¹³C y Dept-135, respectivamente. (Compuesto 43)



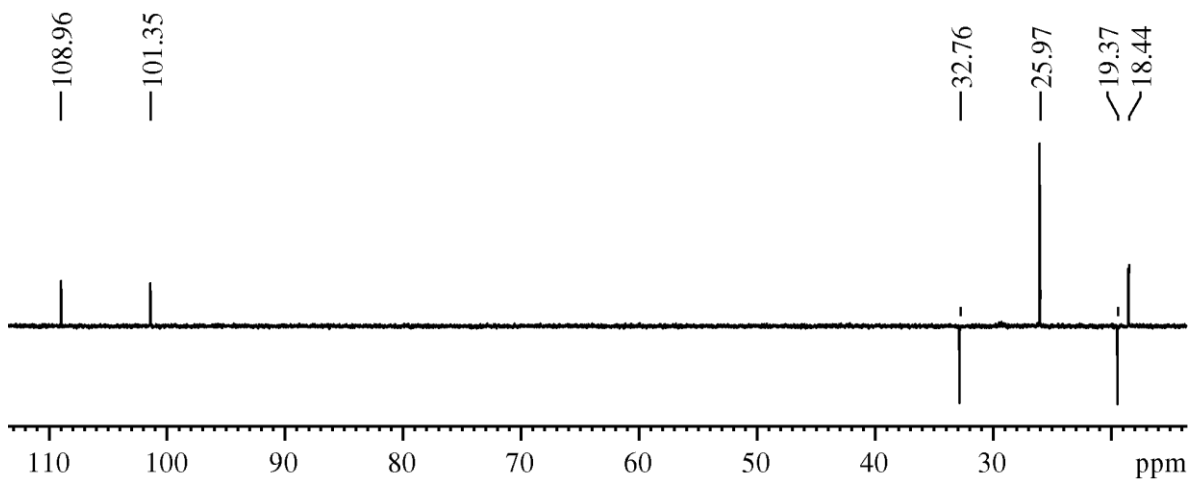
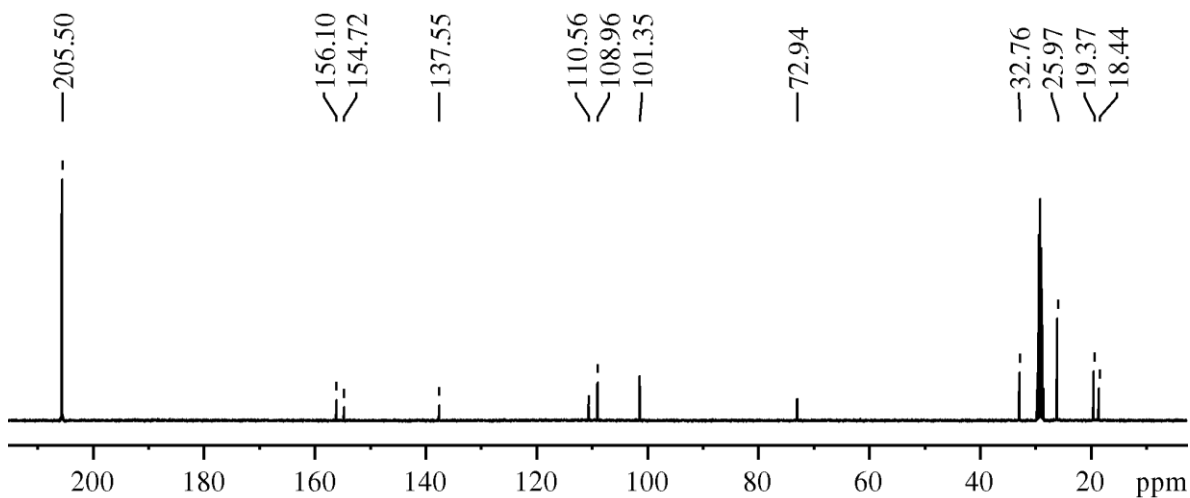
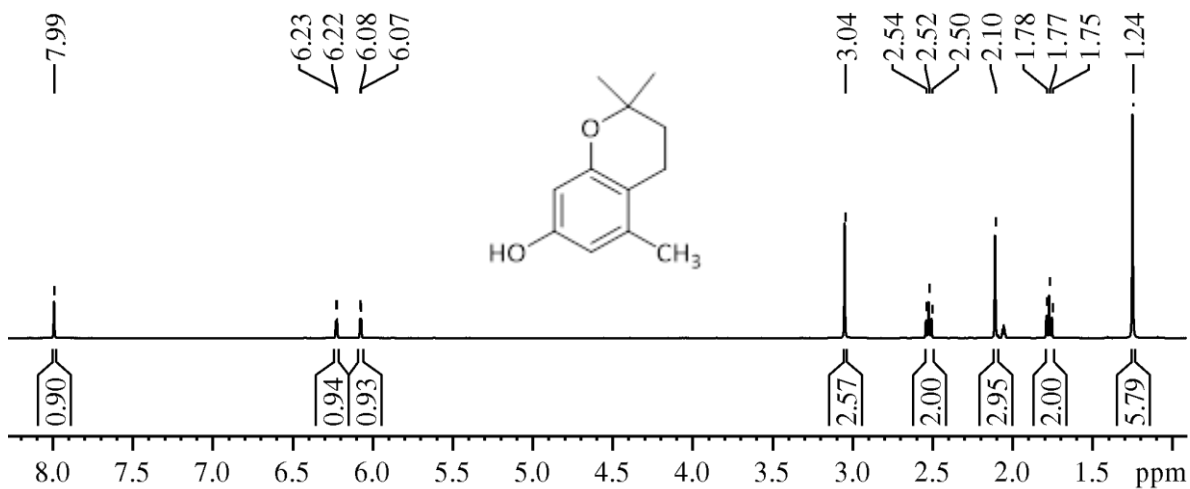
2D- HSQC



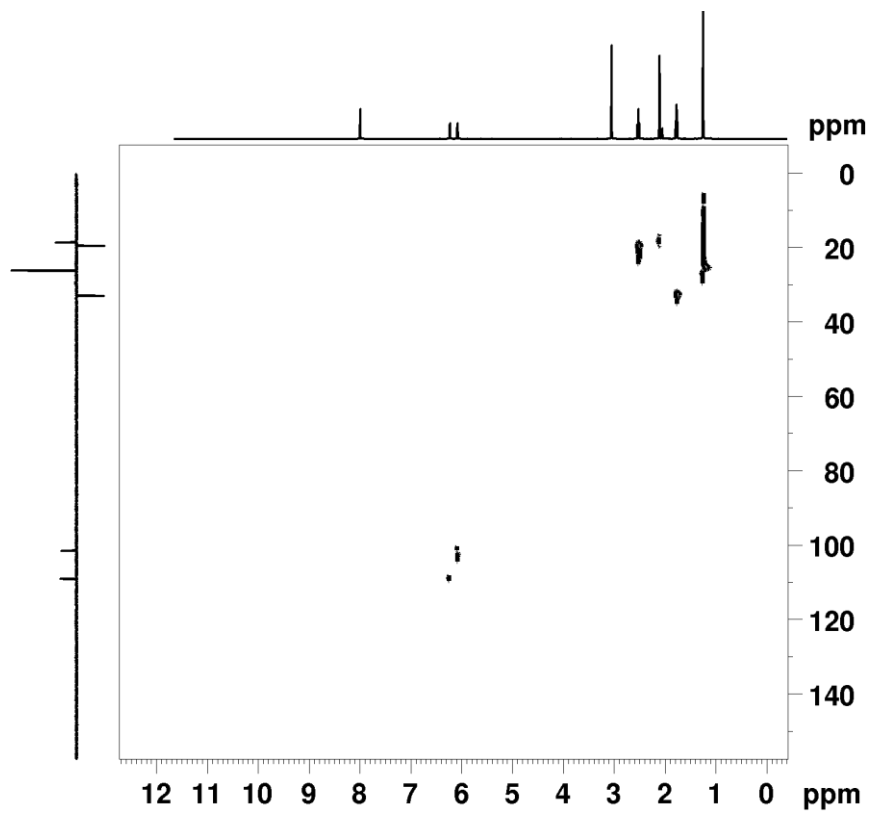
2D- HMBC

Anexo 19: HSQC y HMBC, respectivamente. (Compuesto 43)

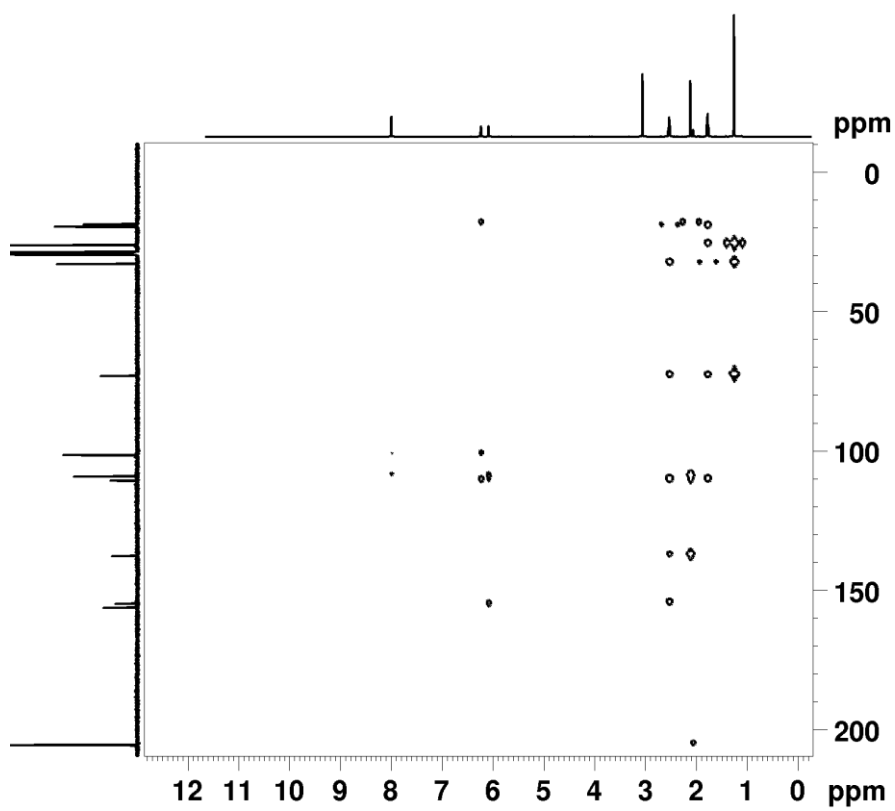
Espectroscopia RMN compuesto 45



Anexo 20: RMN de ^1H , RMN de ^{13}C y Dept-135, respectivamente. (Compuesto 45)



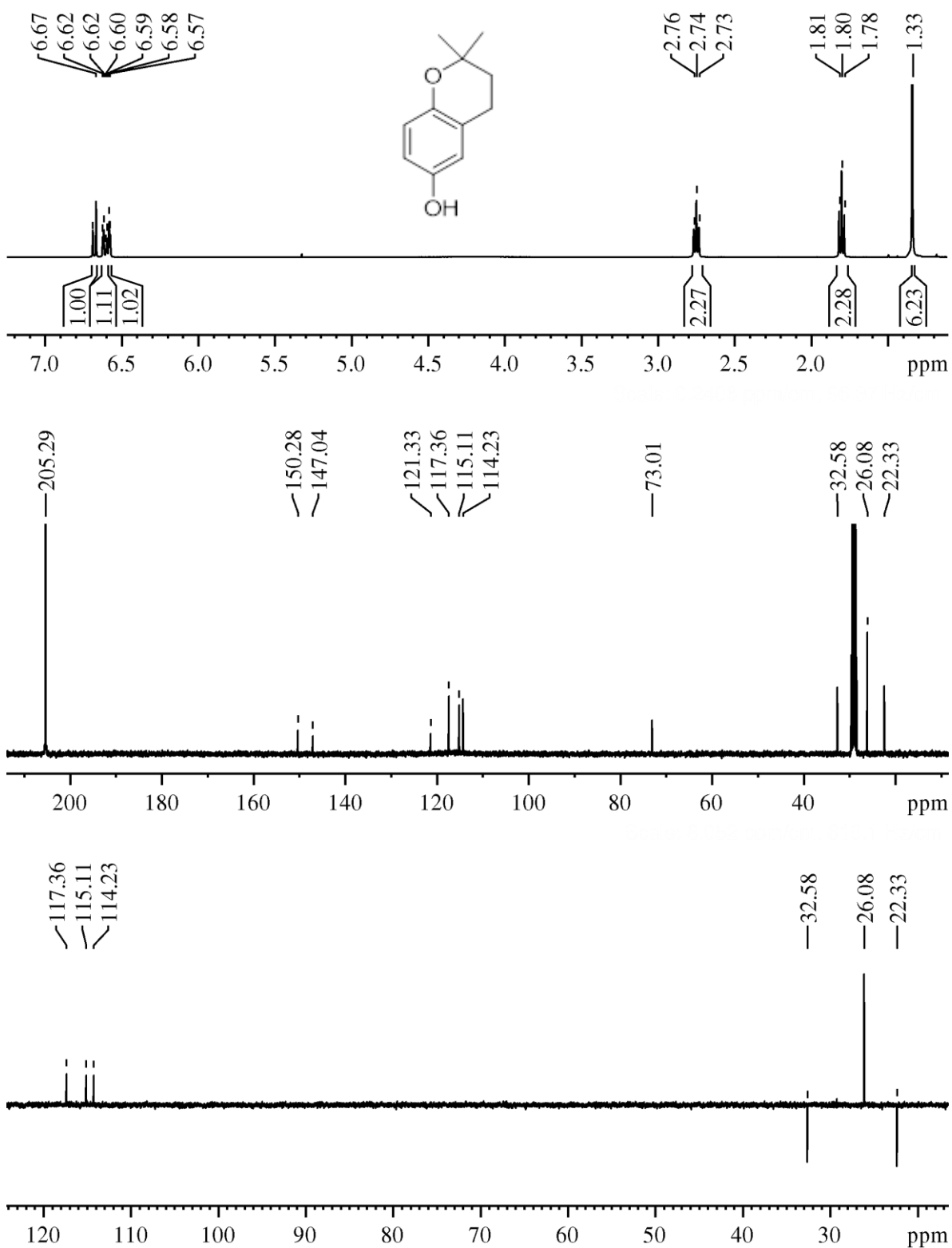
2D- HSQC



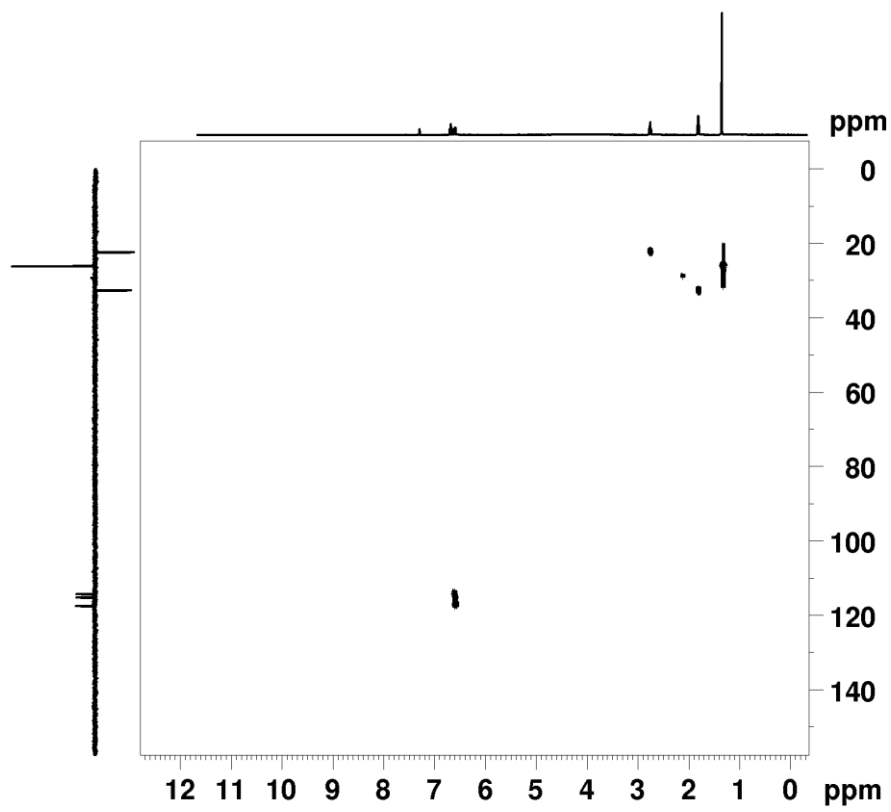
2D- HMBC

Anexo 21: HSQC y HMBC, respectivamente. (Compuesto 45)

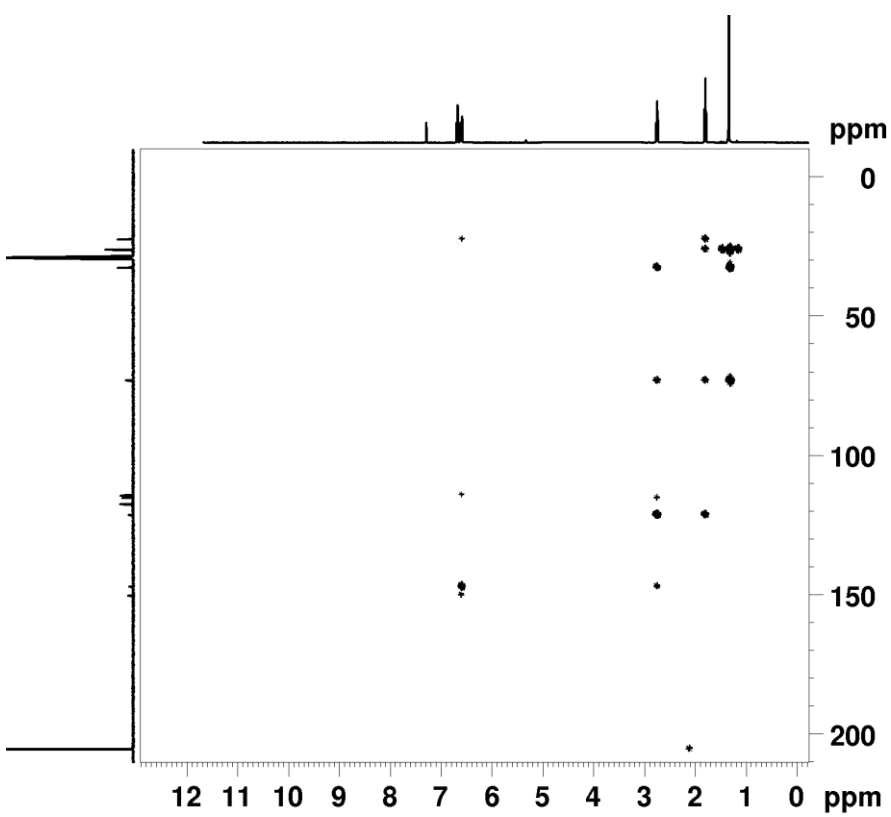
Espectroscopia RMN compuesto 46



Anexo 22: RMN de 1H, RMN de 13C y Dept-135, respectivamente. (Compuesto 46)



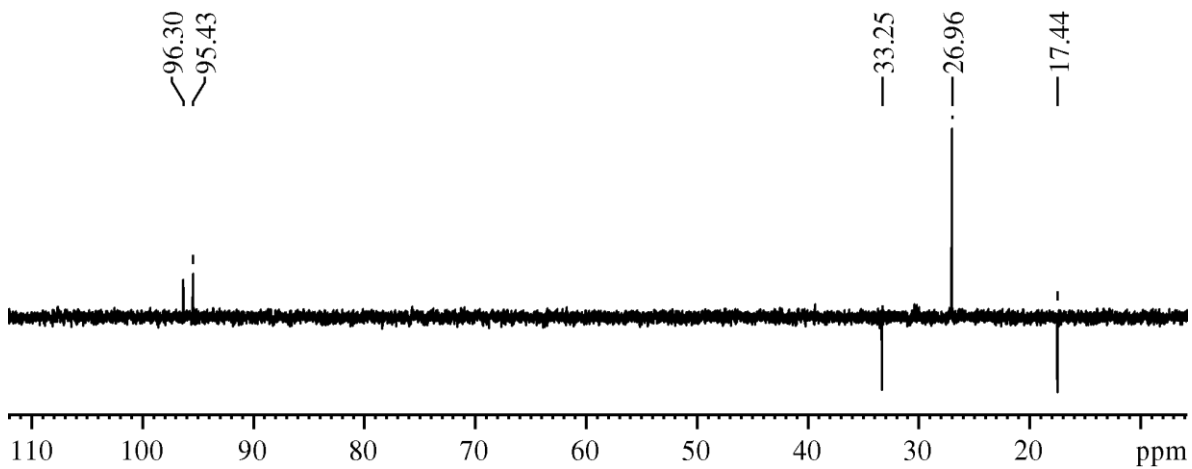
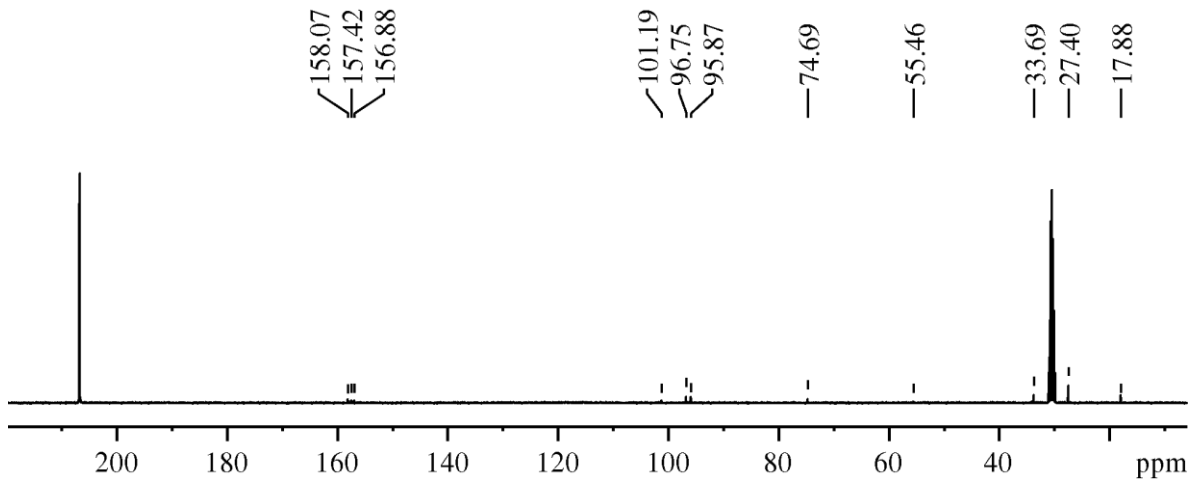
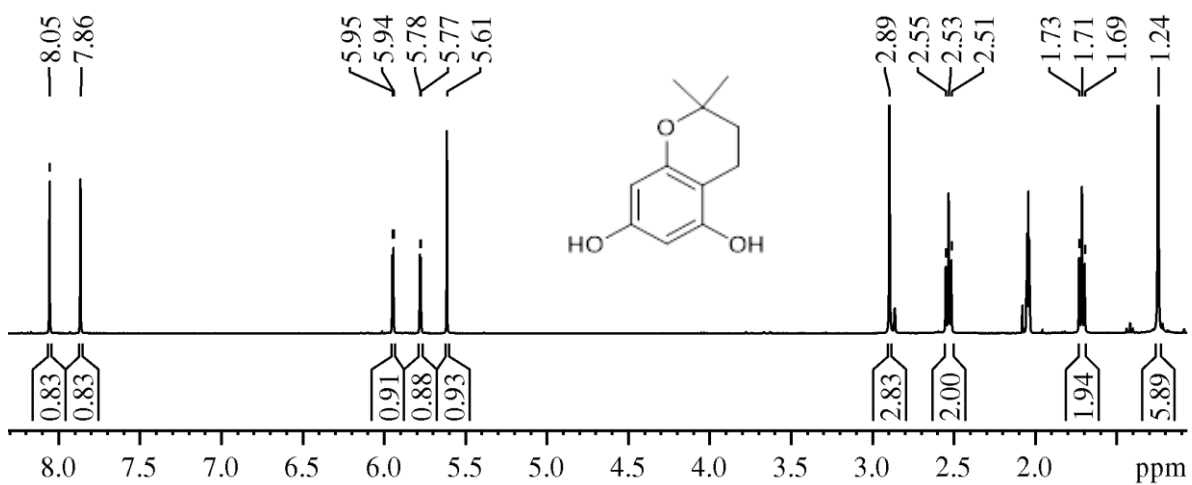
2D- HSQC



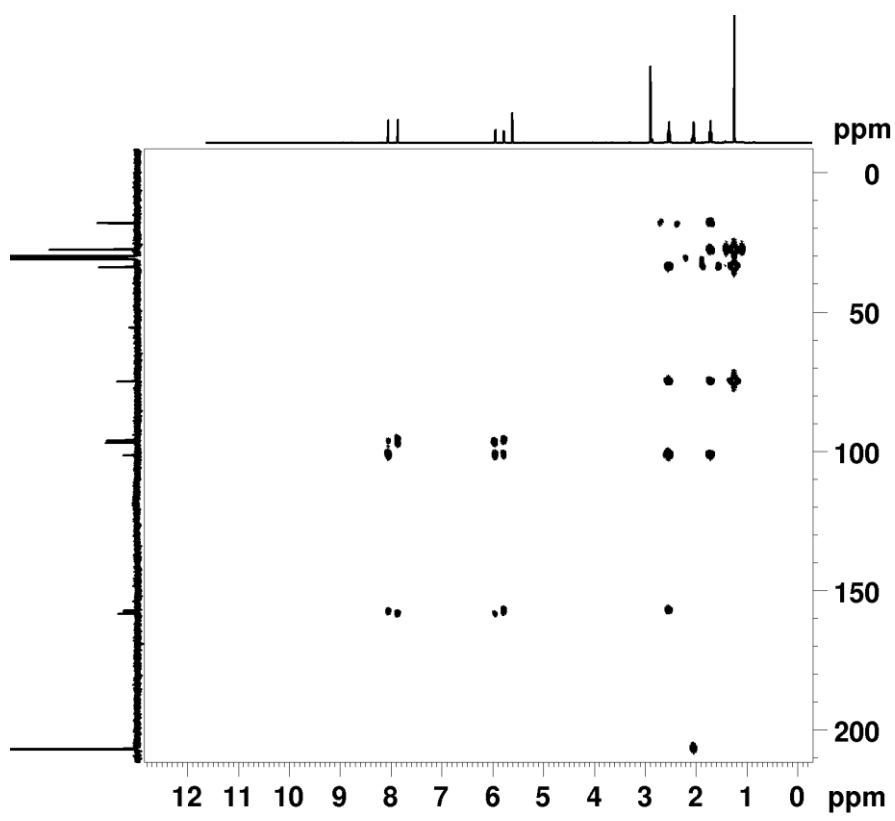
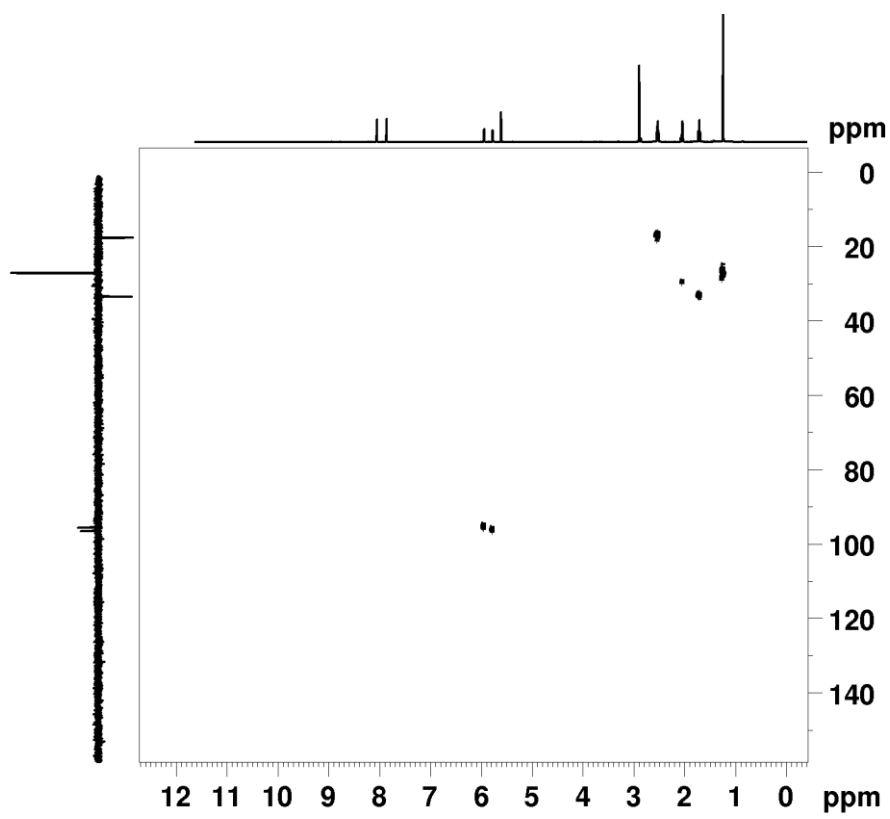
2D- HMBC

Anexo 23: HSQC y HMBC, respectivamente. (Compuesto 46)

Espectroscopia RMN compuesto 47

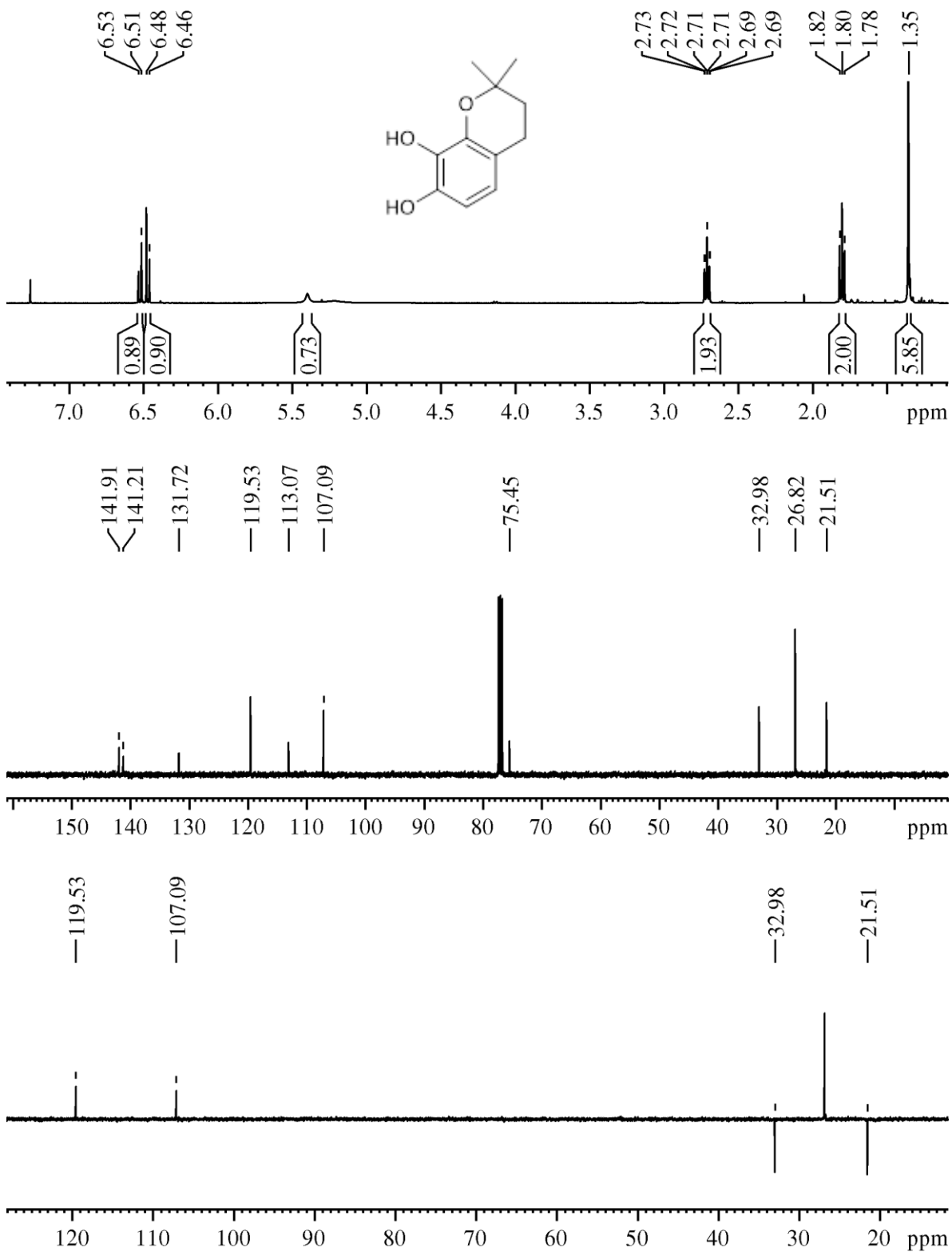


Anexo 24: RMN de ^1H , RMN de ^{13}C y Dept-135, respectivamente. (Compuesto 47)

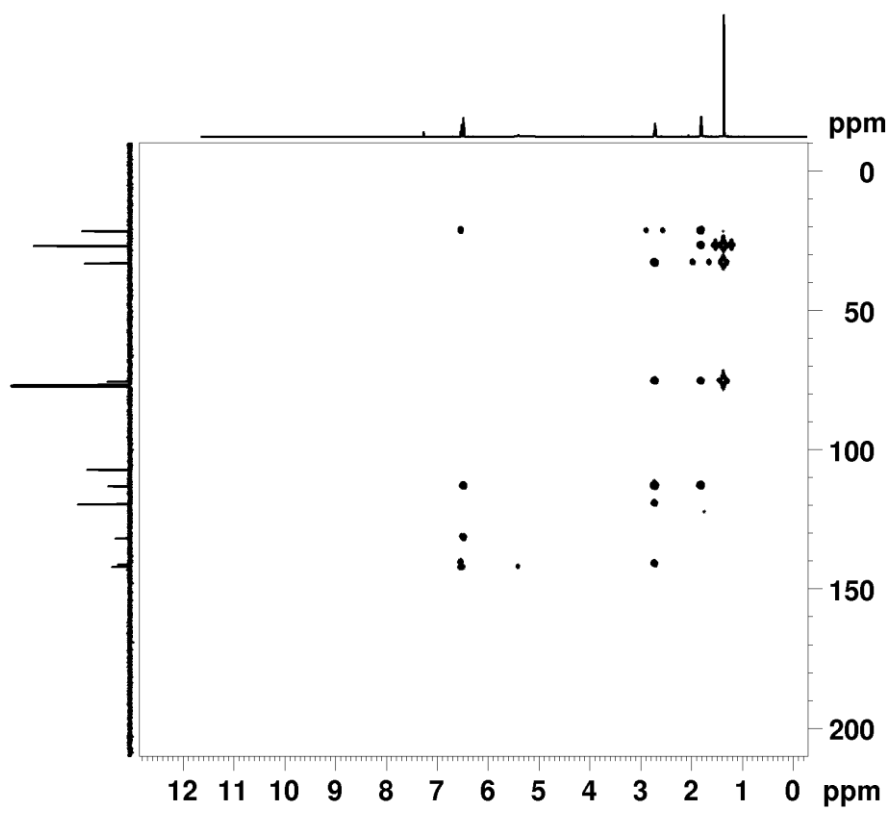
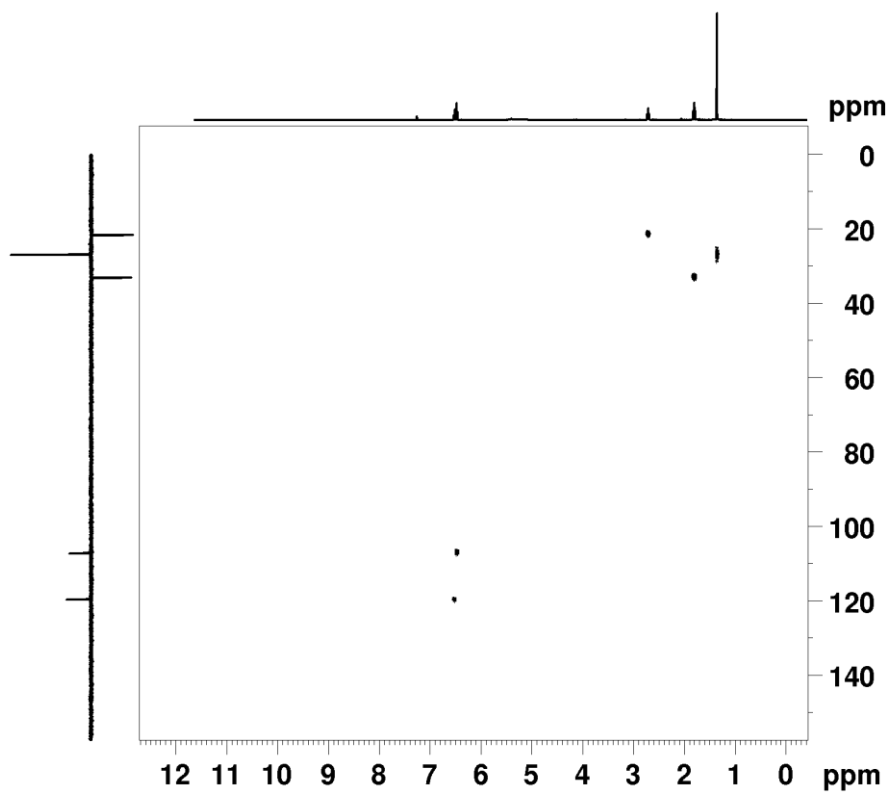


Anexo 25: HSQC y HMBC, respectivamente. (Compuesto 47)

Espectroscopia RMN compuesto 48

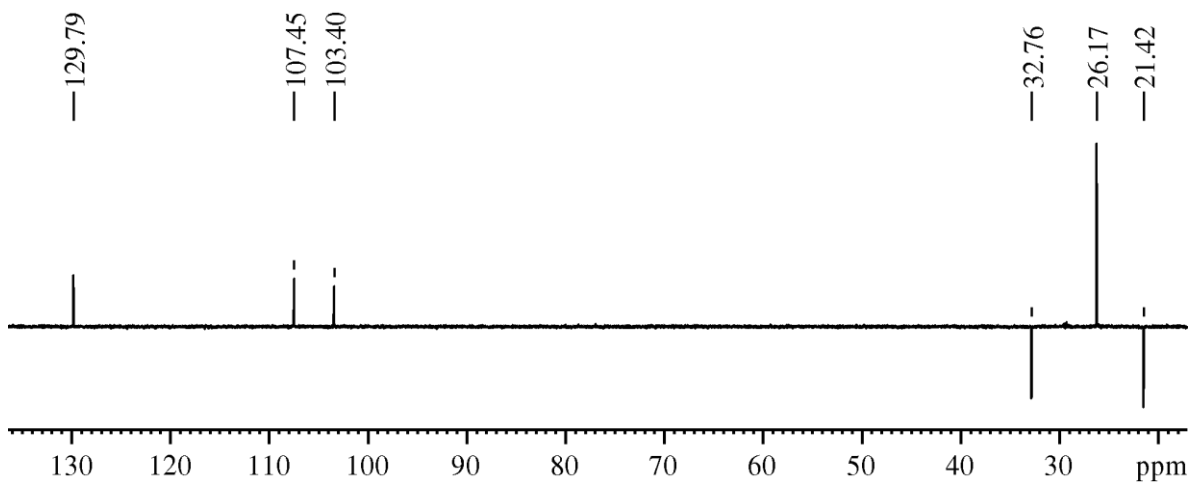
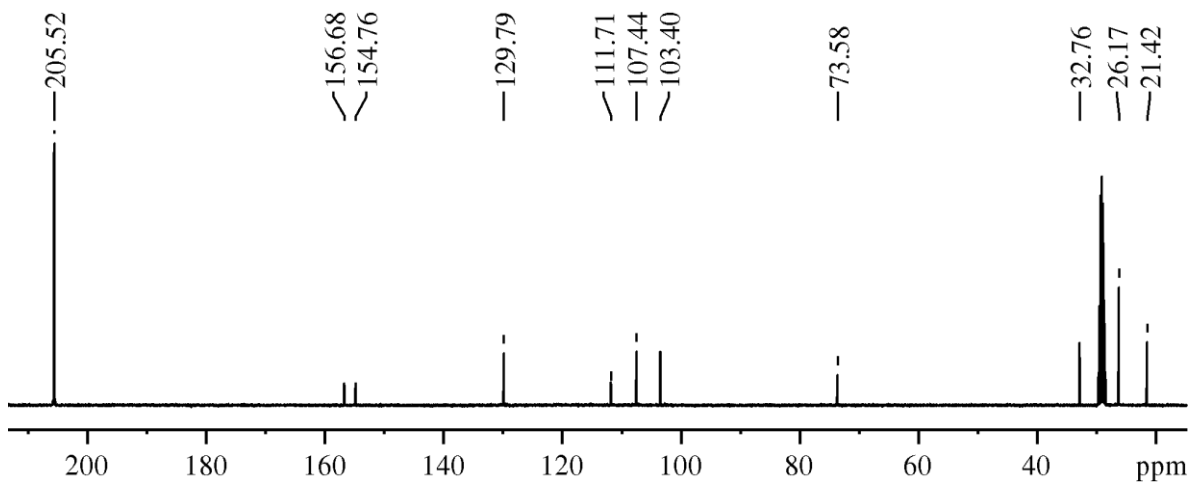
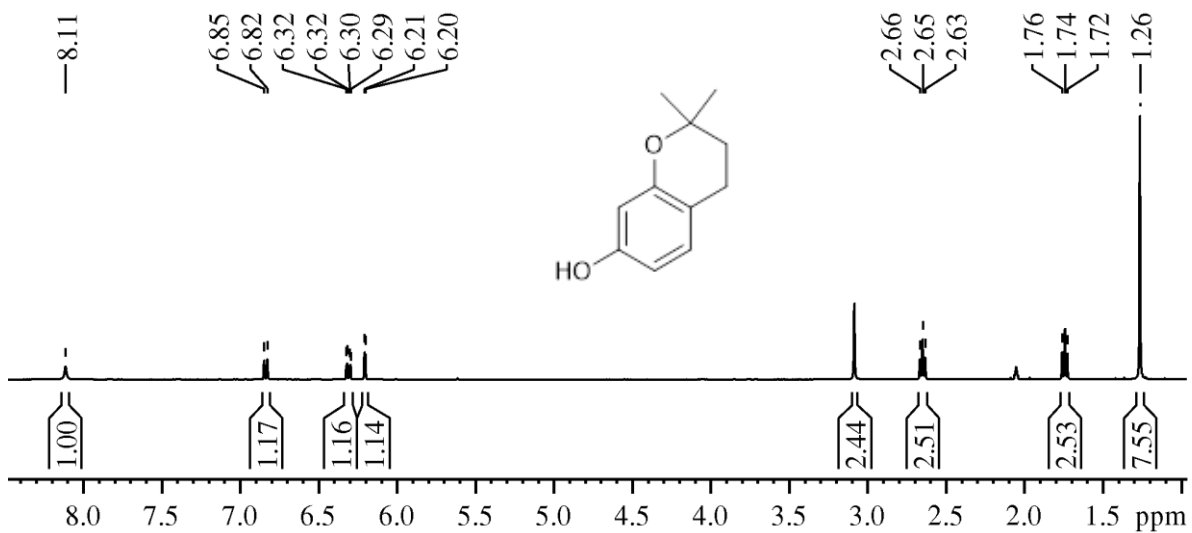


Anexo 26: RMN de ¹H, RMN de ¹³C y Dept-135, respectivamente. (Compuesto 48)

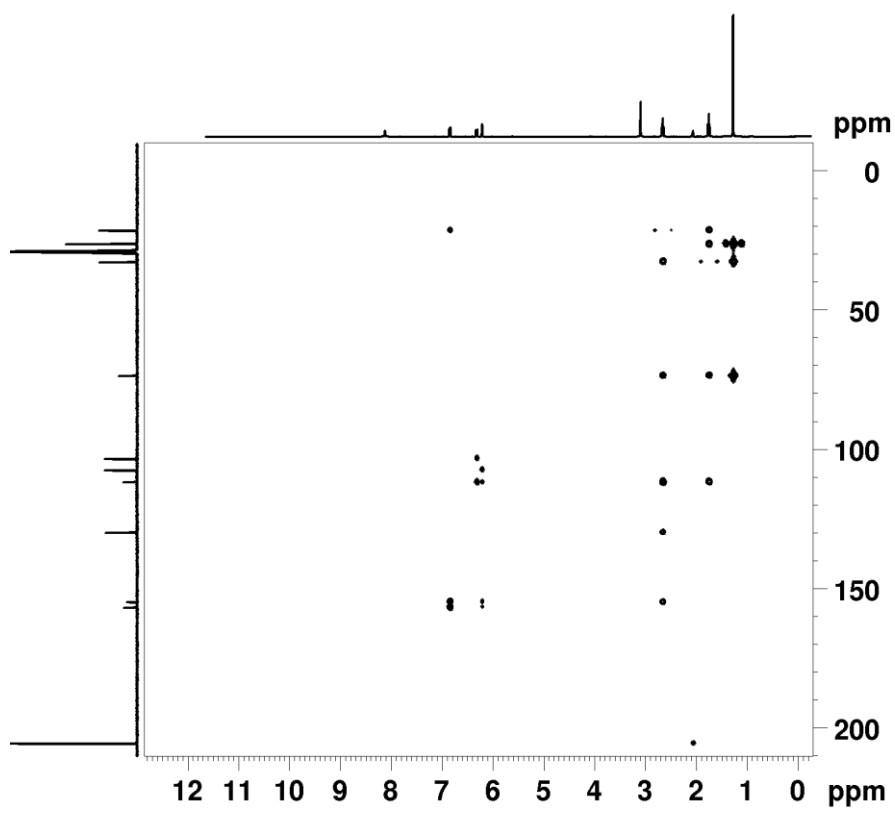
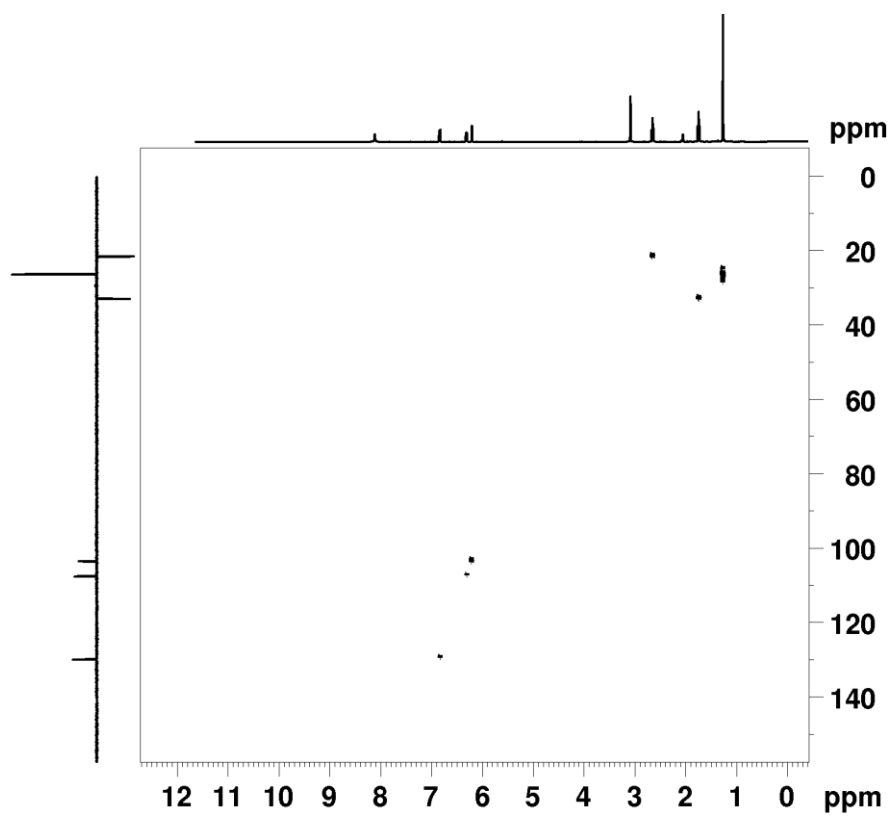


Anexo 27: HSQC y HMBC, respectivamente. (Compuesto 48)

Espectroscopia RMN compuesto 49

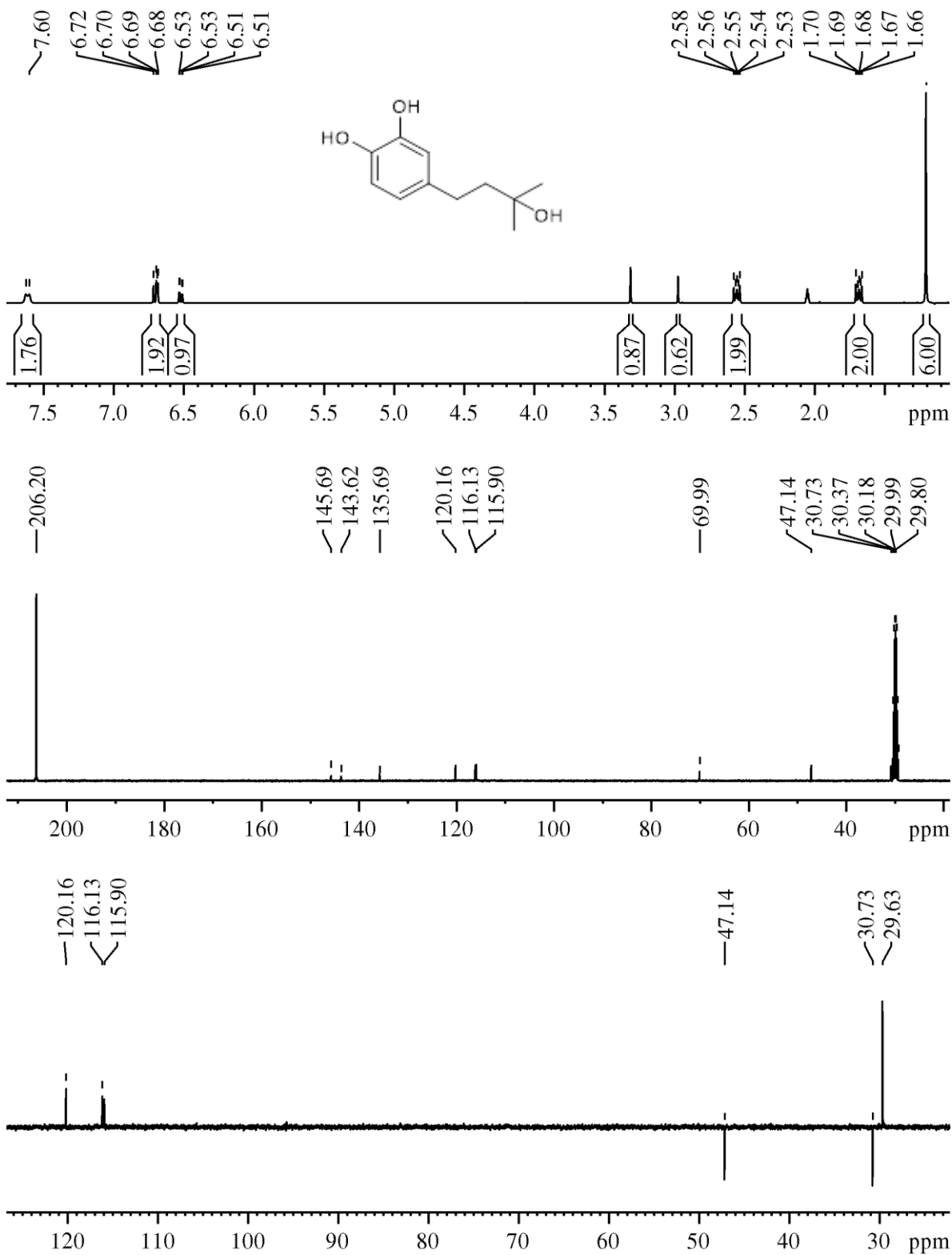


Anexo 28: RMN de ¹H, RMN de ¹³C y Dept-135, respectivamente. (Compuesto 49)

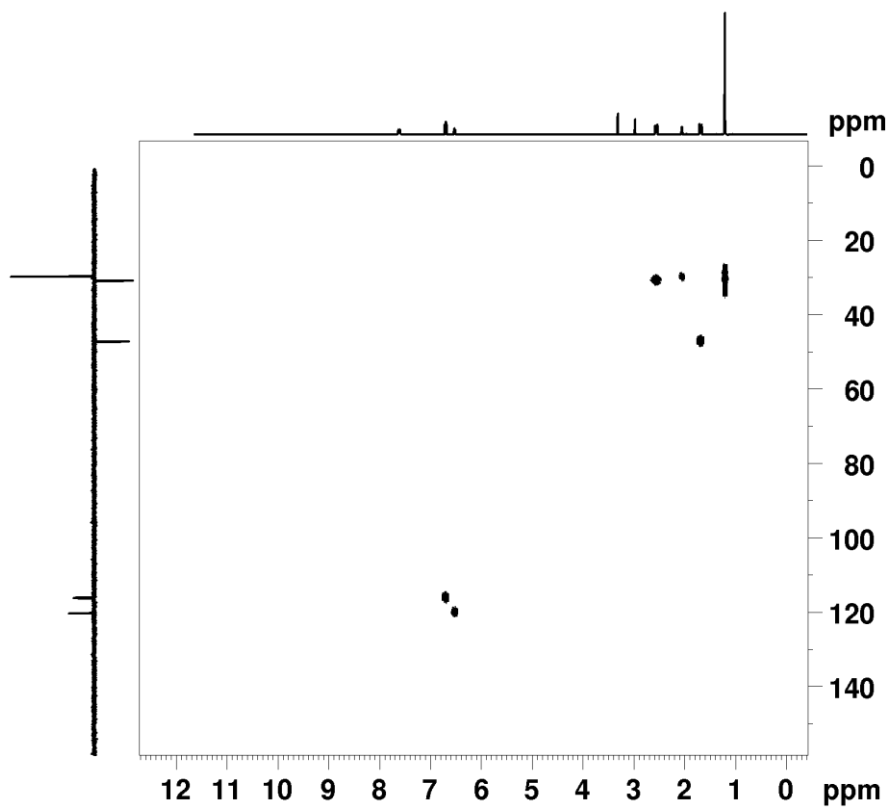


Anexo 29: HSQC y HMBC, respectivamente. (Compuesto 49)

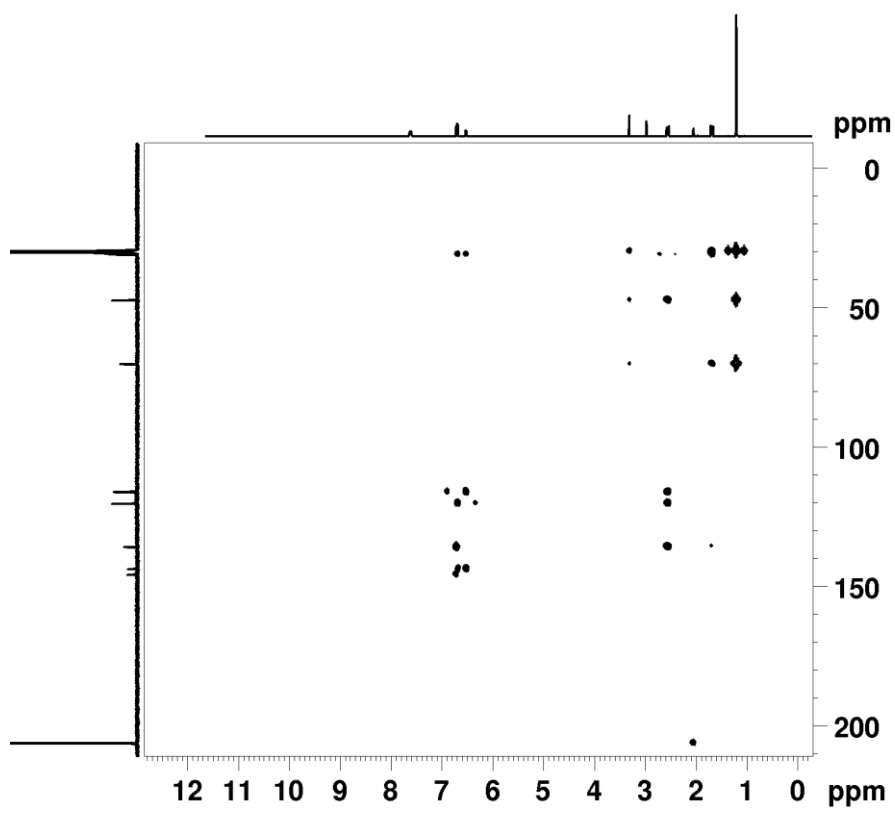
Espectroscopia RMN compuesto 50



Anexo 30: RMN de ¹H, RMN de ¹³C y Dept-135, respectivamente. (Compuesto 50)



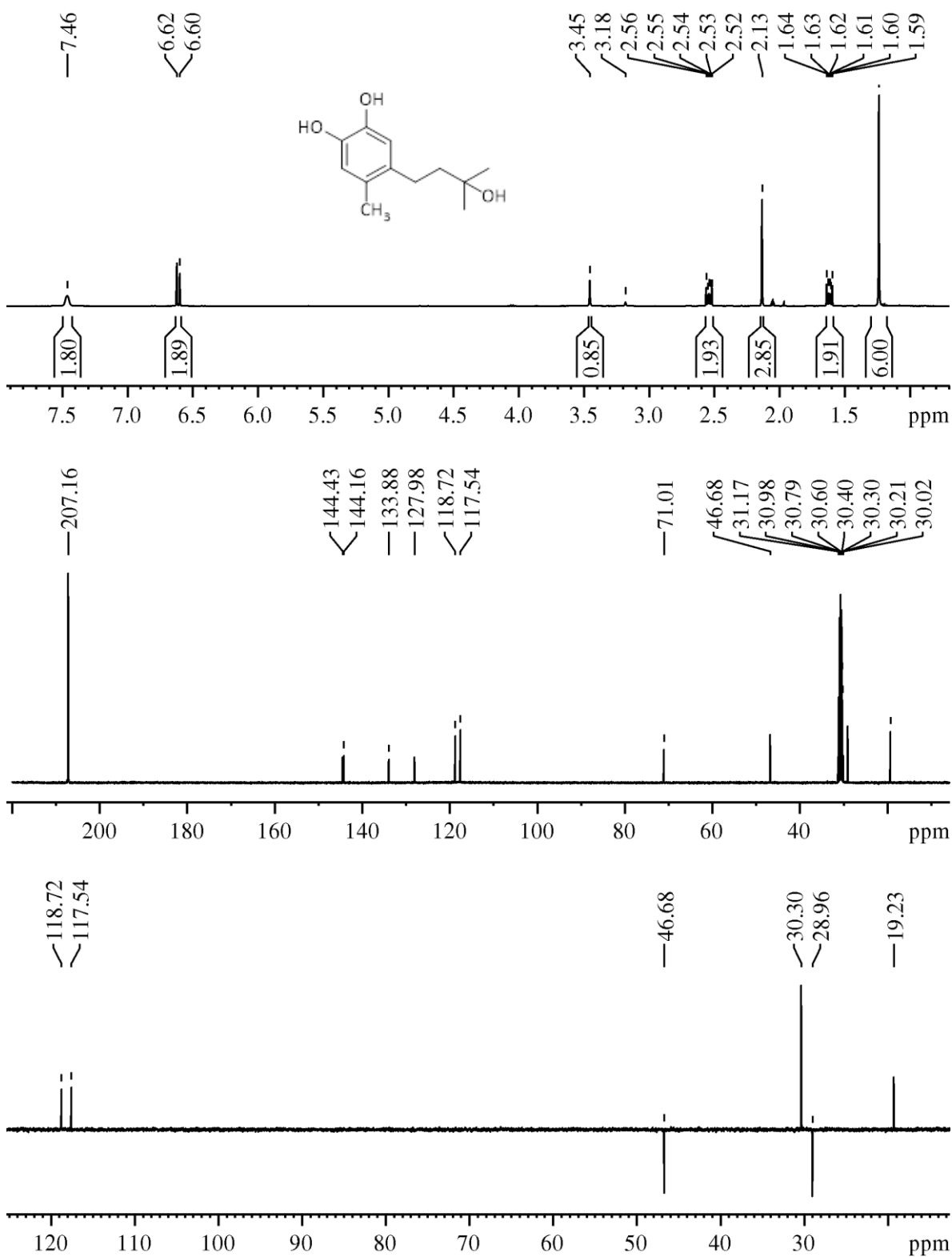
2D- HSQC



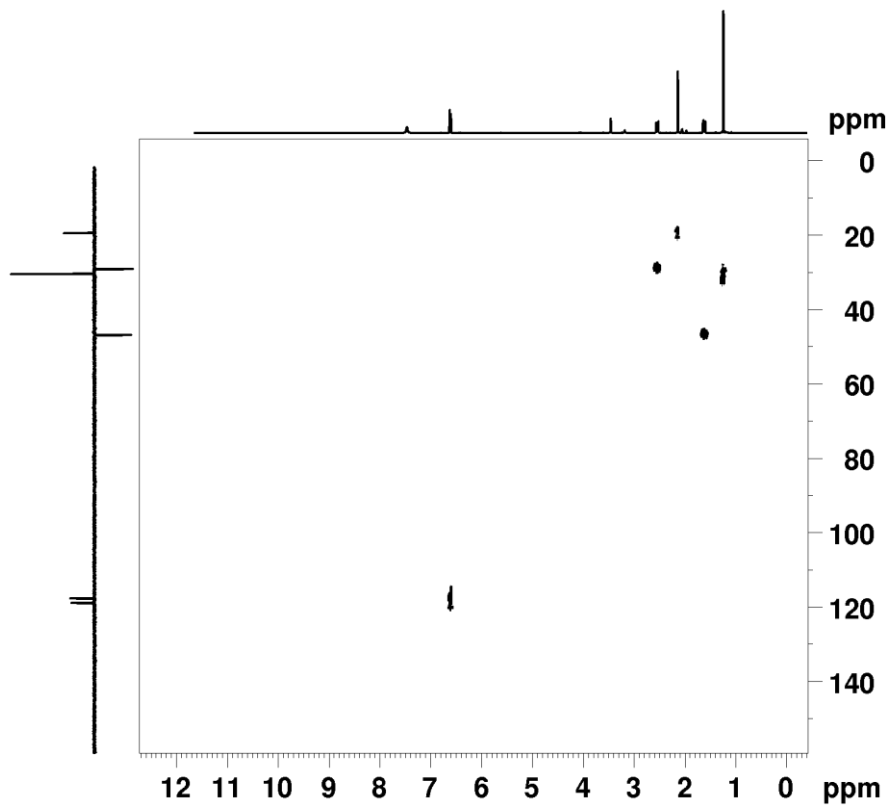
2D- HMBC

Anexo 31: HSQC y HMBC, respectivamente. (Compuesto 50)

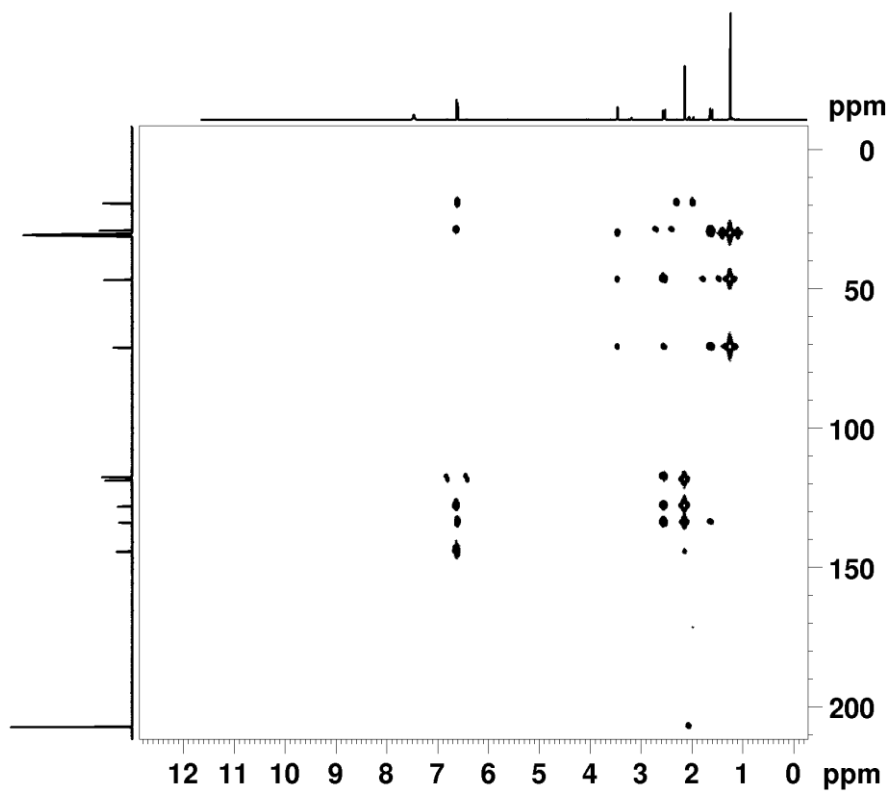
Espectroscopia RMN compuesto 53



Anexo 32: RMN de ¹H, RMN de ¹³C y Dept-135, respectivamente. (Compuesto 53)



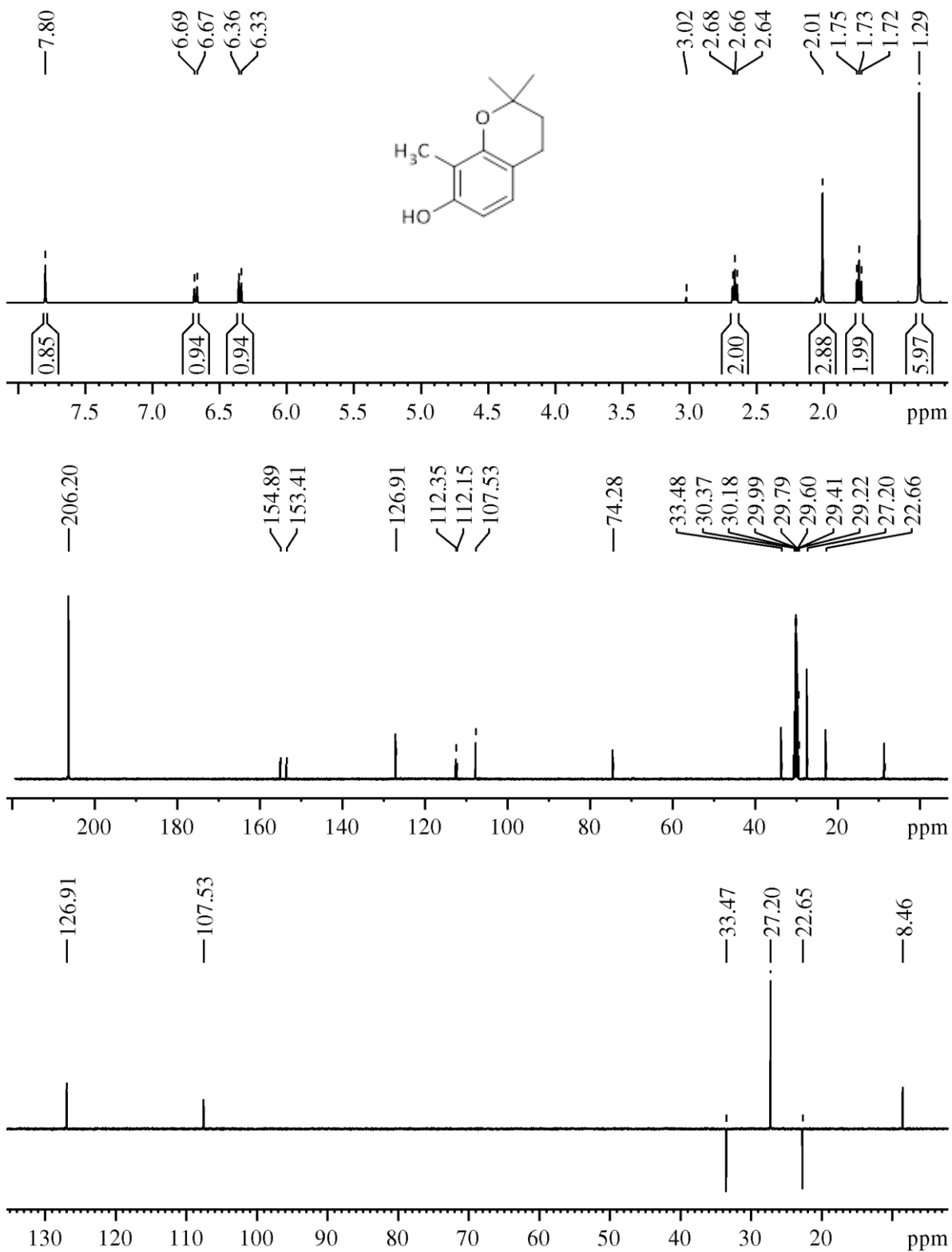
2D- HSQC



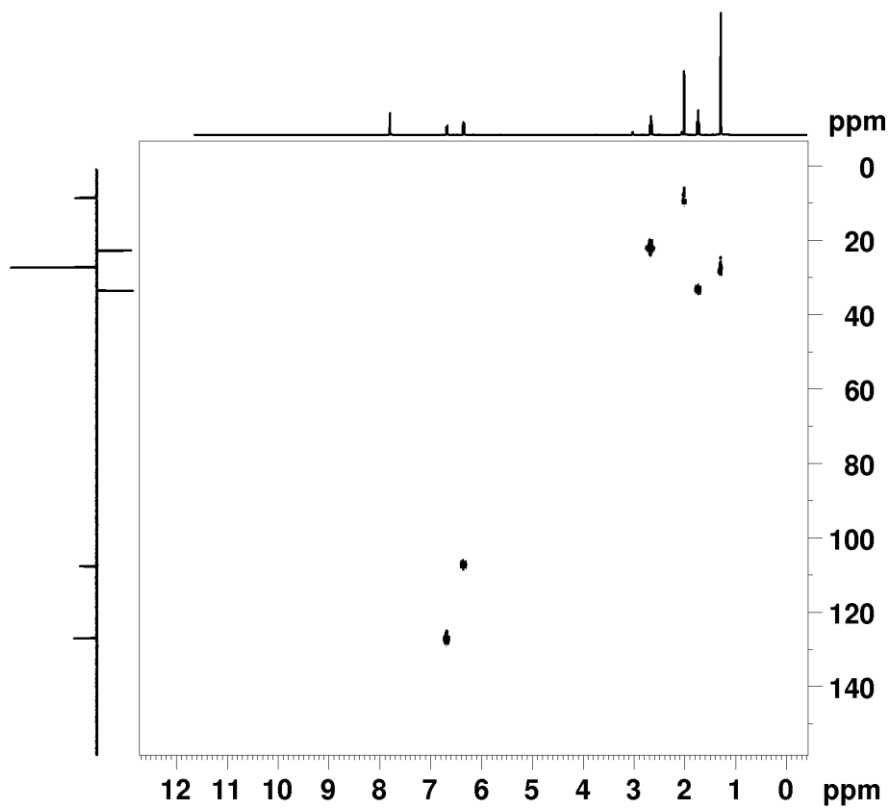
2D- HMBC

Anexo 33: HSQC y HMBC, respectivamente. (Compuesto 53)

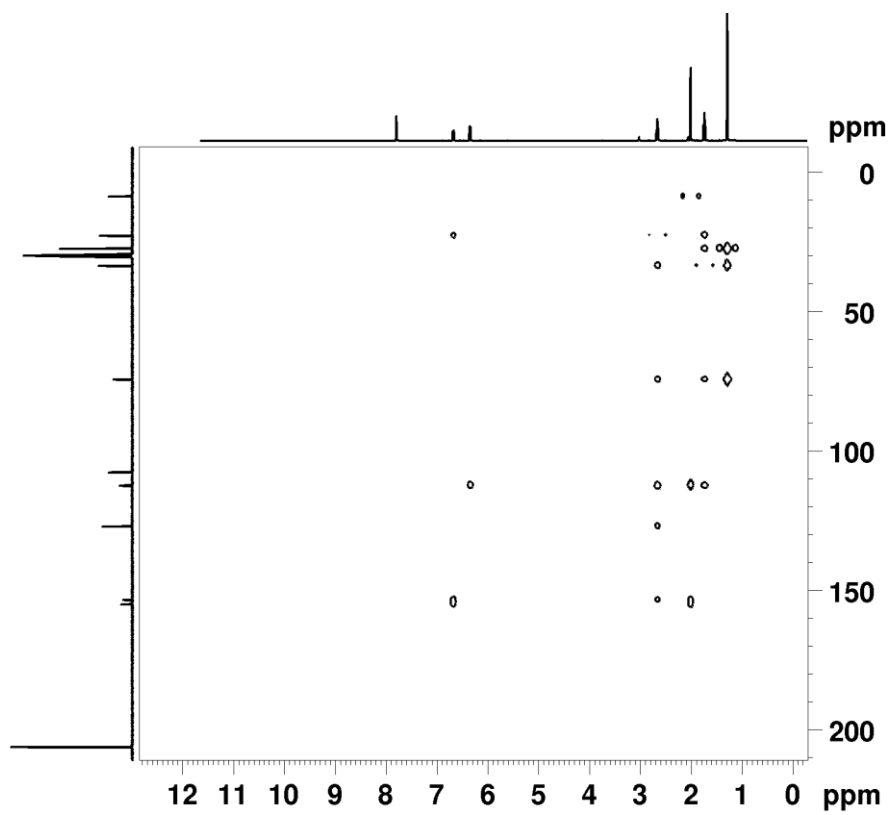
Espectroscopia RMN compuesto 54



Anexo 34: RMN de ¹H, RMN de ¹³C y Dept-135, respectivamente. (Compuesto 54)



2D- HSQC



2D- HMBC

Anexo 35: HSQC y HMBC, respectivamente. (Compuesto 54)

Datos de germinación de semillas de tomate (*Solanum lycopersicum* L)

- Serie de alil-fenoles

En la **Tabla 11** se muestran los promedios de las germinaciones para los tres compuestos de la serie de alil-fenoles.

Tabla 11: Promedios del número de germinación de semillas de tomate (*Solanum lycopersicum* L) en un periodo de 7 días (168 h). Los compuestos fueron aplicados a tres concentraciones: 5,0; 2,5 y 1,25 mg/mL. Los promedios fueron reportados como $\bar{G} \pm DS$.

Compuestos	Tiempo [h]	5 [mg/mL]	2,5 [mg/mL]	1,25 [mg/mL]
Control	72	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
	96	7,1 ± 1,6	7,1 ± 1,6	7,1 ± 1,6
	120	9,9 ± 0,4	9,9 ± 0,4	9,9 ± 0,4
	144	10,0 ± 0,0	10,0 ± 0,0	10,0 ± 0,0
	168	10,0 ± 0,0	10,0 ± 0,0	10,0 ± 0,0
36	72	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	2,5 ± 1,5
	96	5,5 ± 1,2	7,1 ± 0,6	7,3 ± 1,7
	120	9,1 ± 1,4	9,9 ± 0,4	9,6 ± 0,7
	144	10,0 ± 0,0	10,0 ± 0,0	9,9 ± 0,4
	168	10,0 ± 0,0	10,0 ± 0,0	10,0 ± 0,0
43	72	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	1,8 ± 1,3
	96	0,0 ± 0,0	3,8 ± 2,4	6,3 ± 2,4
	120	0,0 ± 0,0	5,6 ± 3,1	9,8 ± 0,5
	144	3,0 ± 3,2	8,3 ± 2,7	9,8 ± 0,5
	168	5,1 ± 3,4	9,5 ± 1,4	9,9 ± 0,4
68	72	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
	96	3,8 ± 1,6	5,1 ± 1,9	4,9 ± 2,1
	120	8,1 ± 1,6	9,3 ± 1,4	8,8 ± 1,6
	144	9,9 ± 0,4	9,9 ± 0,4	9,8 ± 0,7
	168	10,0 ± 0,0	10,0 ± 0,0	9,8 ± 0,7

Anexo 36: Datos de germinación de semillas para los compuestos de la serie de alil-fenoles

- Serie de prenil-fenoles

En la **Tabla 12** se muestran los promedios de las germinaciones para los tres compuestos de la serie de alil-fenoles.

Tabla 12: Promedios del número de germinación de semillas de tomate (*Solanum lycopersicum* L) en un periodo de 7 días (168 h). Los compuestos fueron aplicados a tres concentraciones: 5,0; 2,5 y 1,25 mg/mL. Los promedios fueron reportados como $\bar{G} \pm DS$.

Compuestos	Tiempo [h]	5,0 [mg/mL]	2,5 [mg/mL]	1,25 [mg/mL]
Control	72	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
	96	7,1 ± 1,6	7,1 ± 1,6	7,1 ± 1,6
	120	9,9 ± 0,4	9,9 ± 0,4	9,9 ± 0,4
	144	10,0 ± 0,0	10,0 ± 0,0	10,0 ± 0,0
	168	10,0 ± 0,0	10,0 ± 0,0	10,0 ± 0,0
23	72	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	2,3 ± 1,5
	96	2,6 ± 2,1	5,4 ± 1,2	7,5 ± 1,9
	120	5,0 ± 2,4	9,0 ± 0,8	10,0 ± 0,0
	144	8,6 ± 2,7	9,9 ± 0,4	10,0 ± 0,0
	168	9,3 ± 1,8	9,9 ± 0,4	10,0 ± 0,0
24	72	0,0 ± 0,0	2,0 ± 1,2	3,1 ± 1,7
	96	4,5 ± 1,1	7,4 ± 2,4	7,6 ± 1,2
	120	8,3 ± 2,0	9,9 ± 0,4	9,9 ± 0,4
	144	8,5 ± 3,1	10,0 ± 0,0	10,0 ± 0,0
	168	10,0 ± 0,0	10,0 ± 0,0	10,0 ± 0,0
27	72	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
	96	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
	120	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	3,3 ± 1,8
	144	0,0 ± 0,0	4,1 ± 2,7	8,3 ± 2,7
	168	0,0 ± 0,0	8,5 ± 3,0	10,0 ± 0,0
28	72	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
	96	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	4,8 ± 2,7
	120	0,0 ± 0,0	4,4 ± 2,4	6,6 ± 2,6
	144	2,3 ± 1,5	7,5 ± 3,3	10,0 ± 0,0
	168	5,1 ± 2,8	8,5 ± 1,6	10,0 ± 0,0
31	72	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
	96	0,0 ± 0,0	4,0 ± 2,7	5,1 ± 2,3
	120	6,1 ± 3,9	7,4 ± 2,7	8,9 ± 1,4
	144	9,4 ± 0,9	9,8 ± 0,5	10,0 ± 0,0
	168	9,8 ± 0,5	9,9 ± 0,4	10,0 ± 0,0
32	72	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
	96	0,0 ± 0,0	1,9 ± 1,6	6,3 ± 2,5
	120	2,9 ± 2,0	4,8 ± 2,4	9,3 ± 1,2
	144	6,8 ± 1,5	9,0 ± 1,6	10,0 ± 0,0
	168	9,5 ± 0,9	9,9 ± 0,4	10,0 ± 0,0
33	72	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
	96	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	3,6 ± 2,8
	120	2,3 ± 1,9	6,1 ± 2,8	7,4 ± 2,9

144	$5,3 \pm 2,9$	$9,5 \pm 0,5$	$9,8 \pm 0,5$
168	$7,1 \pm 2,4$	$10,0 \pm 0,0$	$9,9 \pm 0,4$

- **Serie de prenil-fenoles ciclados**

En la **Tabla 13** se muestran los promedios de las germinaciones para los tres compuestos de la serie de alil-fenoles.

Tabla 13: Promedios del número de germinación de semillas de tomate (*Solanum lycopersicum* L) en un periodo de 7 días (168 h). Los compuestos fueron aplicados a tres concentraciones: 5,0; 2,5 y 1,25 mg/mL. Los promedios fueron reportados como $\bar{G} \pm DS$.

Compuestos	Tiempo [h]	5 [mg/mL]	2,5 [mg/mL]	1,25 [mg/mL]
Control	72	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
	96	7,1 ± 1,6	7,1 ± 1,6	7,1 ± 1,6
	120	9,9 ± 0,4	9,9 ± 0,4	9,9 ± 0,4
	144	10,0 ± 0,0	10,0 ± 0,0	10,0 ± 0,0
	168	10,0 ± 0,0	10,0 ± 0,0	10,0 ± 0,0
45	72	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
	96	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
	120	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	1,1 ± 1,5
	144	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	3,3 ± 3,3
	168	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	6,0 ± 2,9
46	72	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
	96	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
	120	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
	144	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,3 ± 0,5
	168	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	1,1 ± 2,1
47	72	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	1,9 ± 1,5
	96	1,3 ± 1,5	5,5 ± 1,9	6,6 ± 1,8
	120	4,3 ± 2,2	8,9 ± 1,0	8,9 ± 1,6
	144	7,4 ± 3,1	9,9 ± 0,4	10,0 ± 0,0
	168	8,6 ± 3,5	10,0 ± 0,0	10,0 ± 0,0
48	72	0,0 ± 0,0	1,3 ± 1,5	2,8 ± 1,4
	96	2,4 ± 1,7	8,0 ± 1,4	7,8 ± 1,5
	120	6,8 ± 2,4	9,9 ± 0,4	10,0 ± 0,0
	144	9,5 ± 0,8	9,9 ± 0,4	10,0 ± 0,0
	168	10,0 ± 0,0	9,9 ± 0,4	10,0 ± 0,0
49	72	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
	96	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
	120	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
	144	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
	168	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	3,4 ± 1,2
54	72	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
	96	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	1,1 ± 1,0
	120	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	3,1 ± 2,5
	144	0,0 ± 0,0	1,4 ± 1,1	5,3 ± 3,2
	168	0,0 ± 0,0	3,6 ± 2,4	8,6 ± 2,4

Anexo 38: Datos de germinación de semillas para los compuestos de la serie de alil-fenoles ciclados

- **Serie de prenil-fenoles hidratados**

En la **Tabla 14** se muestran los promedios de las germinaciones para los tres compuestos de la serie de alil-fenoles.

Tabla 14: Promedios del número de germinación de semillas de tomate (*Solanum lycopersicum* L) en un periodo de 7 días (168 h). Los compuestos fueron aplicados a tres concentraciones: 5,0; 2,5 y 1,25 mg/mL. Los promedios fueron reportados como $\bar{G} \pm DS$.

Compuestos	Tiempo [h]	5 [mg/mL]	2,5 [mg/mL]	1,25 [mg/mL]
Control	72	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
	96	7,1 ± 1,6	7,1 ± 1,6	7,1 ± 1,6
	120	9,9 ± 0,4	9,9 ± 0,4	9,9 ± 0,4
	144	10,0 ± 0,0	10,0 ± 0,0	10,0 ± 0,0
	168	10,0 ± 0,0	10,0 ± 0,0	10,0 ± 0,0
50	72	1,9 ± 0,8	2,8 ± 0,9	2,6 ± 1,6
	96	6,6 ± 1,2	7,1 ± 0,8	7,8 ± 2,1
	120	9,5 ± 0,8	9,8 ± 0,5	9,8 ± 0,7
	144	9,8 ± 0,5	9,9 ± 0,4	9,9 ± 0,4
	168	9,8 ± 0,5	10,0 ± 0,0	9,9 ± 0,4
53	72	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
	96	0,0 ± 0,0	2,6 ± 1,2	4,3 ± 1,2
	120	2,8 ± 1,7	7,5 ± 1,5	8,6 ± 1,4
	144	7,6 ± 1,9	9,5 ± 0,8	9,5 ± 0,8
	168	9,0 ± 2,1	9,8 ± 0,7	9,9 ± 0,4

Anexo 39: Datos de germinación de semillas para los compuestos de la serie de alil-fenoles hidratados

Datos de crecimiento de raíces de tomate (*Solanum lycopersicum* L)

- Serie de alil-fenoles

En la **Tabla 15** se muestran los promedios del crecimiento de las raíces de tomate para los tres compuestos de la serie de alil-fenoles.

Tabla 15: Promedios de las longitudes de las raíces de tomate (*Solanum lycopersicum* L) a las 168 h. Los compuestos fueron aplicados a tres concentraciones: 5,0; 2,5 y 1,25 mg/mL. Los promedios fueron reportados como $\bar{C} \pm DS$.

Compuestos	5 [mg/mL]	2,5 [mg/mL]	1,25 [mg/mL]
Control	5,05 ± 1,36	5,05 ± 1,36	5,05 ± 1,36
36	4,66 ± 1,29	5,10 ± 1,26	5,24 ± 1,34
43	1,46 ± 1,04	3,73 ± 1,34	5,47 ± 1,62
68	3,99 ± 1,10	4,01 ± 1,10	4,51 ± 1,12

- Serie de prenil-fenoles

En la **Tabla 16** se muestran los promedios del crecimiento de las raíces de tomate para los siete compuestos de la serie de prenil-fenoles.

Tabla 16: Promedios de las longitudes de las raíces de tomate (*Solanum lycopersicum* L) a las 168 h. Los compuestos fueron aplicados a tres concentraciones: 5,0; 2,5 y 1,25 mg/mL. Los promedios fueron reportados como $\bar{C} \pm DS$.

Compuestos	5,0 [mg/mL]	2,5 [mg/mL]	1,25 [mg/mL]
Control	5,05 ± 1,36	5,05 ± 1,36	5,05 ± 1,36
23	3,19 ± 1,61	4,67 ± 1,66	5,60 ± 1,28
24	5,11 ± 1,37	5,22 ± 1,27	5,30 ± 1,18
27	0,00 ± 0,00	1,67 ± 1,08	3,62 ± 1,78
28b	1,35 ± 0,73	3,29 ± 1,43	4,28 ± 1,60
31b	4,74 ± 1,68	4,37 ± 1,84	4,70 ± 1,66
32	2,61 ± 1,18	4,09 ± 1,37	4,89 ± 1,41
33	2,88 ± 0,82	4,07 ± 1,47	4,12 ± 1,28

Anexo 40: Datos de crecimientos de raíces de tomate para los compuestos de la serie de alil- y prenil-fenoles, respectivamente

- **Serie de prenil-fenoles ciclados**

En la **Tabla 17** se muestran los promedios del crecimiento de las raíces de tomate para los seis compuestos de la serie de prenil-fenoles ciclados.

Tabla 17: Promedios de las longitudes de las raíces de tomate (*Solanum lycopersicum* L) a las 168 h. Los compuestos fueron aplicados a tres concentraciones: 5,0; 2,5 y 1,25 mg/mL. Los promedios fueron reportados como $\bar{C} \pm DS$.

Compuestos	5 [mg/mL]	2,5 [mg/mL]	1,25 [mg/mL]
Control	5,05 ± 1,36	5,05 ± 1,36	5,05 ± 1,36
45	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	3,32 ± 1,50
46	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	2,26 ± 0,91
47	3,27 ± 1,47	5,33 ± 1,20	4,98 ± 1,58
48	3,69 ± 1,11	5,27 ± 1,39	5,14 ± 1,34
49	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
54	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	3,04 ± 1,46

- **Serie de prenil-fenoles hidratados**

En la **Tabla 18** se muestran los promedios del crecimiento de las raíces de tomate para los dos compuestos de la serie de prenil-fenoles hidratados.

Tabla 18: Promedios de las longitudes de las raíces de tomate (*Solanum lycopersicum* L) a las 168 h. Los compuestos fueron aplicados a tres concentraciones: 5,0; 2,5 y 1,25 mg/mL. Los promedios fueron reportados como $\bar{C} \pm DS$.

Compuestos	5 [mg/mL]	2,5 [mg/mL]	1,25 [mg/mL]
Control	5,05 ± 1,36	5,05 ± 1,36	5,05 ± 1,36
50	4,14 ± 0,94	5,66 ± 1,39	5,41 ± 1,45
53	3,18 ± 1,55	4,70 ± 1,45	4,92 ± 1,47

Anexo 41: Datos de crecimientos de raíces de tomate para los compuestos de la serie de alil- y prenil-fenoles ciclados e hidratados, respectivamente

Datos de fitotoxicidad en hojas de tomate (*Solanum lycopersicum* L)

En la **Tabla 19** se muestran los promedios del crecimiento de las raíces de tomate para los dos compuestos de la serie de prenil-fenoles hidratados.

Tabla 19: Promedio del Área Afectada (AA) en hojas de tomate de 21 días de crecimiento. La aplicación de los compuestos fue a 24 h y 48 h. Los promedios fueron reportados como $\overline{AA} \pm DS$

Compuestos	Área Afectada 24 h ^(a)	Área Afectada 48 h
Control (EtOH)	0,30 ± 0,03	0,61 ± 0,19 ^(a)
23	0,13 ± 0,02	0,27 ± 0,12 ^(a)
24	0,08 ± 0,04	0,22 ± 0,18
28b	0,05 ± 0,02	0,16 ± 0,13
31b	0,41 ± 0,28	0,32 ± 0,26
43*	0,40 ± 0,08	2,32 ± 0,47 ^(b)
45a	0,17 ± 0,08	0,39 ± 0,33
48a	0,15 ± 0,07	0,23 ± 0,16
49a	0,17 ± 0,07	0,36 ± 0,33
50b	0,48 ± 0,39	0,59 ± 0,48
54b	0,00 ± 0,00	0,48 ± 0,27

(a) n= 4; (b) n= 6; *Presenta diferencia significativa a las 48 h

Anexo 42: Datos de crecimientos de raíces de tomate para los compuestos de la serie de alil- y prenil-fenoles ciclados e hidratados, respectivamente

Datos de citotoxicidad en esporas de *Botrytis cinerea* B-05

Tabla 20: Promedios de los porcentajes de crecimiento de esporas de *B. cinerea* B-05 para la serie de prenil-fenoles. La citotoxicidad se midió a cinco concentraciones diferentes. Los datos fueron expresados en %C ± DS.

Compuestos	Concentración [µg/mL]	% Crecimiento
Control	---	1,44 ± 0,29
	800	34,05 ± 15,79
	400	54,17 ± 13,19
23	200	57,52 ± 15,97
	100	77,28 ± 37,08
	50	81,41 ± 32,05
	800	85,04 ± 7,95
	400	96,85 ± 7,02
24	200	105,20 ± 16,65
	100	109,40 ± 16,39
	50	115,08 ± 13,60
	800	32,09 ± 7,38
	400	56,31 ± 13,50
27	200	76,52 ± 18,01
	100	84,26 ± 20,91
	50	102,23 ± 37,24
	800	20,17 ± 5,50
	400	50,58 ± 12,23
28b	200	70,73 ± 16,63
	100	80,50 ± 26,21
	50	81,53 ± 23,93
	800	11,61 ± 1,48
	400	12,25 ± 2,16
31b	200	15,90 ± 2,21
	100	30,01 ± 4,83
	50	48,85 ± 5,55
	800	37,51 ± 6,36
	400	51,51 ± 10,06
32	200	69,50 ± 12,47
	100	76,00 ± 16,83
	50	77,51 ± 18,60
	800	64,31 ± 22,81
	400	68,25 ± 28,97
33	200	76,95 ± 32,30
	100	85,86 ± 20,74
	50	87,26 ± 26,63

Anexo 43: Promedios de los porcentajes de crecimiento de esporas de *B. cinerea* B-05 para la serie de prenil-fenoles

Tabla 21: Promedios de los porcentajes de crecimiento de esporas de *B. cinerea* B-05 para la serie de alil-fenoles. La citotoxicidad se midió a cinco concentraciones diferentes. Los datos fueron expresados en %C \pm DS.

Compuestos	Concentración [$\mu\text{g/mL}$]	% Crecimiento
Control	---	1,44 \pm 0,29
	800	45,97 \pm 6,76
36	400	59,06 \pm 17,23
	200	66,20 \pm 13,70
	100	70,85 \pm 18,54
	50	97,98 \pm 13,52
	800	21,07 \pm 3,73
43	400	35,85 \pm 10,44
	200	40,02 \pm 5,90
	100	59,04 \pm 6,50
	50	65,47 \pm 11,76
68	800	41,24 \pm 12,60
	400	42,58 \pm 12,72
	200	52,04 \pm 16,38
	100	54,02 \pm 18,75
	50	74,28 \pm 23,86

Anexo 44: Promedios de los porcentajes de crecimiento de esporas de *B. cinerea* B-05 para la serie de alil-fenoles

Tabla 22: Promedios de los porcentajes de crecimiento de esporas de *B. cinerea* B-05 para la serie de prenil-fenoles ciclados. La citotoxicidad se midió a cinco concentraciones diferentes. Los datos fueron expresados en %C ± DS.

Compuestos	Concentración [µg/mL]	% Crecimiento
Control	---	1,44 ± 0,29
45	800	21,87 ± 7,24
	400	36,62 ± 11,78
	200	50,09 ± 18,58
	100	56,69 ± 18,75
	50	82,27 ± 28,01
46	800	55,14 ± 10,76
	400	64,27 ± 20,91
	200	69,32 ± 17,91
	100	73,65 ± 15,41
	50	97,70 ± 21,55
47	800	31,57 ± 3,91
	400	42,13 ± 4,69
	200	43,69 ± 4,92
	100	53,74 ± 9,04
	50	53,33 ± 11,35
48	800	58,60 ± 10,13
	400	72,06 ± 9,20
	200	81,67 ± 11,82
	100	84,26 ± 16,15
	50	146,71 ± 11,78
49	800	22,73 ± 3,27
	400	37,96 ± 3,06
	200	59,11 ± 8,97
	100	74,91 ± 8,02
	50	93,03 ± 8,85
54	800	10,34 ± 2,98
	400	20,81 ± 6,51
	200	34,69 ± 10,00
	100	37,48 ± 12,39
	50	61,40 ± 18,51

Anexo 45: Promedios de los porcentajes de crecimiento de esporas de *B. cinerea* B-05 para la serie de prenil-fenoles ciclados.

Tabla 23: Promedios de los porcentajes de crecimiento de esporas de *B. cinerea* B-05 para la serie de prenil-fenoles hidratados. La citotoxicidad se midió a cinco concentraciones diferentes. Los datos fueron expresados en %C \pm DS.

Compuestos	Concentración [$\mu\text{g/mL}$]	% Crecimiento
Control	---	1,44 \pm 0,29
	800	72,92 \pm 17,51
	400	88,06 \pm 15,90
50	200	89,02 \pm 11,73
	100	101,06 \pm 13,01
	50	131,33 \pm 38,48
	800	79,28 \pm 8,52
53	400	83,95 \pm 9,98
	200	87,31 \pm 12,29
	100	93,24 \pm 10,04
	50	97,02 \pm 10,71

Anexo 46: Promedios de los porcentajes de crecimiento de esporas de *B. cinerea* B-05 para la serie de prenil-fenoles hidratados.