



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO

**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS
QUÍMICAS**

TEMA DE TESIS

Estudio de los productos de ciclización *trans*anular de la 6-*epi*-desacetil-
laurenobiólida aislada de *Montanoa grandiflora*.

TESIS

PARA OPTAR POR EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA

Q.I. José Alejandro Sánchez Pérez



TUTOR: Dr. Leovigildo Quijano AÑO: 2008

Este trabajo se realizó en las instalaciones del Laboratorio 2-6 del Departamento de Productos Naturales del Instituto de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México, bajo la Dirección del Dr. Leovigildo Quijano.

Los resultados de este trabajo fueron presentados en la modalidad de cartel siendo intitulado: "Estudio de los productos de apertura y ciclización trans-anular de la 6-epi-desacetil-speciformina aislada de Montanoa grandiflora", en la "4ª Reunión Nacional de Investigación en Productos Naturales 2007" realizada en la ciudad de Monterrey Nuevo León por la Universidad Autónoma de Nuevo León del 16 al 18 de Mayo del 2007, bajo el financiamiento del Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Químicas de la Universidad Nacional Autónoma de México.

AGRADECIMIENTOS

- *Al Dr. Leovigildo Quijano, por la paciencia, tutoría y apoyo incondicional durante la realización experimental y escrita de este trabajo, resaltando su ejemplo de tenacidad.*
- *Al Dr. José S. Calderón Pardo por la asesoría y colaboración y disponibilidad para este proyecto como director suplente temporal.*
- *A los Doctores Tirso Ríos Castillo y Alfredo Ortega por la orientación y comentario oportuno que sin duda enriquecieron y robustecieron esta investigación.*
- *A los sinodales, por lo atinado de sus observaciones y en especial por la paciencia invertida y las facilidades prestadas durante la revisión del trabajo escrito de tesis.*
- *Al CONACyT por el apoyo económico otorgado durante los estudios de Maestría (No. De Becario 201279) durante los semestres 2006-I al 2007-II.*
- *A las Q. Maria de los Ángeles Peña Gonzáles, M. en C. Elizabeth Huerta Salazar., Dra. Ma. Isabel Chávez Uribe, Dra. Beatriz Quiroz García y M. en C. Héctor Ríos Olivares de los departamentos de RMN del Instituto de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México por su apoyo en la determinación de los espectros de RMN de ^1H y de ^{13}C en los equipos de 300 y 500 MHz.*
- *A la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Yucatán, por facilitarnos el uso de equipos y a la M. en C. Aída Pérez Espadas por su apoyo en la determinación de los espectros de RMN de ^1H y de ^{13}C en el equipo de 400 MHz.*
- *Al M. en C. Francisco Javier Pérez Flores y al Ing. Luís Velasco Ibarra del departamento de Espectrometría de Masas.*
- *Al Dr. Rubén Alfredo Toscano y al Q.F.B. Simón Hernández Ortega del Departamento de Difracción de Rayos X por las facilidades prestadas.*
- *A la Q.F.B. Ma. del Rocío Patiño Maya por el apoyo en las pruebas de IR y RO.*

INDICE

Abreviaturas	
Lista de Cuadros	
Lista de figuras	
Resumen	
Abstract	
1. Introducción	1
2. Antecedentes	4
2.1 Familia COMPOSITAE o ASTERACEAE -Compuestas-	4
2.2 <i>Montanoa</i> Cerv. (ASTERACEAE, HELIANTHEAE)	5
2.2.1 <i>Montanoa grandiflora</i> Alamán ex A.P. de Candolle	7
2.3 Biosíntesis de las lactonas sesquiterpénicas	8
2.4 Tonsil Actisil FF (TAFF).	10
2.4.1 Usos del TONSIL ACTISIL FF (TAFF) en química	11
2.5 Transformaciones biomiméticas en Germacranólidas.	13
2.5.1 Antecedentes de 6- <i>epi</i> -desacetil laurenobiólida (1)	17
3. Hipótesis	19
4. Justificación y Objetivos	19
5. Estructuras	21
6. Parte Experimental	23
6.1 Epoxidación de la 6- <i>epi</i> -desacetil-laurenobiólida (1)	24
6.2 Apertura del epóxido (2) con arcilla tipo bentonítica (tonsil TAFF)	27
6.2.1 Pruebas preeliminares con Tonsil (T) en la apertura del epóxido (2)	27
6.3 Apertura del epóxido (2) con ácido <i>p</i> -toluensulfónico	30
6.4 Apertura del epóxido (2) con tetraciano etileno	31
7. Resultados y discusión	33
7.1 6- <i>epi</i> -desacetil laurenobiólida (1)	36
7.2 6- <i>epi</i> -speciformina (2)	40
7.3 Diepoxido, Compuesto (4)	42
7.4 Apertura y ciclización de la 6- <i>epi</i> -speciformina usando Tonsil	43
7.5 Compuesto (5)	44
7.6 Compuesto 8	45
7.7 Germacra-1(10),3(4)-dien-5,6-di- <i>O</i> -isopropil-ólida, Acetónido (9).	49
7.8 Germacra-1(10),4(15)-dien-5,6-di- <i>O</i> -isopropil-ólida, Acetónido (10).	52
7.9 Resultados del uso del ácido <i>p</i> -toluensulfónico en el epóxido (2)	54
7.10 Resultados del uso de tetraciano etileno (TCE)	55
7.11 Grandiflórida (3)	56
8. Conclusiones	59
9. Bibliografía	61
10. Anexo: Espectros de los compuestos	67

ABREVIATURAS:

c	Señal cuádruple
cc	Cromatografía en columna
ccf	Cromatografía en capa fina
cd	Señal cuádruple doble
da	Señal doble ancha
dc	Señal doble de cuartetos
dd	Señal doble de doble
ddd	Señal doble de doble de doble
EMIE	Espectrometría de masas por impacto electrónico
IR	Espectroscopía de Infrarrojo
J	Constante de acoplamiento
m	Señal múltiple
M ⁺	Ión molecular
m/z	Relación masa / carga
ppm	Partes por millón
pTSH	Ácido <i>p</i> -toluensulfónico
RMN ¹³ C	Resonancia magnética nuclear de carbono-13
RMN ¹ H	Resonancia magnética nuclear de protón
s	Señal simple
sa	Señal simple ancha
sept	Señal séptuple
sext	Señal séxtuple
t	Señal triple
TCE	Tetraciano etileno
ta	Señal triple ancha
td	Señal triple ancha
tt	Señal triple de dobles
TMS	Tetrametilsilano

Índice de Tablas

#	Título	pag.
1	Productos naturales obtenidos de las plantas y sus usos industriales	1
2	Precios de algunos ácidos de Lewis y soportes <i>V_s</i> Tonsil Actisil FF	11
3	Cromatograma de la epoxidación del compuesto (1)	25
4	Cromatografía general de la 6- <i>epi</i> -desacetil laurenobiólida	26
5	Pruebas preliminares con Tonsil para la apertura del epóxido (1)	28
6	Cromatografía de la reacción con Tonsil (T)	29
7	Cromatografía de la mezcla de reacción con ac. <i>p</i> -toluensulfónico (pTS)	30
8	Compuestos y rendimientos obtenidos en el tratamiento de la 6- <i>epi</i> -speciformina (2) con diferentes ácidos de Lewis	35
9	Datos de RMN del Confórmero A de la 6- <i>epi</i> -desacetil-laurenobiólida (1)	38
10	Datos de RMN del Confórmero B de la 6- <i>epi</i> -desacetil-laurenobiólida (1)	39
11	Datos de RMN de la 6- <i>epi</i> -speciformina (2)	40
12	Datos de RMN del Diepóxido (4)	43
13	Datos de RMN del Compuesto (5)	47
14	Datos de RMN del Compuesto (8) Triol CDCl ₃	49
15	Datos de RMN del Acetónido (9)	51
16	Datos de RMN del Acetónido (10)	53
17	Datos de RMN de Grandiflórida (3)	57

Índice de Figuras

#	Título	Pag.
1	Variación en la forma de <i>Montanoa tomentosa sub. tomentosa</i>	6
2	Descripción morfológica de <i>Montanoa grandiflora</i>	7
3	Floración de <i>Montanoa grandiflora</i>	7
3a	Fruto de <i>Montanoa grandiflora</i>	7
4	Distribución geográfica de <i>Montanoa grandiflora</i> en México	7
5	Biogénesis de los cuatro cationes precursores de sesquiterpenos	9
6	Biosíntesis del esqueleto de Germacranólida	10
7	Cuatro posibles conformaciones de la laurenobiólida	17
8	Estereopar de la 6- <i>epi</i> -desacetil-laurenobiólida	18
9	Interacciones espaciales de la 6- <i>epi</i> -speciformina (2)	41
10	Análisis de Rayos X de la 6- <i>epi</i> -speciformina (2)	42
11	Interacciones espaciales del Diepóxido (4)	44
12	Interacciones espaciales de la Guayanólida (5)	47
13	Análisis por difracción de rayos X de la Guayanólida (5)	48
14	Interacciones espaciales del Acetónido (9)	52
15	Estructura cristalina del Acetónido (9) determinada por difracción de rayos X	52

16	Interacciones espaciales del Acetónido (10)	54
17	Interacciones espaciales de la Grandiflórída (3)	57

Índice de Esquemas

#	Título	Pag.
1	Transformación del alcohol Piperonílico a Trimetildioxi-ortociclofano usando TAFF	12
2	Ciclización mediante el uso del Tonsil de la lactona aislada de <i>Stevia tephrophylla</i>	13
3	Ruta de formación de lactonas sesquiterpénicas	13
4	Ciclización del (4 α , 5 β)-epoxi- <i>trans</i> -germacr-1(10)eno con HCl(g)	15
5	Formación de <i>cis</i> -guayanolidas mediante tratamiento ácido de las 4 α ,5 β -epoxi- <i>trans</i> -1(10) germacranos	15
6	Ciclización de la 11, 13-dihidropartenólida con BF ₃ .Et ₂ O	16
7	Desarrollo experimental general	23
8	Cuatro formas conformacionales mayoritarias del esqueleto de las germacranólidas A: [¹⁵ D ₅ , ¹ D ¹⁴], B: [¹⁵ D ₅ , ¹ D ₁₄], C: [₁₅ D ⁵ , ¹ D ¹⁴], D: [₁₅ D ⁵ , ¹ D ₁₄],	33
9	Relación concentración-tiempo reacciones con tonsil	45
10	Ciclización transanular promovida por la apertura del grupo epoxi y la formación del ión carbonio	46

Índice de Gráficos

#	Título	Pag.
1	Relación concentración-tiempo de reacción del Tonsil	45
2	Comparativo de tiempo de reacción y proporción en el uso de los diferentes reactivos	55

RESUMEN

En la presente investigación se comprueba la asignación estructural de la grandiflórída **(3)**, aislada de la *Montanoa grandiflora*, (familia Compositae) mediante su síntesis biomimética partiendo de la 6-*epi*-desacetil-laurenobiólida **(1)** aislada de la misma especie. Estudios previos realizados sobre la especie *Montanoa grandiflora* permitieron aislar e identificar los componentes mayoritarios de tipo terpenoide y entre los más abundantes las lactonas sesquiterpénicas identificadas como la 6-*epi*-desacetil-laurenobiólida **(1)** y la 6-*epi*-speciformina **(2)**. El compuesto **(1)** aislado del extracto hexánico de *Montanoa grandiflora* se epoxidó a temperatura ambiente con ácido *m*-cloroperbezoico obteniéndose la 6-*epi*-especiformina **(2)** en un 88.6 % de rendimiento, compuesto que fue tomado como intermediario para las siguientes transformaciones biomiméticas.

Para la apertura del epóxido **(2)** se utilizó tonsil, una arcilla de tipo bentonítica descrita como catalizador ácido de Lewis o de Brönsted-Löwry comparando los resultados con el uso de ácido *p*-toluensulfónico y tetraciano etileno ambos ácidos de Lewis convencionales.

Las condiciones para el uso del tonsil fueron establecidas en una proporción 1:20 (p/p) de compuesto-arcilla, en diclorometano y en un tiempo de reacción de una hora a temperatura ambiente. Se obtuvieron principalmente productos de ciclización similares a los descritos en la literatura para otras 4,5-epoxigermacranólidas. Estos productos corresponden a la estabilización del carbocatión generado sobre C-10.

En el caso del ácido *p*-toluensulfónico las condiciones de reacción se establecieron en un tiempo de 25 horas a temperatura ambiente utilizando cantidades catalíticas del ácido (26:1 compuesto-catalizador) y como disolvente diclorometano-acetona (9:1). Esto permitió además de la formación del guayano **(5)**, la obtención de los acetónidos **(9)** y **(10)** siendo este último el correspondiente a la grandiflórída **(3)**.

El tetracianoetileno ha sido reportado como catalizador en la apertura de epóxidos y promotor de ciclizaciones. En este caso se establecieron como condiciones óptimas de reacción un tiempo de 120 horas a temperatura ambiente, como medio de reacción una mezcla de metanol-acetona (9:1) y una relación 1:0.5 molar compuesto-catalizador. En estas condiciones los compuestos mayoritarios fueron el guayano **(5)**, el acetónido **(9)** y un 45% del compuesto **(2)** recuperado.

ABSTRACT

This work describes the confirmation of the structure of grandifloride (**3**) isolated from *Montanoa grandiflora* (Compositae family) by the biomimetic conversion of 6-*epi*-desacetyl-laurenobiolide (**1**) isolated from the same species.

Previous studies of *Montanoa grandiflora* allowed the isolation and identification of 6-*epi*-desacetyl-laurenobiolide (**1**) and 6-*epi*-speciformine (**2**), both sesquiterpene lactones were isolated from the dichloromethane extract. Epoxidation of compound (**1**) with *m*-chloroperbenzoic acid gave 88.6 % yield, of compound (**2**) which was used for the biomimetic conversions.

The opening of the 4, 5-epoxide in compound (**2**) was carried out with tonsil, a bentonitic clay which has been used as Lewis or Brønsted-Löwry acid-catalist and the results compared with those obtained using *p*-toluensulfonic acid and tetracyanoethylene both conventional Lewis acids.

In case of tonsil a proportion 1:20 p/p (compound-clay) in one hour at room temperature in dichloromethane gave the mixture of sesquiterpene lactons of the guaianolide type as described in the literature for the opening of 4,5-epoxygermacranolides followed of transannular ciclization and carbocationic stabilization.

As for *p*-toluensulfonic acid catalytic amounts, (26:1) compound-acid, were used for 25 hours at room temperature in a mixture of dichloromethane/acetone (9:1) to give the guaianolide (**5**), and the acetonides (**9**) and (**10**).

The tetracyanoethylene has been reported as a mild catalyst for epoxide opening and cyclizations. In this case 1:0.5 mol equiv of compound (**2**): tetracyanoethylene was used for 120 hours in a mixture of methanol/acetone (9:1) at room temperature, affording as major products the guaianolide (**5**) and acetonide (**9**). The 45% compound (**2**) was recuperated.

1. INTRODUCCION

La importancia de la relación entre el hombre y su entorno natural ha quedado establecida sin lugar a duda desde el inicio de las civilizaciones, por lo que el estudio para la comprensión y mejor aprovechamiento del mismo ha sido prioritario tanto en tiempos pasados como hoy en día. En el caso específico de los llamados productos naturales, la investigación se ha centrado en una búsqueda sistemática de sustancias químicas en forma pura, bruta o como extractos que tengan potencial o real aplicación en la industria farmoquímica, alimenticia o en el sector agropecuario. Actualmente la literatura cita una apreciable cantidad de compuestos utilizados en las áreas ya mencionadas (Tabla 1).

Tabla 1.- Productos naturales obtenidos de plantas y sus usos industriales

Producto	Especie vegetal	Uso industrial
Codeína	<i>Papaver somniferum</i>	Analgésico
Diosgenina	<i>Dioscorea deltoidea</i>	Anticonceptivo
Quinina	<i>Chinchona ledgeriana</i>	Antimalárico
Digoxina	<i>Digitalis lanata</i>	Saborizante
Escopolamina	<i>Datura stramonium</i>	Cardiotónico
Vincristina	<i>Catharantus roseus</i>	Antihipertensivo
Piretrinas	<i>Chrysantemun cinerariaefolium</i> <i>Pyrethrum sp</i>	Antileucémico
Taumatina	<i>Thaumatococcus danielli</i>	Insecticida
Jasmina	<i>Jasminum sp</i>	Edulcorante
Shikonina	<i>Lithospernum erythrorhyzon</i>	Perfume
Teobromina	<i>Theobroma cacao</i>	Colorante
Reserpina	<i>Ranwolfia serpentina</i>	Saborizante
Vainillina	<i>Vainilla planifolia</i>	Antihipertensivo
Menta	<i>Mentha piperita, M viridis</i>	Saborizante
Capsaicina	<i>Capsicum frutescens</i>	Saborizante
Esteviósido	<i>Stevia rebaudiana</i>	Edulcorante

Robert, M., Reyes J y Loyola V.M. 1991

En México se estima que la cantidad de plantas existentes es aproximadamente alrededor de 23,000 especies,³ de ellas solo una pequeña parte se usa en la medicina tradicional, otras en la elaboración de saborizantes, colorantes y aromatizantes a escala comercial. Los compuestos que de algunas de ellas se obtienen, económicamente son irremplazables en la industria (aceites, resinas, gomas, ceras, surfactantes y otros).

La familia de las compuestas (Compositae) o asteráceas (Asteraceae) es una de las más grandes en el reino vegetal, ya que agrupa aproximadamente 20,000 especies, divididas en 13 grupos denominados tribus. Una de estas es la tribu HELIANTHEAE la cual se encuentra bien representada en América y es en la que se encuentra situado el género *Montanoa*. La distribución de los representantes de este género en el país se extiende por los estados de Hidalgo, México, Oaxaca, Puebla, San Luis Potosí, Tamaulipas, Veracruz, Sinaloa, Sonora, en su mayoría⁶.

Los estudios realizados en diferentes especies de este género han proporcionado una amplia variedad de sesquiterpenos (principalmente lactonas) y diterpenos (principalmente del tipo kaurano, *ent*-kaurano y estachano) entre los que destacan algunos compuestos con interesantes propiedades biológicas⁴.

El impresionante número de especies de esta familia contribuye significativamente a la diversidad ecológica; y por sus propiedades biológicas representan para el hombre un significativo interés económico como estructuras base para la industria farmacéutica. En el Instituto de Química de la UNAM, se viene realizando desde hace varios años el estudio sistemático del género *Montanoa*, estudio que se inició con la búsqueda de lactonas sesquiterpénicas, características de esta familia, y motivado por la conocida y probada actividad útero-evacuante de algunas especies del género conocidas popularmente como “zoapatle”⁴.

El estudio de las sustancias del metabolismo secundario de las plantas, es decir de los compuestos biosintetizados pero que no son usados para formar nuevas células, los llamados metabolitos secundarios (Sachs, 1873)^{4a}, ha sido sustancial para la comprensión del complejo mundo que las plantas representan, valiéndonos del uso de la tecnología desarrollada y perfeccionada con el paso del tiempo como herramienta principal.

Con el propósito de entender como se forman, actúan y metabolizan estos compuestos dentro del sistema que los genera, se han trazado y propuesto rutas metabólicas que tratan de explicar la biogénesis para grupos determinados de los mismos, y se han implementado

estrategias que permiten corroborarlas experimentalmente, ya sea administrando precursores conocidos, o bien, por el marcaje y enriquecimiento radioactivo. Entre las técnicas relativamente novedosas para la comprobación del metabolismo secundario encontramos la aplicación de lo que se ha llamado biomimetización, que consiste en el uso de reacciones químicas partiendo de un compuesto del mismo organismo identificado previamente, del cual se sospecha sea precursor de un producto deseado, buscando imitar o *mimetizar* el proceso natural.

El continuo trabajo sobre este tipo de estudios además de aumentar y complementar el acervo científico ha arrojado nuevas posibilidades de aprovechamiento que permiten cubrir las exigencias que nuestro tiempo reclama, tal es el caso de los llamados “natural product mimic” o “NM”, compuestos elaborados a través de síntesis que poseen estructuras similares a los productos naturales pero que pueden facilitar su producción a escala industrial.

2. Antecedentes

2.1 Familia COMPOSITAE o ASTERACEAE

-Compuestas-

La familia de las Compuestas (Asteraceae), es una de las más numerosas familias de angiospermas. Reúne a más de 20,000 especies siendo la mayoría de sus miembros arbustos o plantas herbáceas rizomatosas perennes o anuales.¹

Su nombre deriva de la disposición de las flores en cabezuelas o capítulos compactos (flores compuestas), cada uno de los cuales semeja a su vez una única flor. En más de la mitad de las especies, las flores del borde del capítulo, llamadas lígulas, semejan pétalos y hacen la flor (cabezuela) más visible para los polinizadores. Las flores en el interior del capítulo se llaman flósculos, ambos tipos de flores se agrupan en una base o receptáculo envuelto y protegido por una serie de formaciones llamadas brácteas que en conjunto se denominan involucre. Las flores pueden ser unisexuales, hermafroditas o estériles.²

Esta familia se encuentra distribuida por todo el mundo, con excepción de la Antártida, donde las únicas plantas con flor conocidas son dos especies de gramíneas. Las compuestas se adaptan especialmente bien en las zonas semiáridas de las regiones tropicales y subtropicales, así como en el territorio ártico, la tundra alpina y las zonas templadas; sólo están poco representadas en la pluviselva tropical. En México en cuanto a la composición de la flora arvense (malezas o “malas hierbas”) y ruderal (cultivada por el hombre), las gramíneas y las compuestas dominan ampliamente el espectro, inclusive en zonas de clima caliente y húmedo en donde la participación de miembros de estas dos familias en la vegetación predominante pueden o no estar presente al mismo tiempo. Con respecto a los mecanismos de dispersión se encuentra que más del 65% de la flora arvense del valle de México presenta adaptaciones para la diseminación por el viento.³

La familia de las compuestas agrupa cerca del 10 % de todas las plantas con flor, teniendo una gran importancia económica (agrícola-ornamental) y farmacológica.⁴ La lechuga (*Lactuca sativa*) es la principal especie cultivada; son también importantes la alcachofa (*Cynara scolymus*), la endivia (*Cichorium edivia*), el salsifí (*Tragopogon porrifolius*), la

achicoria (*Cichorium intybus*) y el estragón (*Artemisia dracuncululus*). El girasol (*Helianthus annuus*) y el cártamo (*Carthamus tinctorius*) son importantes productoras de aceites vegetales, y ciertas especies, como el guayule (*Parthenium argentatum*), se han estudiado como fuente potencial de caucho. Entre las malas hierbas o malezas de esta familia se encuentran el diente de león (*Taraxacum officinale*), el cardo (*Cirsium eriophorum*), el cardillo (*Xanthium strumarium*) y la ambrosía (*Ambrosia artemisiifolia*); por el lado ornamental tenemos géneros importantes como *Tagetes*, *Dalia*, *Zinnia*, *Cosmos*, *Chrysanthemum*, *Tanacetum* y *Aster*.

2.2 *Montanoa* Cerv. (ASTERACEAE, HELIANTHEAE)

Montanoa Cerv. Llave & Lex., es uno de los géneros más atractivos de la familia Asteraceae; mayoritariamente los miembros de este género son arbustos pero unos pocos son realmente arborescentes los cuales, debido al aspecto de margaritas de sus flores blancas y amarillas son conocidos como “Daisy trees”. El género está bien definido ocupando una posición aislada en la tribu Heliantheae. El género *Montanoa* fue descrito por primera vez por Kunth en la obra de Humboldt, Bonpland y Kunth (H.B.K.)⁶ en 1820 como *Eriocoma* con una especie única: *E. floribunda*; dicho nombre resultó ser homónimo del usado por Nuttall anteriormente en 1818 para un género de la familia *Poaceae* por lo que fue inválido. La primera descripción válida del género *Montanoa* fue hecha por Cervantes en el tratamiento de La Llave y Lexarza en 1825,⁷ siendo nombrado el género en honor del Dr. Luís Montaña, físico y naturista del estado de Puebla, México.

Blake⁹ basándose en la revisión de Robinson y Greenman⁸ para su tratado sobre el género *Montanoa* enlista 31 especies solo para México. En este tratamiento el género *Montanoa* es dividido en dos subgéneros (*Montanoa* y *Acanthocarphae*) y el subgénero *Montanoa* en dos secciones; *Montanoa* y *Echinocephaleae*. En estas tres grandes divisiones, ocho series son reconocidas.

Los taxa son mayoritariamente arbustos leñosos, su tamaño va desde el de un arbusto pequeño (cuatro especies) hasta árboles de 20 metros (cinco especies). Los factores que determinan estas variaciones dentro de la especie son la altitud y el agua. En general a menor

altitud la disponibilidad del agua es mayor que en las zonas más elevadas donde las especies se presentan en forma de pequeños arbustos usando el agua disponible de manera más racionada. Diferentes estudios han determinado que su habitat se limita a ambientes muy húmedos por la ineficiencia que presentan los tejidos conductores de agua.

Una de las grandes dificultades para delimitar las especies en el género *Montanoa* es la extensa variación morfológica que presenta. En el pasado la morfología de las hojas era usada frecuentemente en la delimitación de las especies. En el caso de este género las variaciones en las hojas pueden ser grandes incluso en el mismo individuo, por ejemplo en su forma que puede ir de triangular a pentagonal, con bordes uniformes o dentado irregular, sin lóbulos o de 3 a 5 lóbulos o “alas” (Fig. 1)

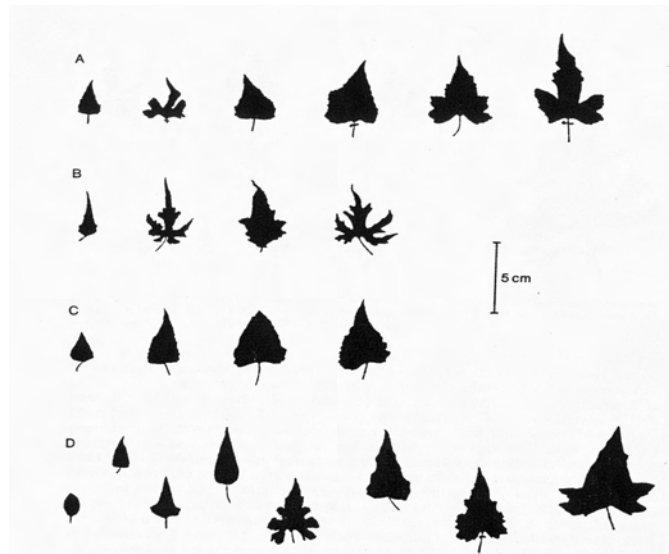


Fig. 1. Variación en la forma de la hoja de *Montanoa tomentosa* sub. *tomentosa*

Los tallos pueden ser redondos o tetragonales, herbáceos con partes verdes a moradas o cafés. Su distribución abarca desde Sonora en México hasta Perú, existiendo un gran número de especies en el sur de México y en Guatemala, usualmente las localizamos de manera abundante en zonas que van de los 1000 a 2000 m.

2.2.1 *Montanoa grandiflora* Alamán ex A.P. de Candolle (“Montagnaea”, de Candolle / *Eriocoma grandiflora*, Alamán)

La especie *Montanoa grandiflora* es un arbusto de 1-4 metros de alto con tallos redondos que van del gris al café. Sus hojas con pecíolos de 2.5-12.5cm algunas veces con aurículas y ocasionalmente connatas-perfoliadas, con forma que va de ovado-lanceoladas a pentagonales de 5-23cm de largo con un borde uniforme o dentado irregular y en algunas ocasiones presentando de 3 a 5 lóbulos. Superficie adaxial con moderada pubescencia, superficie abaxial poco poblada de pubescencia hasta 1.0 mm de largo.

Presenta pedúnculos de 1- 4.5cm de largo, con un diámetro de flor de 1.5 – 2 cm y 3-4 cm de diámetro del fruto. (Fig 2)

Las flores radiales poseen, corolas blancas liguladas aovado-lanceoladas, flores del disco 65-95, con corolas amarillas, tubulares 1-1.5mm de alto y 0.5-1.0mm de diámetro. Su fruto es un aquenio de color café oscuro de 4 mm de largo y 2 mm de ancho y de textura suave.

Su número cromosómico es de 19.

El periodo de floración es de Octubre-Noviembre revistiéndose de cabezuelas blancas con centros amarillos, similares a las margaritas (Fig. 3). Durante la floración emana un fuerte olor característico semejante al chocolate, su periodo de fruto esta comprendido de Diciembre a Enero. (Fig 3a)

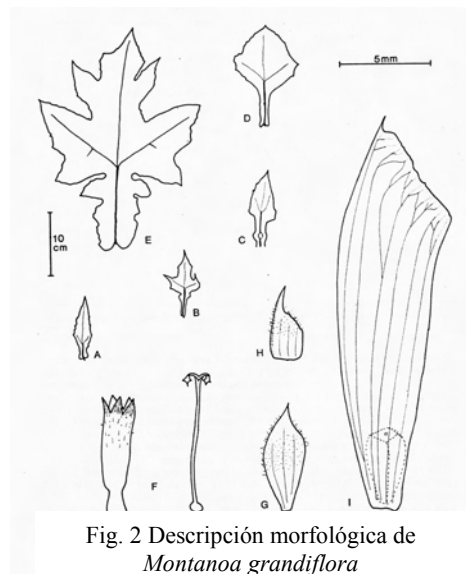


Fig. 2 Descripción morfológica de *Montanoa grandiflora*



Fig 3:
Floración de *Montanoa grandiflora*



Fig 3a:
Fruto de *Montanoa grandiflora*

En forma silvestre se distribuye a lo largo de la Sierra Madre del Sur en Michoacán, Guanajuato y México, en bosques fríos de pinos cercanos a las montañas bajas y en bosques de pino y roble creciendo a lo largo de algunas carreteras (750- 2500 m, de manera más común alrededor de los 2000 m) (Fig. 4). A la orilla de la carretera en el área de Morelia y los límites del estado de México crece en forma abundante pero dispersa. Las plantas de esta especie que se encuentran en lugares secos son de hojas más grandes y un “ala” en la base del pecíolo, debido a sus características y por su distribución la *Montanoa grandiflora* es frecuentemente confundida con la *Montanoa speciosa*.⁶

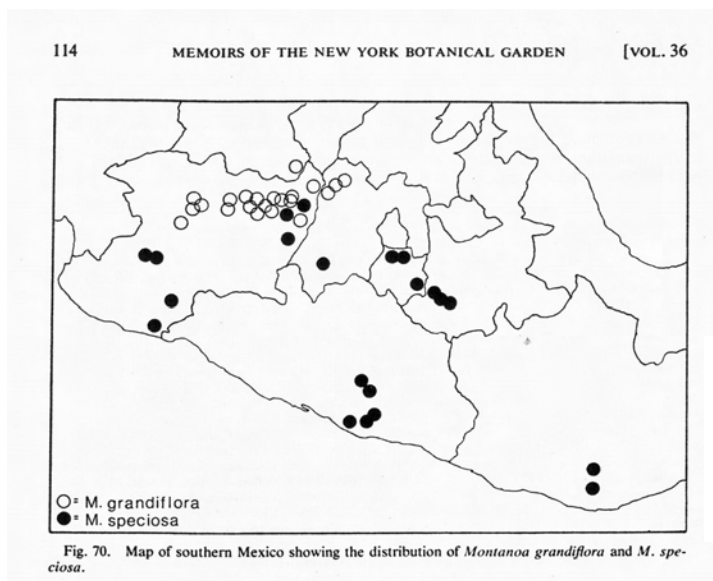


Fig 4: Distribución geográfica de *Montanoa grandiflora* en México

De los estudios realizados en este género se han obtenido una variedad de compuestos de entre los que destacan los terpenos, en forma más específica las lactonas sesquiterpénicas, reportándose en algunos casos cantidades mayores al 2 % en el material seco (hojas) mayoritariamente como γ -lactonas - α , β -insaturadas.⁴

2.3 Biosíntesis de las lactonas sesquiterpénicas

La teoría biogenética de los terpenos, propuesta en un principio por Ruzicka¹¹ y después por Hendrickson¹² ha sido ahora bien establecida. El incremento en el número de datos experimentales de manera posterior permitió aceptar la idea de que la biosíntesis de los sesquiterpenos procede de la ruta del mevalonato. Un hecho interesante en la biosíntesis de terpenoides es el involucrar en sus etapas iniciales procesos reductivos mientras que las

subsecuentes modificaciones biológicas son representadas principalmente por reacciones de oxidación.

Algunos estudios de los cuales han sido aislados hidroperóxidos de lactonas sesquiterpénicas^{13, 14} sugieren que los hidroperóxidos pueden ser los intermediarios en la síntesis biológica de varios esqueletos de terpenos hidroxilados que generalmente involucran oxidaciones alílicas; además el aislamiento de muchos epóxidos de lactonas sesquiterpénicas indica la participación del grupo epoxi en secuencias biosintéticas, particularmente en reacciones de ciclización. Basados en estas suposiciones biogénicas es aceptado el hecho de que las lactonas sesquiterpénicas son derivados del pirofosfato de farnesilo o nerodililo.³⁰

La Figura 5 esquematiza la biogénesis de los cationes I, II, III y IV, a partir de los cuales se origina la mayoría de sesquiterpenos. La lactonización del precursor sesquiterpenoide parece producirse por un mecanismo de oxidación de un grupo metilo hasta carboxilo y la oxidación del carbono C-6 o C-8 y finalmente la esterificación entre los grupos carboxilo e hidroxilo formados.

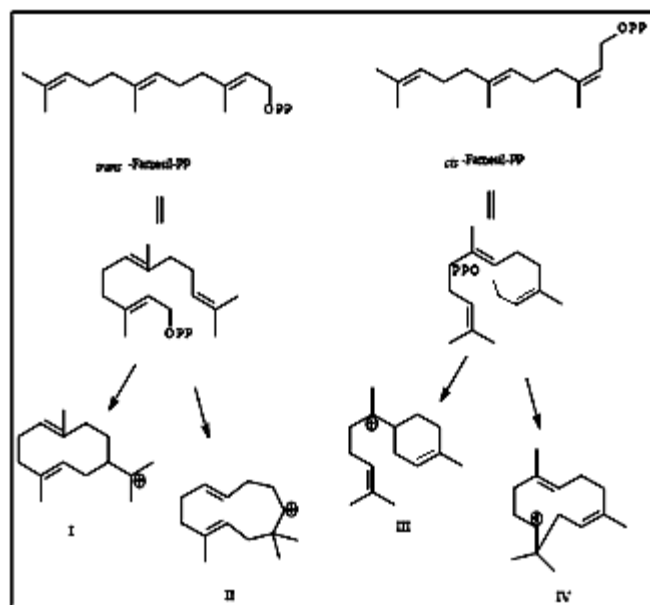


Figura 5. Biogénesis de los cuatro cationes precursoros de sesquiterpenos

De esta manera la ciclación del pirofosfato de *trans*-*trans*-farnesilo (A), resulta en el intermediario *trans*-*trans* germacradieno (B) el cual por modificaciones oxidativas

enzimáticas proporciona el miembro más simple representativo de las germacranólidas, la costunólida (6) (Fig. 6).

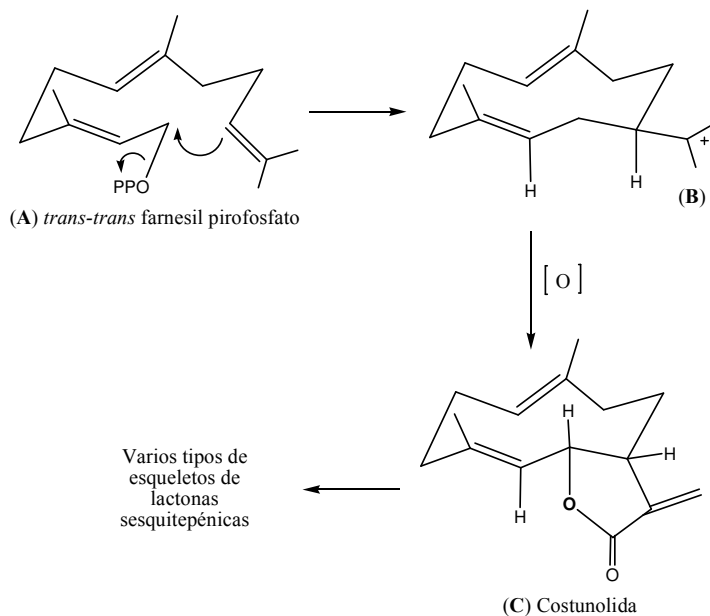


Fig. 6: Biogénesis del esqueleto de Germacranólida

2.4 Tonsil Actisil FF (TAFF).^{16,17}

El tonsil es un material del tipo bentonítico (Tierras de Fuller), cuyas propiedades están gobernadas predominantemente por las esmectitas montmorilloníticas (particularmente la de absorber agua formando una masa voluminosa y gelatinosa). Además de la montmorillonita se encuentra constituido por una mezcla de cristobalita, cuarzo, feldspatos y cantidades mínimas de diversos óxidos metálicos (Fe_2O_3 , Al_2O_3 , MgO , CaO). Posee un $V_p=32.04 \times 10^{-2} \text{ cm}^3/\text{g}$ (volumen de poro) y $D_p = 77.81 \text{ \AA}$ (diámetro de poro), esto nos indica que el TAFF es un material con poros grandes en comparación a otras montmorillonitas. La importancia de esto radica en que del tamaño promedio de poro de un catalizador suele depender la selectividad en una reacción, es decir, de esta manera se controla el diámetro o tamaño de las moléculas (reactivos o productos) que se pueden distribuir a través del catalizador.

Para optimizar el uso del TAFF se deben tomar en cuenta algunas consideraciones: Eliminar el agua adsorbida o intercalada calentando de 81 a 110 °C; y para no tener una deshidratación

estructural del catalizador se deben evitar reacciones cuyas temperaturas sean del orden de los 850 °C o mayores. La acidez total de la arcilla, así como las particulares de Lewis y Brönsted-Löwry, disminuyen conforme se incrementa la temperatura en el sistema.

Además de sus propiedades como ácido de Lewis y de Brönsted-Löwry ya mencionadas, un factor que hizo popular el uso de esta arcilla bentonítica es su fácil disposición y sus costos bajos comparados con los catalizadores comerciales convencionales. (Tabla 2)

Tabla 2. Precios de algunos ácidos de Lewis y soportes vs Tonsil Actisil FF

<i>Producto^a</i>	<i>Precio USD</i>
ZnCl ₂ (99.99%)	248.50 (50 g)
AlCl ₃ (99.99%)	216.0 (25 g)
TiCl ₂ (99.98%)	276.5 (5 g)
BF ₃ · Et ₂ O	171.0 (800 ml)
P ₂ O ₅	750.0 (50 g)
FeCl ₃ (99.99%)	233.0 (5 g)
TsCl (>99%)	27.10 (100g)
Ac. p-Toluensulfónico 98.5%	43.40 (500 g)
SOCl ₂	95.30 (1 L)
HClO ₄	220 (250 ml)
Al ₂ O ₃	62.60 (1000 g)
Tonsil Actisil FF ^b	0.95 (1000g)

a) Catalogo de productos químicos finos y equipo de laboratorio Aldrich 2007-2008

b) Tonsil Mexicana S.A. de C.V.

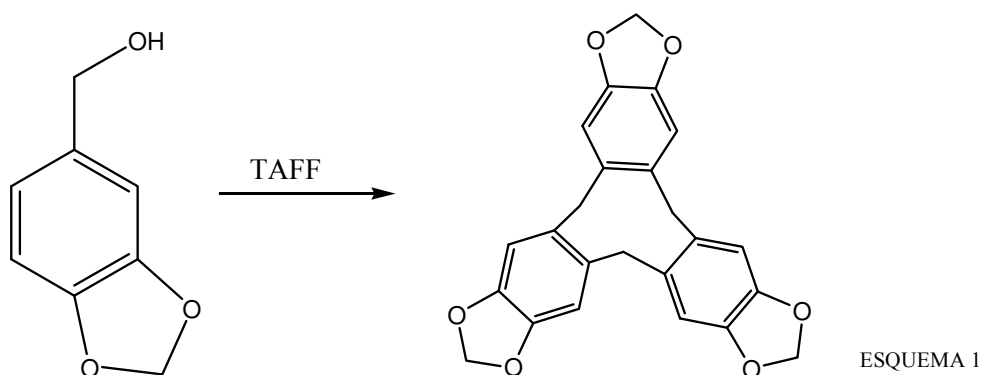
En México los grandes yacimientos para explotación industrial se localizan principalmente en los Estados de Tlaxcala, Durango y Puebla.

2.4.1 Usos del TONSIL ACTISIL FF (TAFF) en química.

A nivel industrial el Tonsil es usado como arcilla clarificante en aceites, vinos, sidras, etc. Tiene importancia en los procesos de purificación de aguas que contengan materiales orgánicos o aceites industriales, además se emplea como soporte de productos químicos como herbicidas, insecticidas, pesticidas, etc., ya que permite una distribución homogénea del producto tóxico. También es usado como lodo de perforación en los pozos petroleros.¹⁹

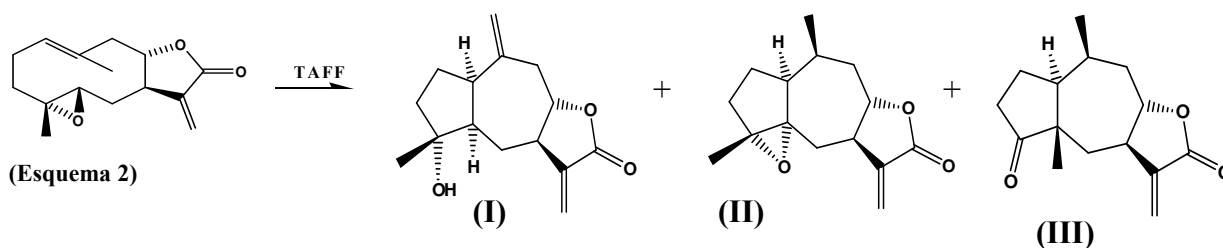
Las características de los aluminosilicatos no solo han sido de interés en el área industrial si no también en la investigación química desarrollando estos materiales en el campo catalítico debido a la alta actividad que presentan.

Este tipo de materiales presentan grandes ventajas sobre la catálisis convencional homogénea, ya que los productos de reacción se obtienen simplemente del lavado y filtrado del catalizador o como soporte de variados reactivos inorgánicos^{20, 22} en las transformaciones de algunos compuestos como el alcohol piperonílico a trimetilen-dioxi-ortociclofano²³ que se muestra en el (ESQUEMA 1)²⁶ además de la contribución a la llamada química verde al ser este tipo de materiales inocuos al ambiente.^{24,25}



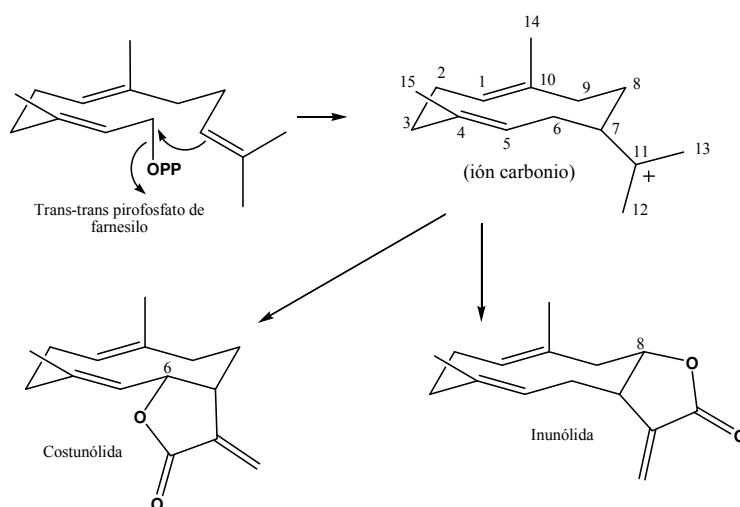
En el área de productos naturales se tienen antecedentes del uso del tonsil en la apertura de epóxidos en lactonas sesquiterpénicas las cuales presentan una dificultad particular y un rendimiento bajo debido a los rearrreglos del catión intermediario.²⁷

La primera ciclización de una 4-epoxi-germacranólida a una pseudoguayanólida fue reportada en el Primer Congreso Latinoamericano de Fitoquímica en la ciudad de México del 3-6 de Marzo de 1986. En la publicación de la investigación²⁸ sobresale el uso del tonsil como catalizador en la ciclización de la lactona aislada de *Stevia tephrophylla*, usando sus propiedades de ácido de Lewis (así como la aplicación de transformaciones biomiméticas para proponer una posible ruta biogénica). De la mezcla de reacción fueron identificadas tres guayanólidas como productos mayoritarios, la inuiscólida (**I**), 4 α ,5 α -epoxi-10 α ,14H-inuiscólida (**II**) y la pseudoguayanólida 8-epiconfertina (**III**) (Esquema 2).



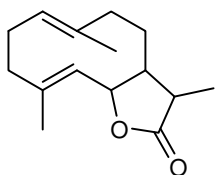
2.5 Transformaciones biomiméticas en Germacranólidas.

Las síntesis biomiméticas pueden entenderse como el uso de reacciones químicas que buscan imitar el proceso natural de un compuesto o de una ruta biogénica, partiendo de otro previamente identificado del cual se sospecha que es precursor del producto deseado y que además es producido por el mismo organismo en estudio. El objetivo de este tipo de trabajos es establecer posibles rutas biogénicas y mecanismos de reacción que expliquen la formación de compuestos de interés o bien establecer y/o corroborar sus características estructurales y comportamiento químico propuestos. La ruta biogénica aceptada para la formación de lactonas sesquiterpénicas²⁹ implica la ciclación del pirofosfato de *trans-trans* farnesilo, resultando el germacradieno mismo que por oxidaciones enzimáticas sobre C-12 y C-6 ó C-8 origina las correspondientes germacranólidas. (ESQUEMA 3)

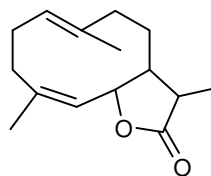


ESQUEMA 3.- Ruta de formación de lactonas sesquiterpénicas

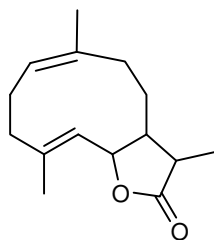
Las germacranólidas³⁰ son el primer tipo de lactonas formadas en el proceso biogénético; son sesquiterpenos cíclicos formados por un anillo de diez miembros (ciclodecadienos o ciclodecatrienos) y una lactona de cinco miembros (γ -lactona) cerrada sobre C-6 o C-8. Son compuestos altamente oxigenados con hidroxilos libres y/o esterificados con ácidos orgánicos de dos, cuatro o cinco átomos de carbono como los ácidos: acético, isobutírico, 2-metil butírico, tíglico o angélico, en diferentes posiciones. En ocasiones uno o ambos grupos metilos pueden encontrarse en diferentes estados de oxidación; o bien, uno o ambos dobles enlaces (C-4,5: C-1,10) del anillo pueden ser transformados a grupos epóxido. Tomando en cuenta la estereoquímica de las insaturaciones en los ciclodecadienos en las posiciones C-4, y C-1(C10), las germacranólidas pueden clasificarse en cuatro subgrupos:



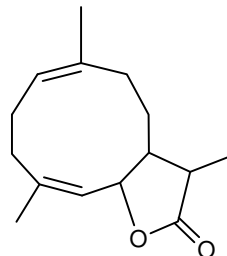
Germacrólidas: ambas ligaduras *trans*



Heliangólidas: C-1(C10) *trans* y C-4 *cis*



Melampólidas: C-1(C10) *cis* y C-4 *trans*

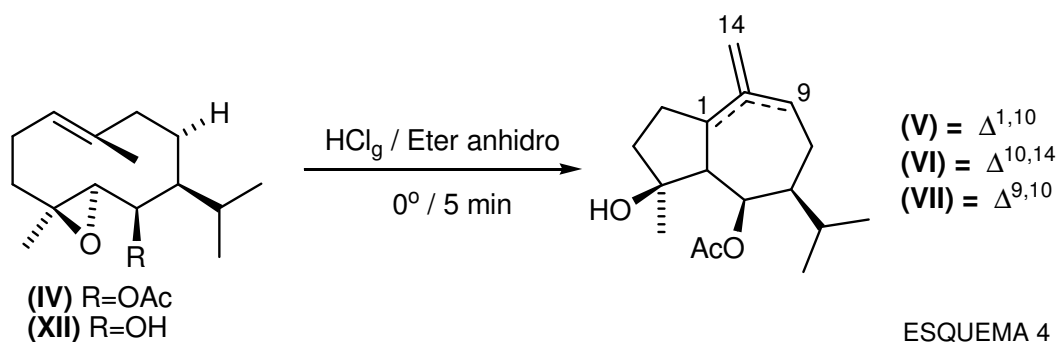


Cis-cis germacranólidas: ambas ligaduras *cis*

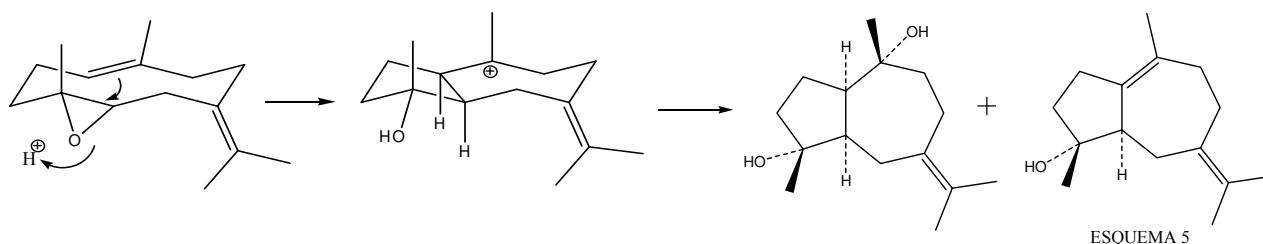
Se han reportado reacciones de ciclación de germacranólidas, o bien, de sus 4,5-epoxi-derivados catalizadas por diferentes ácidos de Lewis. La transformación del doble enlace (C-1,10 ó C-4,5) en una función epóxido aumenta la regioespecificidad de una reacción de ciclización.³⁰ A continuación se presentan algunos ejemplos descritos en la literatura de reacciones de ciclización en diferentes germacranólidas. Se ha demostrado que los derivados (4 α ,5 β)-epoxi-*trans*-germacr-1(10)-enos por ciclización ácida producen las (α -H) guayanólidas con fusión *cis*, en este caso la mayoría de los germacranos adoptan

preferentemente una conformación donde los grupos metilos 14 y 15 tienen una orientación β por encima del plano del ciclodecadieno.³⁰

Un estudio con *Sideritis varoi* subsp. *Cuatrecasasii*³¹ permitió aislar el (4 β , 5 α)-epoxi-*trans*-germacr-1(10)-eno (**IV**), el cual con el propósito de estudiar sus productos de ciclización se hizo reaccionar con de HCl en éter anhidro a 0° por 5 min, obteniendo como mezcla de reacción los productos de ciclización *trans*-anular (**V**), (**VI**), (**VII**). (ESQUEMA 4)

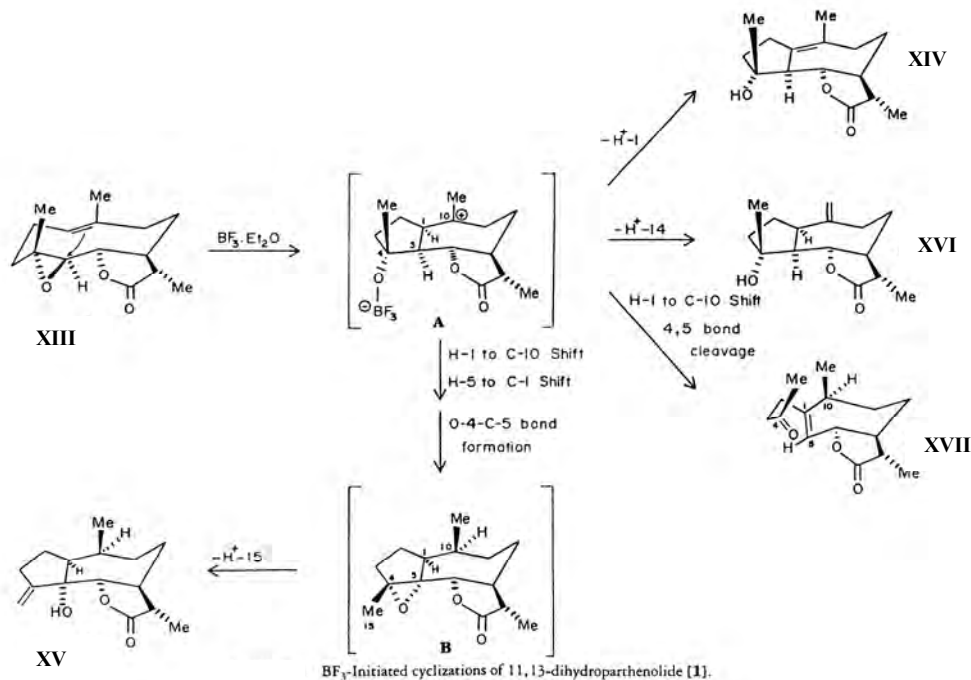


Los 1(10),4-germacradienos se consideran como precursores biogénicos de compuestos sesquiterpénicos del tipo eudesmano y guayano, donde la ciclización del *trans-trans*-germacradieno para formar un guayano, requiere un ataque del tipo anti-Markovnikoff sobre el sistema del doble enlace siendo esto posible con algunos derivados 1(10),4-ciclodecadienos³². El tratamiento ácido de los derivados 4 α ,5 β -epoxi-*trans*-1(10)-germacrenos originan *cis*-guayano de forma estereoselectiva, es importante señalar que la estereoquímica de este tipo de ciclizaciones coinciden con la estereoquímica encontrada en gran parte de las guayanólidas de origen natural (1 α -H, 5 α -H).^{32, 33} (ESQUEMA 5)



El tratamiento de la 11, 13-dihidropartenólida³⁴ (**XIII**) con BF₃·Et₂O como ácido de Lewis, demuestra lo estipulado respecto a la ciclización de las 4 α ,5 β -epoxi-*trans*-1(10)-

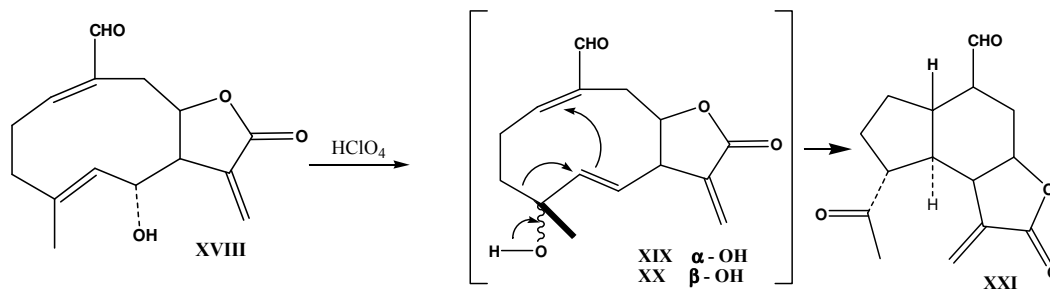
germacradienólidas ya que se obtiene como producto mayoritario la guayanólida **XIV**, y además dos lactonas novedosas también del tipo guayano (**XV**), (**XVI**) y la xantanólida (**XVII**). (ESQUEMA 6)



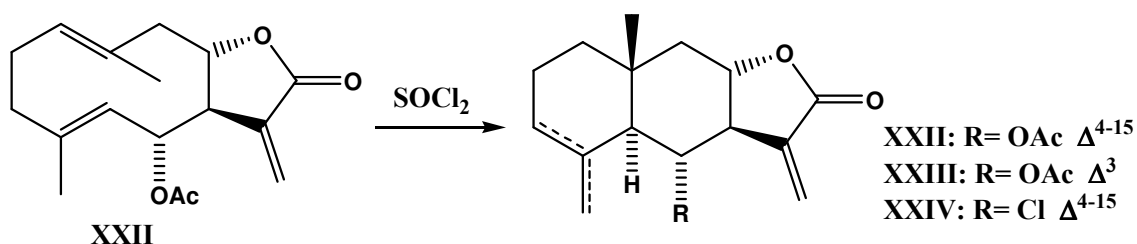
ESQUEMA 6

La cantidad de compuestos producto de reacción por la apertura del epóxido, seguida de una ciclización intramolecular, puede variar dependiendo el tipo de reactivo que se utilice para este fin (Tabla 2 -pag. 11).

La melampólida schkuhriólida (**XVIII**) o sus derivados acetilados al ser tratados con ácido perclórico produce los alcoholes epiméricos **XIX** y **XX**, y como resultado del arreglo secuencial de éstos, el oplopanoide (**XXI**).³⁵



De las raíces de la especie *Laurus nobilis* L. que crece en Japón fue aislada e identificada como componente mayoritario la lactona sesquiterpénica del tipo germacrano llamada laurenobiólida (**XXII**)³⁶, misma que fue ciclada usando SOCl_2 como ácido de Lewis dando como productos de reacción la mezcla de **XXIII**, **XXIV** y **XXV**, productos que mostraron una tendencia a deteriorarse fácilmente.



2.5 Antecedentes de 6-*epi*-desacetil laurenobiólida (1)

Existen cuatro posibles isómeros conformacionales para los anillos de diez miembros al estar en solución (Fig. 7). Los datos obtenidos en un estudio de RMN ^1H (100 MHz) mostraron que en solución la laurenobiólida **XXII** se encuentra en una mezcla en proporción 8:2 de los conformeros A y B (Fig 8) a baja temperatura. Sin embargo, ensayos realizados a 220 MHz sugieren la existencia de más de dos conformeros.^{28,29} El extracto de éter de las hojas de diferentes lotes de *L. nobilis* L. fue también investigado, siendo en todos el componente mayoritario la 6-*epi*-desacetil-laurenobiólida (**1**), material de partida para las transformaciones biomiméticas en este trabajo.

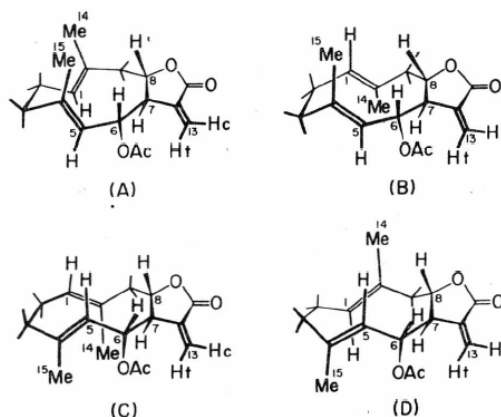


Fig. 7 : Cuatro posibles conformaciones de laurenobiólida (1)

La 6-*epi*-desacetil-laurenobiólida **1**, también encontrada en la especie *Santolina rosmarinifolia* subsp. *Canescens*,³⁹ fue aislada e identificada como componente mayoritario en la hoja de la especie *Montanoa grandiflora*, su estructura fue establecida con base en sus datos espectroscópicos de RMN y confirmada por difracción de rayos X (FIG. 8)⁴⁰ con lo que

se logró determinar que la geometría de los dobles enlaces C-4 y C-10 es *E* y que la conformación en fase sólida es la que se muestra en la figura 8.

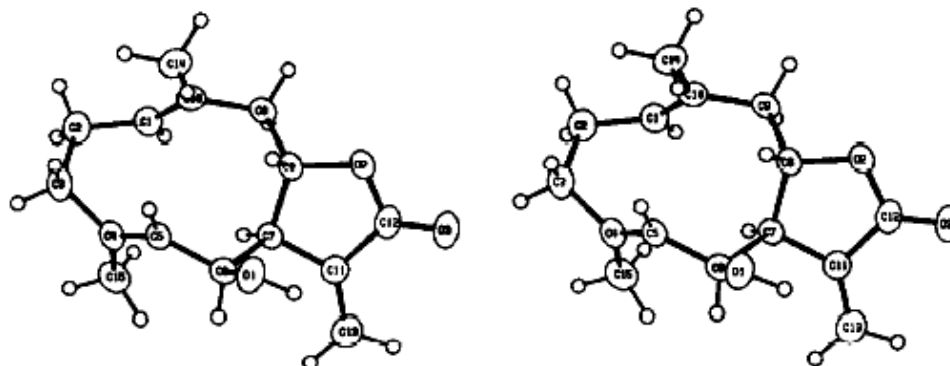


Fig. 8: Estereopar de la 6-*epi*-desacetil-lauranobiólida

Con base en todo esto podemos mencionar algunas semejanzas entre las 1(10),4-germacradienólidas.⁴¹

Los espectros de RMN ¹H de este tipo de compuestos muestran que una de las señales de los grupos metilo olefinicos, estará protegida por los electrones transanulares π del otro doble enlace.

La conformación de estos compuestos en solución se ha estudiado por la aplicación del efecto nuclear Overhauser, dando generalmente una relación *syn* en los grupos metilo sobre C-4 y C-10.

La ciclización catalizada por ácidos en los óxidos de este tipo de compuestos promueve la formación de compuestos bicíclicos del tipo eudesmano o guayano, indicando con esto la posible biogénesis de estos últimos.

El rearrreglo de Cope en este tipo de compuestos forma sesquiterpenos del tipo elemanólidas.

3. HIPÓTESIS.

La apertura tipo Markovnikoff en medio ácido del grupo epoxi en la 6-*epi*-speciformina (2) conduce a la formación del alcohol alílico correspondiente a la grandiflórida (3).

4. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

Los estudios realizados en diferentes especies del género *Montanoa* perteneciente a la tribu Heliantheae han proporcionado una amplia variedad de sesquiterpenos y diterpenos encontrándose en ambos tipos, compuestos con interesantes propiedades biológicas.

En el área de la catálisis, se detecta un amplio interés por el desarrollo de nuevos catalizadores, tanto para la solución de problemas ambientales, como para su empleo en la síntesis orgánica (aspectos que en ocasiones suelen yuxtaponerse), razón por la cual se ha puesto la vista en las arcillas como catalizadores. Entre las principales ventajas que promueven la investigación sobre las arcillas destacan, que la mayoría de los procesos efectuados bajo estas condiciones son: rápidos, limpios, proceden con buenos rendimientos de reacción, requieren de condiciones suaves y la separación de los componentes de la mezcla de reacción puede limitarse a una simple filtración.²⁵

Para poder comprender algunos procesos naturales se han establecido diversas técnicas que faciliten dicha labor que van desde la utilización de inhibidores químicos o compuestos etiquetados radioactivamente,⁴² enzimas de microorganismos⁴³ o en su defecto los mismos organismos;³⁵ la biomimetización se une a esta amplia lista haciendo uso para su aplicación de reacciones sintéticas conocidas imitando el proceso natural de los organismos.^{45. 46} El dominio de este tipo de conocimientos nos permitiría lograr una producción metabólica controlada en nuestro beneficio.

Basándonos en estudios previos realizados sobre la especie *Montanoa grandiflora* perteneciente a la familia de las compuestas, se aislaron mediante técnicas cromatográficas

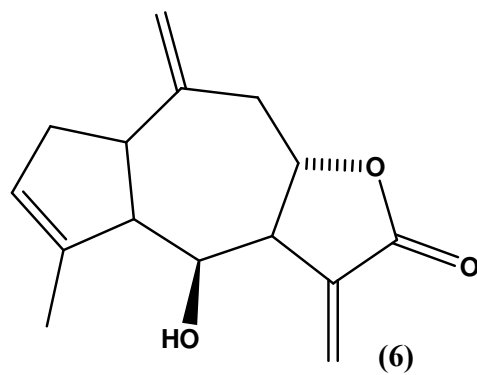
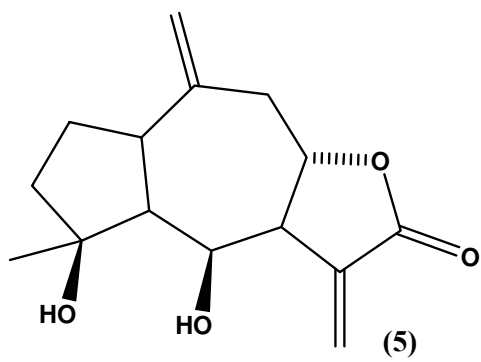
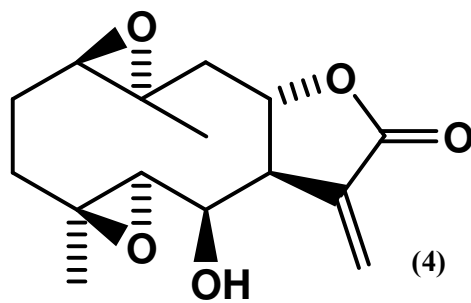
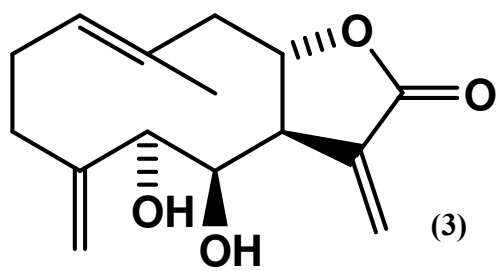
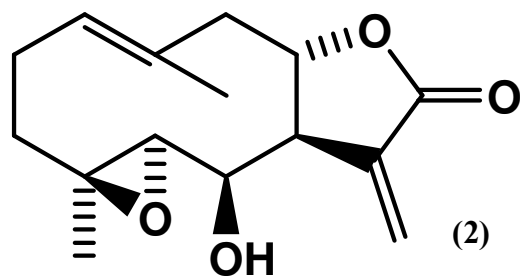
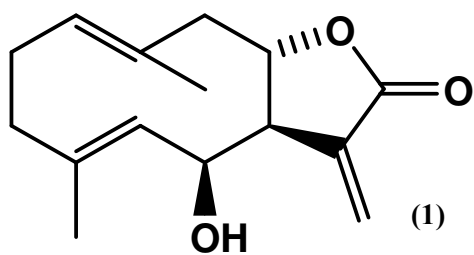
tradicional los componentes mayoritarios de la misma, que ya han sido caracterizados como compuestos de tipo terpenoide, siendo los más abundantes la 6-*epi*-desacetil-laurenobiólida (**1**) y la 6-*epi*-speciformina (**2**) ambas lactonas del tipo sesquiterpénico.^{47, 48}

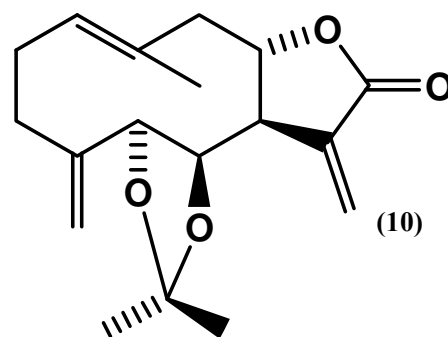
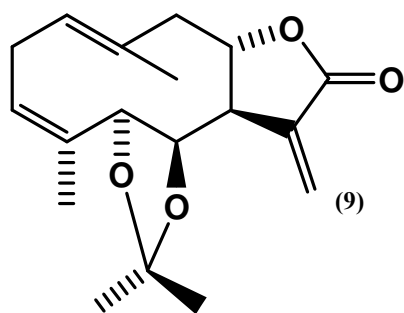
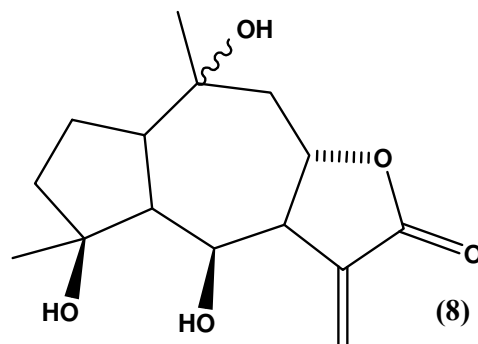
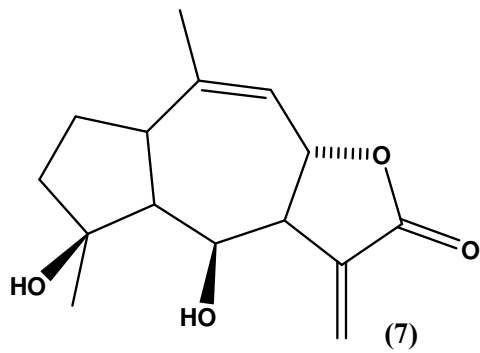
En la mimesis de algunas rutas metabólicas de productos naturales ha sido frecuente el uso de ciclaciones con el propósito de obtener los correspondientes derivados del compuesto en cuestión, usando para ello diferentes ácidos de Lewis.

En base a lo anterior se busca:

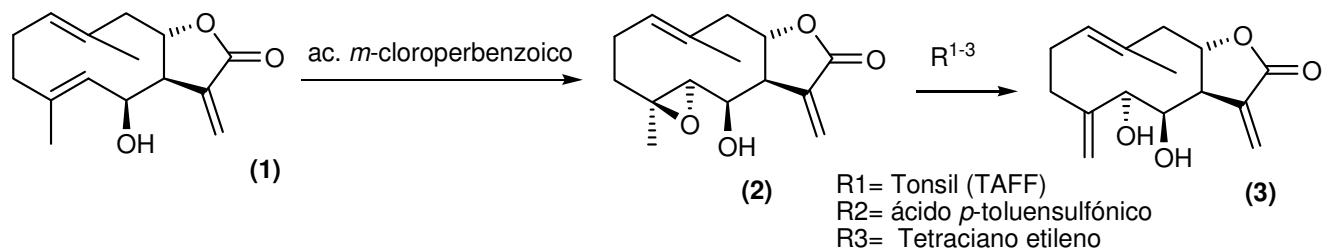
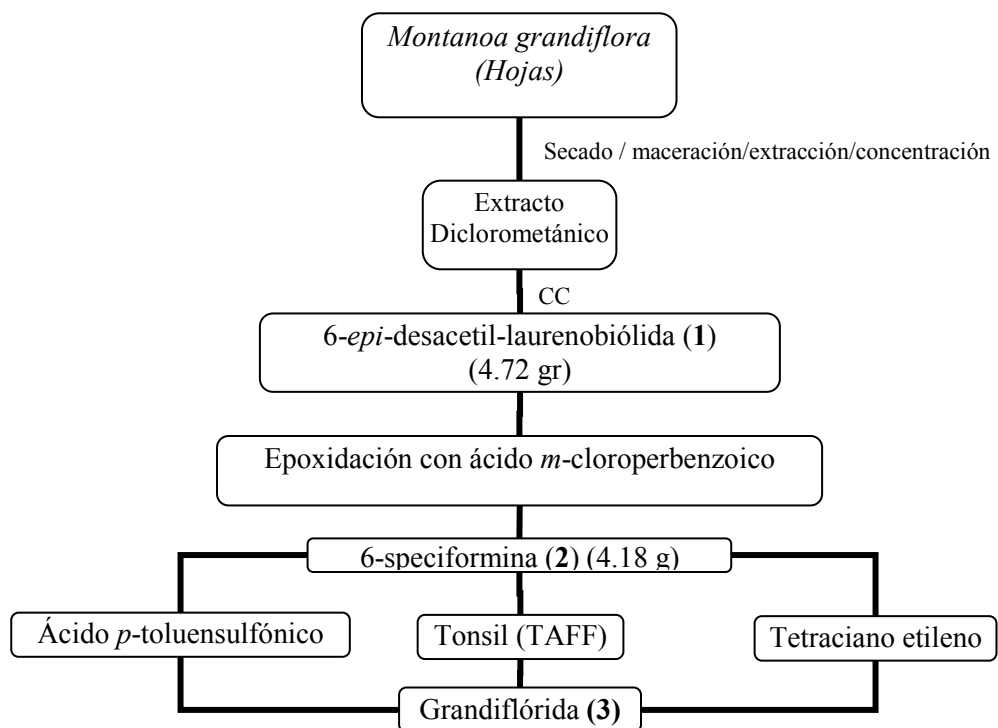
1. Obtener la lactona grandiflórida (**3**) transformando químicamente un compuesto (Compuesto (**1**)) aislado de la misma especie, el cual suponemos precursor de la misma buscando de esta forma imitar el proceso natural del organismo.
2. Confirmar la estructura del compuesto (**3**), ya que en un estudio anterior,³⁹ la grandiflórida (**3**) fue obtenida en pequeñas cantidades logrando solo una propuesta estructural y no su caracterización definitiva.
3. En las transformaciones químicas del compuesto (**1**) se describe el uso de algunos ácidos de Lewis convencionales observando las diferencias de comportamiento en su aplicación. Para el mismo efecto se usa como reactivo alternativo el tonsil, arcilla de tipo bentonítica utilizada desde hace años como catalizador ácido de Lewis o de Brønsted-Lôwry, descrita además como promotor regioselectivo y estereoespecífico en la apertura de epóxidos. Se comparan los resultados obtenidos con los diferentes reactivos empleados.
4. Caracterizar los diferentes derivados que cada una de estas transformaciones pueda generar, mediante las técnicas cromatográficas y espectroscópicas convencionales (CC, CCFP, RMN ¹H, ¹³C, IR, EM).

5. Estructuras.





ESQUEMA 7. Desarrollo experimental general



6. Parte Experimental.

Los puntos de fusión fueron determinados en un aparato de Fisher-Johns y no están corregidos. Los espectros en el IR fueron determinados en un espectrofotómetro FTIR Bruker Tensor 27-F en CHCl_3 . Los espectros de RMN fueron obtenidos en espectrofotómetros analíticos Varian Inova de 500, Bruker-Avance de 400, Bruker-Avance de 300, Eclipse 300 Jeol de 300, y Varian Unity – 300 en solución de cloroformo deuterado (CDCl_3) y acetona deuterada (acetona- d_6). Los desplazamientos químicos (δ) están dados en ppm referidos al tetrametilsilano y acetona- d_6 como referencia interna. Los espectros de masas se determinaron en un espectrofotómetro Jeol JMS-AX505HA por impacto electrónico. Los experimentos de rotación óptica fueron realizados en un polarímetro Perkin-Elmer 343. Las columnas cromatográficas se efectuaron en gel de sílice G Merck para capa fina y las cromatografías en capa fina se realizaron en cromatoplasmas de gel de sílice 60 F₂₅₄ Merck con indicador de fluorescencia, de 0.25, 0.6, 1 y 2 mm de espesor utilizado como revelador luz ultravioleta de una lámpara Spectroline modelo CX-20 y/o una solución de sulfato cérico al 1% de ácido sulfúrico 2N.

La 6-*epi*-desacetil-laurenobiólida (**1**) fue aislada y purificada haciendo uso de cromatografía en columna y cromatografía en placa preparativa, a partir de extractos obtenidos anteriormente de varios lotes de la especie *Montanoa grandiflora* recolectada en la Delegación Tlalpán, en la Ciudad de México. Como resultado de la purificación, fueron obtenidos alrededor de 5 gr. del compuesto (**1**) con un punto de fusión de 117-118°, soluble en diclorometano, $[\alpha]_D^{25} = +48.4$ (C = 11, CHCl_3), encontrando como el mejor sistema de elusión para el aislamiento por ccf, la mezcla de diclorometano (DCM) / acetato de etilo (AE) en una proporción 7:3.

6.1 Epoxidación de la 6-*epi*-desacetil-laurenobiólida (**1**)

La epoxidación de la 6-*epi*-desacetil-laurenobiólida (**1**) se llevó a cabo usando ácido *m*-cloro perbenzónico al 85 % de pureza de la casa Aldrich. En proporción mol a mol, tomando en consideración la pureza del ácido.

Un primer lote de 103.5 mg de 6-*epi*-desacetil-laurenobiólida (**1**) fueron disueltos en 3 ml de diclorometano y se agregaron 84.6 mg de ácido *m*-cloroperbenzoico disueltos en 1 ml del mismo disolvente.

La reacción se realizó a condiciones ambientales (temperatura y presión) y agitación constante siguiendo su curso por cromatografía en placa fina.

Una vez concluida la reacción se procedió a separar los componentes por cromatografía en columna utilizando 2.5 gr de sílica gel para capa fina, para lo cual la mezcla de reacción se aplicó directamente sobre la columna y se eluyó usando hexano, diclorometano y mezclas de CH₂Cl₂/acetona. Los resultados se resumen en la siguiente tabla 3:

Tabla 3: Cromatografía de la epoxidación del compuesto (**1**)

Eluyente	Fracciones	Fracciones reunidas	Clave de la fracción
Hexano	1 – 6	1-7	(se eliminó)
Diclorometano	7 – 11	8 – 22	EpoxA
DCM / acetona 9:1	22 – 26	23	EpoxB
DCM / acetona 8:2	27 – 30	24	EpoxC
Acetona	31	25 – 29	EpoxD
		30 – 31	EpoxE

En la fracción EpoxA se obtuvieron por evaporación del disolvente 84.6 mg de un sólido cristalino con p.f. 153-156 °C identificado espectroscópicamente como ácido *m*-clorobenzoico.

De la fracción EpoxC mediante cristalización de una mezcla de hexano/diclorometano se obtuvo un sólido cristalino (63.5 mg) de p.f. 165-167°C, $[\alpha]_D^{25} = +113.5$ (C = 9, CHCl₃), identificado por sus datos espectroscópicos y por comparación de R_f con una muestra auténtica como la 6-*epi*-speciformina **2**.

La fracción EpoxD, se identificó como el diepóxido (**4**) por medio de sus datos espectroscópicos, con un punto de fusión de 268-270 °C, el cual resultó ser insoluble en DCM y soluble en acetona y un PM = 280 gr/mol determinado por espectrometría de masas, $[\alpha]_D^{25} = +48.4$ (C = 11, CH₃COCH₃).

Parte experimental

Una vez determinadas las condiciones de reacción se utilizaron 4.72 g de compuesto (1), los cuales se disolvieron en 7 ml de diclorometano (buscando hacer una solución saturada) y se hicieron reaccionar con una solución de ácido *m*-cloro-perbenzóico (3.87 g) en el mismo disolvente, a temperatura ambiente. A los 15 minutos, una vez finalizada la reacción, la mezcla se aplicó directamente sobre una columna cromatográfica de 13 cm de altura y 5 cm de diámetro de gel de sílice (100 g) obteniéndose 26 eluatos de 250 ml. Los cuales se reunieron como se resumen en la siguiente tabla.

Tabla 4: Cromatografía general de la 6-*epi*-desacetil laurenobiólida (1)

Eluyente	Fracciones	Fracciones reunidas	Clave
DCM	1 – 13	1-7	EpiA
DCM/A (9:1)	14 – 22	7-13	EpiB
A	23 – 26	14-18	EpiC
		19-22	EpiD
		23-26	EpiE

En la fracción EpiA por evaporación del disolvente se obtuvieron 3.34 g de un sólido blanco identificado como ácido *m*-cloro-benzóico.

Por cristalización con una mezcla de hexano/CH₂Cl₂ de las fracciones EpiB, EpiC se obtuvieron 4.183 g de 6-*epi*-speciformina (2) con un punto de fusión 165°-167°C con un rendimiento de 88.6 %.

De la fracción EpiD y EpiE por precipitación y filtración con diclorometano, se encontraron 483.5 mg del diepóxido (4), soluble en acetona teniendo un rendimiento de 10.24%

Todos los compuestos obtenidos fueron caracterizados de acuerdo con sus datos espectroscópicos de RMN ¹H, ¹³C, IR, EM y RO.

6.2 Apertura del epóxido (2) con arcilla tipo bentonítica (tonsil TAFF)

Preparación de la arcilla:

El tonsil se lavó con acetato de etilo en una columna de vidrio en forma continua varias veces, secándolo posteriormente en estufa a 120 °C por 4 horas para la eliminación del ácido acético (p.e. 118 °C), producto de la hidrólisis del disolvente. Debido a que no se encontró una técnica única en las referencias, para el uso de la arcilla se realizaron diferentes pruebas con la misma para determinar las condiciones de reacción.

6.2.1 Pruebas preeliminares con Tonsil (T) en la apertura del epóxido (2)

Prueba 1 (T1): Una muestra del compuesto (2) (27 mg) se disolvió en CH₂Cl₂, se le agregaron 27 mg de tonsil (1:1 p/p) y se mantuvo a temperatura ambiente con agitación constante. Se siguió el curso de la reacción por cromatografía en capa fina usando una mezcla de hexano/acetona (6:4) como sistema de elusión. La reacción se detuvo separando la arcilla por filtración después de un tiempo total de reacción de 20 hrs recuperando 16.5 mg (64%) de compuesto inicial (2). El 36% (9.7 mg) restante del producto de reacción se identificó como una mezcla de al menos nueve compuestos lo cual dificultó su separación.

Prueba 2 (T2): Una segunda prueba (T2) se llevó a cabo con una muestra de 122 mg del compuesto (2) disueltos en diclorometano, los cuales se trataron con 616 mg de Tonsil (1:5 p/p), durante 20 horas con agitación constante y temperatura ambiente. La mezcla de reacción se separó por cromatografía en columna se recuperaron 22.3 mg de 6-*epi*-speciformina (18.17%). El 81.8% restante se identificó como mezclas complejas de productos de ciclización del compuesto (2).

Las pruebas subsecuentes para establecer las condiciones de reacción haciendo uso del tonsil como ácido de Lewis se muestran en la TABLA 5.

TABLA 5: Pruebas preeliminares con Tonsil para la apertura del epóxido 2

<i>Prueba</i>	<i>Relación mg, Comp (2) / Tonsil</i>	<i>Tiempo (hrs)</i>	<i>Medio de reacción</i>	Comp. 2 recuperado %	Mezcla de productos de reacción %
T1	27 / 30 (1:1)	20	DCM	64	36
T2	122 / 616 (1:5)	20	DCM	18.17	81.83
T3	41 / 209 (1:5)	8.5	DCM	49.3	56.1
T4	45 / 226 (1:5)	8.5	Acetona	No reacciona	
		24	Acetona	No reacciona	
T5	50 / 513 (1:10)	4	DCM	31.6	68.4
T6	50/ 1020.5 (1:20)	2.5	DCM	45.3	54.7
T7	35/699 (1:20)	1	DCM	No reacciona	
T8	102.4/2004.6 (1:20)	24	DCM/A (9:1)	81.7	18.3
T9	110.5/2240 (1:20)	-	Benceno	No es soluble	

- Temperatura ambiente y agitación permanecen constantes

La mezcla de reacción de la prueba T3 se separó por cromatografía en placa preparativa de gel de sílice de 20 x 20 cm y 0.5 mm de espesor usando hexano/acetona (6:4) como medio de elusión, obteniéndose 5 fracciones (T3a-T3e en orden creciente de polaridad). La fracción T3d (6.2 mg) fue purificada nuevamente usando el mismo procedimiento en una placa de sílica gel de 10 x 5 cm y 0.25 mm de espesor usando como eluyente hexano/acetona (4:6) obteniéndose 5.1 mg (12.4%) del compuesto (**5**) el cual fue identificado de acuerdo con sus datos espectroscópicos como la guayanólida (**5**).

De la mezcla de reacción de la prueba T5 se obtuvieron por cromatografía en placa preparativa de 20 x 20 cm y 0.5 mm de espesor usando como eluyente hexano/acetona (6:4) seis fracciones (T5a-T5f). La fracción T5e (5.7 mg), fue sometida al mismo procedimiento en una placa de 10 x 5 cm con un espesor de 0.25 mm usando benceno/acetona 7:3 y repitiendo el procedimiento tres ocasiones consecutivas (3x). De esta manera se obtuvieron 2.2 mg (4.4%)

del compuesto identificado como el triol (**8**) basándonos en los datos espectroscópicos recopilados.

En la prueba T8 se aumentó el tiempo de reacción usando una mezcla de diclorometano/acetona (9:1) como disolvente. La mezcla de reacción se separó por cromatografía en capa preparativa en una placa de 20 x 20 cm y 1 mm de espesor usando como sistema de elusión hexano/acetona (6:4) obteniéndose tres fracciones. La fracción T8a (5 mg) fue sometida al mismo proceso en una placa de 10 x 5 cm y 0.25 mm de espesor usando como sistema de elusión hexano/acetona (9:1) haciendo cuatro veces (4x) su elusión; obteniéndose dos fracciones. La fracción menos polar T8aa (2.5 mg, 2.4 %) se identificó como el compuesto (**9**) con un p.f. 195-197°, soluble en DCM, $[\alpha]_D^{25} = +77.0$ (C = 13.5, CHCl₃). Su estructura se estableció conforme a sus datos espectroscópicos de RMN y EM.

La fracción T8ab (1.4 mg, 1.3%) fue identificada como el acetónido (**10**), p.f.= 131-135°, $[\alpha]_D^{25} = +54.2$ (C = 5, CHCl₃).

Una muestra de 255.5 mg del compuesto (**2**) se sometió al tratamiento con tonsil en las condiciones establecidas para la prueba T2 usando 5.154 gr de tonsil. La mezcla de reacción se filtró y separó por una columna cromatográfica de sílica gel para capa fina de 4.5 cm de alto y 2.5 cm de diámetro (5gr). Como sistema de elusión se usaron mezclas benceno/acetato de etilo de polaridad creciente obteniéndose 116 eluatos de 25ml. (Tabla 6)

Tabla 6: Cromatografía de la reacción con tonsil (**T**)

Eluyente	Fracciones	Fracciones reunidas	Clave
Bz/AE (9:1)	1-40	1-2	TA
Bz/AE (95:15)	41-64	3-9	TB
Bz/AE (8:2)	65-82	10-16	TC
Bz/AE (7:3)	83-100	17-29	TD
Bz/AE (6:4)	101-106	30-48	TE
AE	107-116	49-88	TF
A		89-116	TG

La fracción TA por comparación de su punto de fusión con una muestra auténtica fue identificada como el ácido *m*-cloro-benzoico.

Por cristalización con una mezcla de hexano/diclorometano de las fracciones TB, TC, TD se recuperaron 130.8 mg (51.2%) identificados como el compuesto (**2**).

Parte experimental

El compuesto (**5**) (15 mg, 5.8%) fue purificado por cristalización en una mezcla de hexano/diclorometano de la fracción TE. La fracción TF (17.3 mg) se identificó por RMN ¹H como una mezcla del compuestos **5** y al menos otros dos, los cuales debido a la semejanza de R_f, no pudieron separarse. Un lavado con acetona de la columna extrajo 31 mg que comprende la fracción TG.

6.3 Apertura del epóxido (**2**) con ácido *p*-toluensulfónico

Se hicieron reaccionar 253 mg de 6-*epi*-speciformina (**2**) con ácido *p*-toluensulfónico mono hidratado (Aldrich) en cantidades catalíticas (10 mg), a temperatura ambiente usando como medio de reacción 50 ml de DCM/acetona (9:1) manteniendo agitación constante por un tiempo de 25 hrs. Se dió seguimiento a la reacción por cromatografía en capa fina analítica cada 30 min. Al término de la reacción la solución tomo un color amarillo intenso se vertió a un embudo de separación, se lavó con una solución de bisulfito de sodio al 10 % (3 lavados de 8 ml c/u) para eliminar el ácido, se secó con sulfato de sodio anhidro y se eliminó el disolvente por destilación a presión reducida. La mezcla de reacción (214 mg) fue separada por cromatografía en columna de sílica gel para capa fina de 4.5 cm de alto y 2.5 cm de diámetro (5gr). Como eluyentes se usaron mezclas de hexano/acetona de polaridad creciente recogiendo eluatos de 50 ml. (Tabla 7)

Tabla 7: Cromatografía de la mezcla de reacción con ácido *p*-toluen sulfónico (pTS).

Eluyente	Fracciones	Fracciones reunidas	Clave
H/A (97.5: 2.5)	1-24	1-2	pTSA
H/A (95:5)	25-40	3-19	pTSB
H/A (92.5:7.5)	41-50	20-41	pTSC
H/A (9:1)	51-58	42-59	pTSD
H/A (8.5:1.5)	59-66	60-85	pTSE
H/A (8:2)	67-78	86-94	pTSF
H/A (7.5:2.5)	79-85	95-100	pTSG
H/A (6:4)	86-94		
A	95-100		

La fracción pTSB (54 mg) se purificó por ccp en una placa de 20 x 20 cm y 0.5 mm de espesor usando una mezcla de Bz/AE (9:1) como sistema de elusión, obteniéndose dos

fracciones. La fracción pTSBa (15 mg, 9.11%) que se identificó como el acetónido (**9**) y la fracción pTSBb (5 mg, 3%) como el acetónido (**10**).

De las fracciones pTSD y pTSE se obtuvo por cristalización con hexano/diclorometano 12.7 mg (7.72%) de la lactona (**2**).

La purificación de la fracción pTSF proporcionó 17.2 mg (10.5%) del guayano mayoritario (**5**), con p.f.=75-80°, $[\alpha]_D^{25} = +131.6$ (C = 15.3, CHCl₃).

La fracción del lavado de la columna con acetona, 25.3 mg (15.3%) se desechó.

La reacción con ácido p-toluensulfónico fue repetida en dos ocasiones más buscando acumular mayor material de los compuestos (**9**) y (**10**), probando así lo reproducible de las condiciones establecidas. La purificación de la mezcla de reacción en cada caso se realizó por cromatografía en capa fina preparativa.

6.4 Apertura del epóxido (**2**) con tetracianoetileno

Una muestra de 174 mg del compuesto (**2**) se trató con 10 mg de tetracianoetileno al 98% (1:0.1 mol/mol) de la casa Aldrich de acuerdo con lo descrito en la literatura.⁴²

La reacción fue realizada a temperatura ambiente usando como medio de reacción una mezcla de metanol/acetona (9:1). El seguimiento de la reacción se hizo por cromatografía en capa fina hasta las 24 horas de acuerdo con la literatura; sin embargo, al término de ese tiempo no había evidencia de transformación alguna por lo que el tiempo de reacción se prolongó hasta las 48 hrs., al cabo de las cuales al no observar cambios se detuvo la reacción.

Las condiciones de reacción se modificaron cambiando la relación compuesto-catalizador a 1:0.2 molar (20 mg de TCE) por 48 hrs. Sin obtener resultados. Al cambiar la relación en una proporción 1:0.5 molar usando como medio de reacción la mezcla de metanol/acetona (9:1) y un tiempo de reacción de 132 hrs, se obtuvo una mezcla de 6 productos principales mismos que fueron separados por ccp en placa de sílica gel de 20 x 20

Parte experimental

cm y espesor de 2 mm usando como sistema de elusión una mezcla de hexano/acetona (6:4) (2x), obteniéndose 6 fracciones (TCEa-TCEf)

La fracción TCEa (9 mg) se reunió con la fracción TCEb (4 mg) y se recromatografió en una placa de 10 x 20 cm y 0.5 mm de espesor usando como sistema de elusión una mezcla de hexano/acetona (9:1), (2x), y obteniéndose dos fracciones; TCEaa (7 mg, 4 %) y TCEab (3 mg, 1.7%) que se identificaron al recopilar todos sus datos espectroscópicos, como los acetónidos (**9**) y (**10**) respectivamente.

La fracción TCEc 74.8 mg (43%) se identificó como la 6-*epi*-speciformina (**2**), la cual se cristalizó de una mezcla de hexano/CH₂Cl₂.

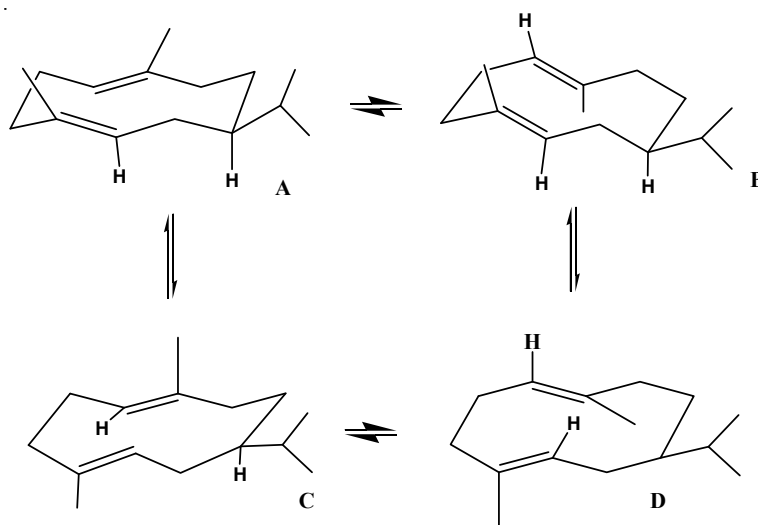
La fracción TCEd (25.6 mg) fue purificada por ccp en un cromatofolio de 20 x 20 cm y 2.5 mm de espesor usando como un sistema de elusión benceno/acetato de etilo (6:4), (4x). Se separaron 5 fracciones (TCEda-TCEde) siendo la fracción TCEdc el producto mayoritario con 3.4 mg (2%) mismo que fue identificado por sus datos espectroscópicos como la grandiflórída (**3**), $[\alpha]_D^{25} = +10.8$ (C = 8, CH₃COCH₃).

El compuesto (**5**) de formación mayoritaria fue encontrada en la fracción TCEe (12.1mg, 7%).

Con el propósito de obtener una cantidad mayor del compuesto (**3**) la reacción se repitió por dos ocasiones más, TCE2 y TCE3 con una muestra de 125 mg y 104 mg del compuesto (**2**), respectivamente, siendo reproducible en las condiciones descritas. Durante el seguimiento de la reacción por placa fina se observó la aparición a las 5 hrs. de iniciada uno de los acetónidos probablemente el (**9**) por comparación con el R_f del mismo compuesto (**9**) obtenido previamente.

7. Resultados y discusión.

En un primer estudio de *Montanoa grandiflora* se logró el aislamiento de la 6-*epi*-desacetil-laurenobiólida (**1**)⁴⁷ cuya estructura y estereoquímica fueron establecidas con base en sus datos espectroscópicos, principalmente de RMN ¹H y posteriormente confirmada por difracción de rayos X.⁴⁰ Los rayos X revelan que la 6-*epi*-desacetil-laurenobiólida (**1**) es una *trans, trans*-germacradienólida con fusión *trans* cerrada sobre C-8, que presenta en el estado cristalino una conformación muy poco común [₁₅D⁵, ₁D¹⁴] (Samek Z.⁵²) en comparación con la conformación [₁₅D₅, ₁D¹⁴] comúnmente encontrada en las germacra-*trans,trans*-1(10),4-dien-12, 6 α -ólidas como la costunólida y sus derivados. Estudios sobre la conformación de este tipo de compuestos^{38,53} muestran la presencia de cuatro isómeros conformacionales principales (esquema 8), en cada una de las cuales los dobles enlaces son aproximadamente perpendiculares al plano medio del anillo y adoptando en dos de estas conformaciones una forma cruzada (A y D) y en las otras dos una orientación paralela (B y C).



Esquema 8: Cuatro conformaciones mayoritarias del esqueleto de las germacranólidas;
A: [₁₅D₅, ₁D¹⁴], B: [₁₅D₅, ¹D₁₄], C: [₁₅D⁵, ₁D¹⁴], D: [₁₅D⁵, ¹D₁₄],

Entre las lactonas sesquiterpénicas cerradas sobre C-6 y las cerradas sobre C-8, es conocido que estas últimas presentan una mayor flexibilidad del ciclodecadieno existiendo así

en más de una conformación. Por ejemplo en el caso de la laurenobiólida **XXII** (pag. 17) se determinó por medio de un estudio de RMN ^{13}C que existe a bajas temperaturas como una mezcla de las cuatro formas conformacionales A-D (esquema 8) en una proporción de 5:4:1:3, respectivamente.

Estudios posteriores de la *Montanoa grandiflora* permitieron el aislamiento de la 6-*epi*-speciformina (**2**) y la grandiflórída (**3**) cuyas estructuras también fueron establecidas con base en sus datos de RMN ^1H como el 4,5-epoxi-derivado (**2**) y el diol (**3**) este último puede provenir de la apertura del epóxido (**2**). La 6-*epi*-speciformina (**2**) también fue obtenida por epoxidación del doble enlace Δ^4 de la 6-*epi*-desacetil-laurenobiólida (**1**) haciendo uso de ácido *m*-cloroperbenzoico.

En el presente trabajo se planteó como proyecto una serie de reacciones encaminadas hacia la síntesis biomimética de la grandiflórída (**3**) a partir de la 6-*epi*-desacetil-laurenobiólida (**1**) y de esta forma confirmar su estructura y estereoquímica.

Buscando cumplir el objetivo planteado se pensó en imitar la posible ruta biogenética para la formación de la grandiflórída (**3**) partiendo de la epoxidación del compuesto (**1**) para obtener el 4,5-epoxi-derivado (**2**). Posteriormente, la apertura tipo Markovnikoff del epóxido (**2**) para dar el alcohol alílico cuya estructura correspondería a la grandiflórída (**3**). Con este fin se llevó a cabo la obtención de la 6-*epi*-desacetil-laurenobiólida (**1**) y la 6-*epi*-speciformina (**2**), así como la apertura del epóxido (**2**), para lo cual se realizaron diferentes ensayos haciendo uso de una arcilla bentónica (tonsil), ácido *p*-toluen sulfónico y tetraciano etileno como ácidos de Lewis.

La apertura del grupo epóxido promovida por un ácido de Lewis de acuerdo con la regla de Markovnikoff puede dar lugar al carbocatión en la posición C-4 de la 6-*epi*-speciformina (**2**) y la estabilización de este, a la formación del alcohol alílico (**3**). Sin embargo, la apertura de los 4,5-epoxi-derivados en este tipo de compuestos también da lugar a la ciclización intramolecular iniciada por la apertura del epóxido y el desplazamiento de la

doble ligadura, para formar un intermediario que al estabilizarse da lugar a derivados del tipo de las guayanólidas.

Un estudio preliminar de la apertura del epóxido en la 6-*epi*-speciformina (**2**) con ácido *p*-toluensulfónico (TsOH) en diclorometano dió como resultado la obtención de las guayanólidas (**5**), (**6**), (**7**), además de los acetónidos (**9**) y (**10**), cuando la reacción se llevó a cabo en presencia de acetona.⁵⁴

Teniendo en cuenta estos antecedentes se pensó en el uso de otros ácidos de Lewis para la obtención de la grandiflórida (**3**) o del acetónido (**10**) y así alcanzar el objetivo planteado. Se llevaron a cabo varios ensayos haciendo uso de la arcilla bentonítica conocida como tonsil así como del tetracianoetileno (TCE) cuyo uso en la apertura de epóxidos ha sido reportado.⁵¹ También se llevó a cabo la apertura haciendo uso del ácido *p*-toluensulfónico con fines comparativos. En este último caso se obtuvieron los compuestos: (**5**), (**8**), (**9**) y (**10**) de acuerdo con lo reportado.

En el caso del tonsil fueron identificados los compuestos (**5**), (**9**) y (**10**).

En el caso del tetracianoetileno fueron separados e identificados los compuestos: (**3**), (**5**), (**9**) y (**10**).

Estos resultados se pueden resumir como se muestra en la tabla 8:

Compuesto	Rendimiento %		
	Tonsil	pTSOH	TCE
6- <i>epi</i> -speciformina (2)	51.2	7.7	43
Grandiflórida (3)	0	0	2
Guayanólida (5)	5.8	110.5	7
Triol (8)	4.4	0	0
Acetónido (9)	2.4	9.11	4
Acetónido (10)	1.3	3	1.7

Tabla 8: Compuestos y rendimientos obtenidos en el tratamiento de la 6-*epi*-speciformina (2**) con diferentes ácidos de Lewis.**

7.1 6-*epi*-desacetil-laurenobiólida (1).

La 6-*epi*-desacetil-laurenobiólida (1) se obtuvo del extracto diclorometánico de diferentes lotes de hojas de *Montanoa grandiflora*, por cromatografía en columna sobre gel de sílice, obteniéndose como un sólido blanco cristalino (5 gr) con punto de fusión de 117- 118 °C.

El espectro en el infrarrojo determinado en pastilla de KBr (espectro 1), mostró en 3480 cm⁻¹ la absorción característica de un grupo oxhidrilo, así mismo en 1762 cm⁻¹ la absorción debida a la presencia del grupo carbonilo de una γ -lactona. En 1661 cm⁻¹ se observó una banda que puede asignarse a un metileno terminal desplazado por su conjugación y la tensión del anillo lactónico de cinco miembros. La absorción en 832 cm⁻¹ sugiere la presencia de dobles ligaduras del tipo *trans*-trisustituidas que pueden ser asignadas a los dobles enlaces $\Delta^{1(10)}$ y Δ^4 del ciclodecadieno.⁵⁵

En el espectro de masas por impacto electrónico (EMIE) (espectro 2), se observa el ión molecular de $m/z = 248$ que está de acuerdo con la fórmula molecular C₁₅H₂₀O₄ para el compuesto (1). El pico de $m/z = 230$ [M-18] confirma la presencia de un grupo oxhidrilo que se pierde en forma de agua [M-H₂O]⁺.

De acuerdo con la estructura, en la región de alta frecuencia del espectro de RMN ¹H determinado a 400 MHz (espectro 3) se observan las señales características para los protones del metileno exocíclico conjugado con la γ -lactona como una señal simple ancha en 5.68 ppm y una señal doble en 6.33 ppm (J = 2.9 Hz) correspondiendo este último al protón *cis* al grupo carbonilo con un desplazamiento mayor debido al efecto anisotrópico de este grupo. En la región de baja frecuencia del espectro se observan las señales correspondientes a los metilos vinílicos sobre C-10 (Me-14) y sobre C-4 (Me-15), en 1.58 y 1.48 ppm respectivamente. El resto de las señales concuerdan con los desplazamientos reportados en la literatura.⁴⁰

Las lactonas sesquiterpénicas poseen características estructurales y espectrales en RMN ¹H específicas que son útiles en la elucidación de su estructura. Por ejemplo, las lactonas sesquiterpénicas aisladas de plantas superiores presentan una orientación α para H-7

y el enlace C7-C11 β ecuatorial.⁵⁶ En el espectro de RMN ^1H es característico el acoplamiento alílico de H-7 con los protones vinílicos en C-13, el cual es del orden de 1- 3 Hz,^{57,58} esto trae como resultado que los protones vinílicos H-13 se observen generalmente como dos señales dobles (alrededor de 6 ppm) ya que el acoplamiento geminal entre ellos es menor de 1 Hz.^{59,60}

El espectro de RMN ^1H de la 6-*epi*-desacetil-laurenobiólida (**1**) mostró señales anchas y poco definidas, mientras que en su espectro de ^{13}C (espectro 4) se observan 28 señales, (casi el doble de las esperadas para un sesquiterpeno), trece de las cuales poseen una intensidad aproximadamente del 40% en relación a las otras, algunas de ellas con una diferencia de desplazamiento mínima. Estos datos proporcionan evidencia de que la 6-*epi*-desacetil-laurenobiólida (**1**) en solución y a temperatura ambiente se encuentra como una mezcla de dos isómeros conformacionales, de manera similar a la laurenobiólida^{38,53} aislada de la especie *Laurus nobilis* L. la cual se encuentra en 4 formas conformacionales en solución y a bajas temperaturas.

El estudio detallado de los espectros de RMN ^1H y ^{13}C uni- y bi-dimensionales incluidos los experimentos DEPT (espectro 5), ROESY, HSQC y HMBC nos permitió establecer la presencia de dos conformeros A y B a temperatura ambiente como los más probables (Ver Tabla 9 y Tabla 10). Estos isómeros conformacionales resultan del giro de enlaces C-1/C-2 y C-10/C-9 dando lugar al cambio de orientación (α - β) del grupo metilo C-14 a temperatura ambiente; lo anterior se estableció mediante las interacciones espaciales observadas en el experimento ROESY (espectro 6, 7). El conformero A (asignado con numeración prima) se identificó como [$_{15}\text{D}^5$, $^1\text{D}_{14}$] por la interacción observada entre los protones de Me-14' con las señales correspondientes a H-7', ya que como se sabe H-7 tiene una orientación α en las lactonas sesquiterpénicas aisladas de plantas superiores, además de la correlación con H-6' y Me-15' también de orientación α de acuerdo a los datos de rayos X reportados. Así mismo, se observó que H-1' tiene interacción con H-5' y H-8' de orientación β . Para el caso del conformero B la conformación quedó establecida como [$_{15}\text{D}^5$, $^1\text{D}_{14}$] de acuerdo con las interacciones observadas entre las señales del Me-14 con las señales de H-8 y

H-5 de orientación β y de forma contraria al conformero A, la señal de H-1 interacciona con la señal de los protones de Me-15 de orientación α .

Tabla 9: Datos de RMN del Conformero A de la 6-*epi*-desacetil-laurenobiólida (1)

	DEPT	H ¹ 400 MHz δ ppm	100 MHz ¹³ C δ ppm	HMBC
1'	CH	4.92 m	130.9	
2a'	CH ₂	2.08 m	24.6	
2b'		2.32 m	-	
3a'	CH ₂	2.05 m	36.4	
3b'		2.11 m	-	
4'	C	-	135.4	
5'	CH	4.99 m	130.1	
6'	CH	4.6 m	70.7	
7'	CH	2.68 sa	48.9	8'
8'	CH	4.69 m	78.7	
9a'	CH ₂	1.58 m	40.9	
9b		2.93 m	-	
10'	C	-	128.7	
11'	C	-	136.3	
12'	C	-	170.7	
13a'	CH ₂	5.68 sa	123.9	7',11',12
13b'		6.33 d (2,9)	-	
14'	CH ₃	1.58 s	21.3	9',1',10'
15'	CH ₃	1.48 s	16.5	3',5',4'

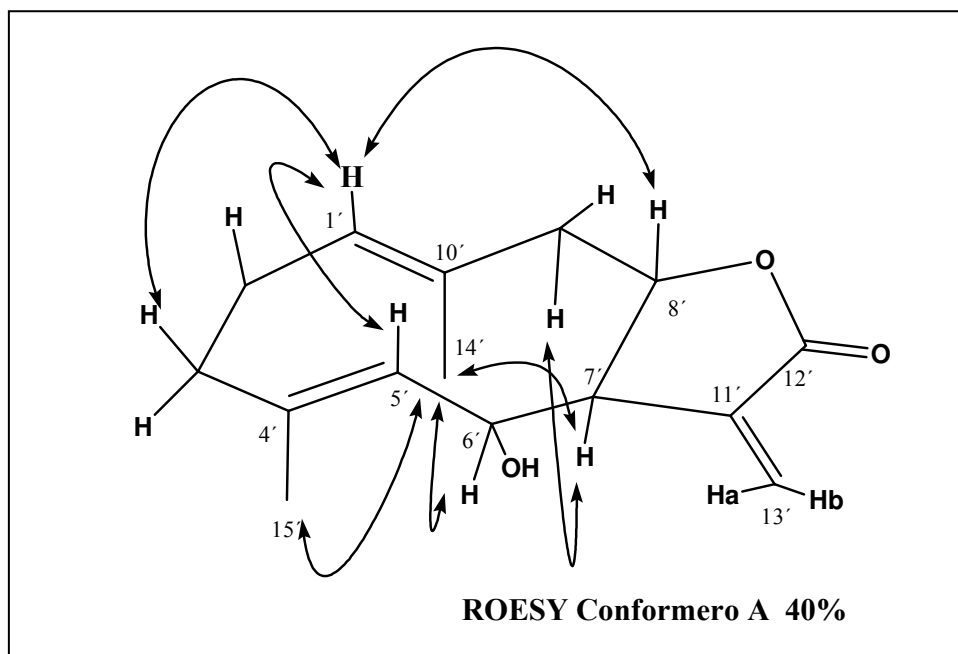
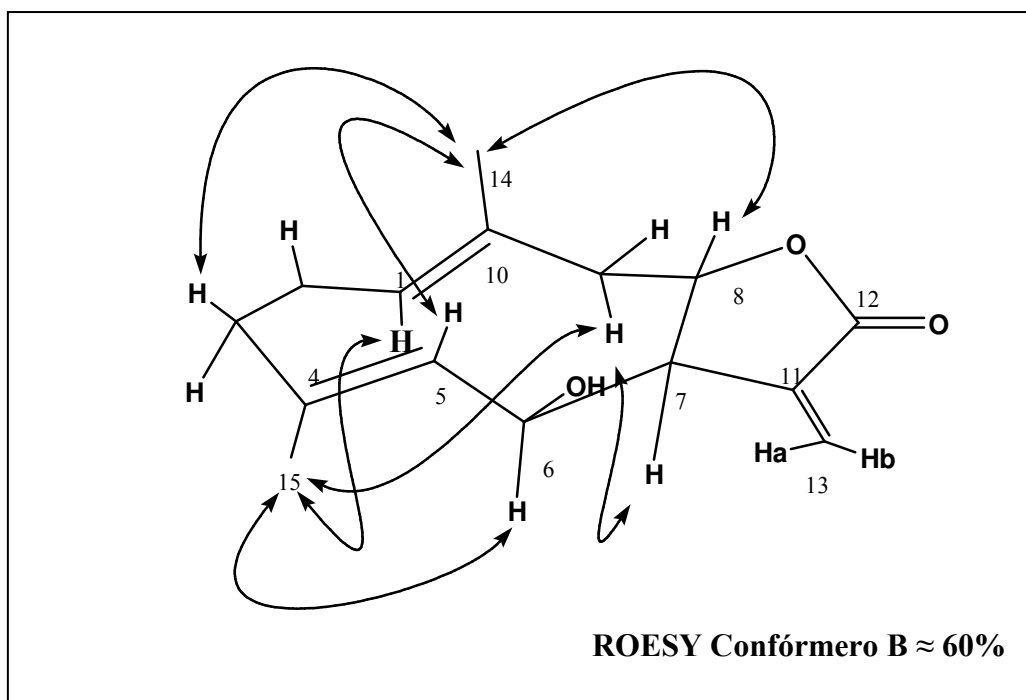


Tabla 10: Datos de RMN del Confórmero B de la 6-*epi*-desacetil-laurenobiólida (1)

	DEPT	H ¹ 400 MHz δ ppm	100 MHz ¹³ C δ ppm	HMBC
1	CH	4.97 m	125.6	
2a	CH ₂	2.08 m	24.2	3
2b		2.032 m	-	
3a	CH ₂	2.1 sa	36.7	15
3b		2.1 m	-	
4	C	-	135.2	
5	CH	4.85 da (8)	128.4	
6	CH	4.68 da (7)	69.5	
7	CH	2.68 sa	51.2	8, 9
8	CH	4.57 da(12)	76.4	
9a	CH ₂	2.04 m	46.6	14, 7, 8
9b		2.54 m	-	
10	C	-	132.2	
11	C	-	136.3	
12	C	-	170.3	
13a	CH ₂	5.68 sa	123.5	7, 11, 12
13b		6.33 d (2.9)	-	
14	CH ₃	1.58 s	17.3	9, 1, 10
15	CH ₃	1.48 s	16.5	3, 5, 4



7.2 6-*epi*-speciformina (2).

La 6-*epi*-speciformina (2) se obtuvo como un sólido cristalino de punto de fusión 165-167 °C, mediante la epoxidación de la 6-*epi*-desacetil-laurenobiólida (1) con ácido *m*-cloroperbenzoico. Su espectro en el IR (espectro 9) mostró las bandas en 1765 y 3458 cm⁻¹ que la caracterizan como una γ -lactona que posee grupos oxhidrilo. En el espectro de EMIE (espectro 10) se observa un ión molecular M⁺ de $m/z = 264$ que concuerda con la fórmula molecular C₁₅H₂₀O₄ esto es 16 unidades más de masa comparado con el compuesto (1), debido a la presencia de un oxígeno extra en el compuesto (2). El espectro de RMN ¹H (espectro 11) de la 6-*epi*-speciformina (2) no fue observada la señal de uno de los metilos vinílicos ni la señal asignada a H-5 en la región de protones vinílicos, y en su lugar se observó una señal simple aguda en 1.30 ppm correspondiente al grupo metilo sobre el carbono base de una función oxigenada así como una señal doble en 2.52 ppm, las cuales están de acuerdo con la presencia del epóxido sobre C4-5. El espectro de RMN ¹³C (espectro 13) presentó señales para 15 carbonos que de acuerdo con los experimentos DEPT (espectro 14) corresponden a 2 metilos, 4 metilenos, 5 metinos y 4 carbonos no protonados, concordando con la estructura propuesta. (Tabla 11).

Tabla 11: Datos de RMN de 6-*epi*-speciformina (2)

	¹ H (500 MHz) δ ppm	¹³ C (125 MHz) δ ppm
1	5.40 ta (8)	126.5
2a	2.42 ca (5)	22.4
2b	2.14 m	
3a	2.75 ca (8.5)	44.8
3b	2.17 m	
4	-	60.3
5	2.52 d (8.1)	66.6
6	3.77 dd (8.1 ; 2.1)	72.8
7	2.89 dca (1,5)	47.0
8	4.77 dt (12 ; 3.5)	75.4
9a	2.10 m	36.3
9b	2.76 dd (12)	
10	-	131.8
11	-	135.9
12	-	169.6
13a	5.67 d (3)	123.7
13b	6.46 d (3)	
14	1.73 s	16.3
15	1.30 s	18.2

La epoxidación del doble enlace en C4-5 es preferida en la 6-*epi*-desacetil-laurenobiólida debido a la asistencia anquimérica por el grupo hidroxilo en C-6.

El experimento ROESY (espectro 15) presenta para los protones del grupo metilo sobre C-10, (C-14), correlaciones que indican una orientación β y al mismo tiempo otras correlaciones que indican una orientación α para el mismo grupo. Los datos anteriores indican la presencia de al menos dos formas conformacionales del compuesto **2** en solución a temperatura ambiente originadas por el giro en los enlaces C1/C-2 y C10/C-9 y el consecuente cambio de orientación del grupo metilo C-14, como en el caso de la 6-*epi*-desacetil-laurenobiólida (**1**), lo cual está de acuerdo con la presencia de señales anchas observadas en el espectro de RMN ^1H ; aunque el espectro de RMN ^{13}C no muestra la duplicidad de señales como en el compuesto (**1**), la presencia de otro conformero explica la intensidad y apariencia ancha de las señales en el espectro de RMN ^{13}C . Las interacciones espaciales para el compuesto (**2**) observadas en el experimento ROESY se presentan en la Figura 9.

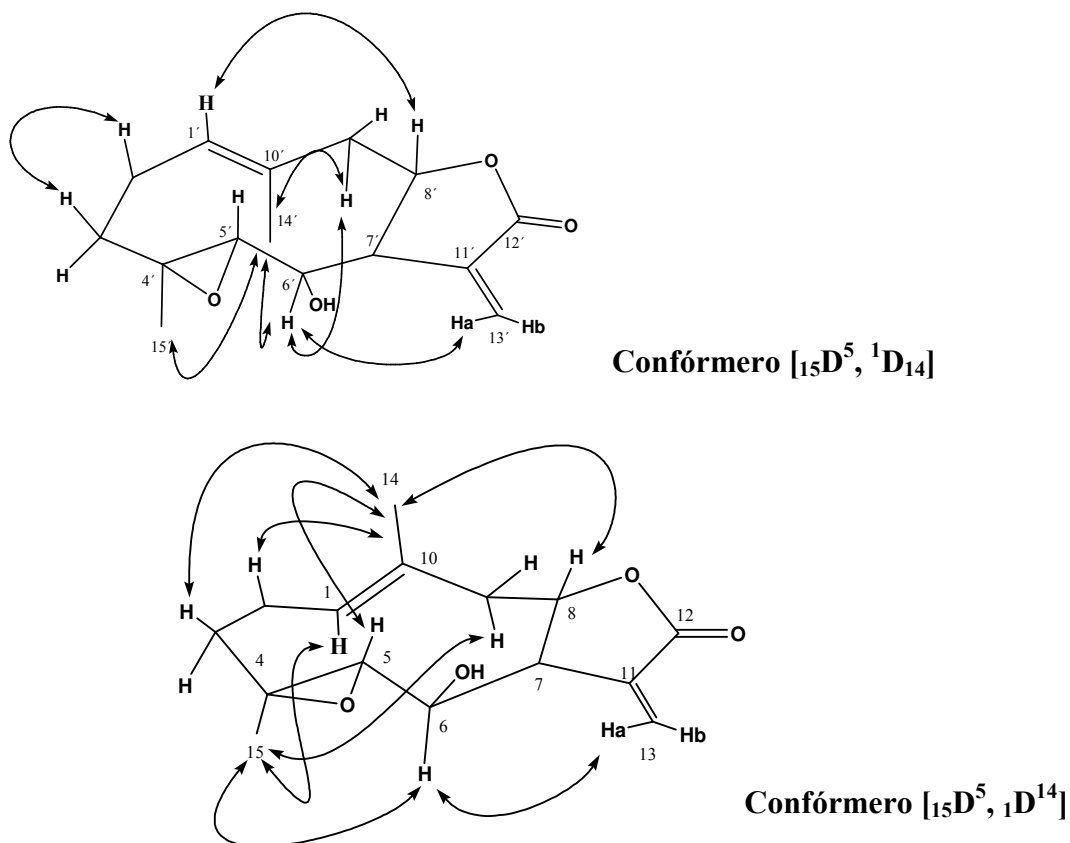


Figura 9: Interacciones espaciales de la 6-*epi*-speciformina (2**)**

Los resultados del análisis por difracción de Rayos X muestran que en forma cristalina la 6-*epi*-speciformina (**2**) adopta una conformación [$_{15}D^5, _1D^{14}$] de manera similar a la 6-*epi*-desacetil-laurenobiólida (**1**). (Figura 10)

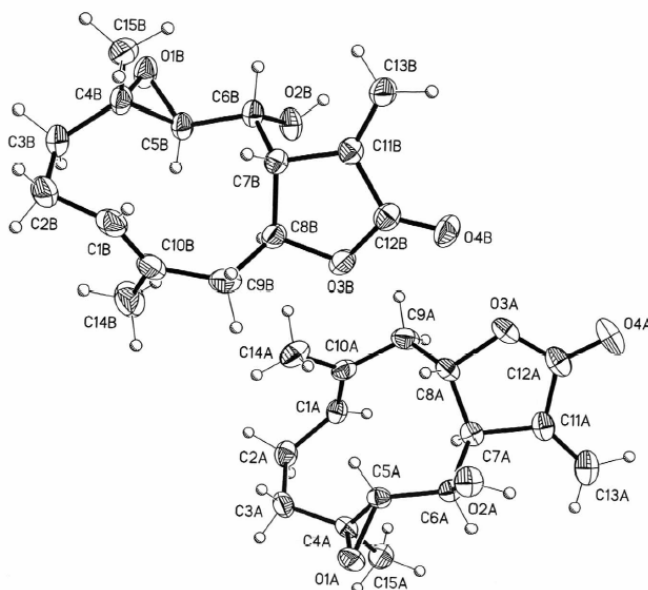


Figura 10: Análisis de Rayos X para la 6-*epi*-speciformina (2**)**

7.3 Diepóxido compuesto (**4**)

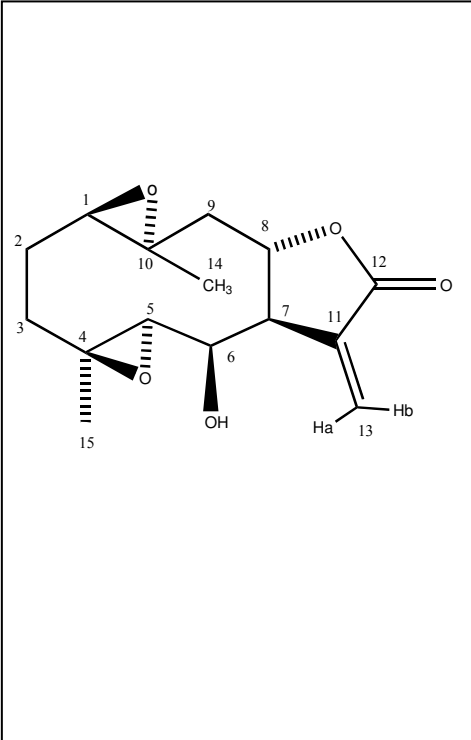
Además de la 6-*epi*-speciformina (**2**) de la mezcla de reacción de epoxidación, se obtuvo el diepóxido **4** como un sólido blanco de punto de fusión 268-270°C, insoluble en diclorometano y soluble en acetona.

El espectro en el IR (espectro 26) determinado en pastilla de KBr mostró bandas de absorción en 3462 cm^{-1} para grupo oxhidrilo, y en 1771 cm^{-1} para γ -lactona. En el espectro de EMIE (espectro 27) se observó un ión molecular $[M]^+$ de $m/z = 281$, mayor en 16 unidades de masa comparado con el compuesto (**2**) y concordante con la fórmula molecular $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{O}_5$. Así mismo se observan los pico correspondientes a fragmentos de $m/z = 265$ $[M-O]^+$, 246 $[M-O-H_2O]^+$, 177 $[M-O-H_2O-C_4H_5O]^+$.

En el espectro de RMN ^1H (espectro 28) determinado en metanol deuterado además de las señales típicas de los protones del metileno exocíclico en 6.37 y 5.82 ppm se observan los cambios inherentes a la presencia de los grupos epóxido en C1-10 y C4-5; esto es, las señales de los protones H-1 y H-5 se encuentran desplazados en la región de protones unidos a carbonos base de funciones oxigenadas en 3.17 y 2.74 ppm respectivamente. (Tabla 12)

Tabla 12: Datos de RMN del diepóxido (4)

	^1H (400 MHz) δ ppm	^{13}C (100 MHz) δ ppm
1	3.17 dd (9.2 ; 5.8)	60.8
2a	1.53 m	25.3
2b	2.32 cd (1.08 ; 8.28)	
3a	1.20 ddd (13.32 ; 7.96 ; 0.92)	35.2
3b	2.14 td (12.48 ; 8.32)	-
4	-	70.8
5	2.74 d (8,64)	67.8
6	3.76 dd (8.68 ; 2.28)	72.7
7	3.10 dca (2,52)	49.7
8	4.95 dc (12.3 ; 2,4)	76.2
9a	1.36 t (13.08)	47.2
9b	2.58 dd (12.8 ; 2.08)	-
10	-	55.9
11	-	137.6
12	-	171.5
13a	5.82 d (2.84)	124.7
13b	6.37 d (2.92)	-
14	1.43 s	16.8
15	1.49 s	17.4



Las señales de los grupos metilo C-14 y C-15 sobre los carbonos base de los grupos epoxi se observan en 1.43 y 1.49 ppm respectivamente.

De acuerdo con lo anterior, la señal a δ 1.43 (CH_3 -14) acoplada con la señal a δ 16.8 (C-14) en el espectro HSQC, muestra a su vez acoplamientos en el experimento HMBC con las señales de un metileno (δ 47.2), un metino unido a un oxígeno (δ 60.8) y un carbono completamente sustituido (δ 55.9), por lo que estas deben corresponder a C-9, C-1 y C-10, respectivamente. Así mismo, la señal del carbón a δ 16.8 mostró acoplamientos en el espectro HMBC con las señal triple a δ 1.36 ($J = 13.08$ Hz) y la señal a δ 2.58 (dd, $J = 12.8, 2.08$ Hz), las cuales a su vez muestran acoplamiento con la señal a 47.2 ppm, que deben corresponder al

metileno de la posición 9. Por otra parte la señal del metilo a 1.49 (CH₃-15), mostró acoplamiento a larga distancia con un metileno (δ 35.3), y un metino y un carbono no protonado, ambos bases de una función oxigenada (δ 67.8, 70.8), por lo que deben corresponder a C-3, C-5 y C-4, respectivamente.

En el espectro de RMN ¹³C (espectro 29) se observan señales para 15 carbonos, que corresponden a 2 metilos, 4 metilenos, 5 metinos y 4 carbonos no protonados, de acuerdo a los experimentos DEPT (espectro 30). (Tabla 7).

Las interacciones observadas para los protones del metilo sobre C10 (Me-14) en el experimento NOESY del compuesto (4) indican una orientación β , a la vez que el metilo sobre C5 (Me-15) interactúa con los protones H-1 y H-6; lo anterior sugiere que el diepóxido (4) debe tener una configuración [₁₅D⁵, ₁D¹⁴] (Figura 11).

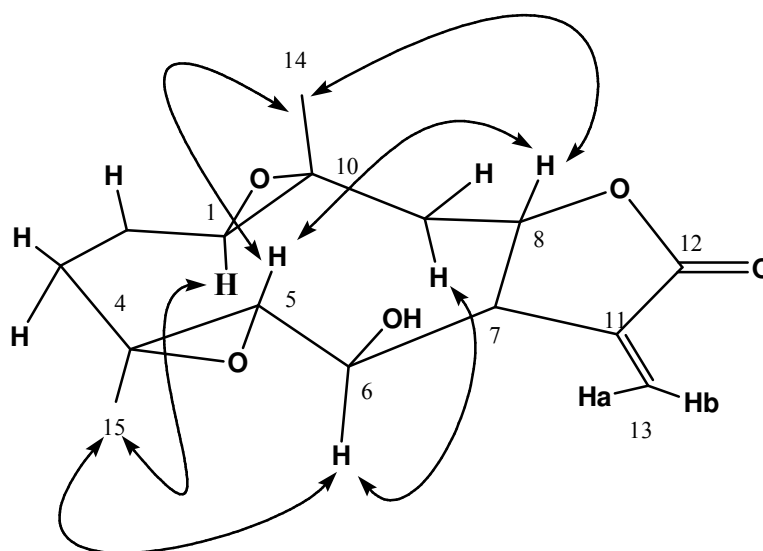


Figura 11: Interacciones espaciales del diepóxido (4).

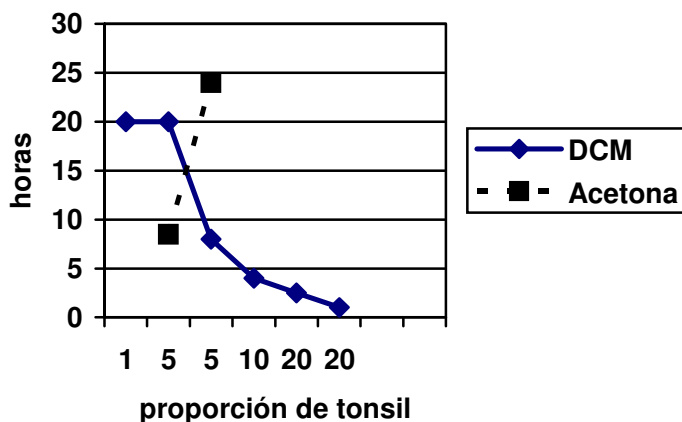
7.4 Apertura y ciclización de la 6-*epi*-speciformina usando Tonsil.

Una vez determinadas las condiciones para la apertura y ciclización del monoepóxido (2), se trataron 225 mg de este, disueltos en diclorometano usando una relación 1:20 del compuesto (2)/tonsil, con agitación constante y temperatura ambiente por 2.5 horas. En las

pruebas preliminares se consiguió reducir el tiempo de reacción observando que el tiempo de reacción es proporcional a la cantidad de arcilla utilizada. Esquema 9.

Esquema 9: Relación concentración-tiempo en reacciones con tonsil

Prueba	Comp (2) Tonsil	Medio	(hr)
T1	(1:1)	CH ₂ Cl ₂	20
T2	(1:5)	CH ₂ Cl ₂	20
T3	(1:5)	CH ₂ Cl ₂	8.5
T4	(1:5)	acetona	8.5
		acetona	24
T5	(1:10)	CH ₂ Cl ₂	4
T6	(1:20)	CH ₂ Cl ₂	2.5
T7	(1:20)	CH ₂ Cl ₂	1
T8	(1:20)	CH ₂ Cl ₂ / acetona 9:1	24



Gráfica 1: Relación concentración-tiempo de reacción del tonsil

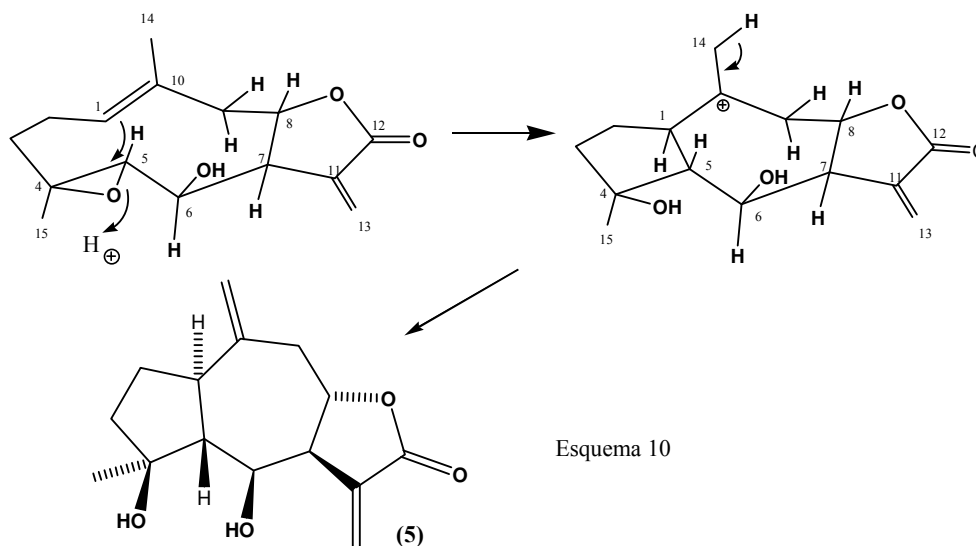
7.5 Compuesto (5).

De la mezcla de reacción de las diferentes pruebas se obtuvo el compuesto (5) como un sólido blanco con un punto de fusión de 145-146 °C, el cual presentó en su espectro en el IR bandas de absorción en 3689 y 3600 cm⁻¹ que indican la presencia de grupos OH además de la absorción en 1764 cm⁻¹ para el grupo carbonilo de la γ -lactona.

El espectro de masas presentó un ión molecular [M]⁺ de $m/z = 264$ que concuerda con la fórmula molecular C₁₅H₂₀O₄, igual a la del compuesto (2), pero con un patrón de fragmentación diferente lo que sugiere una estructura isomérica. Además del ión molecular se observan picos significativos de m/z 249 [M-Me]⁺, 246 [M-H₂O]⁺, 231 [M-H₂O-Me]⁺ y 228 [M-2H₂O]⁺; que sugieren la presencia de dos grupos hidroxilo en la molécula.

En el espectro de RMN ^1H (espectro 31) no se observaron las señales correspondientes al protón vinílico H-1 y al metilo vinílico sobre C10 del compuesto (**2**), en cambio se observó la presencia una señal simple ancha y una señal doble en 4.96 y 5.02 ($J=1.1$ Hz) ppm, respectivamente las cuales corresponden a los protones de un grupo metileno exocíclico que debe localizarse sobre C10. Se observa además la señal correspondiente a H-6 como una señal doble de doble ($J = 8.4, 3.9$ Hz) en 4.40 ppm, así como la señal correspondiente a H-8 como una señal triple de doble ($J = 7.2, 3.6$ Hz) en 4.50 ppm. El protón H-5 se observó como una señal doble ($J = 8.6$ Hz) en 2.74 ppm.

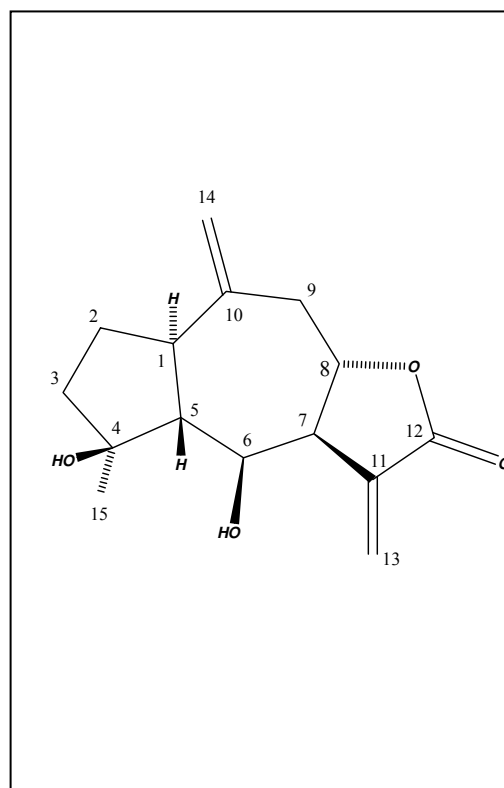
En 1.39 ppm se observó una señal simple aguda que se asignó al metilo sobre C-4 base de un grupo OH terciario generado por la apertura del epóxido, además de las señales dobles típicas del metileno exocíclico conjugado con la γ -lactona en 5.65 ppm y 6.41 ppm. Los datos anteriores concuerdan con la estructura de la guayanólida (**5**), producto de la ciclización *trans*-anular promovida por la apertura del grupo epoxi y la formación del ión carbonio sobre C-10, con la fusión *trans* entre los anillos de 5 y 7 miembros, como se indica en el esquema (Esquema 10).



En el espectro de RMN ^{13}C (espectro 32) se observan señales para 15 carbonos los cuales de acuerdo al experimento DEPT corresponden a 1 metilo, 5 metilenos, 5 metinos y 4 carbonos no protonados. (Tabla 13)

Tabla 13: Datos de RMN del Compuesto (5)

	^1H (500 MHz) δ ppm	^{13}C (125 MHz) δ ppm
1	2.35 c (8.3)	42.1
2a	1.73 m	25.8
2b	2.00 m	
3a	1.74 m	41.0
3b	1.89 m	
4	-	81.0
5	1.77 dd (10.5, 8.5)	61.9
6	4.40 dd (8.5, 4.0)	65.8
7	3.10 dc (10.5 ; 3.5)	51.6
8	4.52 ddd (10.5, 9.0, 3.5)	76.1
9a	2.36 ta (13.0)	44.5
9b	3.10 dd (13.0 ; 3.5)	
10	-	146.7
11	-	135.2
12	-	169.6
13a	5.65 d (3)	121.8
13b	6.41 d (4)	
14a	4.99 d (0.5)	111.3
14b	5.06 d (0.5)	
15	1.39 s	23.6



El experimento NOESY del compuesto (5) confirma la fusión *trans* de los anillos de 5 y 7 miembros, ya que se observaron interacciones H-6 con grupo metilo (Me-15) los cuales conservan su orientación α . Por otra parte la señal a 2.36 debe corresponder a H-9 α ya que esta mostró interacción con H-7 (δ 3.10) de orientación α . (Figura 12).

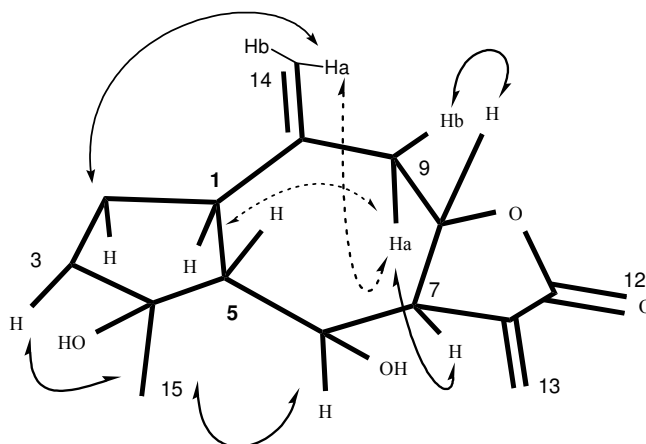


Figura 12: Interacciones espaciales de la guayanólida (5).

El análisis por difracción de rayos X corroboró la estructura y estereoquímica propuestas para el compuesto **(5)** (figura 13).

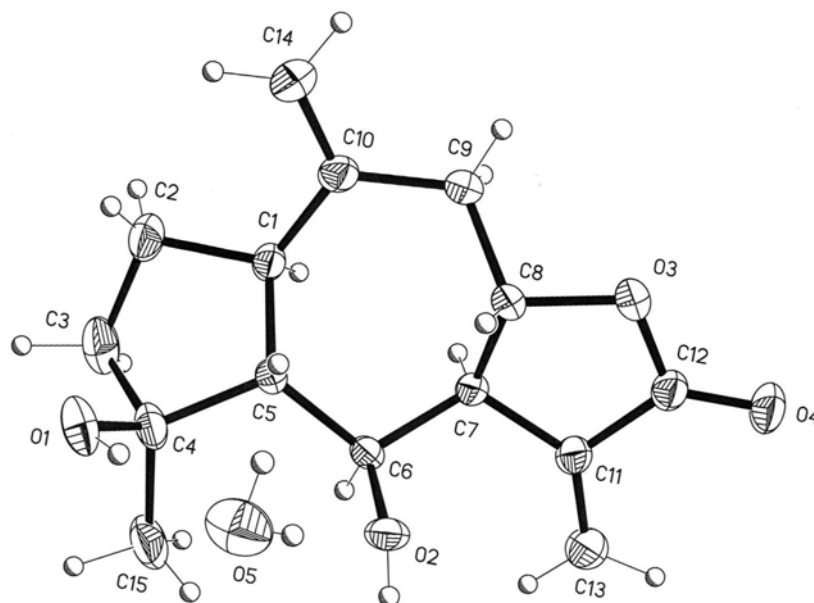


Figura 13: Análisis por difracción de rayos X de la guayanolida (5)

7.6 Compuesto (8) triol.

De las fracciones de mayor polaridad fueron obtenidos por cromatografía en placa preparativa 2.2 mg (4.4%) de un compuesto que de acuerdo con sus datos de RMN se identificó como el triol **(8)**.

El espectro de RMN ^1H (espectro 34) es similar al del compuesto **(5)** diferenciándose en la falta de las señales correspondientes a los protones vinílicos del metileno exocíclico (H-14) observadas para el compuesto **(5)**, las cuales fueron sustituidas por una nueva señal simple aguda en 1.33 ppm que indica la presencia de un nuevo metilo, unido a un carbono unido a oxígeno (Tabla 14).

Se observan además una señal doble de doble ($J = 9, 4.5 \text{ Hz}$) en 3.46 ppm, asignada a H-6 y una señal múltiple en 4.7 ppm para H-8, cuyos desplazamientos y multiplicidad son similares a los descritos para el compuesto **(5)**. Una señal doble de cuartetos en 2.84 ppm ($J = 3.5 \text{ Hz}$) es asignada al protón H-7. Para el protón H-5 se observa una señal triple en 2.31 ppm

con una constante de acoplamiento de 10 Hz que indica acoplamientos axial-axial con H-1 y H-6 y por lo tanto una fusión *trans* entre los anillos de 5 y 7 miembros. Las señales para los protones 1, 2, 3 y 9b se encuentran en la región de 1.65 a 1.9 ppm las cuales por su sobreposición no pudieron asignarse con exactitud.

El espectro de RMN ^{13}C (espectro 35) muestra señales para 15 carbonos que corresponden a 2 metilos, 4 metilenos, 5 metinos y 4 carbonos no protonados de acuerdo con los experimentos DEPT y acorde con la estructura propuesta para el compuesto (8) (Tabla 14).

Tabla 14: Datos de RMN del Compuesto (8) Triol (CDCl₃)

	^1H (500 MHz) δ ppm	^{13}C (125 MHz) δ ppm
1	1.65 - 1.9 m	45.6
2	1.65 - 1.9 m	23.8
3	1.65 - 1.9 m	40.9
4	-	81.0
5	2.32 t (10)	52.2
6	4.36 dd (9 ; 4.5)	73.8
7	2.84 dc (3.5)	53.6
8	4.71ddd (8.5; 2.5)	65.9
9A	2.42 dd (13.5 ; 3)	50.8
9B	1.66 m	
10	-	71.8
11	-	135.2
12	-	169
13A	5.64 d (3)	122.1
13B	6.42 d (3.5)	
14	1.37 s	30.4
15	1.33 s	23.2

7.7 Germacra-1(10),3(4)-dien-5,6-di-O-isopropil-ólida. Acetónido (9).

El acetónido (9) se produjo en la reacción de apertura del epóxido del compuesto (2) con tetraciano etileno como un sólido cristalino de un punto de fusión 195-197 °C, soluble en diclorometano. En su espectro en el IR (CHCl₃) (espectro 36) se observó la banda en 1759 cm⁻¹ correspondiente a la γ -lactona conjugada. El espectro de masas (espectro 37) mostró un ión molecular [M]⁺ de $m/z = 304$, esto es 40 unidades de masa más en comparación con el compuesto (2), y congruente con la fórmula molecular C₁₈H₂₄O₄.

El espectro de RMN ^{13}C (espectro 39), muestra señales para 18 carbonos, los cuales de acuerdo con los experimento DEPT corresponden a 5 carbonos no protonados, 6 metinos, 3 metilenos y 4 metilos (Tabla 15).

En el espectro de RMN ^1H (espectro 38) se observan las señales características del metileno exocíclico conjugado con una γ -lactona en 5.64 y 6.40 ppm, mismas que en el experimento COSY (espectro 40) muestran acoplamiento con una señal múltiple en 3.05 ppm la cual a su vez está acoplada con una señal doble de cuarteto en 4.55 ppm por lo que estas señales fueron asignadas de acuerdo con sus desplazamientos químicos a H-7 y H-8, respectivamente.

La señal en 4.55 ppm (H-8) muestra acoplamiento con la señal triple en 2.1 ppm ($J = 12$ Hz) y con la señal doble de doble en 2.7 ppm ($J = 12.5; 3$ Hz) que a su vez se encuentran acopladas entre sí y con la señal del metileno en 45.3 ppm en el experimento HSQC, (espectro 41) por lo que estas últimas son asignadas a H9a y H9b y C-9, respectivamente.

En la región de bases oxigenadas se observó en 4.26 ppm una señal doble ($J = 9$ Hz) y en 3.95 ppm una señal doble de dobles ($J = 9.5; 1.5$ Hz), acopladas entre sí según el espectro COSY, las cuales fueron asignadas a H-5 y H-6. La región de protones vinílicos muestra dos señales, la primera una señal doble de cuartetos en 5.84 ppm que muestra acoplamiento con el metilo en 1.76 ppm (Me-15), y la segunda, una señal doble ancha en 5.31 ppm que correlaciona con el metilo en 1.81 ppm (Me-14) en el espectro de COSY, por lo que fueron asignadas a H-3 y H-1, respectivamente.

Lo anterior fue corroborado por las correlaciones H-3/C-5 y H-1/C-9 observadas en el experimento de HMBC. La asignación de las señales de los grupos metilo C-14 y C-15 se confirmó con base en los acoplamiento $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ a dos y tres enlaces observados en el experimento HMBC. Las señales en 1.35 y 1.36 ppm fueron asignados a los metilos C-17 y C-18, respectivamente.

Tabla 15: Datos de RMN del Acetónido (9).

	¹ H (500 MHz) δ ppm	¹³ C (125 MHz) δ ppm
1	5.31 da (10.5)	130.6
2a	2.55 dddc (15.5, 9.5, 1.5, 1.5)	26.5
2b	3.01 dddc(15.5, 10.5, 4.0, 2.0)	-
3	5.84 ddc (9.5, 3.5, 1.5)	129.9
4	-	134.1
5	4.26 d (9.0)	75.4
6	3.95 dd (9.5, 1.5)	78.2
7	3.05 dc (4.5, 2.0)	42.7
8	4.55 ddd (12, 5, 3)	75.4
9a	2.1 t (12)	45.3
9b	2.7 dd (11.5 ; 2)	-
10	-	126.9
11	-	137.0
12	-	169.5
13a	5.64 d (2.5)	122.7
13b	6.41 d (3.5)	-
14	1.81 t (1.5)	17.5
15	1.76 t (2)	17.9
16	-	107.8
17	1.35 s	26.7
18	1.37 s	26.9

El experimento NOESY (espectro 42) nos permite establecer una disposición *cis* para el doble enlace C3-4 y *trans* para el doble enlace C1(10), ya que se observaron interacciones entre los protones del metilo sobre C-4 (Me-15) y el protón vinílico H-3, así como con los protones H-6 y H9a con orientación α , mientras que el protón vinílico H-1 no mostró interacción con el Me-14, pero muestra interacciones con H-9a y H-7 ambos α . Las señales de los metilos C-17 y C-18 se asignaron de acuerdo con las interacciones observadas, mientras que la señal para el carbono del metilo 17 muestra interacción con H-6 α , la señal del C-18 la presenta con H-8 β . (Figura 14)

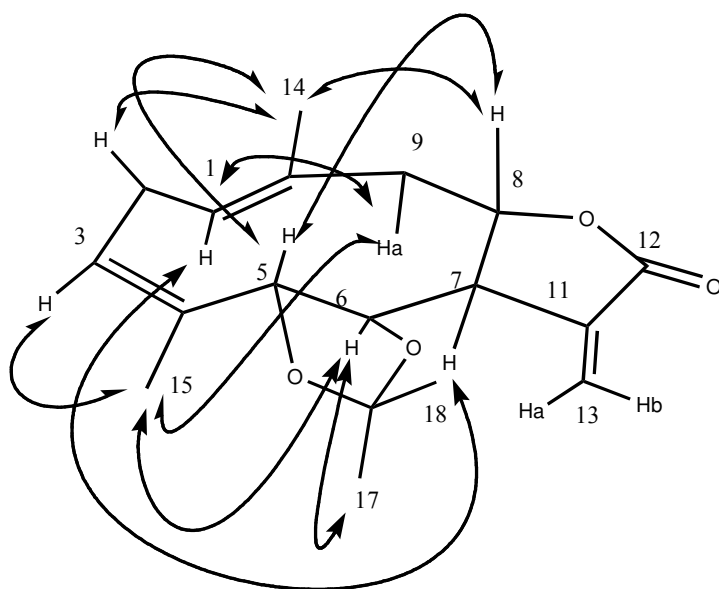


Figura 14: Interacciones espaciales del acetónido (9).

La estructura y conformación propuestos fueron confirmados por difracción de rayos X. (Figura 15)

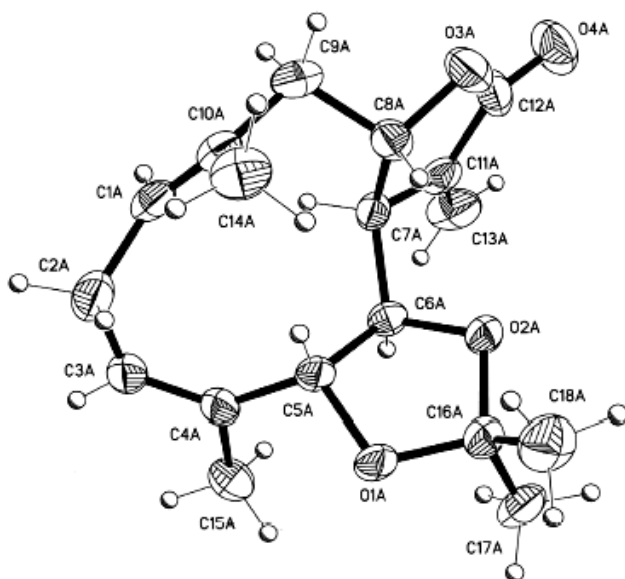


Figura 15: Estructura cristalina del acetónido (9) determinada por difracción de Rayos X

7.8 Germacra-1(10),4(15)-dien-(5,6-di-O-isopropil)-ólida. Acetónido (10).

El acetónido (10) fue otro de los productos aislados de la reacción de apertura del epóxido del compuesto (2) con tetracianoetileno. Es un sólido cristalino con un p.f. 131-135 °C que fue identificado como el isómero del compuesto (9). Su espectro en el IR (CHCl_3)

(espectro 43) fue similar al del compuesto (9) y su espectro de masas (espectro 44) mostró también un ión molecular $[M]^+$ $m/z = 304$ ($C_{18}H_{24}O_4$).

La diferencia más significativa del espectro de RMN 1H (espectro 45) del compuesto (10) comparado con el compuesto (9) es la ausencia de la señal del protón vinílico H-3 y de la señal de uno de los metilos vinílicos (Me-15) que son sustituidas por dos señales simples anchas en 5.29 y 5.36 ppm pertenecientes a los protones de un metileno exocíclico, que debe encontrarse en la posición C-4 ya que en el espectro HMBC (espectro 48) se observa la correlación de estos protones con C-5 (78.94 ppm). Se observa además la señal que corresponde al protón vinílico H-1 cuyo desplazamiento se mantiene en 5.37 ppm semejante al observado en el compuesto (2) aunque en el caso de (10) la señal esta sobrepuesta con una de las señales de los protones en C-15.

El resto del espectro mantiene semejanza en desplazamiento químico y multiplicidad al del compuesto (9). (Tabla 16)

Tabla 16: Datos de RMN del Acetónido (10).

	1H (500 MHz) δ ppm	^{13}C (125 MHz) δ ppm
1	5.37 da (9.5)	127.8
2a	2.20 m	26.7
2b	2.45 m	-
3a	2.40 m	34.1
3b	2.46 m	-
4	-	143.8
5	3.65 d (9.5)	78.9
6	4.04 dd (9.5, 2.5)	80.8
7	3.10 dc (5.0, 2.5)	42.6
8	4.51 ddd(12.0, 4.5, 3.5)	75.1
9a	2.07 t (12)	45.0
9b	2.69 dd (12.0, 3.5)	-
10	-	131.2
11	-	136.2
12	-	169.6
13a	5.69 d (3.0)	122.9
13b	6.42 d (3.0)	-
14	1.80 s	18.4
15a	5.30 s	116.9
15b	5.37 s	-
16	-	107.6
17	1.39 s	27.0
18	1.34s	26.8

El espectro de RMN ^{13}C (espectro 46) y los experimentos DEPT muestran 18 señales que corresponden a 5 carbonos no protonados, 5 metinos, 5 metilenos y 3 metilos. Lo que confirma la presencia de dos metilenos adicionales, uno vinílico en 116.9 ppm y otro de tipo sp^3 en 34.1 ppm. En cuanto a la esteoquímica y la conformación el compuesto (**10**) mostró en el espectro NOESY (espectro 48, 49) interacciones del metilo C-14 (δ 1.79) con H-5 y H-8 de orientación β , mismos que a su vez muestran correlación con la señal del metilo en 1.38 ppm y que por lo tanto debe corresponder al Me-18, mientras la señal en 1.33 ppm muestra interacciones con la señal del protón H-6 con orientación α , que debe corresponder al Me-17 (Figura 16).

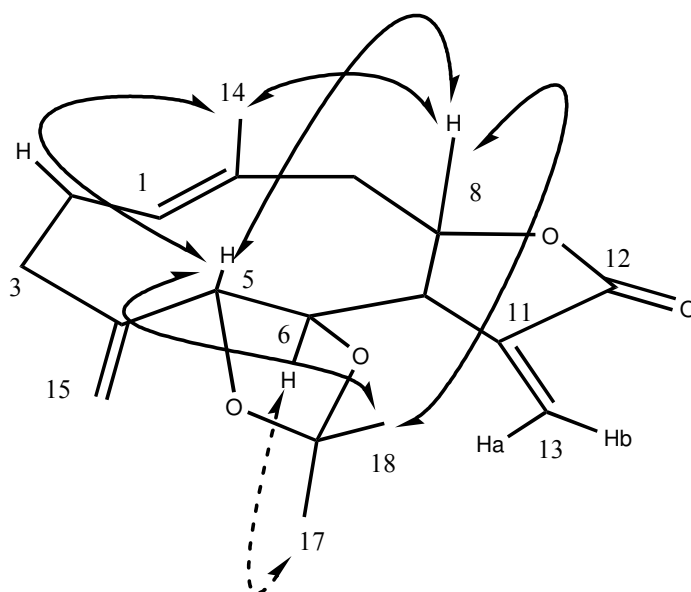


Figura 16: Interacciones espaciales del acetónido (10).

7.9 Resultados del uso de ácido *p*-toluensulfónico en el epóxido (2).

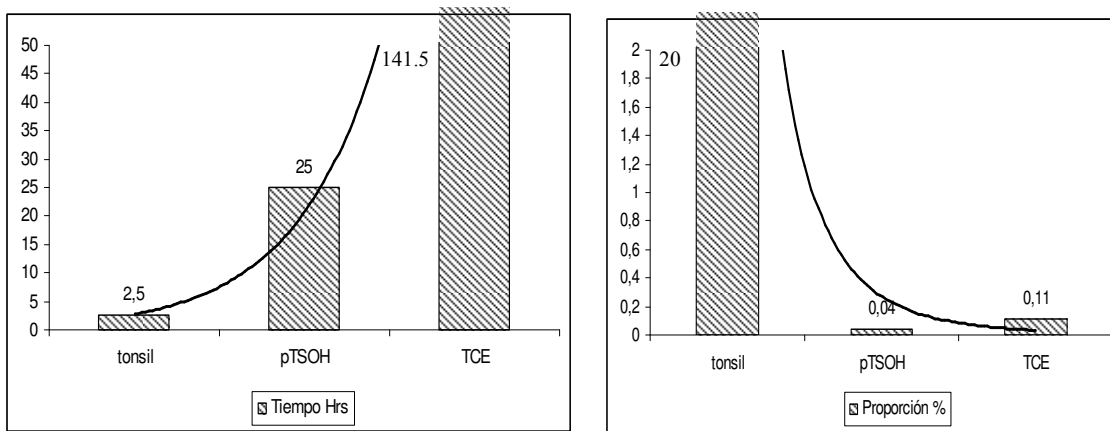
Haciendo una comparación de los productos, rendimientos y las condiciones de reacción se observa que con el ácido *p*-toluensulfónico, aunque se requieren tiempos de reacción mayores (25 hrs) que con el tonsil, se tiene la ventaja que se usa en cantidades catalíticas mientras que con el tonsil se usaron proporciones mayores (1:20). Además con ácido *p*-toluensulfónico se

obtiene una mezcla de reacción menos compleja y rendimientos mayores que con la arcilla bentonítica.

7.10 Resultados del uso de tetraciano etileno (TCE).

En un primer intento usando las proporciones descritas en la literatura de 1:0.1 (mol/mol) en metanol por 24 hrs, no se obtuvieron resultados por lo que se modificó la proporción a 1:0.2 (mol/mol) y un tiempo de 141.5 hrs. Como disolvente se usó una mezcla de metanol/acetona 9:1 buscando la formación de los acetónidos.

En la gráfica 2 se observa la comparación en tiempo de reacción empleando los tres reactivos, así como la proporción utilizada de ellos en sus mejores condiciones de reacción. El tetracianoetileno aunque posee un tiempo de reacción muy largo, la proporción usada de reactivo es pequeña (1:0.1). La ventaja más significativa en el uso del tetraciano etileno fue la obtención de la grandiflórída (**3**); lo cual no había sido posible con ácido *p*-toluen sulfónico ni con el tonsil.



Gráfica 2: Comparativo de tiempo de reacción y proporción en el uso de los diferentes reactivos

7.11 Grandiflórída (3).

De las fracciones de mayor polaridad del experimento realizado usando el tetraciano etileno se aislaron 3.4 mg de un producto cuyo espectro en el IR (CHCl_3) (espectro 17) mostró bandas de absorción en 3692.5 cm^{-1} y 3578 cm^{-1} indicadores de la presencia de grupos OH, en 1759 cm^{-1} de grupo carbonilo de γ -lactona y en 1663 cm^{-1} de dobles enlaces de tipo terminal.

En el espectro de masas (espectro 18) se observa un ion molecular $[\text{M}]^+$ de $m/z = 264$ que concuerda con la fórmula molecular $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{O}_4$ además de otros fragmentos significativos de $m/z = 246$ $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}]^+$ y 228 $[\text{M}-2\text{H}_2\text{O}]^+$, que confirma la presencia de dos grupos oxidrilo en la molécula.

El espectro de RMN ^1H (espectro 19) es similar al del acetónido (**10**), en él se observan las señales dobles en 6.48 y 5.66 ppm, características de los protones vinílicos del metileno exocíclico conjugado en la γ -lactona (H-13), así como los cambios inherentes a la formación de un alcohol alílico. Dos señales simples anchas en 5.16 y 5.17 ppm asignadas al metileno exocíclico H-15 producto de la apertura tipo Markovnikoff del epóxido (**2**) y la subsecuente formación del doble enlace exocíclico $\Delta^{4(15)}$ al estabilizarse el carbocación. En 1.73 ppm se observa la señal correspondiente al metilo vinílico (Me-14). La señal triple ancha en 5.28 ppm es asignada al protón vinílico H-1, la cual muestra acoplamiento con el metilo vinílico en el experimento COSY (espectro 20).

En la región de bases oxigenadas se observa una señal doble en 3.4 ppm ($J=10$) acoplada con una señal doble de dobles en 4.03 ppm ($J=10; 1.5$), las cuales fueron asignadas a los protones H-5 y H-6, respectivamente, ya que esta última mostró acoplamiento con la señal correspondiente a H-7 en 3.08 ppm (Ver Tabla 17).

8. Conclusiones.

Se llevó a cabo la síntesis biomimética de la grandiflórída (**3**), a partir de la 6-*epi*-desacetil laurenobiólida (**1**). La biomimetización de una ruta biogénica no es tarea fácil debido a la variedad de productos alternos que se desprenden en los pasos sintéticos de la misma, razón por la cual los métodos de separación mantienen cierto grado de complejidad.

La biogénesis de la grandiflórída (**3**) aislada de *Montanoa grandiflora*, puede proponerse como la epoxidación inicial de la 6-*epi*-desacetil laurenobiólida (**1**), generando la 6-*epi*-speciformina (**2**) y la posterior apertura tipo Markovnikoff del epóxido, para dar como resultado el diol **3**.

Las 4 α ,5 β -epoxi-*trans*-1(10) germacradienólidas tienden preferentemente a la apertura tipo anti-Markonikoff y la ciclización intramolecular, ante el ataque por ácidos de Lewis, lo que lleva a la formación de guayanólidas (1 α -H, 5 α -H), con una fusión *cis* de los anillos de 5 y 7 miembros. Tomando en cuenta lo ya mencionado los productos de la apertura y ciclización del epóxido (**2**) un 4 β ,5 α -epóxido, resultan novedosos al exhibir una fusión *trans* (1 α -H, 5 β -H) entre los anillos de 5 y 7 miembros. Esto es una consecuencia de la conformación preferida del ciclodecadieno en la 6-*epi*-desacetil-laurenobiólida.

La 6-*epi*-desacetil-laurenobiólida (**1**), así como sus derivados 6-*epi*-speciformina (**2**) y los acetónidos (**9**) y (**10**) existen a temperatura ambiente como mezcla de confórmeros, debido al giro de enlaces C1/C-2 y C10/C-9 dando lugar al cambio de orientación (α - β) del grupo metilo sobre C-10 (C-14).

El tonsil como ácido de Lewis presentó los siguientes inconvenientes:

- ❖ La retención de los productos de reacción en la arcilla es de alrededor de un 24% debiéndose esto a las cantidades tan grandes de arcilla manejadas.
- ❖ La mezcla de reacción resulta más compleja que la obtenida con los otros ácidos.

El ácido *p*-toluensulfónico es un reactivo que nos permite tiempos de reacción cortos.

El tetracianoetileno fue el reactivo que dió los mejores resultados en la apertura tipo Markovnikoff de la 6-*epi*-speciformina (**2**), permitiendo la formación de la grandiflórida (**3**), teniendo por inconveniente sus prolongado tiempo de reacción.

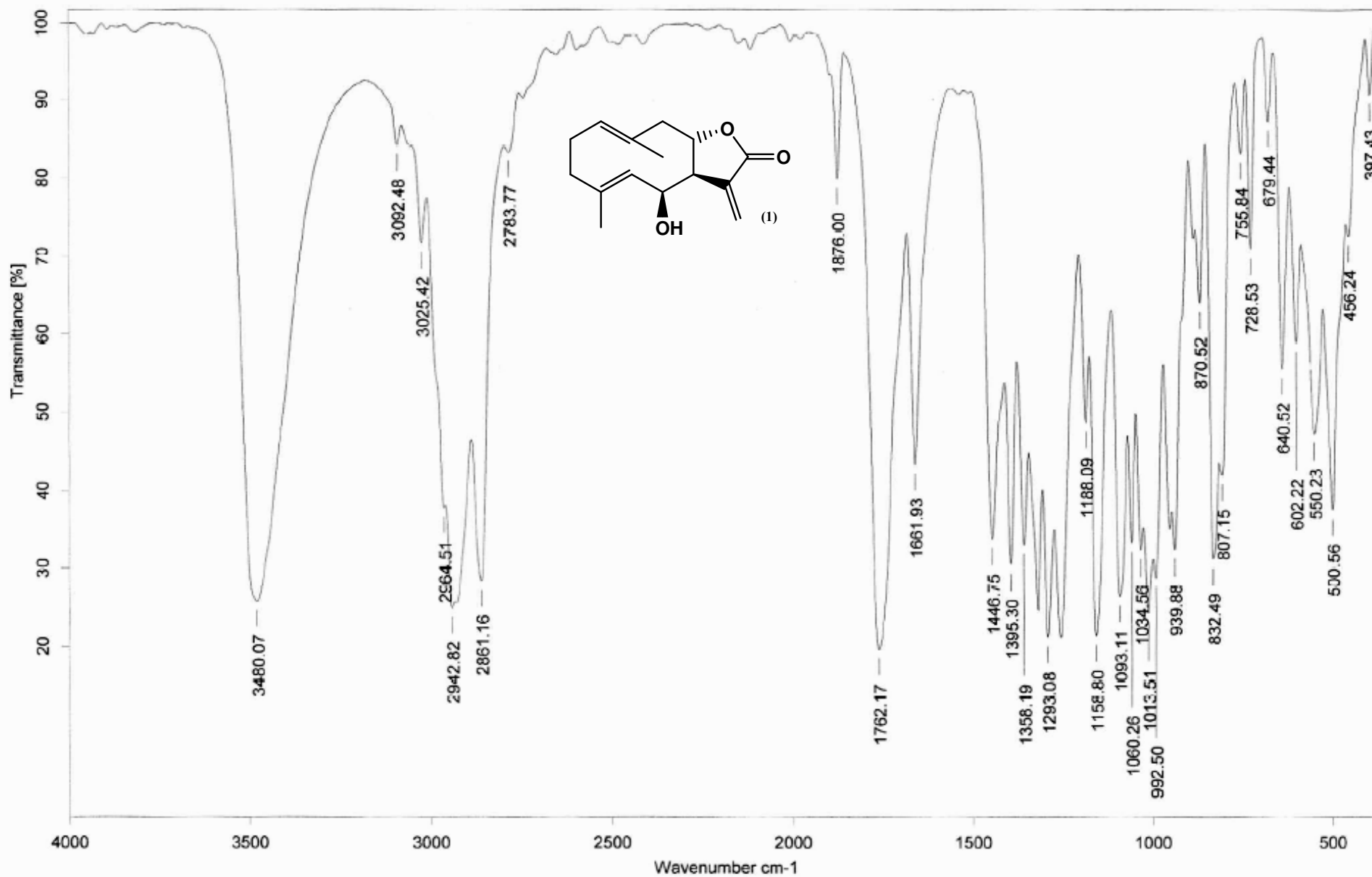
9. Bibliografía:

1. Romo de Vivar A., “**Productos Naturales de la flora mexicana**”, Edit. LIMUSA, México, pag: 35-59 (1985)
2. Sánchez Sánchez O. “**Las excursiones botánicas en el Distrito Federal**”, Secretaria de educación Pública, Escuela Normal Superior, México (1958).
3. Rzedowski Jerzy, “**Vegetación de México**”. LIMUSA, S.A. (1983).
4. Heinrich M., Robles M., West J.E., Ortiz de Montellano B. R., Rodriguez E., “**Ethnopharmacology of Mexican Asteraceae (Compositae)**”, *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* Vol 38 pag.: 539–65 (1998)
- 4a. V. Sachs Julius, “**Lehrbuch der Botanik**”, 3a edition: 1873.
5. **Biblioteca de Consulta Microsoft® Encarta® 2005**. © 1993-2004 Microsoft Corporation.
6. Humboldt, F.H.A. von A.J. Bonpland & C.S. Kunth, “**Nova Genera et Species**”, Vol. 4, pag: 1-274, Paris (1820).
7. Llave, P. de la & I. Lexarza, “**Novorum Vegetabilium Descriptiones**”, Fasc, 2, pag: 1-13, (1825).
8. Robinson B.L. & J.M. Greenman, “**Revision of the genera *Montanoa*, *Perymenium* and *Zaluzabia***” *Proc. Amer. Acad. Arts*, Vol. 34, pag: 507-521, (1899).
9. Blake S.F., “***Montanoa***” en: Standley, P.C., **Trees and Shrubs of Mexico**, Contr. U.S. Natl. Herb., Vol 23, pag: 1529-1536
10. Funk V.A., “**Memoirs of the New York Botanical Garden, The sistematics of *Montanoa* (Asteraceae, Heliantheae)**”. November 1982.
11. Ruzicka L. “**The isoprene Rule and the Biogenesis of Terpenic Compounds.**” *Experientia* 9, 357 (1953).
12. Hendrickson J.B., “**Stereochemical Implications in Sesquiterpene Biogenesis**”, *Tetrahedron* 7, 82 (1959).
13. Doskotch R. W., F.S. El-Feraly, E. H. Fairchild, C. Huang, “**Peroxyferolide: a Cytotoxic Germacranolide Hydroperoxide from *Liriodendrom tulpifera*.**” *Chemical Communications* 402 (1976).
14. El-Feraly F. S., Chan Y.M., Fairchild E.H., and Doskotch R.W., “**Peroxycostunolide and Peroxyparthenolide: two cytotoxic germacranolide hydroperoxides from *Magnolia grandiflora*. Structural revision of Verlotorin and Artemorin**”. *Tetrahedrom Letters* 1977 (1973).
15. Cairns-Sith and H. Harman, “**Clays minerals and the origin of life**”, Cambridge University 1986.
16. Miranda Ruvalcaba R., **Tesis doctoral: “Aportaciones a la química orgánica empleando tonsil, una arcilla bentonitita como Catalizador**”, México D.F. (2000)
17. Cornelis Klein, Cornelius S., Hurlbut, Jr., “**Manual de mineralogía 4a edición**”, REVERE S.A., Octubre 2003
18. Deer, Howie & Zussman, “**An introduction to The Rock-Forming Minerals**”, Longman Scientific & Technical, pag. 369-376 (1972)

19. www.quiminet.com, "Usos y aplicaciones de las tierras bentoníticas"
20. Aceves J.M., Arroyo G.A., Vargas Y.M., Miranda R, Cabrera A. and Delgado F, "**Promotion of 1-3dithiolanes using a Bentonitic clay as catalyst**", *Heteroatom Chemistry*, Vol. 15, No. 1, (2004)
21. Miranda R., Osnaya R., Garduño R., Delgado F., Ivarez C., and Salmon M. "**A general alternative to obtain S.S-acetals using TAFF, a bentonitic clay, as the catalyst**", *Synthetic Communications*, 31(10), pag.: 1587-1597, (2001)
22. Arroyo G., Osnaya R., Cruz T., Londoño A., Alvarez C., Delgado F., Santiago R., and Miranda R., "**Oxidation of thiols with metal nitratessupported on TAFF**" *Heteroatom Chemistry*, Vol. 14, No. 3, (2003)
23. Miranda R., Escobar J., Delgado F., Salmón M., Cabrera A., "**Catalytic promotion of piperonyl alcohol to trimethylendioxyorthocyclophane by bentonitic earth, or by hydrochloric acid**", *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, Vol:150 pag.: 299-305 (1999)
24. Bernardo F., Arroyo G., Noguez O., Aceves J.M., Domínguez J.M., Delgado F., Miranda R., "**Layared silicates and mesostructured aluminosilicates promoters of benzyltoluenes**"., *Revista de la Sociedad Química de México* Vol 47, No. 4, pag.: 295-297, (2003)
25. Delgado F., Rios H., Aceves J.M., Penieres G., Arroyo G., Velasco B., and Miranda R., "**Characterization an application of a new natural catalyst**" *Regional issue: "Organic Chemistry in Mexico"*, ARKIVOC(2003)(xi) 118-131
26. Salmon M., Osnaya R., Gómez L., Arroyo G., Delgado F., Miranda R., "**Contribution to the Biginelli reaction, using a bentonitic clay as catalyst and a solventless procedures**", *Revista de la Sociedad Química de México* Vol. 45, No. 4, pag: 206-207, (2001)
27. Penieres G., Miranda R., and Alvarez C., "**The action of bentonitic earth on natural product epoxides (1)**"., *Journal Heterocyclic Chemistry*, Vol. 18, pag.: 1475, (1981)
28. Ortega A., Maldonado E., "**A one step transformation of 4 α ,5 β -epoxigermacranolide into pseudoguaianolide**" *Heterocycles*, Vol. 29, No. 4, pag.: 635-8, (1989)
29. Mann J. **Secondary metabolism**, Oxford, Clarendon, 1987
30. Fischer N.H., Olivier E.J., and Fischer H.D, **Progress in the Chemistry of Organic Natural Products**, Springer-Verlag, New York, 1979.
31. García-Granados A., Molina A., and Cabrera E., "**Biomimetic cyclization of 4 β , 5 α -epoxy-6 β -acetoxy-trans-germacr-1(10)-ene to form cis-(1 β -H;5 β -H)-guaianes**"., *Tetrahedron*, Vol 42, No.1, pp 81 – 87, (1986)
32. González A.G., Galindo A. and Mansilla H., "**Biomimetic cyclization of gallicin to form guaianolides**", *Tetrahedron*, Vol 36, pp 2015 – 2017, (1980)
33. González A., Galindo G.A., Mansilla H. and Gutiérrez A., "**An alternative model for biogenesis of cis-guaianolides**", *Revista Latinoamericana de Química*, 12, 32-34, (1981)
34. Parodi F.J., Fronczek F.R. and Fischer N.H. "**Biomimetic transformation of 11,13-dihydroparthenolide and oxidative rearrangements of a guai-1(10)-en-6,12-olide**", *Journal Natural Products*, Vol. 52, No. 3, pp 554 – 566 (1989)

35. Delgado G. Guzmán S, “**Acid-induced rearrangements of the melampolide schkuhriolide. An alternative approach to the oplopane skeleton**” *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, 606 (1992)
36. Haruiko Tada and Ken'ichin Takeda, “**Sesquiterpenes of Lauraceae plants. IV Germacranolides from *Laurus nobilis* L.**” *Chem. Pharm. Bull.*, 24(4), 667 – 671, (1976)
37. Haruiko Tada and Ken'ichin Takeda, “**Structure of the sesquiterpene lactone Laurenobiolide**” *Chemical Communications*, pag. 1391, (1971)
38. Kazuo Tori, Isao Horibe, Youko Tamura, Kaoru Kuriyama, Haruhiko Tada and Ken'ichi Takeda, “**Re-investigation of the conformation of laurenobiolide , a ten-membered ring sesquiterpene lactone by variable-temperature carbon-13 NMR spectroscopy. Evidence for the presence of four conformational isomers in solution**”, *Tetrahedron Letters*, No 5, pp 387 – 390, (1976)
39. Barrero A.F., Sánchez J.F. and Arana E., “**Germacranolides from *Santolina rosmarinifolia* subsp. *Canescens***”, *Phytochemistry*, Vol. 27, No. 12, pp 3969 – 3970. (1988)
40. Quijano L., Calderón J.S., Gómez G.F., López P.J., Ríos T. and Fronczek F.R., “**The cristal sructure of 6-epi-desacetyl Laurenobiolide, a germacra-1(10),4-diene-12,8 α olide from *Montanoa grandiflora***”, *Phytochemistry*, Vol. 23, No 9, pp. 1971-1974, (1984)
41. Nakanishi Koji, *Natural products chemistry*, Vol. 1, Kodansha LTD, Japón 1974.
42. Villa-Ruano N., Betancour-Jiménez M.G., Lozoya-Gloria E., “**Biosíntesis en diterpenos de *Montanoa tomentosa* (Zoapatle)**”, Cartel P-110, 4ª Reunión Nacional de Investigación en Productos Naturales, MTY, N.L. 2007, *Revista Latinoamericana de Química*. Vol 35 Suplemento especial, pp 166 (2007)
43. Cassani J., Navarro Ocaña A., Castillo Rosales E., Solís Oba., Luna H., “**Síntesis Biocatalítica de ésteres de ácidos fenilpropanoides**” Cartel P-109, 4ª Reunión Nacional de Investigación en Productos Naturales, MTY, N.L. 2007, *Revista Latinoamericana de Química*. Vol 35 Suplemento especial, pp 165 (2007)
44. Cano A., Delgado G., “**Biotransformación de lactonas sesquiterpénicas por medio de hongos filamentosos**”, Cartel P-125, 4ª Reunión Nacional de Investigación en Productos Naturales, MTY, N.L. 2007, *Revista Latinoamericana de Química*. Vol 35 Suplemento especial, pp 181 (2007)
45. Minoru Yosihara, Cai Yang, Cui Sheng, Hirotaka Shibuya, Yoshihiro Hamamoto, Nobuo Tanaka, Isao Kitawa., “**Chemical conversion of (4S-5S)-(+)-germacrone 4,5-epoxide, a plausible biogenetic intermediate found in the essential oil of *Zedoriae rhizome* from Yakusima, Japan.**” *Chem. Pharm. Bull.* 34(1), 434-437, (1986).
46. Hirotaka Shibuya, Yoshihiro Hamamoto, Yang Cai, Isao Kitawa., “**A reinvestigation of the structure of zederone, a furanogermacrane-type sesquiterpened from *Zedorai***” *Chem. Pharm. Bull.* 35(2), 924-927 (1987).
47. López Palomares J.; Tesis “**Zoapatanólidas C y D y 6-epi-desacetyl Laurenobiólida, nuevas lactonas sesquiterpénicas aisladas de *Montanoa tomentosa* y *Montanoa grandiflora***”; Instituto Tecnológico de Celaya, Gto., México. Instituto de Química U.N.A.M. (1982),

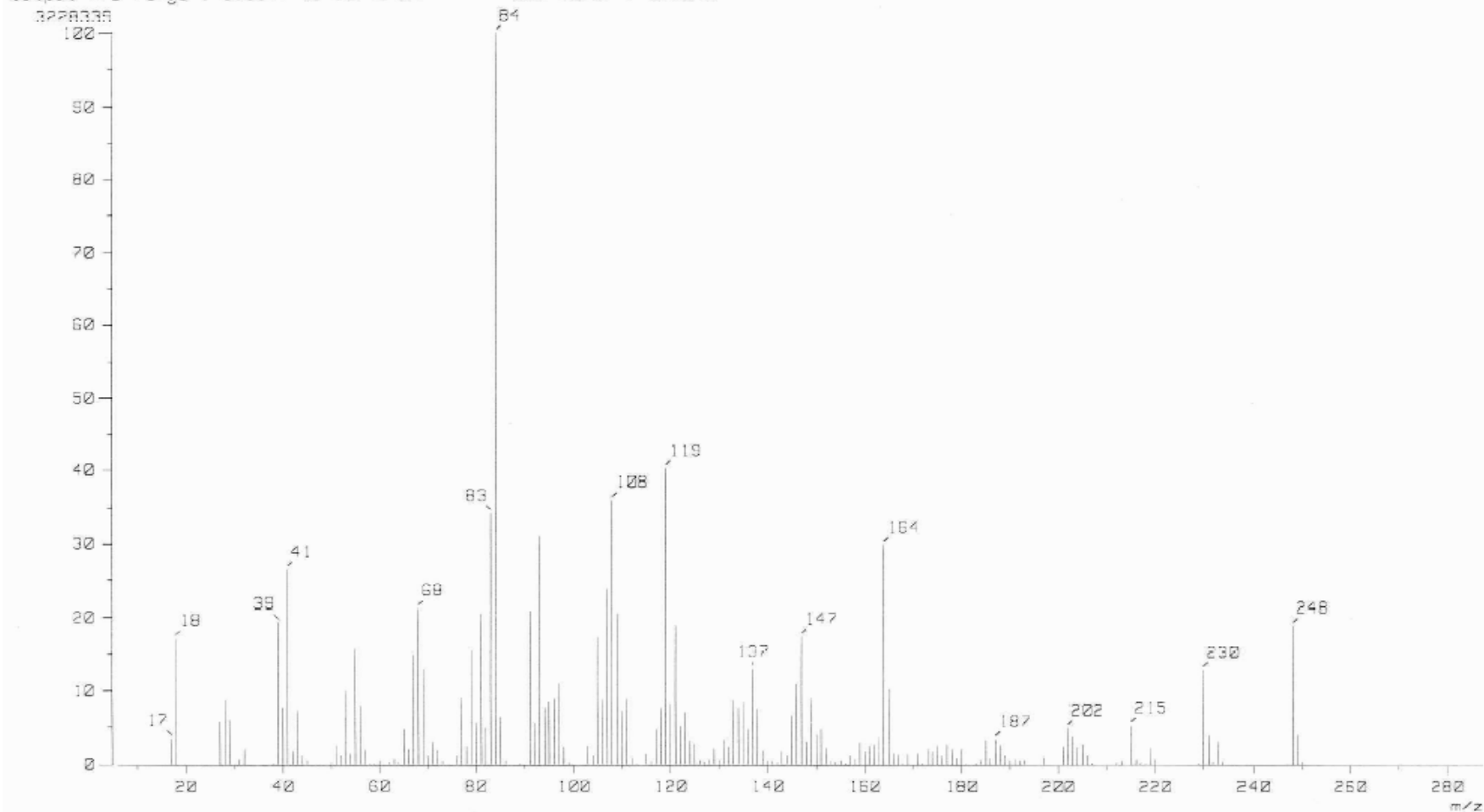
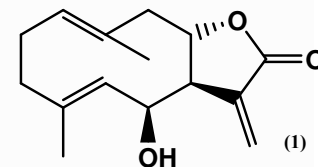
48. Santiago Aspiazu N.R.; Tesis “**Determinación de la estructura molecular de la grandiflórida, una nueva lactona sesquiterpénica aislada de *Montanoa grandiflora***”. Universidad Autónoma de Puebla, Pue. México. Instituto de Química U.N.A.M. (1985)
49. Neukirch H., Guerreiro A. D’Ambrosio M., “**Transannular cyclization in cyclodecenes: The case study of melampolides**”, *European Journal Organic Chemistry*, pag 3969-3975 (2003)
50. Tsankova E., Cerrini S., Lamba D., “**Transannular cyclisation of isogermacrone-epoxides**”, *Tetrahedron*, Vol. 39 No. 20 , pp.: 3397-3403, (1983).
51. Collado G.I. Hanson R.J., Hitchcock P.B., Macías-Sánchez A.J., “**Stereochemistry of epoxidation of some caryophyllenols**”, *Journal Organic Chemistry* Vol 62. pag.: 1965-1969. (1977)
52. Zedeněk Samek and Juraj Harmata, “**Use of structural changes for stereochemical assignments of natural α -exomethylene γ -lactones of the germacra -1(10),4-dienolide type on the basis of allylic and vicinal couplings of bridgehead protons hydrogenations of endocyclic double bonds**”, *Collection Czechoslov. Chem. Commun.* Vol 43, pp. 2779-99, (1978)
53. Tori Kauso, Horibe Isao, Kuriyama Kaoru, Tada Haruhiko, Takeda Ken’ichi, “**Conformational isomers of Laurenobiolide, a new ten-membered-ring Sesquiterpene lactone**”. *Chemical Communications* pag. 1393 (1971)
54. Corro Osorio F., “**Transformaciones químicas de 6-epi-desacetil-laurenobiolida aislada de *Montanoa grandiflora***”, Tesis de licenciatura, Universidad Veracruzana, Orizaba, Ver. (1994)
55. K. Yamaguchi, **Spectral Data of Natural Products**, Vol. 1, ELSEVIER. 1970
56. Rogers D., G.P. Moss and S. Neidle, “**Proposed convention for describing germacranolide sesquiterpenes**”. *Chemical Communications* pag.: 142 (1972)
57. Kupchan S.M., J.E. Kelsey and G.A. Sim; “**The stereochemistry of germacranolide sesquiterpenes**”, *Tetrahedron Letters*, pag. 2863 (1967)
58. Samek Z. “**The determination of stereochemistry of five membered α , β -unsaturated lactones whit and exomethylene doble bond, base on the allylic long-range couplings of exomethylene protons**”. *Tetrahedron Letters* (1970), 671.
59. Sternhell S., “**Correlation of interproton spin-spin-coupling constants whit structure**”. *Quart. Rev. (Chem. Soc. London)* Vol. 23, pag.: 236, (1969).
60. Yoshioka, H.T.J., Mabry, M. A. Irwin, T.A. Geissman and Z. Samek. “**The geminal coupling and paramagnetic shift of exomethylene protons in the α , β -unsaturated γ -lactone gropu of sesquiterpene lactones containing C8-a-hidroxy groups**”. *Tetrahedron* Vol. 27, pag.: 331, (1971).
61. Yoshioka H., T.J. Mabry and B.N. Timenerman, “**Sesquiterpene lactones. Chemistry N.M.R. and plant distribution Tokyo**”. University os Tokio Press, 1973



IR (Pastilla KBr) 6-EPI-DESACETIL LAURENOBIÓLIDA

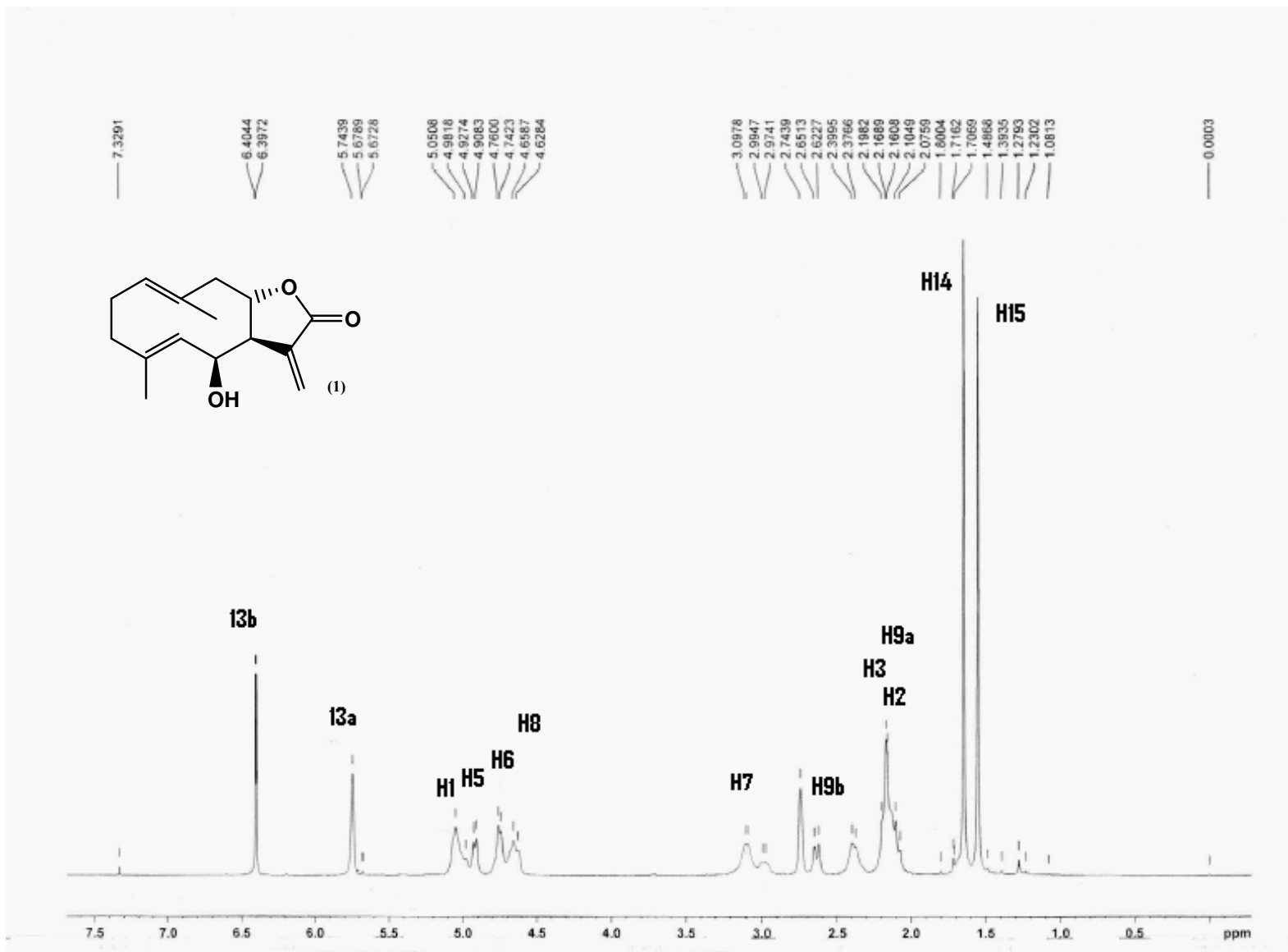
Espectro 1

: Mass Spectrum :
 Date : Dr-Rico-Tinco-207 Date : 26-Sep-12 17:42
 Sample: 1228 M22: 8 ep: Jed1 RX525HA
 Note : Javier-Perez
 Inlet : Direct Ion Mode : EI+
 Spectrum Type : Normal Ion [MF-Linear]
 RT : 2.54 min Scan# : (7,20)
 BP : m/z 84.2022 Int. : 306.58
 Output m/z range : 5.9347 to 287.2424
 Cut Level : 2.22 %

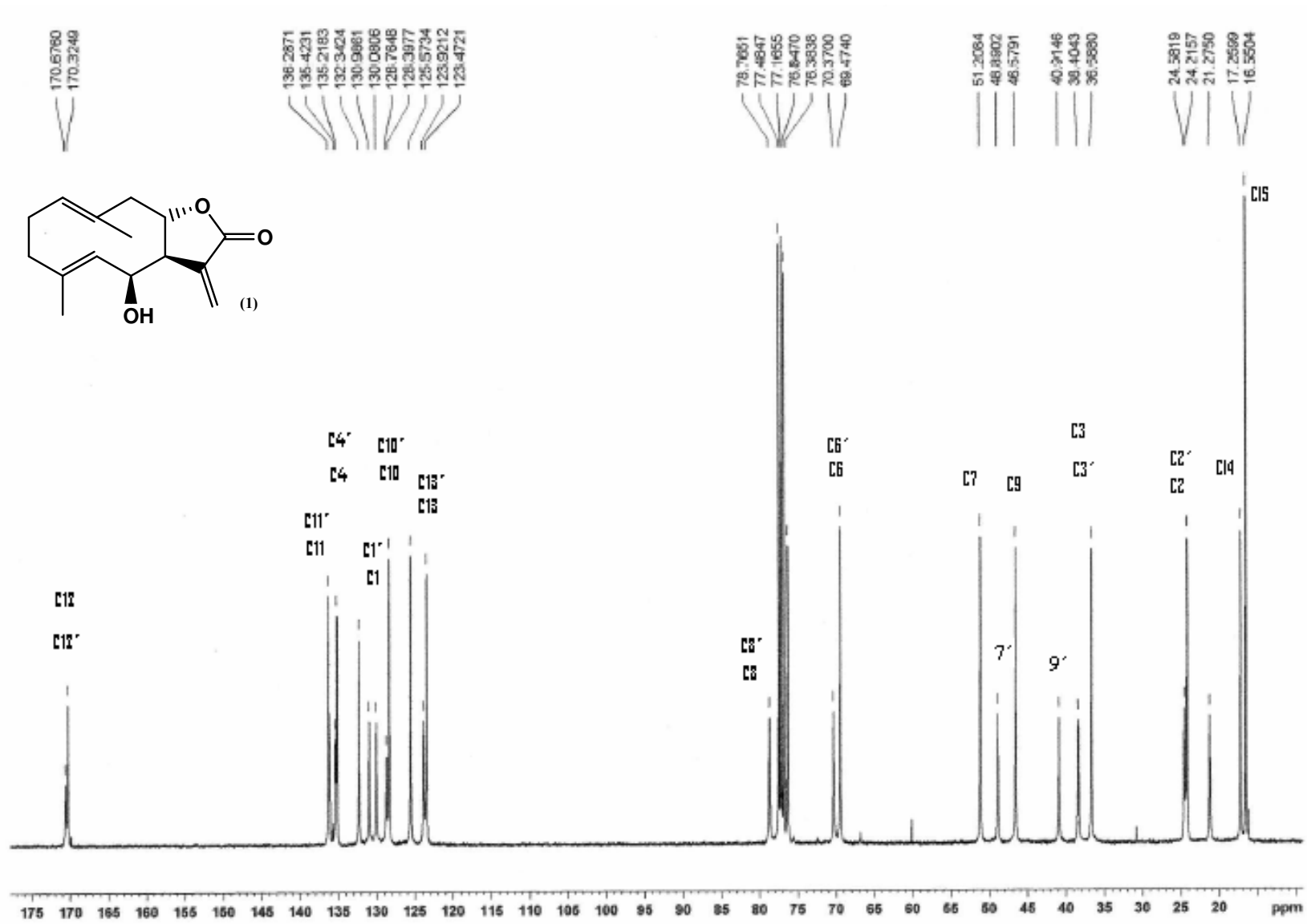


EMIE 6-EPI-DESACETIL LAURENOBIÓLIDA (1)

Espectro 2

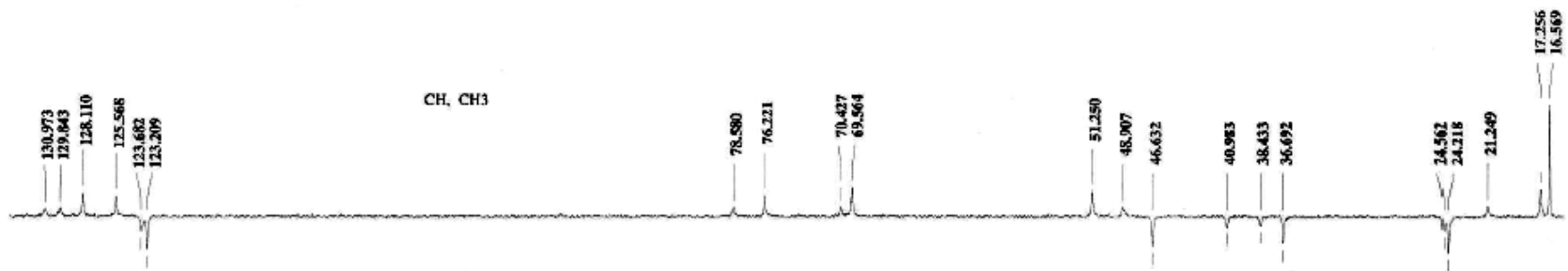


RMN ^1H 400 MHz 6-EPI-DESACETIL LAURENOBIÓLIDA (1)



RMN ^{13}C 200 MHz 6-EPI-DESACETIL LAURENOBIÓLIDA (1)

Espectro 4



INSTITUTO DE QUIMICA, UNAM/ EHS

Dr. T. Ríos/ Alejandro S.

Clave: 6-epi

Disolvente: CDCl₃

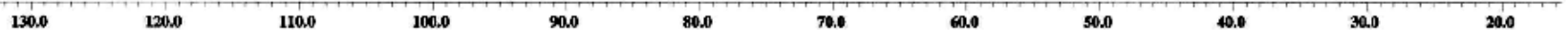
DEPT

Eclipse 300 MHz Jeol (E)

2-III-07

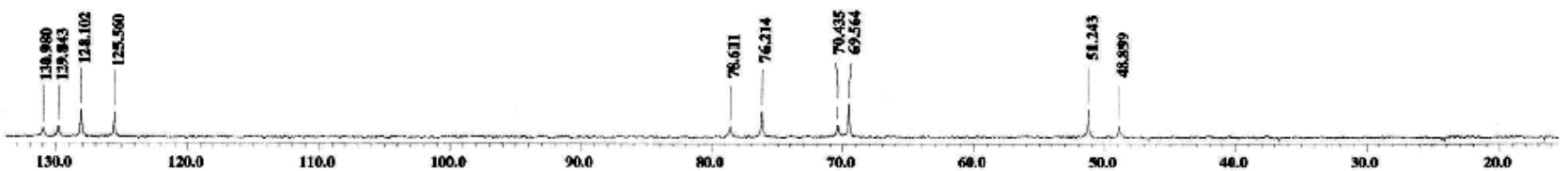
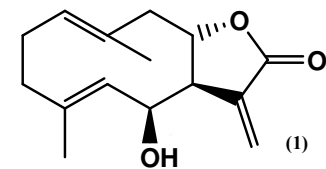
No. de registro: 0722

CH2



X : parts per Million : 13C

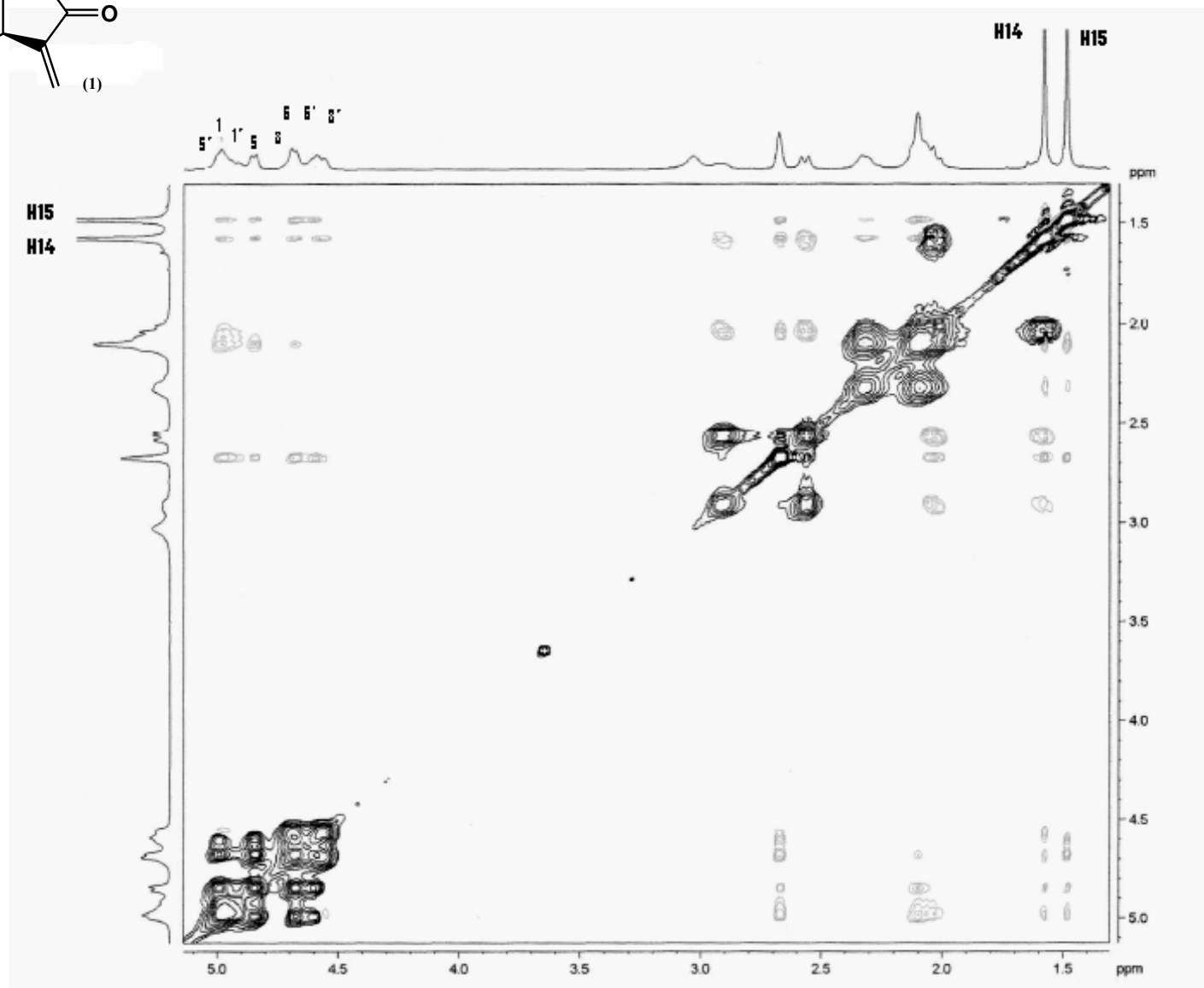
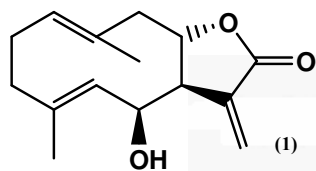
CH



X : parts per Million : 13C

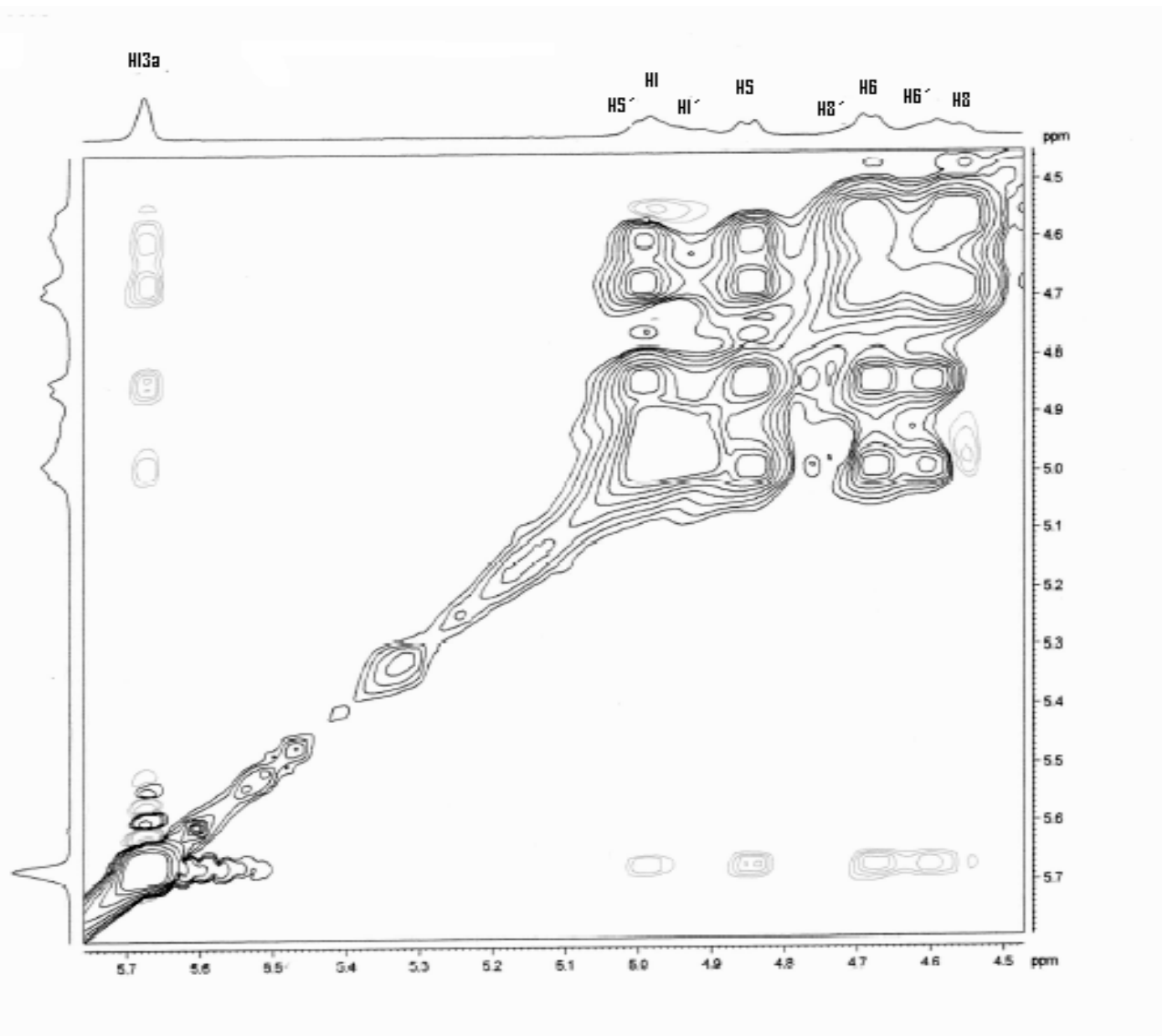
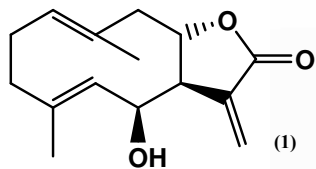
DEPT ¹³C MHz 6-EPI-DESACETIL LAURENOBIÓLIDA (1)

Espectro 5

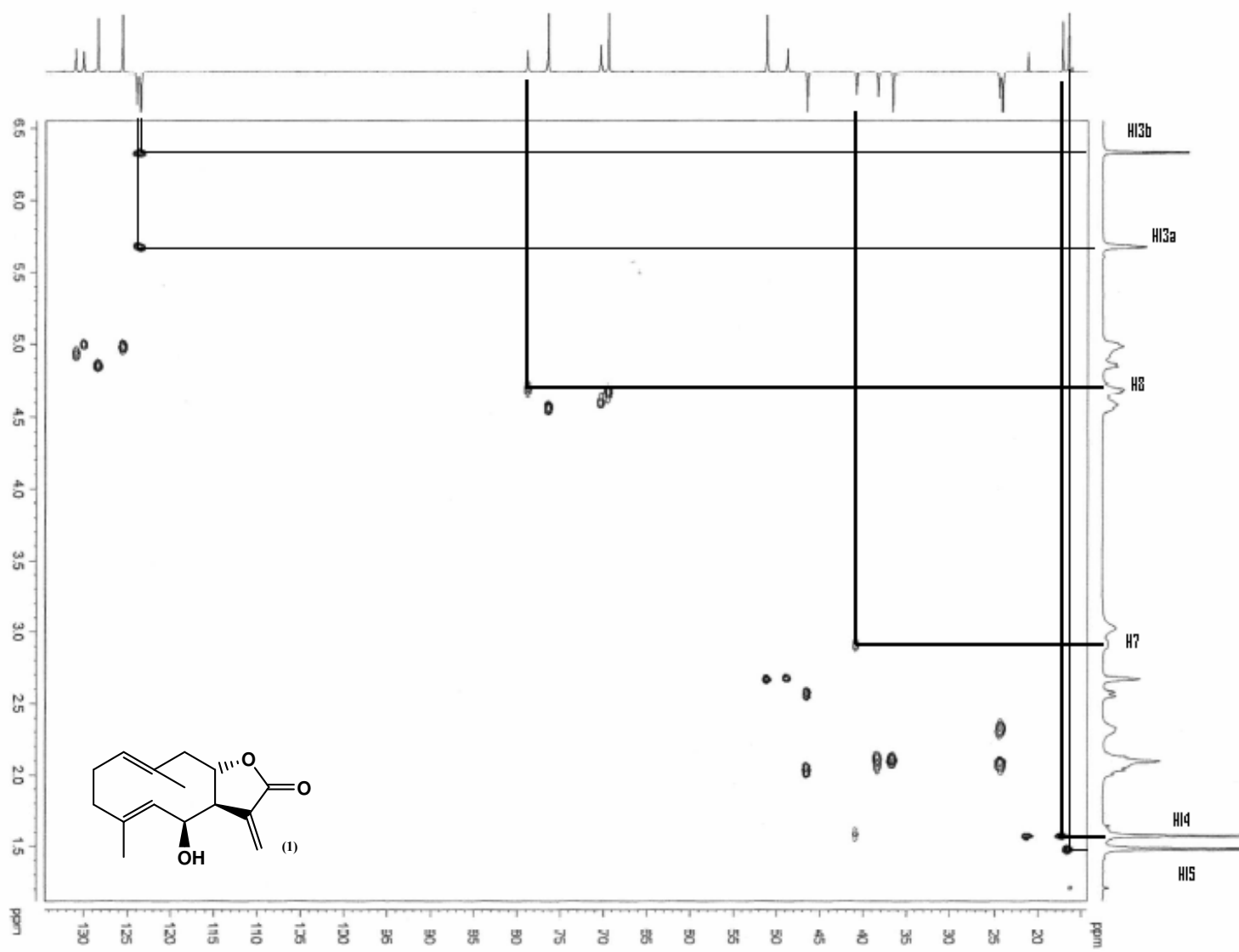


ROESY 6-EPI-DESACETIL LAURENOBIÓLIDA (1)

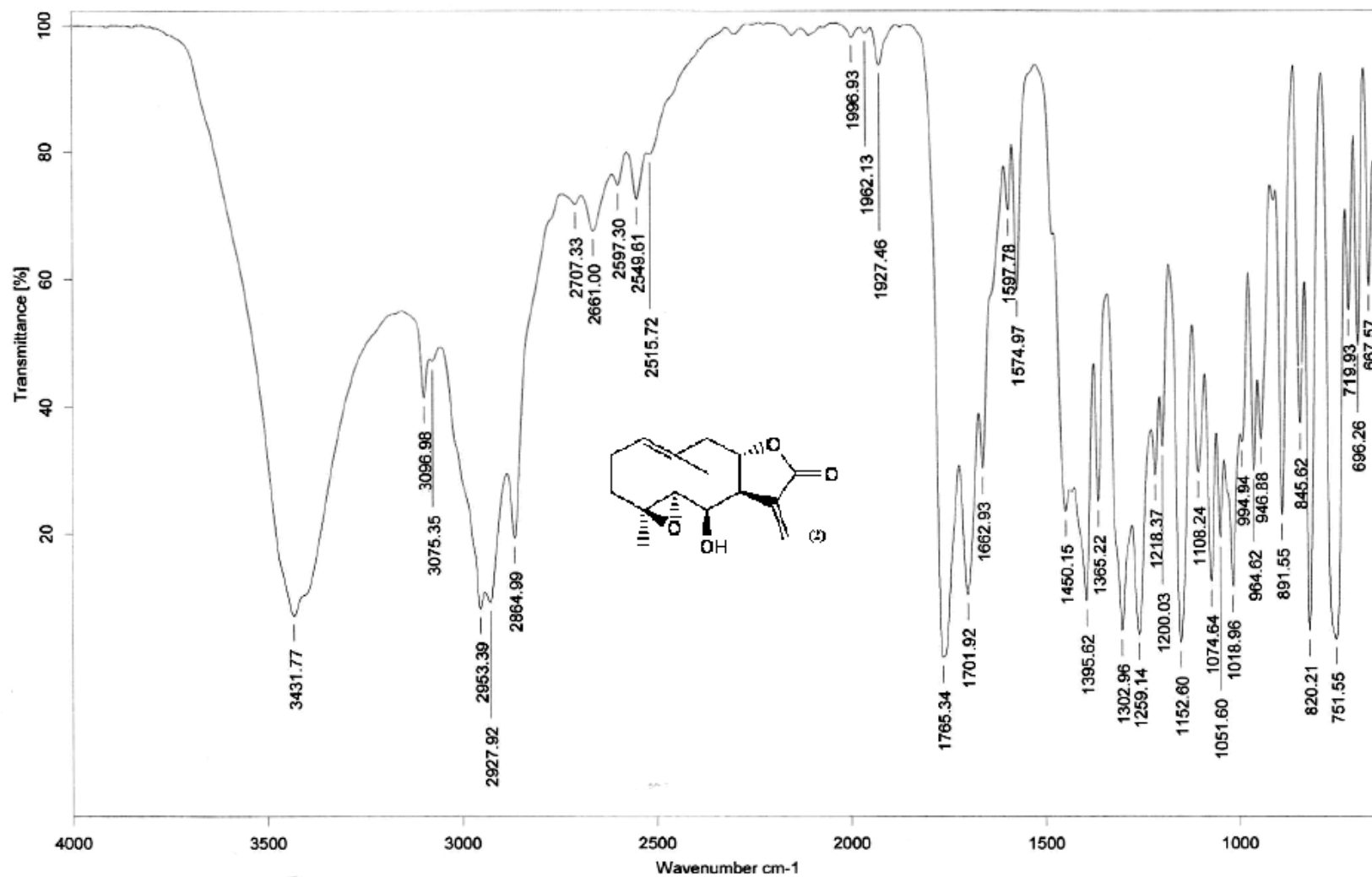
Espectro 6



Ampliación ROESY 6-EPI-DESACETIL LAURENOBIÓLIDA (1)



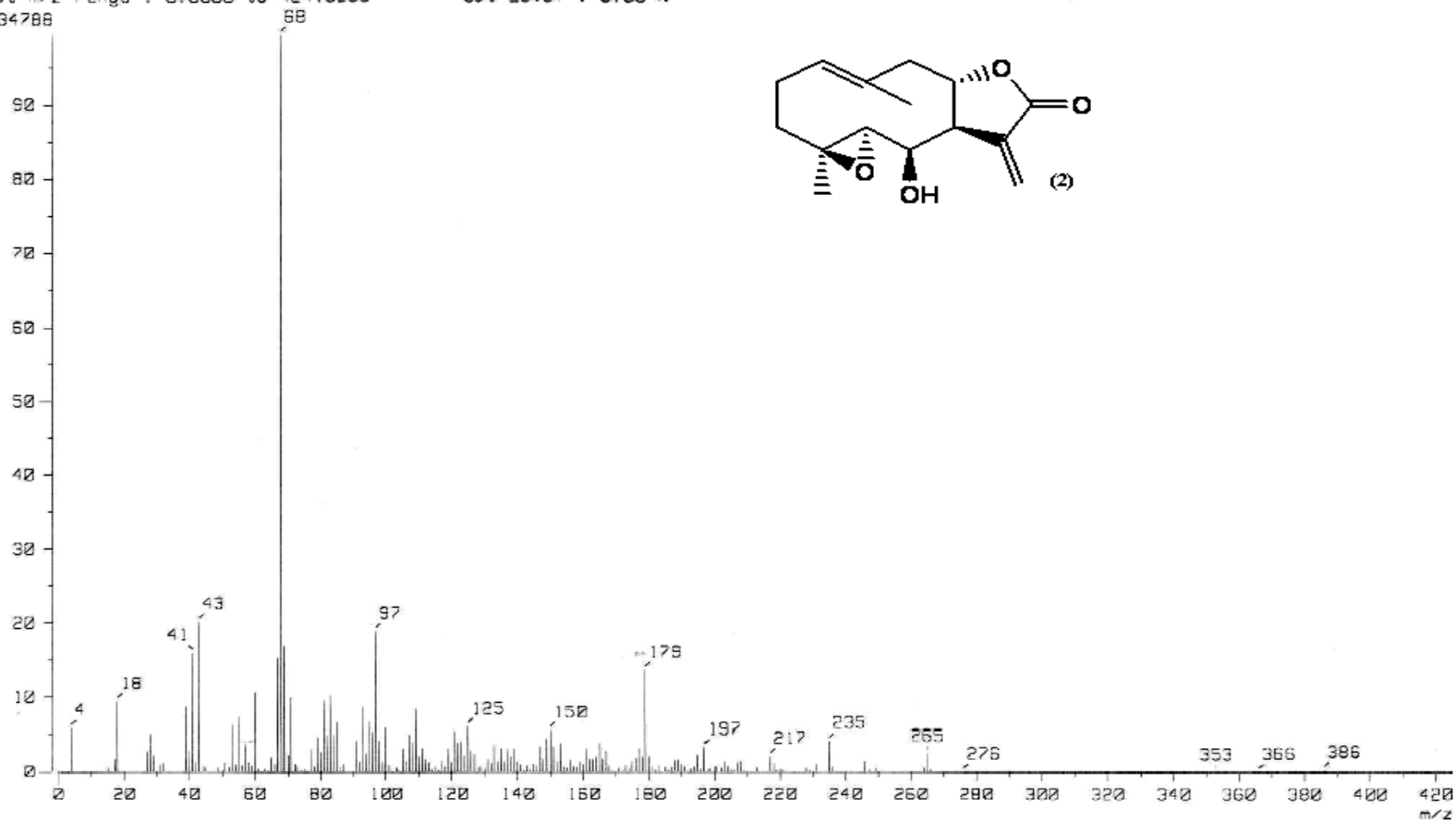
HSQC 6-EPI-DESACETIL LAURENOBIÓLIDA (1)



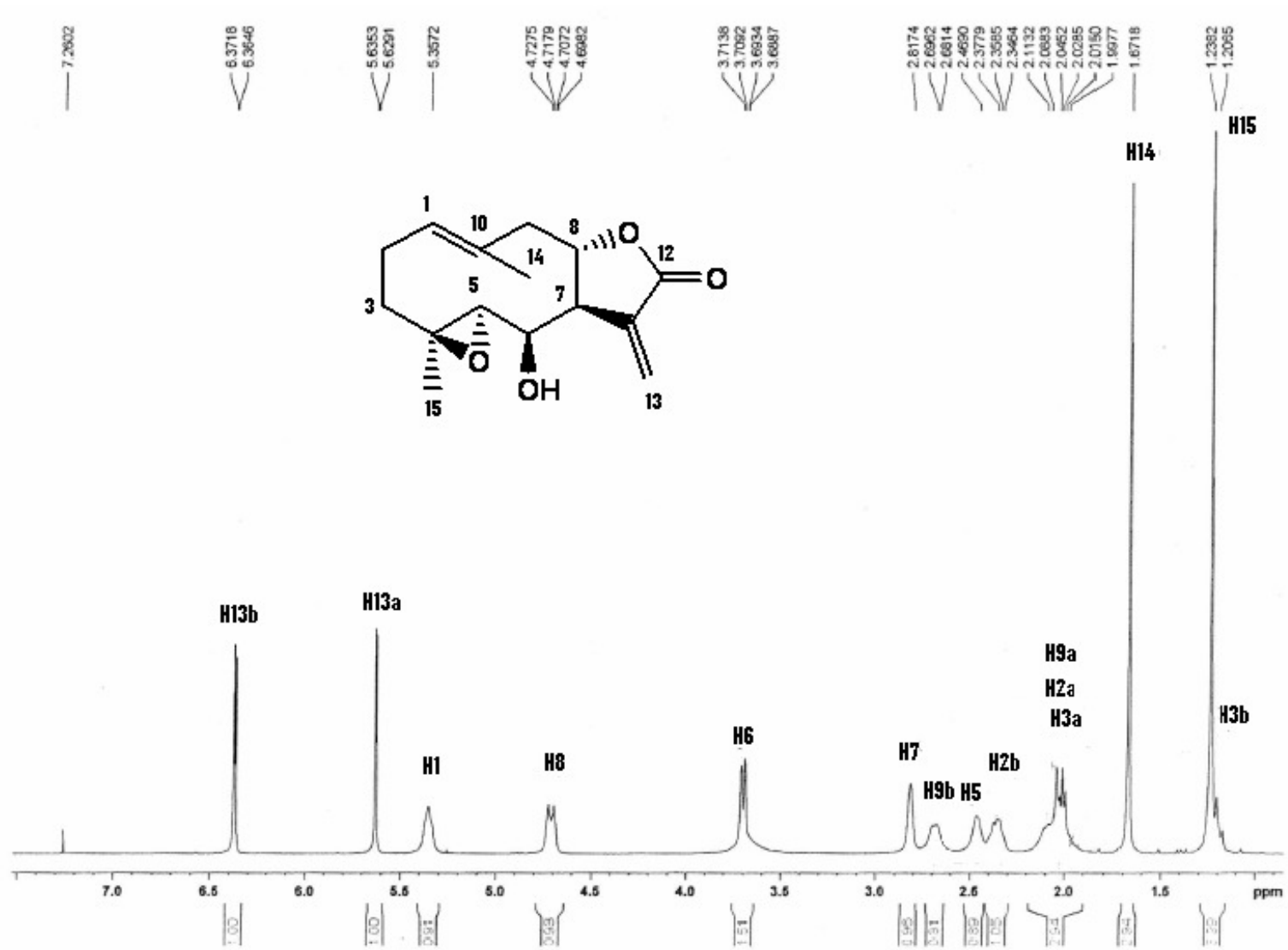
IR (Pélicula) 6-EPI-SPECIFORMINA (2)

Espectro 9

[Mass Spectrum]
 Date : Dr-Rico-Tinco-208 Date : 28-Sep-12 17:37
 Sample: 1228 M221 mono-oxi Jeol RX525HR
 Note : Javier-Perez Ion Mode : EI+
 Inlet : Direct
 Spectrum Type : Normal Ion [MF-Linear]
 RT : 0.63 min Scan# : (9,21)
 BP : m/z 68.0000 Int. : 782.31 Temp : 124.7 deg.C
 Output m/z range : 0.2000 to 424.9259 Cut Level : 0.02 %



EMIE 6-EPI-SPECIFORMINA (2)

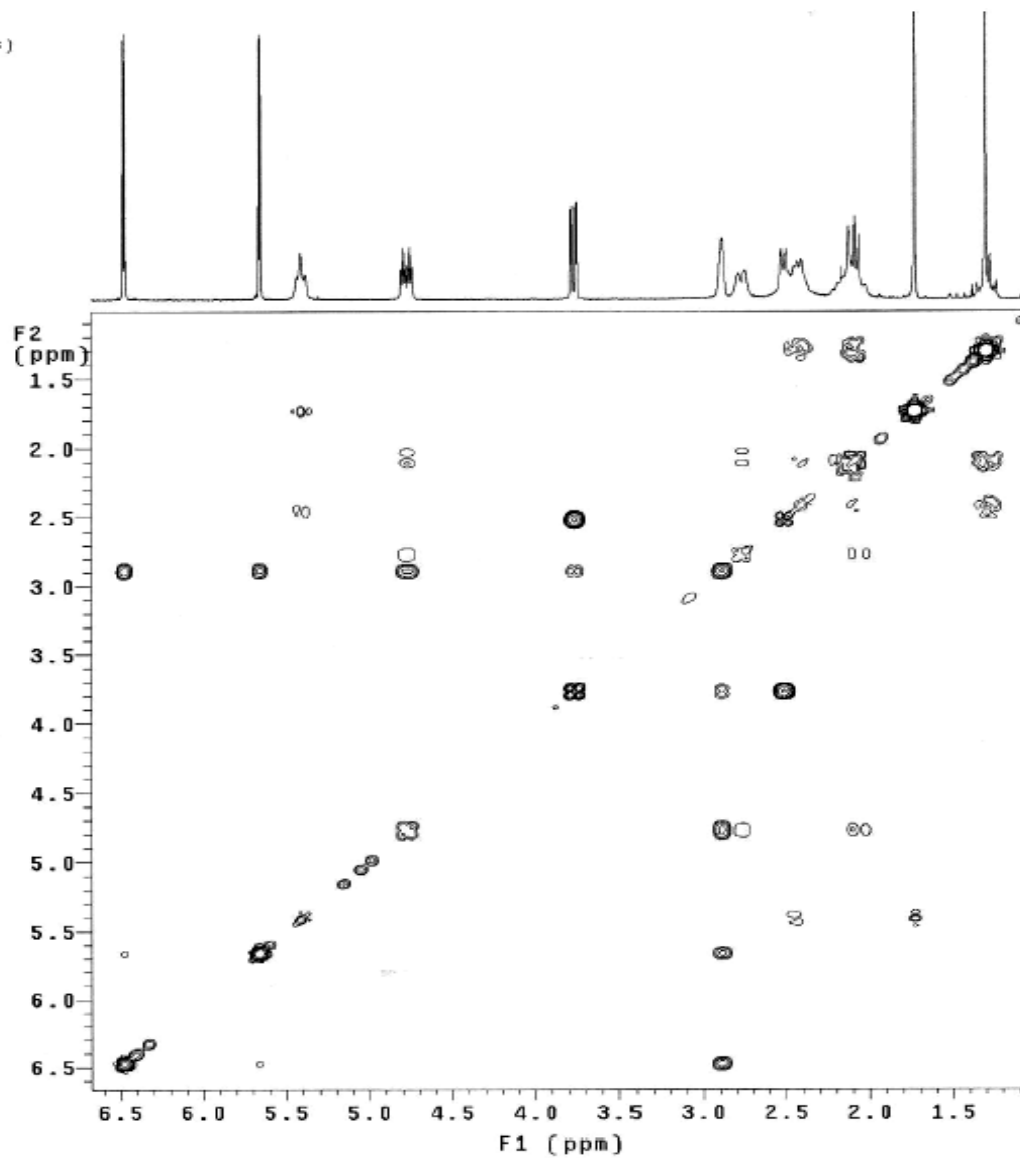
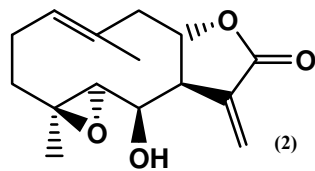


RMN ¹H 500 MHz 6-EPI-SPECIFOMRINA (2)

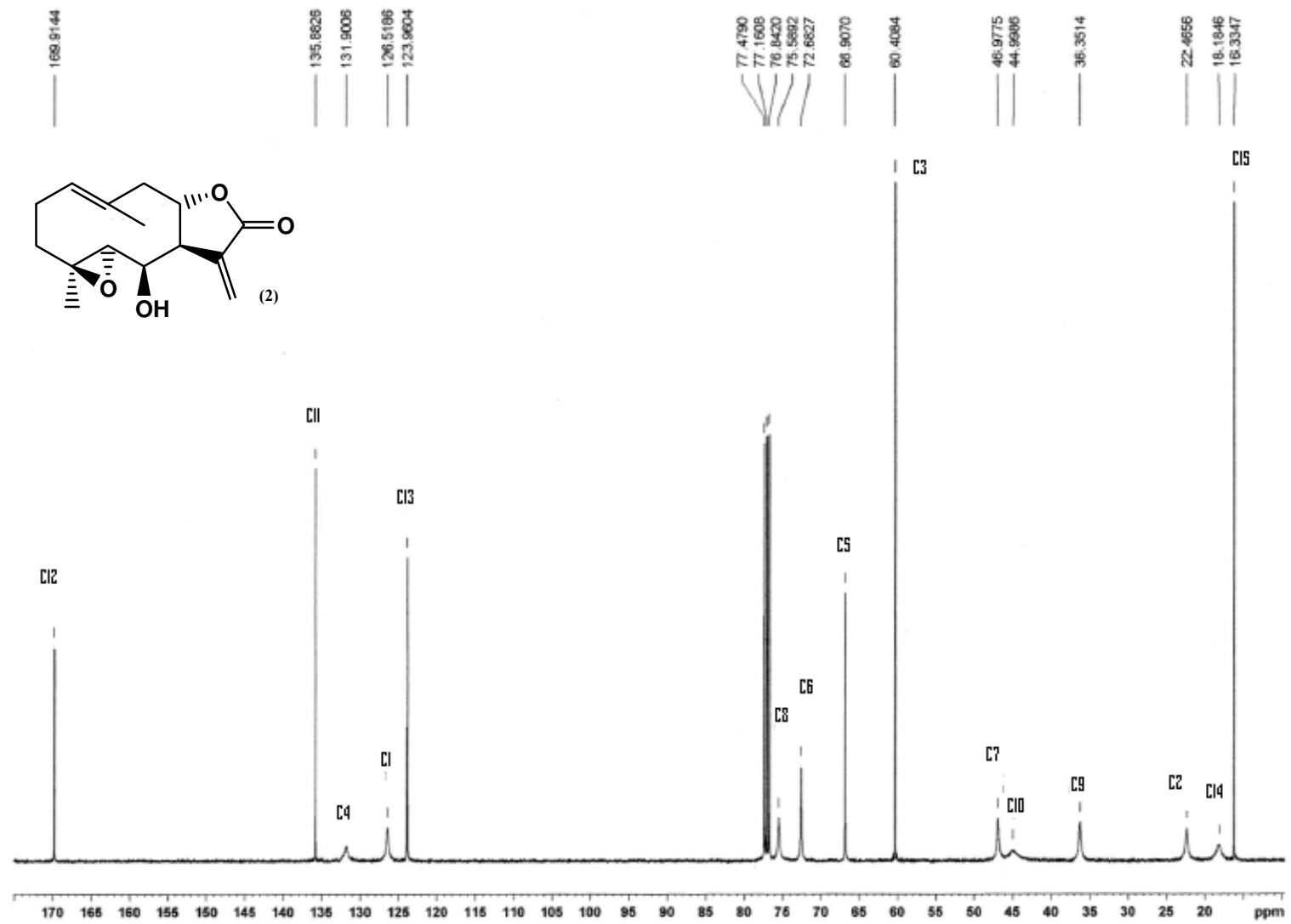
Espectro 11

Instituto de Química, UNAM (H. Ríos)
Dr-T-Ríos/A-Sánchez
Clave: Mono-Oxi
No.Registro: 1197
Experiment-Cosy
Disolvente-CDCl3
VarianUnity-300Mhz(C)
Abr-19-2007

Pulse Sequence: COSY

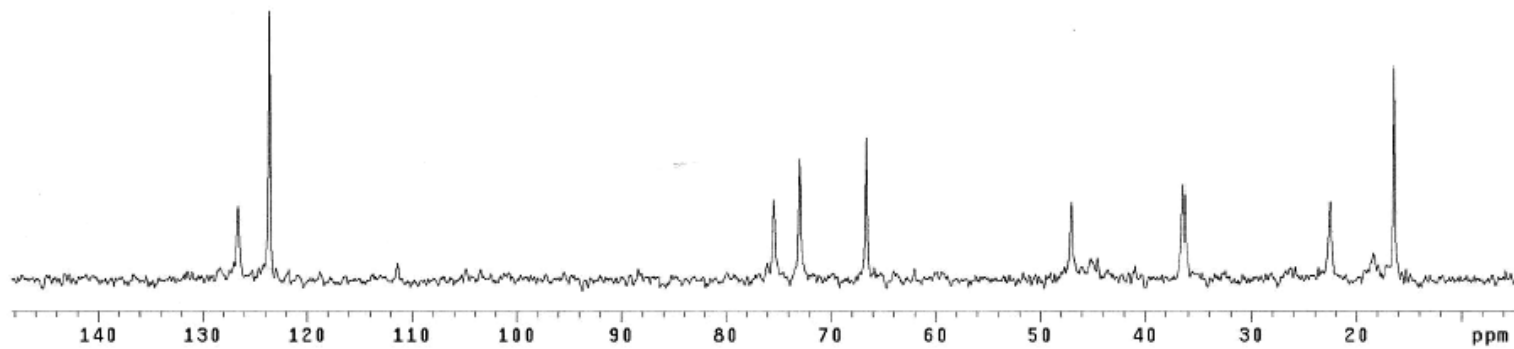
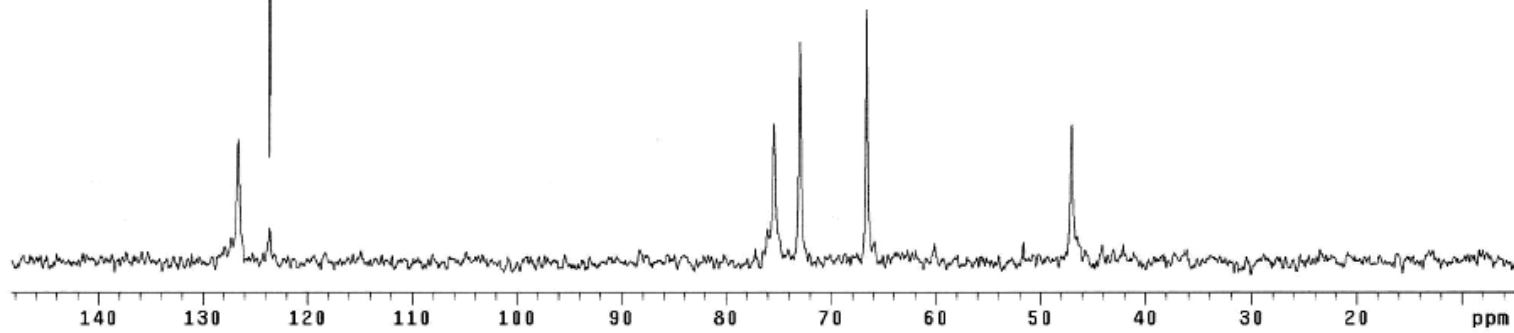
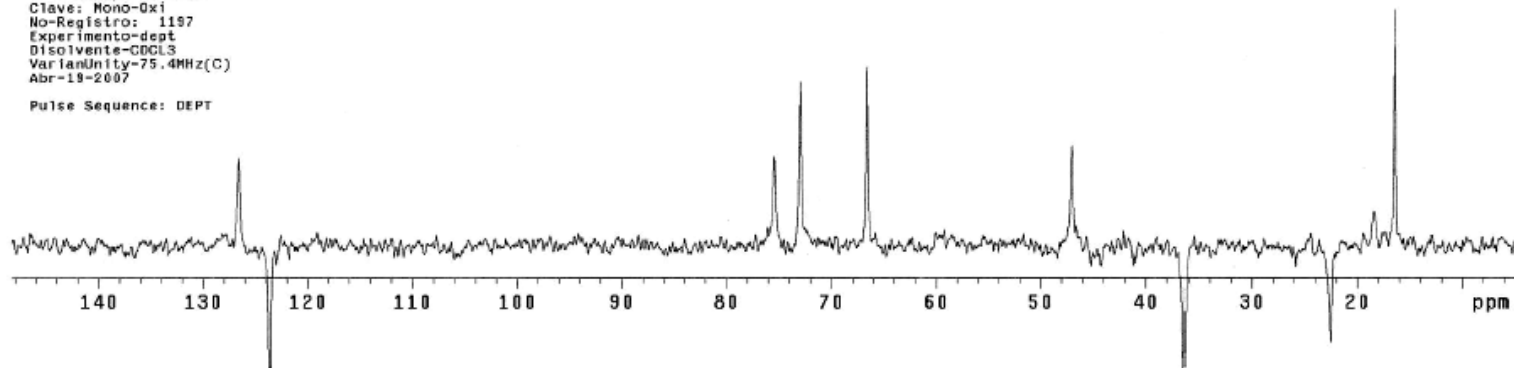


COSY 6-EPI-SPECIFOMRINA (2)



RMN ¹³C 125 6-EPI-SPECIFOMRINA (2)

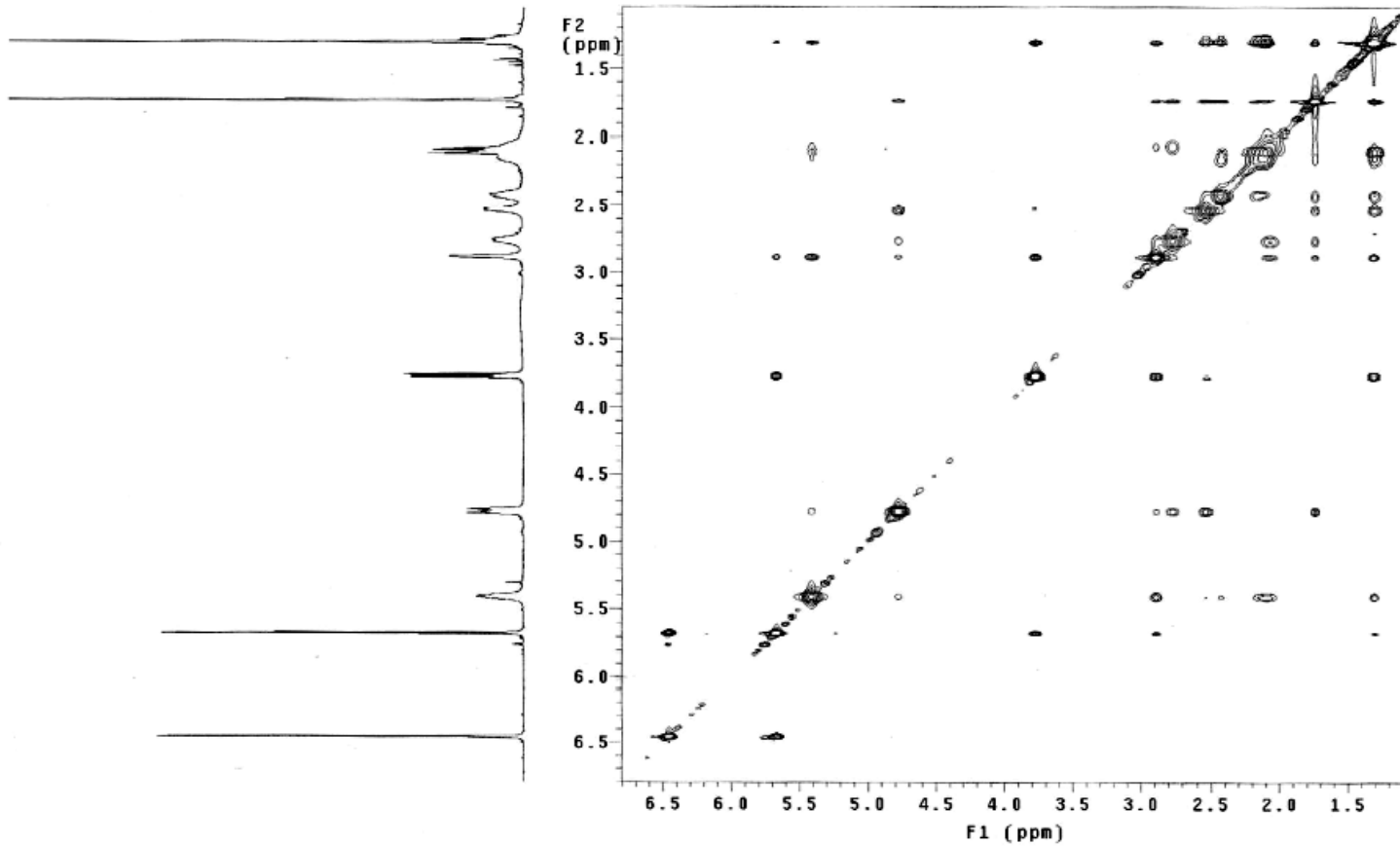
Instituto de Química, UNAM (H. Ríos)
Dr-T-Ríos/A-Sánchez
Clave: Mono-Oxi
No-Registro: 1197
Experimento-dept
Disolvente-CDCL3
VarianUnity-75.4MHz(C)
Abr-19-2007
Pulse Sequence: DEPT



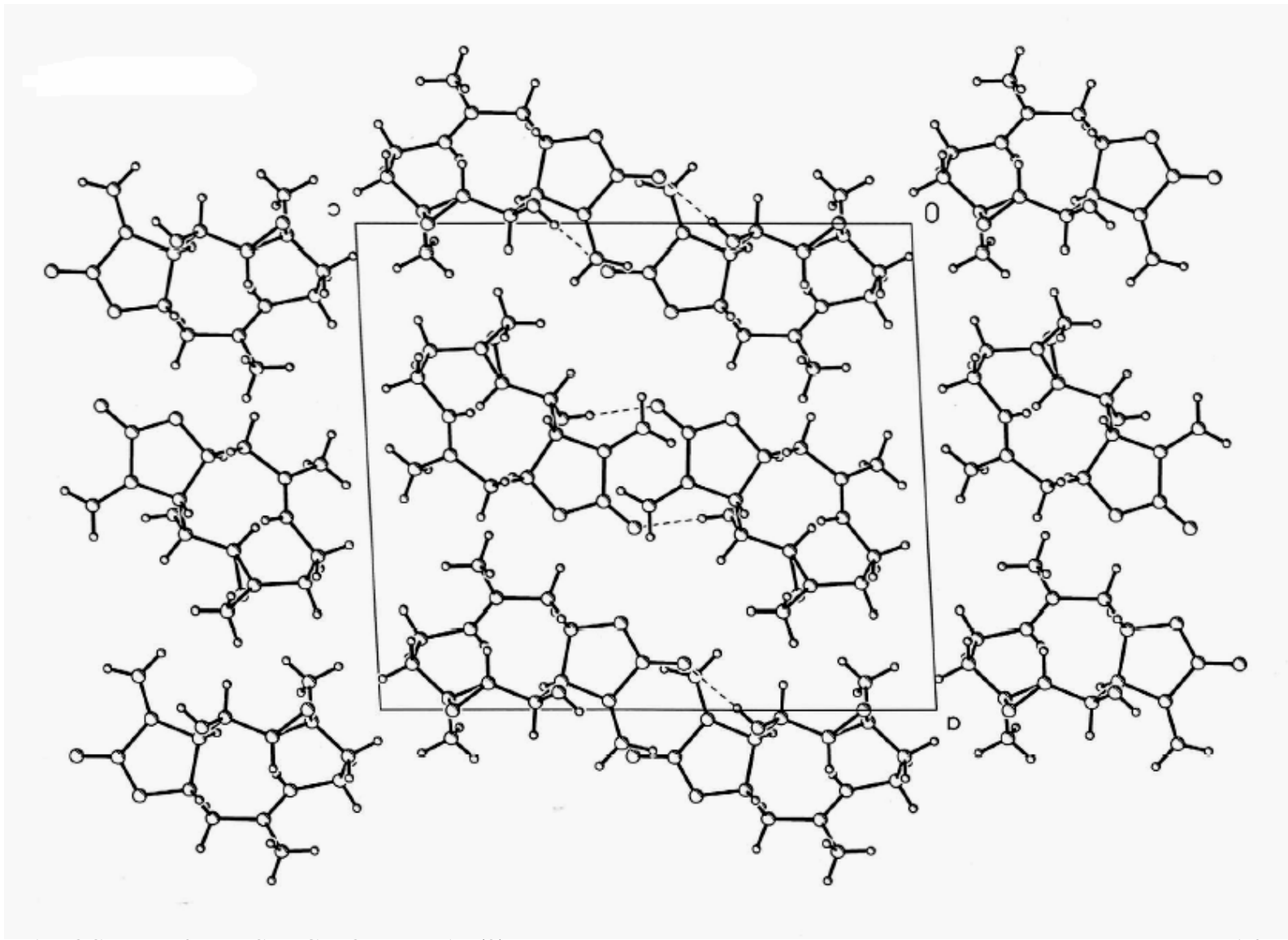
DEPT 6-EPI-SPECIFOMRINA (2)

Instituto de Química UNAM (800)
Dr. T. Ríos / A. Sánchez
Clave: mono-ox1
No. Registro : 2663
Disolvente: CDCl₃
Experimento: ROESY
Varian-Inova 500 MHz (G)
13-October-2006

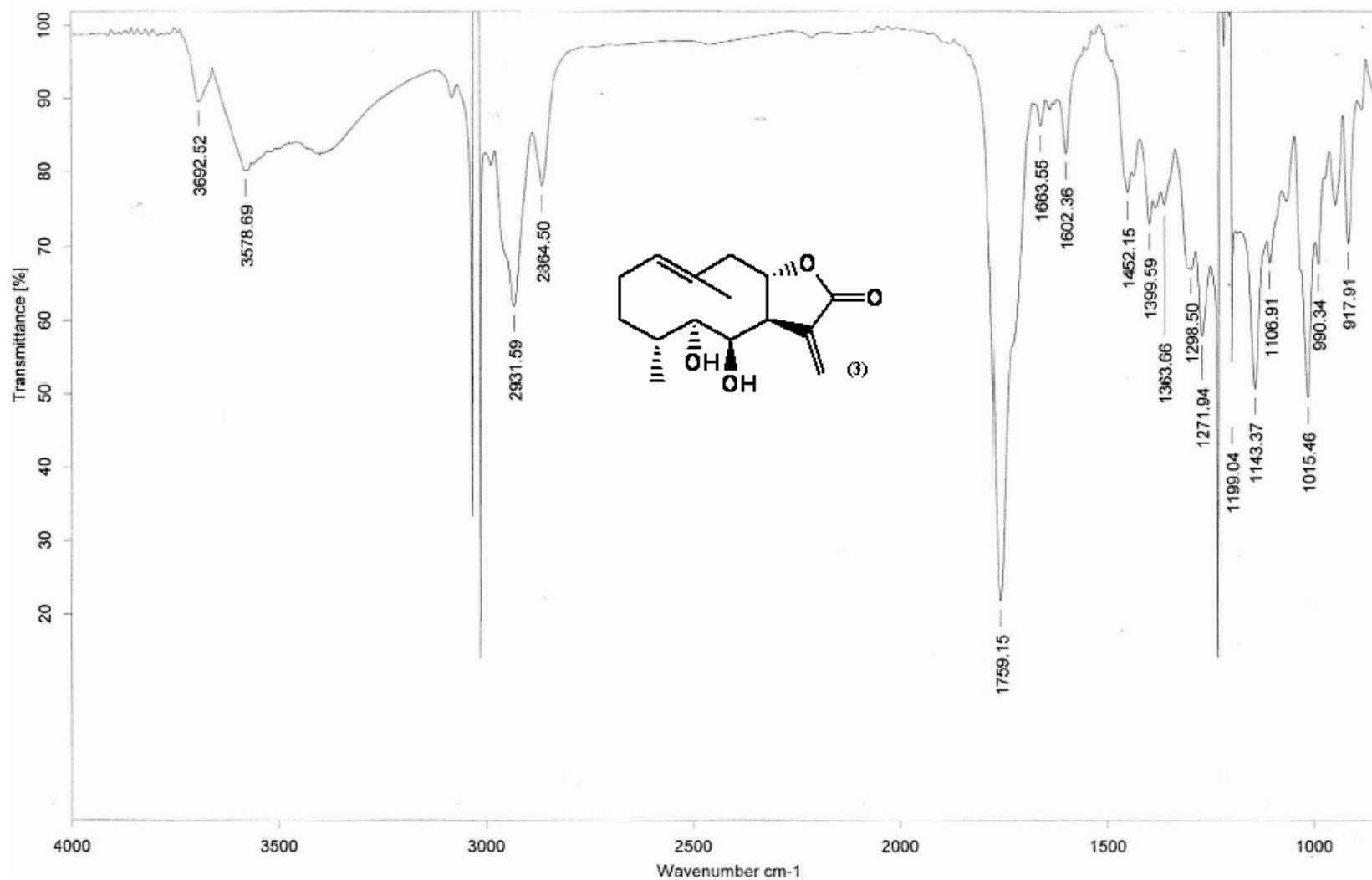
Pulse Sequence: ROESY



ROESY 6-EPI-SPECIFOMRINA (2)



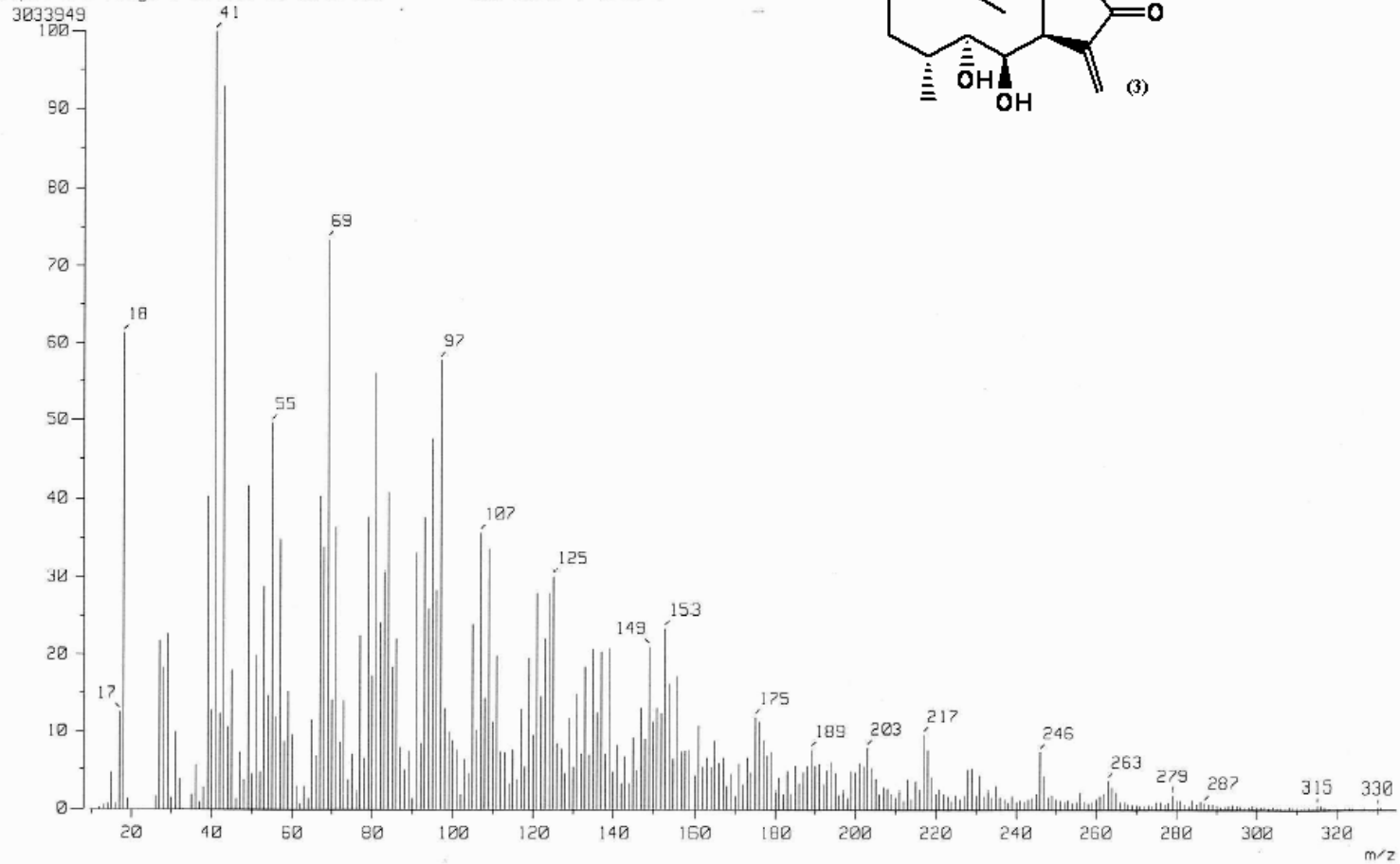
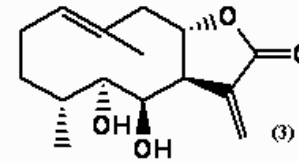
RAYOS X 6-EPI-SPECIFOMRINA (2)



IR (Solución de CHCl_3) GRANDIFLORIDA (3)

Espectro 17

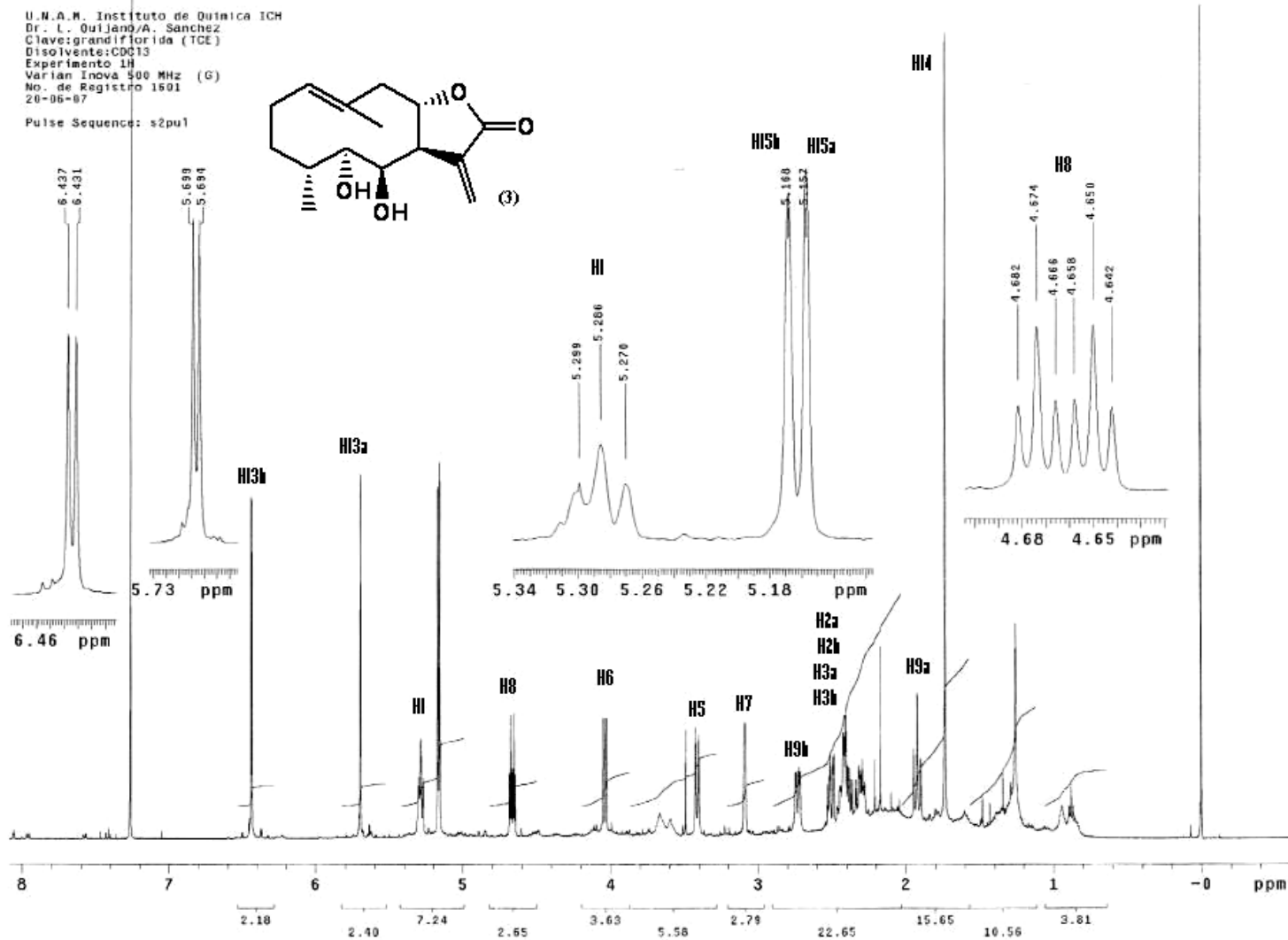
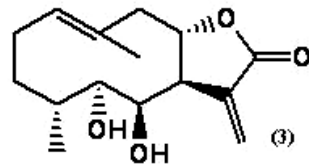
[Mass Spectrum]
Data : Dr-Quijano-Leo-023 Date : 03-Jul-107 12:33
Sample: 1365 M215 grandflorida TCE JeolFX505HA
Note : Javier-Perez
Inlet : Direct Ion Mode : EI+
Spectrum Type : Normal Ion [MF-Linear]
RT : 0.94 min Scan# : (10,35) Temp : 210.0 deg.C
BP : m/z 41.0000 Int. : 289.34
Output m/z range : 9.4955 to 334.7181 Cut Level : 0.00 %



EMIE GRANDIFLORIDA (3)

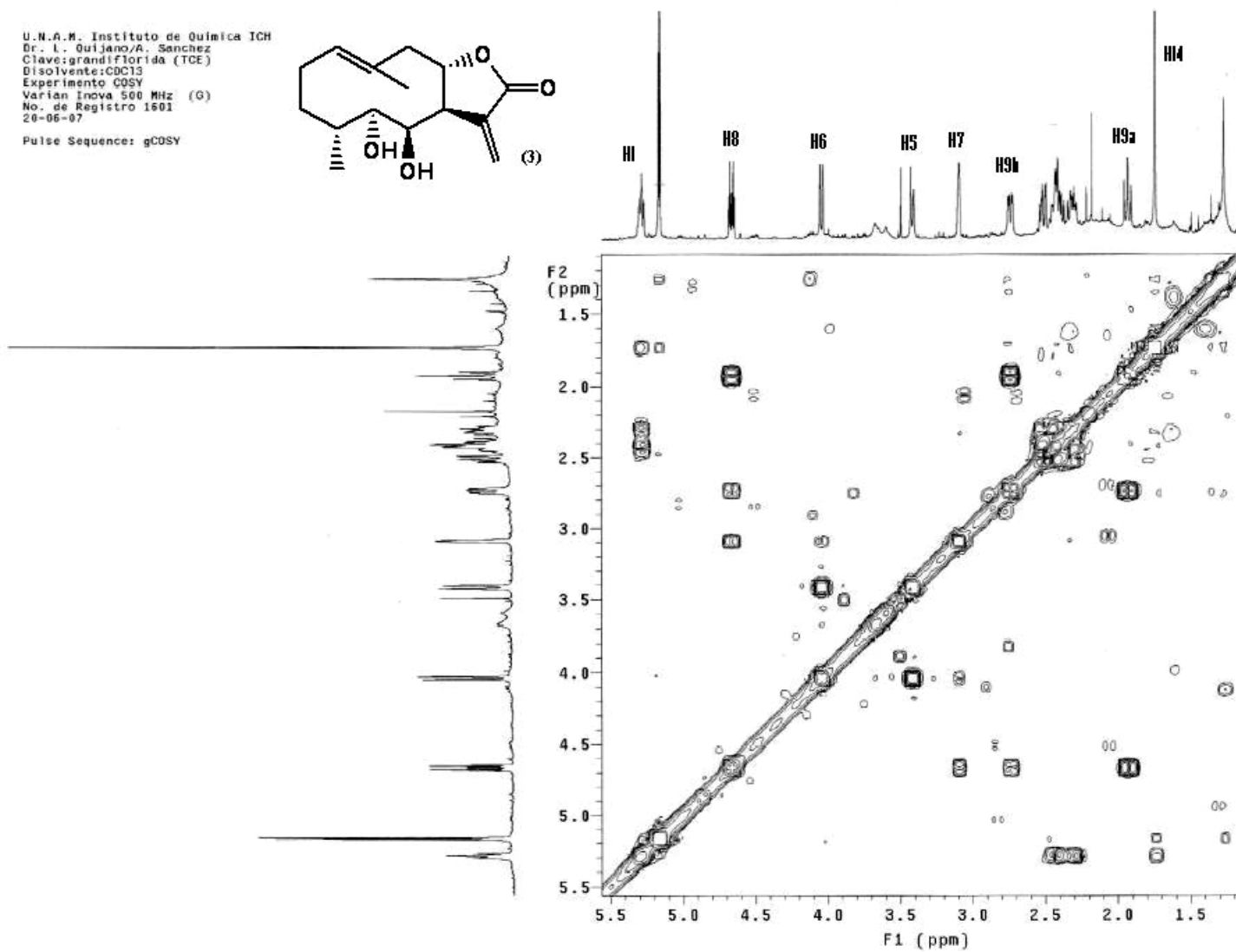
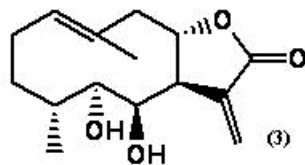
Espectro 18

U.N.A.M. Instituto de Química ICH
 Dr. L. Quijano/A. Sánchez
 Clave: grandiflorida (TCE)
 Disolvente: CDCl₃
 Experimento: 1H
 Varian Inova 500 MHz (G)
 No. de Registro: 1501
 20-06-07
 Pulse Sequence: s2pu1



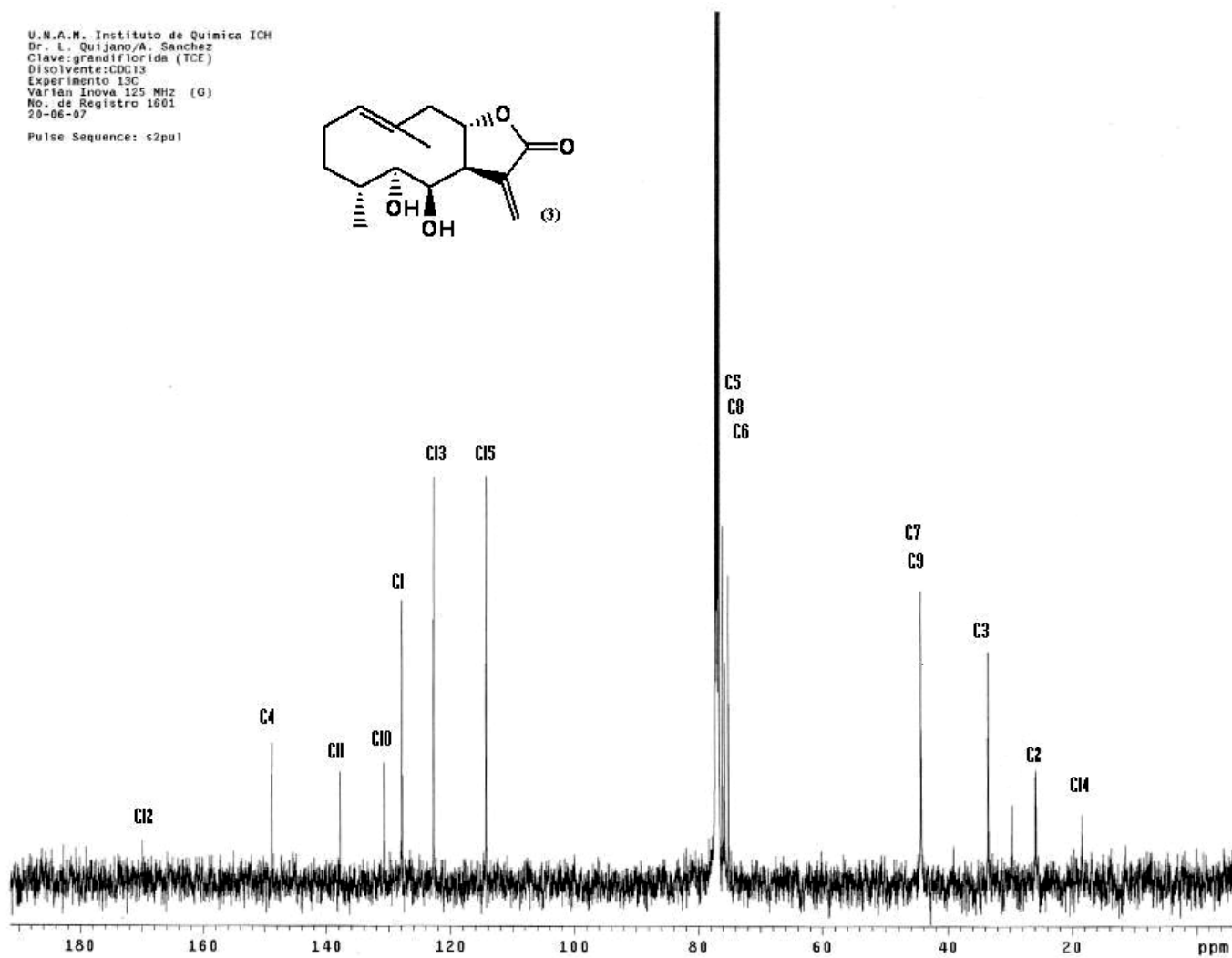
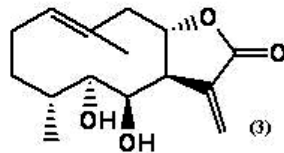
RMN ¹H 500 MHz GRAMDIFLORIDA (3)

U.N.A.M. Instituto de Química ICH
Dr. I. Quijano/A. Sanchez
Clave: grandiflorida (TCE)
Disolvente: CDCl₃
Experimento: COSY
Varian Inova 500 MHz (G)
No. de Registro 1601
28-06-07
Pulse Sequence: gCOSY



COSY GRAMDIFLORIDA (3)

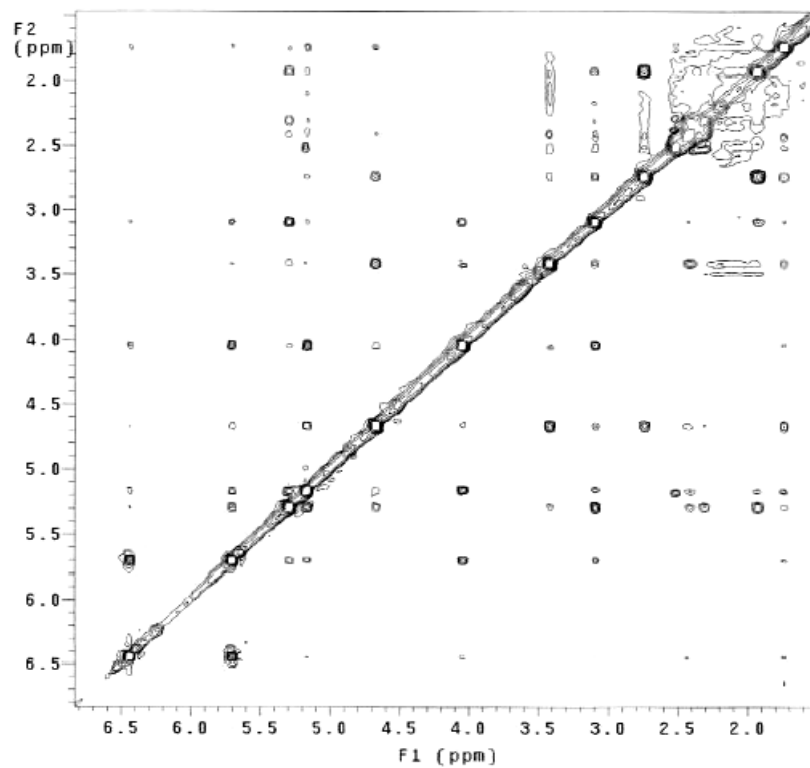
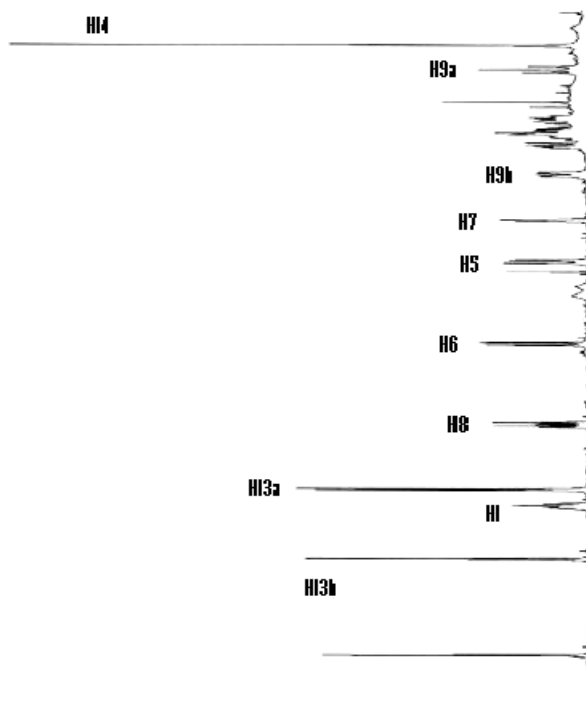
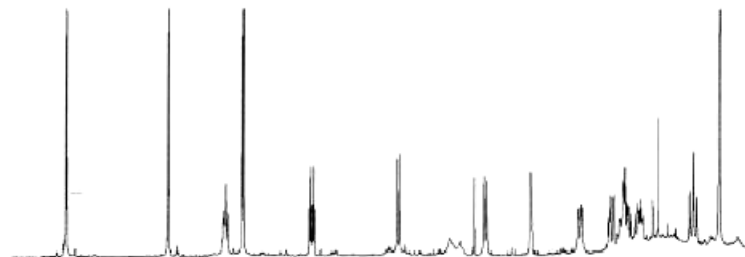
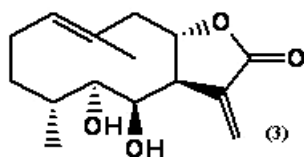
U.N.A.M. Instituto de Química ICH
Dr. L. Quijano/A. Sánchez
Clave: grandiflorida (TCE)
Disolvente: CDCl₃
Experimento: 13C
Varian Inova 125 MHz (G)
No. de Registro: 1601
29-06-07
Pulse Sequence: s2pu1



RMN ¹³C 125 GRANDIFLORIDA (3)

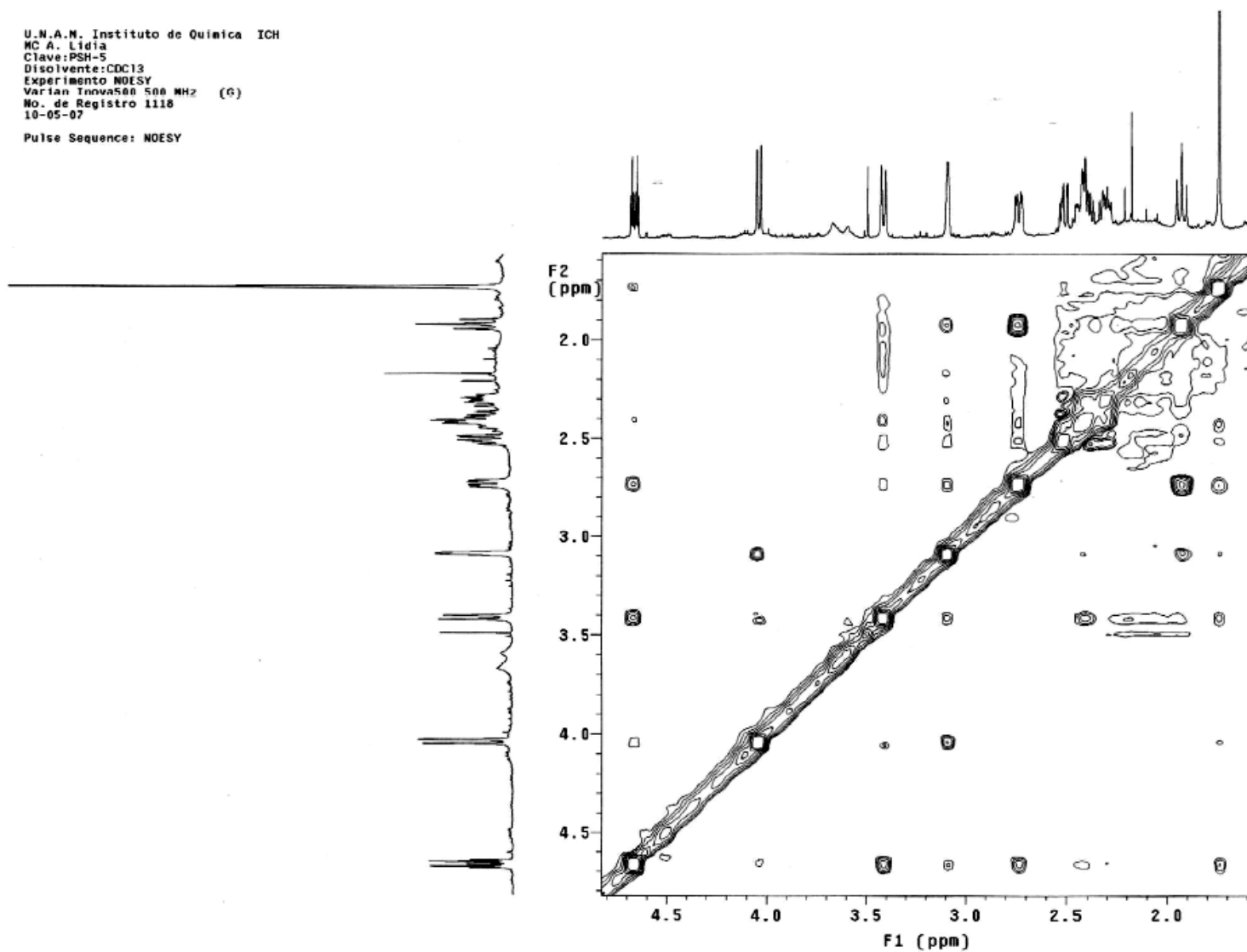
Espectro 21

U.N.A.M. Instituto de Química ICH
MC A. Lidia
Clave: PSH-5
Disolvente: CDCl₃
Experimento: NOESY
Varian Inova500 500 MHz (G)
No. de Registro 1118
10-05-07
Pulse Sequence: NOESY



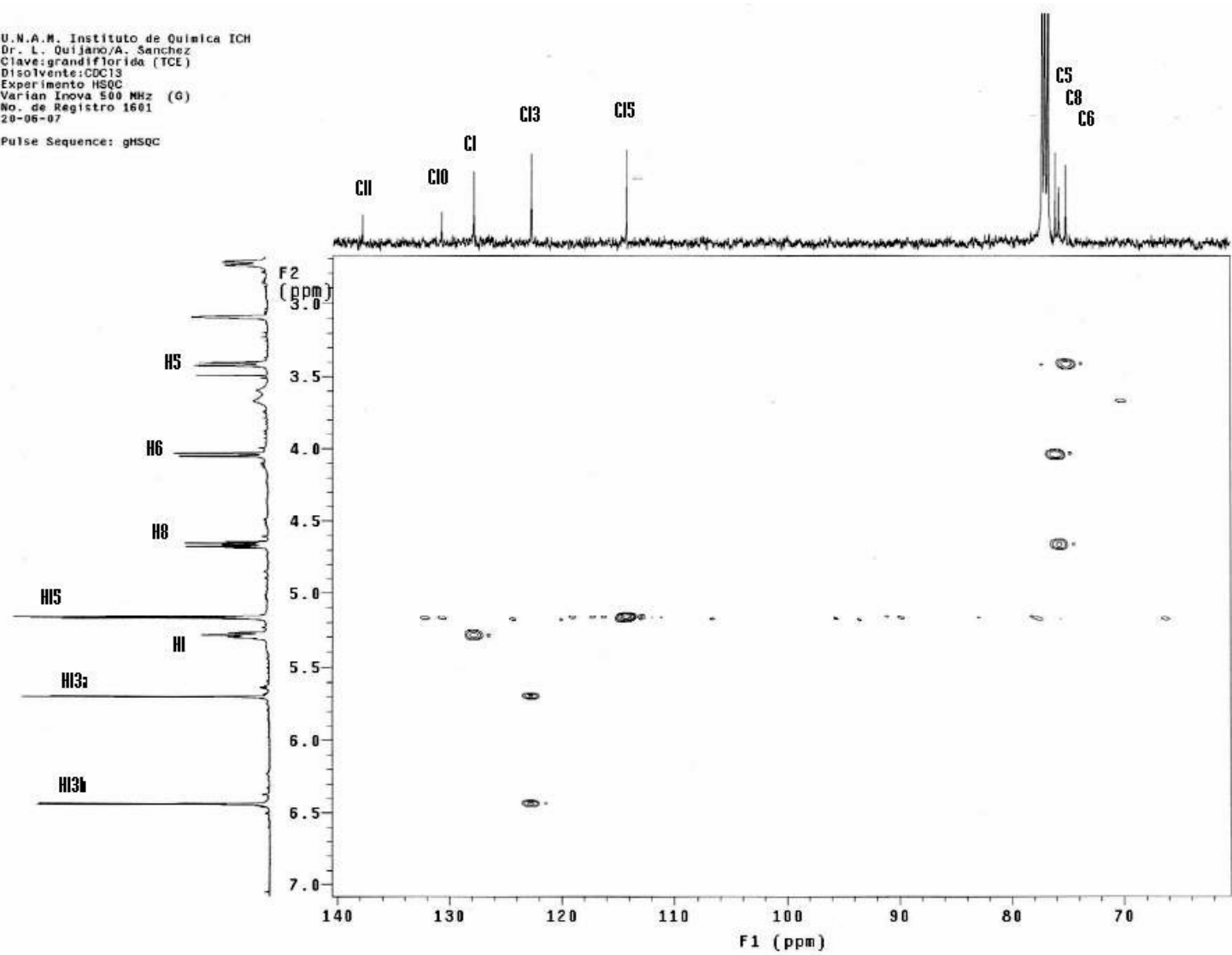
ROESY GRANDIFLORIDA (3)

U.N.A.M. Instituto de Química ICH
MC A. Lidia
Clave:PSH-5
Disolvente:CDCl3
Experimento:ROESY
Varian Inova500 500 MHz (G)
No. de Registro 1118
10-05-07
Pulse Sequence: NOESY



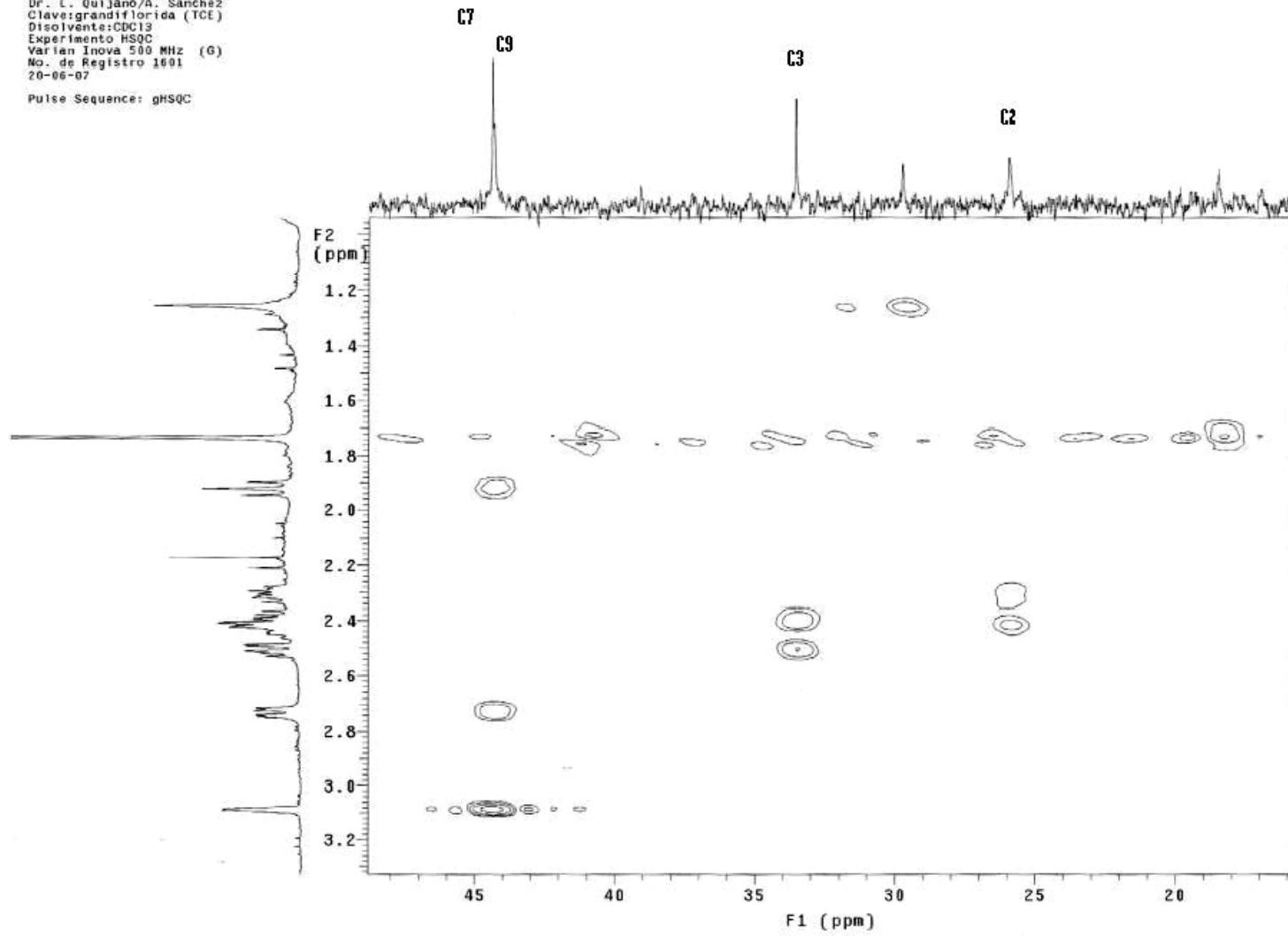
Ampliación ROESY GRANDIFLORIDA (3)

U.N.A.M. Instituto de Química ICH
Dr. L. Quijano/A. Sanchez
Clave: grandiflorida (TCE)
Disolvente: CDCl₃
Experimento: HSQC
Varian Inova 500 MHz (G)
No. de Registro 1661
20-06-07
Pulse Sequence: gHSQC

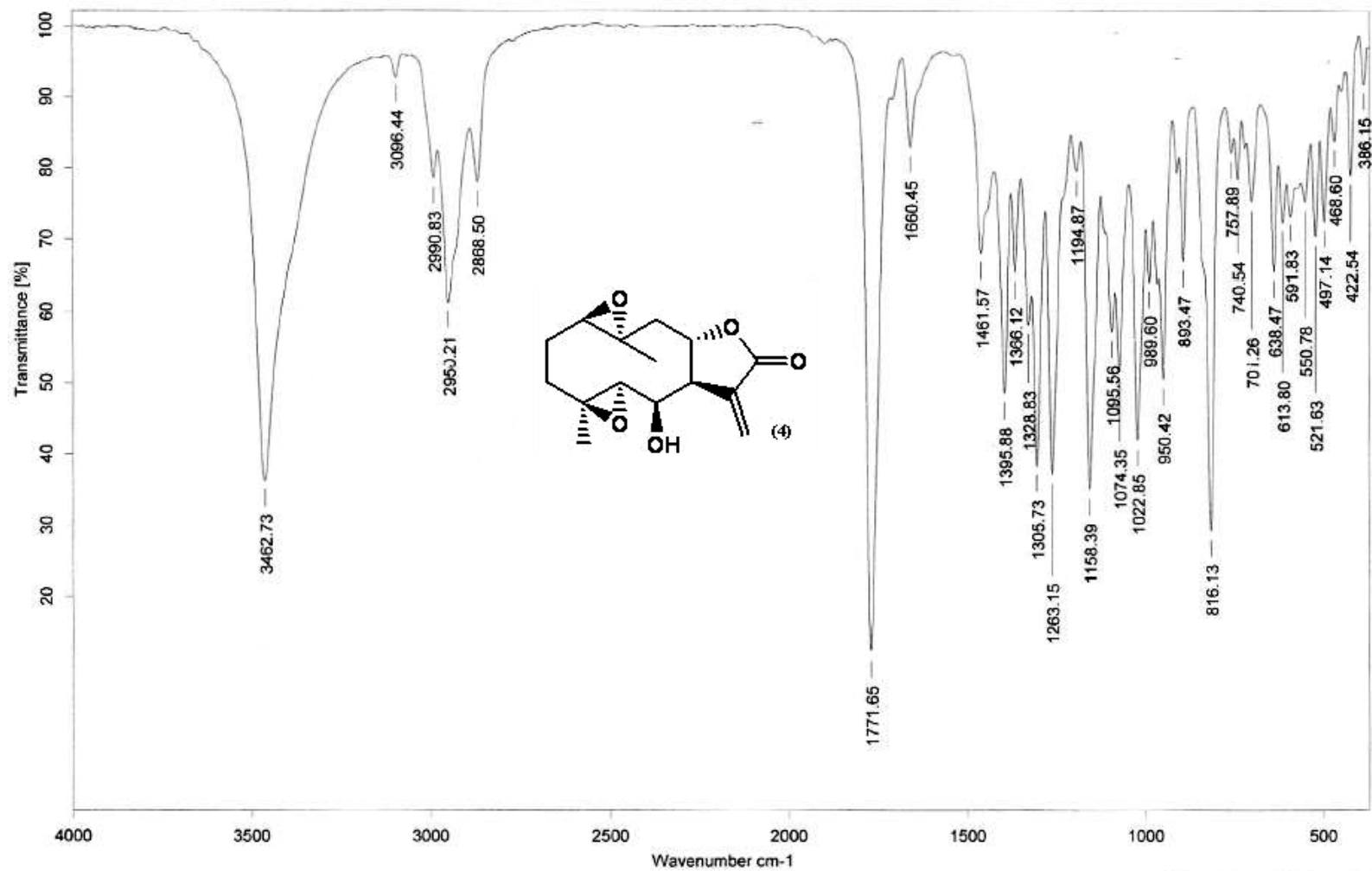


HSQC GRANDIFLORIDA (3)

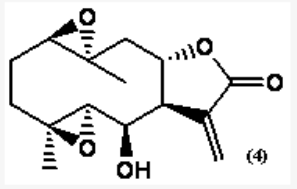
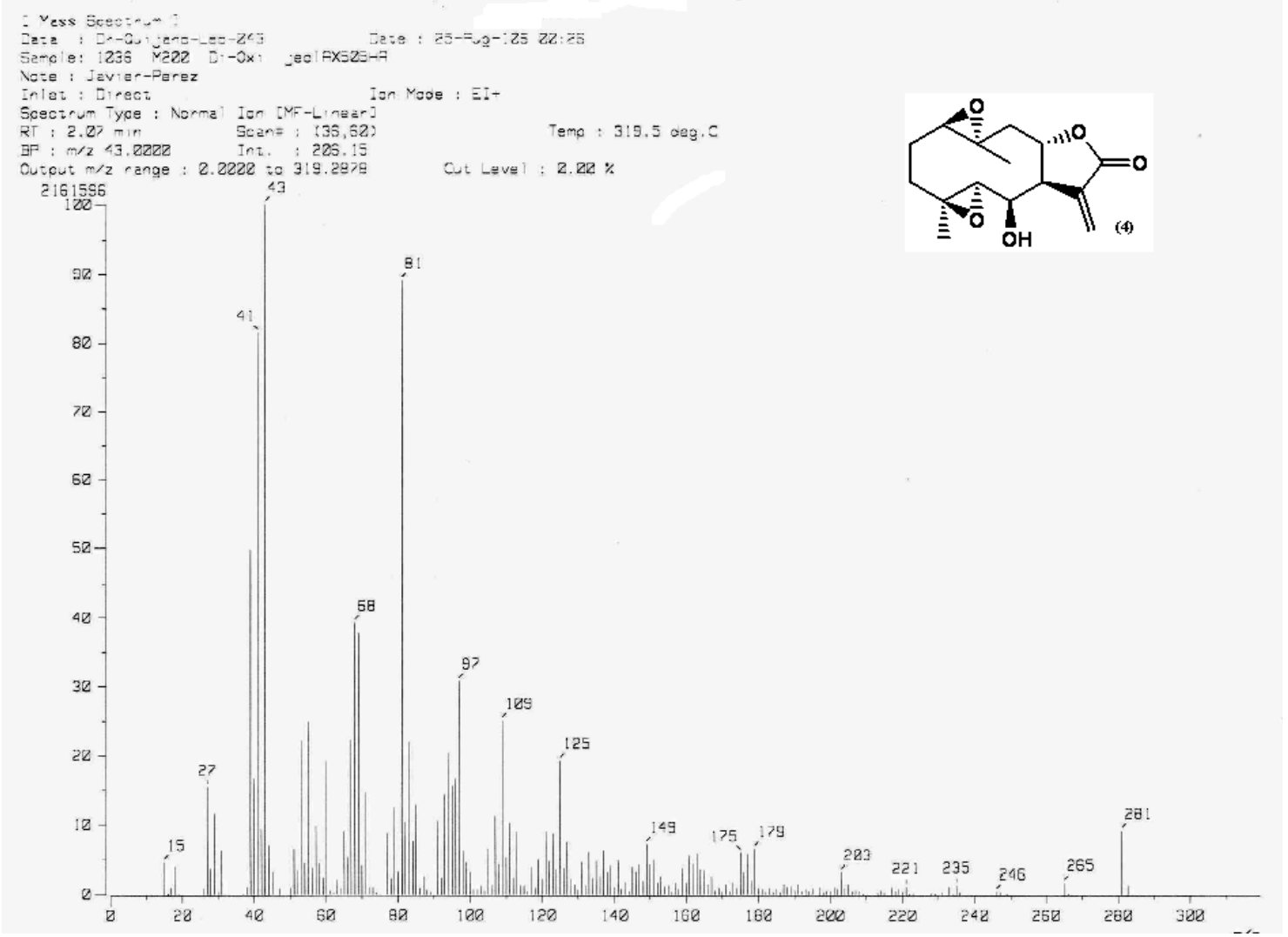
U.N.A.M. Instituto de Química ICH
Dr. L. Quijano/A. Sanchez
Clave: grandiflorida (TCE)
Disolvente: CDCl₃
Experimento HSQC
Varian Inova 500 MHz (G)
No. de Registro 1001
20-06-07
Pulse Sequence: gHSQC



Ampliación HSQC GRANDIFLORIDA (3)

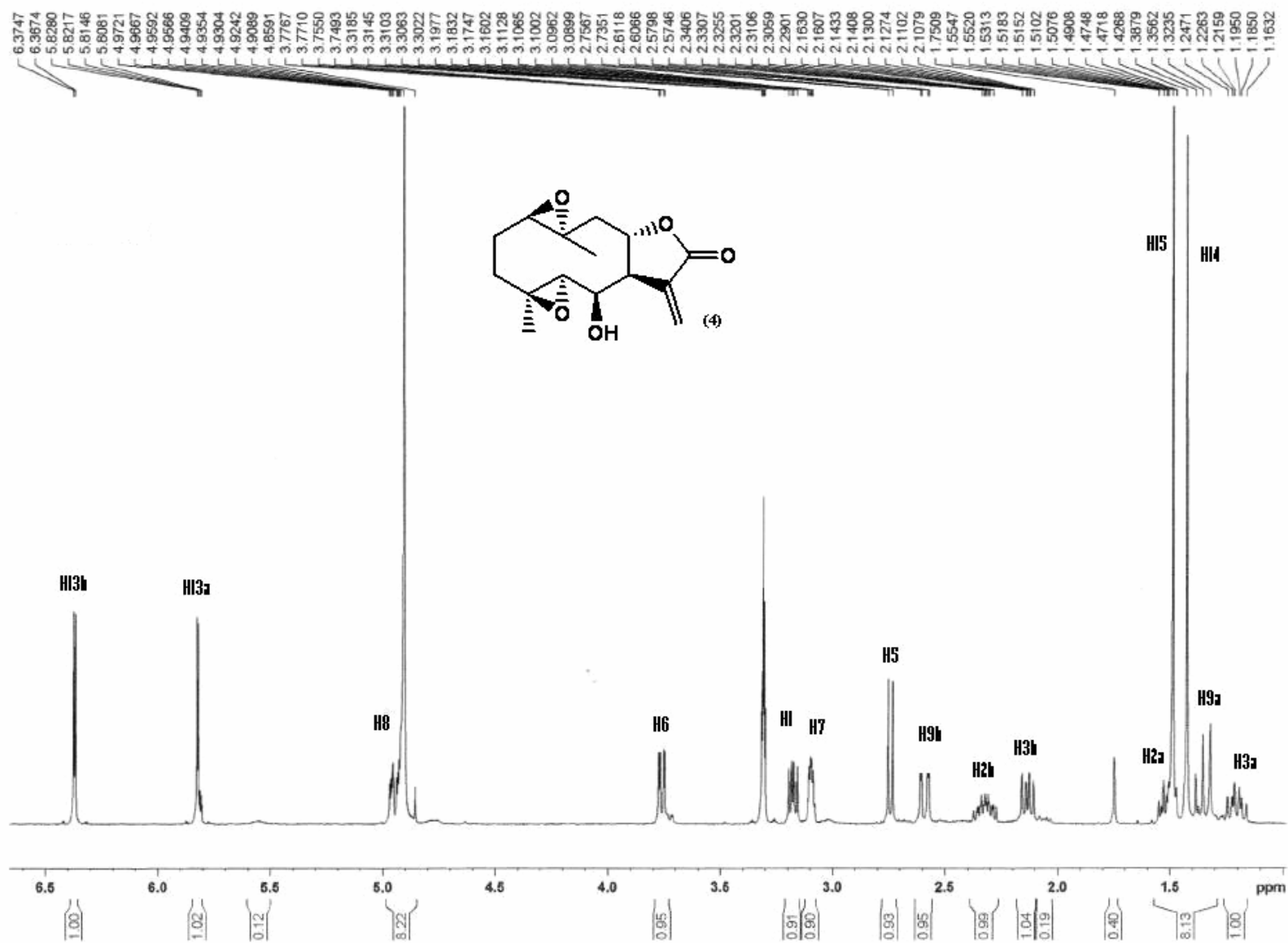


IR (Pastilla KBr) DIEPOXIDO (4)



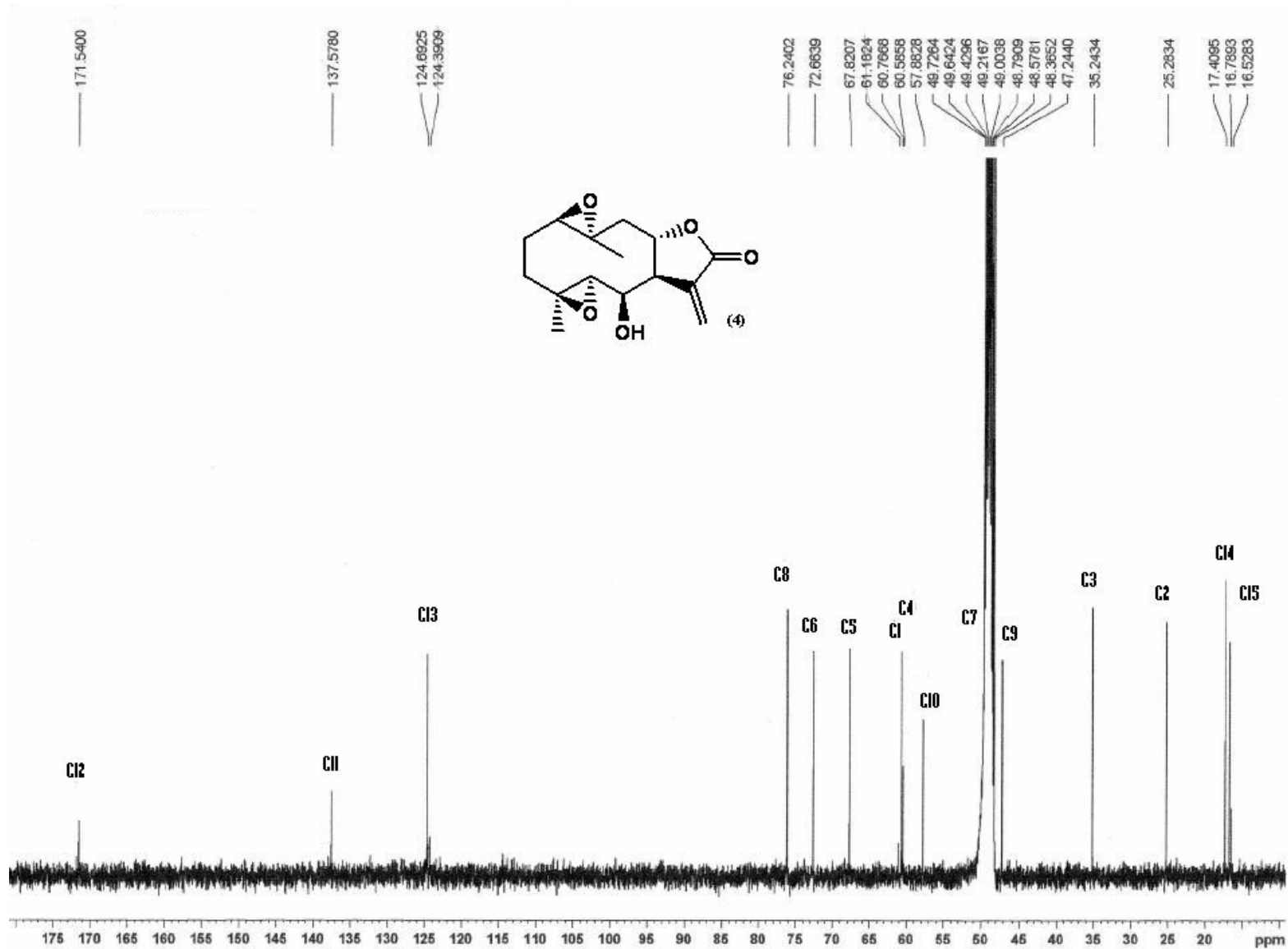
EMIE DIEPOXIDO (4)

Espectro 27



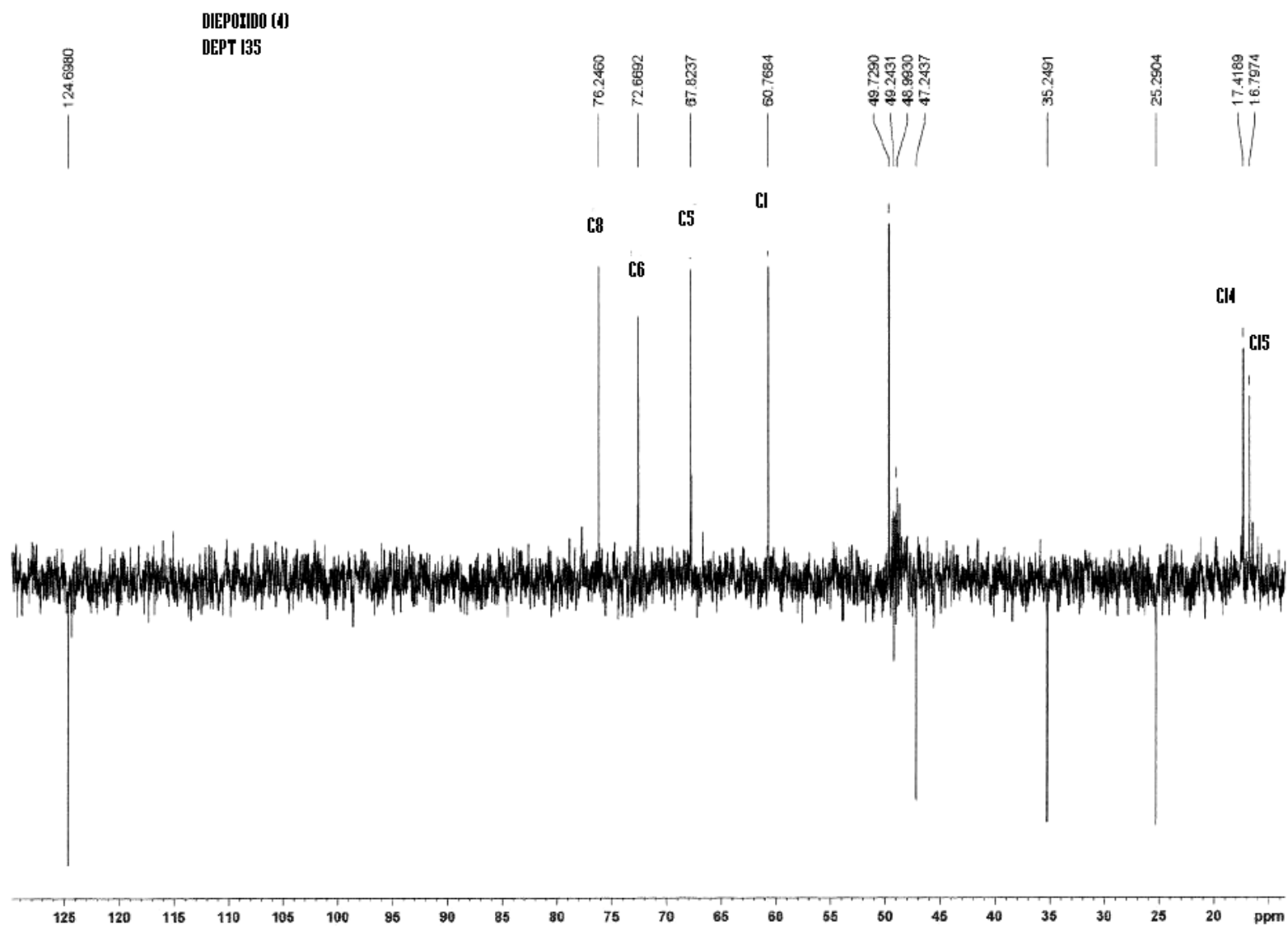
RMN ^1H 400 MHz (MeOH) DIEPOXIDO (4)

Espectro 28



RMN ¹³C 100 MHz DIEPOXIDO (4)

Espectro 29



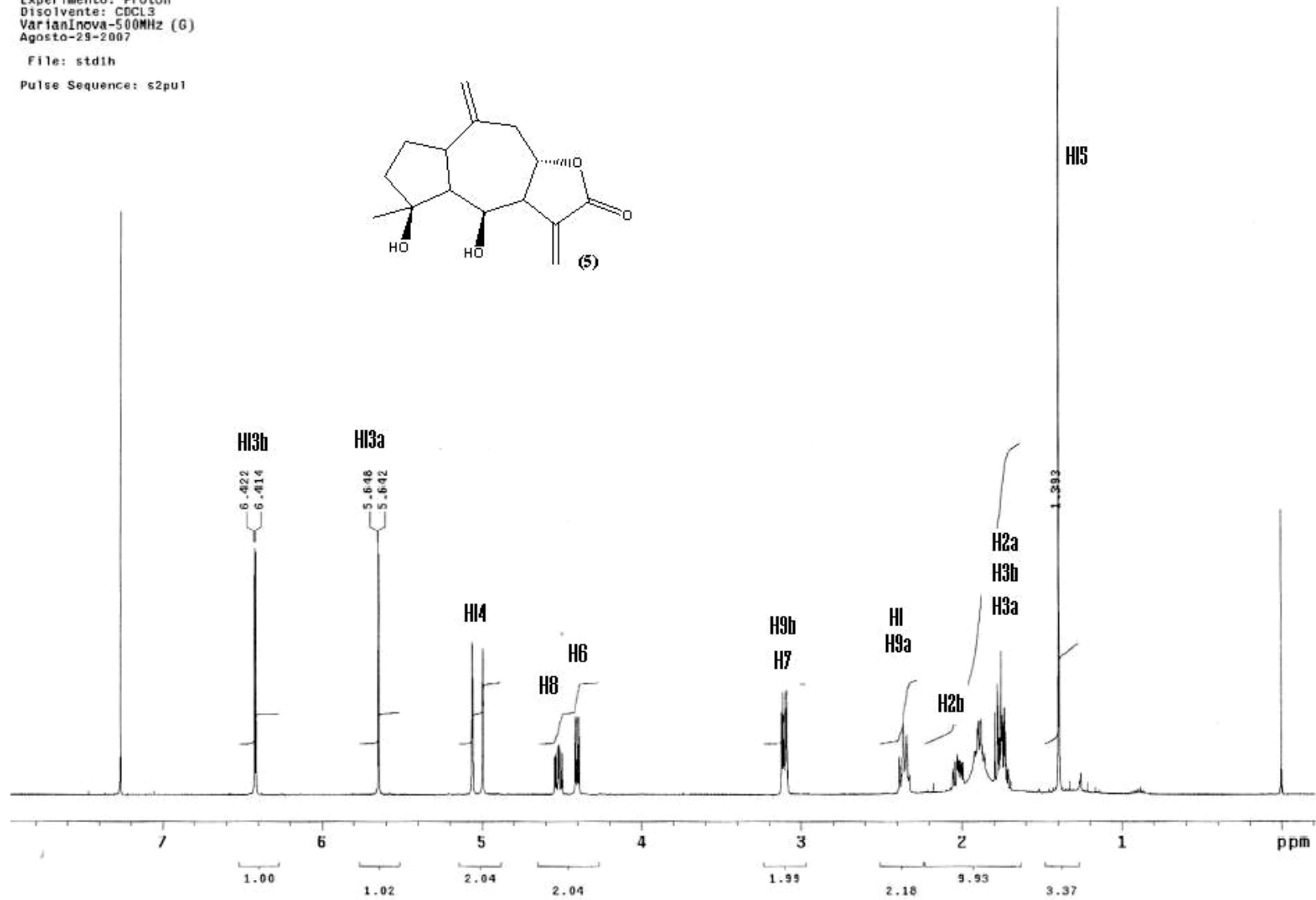
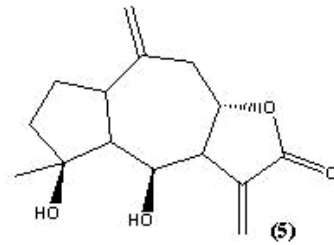
DEPT DIEPOXIDO (4)

Espectro 30

UNAN. Instituto de Quimica. (H. Rios)
Dr-L-Quijano-Alejandro-Sanchez
Clave: Guayanólida-M
No. Registro: 2232
Experimento: Proton
Disolvente: CDCl3
VarianInova-500MHz (G)
Agosto-29-2007

File: std1h

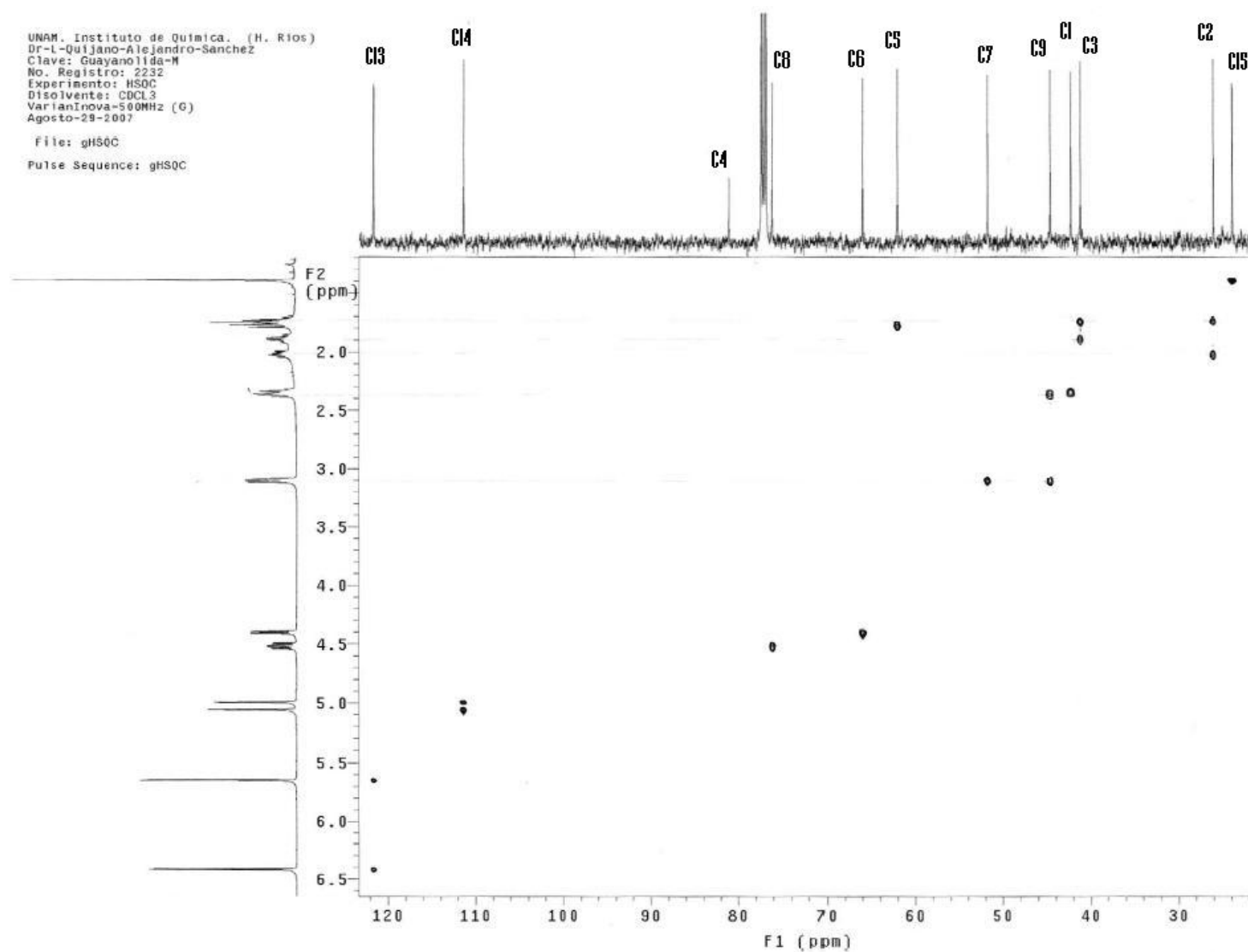
Pulse Sequence: s2pu1



RMN ¹H 500 MHz GUAYANÓLIDA (5)

Espectro 31

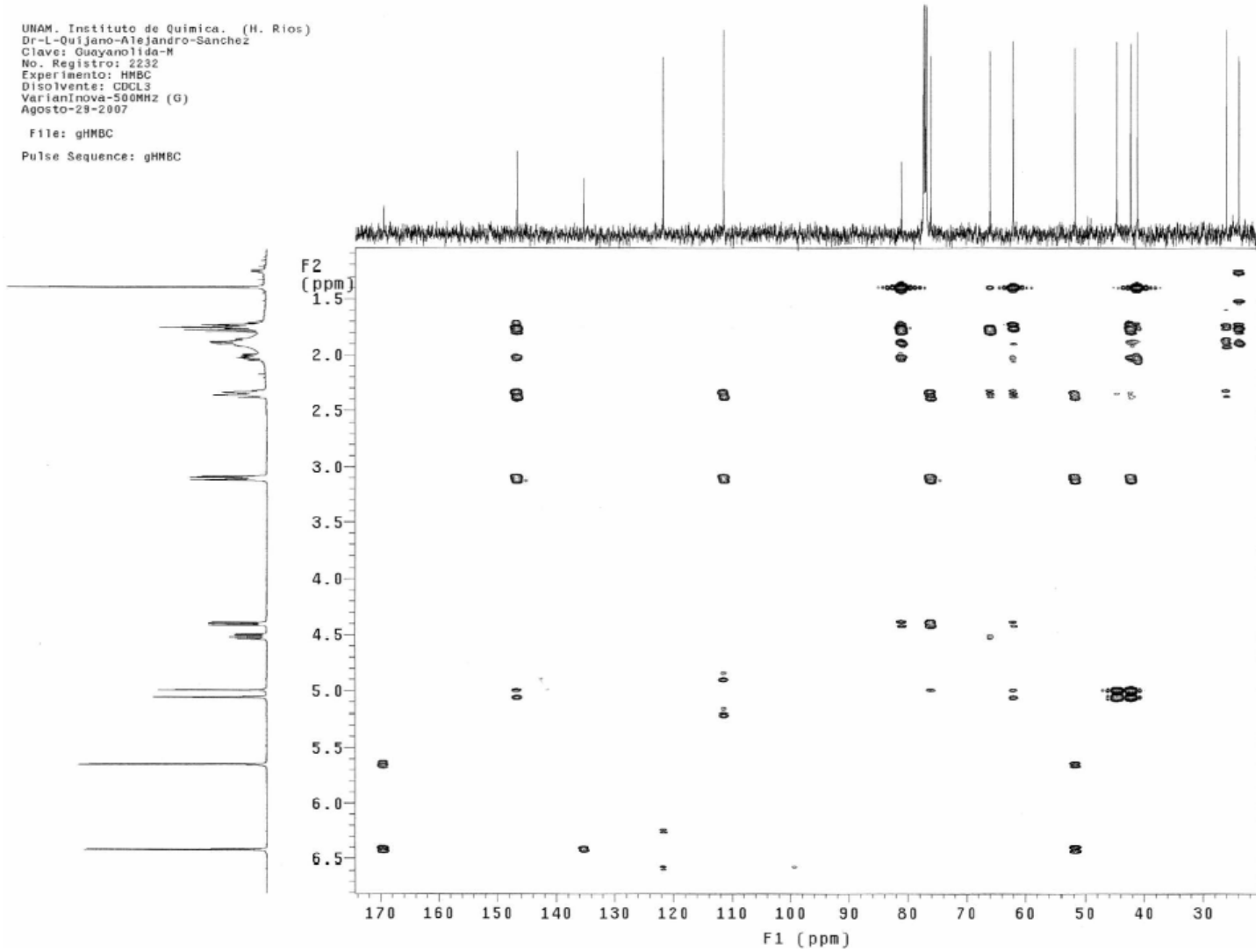
UNAM. Instituto de Química. (H. Ríos)
Dr-L-Quijano-Alejandro-Sanchez
Clave: Guayanólida-M
No. Registro: 2232
Experimento: HSQC
Disolvente: CDCl₃
VarianInova-500MHz (G)
Agosto-29-2007
File: gHSQC
Pulse Sequence: gHSQC



HSQC GUAYANÓLIDA (5)

UNAM. Instituto de Química. (H. Ríos)
Dr.-L. Quijano-Alejandro-Sánchez
Clave: Guayanólida-M
No. Registro: 2232
Experimento: HMBC
Disolvente: CDCl₃
VarianInova-500MHz (G)
Agosto-29-2007

File: gHMBC
Pulse Sequence: gHMBC

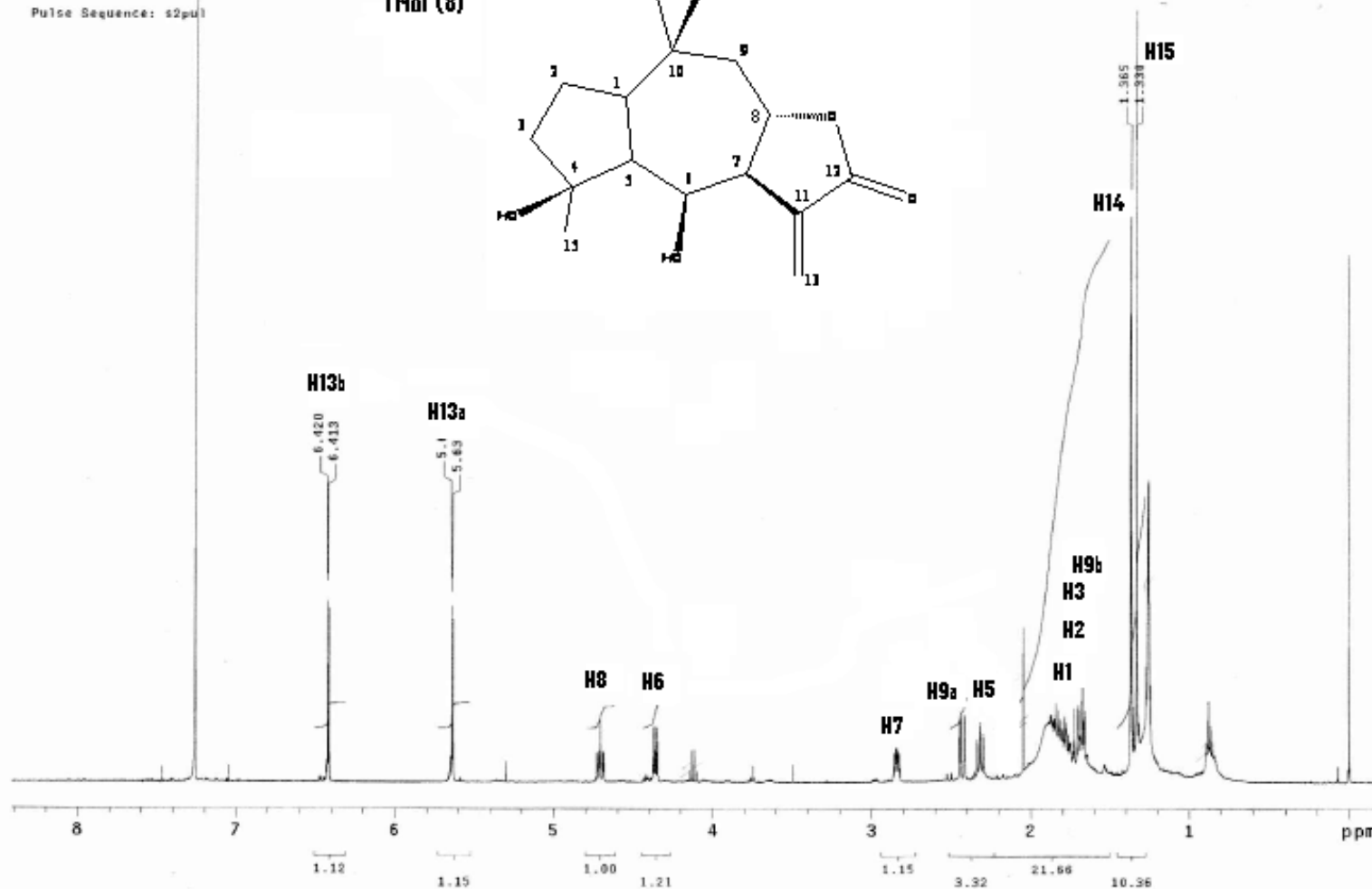
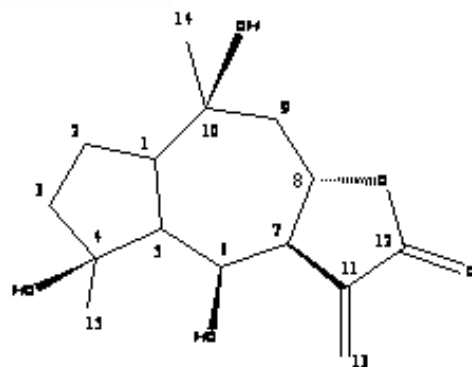


HMBC GUAYANÓLIDA (5)

Espectro 33

Instituto de Química UNAM (H. Rios)
Dr-T-Rios/Alejandro/Sanchez
Clave: T5eb
No-registro: 3298
Experimento: H
Disolvente: CDCl3
VarianUnityInova 500 MHz (G)
Enero-25-2007
Pulse Sequence: s2pul

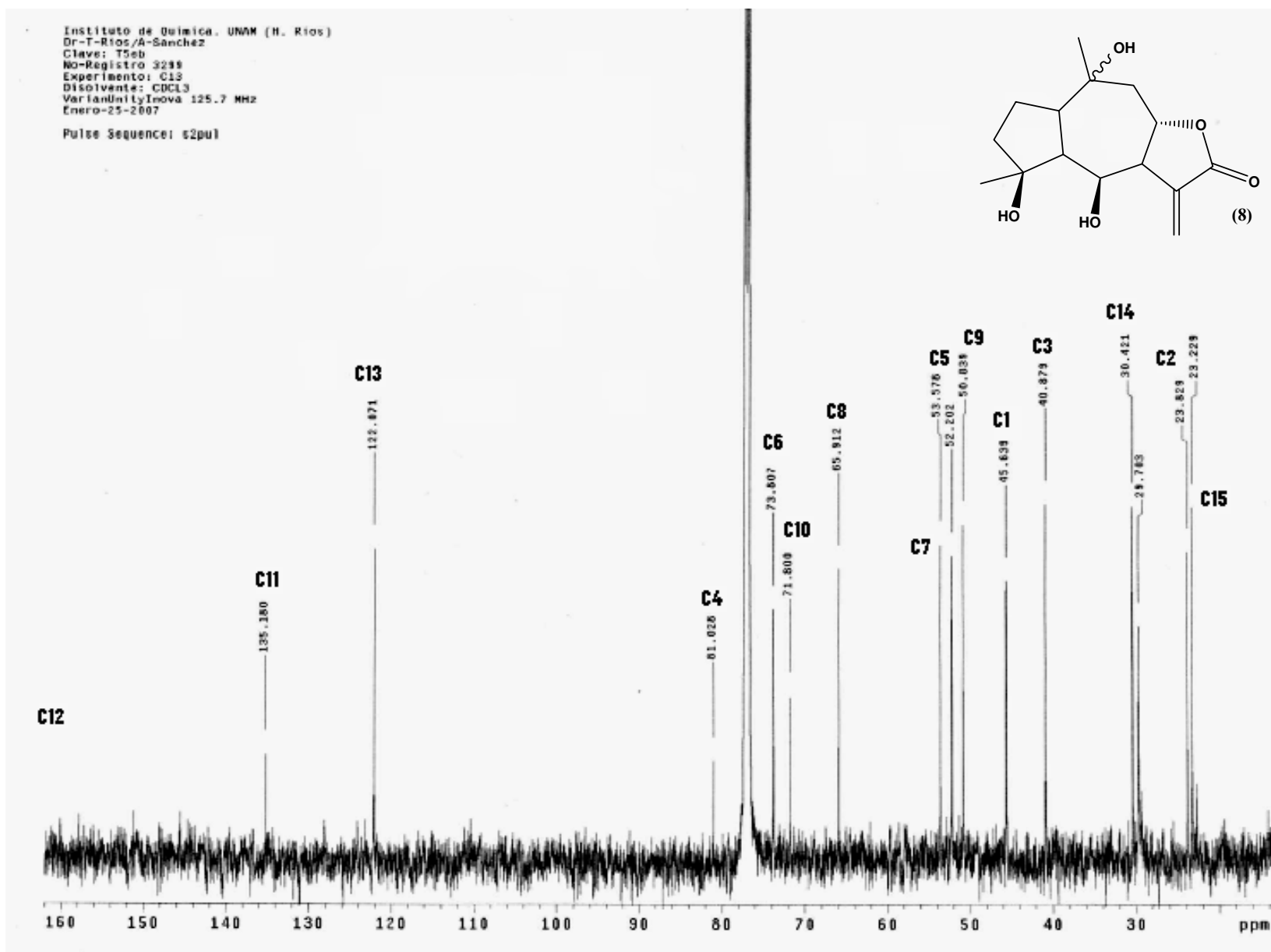
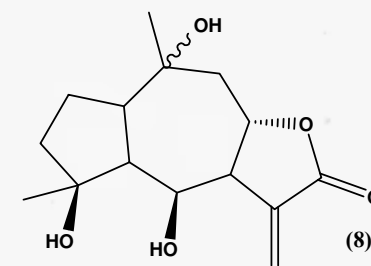
Triol (8)



RMN ¹H 500 MHz TRIOL (8)

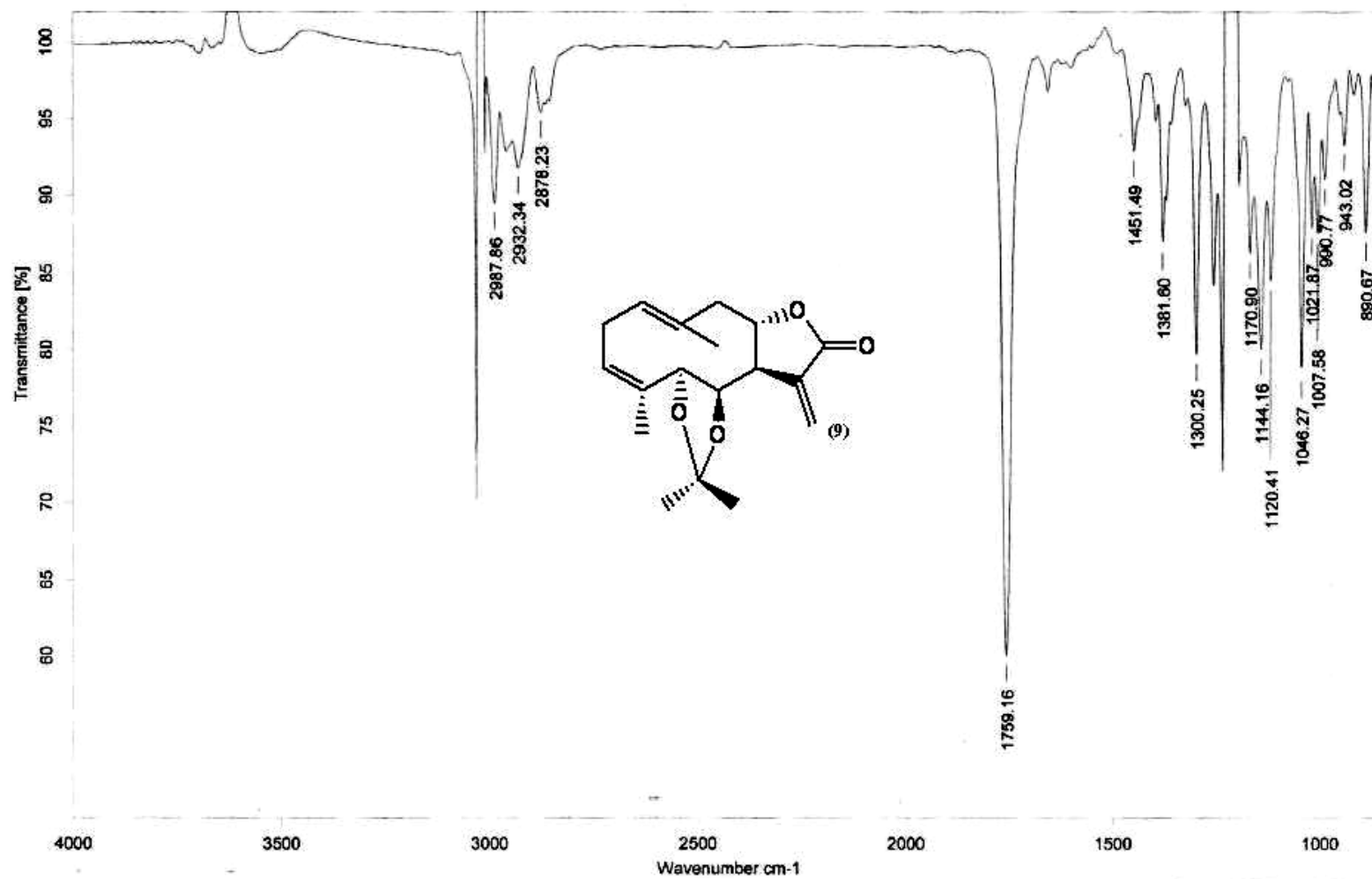
Espectro 34

Instituto de Química, UNAM (H. Ríos)
Dr-T-Ríos/A-Sánchez
Clave: 75eb
No-Registro: 3239
Experimento: C13
Disolvente: CDCl3
VarianUnityInova 125.7 MHz
Enero-25-2007
Pulse Sequence: s2pu1



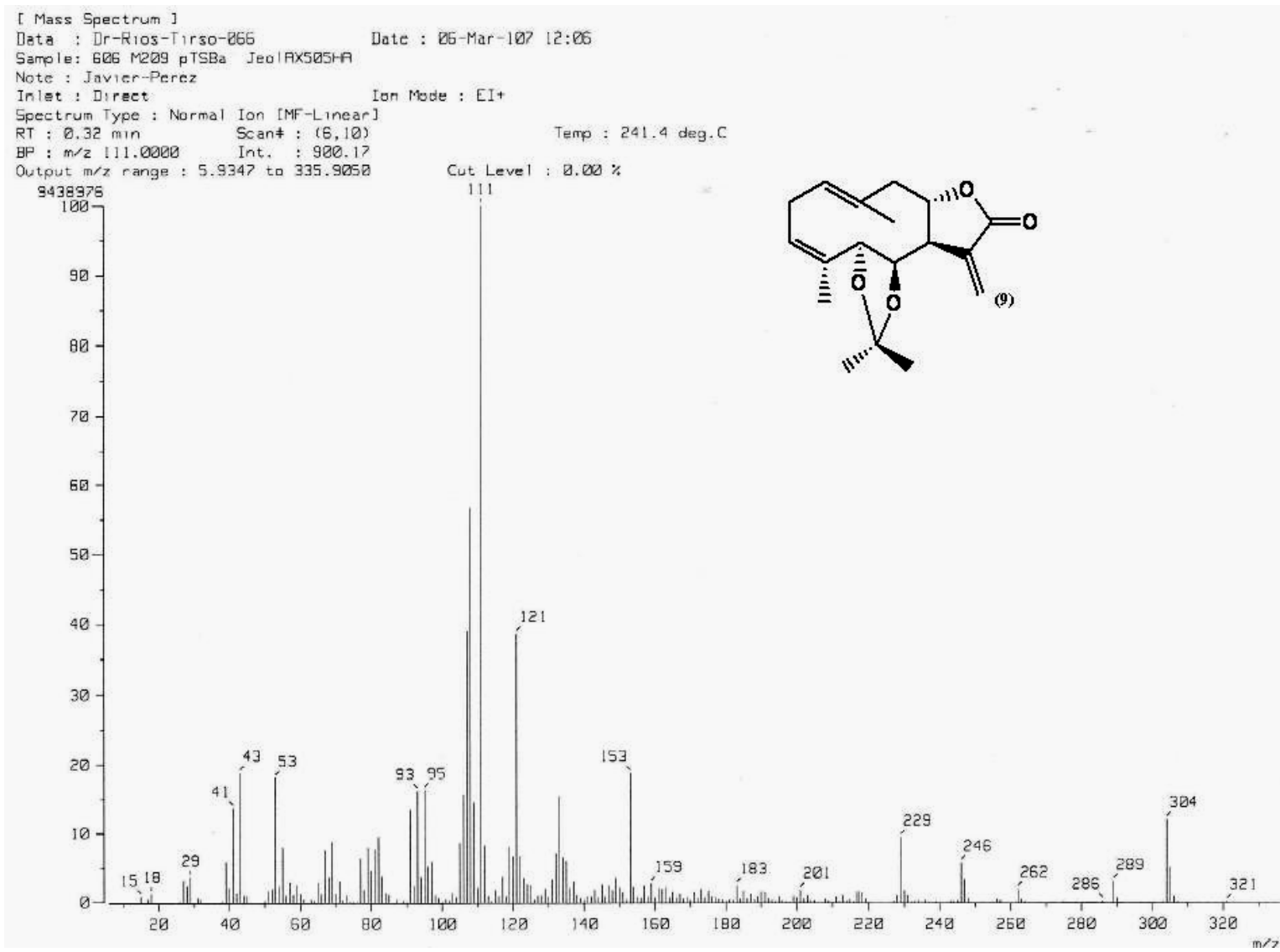
RMN ¹³C 125 MHz TRIOL (8)

Espectro 35



IR (Solución de CHCl₃) Acetónido (9)

Espectro 36



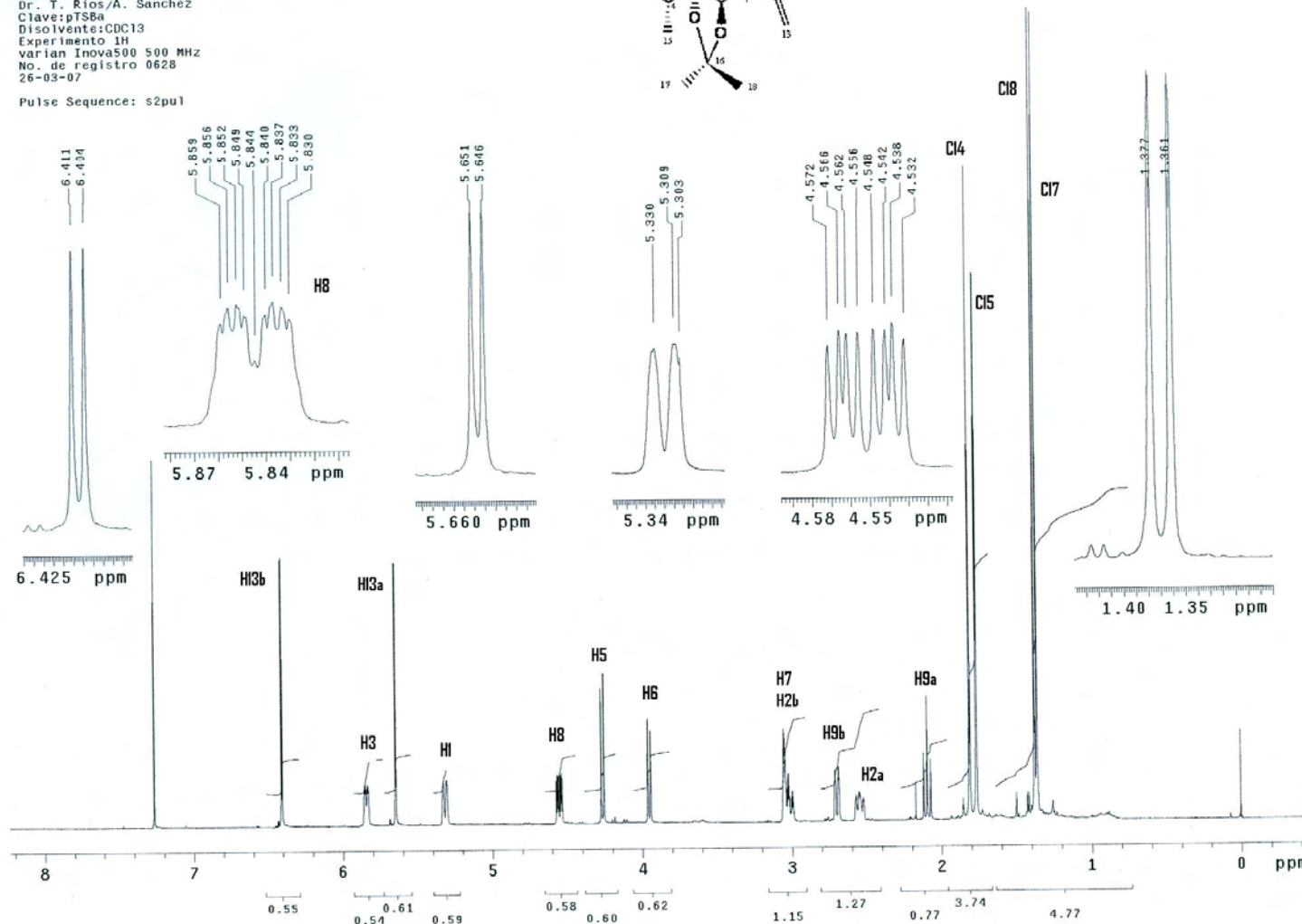
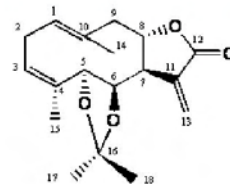
EMIE Acetónido (9)

Espectro 37

U.N.A.M. Instituto de Química ICH
 Dr. T. Rios/A. Sanchez
 Clave: pTS8a
 Disolvente: CDCl₃
 Experimento 1H
 varian Inova500 500 MHz
 No. de registro 0628
 26-03-07

Pulse Sequence: s2pul

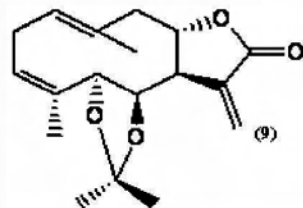
Acetonido endocíclico (9)



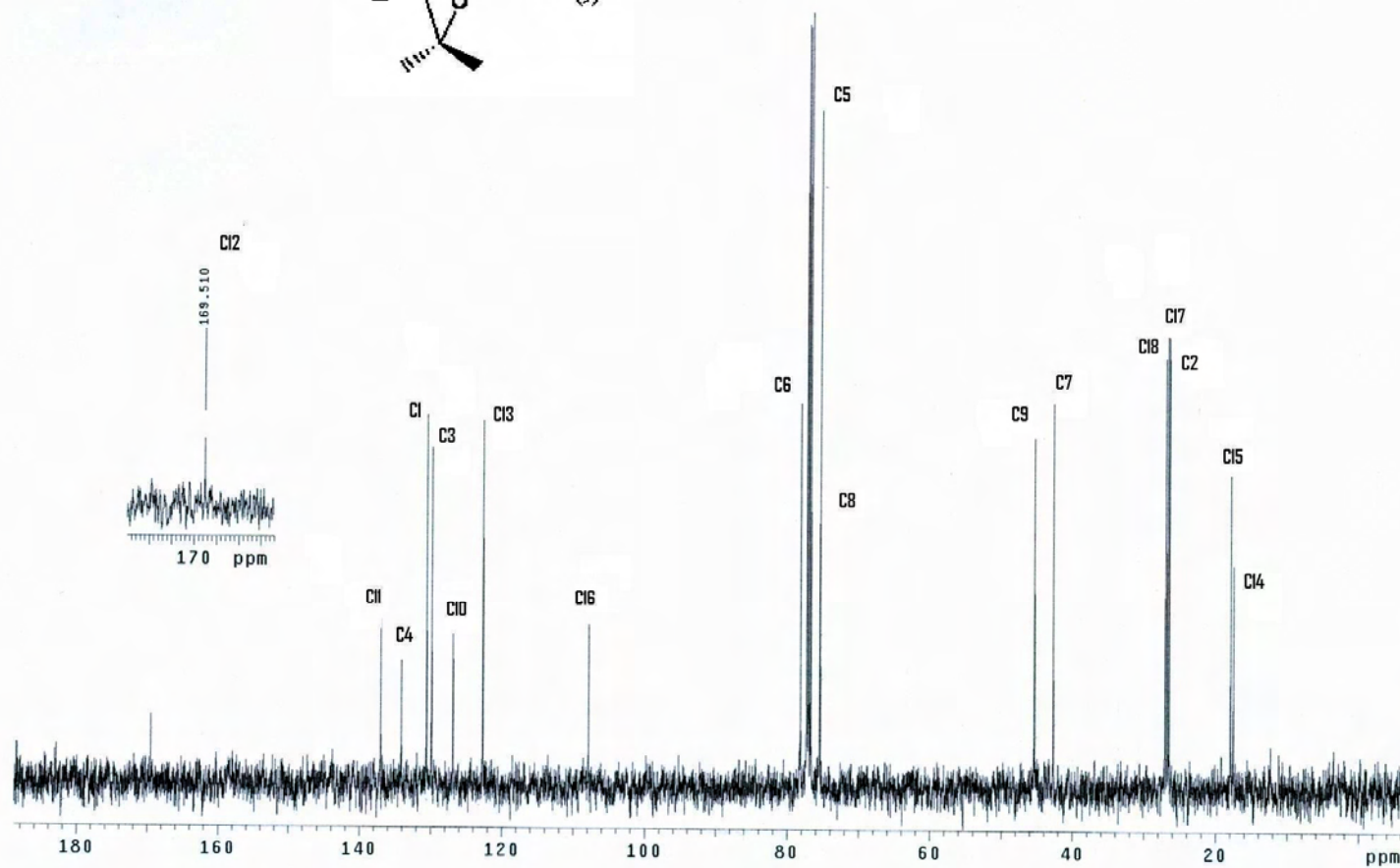
RMN ¹H 500 MHz ACETÓNIDO (9)

Espectro 38

U.N.A.M. Instituto de Química ICH
Dr. T. Ríos/A. Sánchez
Clave: pTSBa
Disolvente: CDC13
Experimento 13C
Varian Inova500 75 MHz
No. de registro 0628
26-03-07
Pulse Sequence: s2pu1

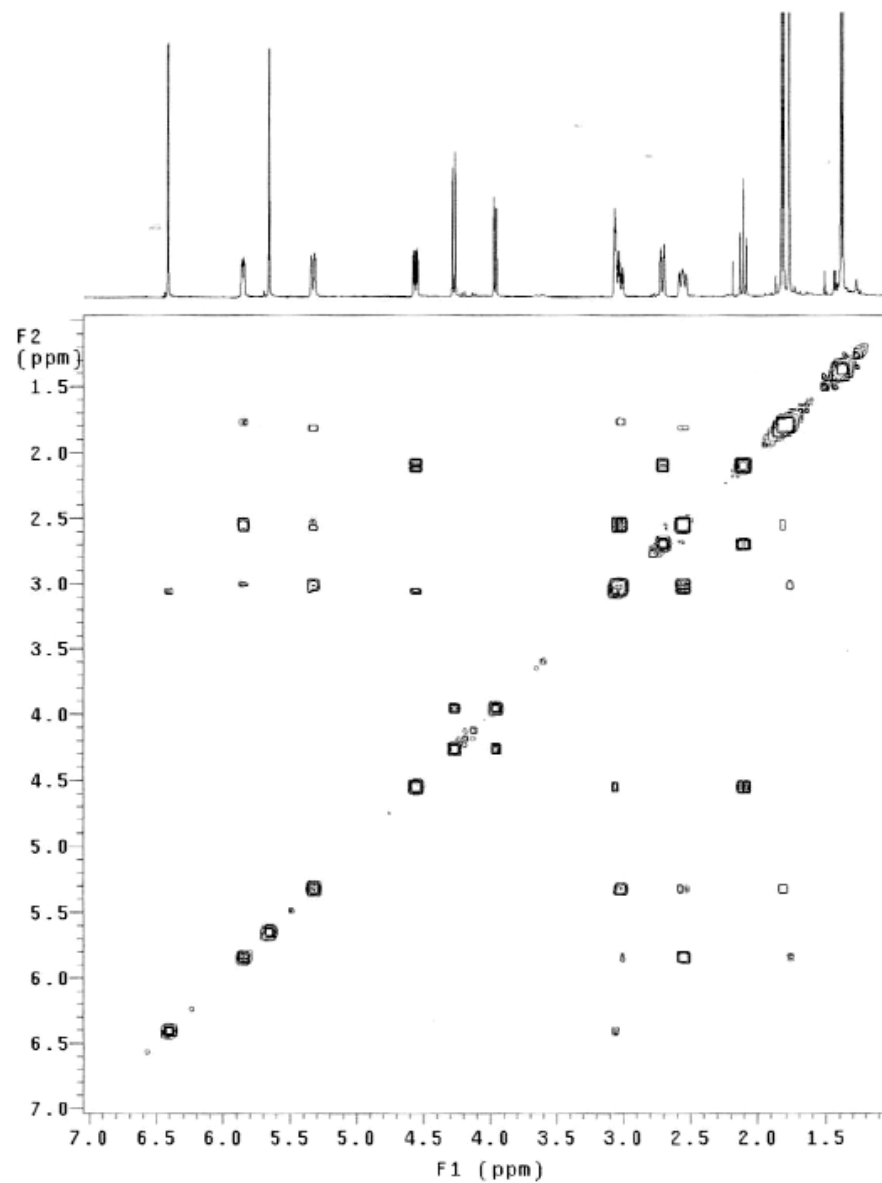
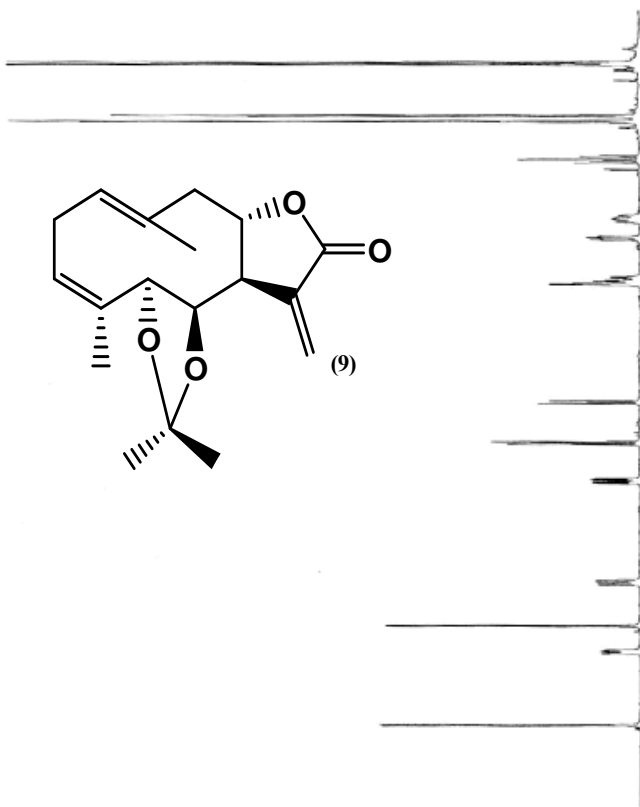


Acetonido endocíclico (9)



RMN ^{13}C 125 MHz ACETÓNIDO (9)

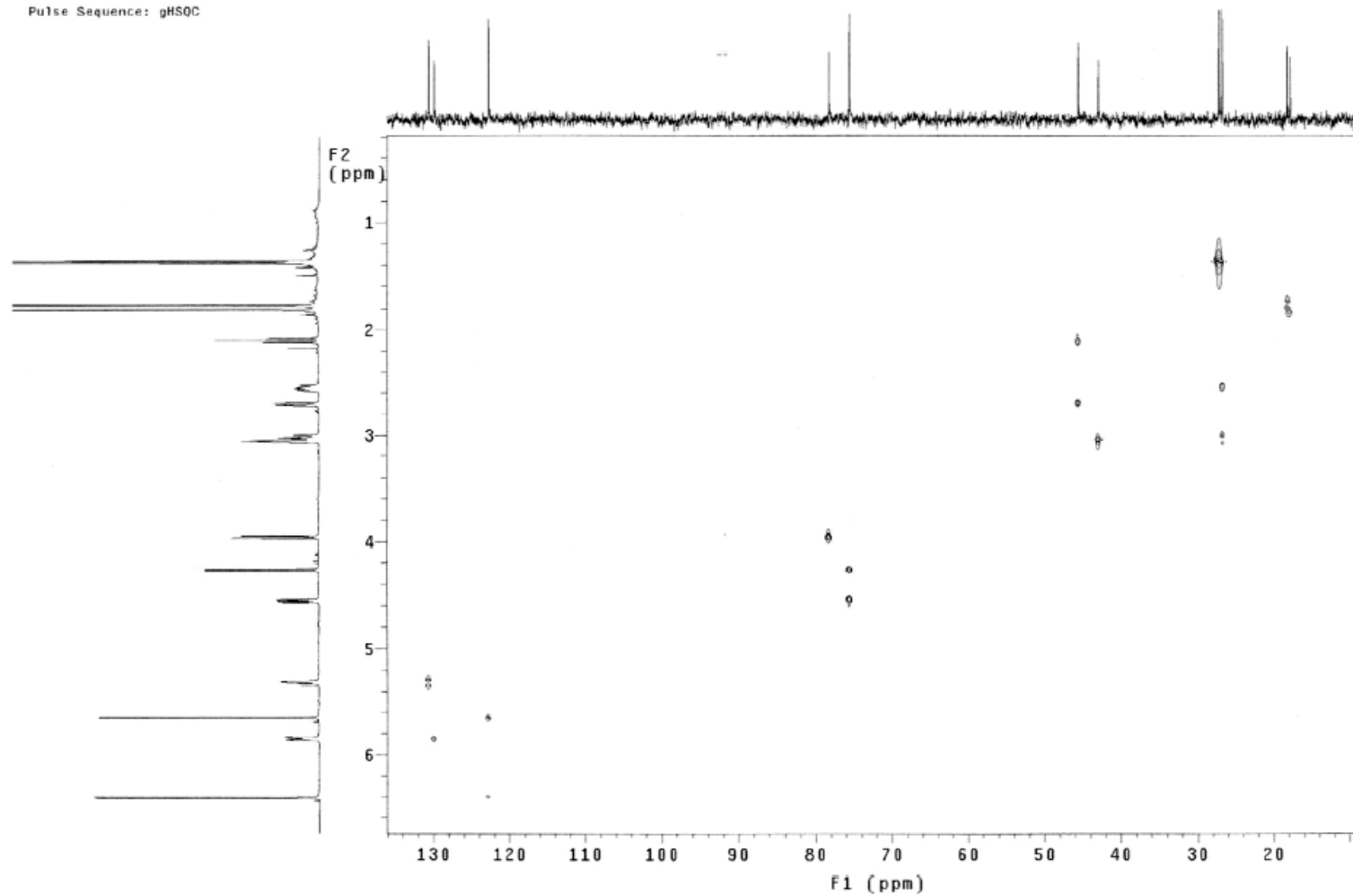
U.N.A.M. Instituto de Química ICH
Dr. T. Ríos/A. Sánchez
Clave: pTS8a
Disolvente: CDC13
Experimento COSY
varian inova500 500 MHz
No. de registro 0628
26-03-07
Pulse Sequence: gCOSY



COSY ACETÓNIDO (9)

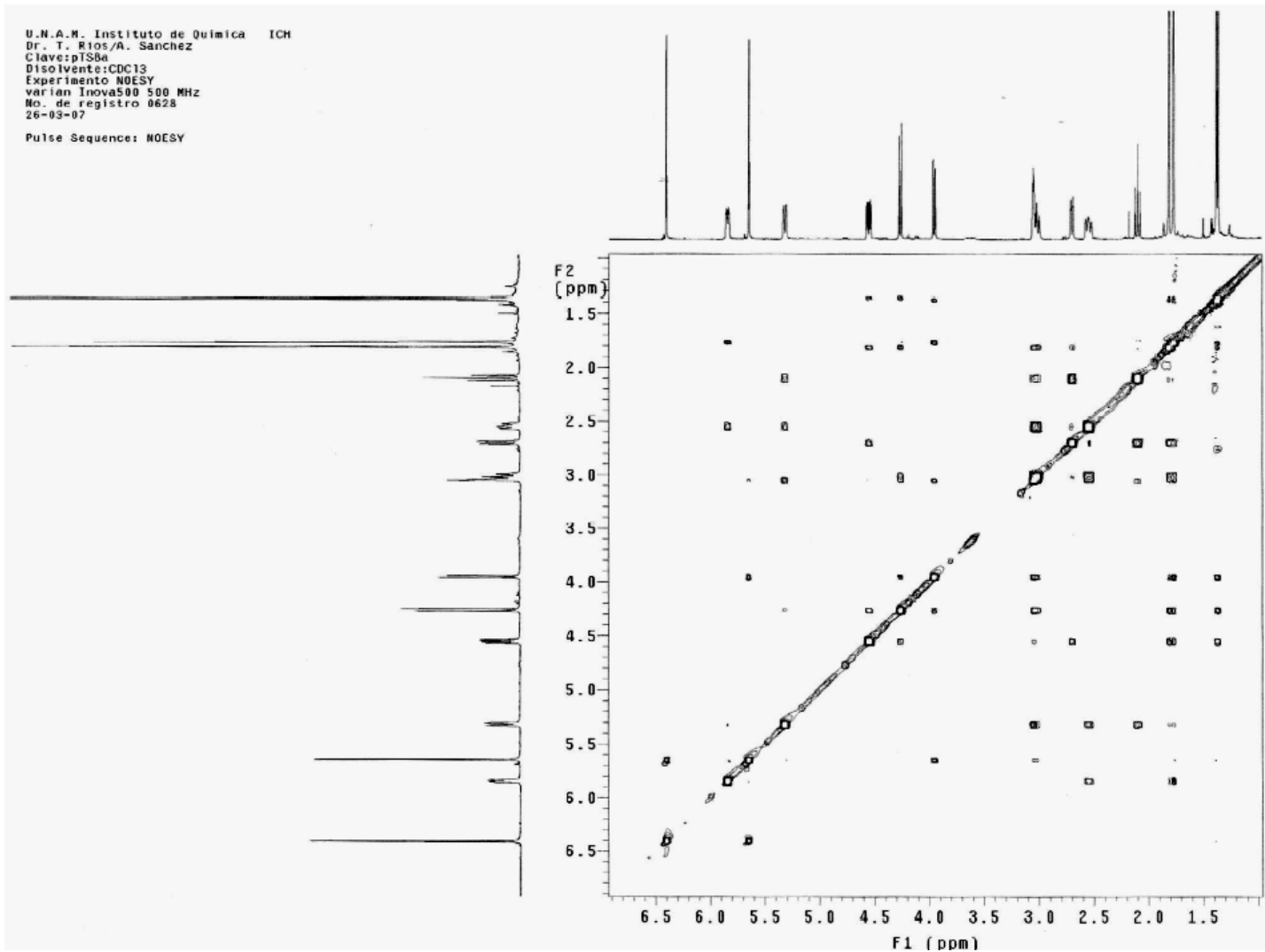
Espectro 40

U.N.A.M. Instituto de Química ICH
Dr. T. Ríos/A. Sánchez
Clave: pTSBa
Disolvente: CDCl₃
Experimento HSQC
varian Inova500 500 MHz
No. de registro 0628
26-03-07
Pulse Sequence: gHSQC

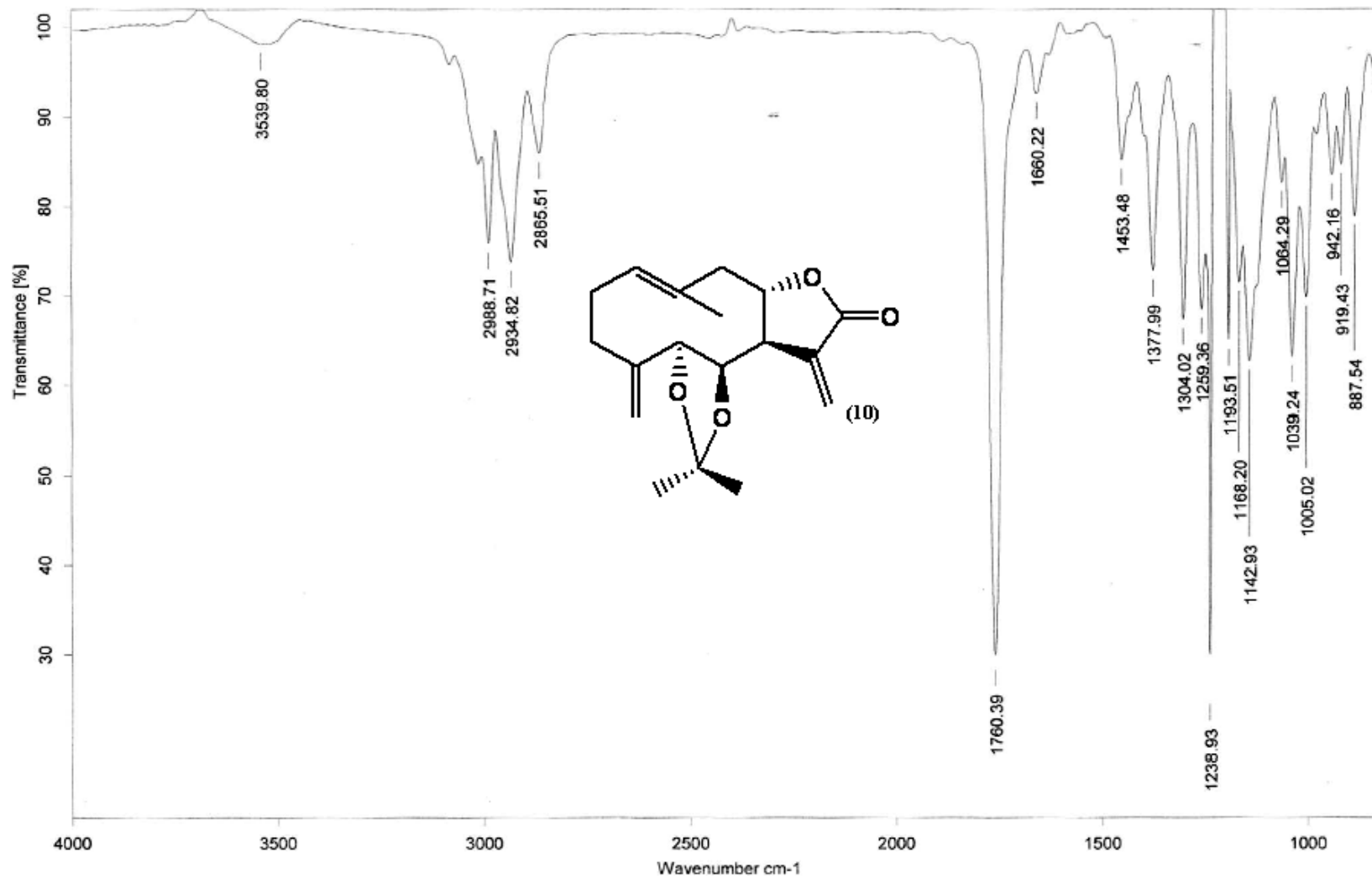


HSQC ACETÓNIDO (9)

U.N.A.M. Instituto de Química ICH
Dr. T. Rios/A. Sanchez
Clave:plSba
Disolvente:CDCl3
Experimento NOESY
varian Inova500 500 MHz
No. de registro 0628
26-03-07
Pulse Sequence: NOESY



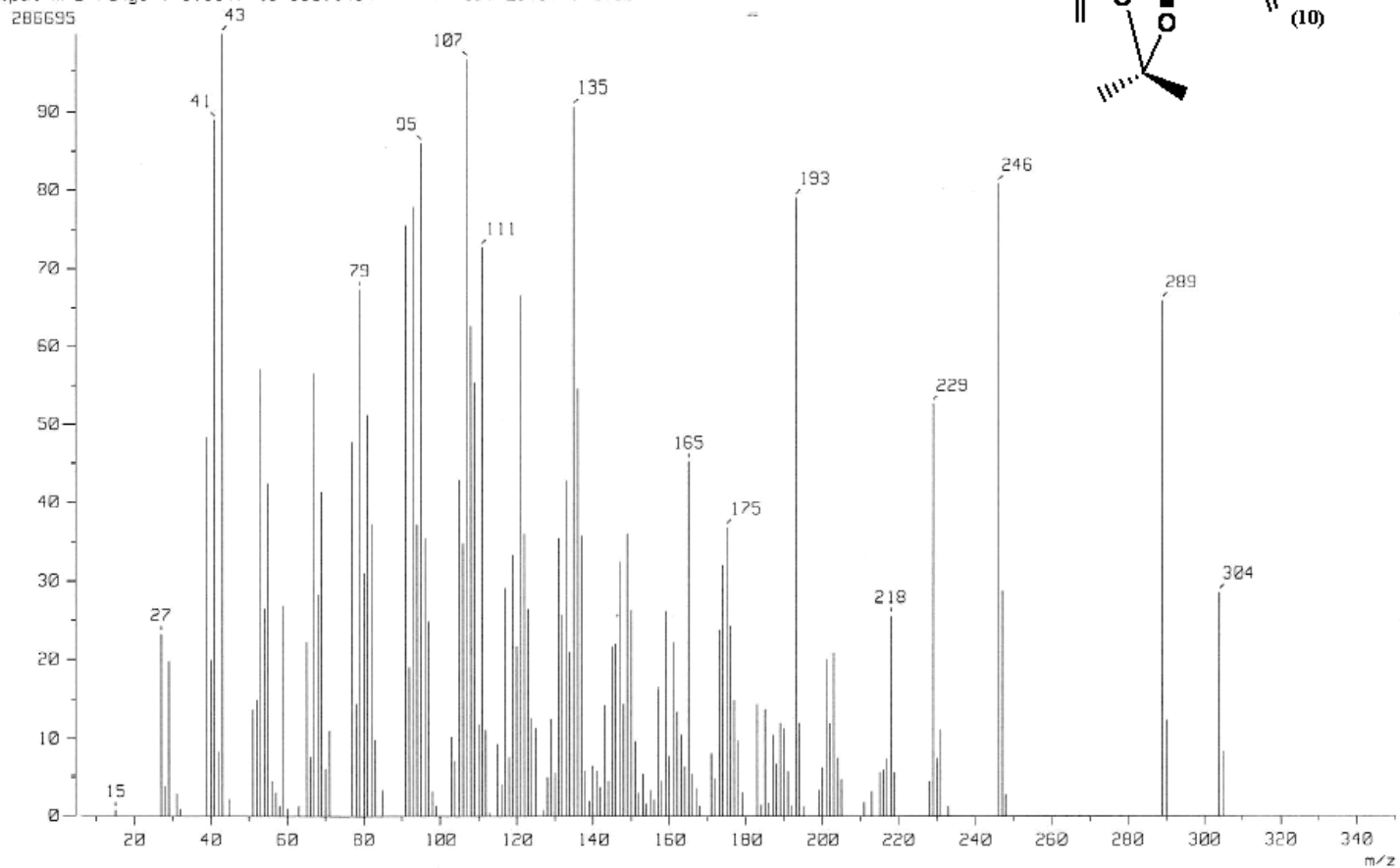
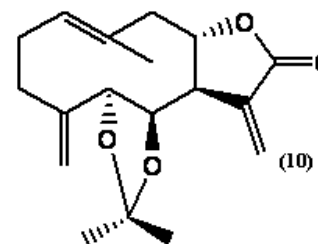
NOESY ACETÓNIDO (9)



IR (Solución de CHCl₃) Acetónido (10)

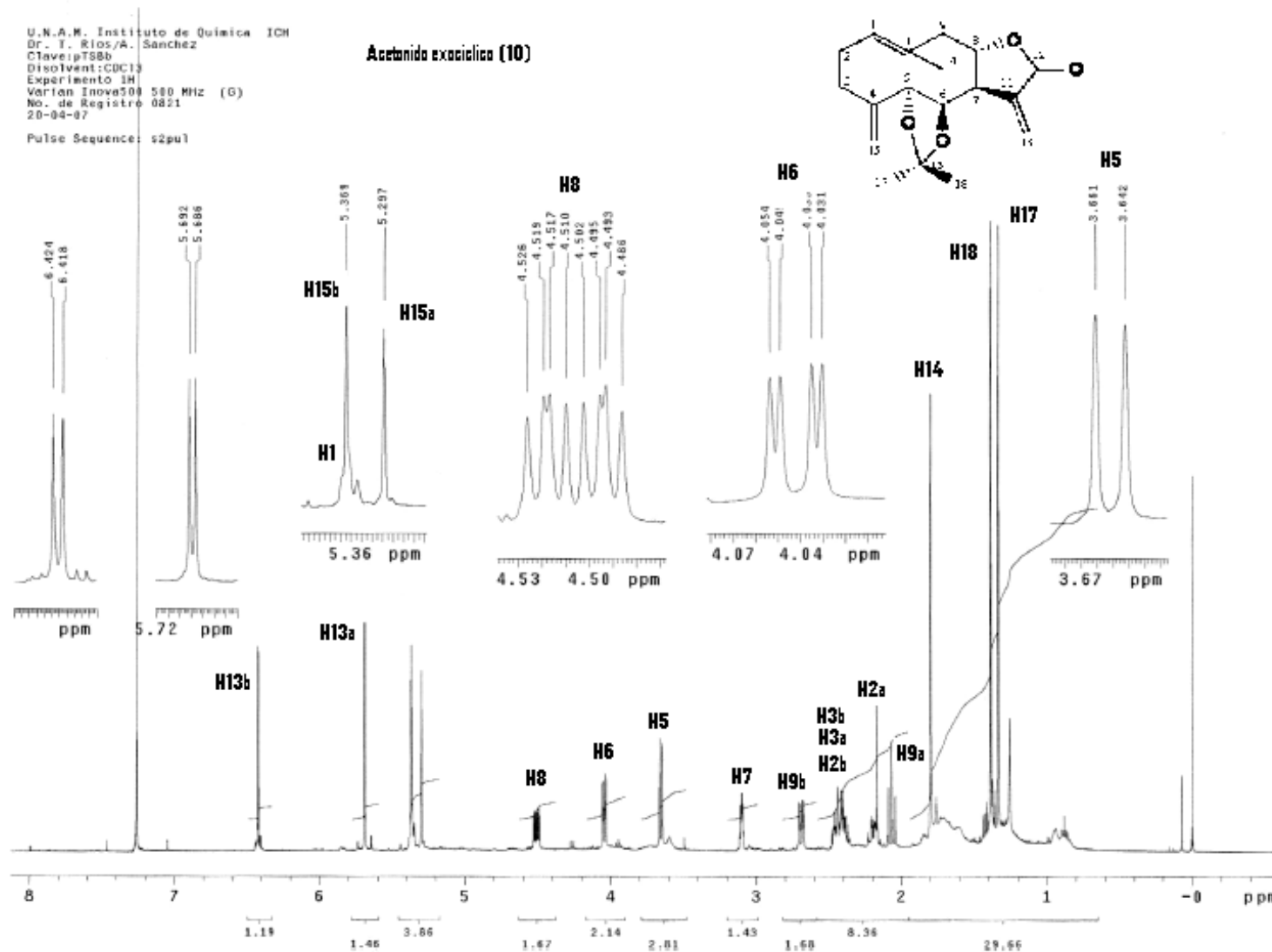
Espectro 43

[Mass Spectrum]
Data : Dr-Quirjano-Leo-009 Date : 12-Jun-07 11:36
Sample: 1223 M214 acetoexo JeolFX505HR
Note : Javier-Perez
Inlet : Direct Ion Mode : E1+
Spectrum Type : Normal Ion [MF-Linear]
RT : 0.58 min Scan# : (6,23)-(23,32) Temp : 63.6 deg.C
BP : m/z 43.0000 Int. : 27.42
Output m/z range : 5.9347 to 350.1494 Cut Level : 0.00 %



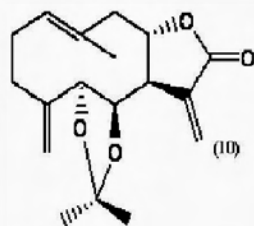
EMIE Acetónido (10)

Espectro 44

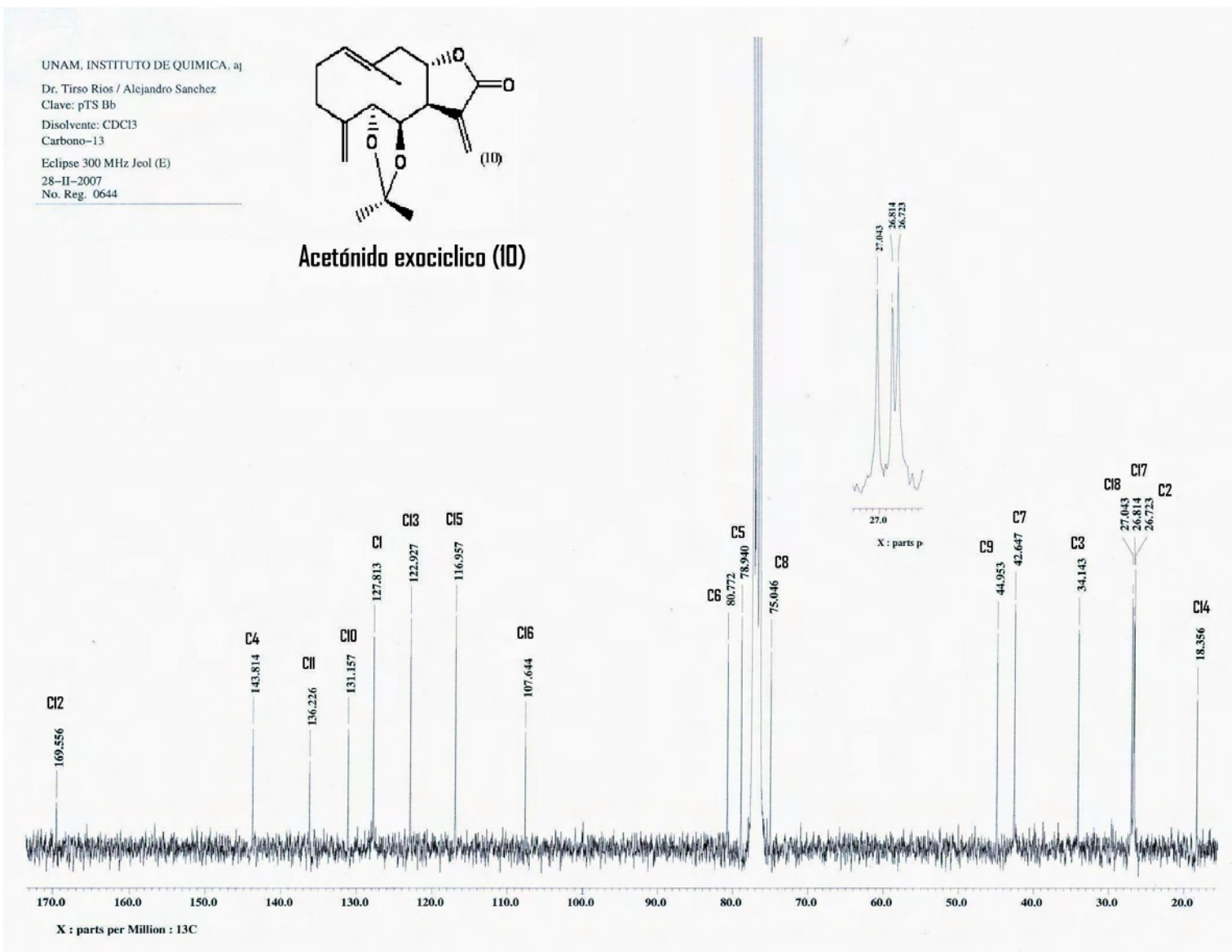


RMN ¹H 500 MHz ACETÓNIDO (10)

UNAM, INSTITUTO DE QUIMICA, a1
Dr. Tirso Rios / Alejandro Sanchez
Clave: pTS Bb
Disolvente: CDCl₃
Carbono-13
Eclipse 300 MHz Jeol (E)
28-II-2007
No. Reg. 0644

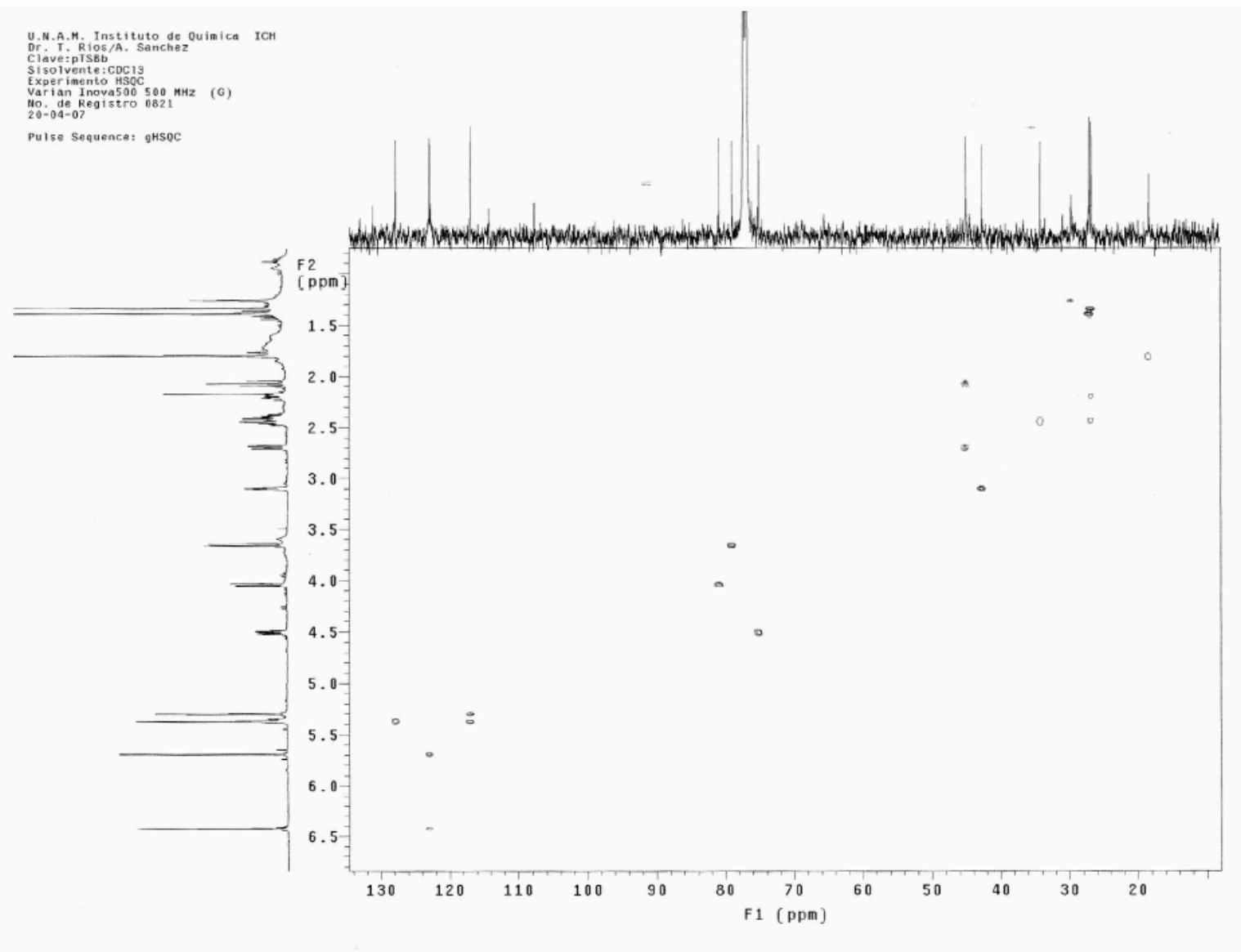


Acetónido exocíclico (10)



RMN ¹³C 125 MHz ACETÓNIDO (10)

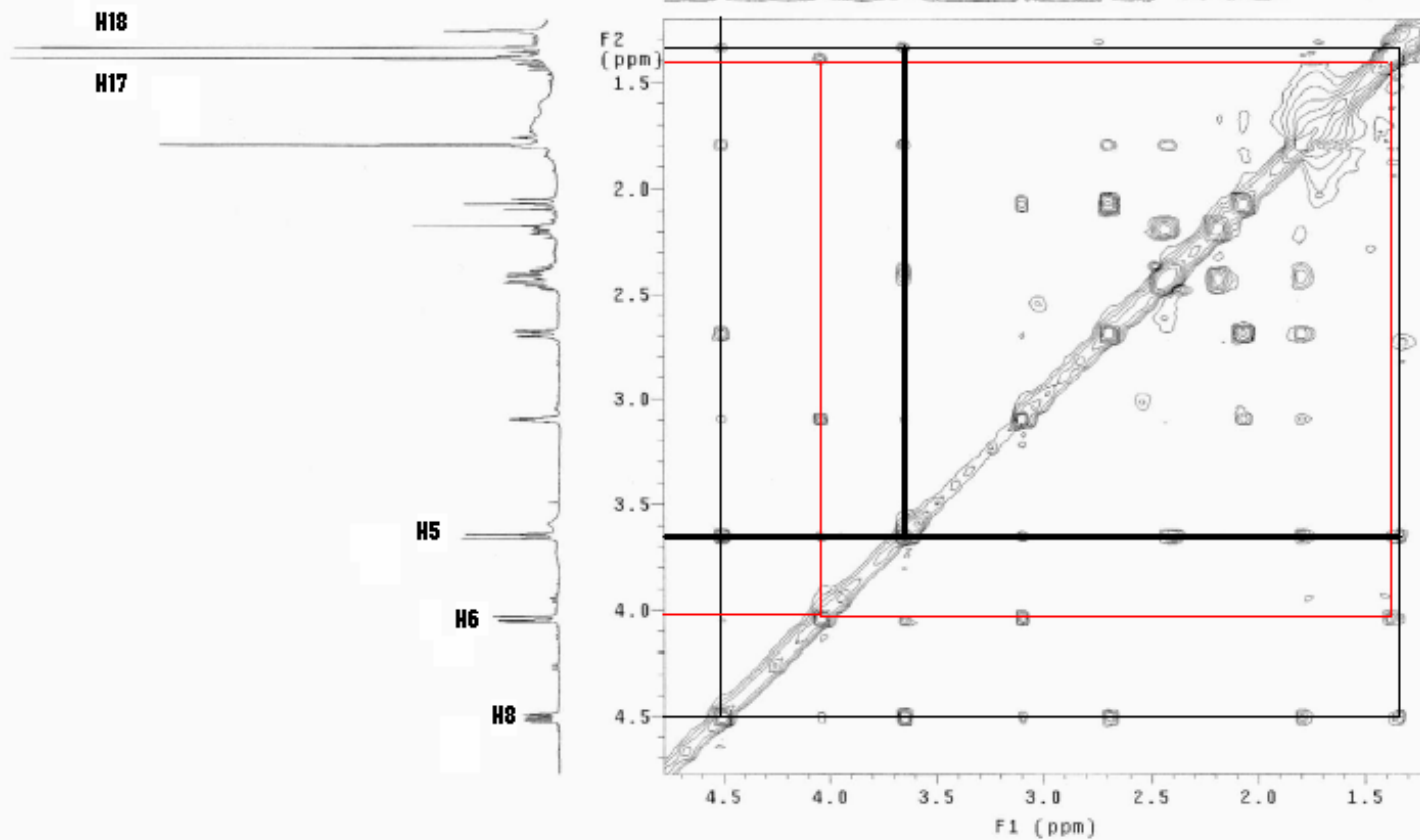
U.N.A.M. Instituto de Química ICH
Dr. T. Ríos/A. Sánchez
Clave: pIS8b
Solvente: CDCl₃
Experimento: HSQC
Varian Inova500 500 MHz (G)
No. de Registro: 0821
20-04-07
Pulse Sequence: gHSQC



HMBC ACETÓNIDO (10)

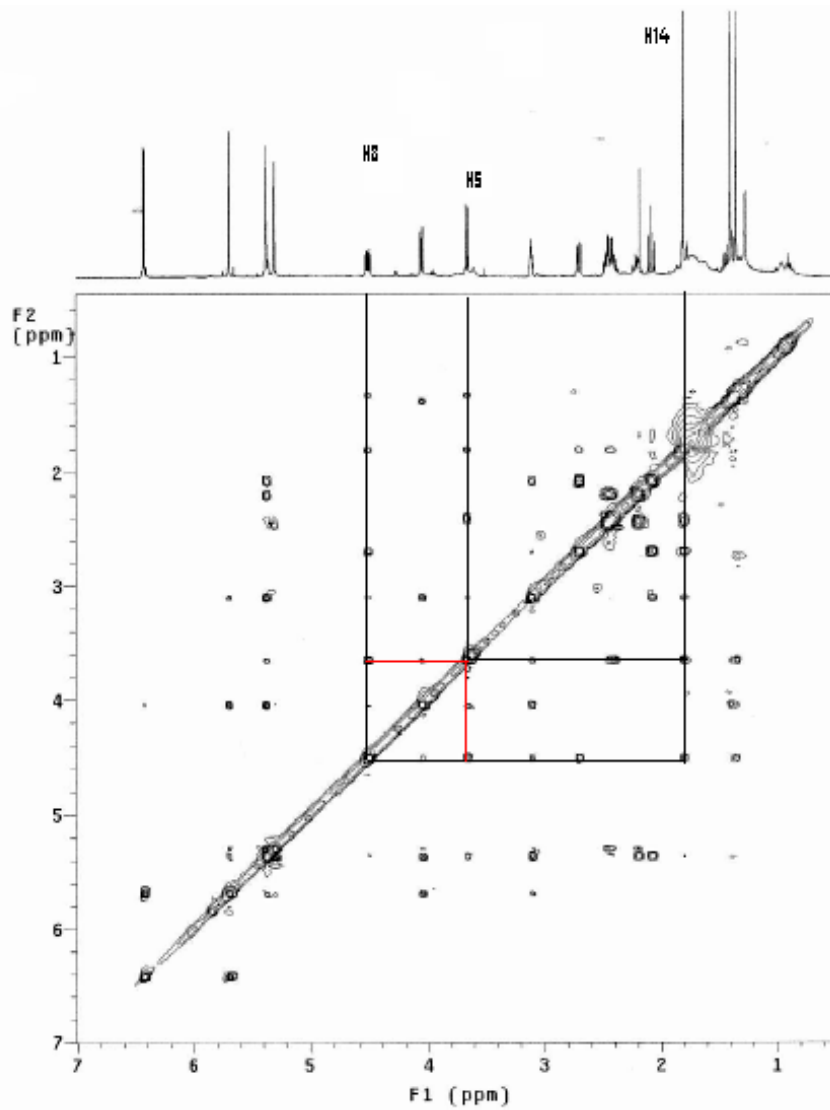
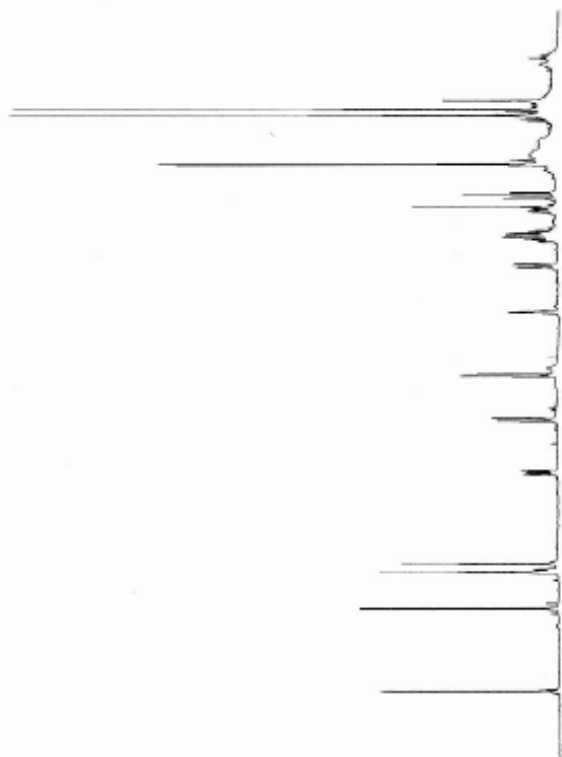
Espectro 47

U.N.A.M. Instituto de Química ICH
Dr. T. Ríos/A. Sánchez
Clave:PT35b
Solvente: CDCl₃
Experimento NOESY
Varian Inova500 500 MHz (G)
No. de Registro 0821
20-04-07
Pulse Sequence: NOESY



NOESY ACETÓNIDO (10)

U.N.A.M. Instituto de Química ICH
Dr. T. Rios/A. Sanchez
Clave: pTSBb
Disolvente: CDCl₃
Experimento: NOESY
Varian Inova500 500 MHz (G)
No. de Registro: 0821
20-04-07
Pulse Sequence: NOESY



Ampliación NOESY ACETÓNIDO (10)