



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**SÍNTESIS ASISTIDA POR MICROONDAS DE DERIVADOS DE
DIELS-ALDER DE Z-LIGUSTÍLIDA**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICO

PRESENTA

JOSÉ LUIS GONZÁLEZ ÁVILA



MÉXICO, D.F.

2013



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: Dr. José Serafín Calderón Pardo

VOCAL: Dr. Eduardo Guillermo Delgado Lamas

SECRETARIO: Dr. Federico del Río Portilla

1ER. SUPLENTE: Dra. María del Consuelo Socorro Sandoval García

2DO. SUPLENTE: Dr. Luis Demetrio Miranda Gutiérrez

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

INSTITUTO DE QUÍMICA, UNAM

ASESOR DEL TEMA:

Dr. Eduardo Guillermo Delgado Lamas _____

SUPERVISORA TÉCNICA:

Dra. Martha Alejandra León Cabrera _____

SUSTENTANTE:

José Luis González Ávila _____

Índice

Introducción	9
Antecedentes	11
Hipótesis.....	34
Justificación y objetivos.....	35
Resultados y Discusión	37
Conclusiones	71
Sección experimental	72
Referencias.....	77

Índice de Figuras

Figura 1. Metabolitos secundarios representativos de <i>L. porteri</i>	12
Figura 2. Productos de transformación de Z-ligustílida (1).	13
Figura 3. Dímeros lineales de Z-ligustílida (1).	18
Figura 4. Fotociclodímeros de 1	22
Figura 5. Llenado de orbitales moleculares de dieno y dienófilo (energía arbitraria).....	28
Figura 6. Interacciones posibles entre orbitales de dieno y dienófilo.....	30
Figura 7. Fragmento de espectro de RMN ¹ H (500 MHz, CDCl ₃) de una muestra de 1 . 39	
Figura 8. Numeración de átomos en las ftálicas 1 , <i>rac-3</i> y <i>rac-4</i>	44
Figura 9. Espectros de RMN ¹ H (300 MHz, CDCl ₃) de muestra almacenada de 1	46
Figura 10. Numeración de átomos en <i>rac-23a</i>	48
Figura 11. Fragmento del espectro de RMN ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) de <i>rac-23a</i>	51
Figura 12. Posibles interacciones a cuatro enlaces para H1' de <i>rac-23a</i>	51
Figura 13. Ampliación del espectro de RMN ¹ H (300 MHz, CDCl ₃) del crudo de reacción de 1 con anhídrido maleico.....	53
Figura 14. Perfil energético hipotético de la reacción de 1 con anhídrido maleico.	57
Figura 15. Numeración de átomos en <i>rac-37</i>	58

Figura 16. Posibles interacciones en el estado de transición de la cicloadición de Diels-Alder de 1 con alcohol alílico.....	62
Figura 17. Numeración de átomos de 38	63
Figura 18. Fragmentos de la estructura del producto de 1 y ADDM deducidos por RMN ¹ H y COSY.....	65
Figura 19. Numeración de átomos de 39a	67

Índice de Esquemas

Esquema 1. Reacciones de Z-ligustílida	14
Esquema 2. Adición de tioglicolato de metilo a Z-ligustílida (1).....	15
Esquema 3. Adición de bencilamina a Z-ligustílida (1).	16
Esquema 4. Reacción de Diels-Alder de 1 para formar los cicloaductos <i>rac-3</i> y <i>rac-4</i>	17
Esquema 5. Formación del dímero lineal 28	19
Esquema 6. Formación del dímero lineal 29	20
Esquema 7. Formación del dímero lineal 30	21
Esquema 8. Formación del dímero lineal 31	22
Esquema 9. Reacciones de Diels-Alder de 1 con diversos dienófilos.	24
Esquema 10. Ruta sintética de Li <i>et al.</i> para obtener 1	25
Esquema 11. Ruta sintética de Beck y Stermitz para obtener 1	26
Esquema 12. Ruta sintética de Wang para obtener 1	26
Esquema 13. Características esenciales de las reacciones de Diels-Alder.	27
Esquema 14. Estereoquímica del dieno y del dienófilo en reacciones de Diels-Alder... ..	30
Esquema 15. Estereoselectividad en reacciones de Diels-Alder.....	31
Esquema 16. Reacción de 1 con anhídrido maleico.....	47
Esquema 17. Formación de diastereoisómeros de 23	55
Esquema 18. Reacción de 1 con alcohol alílico	58
Esquema 19. Mecanismo de reacción para la formación de <i>rac-37</i>	61
Esquema 20. Reacción de 1 con ADDM.	63
Esquema 21. Mecanismo de reacción para la formación de 38	66

Esquema 22. Reacción de 1 con propiolato de etilo.....	66
---	----

Índice de tablas

Tabla 1. Cálculo de pureza por RMN ¹ H de una muestra de 1	38
Tabla 2. Ensayos realizados en microondas para dimerizar Z-ligustílida, variando los disolventes utilizados.	41
Tabla 3. Propiedades relacionadas con la absorción de microondas de los disolventes empleados.	42
Tabla 4. Comparación de tiempos y temperatura de reacción con calentamiento convencional y con microondas.....	68

Índice de espectros

Espectro 1. RMN- ¹ H (500 MHz, CDCl ₃) de 1	A-2
Espectro 2. RMN- ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) de <i>rac-23a</i>	A-3
Espectro 3. RMN- ¹³ C (100 MHz, CDCl ₃) de <i>rac-23a</i>	A-4
Espectro 4. COSY (400 MHz, CDCl ₃) de <i>rac-23a</i>	A-5
Espectro 5. Apilación RMN- ¹³ C, DEPT-135 y DEPT-90 (100 MHz, CDCl ₃) de <i>rac-23a</i>	A-6
Espectro 6. HSQC (400 MHz, CDCl ₃) de <i>rac-23a</i>	A-7
Espectro 7. HMBC (400 MHz, CDCl ₃) de <i>rac-23a</i>	A-8
Espectro 8. RMN- ¹ H (500 MHz, CDCl ₃) de <i>rac-23b</i>	A-9
Espectro 9. RMN- ¹³ C (100 MHz, CDCl ₃) de <i>rac-23b</i>	A-10
Espectro 10. RMN- ¹ H (500 MHz, CDCl ₃) de <i>rac-37</i>	A-11
Espectro 11. RMN- ¹³ C (126 MHz, CDCl ₃) de <i>rac-37</i>	A-12
Espectro 12. COSY (500 MHz, CDCl ₃) de <i>rac-37</i>	A-13
Espectro 13. RMN- ¹ H (300 MHz, CDCl ₃) de 38	A-14
Espectro 14. RMN- ¹³ C (75 MHz, CDCl ₃) de 38	A-15
Espectro 15. COSY (300 MHz, CDCl ₃) de 38	A-16

Espectro 16. Apilados RMN- ¹³ C, DEPT-135 y DEPT-90 (75 MHz, CDCl ₃) de 38	A-17
Espectro 17. RMN- ¹ H (300 MHz, CDCl ₃) de 39a	A-18
Espectro 18. RMN- ¹³ C (75 MHz, CDCl ₃) de 39a	A-19

ABREVIATURAS COMUNES

Ac ₂ O	Anhídrido acético.
AcOEt	Acetato de etilo.
AcOH	Ácido acético.
ADDM	Acetilendicarboxilato de dimetilo.
c	Cuadruplete.
°C	Grado Celsius.
cc	Cromatografía en columna.
ccf	Cromatografía en capa fina.
CDCl ₃	Cloroformo deuterado.
CH ₂ Cl ₂	Diclorometano.
CHCl ₃	Cloroformo.
COSY	Espectroscopia de Correlación (Correlation Spectroscopy).
d	Doblete.
dd	Doblete de dobletes.
ddd	Doblete de doblete de dobletes.
dt	Doblete de tripletes.
δ	Desplazamiento químico.
δ	Ángulo de pérdida.
DEPT	Aumento sin Distorsión por Transferencia de Polarización (Distortionless Enhancement by Polarization Transfer).
HMBC	Correlación Heteronuclear de Múltiples Enlaces (Heteronuclear Multiple Bond Correlation).
Hz	Hertz.
Hex	Hexano.
hex	Sextuplete.
<i>i</i> -BuOH	Isobutanol.
<i>J</i>	Constante de acoplamiento.
L	Litro.
LDA	Diisopropilaminuro de litio (Lithium diisopropyl amide).
m	Multiplete.
mL	Mililitro.
MeOH	Metanol.
Me ₂ CO	Acetona.
MHz	Megahertz.
MsCl	Cloruro de mesilo.
<i>n</i> -BuLi	<i>n</i> -butiluro de litio.
NOESY	Espectroscopía de Efecto Nuclear Overhauser (Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy).
P _f	Punto de fusión.
ppm	Partes por millón.
<i>p</i> -TsOH	Ácido paratoluensulfónico.
Py	Piridina.
q	Quintuplete.
RMN	Resonancia Magnética Nuclear.
RMN ¹ H	Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno.

RMN-1D-c	Resonancia Magnética Nuclear unidimensional cuantitativa.
RMN ¹³ C	Resonancia Magnética Nuclear de Carbono 13.
s	Singulete.
<i>t</i> -BuOK	Terbutóxido de potasio.
THF	Tetrahidrofurano.
TMS	Tetrametilsilano.
TPA	Acetato de tetradecanoilforbol.

INTRODUCCIÓN

El uso de productos de origen natural, a los que se les atribuye cierta actividad biológica útil en el tratamiento y la prevención de enfermedades, es una práctica común y antigua del ser humano.

Se estima que en el mundo hay alrededor de 250,000 especies de plantas, de las cuales, para 2001 se habían explorado el 6% para evaluar su actividad biológica, y 15% habían sido evaluadas fitoquímicamente.¹

El gran hito en la química de productos naturales y el aprovechamiento de estos en la medicina sintética fue el aislamiento de compuestos puros bioactivos. El primero de ellos fue la morfina, seguido del aislamiento de otras drogas, como atropina, cocaína, codeína, quinina, por citar algunos ejemplos. Estos logros influyeron enormemente en el desarrollo de la química orgánica y medicinal.² El hallazgo de sustancias naturales bioactivas sirvió como base para el desarrollo de fármacos sintéticos con actividad biológica. Aún en la actualidad, pese a la existencia de la química combinatoria, el descubrimiento de productos naturales como “plantillas” para producir derivados con actividad biológica sigue siendo un enfoque muy utilizado en la química farmacéutica.

En ese tenor, generar conocimiento sobre la reactividad de los productos naturales con actividad biológica puede conducir a la obtención de derivados que, en el mejor de los casos, modulan tal actividad, además de contribuir al eventual entendimiento de los mecanismos de acción farmacológica.

En este trabajo, se estudia la reactividad química de *Z*-ligustílida, un metabolito secundario extraído de las raíces de la planta *Ligusticum porteri*, que ha sido utilizada en culturas prehispánicas del norte de México y sur de Estados Unidos para el tratamiento de resfriados, dolores estomacales, infecciones virales y dolor de cabeza.³

Concretamente, se centra en la transformación de Z-ligustílida en sus dímeros, y en otros cicloaductos, a través de reacciones de Diels-Alder, utilizando microondas como fuente de energía.

Por otro lado, se lleva a cabo cuantificación de Z-ligustílida y sus dímeros por medio de resonancia magnética nuclear, con el objetivo de ponderar su estabilidad relativa a la dimerización.

Adicionalmente, se evalúa la actividad biológica de algunos derivados semisintéticos de Z-ligustílida en el modelo de edema inducido con TPA.

1. ANTECEDENTES

La especie vegetal *Ligusticum porteri*, perteneciente a la familia Umbelliferae, comúnmente conocida como “oshá” o “chuchupate”, ha sido utilizada por los pobladores del sureste de Estados Unidos y norte de México (v. gr. los nativos rarámuris) para el tratamiento de diversas enfermedades. El té de sus raíces es consumido para tratar resfriados, enfermedades estomacales, dolor de cabeza y fiebre.^{4,5,6}

Entre los metabolitos secundarios de *L. porteri* se encuentran Z-ligustílida (**1**), Z-butilidentfálida (**2**), toquinólida B (*rac-3*), diligustílida (*rac-4*), riligustílida (*rac-5*), ácido ferúlico (**6**), triacilglicérido (**7**), senquiunólida I (**8a**), senquiunólida F (**9**), ferulato de coniferilo (**10**), y los acilglucosilesteroles **11** y **12**.^{7,8} Las estructuras de estos compuestos se muestran en la Figura 1.

Los productos naturales **1-5**, **8** y **9** forman parte de un grupo de compuestos denominados ftálicas, debido a su semejanza estructural con el ácido ftálico. Las ftálicas son metabolitos secundarios característicos de varias especies de la familia Umbelliferae.⁹ Como ejemplo, se puede citar *Ligusticum wallichii*,^{10,11} *L. chuanxiong*,¹² *Angelica sinensis*,¹³ *A. acutilobum*,¹⁴ o *Apium graveolens*.¹⁵

Z-ligustílida (**1**) es uno de los metabolitos secundarios de *L. porteri* que posee mayor actividad biológica. Estudios previos han mostrado que este compuesto tiene actividad anticolinérgica,¹⁴ vasodilatadora,¹⁶ neuroprotectora,¹² antiasmática,¹⁷ relajante del músculo liso y sedante.¹⁸

A pesar de su aparente simpleza, la estructura de **1** le confiere una reactividad química particular y se cree que es también la causa del amplio espectro de actividad biológica. Posee un trieno conjugado, que incluye un dieno homoanular, fusionado con un fragmento de γ -lactona $\alpha,\beta,\gamma,\delta$ -insaturada.

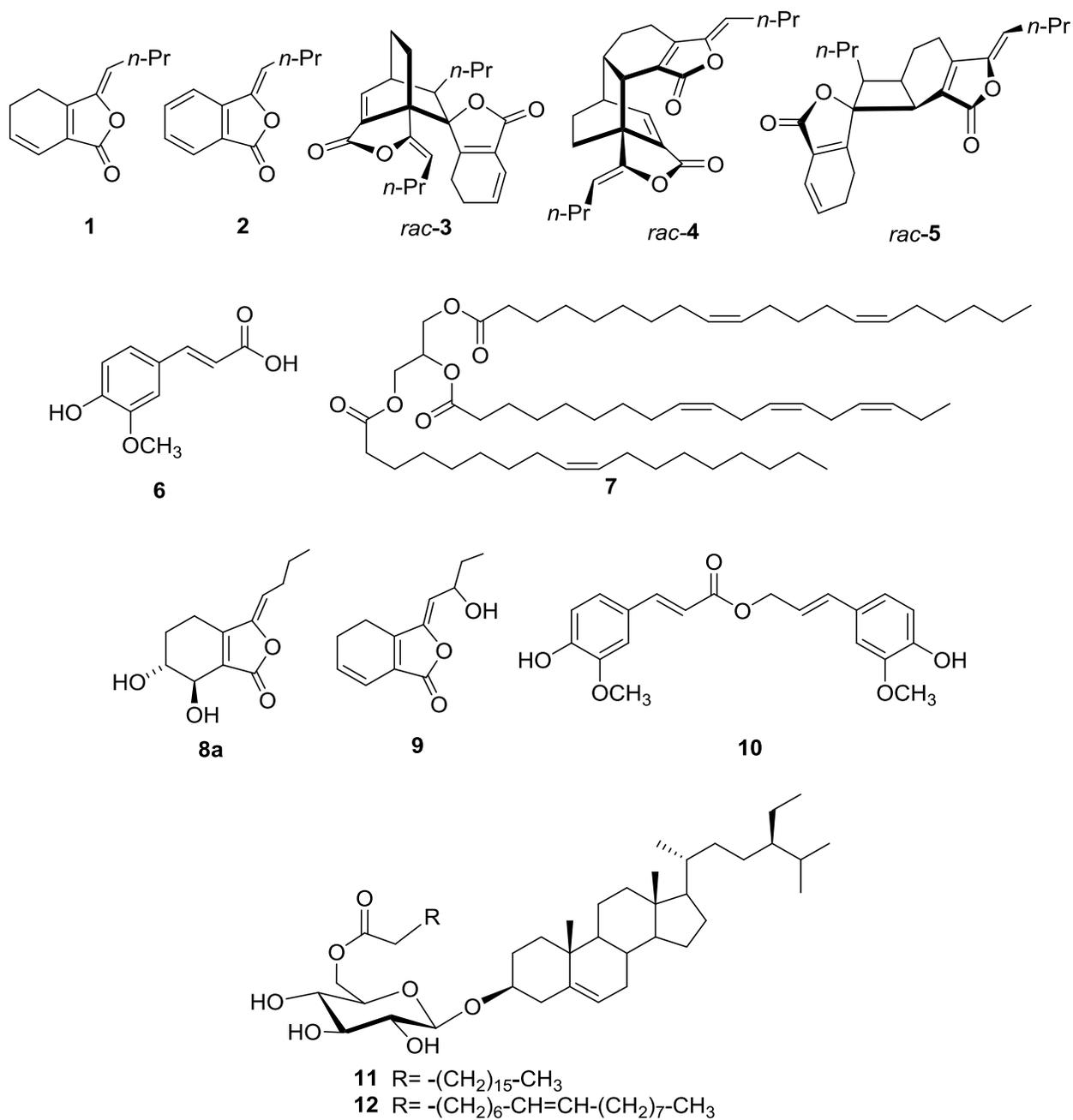


Figura 1. Metabolitos secundarios representativos de *L. porteri*.

La amplia reactividad química de **1** propicia fácilmente su transformación a otras sustancias debido a factores como el oxígeno del aire, la luz y temperaturas

altas,¹⁹ obteniendo como productos ftálidas hidroxiladas o diméricas. Se ha reportado que Z-ligustílida (**1**) se transforma a *rac*-**4** y *rac*-**5** por exposición a la luz solar; a **8a** y **8b**, al ser expuesto a temperaturas elevadas; y que en realidad estas ftálidas no se encuentran como productos naturales en *L. chuanxiong*.²⁰ Otro estudio reveló que si bien Z-ligustílida (**1**) se transforma a las ftálidas *rac*-**4**, **13**, **14** y **15** (Figura 2), por exposición a la luz solar y a **8a** y **8b**, por calentamiento, estas ftálidas no son solamente artefactos, sino productos naturales presentes en las raíces de *A. sinensis*, puesto que al analizar y comparar los perfiles cromatográficos de extractos frescos y extractos secos, únicamente varía el contenido relativo de las mencionadas ftálidas con respecto a **1**.¹³ Cabe mencionar también que otro estudio demostró que las ftálidas *rac*-**3** - *rac*-**5** y **8a** son productos naturales de *L. porteri*, al analizar por un estudio de RMN-1D-c y experimento DOSY un extracto fresco de las raíces de esa planta, aunque igualmente se observan variaciones al secar las raíces.⁷ Schinkovitz y colaboradores²¹ reportaron la transformación de **1** a **2** y a la ftálida **16**; esta a su vez en **17**, posteriormente a 4,5-dihidro-1,3-isobenzofuranona (**18**) y butiraldehído, con la ulterior deshidrogenación de **18** para formar anhídrido maleico (**20**).

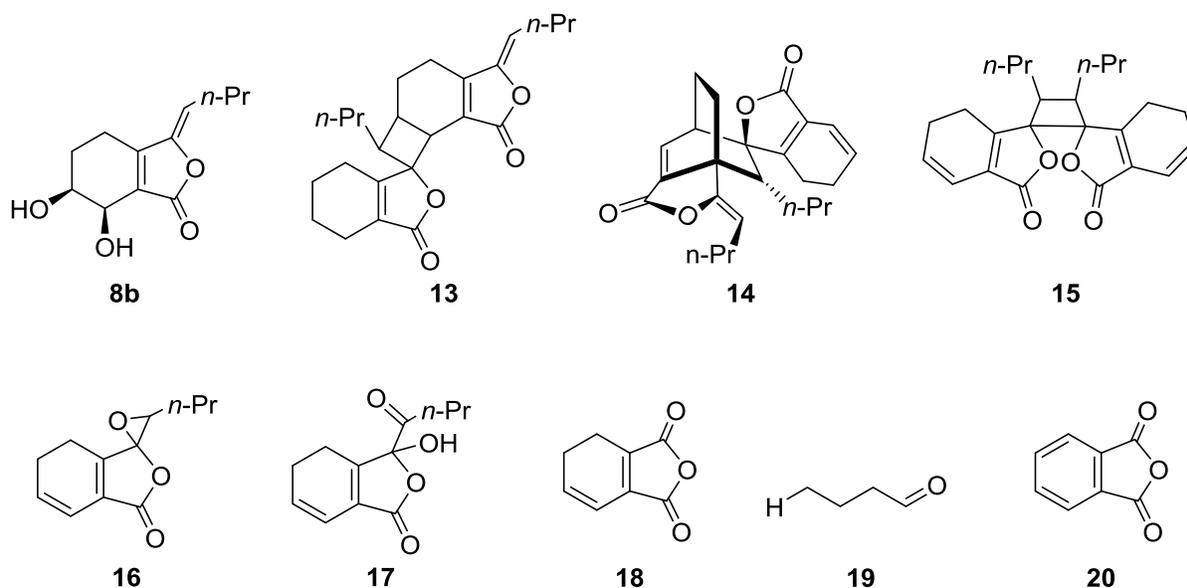
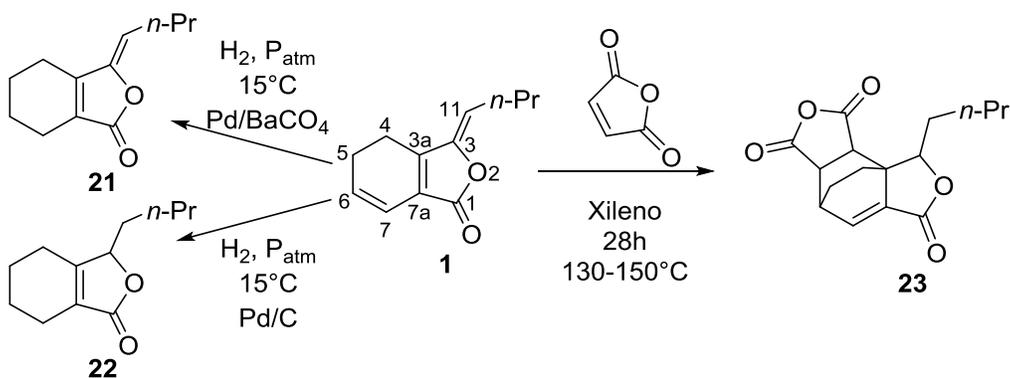


Figura 2. Productos de transformación de Z-ligustílida (**1**).

Nota: La esteoquímica de **13** y **15-17** no está señalada en las referencias 12 y 20.

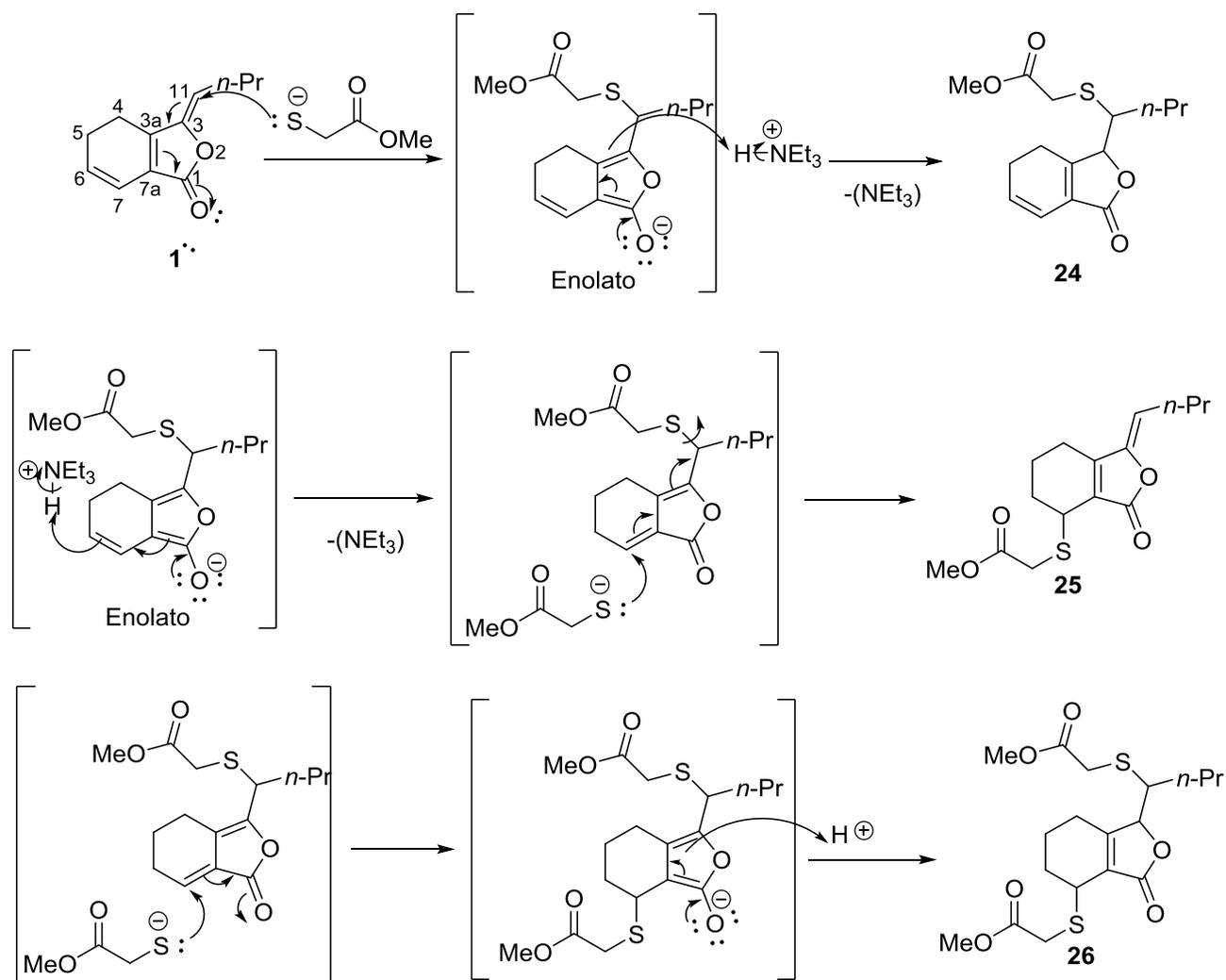
Existen varios estudios de la reactividad de Z-ligustílida. Mitsuhashi y col.²² (ver Esquema 1) llevaron a cabo la hidrogenación catalítica de **1** bajo diferentes condiciones: burbujeando H₂ a presión atmosférica a 15°C con catalizador de Pd/BaCO₄, y cambiando el catalizador por Pd/C, obteniendo dihidroligustílida (**21**) y tetrahidroligustílida (**22**), respectivamente, como productos mayoritarios. El doble enlace que se hidrogena con mayor facilidad es el C6-C7, seguido del C3-C11; no se observa la hidrogenación del doble enlace C3a-C7a. También se obtuvo un aducto (**23**) de ligustílida (**1**) con anhídrido maleico por medio de una reacción de Diels-Alder.



Esquema 1. Reacciones de Z-ligustílida

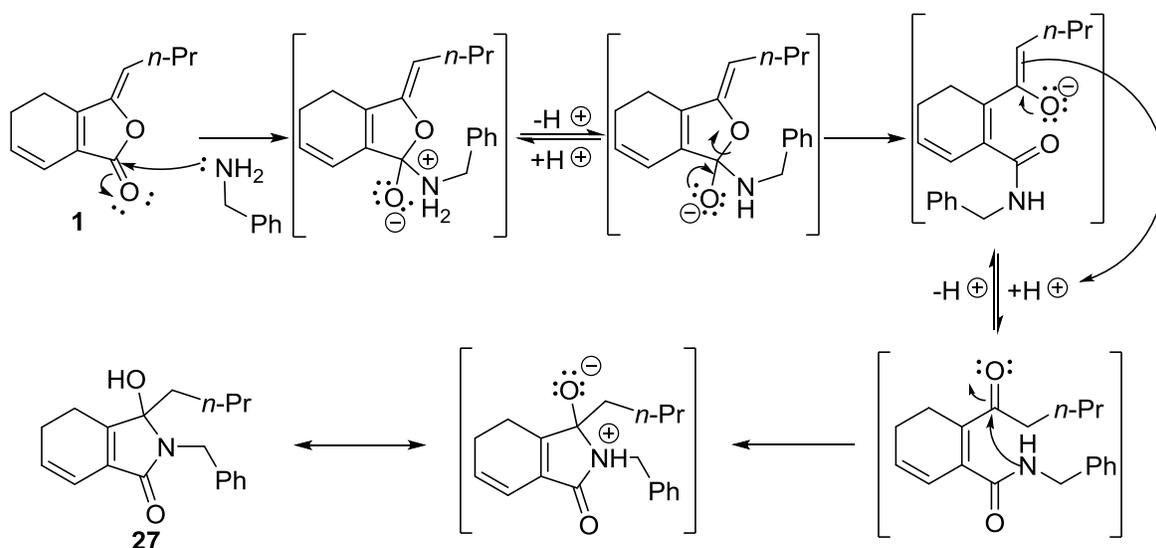
Se ha llevado a cabo reacciones de **1** con nucleófilos, observándose adiciones conjugadas 1,6 y 1,2, dependiendo de la naturaleza del nucleófilo.²³ La adición de tioglicolato de metilo a **1** ocurre con la formación de 3 productos, **24**, **25** y **26**. Sucede una adición 1,6, formándose un enolato que tautomeriza para formar **24**. Para formar **25** y **26**, el enolato antes mencionado se protona en el carbono 6 del doble enlace C6-C7, debido a la conjugación que hay de éste con los pares electrónicos del enolato (uno de la carga formal del oxígeno y otro del doble enlace carbono-carbono), posteriormente puede ser que ocurra una adición tipo Michael 1,4 de tioglicolato en C7, para formar un tautómero de **26**, y después éste; o bien, que ocurra un corrimiento de electrones de los dobles enlaces C7-C7a y C3-C3a,

hacia los enlaces C3a-C7a y C3-C11, con la eliminación de glicolato de C11, para formar **25**. (Ver Esquema 2).



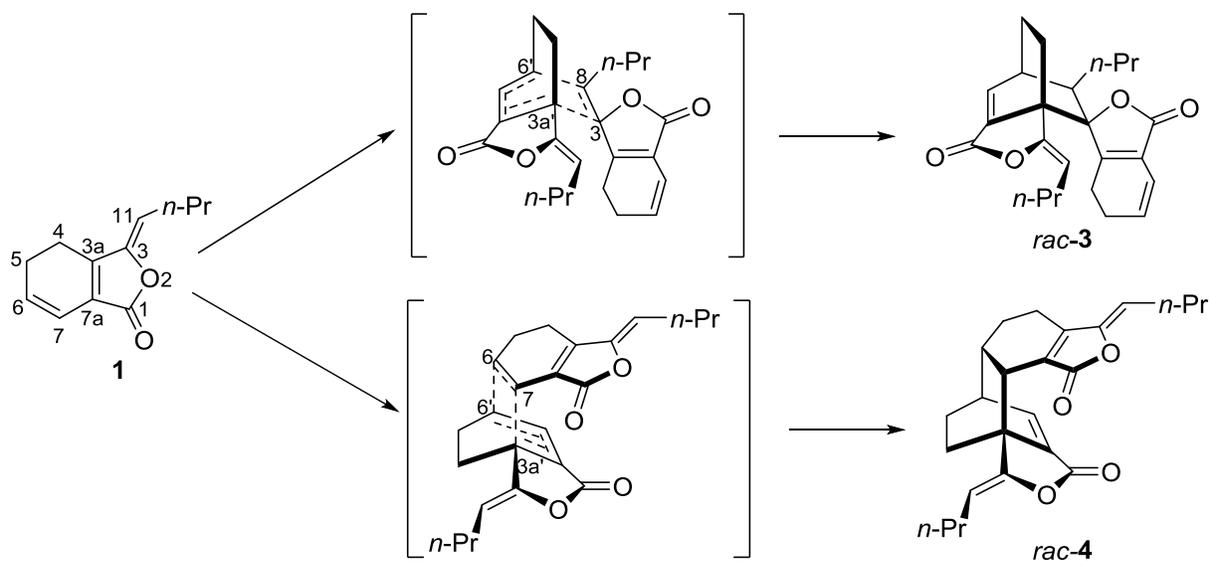
Esquema 2. Adición de tioglicolato de metilo a Z-ligustílida (**1**)

El otro nucleófilo que se adiciona en este estudio es bencilamina. Se propone que ocurre una adición 1,2; que se forma una γ -amidocetona $\alpha,\beta,\gamma',\delta'$ -insaturada; y que el nitrógeno de la amida realiza un ataque nucleofílico sobre el carbono del carbonilo de la cetona para formar **27**, como se muestra en el Esquema 3.



Esquema 3. Adición de bencilamina a Z-ligustílida (**1**).

Como ya se mencionó, Z-ligustílida (**1**) tiene un dieno homoanular, que hace susceptible a este compuesto de llevar a cabo reacciones de Diels-Alder. En el Esquema 4 se puede observar que las ftálicas diméricas *rac-3* y *rac-4* son productos de este tipo de cicloadición $[\pi 4_s + \pi 2_s]$ de **1**, en la que este compuesto actúa como dieno y dienófilo, al unirse dos de sus moléculas a través de dos nuevos enlaces σ entre los carbonos C11-C6' y C3-C3a' (*rac-3*), o entre los carbonos C6'-C6 y C7-C3a' (*rac-4*). Esta observación ha despertado el interés sobre estas reacciones y ha conducido a diversas investigaciones en las que se trata de sintetizar estas ftálicas diméricas a partir de **1**.



Esquema 4. Reacción de Diels-Alder de **1** para formar los cicloaductos *rac-3* y *rac-4*.

Wakamatsu *et al.*²⁴ obtuvieron *rac-3* y *rac-4* partiendo de **1**, con el mayor rendimiento (26%) de preparación de *rac-4* cuando se calienta **1** a 150°C por 5 h en un tubo sellado sin disolvente, bajo atmósfera de argón; también observaron la formación de este compuesto (6%) y de *rac-3* (4%) cuando se deja **1** a temperatura ambiente por 24 h en un tubo sellado bajo atmósfera de argón. Mostraron, por otra parte, que existe la posibilidad de formar 12 cicloaductos [$_{\pi}4_s+\pi 2_s$] de **1**, y que los compuestos *rac-3* y *rac-4* se forman debido a las interacciones secundarias entre los orbitales HOMO y LUMO de **1**, a pesar de que las interacciones primarias entre esos orbitales favoreciera la formación de otros dímeros, como quedó establecido con los cálculos teóricos de los coeficientes P_z de los referidos orbitales frontera, usando el método semiempírico MNDO/PM3, resultando notorio que la regioselectividad, y no solo la estereoselectividad, de esta cicloadición está controlada por las interacciones secundarias entre los orbitales HOMO y LUMO de **1**.ⁱ

Delgado *et al.*²⁵ reportaron la síntesis por relevo de *rac-4* a partir de **1**, por tratamiento térmico de este compuesto a 160°C, durante 40 h, sin disolvente, en un

ⁱ En el siguiente apartado se abordan las generalidades de las reacciones de Diels-Alder.

tubo sellado; el uso de agua como disolvente no favoreció el curso de la reacción deseada. Otro estudio de este mismo grupo de trabajo demostró que el uso de ácidos de Lewis como catalizadores, lejos de posibilitar la cicloadición de Diels-Alder de **1**, condujo la reacción de este compuesto por mecanismos iónicos, dando lugar a la formación de los dímeros lineales de Z-ligustíflida (**1**), **28**, **29**, **30** y **31**.²⁶

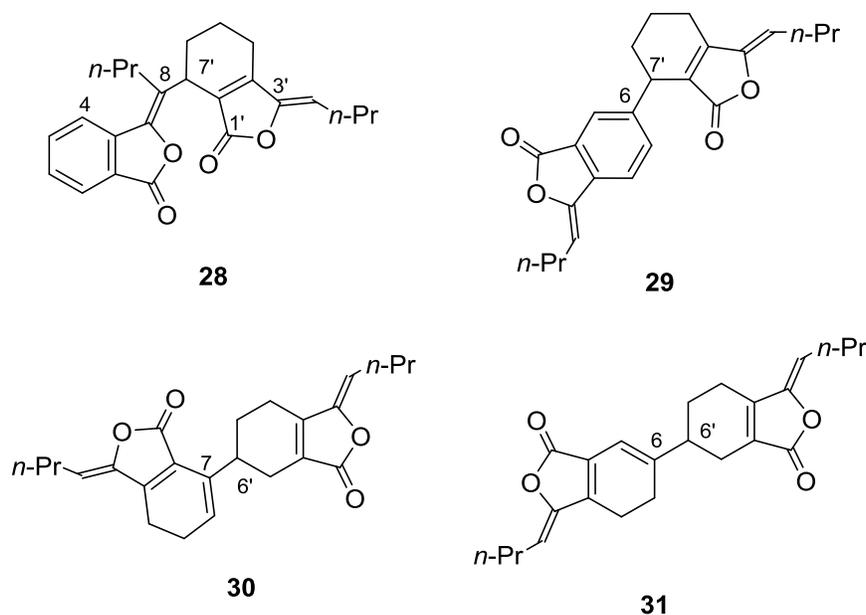
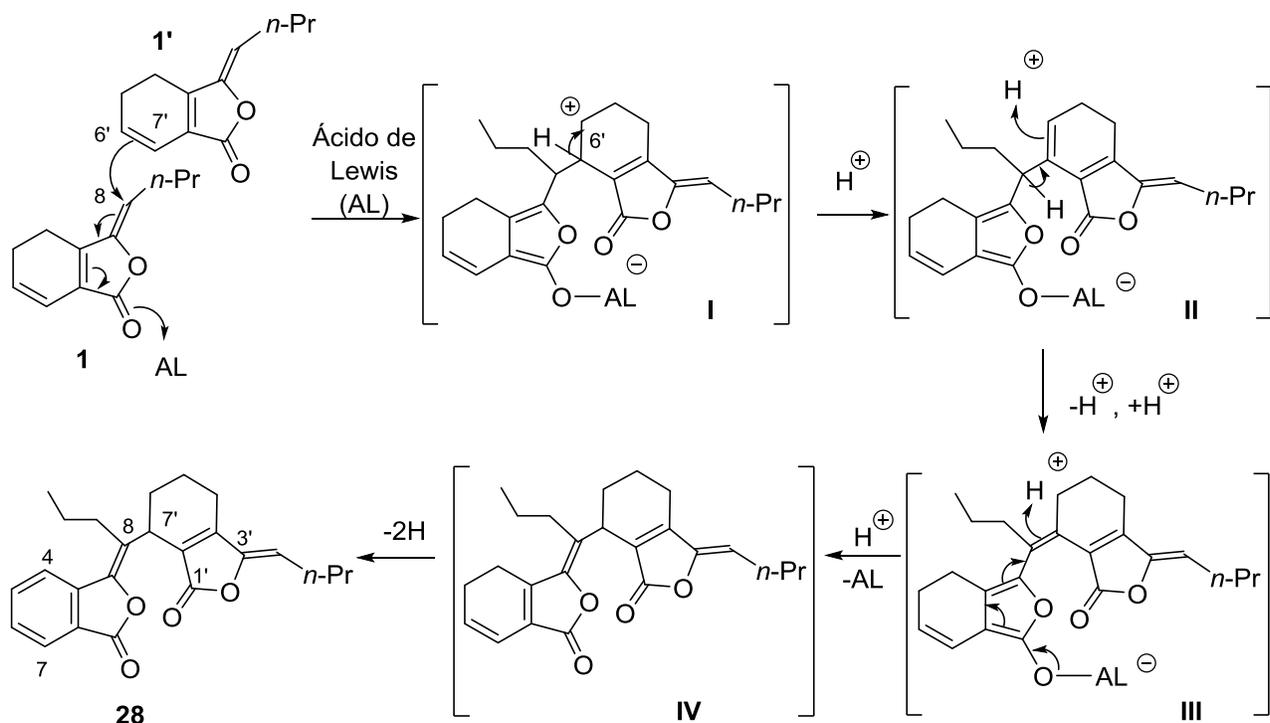


Figura 3. Dímeros lineales de Z-ligustíflida (**1**).

Se describieron en ese mismo trabajo mecanismos hipotéticos para la formación de los productos **28-31**.

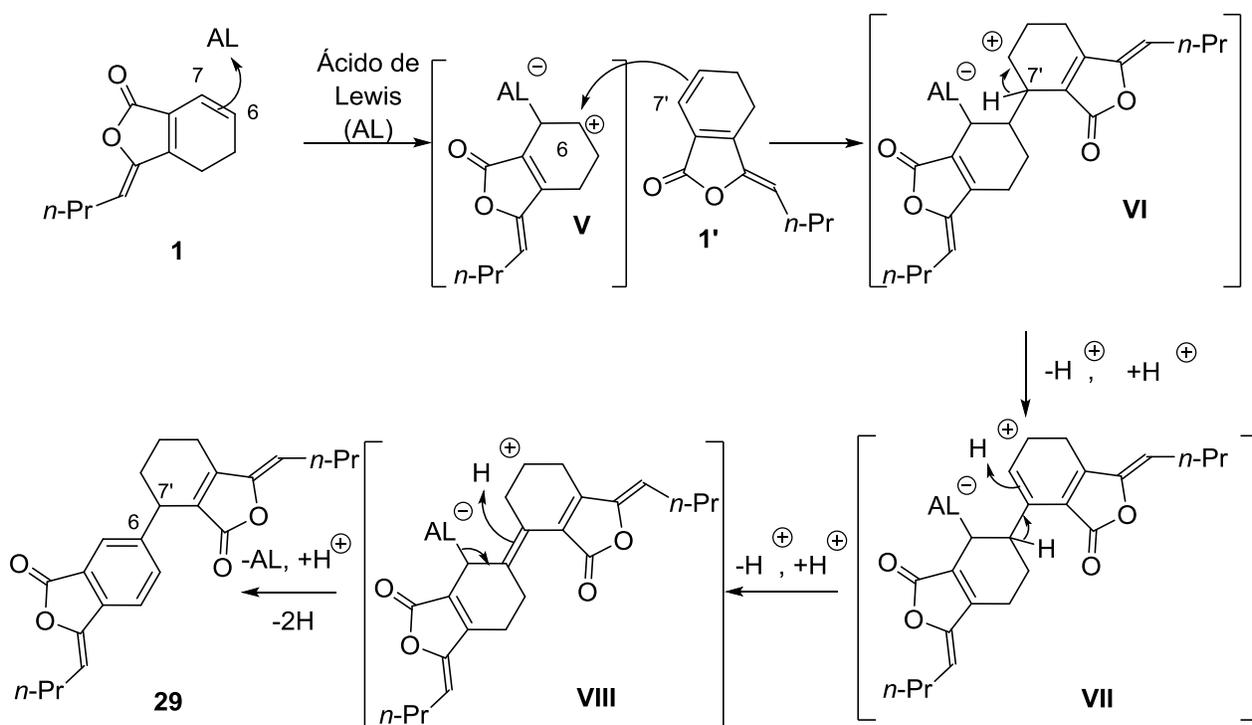
Para la formación de **28** (Esquema 5), se propone el ataque nucleofílico de los electrones del doble enlace C6-C7 de una molécula de **1** al doble enlace C3-C8 de otra, formándose un nuevo enlace C7'-C8, ocurriendo un corrimiento de electrones π desde C3-C8 hasta el oxígeno del carbonilo, que se compleja con el ácido de Lewis. Como resultado, se forma el intermediario **I**, que después tautomeriza para formar el intermediario **III** (una olefina protonada), por medio de eliminación y adición de H^+ . Posteriormente, ocurre la disociación del complejo aducto-ácido de Lewis, y nuevamente un corrimiento de electrones a través para volver a formar el

sistema carbonílico $\alpha,\beta,\gamma,\delta$ -insaturado (**IV**). Finalmente, después de una deshidrogenación se obtiene el dímero **28**.



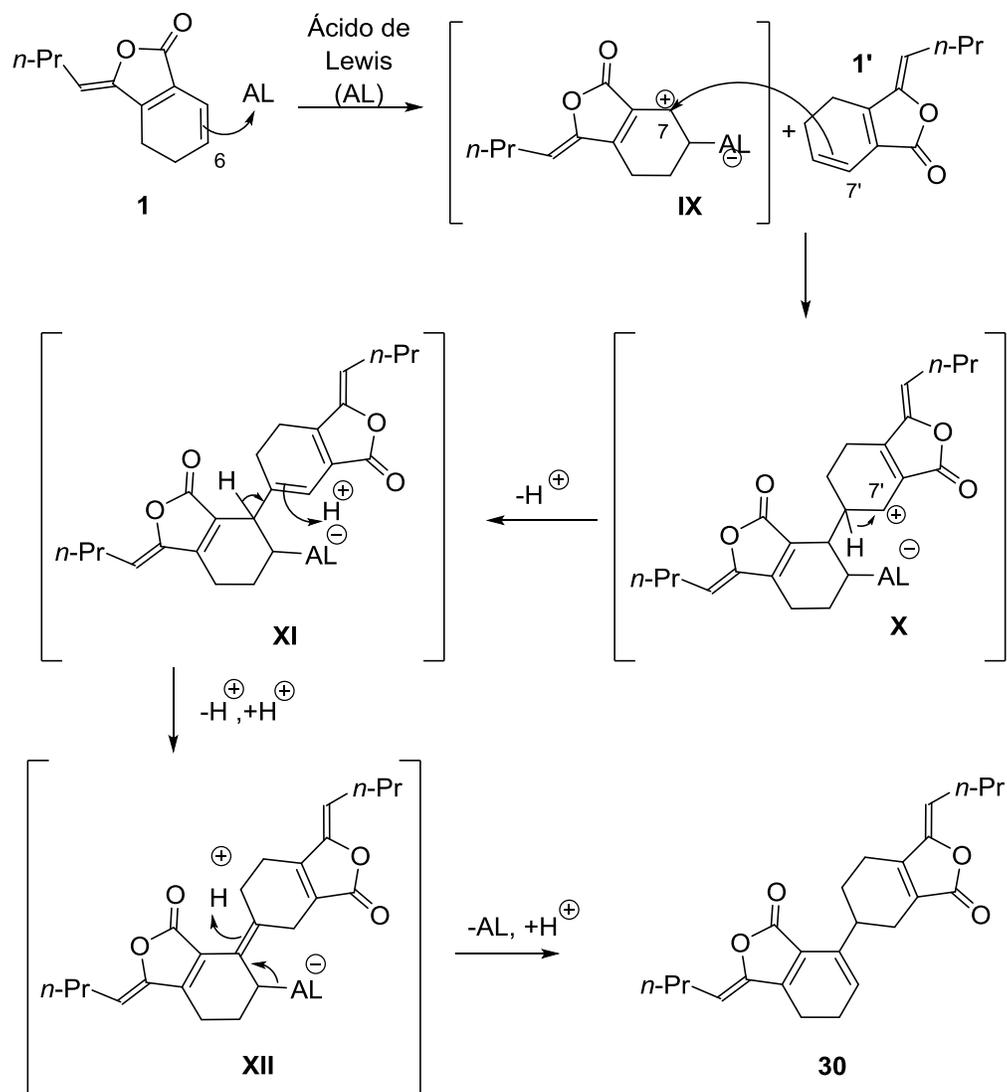
Esquema 5. Formación del dímero lineal **28**.

Como se muestra en el Esquema 6, la formación de **29** se explica por una complejación de la olefina (enlace C6-C7 de **1**) con el ácido de Lewis, enlazándose C7 con el ácido de Lewis, y con carga formal positiva en C6 (intermediario **V**). El carbocatión **V** sufre un ataque nucleofílico de otra molécula de **1** lo que resulta en **VI**, un intermediario dimérico con enlace C6'-C7. Después de una serie de eliminación-adición de H^+ (formación de **VII** y **VIII**), y una deshidrogenación de **VIII**, se forma el producto **29**.



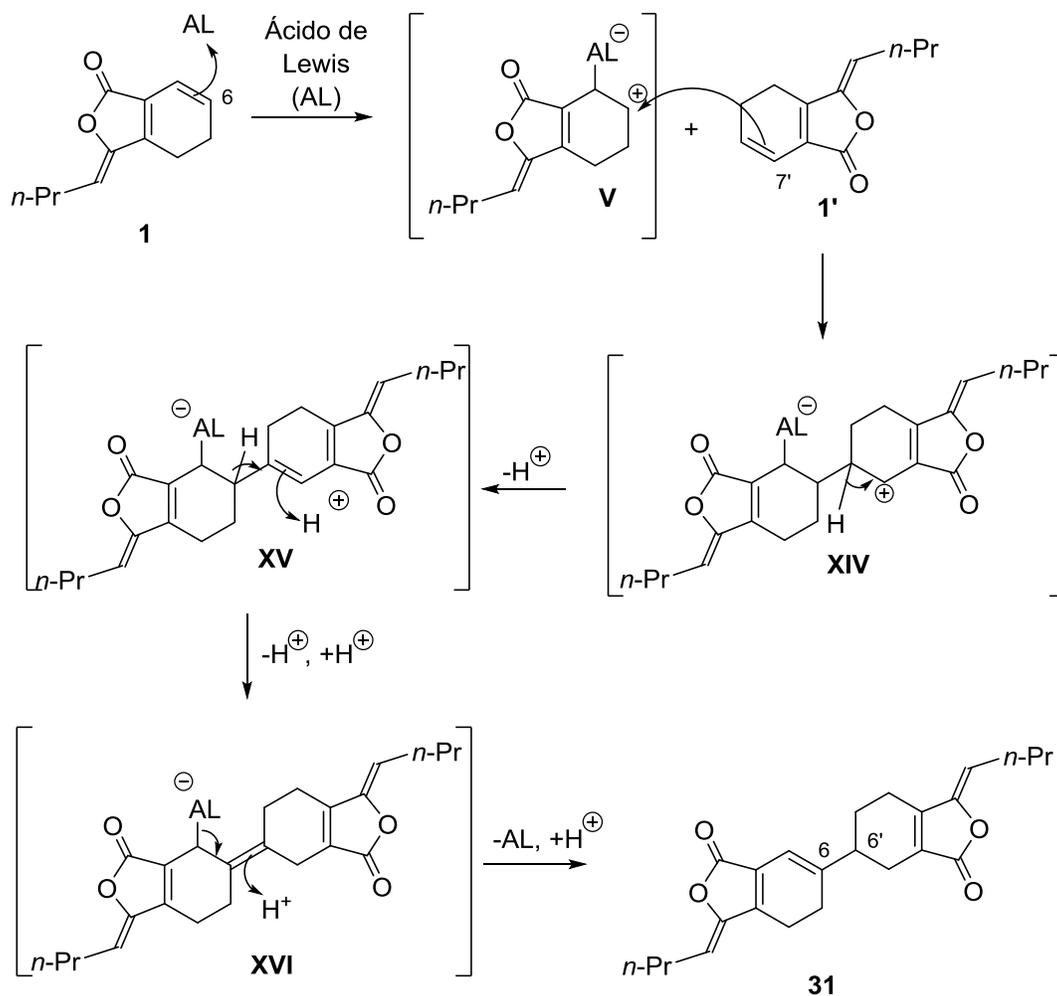
Esquema 6. Formación del dímero lineal **29**.

La formación del dímero **30** (ver Esquema 7) es semejante, con la diferencia que la complejación de **1** con el ácido de Lewis ocurre en C7, la carga positiva se sitúa sobre C6, y por ende es este carbono el que se enlaza con el C7' de la otra unidad de **1**. Los posteriores pasos de tautomerización (por eliminación y adición de H^+) y eliminación del ácido de Lewis dan lugar al dímero **30**.



Esquema 7. Formación del dímero lineal **30**.

La formación de **31** también involucra al intermediario **V**. Después del ataque nucleofílico de otra molécula de **1**, se forma un nuevo enlace C6-C6'. Nuevamente se proponen equilibraciones de adición-eliminación de H^+ , y la eliminación del ácido de Lewis para obtener el producto.



Esquema 8. Formación del dímero lineal **31**.

También se han llevado a cabo reacciones fotoquímicas de **1**, observándose únicamente la formación de cicloaductos [$\pi 2_s + \pi 2_s$]: *rac*-**5**, **32**, **33** y **34**,²⁷ a pesar de existir reportes de la transformación de **1** en *rac*-**4** por efecto de la luz.^{19,20}

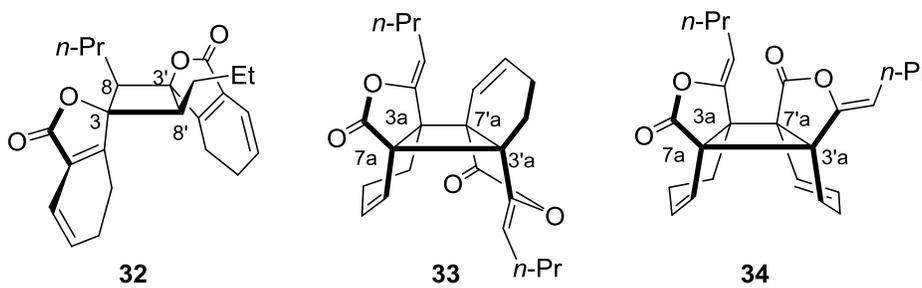
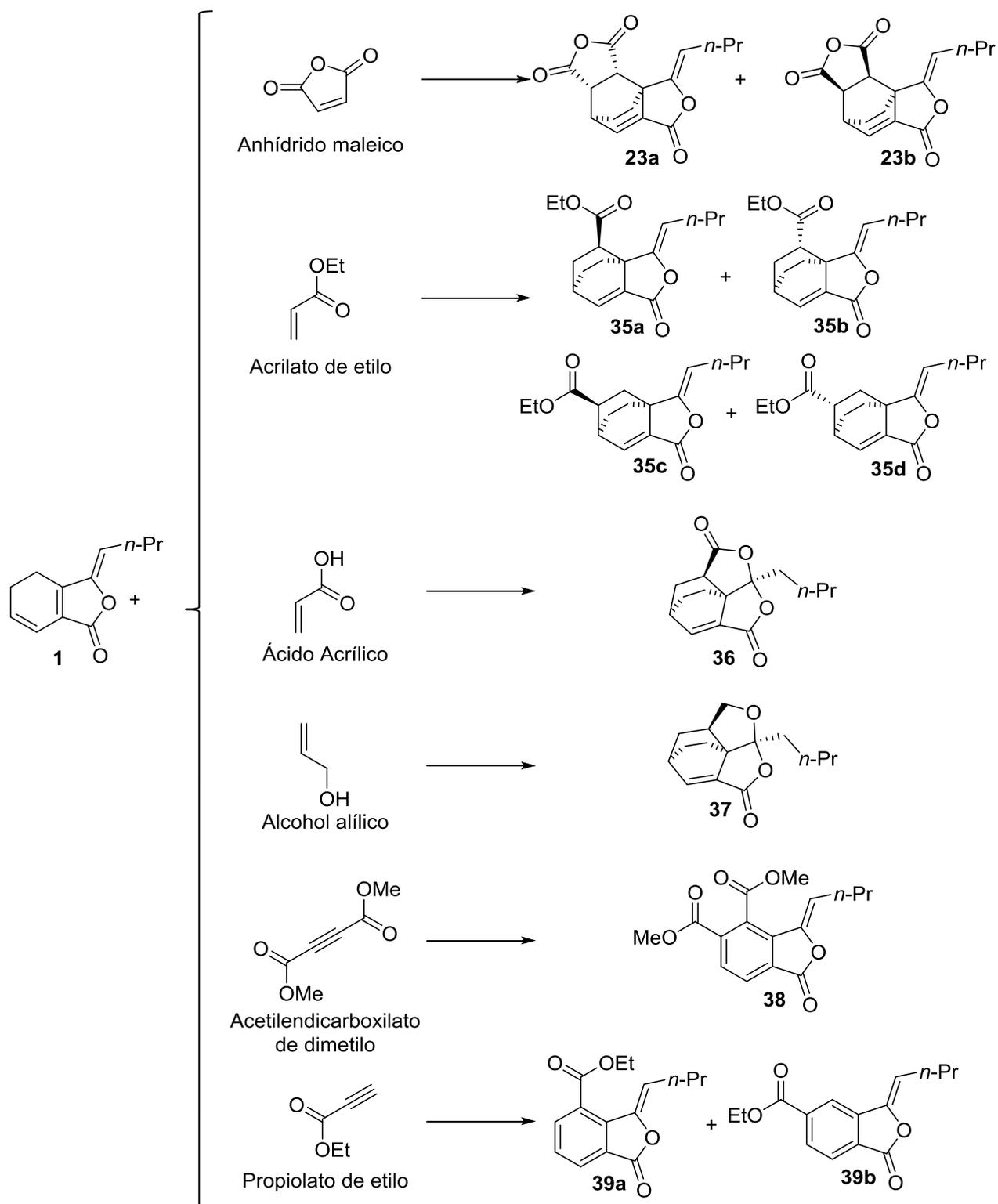


Figura 4. Fotociclodímeros de **1**.

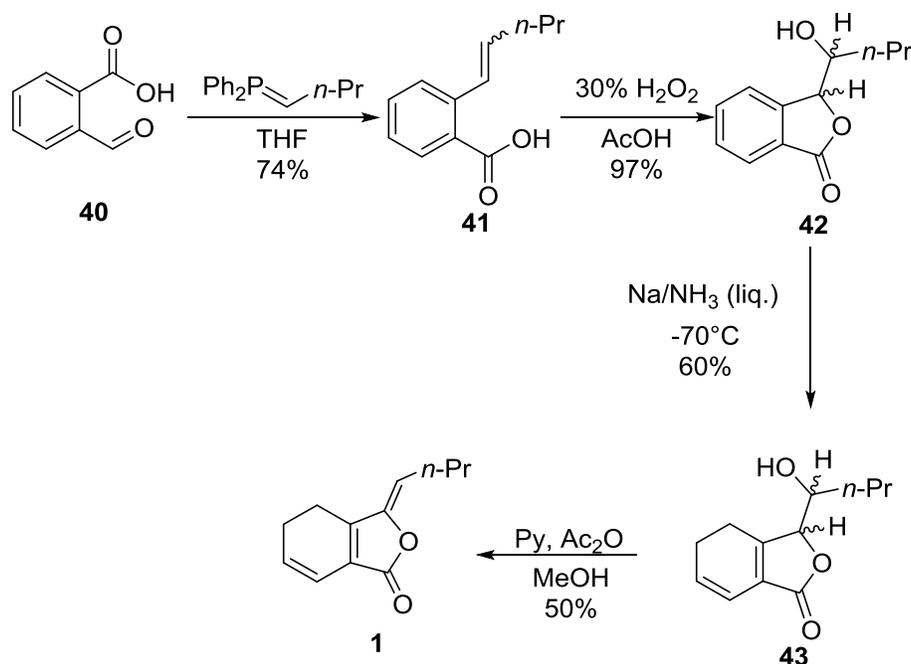
Retomando las cicloadiciones [$\pi 4_s + \pi 2_s$], es preciso señalar que Lager *et al.*²⁸ llevaron a cabo reacciones de Diels-Alder de **1** con diferentes dienófilos, a saber: anhídrido maleico, acrilato de etilo, ácido acrílico, alcohol alílico, acetilendicarboxilato de dimetilo y propiolato de etilo. Los productos se muestran en el Esquema 9.



Esquema 9. Reacciones de Diels-Alder de **1** con diversos dienófilos.

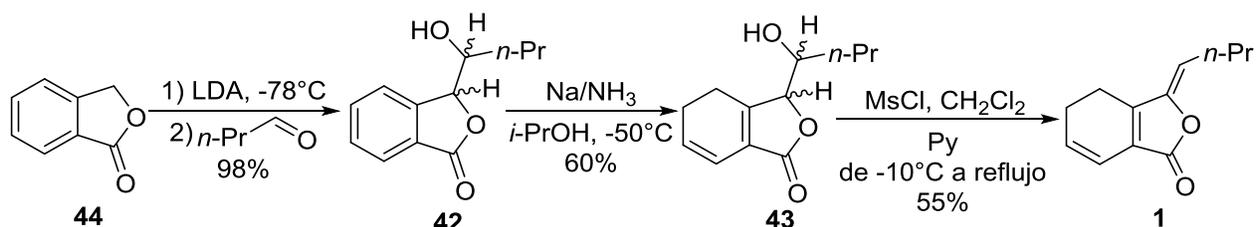
En otro orden de ideas, se debe mencionar que Z-ligustílida (**1**) se ha sintetizado por variadas metodologías.

Li *et al.*²⁹ reportaron la síntesis de **1** en 4 pasos, a partir de ácido 2-formilbenzoico (**40**), que por medio de una reacción de Wittig con bromuro de *n*-butiltrifenilfosfonio, con *t*-BuOK, para generar el iluro de fósforo necesario y formar una mezcla 1:1 de isómeros *E* y *Z* del ácido 2-butilidenbenzoico (**41**), con un rendimiento de 74%. Este producto, previa purificación fue oxidado con H₂O₂ en AcOH, para obtener una mezcla 3:2 de los isómeros *treo* y *eritro* (97%) de 3-hidroxi-2-butilidenbenzoico (**42**), que por medio de una reducción de Birch con Na en NH₃ líquido se deshidrogenó para obtener 3-hidroxi-2-butil-4,5-dihidroftálida (**43**) con 60% de rendimiento, que después de un tratamiento con piridina y anhídrido acético formó **1** (50%) por medio de eliminación de agua. El rendimiento global de esta ruta sintética, que se esquematiza en el Esquema 10, fue de 21%.



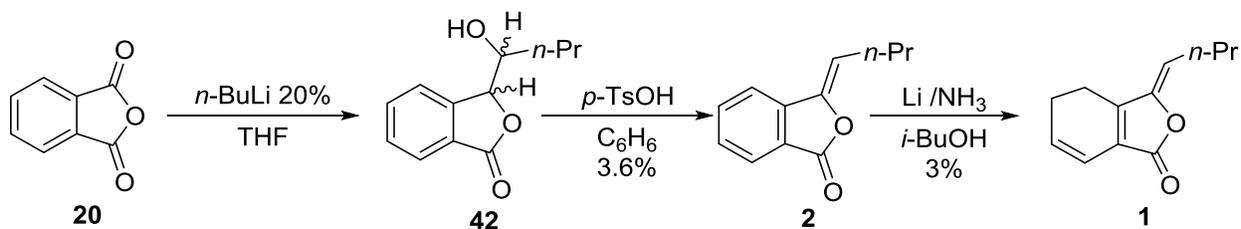
Esquema 10. Ruta sintética de Li *et al.* para obtener **1**.

Beck y Stermitz³ posteriormente realizaron una síntesis mejorada, en términos de rendimiento (que aumentó a 30%), etapas y practicidad, de **1**. Se hizo reaccionar ftálica (**44**) con LDA (preparado con diisopropilamina y *n*-BuLi en THF), y butiraldehído para obtener **42** (98%). Igualmente, con una reducción de Birch, con Na en una solución de NH₃ en MeOH, se obtuvo 60% de **43**. La deshidratación de **43** para obtener **1** se hizo con MsCl en CH₂Cl₂ con piridina, y el rendimiento de esta etapa fue de 55% (Esquema 11)



Esquema 11. Ruta sintética de Beck y Stermitz para obtener **1**.

Wang³⁰ llevó a cabo otra ruta cuyo rendimiento fue menor al 0.1%. Obtuvo **42** iniciando con anhídrido ftálico (**20**), tratado con *n*-BuLi al 20% en THF bajo atmósfera de Ar. A partir de este compuesto, obtuvo *Z*-butilidenftálica (**2**) con un rendimiento del 3.6%. Después de una reducción de **3** con Li en NH₃ e *i*-BuOH, obtuvo **1**; el rendimiento de esta etapa fue de 3%. (Esquema 12)



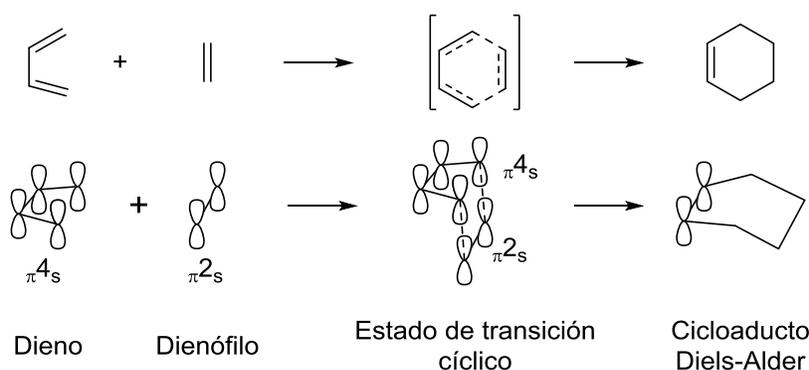
Esquema 12. Ruta sintética de Wang para obtener **1**.

Reacciones de Diels-Alder

Las reacciones pericíclicas son una categoría de reacciones que tienen como particularidad que tienen estados de transición cíclicos, con ruptura y formación de enlaces simultánea, entre las que se encuentra una subclase llamada reacciones pericíclicas. En estas, reaccionan dos componentes que se unen por los extremos para formar un nuevo anillo, disminuyendo la conjugación en cada componente.³¹

Las reacciones de Diels-Alder son un tipo de cicloadiciones entre un dieno conjugado y un dienófilo.³² Cada especie reacciona por la misma cara; es decir, la adición ocurre en la misma superficie del sistema π , de cada especie o componente. Esta forma de adición se conoce como suprafacial, en contraposición al término antarafacial, que se aplica a la adición en la que un componente forma los nuevos enlaces por las caras opuestas del sistema. Por todo lo anterior, las reacciones de Diels-Alder se pueden describir como cicloadiciones $[\pi 4_s + \pi 2_s]$, para denotar el número y tipo de electrones de cada componente, así como la forma en que cada uno de estos reacciona.³¹⁻³³ Cabe aclarar que aquéllas no son las únicas reacciones que se pueden describir de esta manera.

En el Esquema 13, se ilustran las características más importantes de las reacciones de Diels-Alder que son: cicloadiciones $[\pi 4_s + \pi 2_s]$, en la que un dieno, el componente $\pi 4_s$, reacciona con un dienófilo, el componente $\pi 2_s$, para formar un ciclohexeno; que cada uno reacciona por la misma cara, es decir, de manera suprafacial; y que disminuye el número de electrones π , porque a su costa se forman dos nuevos enlaces σ .



Esquema 13. Características esenciales de las reacciones de Diels-Alder.

Otras características adicionales y muy importantes de las reacciones de Diels-Alder son la regio- y la estereoselectividad que muestran.³¹⁻³³

Estas particularidades se pueden explicar con base en la teoría de orbitales moleculares, concretamente por las interacciones existentes entre los orbitales frontera de los dos componentes de la reacción. En la Figura 5, se esquematizan el llenado de algunos orbitales de dienos y dienófilos, para ilustrar la forma del HOMO y el LUMO de estos.

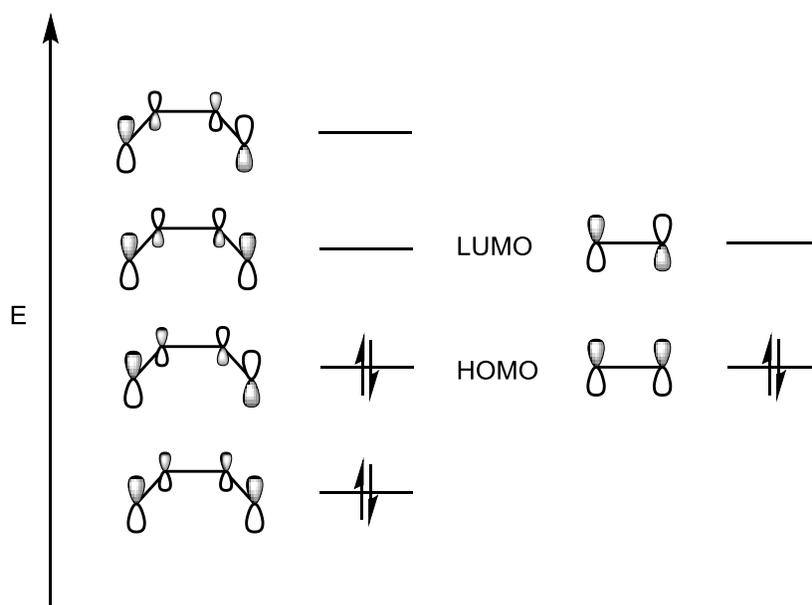


Figura 5. Llenado de orbitales moleculares de dieno y dienófilo (energía arbitraria).

Como se muestra en el Esquema 13, en el estado de transición de las reacciones de Diels-Alder ocurren interacciones entre los orbitales π del dieno y del dienófilo, que pueden ser el HOMO del dieno con el LUMO del dienófilo o viceversa, ya que estas combinaciones de orbitales tienen la simetría adecuada, ocurriendo aquella en la que la diferencia en energía de cada par de orbitales es menor.³¹

Se ha observado que las reacciones son más rápidas cuando el dienófilo tiene sustituyentes electroattractores, y el dieno, electrodonadores: en este caso se

conocen como reacciones de Diels-Alder de demanda normal; también puede ocurrir la situación inversa, en cuyo caso se llaman reacciones de Diels-Alder de demanda inversa. En el primer caso la interacción es entre el HOMO del dieno, cuya energía es aumentada por el sustituyente electrodonador, y el LUMO del dienófilo, con energía disminuida por el efecto del grupo electroattractor; en el segundo caso, ocurre la situación inversa por razón semejante. El cambio en las energías del HOMO y del LUMO de ambos componentes de la cicloadición, hace que estas sean más cercanas y de ese modo se acelera la reacción. No obstante, debe señalarse que, en general, las reacciones de demanda normal son más rápidas que las de demanda inversa.³¹⁻³³

La interacción entre los orbitales frontera de los componentes, además de ser permitida por simetría y con la menor diferencia energética, debe ocurrir entre los orbitales de tamaño adecuado, para que el traslape sea más efectivo. Este último factor es determinante de la selectividad en las reacciones de Diels-Alder, y los coeficientes de cada orbital atómico en el orbital molecular respectivo dan cuenta de esta información.³¹ El traslape tendrá lugar entre los orbitales de mayor tamaño en sus extremos, es decir, entre aquellos en los que los coeficientes de los orbitales atómicos de los átomos terminales sean mayores.

Lo anterior se ilustra en la Figura 6. Se puede observar que hay un dieno y un dienófilo, hipotéticos los dos, con coeficientes de los orbitales atómicos de los átomos terminales x e y , y m y n , respectivamente, donde y y n son mayores en cada caso. El traslape que ocurrirá es el de la derecha, entre los “lóbulos” de mayor tamaño; en otras palabras, el que tiene lugar cuando se superponen los orbitales moleculares de los componentes de tal forma que exista interacción entre los átomos terminales que contribuyen mayoritariamente al orbital molecular del dieno y del dienófilo; es decir, que tengan los mayores coeficientes del orbital molecular correspondiente. Siendo así, de las dos posibles interacciones, la más favorable es la que ocurre entre los átomos con coeficiente y en el HOMO del dieno y n en el LUMO del dienófilo.³¹

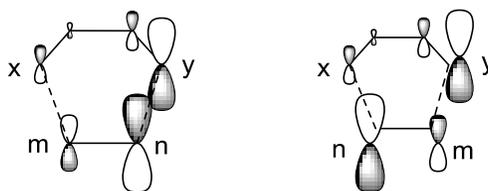
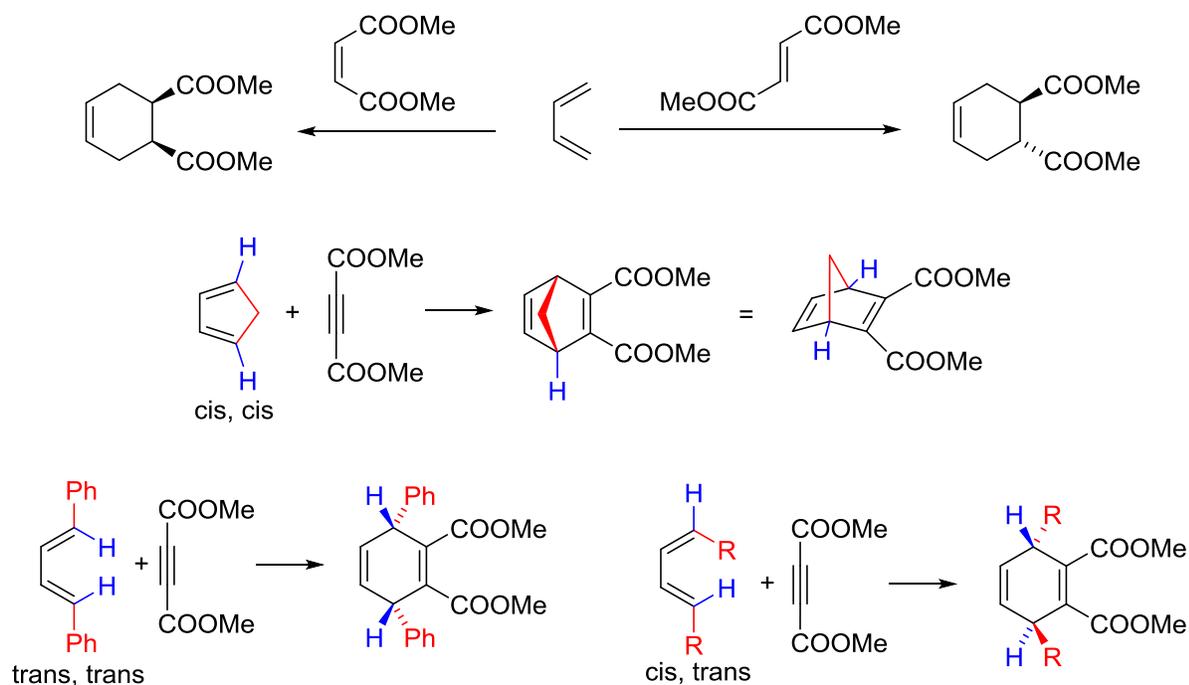


Figura 6. Interacciones posibles entre orbitales de dieno y dienófilo.

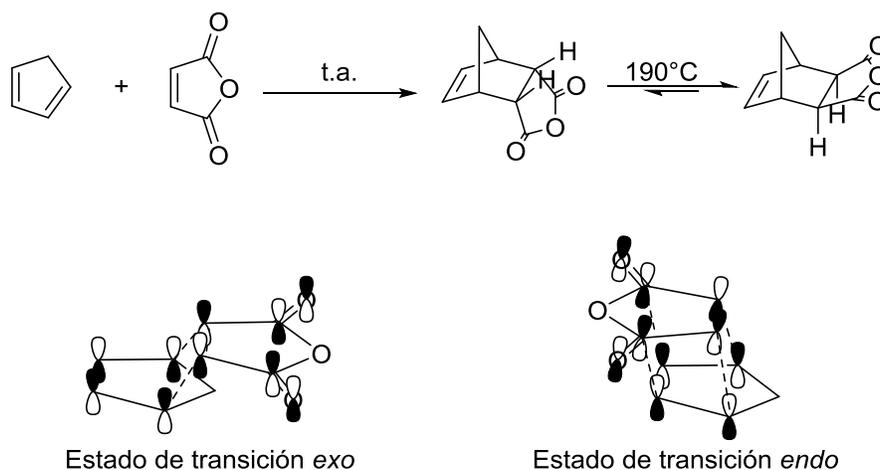
Una forma de predecir la regioselectividad de las reacciones de Diels-Alder es pensar en los componentes como si se tratara de nucleófilo/electrófilo. El sitio más nucleofílico de un componente se une con el sitio más electrofílico del otro. Sin embargo, en ocasiones este argumento falla.^{31,32}

En términos simples, la forma en que ocurre esta cicloadición provoca que la estereoquímica del dieno y del dienófilo se observe en el producto.³² Esta regla se ilustra en el Esquema 14.



Esquema 14. Estereoquímica del dieno y del dienófilo en reacciones de Diels-Alder

La otra característica importante de las reacciones de Diels-Alder es la estereoselectividad. La reacción entre ciclopentadieno y anhídrido maleico ilustra esta situación. Como se mencionó, y se puede observar en el Esquema 15, la estereoquímica *cis* del anhídrido maleico se reproduce en el dienófilo; no obstante, hay dos posibilidades de que esto ocurra: con el fragmento del anillo de anhídrido maleico ocupando las posiciones ecuatoriales del anillo de ciclopentadieno (*exo* con respecto al doble enlace), u ocupando posiciones axiales (*endo* con respecto al doble enlace). El producto *exo* es más estable; sin embargo, el producto *endo* se forma más rápidamente ya que en el estado de transición hay *interacciones secundarias* entre los orbitales auxiliares del dienófilo y los orbitales del dieno, que estabilizan esa estructura de transición, haciendo más accesible la formación del producto *endo*. Al aumentar la temperatura, se forma el producto termodinámicamente favorecido.^{31,32}



Esquema 15. Estereoselectividad en reacciones de Diels-Alder

Uso de microondas como fuente alterna de energía

Las microondas son ondas electromagnéticas con frecuencia de 300 a 300 000 MHz, que constituyen una fuente alterna de energía.³⁴

En el calentamiento con microondas, la transmisión de energía se efectúa por radiación: el campo eléctrico de las microondas es responsable del calentamiento dieléctrico, que se lleva a cabo por dos mecanismos principales: mecanismo de polarización dipolar y mecanismo de conducción.³⁵ En el primer mecanismo, las moléculas polares se tratan de alinear con el campo eléctrico oscilante de las microondas, por lo que al tratar de orientarse, hay fricción que da lugar al calentamiento. En el segundo mecanismo, es necesaria la presencia de iones que igualmente tratan de alinearse con el campo, convirtiendo energía cinética en calor.

En el calentamiento que ocurre por medio de microondas, la energía se proporciona en muy rápidamente de forma que las moléculas no pueden dispersarla, lo cual da lugar al sobrecalentamiento, fenómeno que resulta en el incremento del punto de ebullición de los disolventes de hasta 26°C.^{34,35}

Para el calentamiento con microondas, es necesario que haya iones o moléculas polares, para que se efectúe el calentamiento, por lo tanto la elección del disolvente es esencial.

Por lo anterior, se debe tomar en consideración la capacidad para absorber energía de microondas y convertirla en calor. Esta capacidad se puede medir por medio del *ángulo de pérdida* (δ), que comúnmente se expresa en términos de la tangente de ese ángulo, $\tan \delta$, definida de la forma siguiente:

$$\tan \delta = \frac{\epsilon'}{\epsilon''}$$

Donde ϵ' es la constante dieléctrica o permitividad relativa, y representa la habilidad de un material dieléctrico de almacenar energía potencial eléctrica; y ϵ'' , el factor de pérdida, cuantifica la eficiencia con que la energía absorbida se transforma en calor.³⁵

Por lo expuesto, se puede concluir que para un calentamiento eficiente en microondas es necesario que haya disolventes con alta constante dieléctrica; pero ésta disminuye al aumentar la temperatura. En consecuencia, los disolventes no polares no son muy eficientes para el calentamiento con microondas, lo cual se puede resolver por medio de la adición de pequeñas cantidades de disolvente con tangente de pérdida alta, o bien, líquidos iónicos, que tienen la ventaja de absorber muy eficientemente las microondas y tener una presión de vapor baja.³⁵ No obstante lo anterior, algunas reacciones se pueden llevar a cabo en microondas en disolventes con baja tangente de pérdida, en cuyo caso el calentamiento es instantáneo, pero las moléculas que reaccionan pierden rápidamente la energía proporcionada, evitando reacciones laterales.³⁴

Por último, se debe mencionar que existe gran consenso en el sentido de que el uso de microondas acelera las reacciones en virtud de que proporciona calentamiento instantáneo, por medio de las vibraciones que provoca a nivel molecular debido a la alineación con el componente eléctrico del campo de las microondas, sin afectar la energía de activación, aunque sobre esto último hay opiniones opuestas.^{34,35}

2. HIPÓTESIS

El uso de microondas generalmente permite que las reacciones químicas procedan en menor tiempo y con mayor rendimiento.

Las reacciones de Diels-Alder de Z-ligustílida (**1**) llevadas a cabo con calentamiento convencional, con anhídrido maleico, alcohol alílico, acetilendicarboxilato de dimetilo (ADDM) y propiolato de etilo, para formar los compuestos **23a** y **23b**, **37**, **38** y **39a** y **39b**, respectivamente, permitieron obtener estos productos con rendimientos moderados a buenos, en tiempos largos. Por otro lado, la dimerización de **1** para la obtención de los dímeros *rac-3* y *rac-4*, por medio de esas cicloadiciones, procede con rendimiento muy bajo.

Por lo tanto, se espera que los productos mencionados, incluyendo las ftálicas diméricas, se obtengan por medio de las reacciones asistidas por calentamiento con microondas con buen rendimiento y en tiempo menor.

En otro orden de ideas, si *rac-3* y *rac-4* no se forman con facilidad a partir de **1** por reacciones de Diels-Alder, entonces se aportaría evidencia de que esos compuestos son productos naturales de *L. porteri* y no artefactos.

3. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

Z-ligustílida (**1**) es un metabolito secundario que se encuentra mayoritariamente en el material vegetal de *L. porteri*.

Las reacciones de Diels-Alder de **1** permiten obtener los productos *rac-3*, *rac-4*, **23a**, **23b**, **37**, **38**, **39a** y **39b**, mediante calentamiento convencional con tiempos largos de reacción, que van desde 5 hasta 72 h, con rendimientos bajos.

La obtención de los compuestos mencionados en el párrafo anterior para su eventual evaluación biológica requiere procedimientos más eficientes, por lo que es conveniente la exploración de fuentes alternas de energía que permitan incrementar el rendimiento.

Adicionalmente, la facilidad o dificultad con que se formen los compuestos *rac-3* y *rac-4*, contribuirá a discernir su origen; es decir, si estos compuestos son productos naturales de *L. porteri*, o bien, son artefactos producidos durante el aislamiento de los metabolitos secundarios de la planta.

En ese tenor, se estima conveniente llevar a cabo las referidas cicloadiciones asistidas con microondas, a efecto de explorar la posibilidad de preparar con mayor facilidad los compuestos cuya actividad biológica se pretende evaluar. Para tal efecto, se plantan los siguientes objetivos:

- Contribuir al conocimiento y entendimiento de la reactividad de Z-ligustílida (**1**) en reacciones de Diels-Alder.
- Encontrar un método adecuado para llevar a cabo la purificación de Z-ligustílida (**1**)
- Explorar la posibilidad de aumentar el rendimiento de la reacción de dimerización de Z-ligustílida mediante cicloadiciones Diels-Alder asistidas con microondas, variando condiciones (temperatura, disolvente y tiempo).

- Llevar a cabo la síntesis de *rac-3* y *rac-4* mediante reacciones de cicloadición de **1** con calentamiento convencional y verificar el rendimiento de esta reacción.
- Coadyuvar en el discernimiento sobre el origen, natural o sintético, de los dímeros *rac-3* y *rac-4* con base en la facilidad de formación de éstos.
- Cuantificar *rac-3* y *rac-4* en una muestra almacenada de **1** en el laboratorio durante 10 años.
- Preparar los compuestos **23a**, **23b**, **37**, **38**, **39a** y **39b** por medio de reacciones de Diels-Alder de **1** y el dienófilo adecuado, con calentamiento con microondas y explorar la posibilidad de aumentar el rendimiento y disminuir el tiempo en el que se llevan a cabo estas transformaciones.
- Evaluar la actividad antiinflamatoria con el modelo de edema inducido en oreja de ratón con TPA de los compuestos mencionados en el punto anterior.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos se presentarán y discutirán en los siguientes apartados, comenzando por (a) la purificación de Z-ligustílida; posteriormente, se exponen y analizan los resultados de la dimerización de Z-ligustílida (**1**) mediante reacciones de Diels-Alder para obtener los dímeros *rac-3* y *rac-4*, con (b) calentamiento convencional y (c) con microondas; además, (d) se realiza el análisis de una muestra de **1** almacenada por 10 años en nuestro laboratorio a baja temperatura, en atmósfera de N₂, para verificar la formación espontánea de las referidas ftálicas diméricas. Ulteriormente, se presentan los resultados de la síntesis de derivados de Diels-Alder de **1** como dieno, y (e) anhídrido maleico, (f) alcohol alílico, (g) acetilendicarboxilato de dimetilo y (h) propiolato de etilo, como dienófilos. (i) Se lleva a cabo una comparación de la síntesis con microondas y con calentamiento convencional de los derivados. Finalmente, (j) se presentan los resultados de las pruebas de actividad biológica antiinflamatoria de los derivados semisintéticos de **1**.

(a) Purificación de Z-ligustílida (**1**)

El compuesto **1** es uno de los metabolitos secundarios que se encuentran en mayor proporción relativa en el extracto de *L. porteri*. Sin embargo, como se mencionó en el apartado de antecedentes, esta sustancia es muy reactiva y se transforma con facilidad.

Adicionalmente, Z-butilidenftálica (**2**), otro de los metabolitos secundarios, tiene semejanza estructural con **1**. La única diferencia consiste en las insaturaciones en los carbonos 4 y 5 de **1**. Esto es, se cambia de un anillo ciclohexadieno a uno de benceno.

Los compuestos **1** y **2** tienen una polaridad muy cercana, debido a su íntimo parecido estructural. Por ende, la separación cromatográfica de este par de compuestos es complicada.

Por ello encontrar un método de purificación de **1** no es un problema trivial cuando este compuesto se va a emplear como materia prima.

En este trabajo se llevó a cabo la comparación de la purificación por cromatografía en columna abierta (gel de sílice de malla 230-400), cromatografía en columna empacada con gel de sílice de capa fina, y con cromatografía en columna abierta (gel de sílice de malla 230-400) seguida de una extracción. Este último fue el método de elección.

Cuando se emplea únicamente la purificación por cromatografía en columna con cualquiera de las dos mallas, se obtiene una mezcla de los dos productos; el contenido real de **1** es menor al 70% (porcentaje calculado por RMN ^1H)

El empleo de la técnica cromatográfica seguida de extracción, permite obtener **1** con una pureza de 92.4%, de acuerdo con la cuantificación del área bajo la curva del espectro de RMN ^1H . La Tabla 2 muestra los datos obtenidos por RMN ^1H de esta técnica y la Figura 7, los fragmentos del espectro de la mezcla.

Tabla 1. Cálculo de pureza por RMN ^1H de una muestra de **1**.

Z-ligustílida (1)	Señal ⁱⁱ	Integración
H-6	6.01, td, 1H	1.04
H-7	6.29, dt, 1H	1.00
H-8	5.22, t, 1H	1.02
Promedio		1.02
<hr/>		
Z-butilidenftálida (2)		

ⁱⁱ Se utiliza el siguiente formato: δ , multiplicidad, número de hidrógenos.

H-7	7.64, ddd, 1H	0.08
H-4	7.67, ddd, 1H	0.08
H-5	7.51, ddd, 1H	0.08
H-6	7.89, ddd, 1H	0.08
H-8	5.64, t, 1H	0.08
Suma		0.40
Promedio		0.08
Pureza Z-ligustílida		92.4%

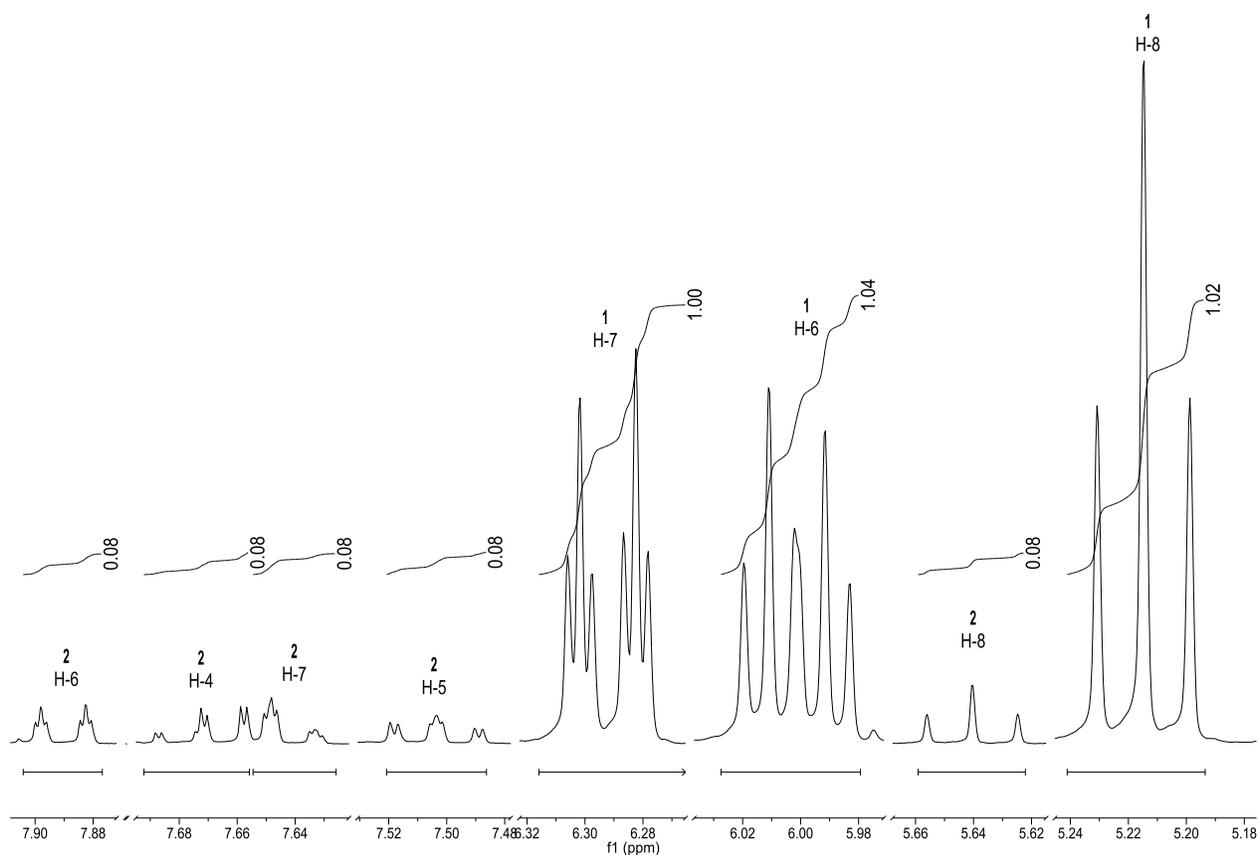


Figura 7. Fragmento de espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de una muestra de **1**.

(b) Dimerización de Z-ligustílida (**1**) con calentamiento convencional.

Las reacciones de dimerización térmica de Z-ligustílida (**1**) en tubos sellados a temperaturas altas (150 y 160°C) en ausencia de disolvente como se reportó

previamente,^{24,25} no produjeron resultados reproducibles, debido a las diferentes condiciones experimentales, entre las cuales se incluyen las diferentes características del equipo empleado, como la longitud, diámetro, grosor y material del vidrio del tubo sellado.

Este resultado revela que las condiciones térmicas para que proceda la cicloadición de **1** para generar *rac-3* y *rac-4* requiere de condiciones específicas para llevarse a cabo, explicándose también las diferencias entre los resultados que se obtuvieron en este trabajo y los resultados previamente informados, e incluso entre estos últimos.^{24,25}

(c) Dimerización de Z-ligustílida (1) con calentamiento con microondas.

Para la dimerización de **1** en microondas, se varió la temperatura, el tiempo de reacción y el disolvente. Por cada disolvente empleado (tolueno, dioxano, 2-propanol, acetonitrilo), se exploró la reacción a 150, 160, 170, 180 y 200°C, y cada combinación de temperatura-disolvente, se exploró a 15, 30 y 45 min, sin que en ninguna de estas condiciones se observara la formación de dímeros.

En virtud del resultado negativo de las pruebas realizadas, se llevó a cabo la reacción sin disolvente a las mismas temperaturas mencionadas. No obstante, se formó diligustílida (*rac-4*) únicamente. Debe mencionarse que el máximo rendimiento en la obtención de este producto fue cuando se sometió **1** a reacción por 45 min a 180°C, con una proporción del dímero con respecto a **1** de 1:4.7 (30%).

Por lo anterior, se continuó explorando la reacción para intentar mejorar el rendimiento en la obtención de *rac-4* y verificar si se podía obtener *rac-3*. Para evaluar esa posibilidad, se intentó llevar a cabo la reacción a 180°C, 45 min, suspendiendo **1** en agua, cuyos efectos en la aceleración de las reacciones de Diels-Alder han sido previamente reportados;³⁶ sin embargo, el rendimiento fue

menor. Al intentar llevar a cabo la reacción a la misma temperatura y durante el mismo tiempo, suspendiendo **1** en una disolución saturada de LiCl, y adsorbiendo ese compuesto en sílice, no se observó la formación de los dímeros *rac-3* y *rac-4*.

Los resultados de las pruebas descritas se resumen en la Tabla 2.

Tabla 2. Ensayos realizados en microondas para dimerizar Z-ligustilida (**1**), variando los disolventes utilizados.

Disolvente	Dímeros formados ^a
Tolueno	-
Dioxano	-
2-propanol	-
Acetonitrilo	-
Agua	<i>rac-4</i>
Disolución acuosa saturada de LiCl	-
Sin disolvente	<i>rac-4</i>
Adsorbido en sílice	-

(a) Se anota en esta columna el dímero observado en c.c.f. y RMN ¹H.

En resumen, la reacción de dimerización de **1** procede únicamente sin disolvente, o en suspensión en agua, pese a la variación en el comportamiento que cada disolvente posee en relación con la absorción de microondas.

Sobre este aspecto, conviene señalar que la elección de disolventes estuvo basada en la absorción de microondas. Se escogió tolueno por ser un disolvente que no absorbe microondas, pero cuya efectividad en la síntesis con microondas se debe a que las moléculas absorben la energía de las microondas, y reaccionan, disipándose posteriormente al ser absorbida por el disolvente, y de esta forma se sugiere que no ocurren reacciones laterales, por lo que la reacción es más limpia.³⁴

Se eligió 2-propanol porque es un disolvente que absorbe efectivamente microondas, para contrastar la eficiencia de su uso en la reacción de mérito; el acetonitrilo es un disolvente de intermedia absorción de microondas. El agua no es propiamente un disolvente, porque **1** no es soluble en ese medio, pero se eligió por los efectos de aceleración que ya se han mencionado.

Tabla 3. Propiedades relacionadas con la absorción de microondas de los disolventes empleados.³⁴

Disolvente	Constante dieléctrica (ϵ')	Tan δ	Pérdida dieléctrica (ϵ'')
Tolueno	2.4	0.040	0.096
Dioxano	2.25	-	-
2-propanol	18.3	0.799	14.662
Acetonitrilo	37.5	0.062	2.325
Agua	80.4	0.123	9.889

La formación de diligustílida (*rac-4*) en ausencia de disolvente o cuando hay agua, contrapuesto con que en disolución o en soporte de sílice no ocurre la dimerización de **1** para dar los productos *rac-3* y *rac-4*, revela que es necesaria una concentración alta de Z-ligustílida (**1**) para que se lleve a cabo la reacción.

Las condiciones en que ocurre la reacción de Diels-Alder de **1** son más drásticas que las condiciones en las que se realiza el aislamiento de los metabolitos secundarios de *L. porteri*. La reacción se lleva a cabo con Z-ligustílida sin disolvente o suspendida en agua, a temperaturas entre 150°C a 200°C; mientras que en el aislamiento de los metabolitos secundarios no se utilizan esas condiciones extremas de temperatura y concentración de **1**. Por lo tanto, no es factible que la cicloadición de **1** para dar los dímeros *rac-3* y *rac-4* ocurra en el proceso de purificación.

Al utilizar sílice como soporte para que se lleve a cabo la reacción, tampoco se observa la formación de los compuestos *rac-3* y *rac-4*. Siendo así, se descarta que estos se produzcan durante la purificación, en la que se emplean columnas empacadas con sílice.

Estos resultados sugieren que para que se lleve a cabo la reacción de dimerización de **1** en condiciones más suaves, es necesario emplear catalizadores adecuados, o tiempo mucho mayor. Sin embargo, el uso de ácidos de Lewis para catalizar la reacción no ha posibilitado la formación de los dímeros *rac-3* y *rac-4*.²⁶ De modo que la formación de estos compuestos procede mediante la catálisis de los complejos enzimáticos de la planta.

El análisis por RMN ¹H revela que la proporción relativa máxima en que se forma diligustílida (*rac-4*) con respecto a Z-ligustílida (**1**) es 1:4.7, que se obtiene cuando se hace reaccionar a **1** en microondas a 180°C por 45 min. Esta proporción revela que el rendimiento en la formación de *rac-4* es similar al reportado previamente para la reacción realizada con calentamiento convencional. La formación de toquinólida B (*rac-3*) no se observa en ninguna de las condiciones ensayadas.

Una observación importante es que a 200°C en tolueno por 12 min, los dímeros *rac-3* y *rac-4* sufren una reacción retro Diels-Alder, dando como producto **1**, lo que indica que a temperaturas mayores se favorece la formación de la materia prima.

Entonces, las condiciones en las que podría ocurrir la reacción se encuentran limitadas a un intervalo muy restringido de temperaturas, así como de disolventes para que pueda ocurrir, lo que excluye la posibilidad de que en las condiciones en que se lleva la extracción y aislamiento de los metabolitos secundarios de *L. porteri* se produzcan los dímeros *rac-3* y *rac-4* a partir de **1**.

(d) Análisis y cuantificación de *rac-3*, *rac-4* y **1 en muestra almacenada de **1** mediante RMN ^1H .**

Con base en la metodología realizada previamente en este grupo de trabajo,⁷ se llevó a cabo la cuantificación por RMN ^1H de una muestra auténtica de *Z*-ligustílida (**1**) almacenada durante 10 años, para determinar la presencia de **1**, *rac-3* y *rac-4*.

El análisis de los espectros de RMN ^1H mostró que en las condiciones en que fue almacenada (baja temperatura, atmósfera de nitrógeno), se forman espontáneamente los dímeros *rac-3* y *rac-4*, puesto que se observan señales características de diligustílida (*rac-4*) en δ 7.34 (d, $J = 6.5$ Hz, H-7') y δ 4.98 (t, $J = 7.5$ Hz, H-8') y de toquinólida B (*rac-3*) en δ 4.60 (dd, $J = 8.5, 6.5$ Hz, H-8') (ver Figura 8 para numeración).

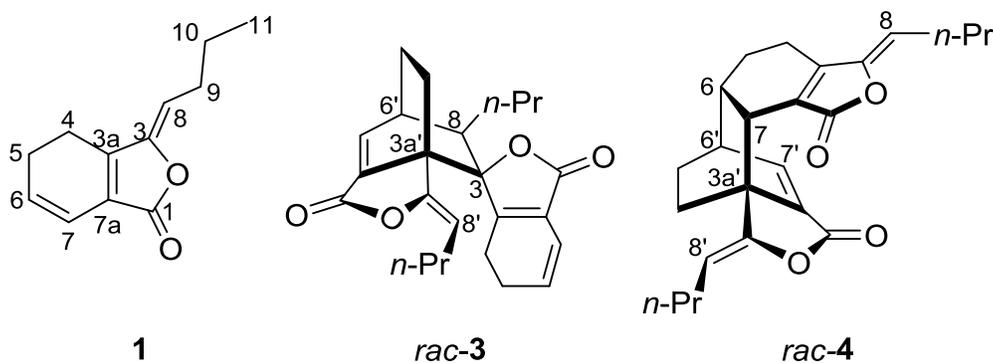
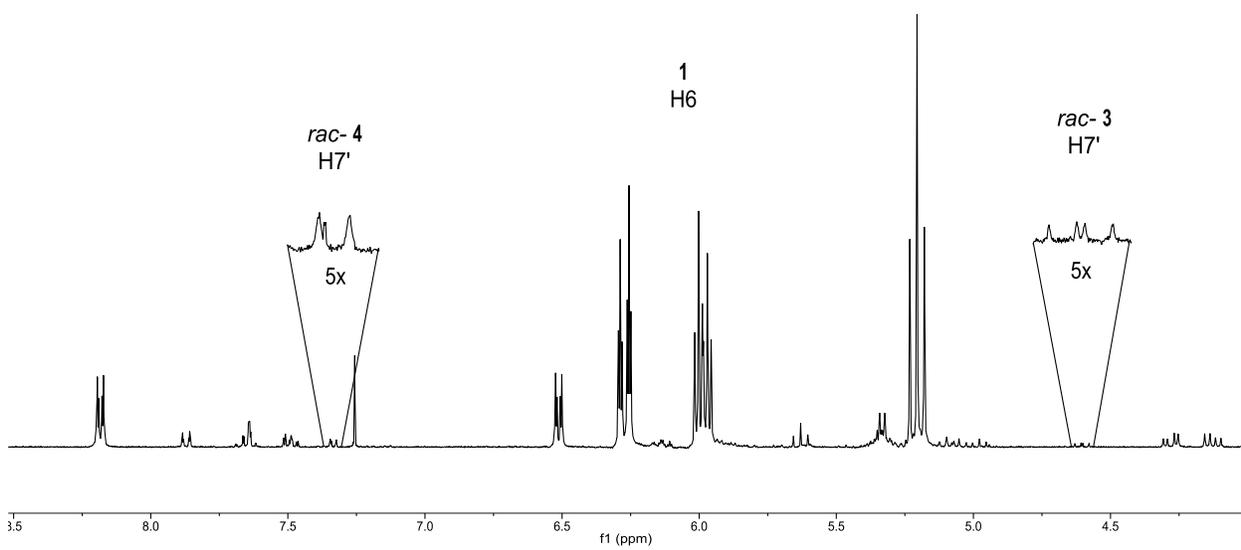
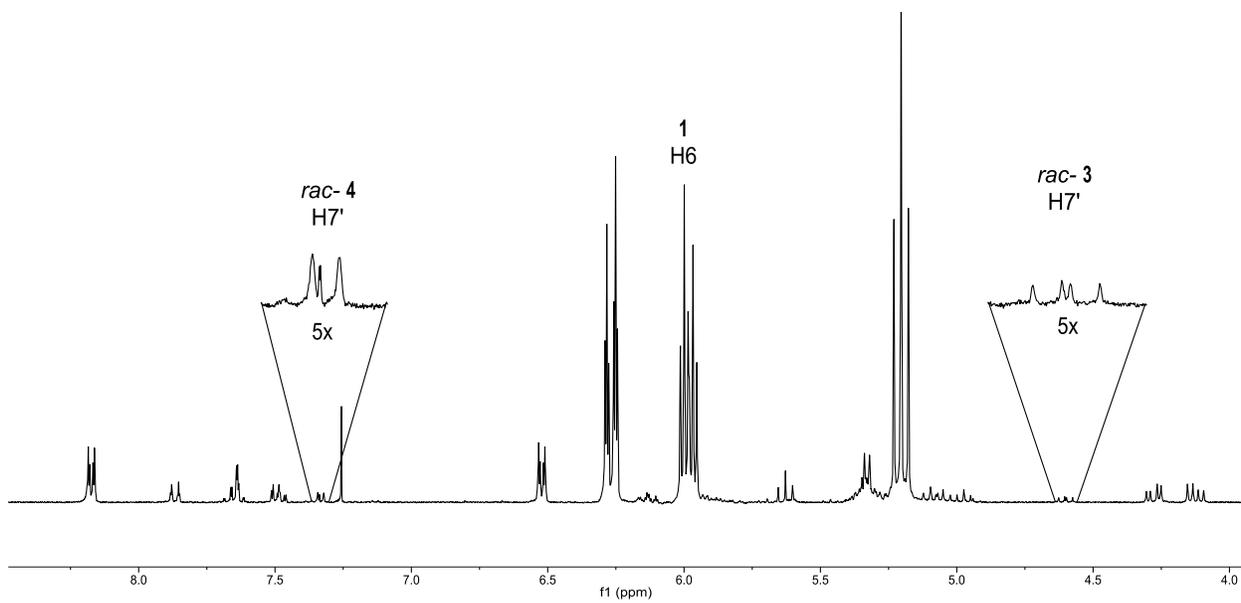


Figura 8. Numeración de átomos en las ftálicas **1**, *rac-3* y *rac-4*.



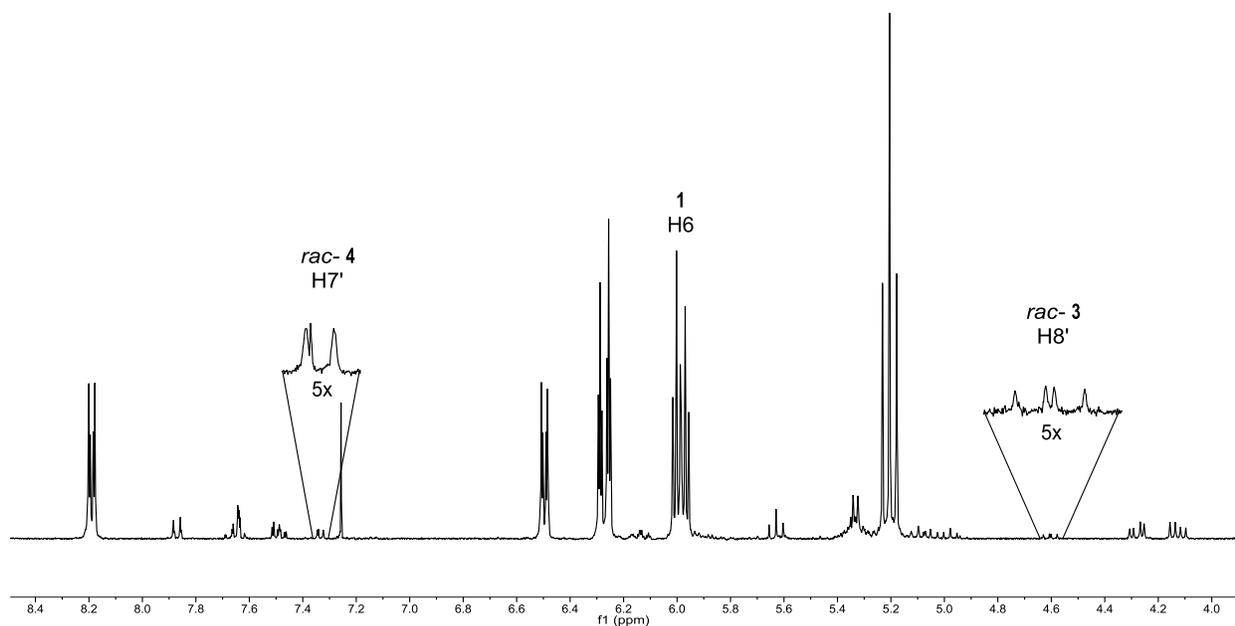


Figura 9. Espectros de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) de muestra almacenada de **1**.
 Nota: Las señales se identifican con el número del compuesto y el número de hidrógeno.

Se encontró que en la muestra hay en promedio 66.5% de **1**, 3.2% de *rac-3* y 2.6% de *rac-4*; el porcentaje restante corresponde a *Z*-butilidenftálida (**2**) ácido ferúlico (**6**), triacilglicérido (**7**). En la Tabla 4 se muestran los resultados del contenido de **1**, *rac-3* y *rac-4* en la muestra analizada.

Tabla 4. Contenido de **1**, *rac-3* y *rac-4* en una muestra almacenada de **1**.

Compuesto	1	2	3	Promedio
<i>Z</i> -ligustílida (1)	69.1%	66.7%	63.8%	66.5%
Diligustílida (<i>rac-3</i>)	2.6%	2.9%	2.4%	2.6%
Toquinólida B (<i>rac-4</i>)	2.5%	3.6%	3.4%	3.2%

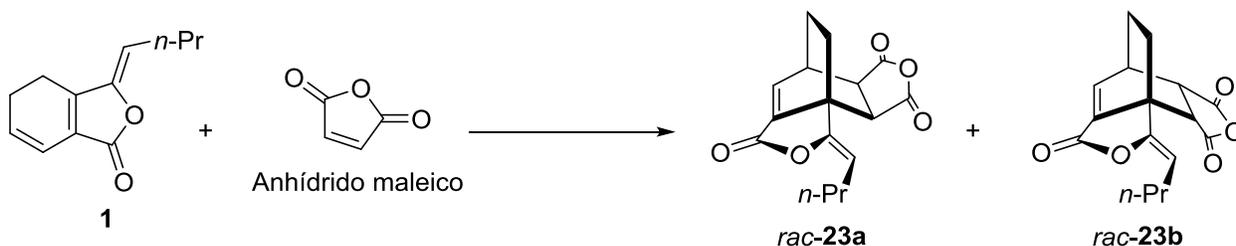
Aunque este resultado pudiera sugerir que la formación de los dímeros ocurre de manera espontánea, pareciendo indicativo de que, efectivamente, los dímeros son productos post-cosecha, y no metabolitos secundarios de las plantas de la familia Umbelliferae, el contraste tanto con el tratamiento térmico convencional como con el tratamiento asistido con microondas de **1**, aporta evidencia de que son

productos naturales, dada la dificultad con que se llevan a cabo estas reacciones en intervalos cortos de tiempo.

Sin embargo, no se puede perder de vista que si bien ocurre la formación de los cicloaductos de Diels-Alder en el tubo sellado con la muestra pura de **1**, también es cierto que esa transformación ocurre muy lentamente, lo cual indica una cinética lenta no la imposibilidad de que ocurra, dado que con el tiempo podría establecerse el aparente equilibrio entre **1** y *rac-4*, como sucede a temperaturas altas sin disolvente, aunque en las condiciones en que es almacenada (y en las condiciones en las que se aíslan los componentes de la planta *L. porteri*) la transformación no se lleva cabo en intervalos menores de tiempo.

Esta aseveración es consistente con los estudios previos de la transformación de *Z*-ligustílida (**1**), en el que no se encuentra evidencia de la formación de los dímeros *rac-3* y *rac-4* en muestras de **1**, al ser almacenada pura a 4 °C.¹⁹

(e) Reacción con anhídrido maleico



Esquema 16. Reacción de **1** con anhídrido maleico.

La reacción de **1** con anhídrido maleico en microondas dio lugar a la formación de dos productos, *rac-23a* y *rac-23b*, lo cual se confirmó mediante el análisis de sus constantes espectroscópicas. La asignación de las señales previamente descrita se encuentra incompleta, por lo que se considera pertinente hacer la discusión respectiva.

A continuación se hace la discusión con base en el compuesto *rac-23a*, y después, por analogía se presentan los espectros de RMN de ^1H y ^{13}C *rac-23b*. Para facilitar la discusión, en la siguiente Figura, se numeran los átomos de *rac-23a*.

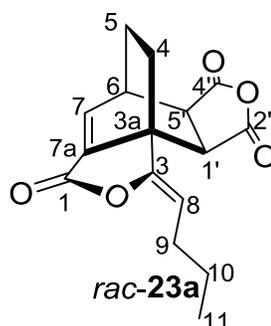


Figura 10. Numeración de átomos en *rac-23a*.

En primer lugar, es conveniente mencionar que en el espectro de RMN ^{13}C se observan 16 señales, de modo que coincide con la fórmula molecular de los isómeros formados. Por medio de los experimentos DEPT-135 y DEPT-90, se determinó que cinco corresponden a carbonos cuaternarios: tres en la región de carbonilo, en δ 170.3, 169.6, asignables a los carbonilos del fragmento de anhídrido (C4' y C2') y en δ 163.2, atribuible al carbonilo de la lactona, C1, que se desplaza ligeramente hacia campo alto por la insaturación exocíclica del butilideno; dos señales más, en δ 149.2 y 136.3 se pueden atribuir a los carbonos cuaternarios de los alquenos, C3 y C7a, respectivamente. Adicionalmente, hay cinco señales de carbono terciario, dos de ellas muy desplazadas a campo bajo (δ 140.0 y 110.2), correspondientes a los carbonos sp^2 C7 y C8, respectivamente; las señales restantes son de carbonos alifáticos, en δ 49.1, 46.6 y 34.2, pertenecientes a los carbonos C1', C5' (ambas señales se encuentran desplazadas a campo bajo debido a la posición β con respecto a los grupos carbonilo) y C6, respectivamente. Cuatro señales más son de metilenos, en δ 27.8, 20.2, 27.5, y 22.4, asignables a C4, C5, C9 y C10, respectivamente. Finalmente, existe una sola señal de metilo (δ 13.6),

correspondiente al metilo terminal en la cadena butilideno, C11. El análisis y asignación de estas señales se discutirá en los siguientes párrafos.

En relación con el espectro de RMN ^1H , la señal más desplazada a campo bajo es un doblete en δ 7.43 ($J = 6.5$ Hz), que integra para un núcleo, asignable al hidrógeno vinílico unido a C7 del doble enlace endocíclico, que se encuentra en posición β con respecto al carbonilo, lo cual provoca que la señal se desplace hacia campo bajo. Mediante COSY, se puede observar que este hidrógeno correlaciona con la señal compleja en δ 3.58, por lo que ésta corresponde al hidrógeno unido a C6, lo que ocasiona el desdoblamiento de la señal en análisis. Las interacciones a un enlace de C6 y C7 con δ_{H} 3.58 y 7.43, respectivamente, se confirmaron por el experimento HSQC.

Otra señal notable es el triplete que se encuentra en δ 5.43, que se atribuye al hidrógeno vinílico de la posición 8. La multiplicidad de la señal se debe al acoplamiento a tres enlaces con los hidrógenos alílicos unidos a C9, con $J = 7.5$ Hz. En el espectro COSY se observa correlación con la señal cuádruple de H9 en δ 2.24, por lo que se concluye que esta señal, que integra para dos núcleos, se debe a los hidrógenos alílicos mencionados; además esta señal es cuádruple con $J = 7.5$ Hz, lo cual se explica por su vecindad con 3 hidrógenos (uno unido a C8 y dos a C10). Por HSQC se observa que los hidrógenos mencionados, cuyas señales están desplazadas δ 5.43 y 2.24, correlacionan con las señales de ^{13}C en δ 110.2 y 27.50, respectivamente, de manera que estas señales corresponden a C8 y C9.

La señal triple en δ 0.94 ($J = 8.0$ Hz) corresponde a los hidrógenos del metilo terminal, enlazados a C11. De acuerdo con el experimento COSY, la señal H11 correlaciona con la señal compleja en δ 1.58-1.41, que pertenece a los hidrógenos enlazados con C10, y se traslapa con las señales de otros hidrógenos.

Para encontrar el desplazamiento químico de C10, en el experimento HSQC se observan las posibles correlaciones de la señal compleja en la que se encuentra

H10: ($\delta_H - \delta_C$) 1.49-20.2, 1.46-22.4 y 1.50-27.50. La señal en δ 20.2 no correlaciona con la señal de H11 en HMBC, por lo tanto se descarta que ésta le corresponda a C10. En ese mismo experimento se observa correlación de H9 con los carbonos que producen las señales en δ 13.5 (de C11) y 22.4. Por lo tanto, se atribuye ésta a C10, al observarse la correlación a 2 enlaces con H9.

En el experimento HMBC se pueden observar las siguientes correlaciones: H7 (δ 7.43) con C1 en δ 163.2, del fragmento lactona; C3 en δ 149.2 con H8 y H9 (δ 5.43 y 2.24); la señal en δ_C 136.3 se asigna a C7a por su correlación con H6 en δ_H 3.56 y con la señal en δ 2.10; el carbono cuaternario C3a (δ_C 43.8) tiene interacción con las señales en δ_H 2.10 y 3.18. Por lo tanto, esta señal, que es un doble de dobles con $J = 10.5$ y 2.0 Hz, es perteneciente a H1'. Por otro lado, en HMBC, la señal de H1', correlaciona con C2' (δ_C 170.0).

La señal doble de doble de dobles ($J = 10.5, 3.0$ y 2.0 Hz) en el espectro de RMN 1H en δ 3.13 corresponde a H5y correlaciona con C4' (δ_C 170.3)

Sobre las señales de H1' y H5', se debe mencionar que aparentemente son un sistema de espines fuertemente acoplados, AB, que a su vez se acoplan con otros espines. La diferencia en la frecuencia de las señales es de 6 Hz, en tanto que la J que los relaciona es de 10.5 Hz. Esto explica la distorsión de las señales ("efecto azotea"). Además, H1' produce la señal doble de dobles debido, además del acoplamiento a tres enlaces con H5', por el posible acoplamiento a cuatro enlaces con H6, y con H4 (el que está en posición *endo* con respecto al doble enlace C7-C7a), con los cuales tiene la posición relativa en "W", idónea para el acoplamiento a 4 enlaces. Por su parte, H5' tiene ese desdoblamiento por el acoplamiento a dos enlaces con H1', con H6 y con H5 (también el que está en posición *endo* en relación con el doble enlace C7-C7a, por la misma razón que H6-H4). (ver Figura 11 y Figura 12)

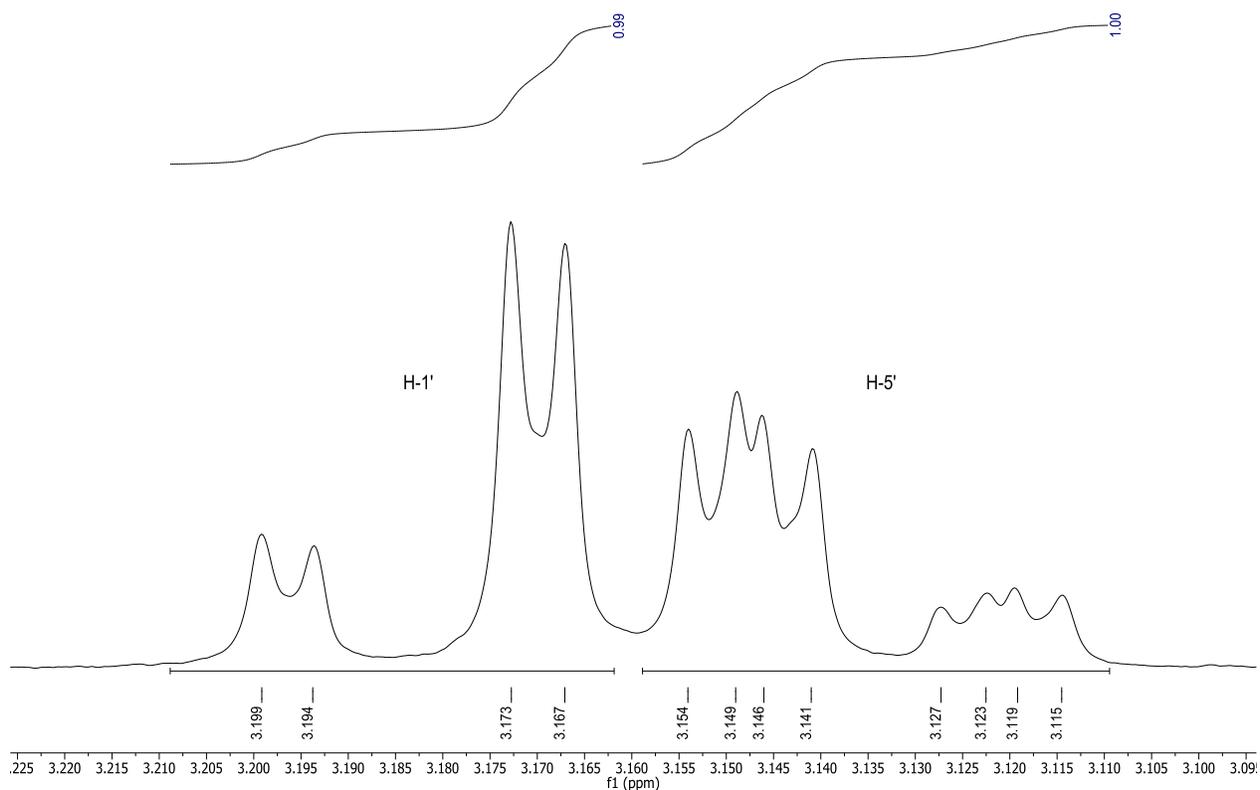


Figura 11. Fragmento del espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) de *rac*-23a.

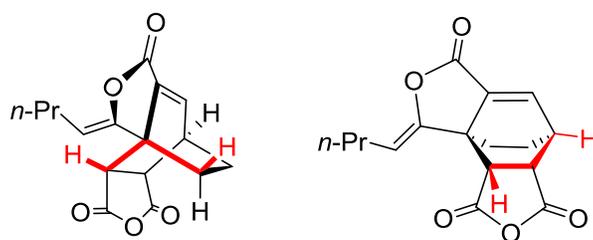


Figura 12. Posibles interacciones a cuatro enlaces para H1' de *rac*-23a.

La señal en δ_{H} 2.10, δ_{C} 27.8, que integra para un núcleo, correlaciona con las señales de C3a, C7a y C1'; por lo tanto, se concluye que le pertenece a uno de los hidrógenos H4. El otro hidrógeno unido a C4 inmerso en la señal compleja en δ 1.58-1.41.

De manera semejante, la señal en δ_H 1.85 interacciona con los carbonos C6, C7 y C5', por lo tanto es uno de los hidrógenos unidos a C5, cuya señal se identifica con ayuda del experimento HSQC, en δ_C 20.2. Finalmente, se deduce que la señal del otro hidrógeno unido a C5 se encuentra dentro el multiplete en δ 1.58-1.41.

De esa forma se confirma la estructura de *rac-23a*.

Análogamente, para *rac-23b* se observan 16 señales en el espectro de RMN ^{13}C , que se pueden asignar de la siguiente forma: La señal en δ 170.23, corresponde a C4'; δ 167.9, a C2'; δ 162.3, a C1; δ 148.5, a C3; δ 138.5, a C7; δ 133.8, a C7a; δ 107.7, a C8; 47.7, a C1'; δ 44.1, a C5'; δ 34.6, a C3a; δ 29.5, a C9; δ 27.03, a C4; δ 22.85, a C10; δ 22.28, a C5; y, δ 13.48, a C11;

En el espectro de RMN 1H de *rac-23b*, las señales de H7 y H8 se encuentran en δ 7.43 y 5.44, desplazadas a campo bajo con respecto a la señal del hidrógeno correspondiente de *rac-23a*. Esto se debe a que el los grupos carbonilos provenientes del anhídrido maleico, en *rac-23b* están en posición *endo* con respecto al enlace, de tal forma que los hidrógenos vinílicos mencionados son desprotegidos debido al efecto anisotrópico de esos sustituyentes.

Con el conocimiento de las constantes espectroscópicas de los compuestos, es posible analizar las señales de RMN 1H del crudo de reacción para determinar que la proporción en la que se forman los productos es 1:2.68 (*rac-23a* / *rac-23b*), siendo el producto mayoritario el correspondiente al isómero *endo*, por la comparación entre el área bajo la curva de las señales correspondientes a cada uno de los isómeros,

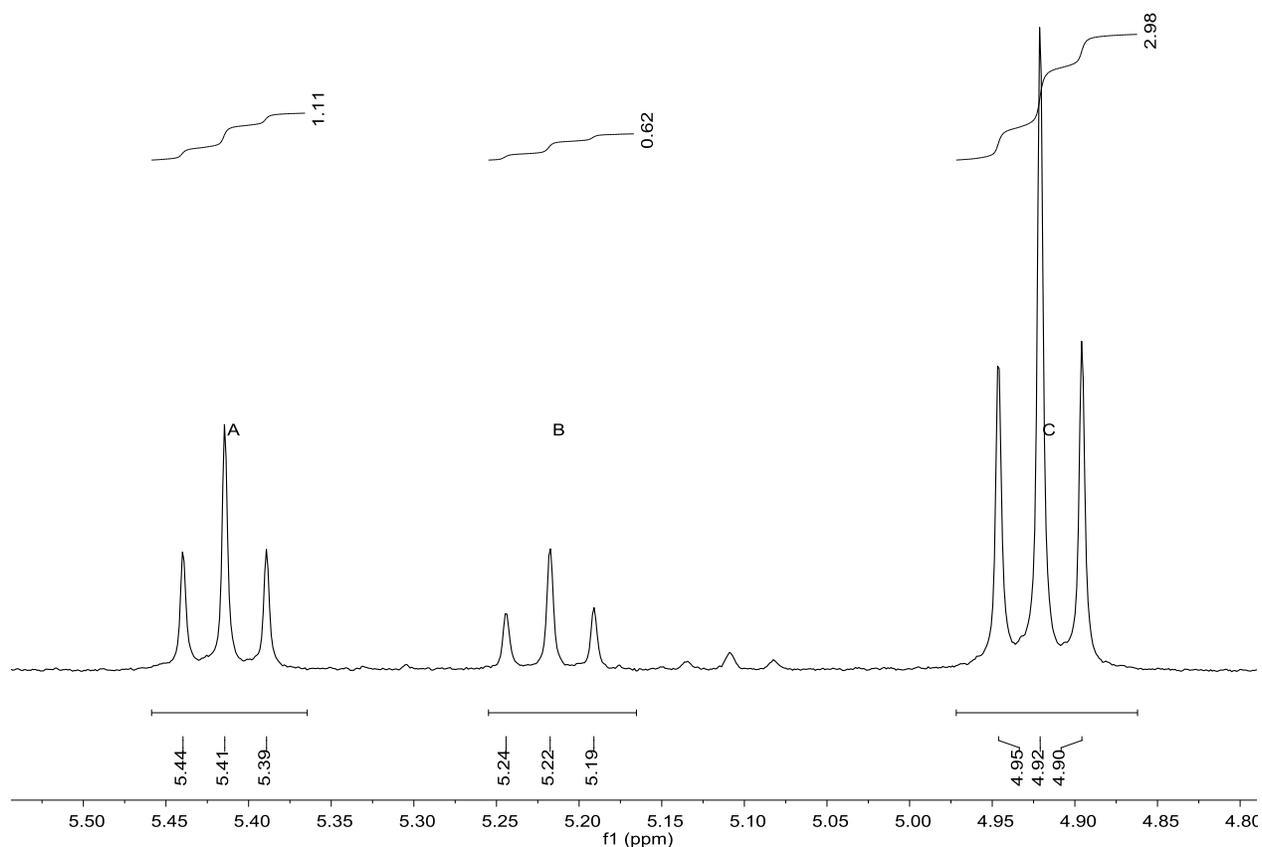


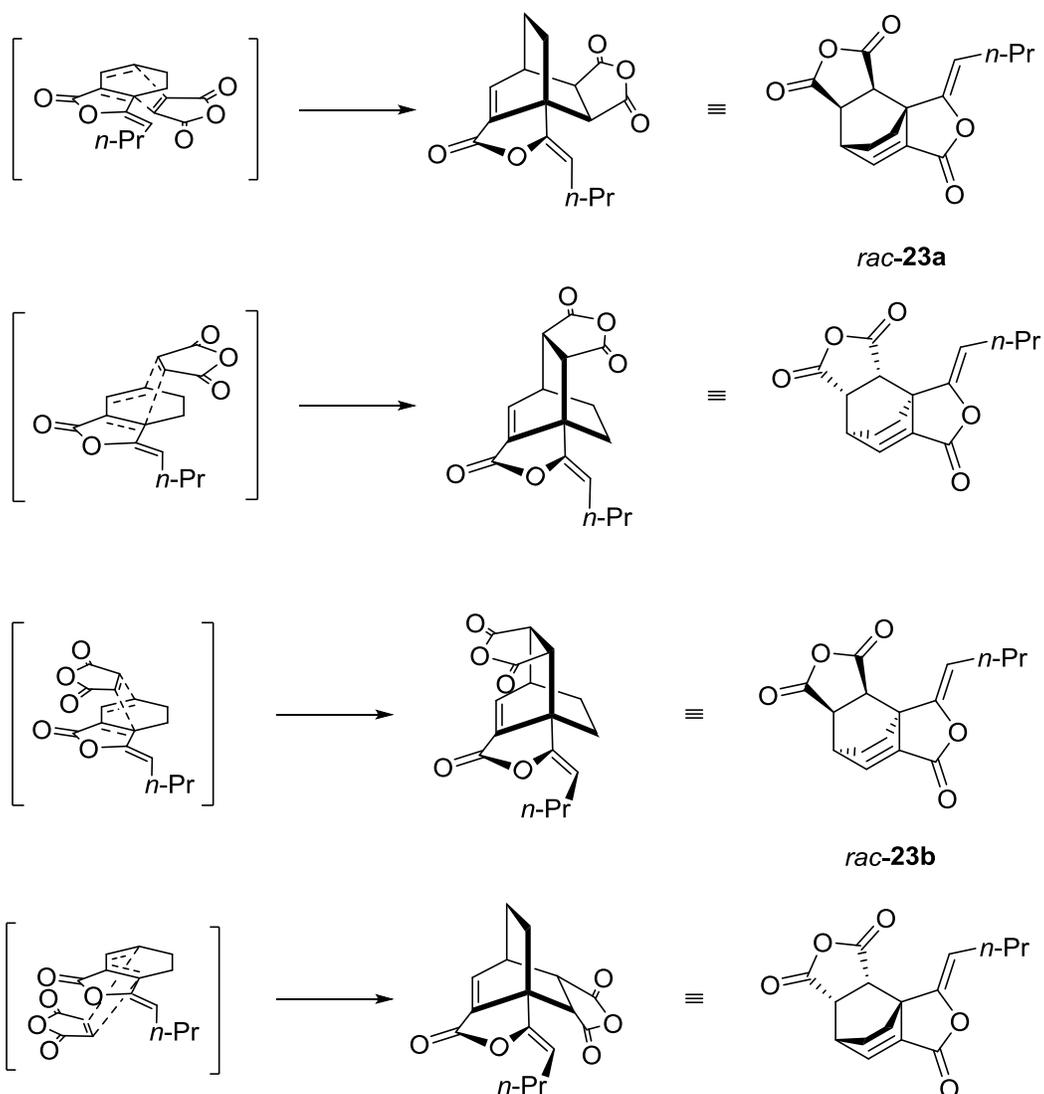
Figura 13. Ampliación del espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) del crudo de reacción de **1** con anhídrido maleico.

En la Figura 13, se muestran las señales que se tomaron en consideración para determinar la proporción en la que se encuentran los isómeros, que fueron elegidas en virtud de que se encuentran en una zona despejada, en la que no se superponen con otras señales. La señal triple, en δ 5.43 (identificada como A en la Figura 13), corresponde al hidrógeno vinílico H8 en *rac-23a*; la señal triple en δ 5.22 (B), corresponde al hidrógeno vinílico unido a H8 en **1**; y el triplete en δ 4.92 (C), al hidrógeno de la misma posición de *rac-23b*. Del análisis del fragmento del espectro y el área bajo la curva de las señales, se puede establecer la relación 1:2.68, y el rendimiento global de la reacción, que es de 87%.

La formación en mayor proporción de *rac-23b* era predecible, debido a que, como se mencionó en el capítulo de antecedentes, las reacciones de Diels-Alder

tienen una gran selectividad hacia el isómero *endo*, que, si bien no es el más favorecido desde el punto de vista termodinámico, cinéticamente sí lo es debido a la menor energía del estado de transición que implica su formación. La explicación para esa selectividad es la interacción secundaria que tiene lugar en ese estado de transición, consecuencia del solapamiento entre los orbitales π del dieno y del dienófilo.

La interacción secundaria que da lugar a *rac-23b* ocurre, por parte del dienófilo, con los orbitales π de los dos grupos carbonilo del anhídrido maleico; para la formación del producto **23a**, no existe la disminución de la energía del estado de transición, por lo que su formación es más lenta. En el Esquema 17, se muestran los estados de transición para la obtención de los productos, ilustrando algunas posibles orientaciones en la que se unen las moléculas de los reactivos para formar los pares de enantiómeros de *rac-23a* y de *rac-23b*.



Esquema 17. Formación de diastereoisómeros de **23**.

Es notable el cambio en la proporción en que se encuentran los compuestos *rac-23a* y *rac-23b*. Con calentamiento convencional, estos dos isómeros se forman con una proporción *endo* / *exo* 3:1.²⁸ Sin embargo, en la reacción asistida con microondas, esa proporción es de 2.64:1.

La disminución de la abundancia relativa del isómero *endo* (*rac-23b*) con respecto al *exo* (*rac-23a*) puede deberse a que, como ya se ha mencionado, el isómero *exo* es, por regla general, más estable que el *endo*. Sin embargo, cinéticamente la formación de éste es favorecida debido a la menor energía del estado de transición que se requiere para ese proceso.

Por consiguiente, si la energía de activación para la formación de *rac-23a* es mayor que la que se requiere para formar *rac-23b*, la reacción de anhídrido maleico con **1** es más rápida para dar lugar a *rac-23b*. En otras palabras, *rac-23b* es el producto cinético de la reacción. En tanto que *rac-23a*, el producto termodinámico, más estable.

De esa forma es natural la observación que se menciona, porque la temperatura a la que se llevó a cabo la reacción aumentó de 145°C, a 225°C. Consiguientemente, las constantes de equilibrio cambian. Es de esperar que al aumentar la temperatura, haya un desplazamiento del equilibrio hacia la formación de *rac-23b*, porque hay más moléculas de reactivos que chocan con la orientación adecuada (favorecida por la estabilización de orbitales secundarios) para dar lugar a ese producto; y lo mismo ocurre para la formación de *rac-23a*, debido al aumento de la temperatura. Sin embargo, el proceso inverso, la formación de **1** y anhídrido maleico a partir de *rac-23a* y *rac-23b* marca la diferencia, puesto que por el principio de reversibilidad microscópica, se puede deducir que la energía de activación para que ocurra la reacción retro Diels-Alder es mayor partiendo de *rac-23a*, más estable, con estado de transición de mayor energía, que de *rac-23b*, menos estable y con estado de transición de menor energía. Por ende, esa reacción es más lenta para *rac-23a* y por lo tanto al aumentar la temperatura exista una mayor proporción o acumulación de ese producto. En conclusión, en las condiciones en las que se llevó a cabo la reacción en microondas, el efecto de la temperatura se hace resentir de forma más notable sobre la formación de reactivos (**1** y anhídrido maleico) a partir de *rac-23a* que a partir de *rac-23b*.

Esta observación es consistente con la afirmación de que, en general, se favorece la formación del producto termodinámico en microondas, debido a la transmisión más eficiente de energía a las moléculas de reactivos para formar productos.³⁴

A pesar de que las condiciones de la reacción en microondas favorecieron la formación del producto termodinámico (*rac-23a*) porque era mayor la cantidad de moléculas de reactivos que tenían la energía necesaria para ello, con respecto a esa misma cantidad a una temperatura menor, proporcionada mediante calentamiento convencional (menos eficiente en la transmisión de la energía), el cambio en las condiciones no fue suficiente para que *rac-23a* fuera el producto mayoritario de la reacción.

Lo descrito en los párrafos precedentes se ilustra en el perfil energético de la Figura 14.

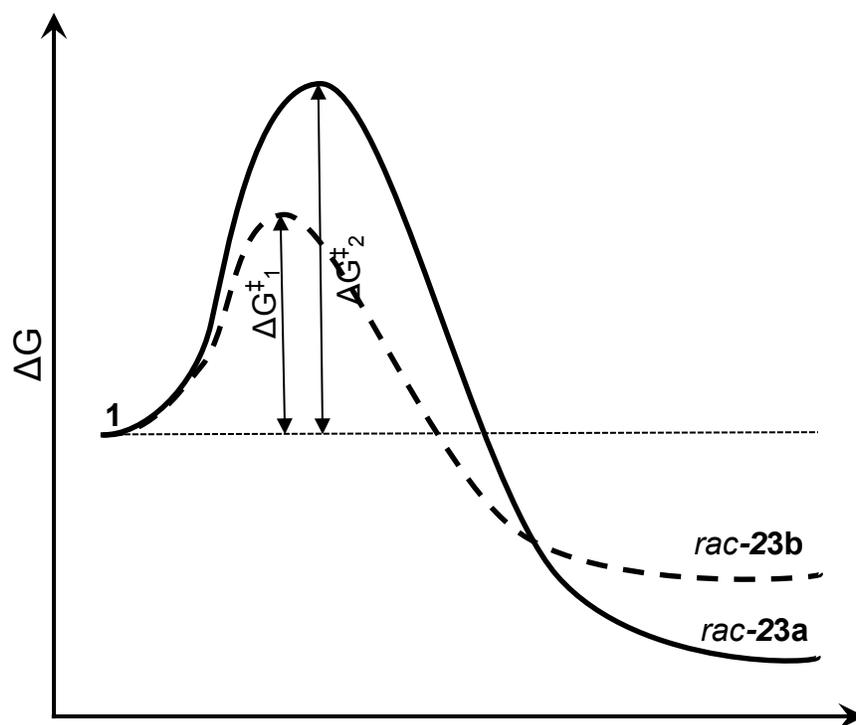
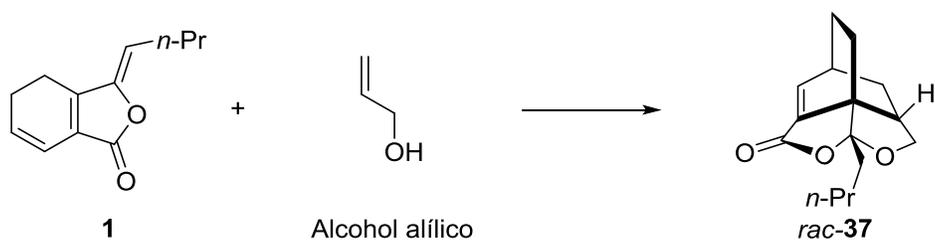


Figura 14. Perfil energético hipotético de la reacción de **1** con anhídrido maleico.

(f) Reacción con alcohol alílico



Esquema 18. Reacción de **1** con alcohol alílico

Cuando se hace reaccionar alcohol alílico con *Z*-ligustílida (**1**) en presencia de un equivalente de ácido *p*-toluensulfónico (*p*-TsOH), se obtiene el producto *rac*-**37**.

La estructura se confirmó al analizar los espectros obtenidos por experimentos de RMN.

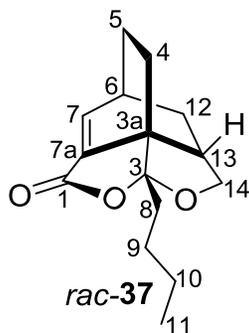


Figura 15. Numeración de átomos en *rac*-37.

En el espectro de RMN ^{13}C se observan quince señales. Por los experimentos DEPT-135 y DEPT-90, se determina que hay cuatro carbonos cuaternarios, tres carbonos terciarios, siete carbonos de metileno y un carbono de metilo.

El carbono más desplazado a campo bajo, en δ 166.7 corresponde al carbono del carbonilo C1. La siguiente señal corresponde al carbono sp^2 , C7, un metino cuya señal está en δ 142.6, desplazada a campo bajo debido a su posición con respecto al carbonilo antes mencionado; al carbono C7a, también desplazado a

campo bajo por el carbonilo, le corresponde la señal en δ 134.8; al carbono C3 le corresponde la señal en δ 115.6, que se desplaza a campo bajo por ser doblemente base de oxígeno; la señal de C14 se ubica en δ 72.3, un metileno desplazado a campo bajo debido a que es base de oxígeno; la señal en δ 54.5 es de un carbono cuaternario, asignable a C3a, y se encuentra desplazada ligeramente a campo bajo por el efecto de dos oxígenos en posición β ; la señal localizada en δ 42.30 es de un metino, y se le puede atribuir a C13, porque en posición β tiene un oxígeno que ocasiona que se desplace a campo bajo; hay otra señal de metino en δ 33.9 que le corresponde a C6; finalmente, la señal de metilo, en δ 14.09 es de C11. Las restantes señales, en δ 34.8, 30.4, 26.7, 25.2, 13.1 y 22.9, corresponden a los metilenos, C4, C5, C8, C9, C10 y C12.

La estructura de *rac-37* se puede confirmar con ayuda del espectro de RMN ^1H . En éste se observa un doblete en δ 7.35 ($J = 6.5$ Hz), correspondiente al hidrógeno vinílico H7. En el experimento COSY, se observa la interacción de la señal de H7 con una señal en H6, un multiplete (δ 3.08-2.99) que se superpone con otra señal doble de doble.

A diferencia de los compuestos **1**, *rac-23a* y *rac-23b*, no se observa el triplete perteneciente a H8, vinílico, producido por el acomplamiento con los hidrógenos vinílicos, lo que resulta consistente con la estructura del producto de la reacción, ya que el fragmento del alcohol alílico se adicionó al doble enlace C3-C8. Es importante notar también que con respecto a los productos *rac-23a* y *rac-23b*, se observa la ausencia de dos señales de carbonos de olefina: un metino y un cuaternario; y existe, en cambio, una señal de carbono cuaternario y una de metileno, ambos insaturados.

Hay dos señales doble de dobles, en la región de hidrógenos unidos a carbono base de oxígeno, una en δ 3.95 ($J = 9.0, 7.0$ Hz) y otra en δ 3.04 Hz ($J = 11.5, 9.0$ Hz). Como se puede notar, por la constante $J = 9.0$ Hz (que está dentro del intervalo de constantes geminales), estas señales se acoplan entre sí a dos enlaces; esta interacción se confirmó por el experimento COSY. Estas observaciones son

consistentes con la estructura en atención a que los hidrógenos diastereotópicos unidos a C14 pueden producir señales con los desplazamientos y las multiplicidades observados.

Por el experimento COSY, se puede notar que las señales dobles de dobles mencionadas en el párrafo anterior interactúan con otra señal, que integra para un núcleo y es doble de doble de doble de dobles, ubicada en δ 2.28 ($J = 11.5, 9.0, 7.0, 6.0$ Hz). Con las constantes de acoplamiento, claramente se puede ver que efectivamente hay interacción con aquellas señales y que es un acoplamiento vecinal *cis* con la señal en δ 3.95 y *trans* con la señal en δ 3.04. Por lo anterior las señales en δ 2.28, 3.04 y 3.95 se pueden asignar a H13, H14 β y H14 α , respectivamente.

Retomando la señal de H13 (δ 2.28), por medio del experimento COSY se observa que se acopla con el multiplete centrado en δ 1.84 y con la señal dddd en δ 1.08 ($J = 13.0, 6.0, 2.0, 2.0$ Hz) (de esta señal debe destacarse que se acopla con la misma constante con dos hidrógenos no equivalentes, por lo que tiene la forma de una señal ddt). Se puede deducir que con estas dos últimas señales, la primera se acopla con $J = 9.0$ y 6.0 Hz, en ese orden.

Es importante mencionar que la señal en δ 1.08 se puede asignar a uno de los hidrógenos en posición 12, en virtud de su interacción con las señales de H13 y H6 (δ 2.28 y 3.04); y con la señal multiplete a campo bajo en δ 1.78-1.94. También puede apreciarse la existencia de interacción de esta señal con la de H13, de tal forma que se deduce que esta corresponde al otro hidrógeno H12.

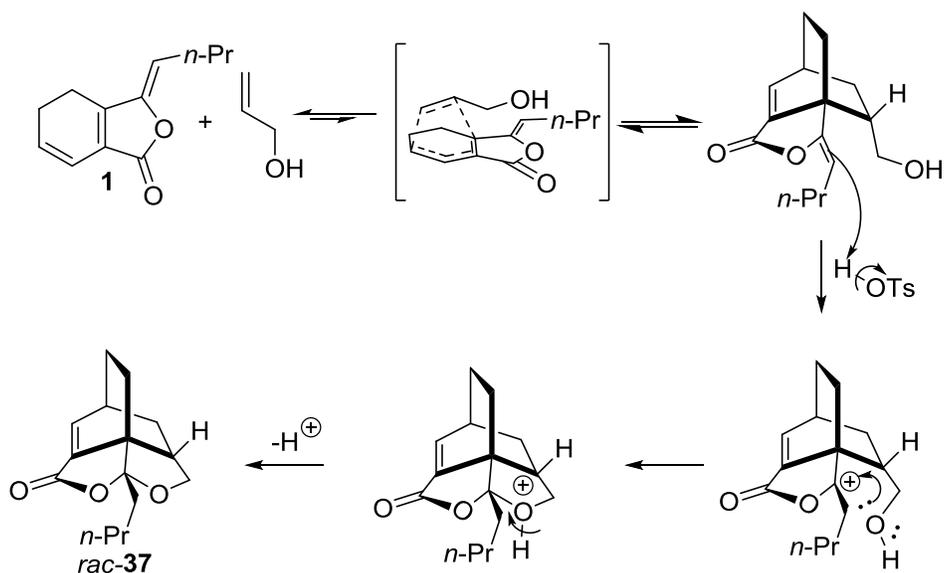
Con el análisis detallado de las señales de RMN ^1H y RMN ^{13}C , se puede confirmar la estructura del producto *rac-37*.

Además de la evidencia obtenida en este trabajo, previamente se realizaron estudios de difracción de rayos X del compuesto caracterizado como *rac-37*, con

idénticas constantes espectroscópicas que las obtenidas aquí, confirmando nuevamente la estructura de la Figura 15.²⁸

La selectividad de esta reacción es particularmente destacable. No se tiene evidencia de qué reacción ocurre primero, la cicloadición o bien la adición 1,2 del alcohol; sin embargo, por la estructura del producto se puede proponer un mecanismo como el del Esquema 19.

En el mecanismo, se sugiere que la reacción de Diels-Alder ocurre primero. Posteriormente, ocurre la adición 1,2 del alcohol catalizada por el ácido *p*-toluensulfónico (*p*-TsOH). Mediante un ataque nucleofílico de los electrones del doble enlace entre los carbonos C3-C8 sobre el protón ácido, formándose el carbocatión correspondiente, con carga formal en C3, por ser el carbocatión más estable, y se libera *p*-toluensulfonato. El par electrónico del oxígeno del alcohol ataca nucleofílicamente a esta especie reactiva por la única cara accesible (visto como está dibujado, por la cara de abajo). Después de una desprotonación del oxígeno, se forma el producto *rac*-37.



Esquema 19. Mecanismo de reacción para la formación de *rac*-37.

Nótese que el único de los estereoisómeros dibujados es el correspondiente al cicloaducto *endo*, porque como ya se mencionó, el diastereómero resultante de la cicloadición *exo* no fue detectado. Este hecho llama particularmente la atención porque implica una importante estereoselectividad en la reacción, pero no provocada por la interacción entre orbitales π , como ocurre típicamente en las reacciones de Diels-Alder. Se puede sugerir que en el estado de transición hay una interacción estabilizante, como un puente de hidrógeno entre el hidrógeno del hidroxilo proveniente del alcohol alílico y el oxígeno, ya sea del carbonilo o el oxígeno sp^3 , ambos de la lactona proveniente de **1**, lo que “ancla” la forma en que ocurre la cicloadición de tal modo que la orientación del carbono 3 del alcohol alílico queda en posición *endo* con respecto al doble enlace del ciclohexeno formado una vez que ocurre la reacción (Figura 16)

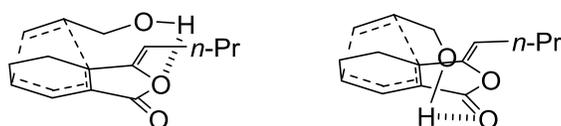


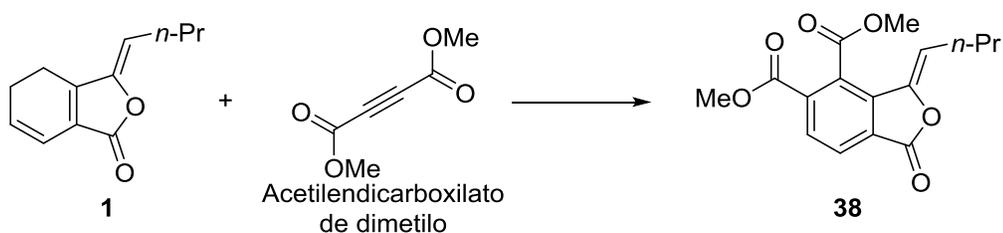
Figura 16. Posibles interacciones en el estado de transición de la cicloadición de Diels-Alder de **1** con alcohol alílico.

Esto justifica la sugerencia de que ocurra primero la cicloadición, en virtud de que al ocurrir primero la adición, la ciclación está favorecida 5-*exo*-trigonal, y es cinéticamente rápida, por implicar la formación de un heterociclo de cinco miembros: tetrahidrofurano.

Adicionalmente, se debe destacar que cuando la reacción se lleva a cabo en ausencia de *p*-TsOH, no se observa ninguna reacción. Esto implica que la reacción de Diels-Alder ocurre; sin embargo, al formarse el producto, éste da lugar a los reactivos vía la reacción retro Diels-Alder, de ahí que en el mecanismo del Esquema 19, la cicloadición se presente como equilibrio reversible y los pasos de la ciclación, no. Sin embargo, la ciclación que precede a la cicloadición hace en cierta medida irreversible la reacción, de tal forma que se acumula el producto *rac*-**37**.

Sobre este particular, debe mencionarse que esta observación es un indicio de que **1** es un reactivo que reacciona como dienófilo activado (de reactividad normal en reacciones de Diels-Alder). Consecuentemente, la reacción con alcohol alílico (un dienófilo que a simple vista parece activado, o de reactividad de Diels-Alder de demanda inversa), es lenta; sin embargo, el cicloaducto formado reacciona rápidamente para formar el producto *rac*-**37**. De modo que la acumulación del cicloaducto no ocurre, porque se forma lentamente y se consume de forma relativamente rápida.

(g) Reacción con acetilendicarboxilato de dimetilo (ADDM)



Esquema 20. Reacción de **1** con ADDM.

La reacción de **1** con ADDM procede con buen rendimiento (61%) para generar el compuesto **38**, un producto más polar que **1**.

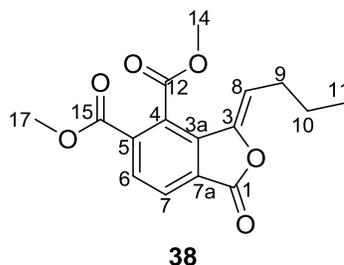


Figura 17. Numeración de átomos de **38**.

En el espectro de RMN ^{13}C , se encuentran dieciséis señales de carbono. Con los experimentos DEPT-135 y DEPT-90, se observa que hay ocho señales de carbono cuaternario, tres de las cuales corresponden a carbonilo en δ 167.5, 165.2 y 165.1 asignables a C1, C5 y C12, respectivamente; las restantes señales de

carbono cuaternario (δ 143.8, 135.6, 133.2, 129.0 y 128.6) corresponden a un sistema conjugado como el de **38**, similar al de estireno, asignables a C3, C3a, C4, C5 y C7a. Por otro lado, hay tres señales de metino, en la región de carbonos aromáticos, en δ 130.8, 126.5 y 115.0, que corresponden a C6, C7 y C8. Hay dos señales de metilenos, correspondientes a C9 y C10 en δ 28.5 y 22.5. Finalmente, hay tres señales de metilo, dos de ellas muy desplazados a campo bajo, en δ 53.4 y 53.3, que se deduce que corresponden a C16 y C13, por ser carboximetilos, y la señal restante, en δ 13.9, se asigna a C11.

El espectro de RMN ^1H muestra dos señales dobles en δ 8.14 y 8.01, ambas con una constante de acoplamiento de 8.0 Hz, indicativo de un anillo de benceno tetrasustituido, con dos hidrógenos unidos a carbonos en posición relativa *orto* entre sí. La interacción existente entre estos dos hidrógenos se confirma por el espectro COSY. El desplazamiento de estas señales hacia campo bajo sugiere la presencia de sustituyentes electroattractores en algunas posiciones del anillo.

Posteriormente, en el espectro se encuentra una señal triple en δ 5.67, asignable al hidrógeno vinílico H8, que experimenta un efecto de desprotección que desplaza la señal a campo bajo, y que, de acuerdo con las interacciones observadas en el experimento COSY, se acopla a 3 enlaces con dos hidrógenos con $J = 8.0$ Hz. Estos dos hidrógenos a los que se ha hecho referencia, producen la señal cuádruple en δ 2.47, cuyo desplazamiento es asignable perfectamente a un hidrógeno unido a un carbono alílico, con $J = 8.0, 7.5, 7.5$ Hz. Por lo anterior, se deduce que los hidrógenos alílicos se acoplan con los dos hidrógenos de un metileno (cuya señal puede corresponder al sextuplete que se encuentra en δ 1.55, con $J = 7.5, 7.5, 7.0, 7.0, 7.0$ Hz), que, a su vez, se acoplan con los hidrógenos del metilo que da la señal triple en δ 0.98, con constantes $J = 7.0, 7.0, 7.0$ Hz. Este conjunto de señales corresponden a un butilideno, como el que se encontraba presente en la materia prima, **1**.

Por último, hay dos señales sencillas en δ 4.02 y 3.97, que, en virtud de que integran para tres hidrógenos, y de su desplazamiento químico, son asignables a dos carboximetilos.

De las señales que se han expuesto, se puede inferir la presencia de los fragmentos mostrados en la Figura 18.

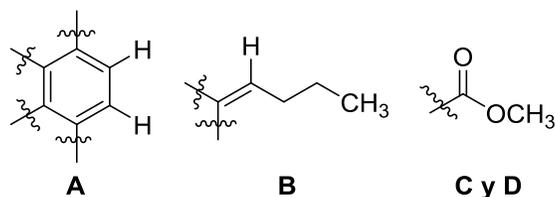
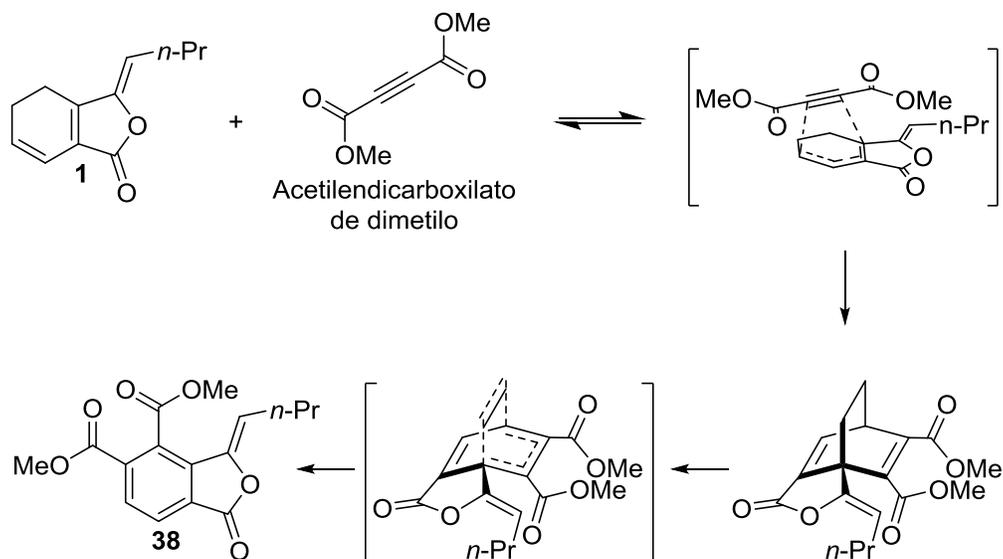


Figura 18. Fragmentos de la estructura del producto de **1** y ADDM deducidos por RMN ^1H y COSY.

Al ser unidos los fragmentos de la Figura 18 y complementar la información de los experimentos de RMN ^1H y RMN ^{13}C , se confirma la estructura de **38**.

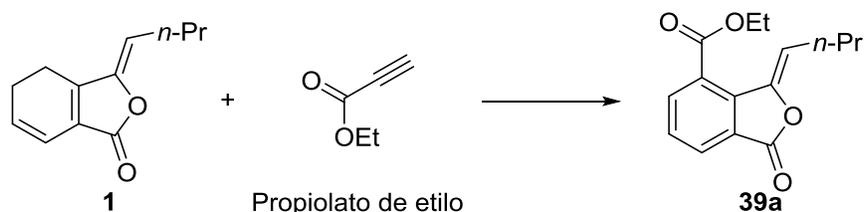
La formación de este producto (**38**) se explica porque la cicloadición ocurre, dando lugar a un cicloaducto similar al de las otras reacciones aquí descritas. No obstante, la diferencia es que el biciclo es un fragmento de biciclo[2,2,2]octa-2,5-dieno; es decir, tiene dos dobles enlaces. La reacción retro Diels-Alder puede ocurrir de dos maneras: para formar **38**, o bien, para eliminar etileno y formar un ciclo aromático. Esto último ocurre y se forma el producto, semejante a Z-butilidenftálida (**2**), con dos sustituyentes adicionales. El mecanismo descrito para la formación de **38** se ilustra en el Esquema 21.



Esquema 21. Mecanismo de reacción para la formación de **38**.

El rendimiento de esta reacción es bueno (61%) y eso se debe en gran medida a que la fuerza directriz de la reacción es la aromatización y la liberación de etileno, lo que termodinámicamente favorece la reacción. Sobre la cicloadición no se puede saber con certeza si es realmente reversible, aunque por la experiencia, se afirma que sí hay reacción retro Diels-Alder para obtener los reactivos. No obstante, la otra reacción retro Diels-Alder, para formar **38**, que sí se observa, es irreversible y aun cuando el equilibrio entre el cicloaducto y los reactivos (**1** y ADDM) esté muy desplazado hacia la formación de éstos, aquel reacciona rápidamente para formar **38**, más estable.

(h) Reacción con propiolato de etilo



Esquema 22. Reacción de **1** con propiolato de etilo

La reacción de **1** con propiolato de etilo procede en con microondas a 225°C. Esta reacción se lleva a cabo con buen rendimiento y también con alta regioselectividad para dar el producto **39a**.

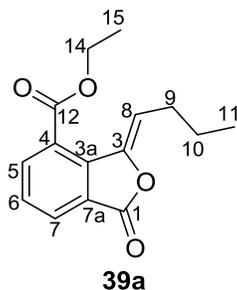


Figura 19. Numeración de átomos de **39a**.

La estructura de **39a** se confirma con el análisis del espectro de RMN ^1H .

En la zona donde aparecen los hidrógenos aromáticos, se encuentran tres señales. La más desplazada a campo bajo está en δ 8.23 (dd, $J = 7.7, 1.1$ Hz). Por su desplazamiento se puede deducir que se trata de H7, porque se refleja la desprotección de dos grupos: del carbonilo de la lactona en *orto* y el del éster, en *para*; además, la información que proporcionan las constantes es que en el anillo aromático hay dos hidrógenos, uno en posición relativa *orto* ($J = 7.7$ Hz) y otro en *para* ($J = 1.1$ Hz). La siguiente señal está en δ 8.03 y presenta la misma multiplicidad y constantes que la señal anterior. La tercera señal de hidrógeno aromático es el triplete en δ 7.52 ($J = 7.7$ Hz). Se puede deducir que esta señal es de H6, porque es el único que tiene dos hidrógenos en posición relativa *para* y puede acoplarse de esa forma con ambos. La señal en δ 8.03 es, por lo tanto, H5.

El hidrógeno vinílico H8 produce la señal triple en δ 6.84 con $J = 7.6$ Hz. Por la constante de acoplamiento, multiplicidad e integración se deduce que a los hidrógenos H9 les corresponde la señal cuádruple en δ 2.47, mismos que se acoplan con H10. La señal de los hidrógenos H10 es la ubicada en δ 1.54 porque integra para dos hidrógenos, tiene la misma constante que H9, y es un sextuplete,

debido al acoplamiento con los dos hidrógenos H9 y los del metilo terminal. Los hidrógenos H11 son los que producen la señal triple en δ 0.96 ($J = 7.6\text{Hz}$). Evidenciándose así la presencia de la cadena butilideno.

La señal cuádruple en δ 4.41 corresponde a un hidrógeno unido a carbono base de oxígeno, más concretamente al de un carboxilo. Por lo tanto esta señal es de H14. Su desdoblamiento indica que se encuentra unido a un metilo, cuyos hidrógenos H15 producen la señal triple en δ 1.41. Ambas señales tienen $J = 7.1$ Hz, lo que confirma la vecindad de los hidrógenos mencionados.

La regioselectividad de la reacción es muy alta. Únicamente se detecta y aísla uno de los dos posibles regioisómeros. A pesar de esta observación, no hay evidencia sobre la causa de esta selectividad, ya que, como se ha mencionado, en ocasiones las interacciones secundarias son responsables incluso de este fenómeno, y no las interacciones primarias.

(i) Comparación del tiempo y rendimiento de reacción del calentamiento con microondas contra el calentamiento convencional.

A continuación se efectúa una comparación del tiempo de reacción y rendimiento de las reacciones efectuadas en este trabajo con microondas, en relación con las temperaturas con calentamiento convencional.

Tabla 5. Comparación de tiempos y temperatura de reacción con calentamiento convencional y con microondas.

Producto	Rendimiento / Tiempo Convencional	Rendimiento / Tiempo Microondas
<i>rac-23</i>	59% (4a); 19% (4b) 4 días	63% (4a); 24% (4b) / 90 min
<i>rac-37</i>	51% / 48 h	47% / 30 min

38	57% / 48 h	62% / 24 min
39a	69% / 3 días	85% / 90 min

En cuanto al rendimiento de las reacciones, se observa que no hay aumento sustancial. Esto se debe, seguramente a la inestabilidad de **1**, porque aunque se llevaron a cabo las reacciones evitando el contacto con oxígeno, humedad y luz, lo cierto es que el calentamiento puede acelerar otras rutas de transformación de ese compuesto.

La similitud en los rendimientos sugiere justamente que ocurren otras reacciones laterales que también se aceleran, lo que se evidencia con el análisis en cromatografía en capa fina, en la que hay manchas inherentes a la transformación del compuesto **1**.

Corolario de lo anterior es que la reacción no procedió de forma más limpia, como se sugiere que generalmente ocurre.

La disminución del tiempo de reacción ocurre hasta a menos de 1%, en el caso del producto **38**, lo que significa una aceleración trascendente.

(j) Pruebas de actividad biológica

Se evaluó la actividad antiinflamatoria de los compuestos *rac-23a*, *rac-23b*, *rac-37* y **38** en el modelo de edema inducido con TPA. Ninguno de estos mostró un porcentaje significativo de inhibición de la inflamación con respecto al control. Los resultados obtenidos se encuentran contenidos en la Tabla 6.

Tabla 6. Resultados de evaluación de actividad antiinflamatoria de algunos derivados semisintéticos de **1**.

Compuesto	Inhibición
Control	-
<i>rac-23a</i>	14.41%
<i>rac-23b</i>	24.17%
<i>rac-37</i>	17.07%
38	12.64%

CONCLUSIONES

El método de purificación de **1**, llevado a cabo en el presente trabajo es adecuado dada la alta pureza con que permite la obtención.

El uso de microondas permitió acelerar las reacciones de **1** para producir los productos *rac-4*, *rac-23a*, *rac-23b*, *rac-37*, **38** y **39a**, aunque el rendimiento fue esencialmente similar, muy probablemente debido a la inestabilidad de **1**, que provoca el consumo de este compuesto. Pese a este inconveniente, la metodología seguida en este trabajo para la síntesis de los referidos productos, es una fuente accesible de los mismos, dada la rapidez, en comparación con el método de calentamiento convencional.

La baja proporción y dificultad en que se producen los dímeros *rac-3* y *rac-4*, en las condiciones en las que se intentó la dimerización de **1**, es indicativo de que las ftálicas diméricas son de origen natural. No es óbice a esta afirmación el hecho de la formación espontánea de ambos dímeros en atmósfera inerte a baja temperatura en una muestra de **1** almacenada diez años, debido a que el largo tiempo en que ocurre esa transformación no es comparable con el que se lleva a cabo la purificación y aislamiento de los metabolitos secundarios de *L. porteri*.

SECCIÓN EXPERIMENTAL

Generales

Z-ligustílida (**1**) se obtuvo de un extracto de acetona de *Ligusticum porteri*, que fue purificado por cromatografías en columna sucesivas. Las reacciones con microondas se llevaron a cabo en un reactor Anton Paar Monowave 300, en viales de 10 mL, utilizando el método de potencia variable “*Heat as fast as posible*”. A menos que se indique lo contrario, las columnas para purificar la materia prima y los crudos de reacción fueron empacadas con sílice de malla 230-400. Se utilizaron cromatofolios analíticos Merck 60 F₂₅₄ para el monitoreo de columna; UV y sulfato cérico amoniacal para revelar las placas de ccf analíticas. Los puntos de fusión fueron determinados con un aparato Fisher-Johns y no están corregidos. Los espectros fueron obtenidos en equipos Varian Inova a 500 MHz, Bruker Avance III a 400 MHz, VarianUnity 300 a 300MHz, Jeol a 300 MHz, y con CDCl₃ como disolvente. Los valores de desplazamientos químicos se encuentran en ppm y referidos a TMS o al disolvente.

Las raíces de *Ligusticum porteri*, fuente natural para la obtención de la materia prima, fueron adquiridas en el mercado de Sonora, México. La identificación fue confirmada por comparación morfológica con especímenes identificados con anterioridad por el Dr. Robert Bye y la M. en C. Edelmira Linares del Jardín Botánico del Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México (Número de registro: R. B. & E. L. 14148).

El material vegetal (9.1 kg) fue pulverizado y se maceró con acetona (3 × 48 h) a temperatura ambiente. El disolvente se evaporó a presión reducida obteniéndose un residuo (768.9 g), que fue adsorbido en gel de sílice (proporción 1:1). La columna fue empacada con gel de sílice (malla 230-400), y se eluyó con mezclas de Hex/AcOEt de polaridad creciente.

Purificación de 1. Previo a utilizarlo como reactivo, el extracto prefraccionado conteniendo **1** se purificó en columna abierta, con sílice de malla 230-400, empacada en húmedo con Hex/AcOEt 98.5:1.5, seguida de una extracción en la que 2 mL del crudo concentrado de las fracciones en las que se detectó la presencia de **1**, se extrajo con 50 mL de MeOH/hielo (1:1), formándose una suspensión blanca con gotas de aceite amarillo. El aceite se separó de la suspensión fría mediante un embudo de separación (el aceite queda impregnado en la pared del embudo y en la superficie de la suspensión). Al aceite remanente nuevamente se le adicionó la mezcla de MeOH-hielo (1:1) y se repitió la separación (3 veces). La suspensión obtenida después de las separaciones, se extrajo con AcOEt (3 × 50 mL). La fase orgánica se secó con Na₂SO₄ y se evaporó el disolvente con rotavapor, obteniéndose un aceite incoloro. RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ 6.29 (dt, *J* = 9.5, 2.0 Hz, 1H, H7), 6.00 (dt, *J* = 10.0, 4.0 Hz, 1H,), 5.21 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H), 2.59 (td, *J* = 10.0, 1.0 Hz, 1H), 2.49 – 2.43 (m, 1H), 2.38 (c, *J* = 7.5 Hz, 1H), 1.50 (hex, *J* = 7.5 Hz, 1H).

Cuantificación de 1, *rac*-3 y *rac*-4 en muestra almacenada de **1**. El análisis de la muestra de **1** se llevó a cabo por triplicado conforme al procedimiento descrito en la Referencia 7, con modificaciones. Se llevó a cabo en un espectrómetro Jeol a 300 MHz; el tiempo de relajación fue de 3 s, con 20 *scans* y se usó CDCl₃ como disolvente.

Reacciones

Dimerización de *Z*-ligustílida. Se colocaron 80 mg (0.42 mmol) de **1** en un vial de 10 mL (Anton Paar), para reaccionar en el reactor de microondas a 180°C por 45 min. El crudo de reacción fue analizado por RMN ¹H. Se obtiene solamente *rac*-**4** (30%; rendimiento calculado por RMN)

rac-3: (500 MHz, CDCl₃) δ 7.51 (d, $J = 7.0$ Hz, 1H, H7'), 6.17 (dt, $J = 9.5, 2.0$ Hz, 1H, H7), 5.92 (dt, $J = 9.5, 4.5$ Hz, 1H, H6), 4.62 (dd, $J = 8.5, 6.5$ Hz, 1H), 3.11 (m, 1H, H6'), 2.50 (m, 1H, H4a'), 2.29 (m, 1H, H5), 2.17 (m, 2H, H4a, H9a'), 2.06 (m, 2H, H4b, H5a'), 1.98 (m, 1H, H9b'), 1.67 (m, 1H, H9b'), 1.67 (m, 1H, H8), 1.47 (m, 2H, H9a, H10a), 1.29 (m, 5H, H4b', H5b', H9b, H10'), 1.13 (m, 1H, H10b), 0.89 (t, 3H, $J = 7.0$ Hz, H11), 0.82 (t, 3H, $J = 7.0$ Hz, H11').

rac-3: (500 MHz, CDCl₃) δ 7.36 (d, 1H, $J = 7.0$ Hz, H7'), 5.07 (t, 1H, $J = 7.5$ Hz, H8), 5.00 (t, 1H, $J = 7.5$ Hz, H6), 3.26 (d, 1H, $J = 8.5$ Hz), 2.97 (m, 1H, H6'), 2.55 (m, 1H, H6), 2.29 (c, 2H, $J = 7.5$ Hz, H9), 2.17 (c, 2H, $J = 7.5$ Hz, H9), 2.06 (m, 3H, H4, H4a'), 1.90 (m, 3H, H5, H4b'), 1.45 (c, 2H, $J = 7.4$ Hz, H10), 1.44 (c, 2H, $J = 7.4$ Hz, H10'), 1.40 (m, 2H, H5'), 0.93 (t, 3H, $J = 7.0$ Hz, H11), 0.92 (t, 2H, $J = 7.0$ Hz, H11')

Preparación de *rac-23a* y *rac-23b*. Se disolvieron 115 mg (0.60 mmol) de **1** en 5 mL de tolueno y se adicionaron 172.3 mg (1.75 mmol) de anhídrido maleico. La mezcla se calentó en microondas a 225°C por 90 min. El disolvente se evaporó con rotavapor y el crudo de reacción se purificó por cromatografía en columna abierta, eluyendo con Hex/AcOEt (8:2-1:1). Rendimiento: 73%. Fueron obtenidos 40.5 mg (0.14 mmol) de *rac-23a* (23%, $P_f = 134-136^\circ\text{C}$, recristalizado de Hex/AcOEt) y 80.1 mg (0.28 mmol) de *rac-23b* (46%; $P_f = 161-164^\circ\text{C}$, recristalizado de Hex/AcOEt). El rendimiento calculado por RMN ¹H es de 87%, (relación *rac-23a/rac-23b*, 1:2.68).

rac-23a: RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 7.43 (d, $J = 6.7$ Hz, 1H, H7), 5.44 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H, H8), 3.57, m, 1H, H6), 3.18 (dd, $J = 10.6, 2.2$ Hz, 1H, H1'), 3.13 (ddd, $J = 10.6, 3.2, 1.9$ Hz, 1H, H5'), 2.24 (c, $J = 7.3$ Hz, 2H, H9), 2.16-2.02 (m, 1H, H4), 1.89-1.78 (m, 1H, H5), 1.57-1.40 (m, 4H, H4, H5 y H10), 0.94 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H, H11).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ 170.3 (C4'), 169.7 (C2'), 163.3 (C1), 149.2 (C3), 140.1 (C7), 136.4 (C7a), 110.4 (C8), 49.1 (C1'), 46.6 (C5'), 44.0 (C3a), 34.2 (C6), 27.8 (C4), 27.5 (C9), 22.5 (C10), 20.5 (C5), 13.8 (C11).

rac-23b: RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 7.27 (d, $J = 6.3$ Hz, 1H, H7), 4.92 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H, H8), 3.82-3.60 (m, 1H, H6), 3.35-3.30 (m, 2H, H5', H1'), 2.42-2.12 (m, 2H, H9), 2.01-1.78 (m, 2H, H4-a, H5-a), 1.56-1.43 (m, 4H, H4-b, H5-b, H10), 0.97 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H, H11).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ 170.2 (C4), 167.9 (C2), 162.3 (C1), 148.5 (C3), 138.5 (C7), 133.8 (C7a), 107.7 (C8), 47.7 (C1'), 44.3 (C3a), 44.1 (C5'), 34.7 (C6), 29.5 (C9), 27.0 (C4), 22.9 (C10), 22.3 (C5), 13.5 (C11).

Preparación de *rac-37*. Se disolvieron 132 mg (0.69 mmol) de **1** en 5 mL de alcohol alílico. Posteriormente, se añadieron 193.8 mg (1.12 mmol) de ácido *p*-toluensulfónico. La disolución se calentó en microondas a 225°C por 30 min. El exceso de alcohol alílico fue evaporado en rotavapor y la reacción se neutralizó con disolución saturada de NaHCO_3 . Se extrajo con Et_2O (3 \times 15mL). La fase orgánica se secó con una disolución saturada de NaCl y posteriormente con Na_2SO_4 . El disolvente se evaporó y el crudo fue purificado por cromatografía en columna abierta eluida con Hex/AcOEt (8:2). Se obtiene un sólido blanco ($P_f = 96-98^\circ\text{C}$, recristalizado de Hex/AcOEt) de *rac-37*, 82 mg (0.33 mmol, 47%).

RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) δ 7.35 (d, $J = 6.4$ Hz, 1H, H7), 3.95 (dd, $J = 8.9, 6.9$ Hz, 1H, H14-a), 3.04 (dd, $J = 11.4, 8.8$ Hz, 1H, H14-b), 3.04-3.01 (m, 1H, H6), 2.28 (dddd, $J = 11.4, 9.2, 6.9, 6.0$ Hz, 1H, H13), 1.94-1.78 (m, 4H, H5-a, H4-a, H9), 1.73-1.51 (m, 4H, H5-b, H8), 1.43-1.33 (m, 3H, H10, H12-a), 1.08 (dddd, $J = 12.8, 6.0, 2.2$ Hz, 1H, H12-b), 0.93 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H, H11).

RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) δ 166.7 (C1), 142.6 (C7), 134.8 (C7a), 115.6 (C3), 72.3 (C14), 54.5 (C3a), 42.3 (C8), 34.7 (C6), 33.9 (C9), 30.4 (C4), 26.7 (C12), 25.2 (C13), 23.1 (C10), 22.88 (C5), 14.1 (C11).

Preparación de 38. A una disolución de 75 mg (0.39 mmol) de **1** en 5 mL de C₆H₆, se le adicionaron 0.12 mL de acetilendicarboxilato de dimetilo. La mezcla se calentó en microondas a 180°C por 12 min; la reacción se enfrió, se adicionó un exceso de acetilendicarboxilato de dimetilo y se calentó nuevamente a 180°C por 12 min. El disolvente se evaporó con rotavapor y el crudo se purificó por cromatografía en columna abierta Hex-AcOEt (100:0-92:8). Fueron obtenidos 72.7 mg (0.24 mmol, 61%) de un sólido blanco, **38**. P_f = 88-89°C, recristalizado de CHCl₃.

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 8.14 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, H7), 8.01 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, H6), 5.67 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H, H8), 4.02 (s, 3H, H14), 3.96 (s, 3H, H17), 2.46 (c, *J* = 7.5 Hz, 2H, H9), 1.55 (hex, *J* = 7.5 Hz, 2H, H10), 0.98 (t, *J* = 7.5 Hz, 3H, H11).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ 167.5 (C1), 165.2 (C12), 165.1 (C15), 143.7 (C3a), 135.6 (C3), 133.2 (C5), 130.7 (C6), 129.0 (C7a), 128.6 (C4), 126.5 (C7), 115.0 (C8), 53.4 (C17), 53.32 (C14), 28.5 (C9), 22.5 (C10), 13.9 (C11).

Preparación de 39a. Se disolvieron 102 mg (0.54 mmol) de **1** en 5 mL de tolueno y se le adicionaron 0.6 mL (3.7 mmol) de propiolato de etilo. Esta mezcla se calentó en el reactor de microondas a 225°C por 90 min. El disolvente se destiló y el residuo se purificó por cromatografía en columna presurizada (Sepacore) eluyendo con Hex/AcOEt (100:0-98:2). Se obtuvieron 103 mg (0.40 mmol, 74%) de un sólido blanco, **39a**. P_f = 62-64°C, recristalizado de Hex/AcOEt.

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 8.26 (dd, *J* = 7.5, 1.0 Hz, 1H, H7), 8.08 (dd, *J* = 7.5, 1.0 Hz, 1H, H5), 7.56 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H, H6), 6.87 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H, H8), 4.44 (c, *J* = 7.0 Hz, 2H, H14), 2.51 (c, *J* = 7.5 Hz, 2H, H9), 1.58 (hex, *J* = 7.5 Hz, 2H, H10), 1.44 (t, *J* = 7.0 Hz, 3H, H15), 1.00 (t, *J* = 7.5 Hz, 3H, H11).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ 166.5 (C1), 165.7 (C12), 144.7 (C3a), 137.8 (C3), 136.9 (C6), 129.3 (C7), 128.8 (C5), 127.0 (C7a), 126.3 (C4), 119.7 (C8), 62.0 (C14), 29.0 (C9), 22.6 (C10), 14.4 (C15), 14.1 (C11).

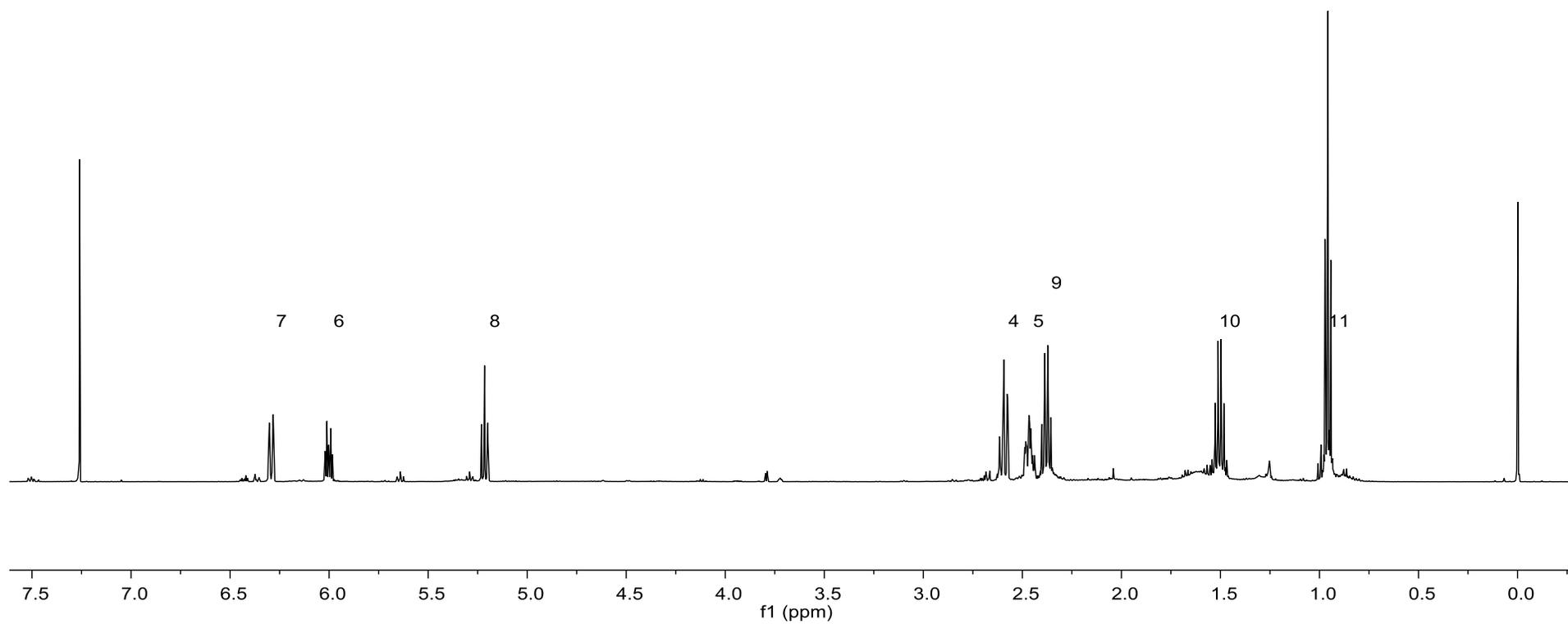
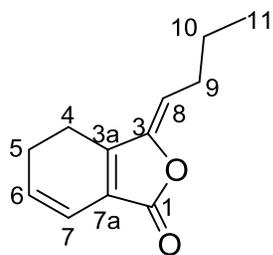
REFERENCIAS

1. Fabricant, D.S.; Farnsworth, N. R. *Environ. Health Perspect. Suppl.* **2001**, *109*, 69-75.
2. Ikan, R. Ed. *Selected Topics in the Chemistry of Natural Products*; World Scientific Publishing: Londres, 2008; 604 pp.
3. Appelt, G. D. *J. Ethnopharmacol.* **1985**, *1985*, 51-55.
4. Bye, R. A. *Econ. Bot.* **1986**, *40*, 103-124.
5. Bye, R. A.; Linares, E. *J. Ethnobiol.* **1986**, *6*, 289-306
6. Linares, E.; Bye, R. A. *J. Ethnopharmacol.* **1987**, *19*, 153-198
7. Delgado, G.; Reza-Garduño, R. G.; Rios, Y. M.; del Rio, F. *Planta Med.* **1992**, *58*, 570-571.
8. León, A.; Chávez, M. I.; Delgado, G. *Magn. Reson. Chem.* **2011**, *49*, 469-476.
9. Gijbels, M. J. M.; Scheffer, J. J. C.; Baerheim-Svendson, A. *Riv. Ital. E. P. P. O. S.* **1979**, *7*, 335-341.
10. Pushan, W.; Xuanliang, G.; Yixiong, W; Fukumaya, Y.; Mira, I.; Sugawara, M. *Phytochemistry* **1984**, *23*, 2033-2038.
11. Kobayashi, M.; Mitsunashi, H. *Chem. Pharm. Bull.* **1987**, *35*, 4789-4782.
12. Or, T. C. T.; Yang, C. L. H.; Law, A. H. Y.; Li, J. C. B.; Lau, A. S. Y.; *Neuropharmacology* **2011**, *60*, 829-831.
13. Lin, L.-Z.; He, X.-G.; Lian, L.-Z.; King, W.; Elliott, J. *J. Chromatogr. A* **1998**, *810*, 71-79.
14. Mitsunashi, H.; Nagai, U.; Muramatsu, T.; Tashiro, H. *Chem. Pharm. Bull.* **1960**, *8*, 243-245.
15. MacLeod, G.; Ames, J. M. *Phytochemistry* **1989**, *28*, 1817-1824.
16. Liang, M.-J.; He, L.-C.; Yang, G.-D. *Life Sci.* **2005**, *78*, 128-133.
17. Beck, J. J.; Chou, S.-C. *J. Nat. Prod.* **2007**, *70*, 891-900.
18. León, A.; Toscano, R. A.; Tortoriello, J.; Delgado, G. *Nat. Prod. Res.* **2011**, *25*, 1234-1242.
19. Cui, F.; Feng, L.; Hu, J. *Drug Dev. Ind. Pharm.* **2006**, *32*, 747-755.
20. Li, S.-L.; Ru, Y.; Tam, Y.-K.; Lin, G. *Chem. Pharm. Bull.* **2007**, *55*, 140-144.

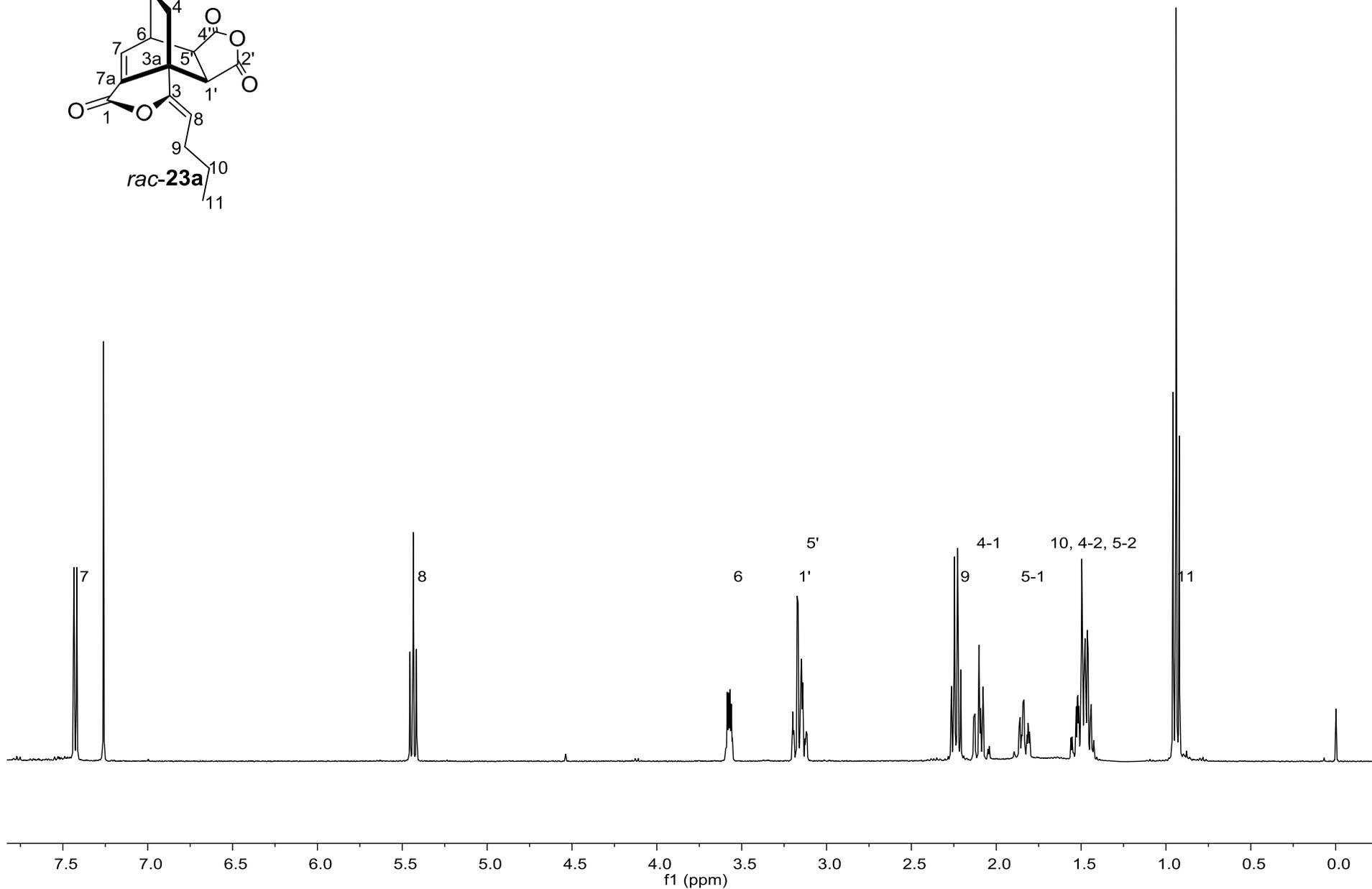
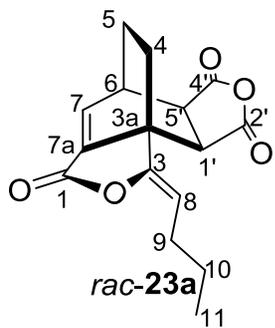
-
21. Schinkovitz, A.; Pro, S. M.; Main, M.; Chen, S.-N.; Jaki, B. U.; Lankin, D. C.; Pauli, G. F. *J. Nat. Prod.* **2008**, *71*, 1604-1611.
 22. Mitsunishi, H.; Nagai, U. *Tetrahedron* **1963**, *19*, 1277-1283.
 23. Beck, J. J.; Stermitz, F. R. *J. Nat. Prod.* **1995**, *58*, 1047-1055.
 24. Ogawa, Y.; Mori, Y.; Maruno, M.; Wakamatsu, T. *Heterocycles* **1997**, *45*, 1869-1872.
 25. Rios, M. Y.; Delgado, G.; Toscano, R. A. *Tetrahedron* **1998**, *54*, 3355 - 3366.
 26. Rios, M. Y.; Delgado, G. *Rev. Soc. Quim. Mex.* **1999**, *43*, 127-132.
 27. Quiroz-García, B.; Figueroa, R.; Cogordan, J. A.; Delgado, G. *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 3003-3006.
 28. Lager, E.; Sundin, A.; Toscano, R. A.; Delgado, G.; Sterner, O. *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 4215-4218.
 29. Li, S.; Wang, Z.; Fang, X, Li, Y. *Synth. Commun.* **1993**, *23*, 2909-2913.
 30. Wang, C. Pharmaceutical Studies on Ligustilide. Tesis de doctorado, Universidad Politécnica de Hong Kong, China, 2007.
 31. Fleming, I. Thermal Pericyclic Reactions. En *Molecular Orbitals and Organic Chemical Reactions*; John Wiley and Sons: West Sussex, 2010; pp. 253-368.
 32. Clayden, J.; Greeves, N.; Warren, S.; Wothers, P. Pericyclic Reactions 1: cycloadditions. En *Organic Chemistry*; Oxford University Press: Nueva York, 2001; pp. 905-942.
 33. Carey, F. A.; Sundberg, R. J. Concerted Pericyclic Reactions. En *Advanced Organic Chemistry*, 5a. ed.; Springer: Nueva York, 2007; Part A: Structure and Mechanisms, pp. 833- 964.
 34. Hayes, B.L *Microwave Synthesis: Chemistry at the Speed of Light*; CEM Publishing: USA.
 35. Lidstrom, P.; Tierney, J.; Wathey, B.; Westman, J. *Tetrahedron* **2001**, *57*, 9225-9283.
 36. Rideout, D.C.; Breslow, R. *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 7816-7817.

Apéndice

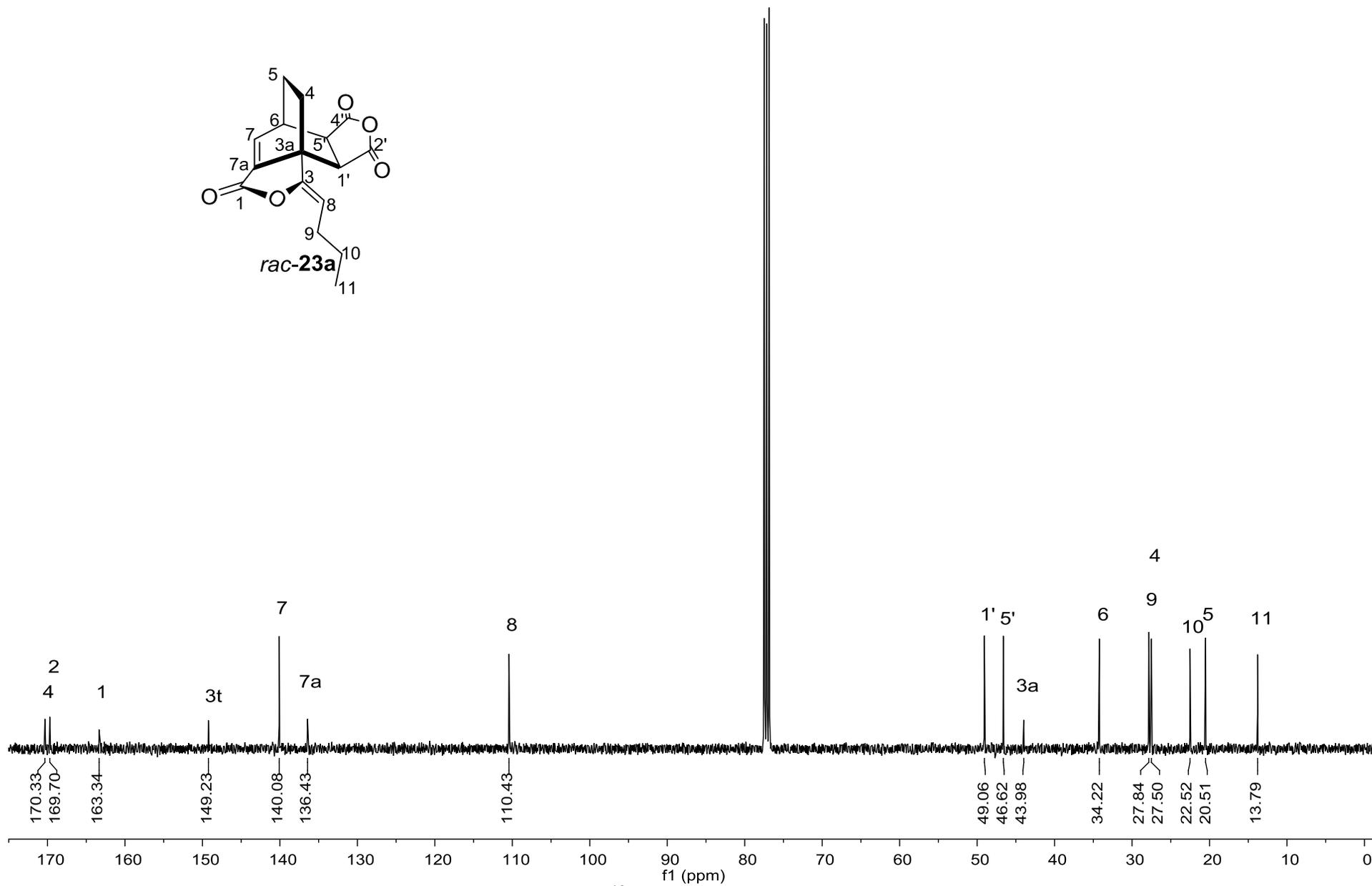
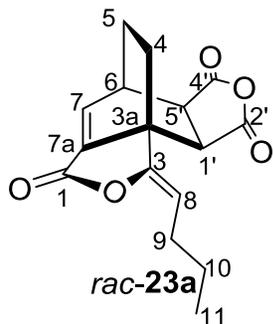
Espectros



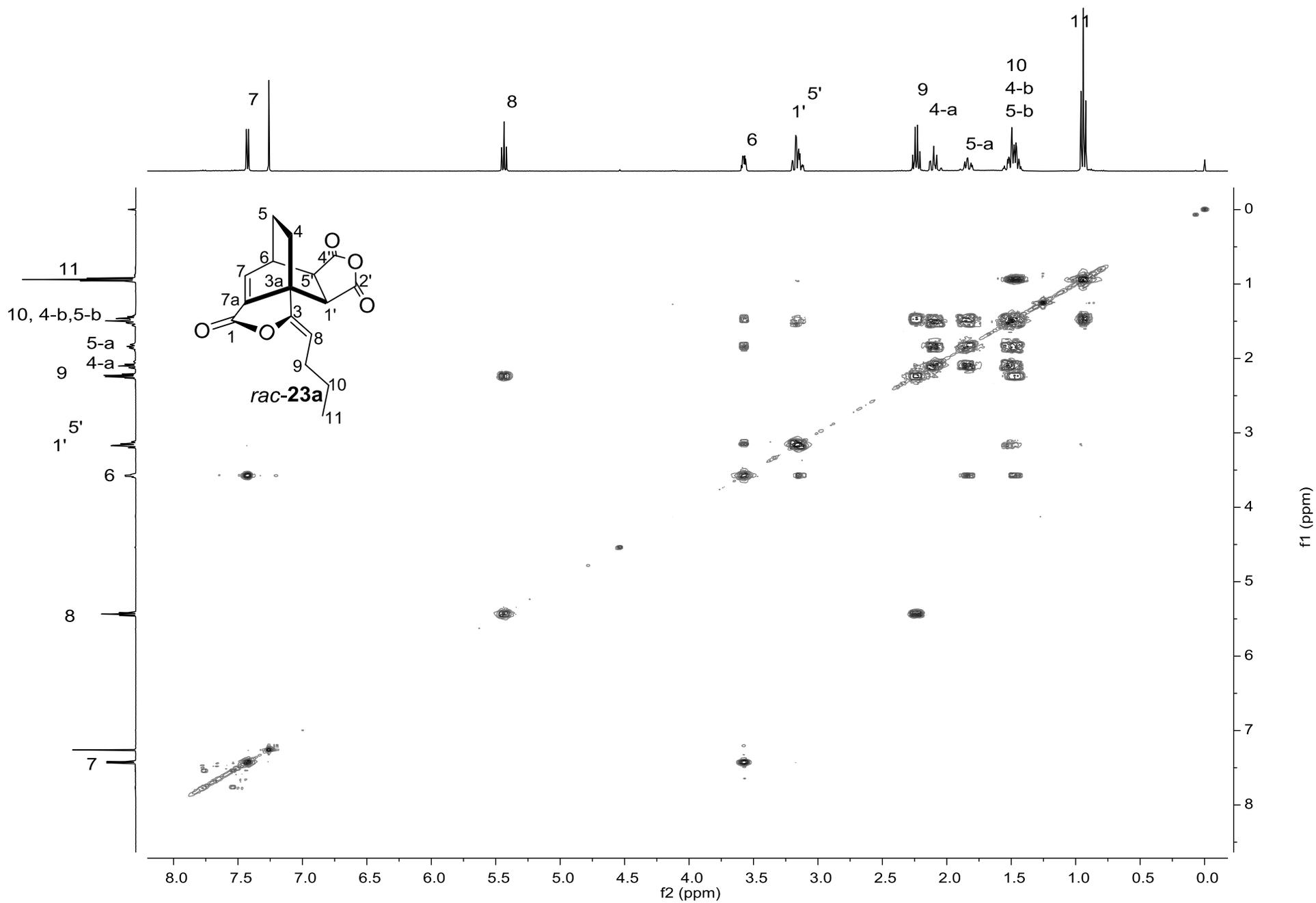
Espectro 1. RMN-¹H (500 MHz, CDCl₃) de 1.



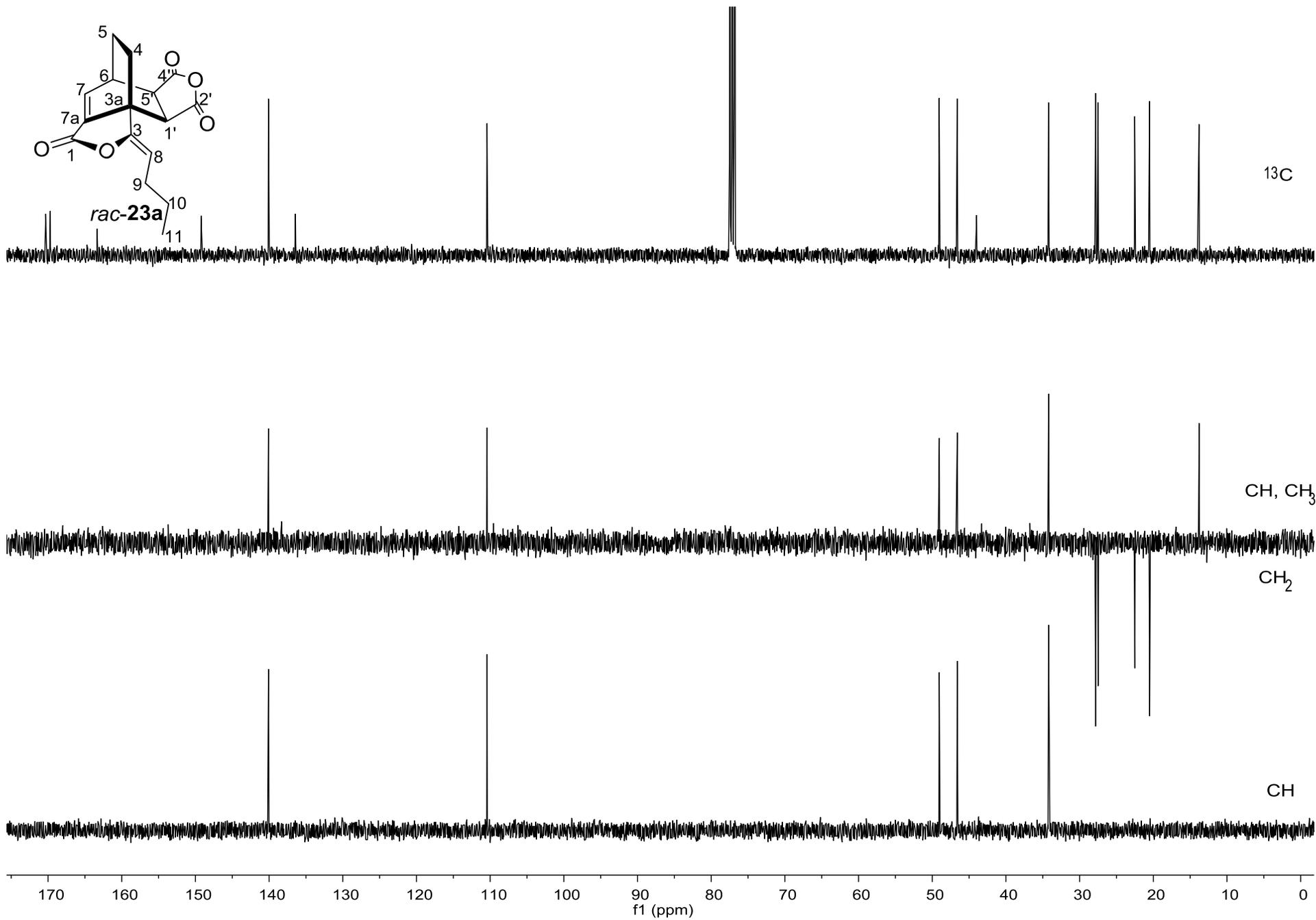
Espectro 2. RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃) de *rac-23a*.



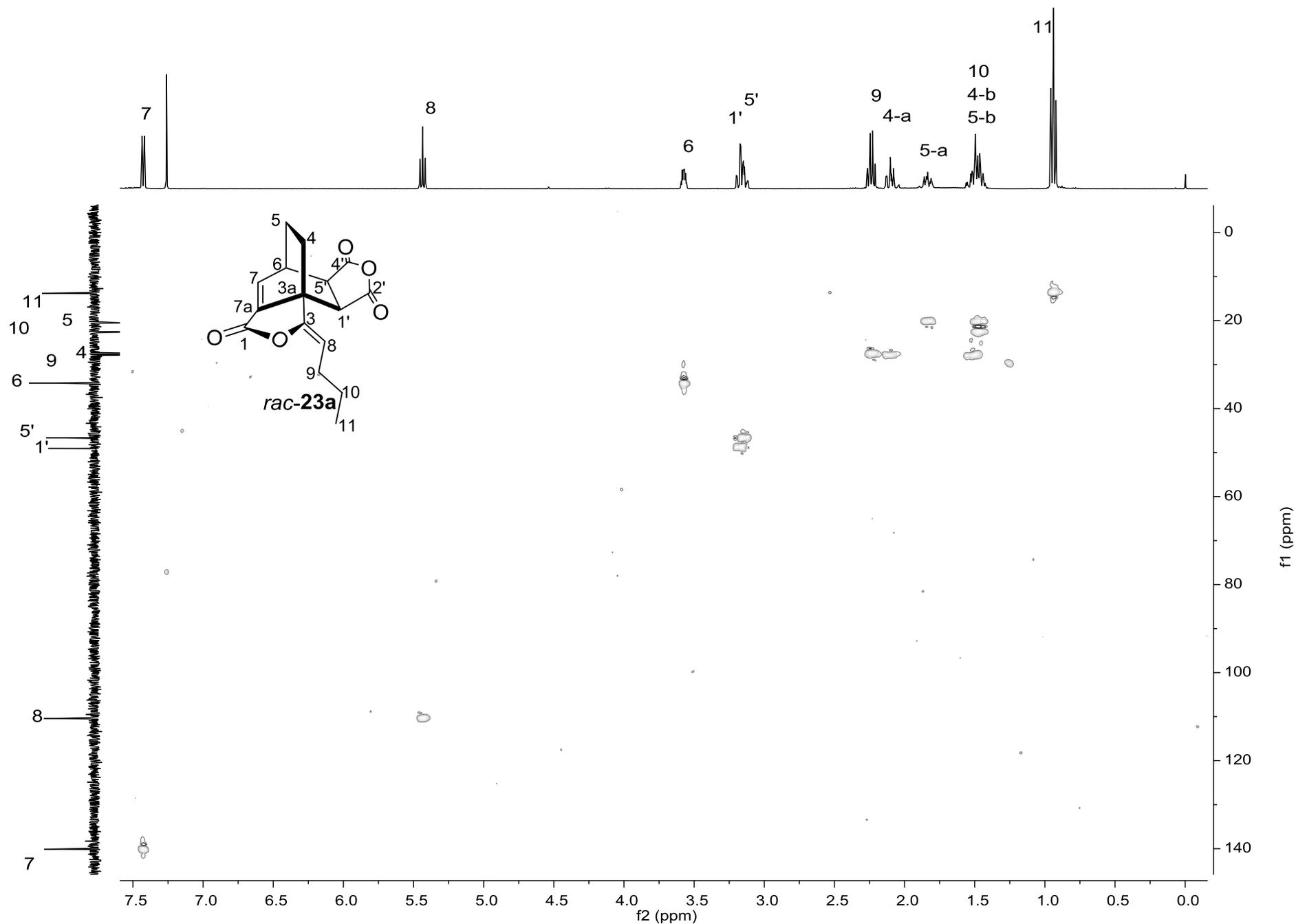
Espectro 3. RMN-¹³C (100 MHz, CDCl₃) de *rac-23a*.



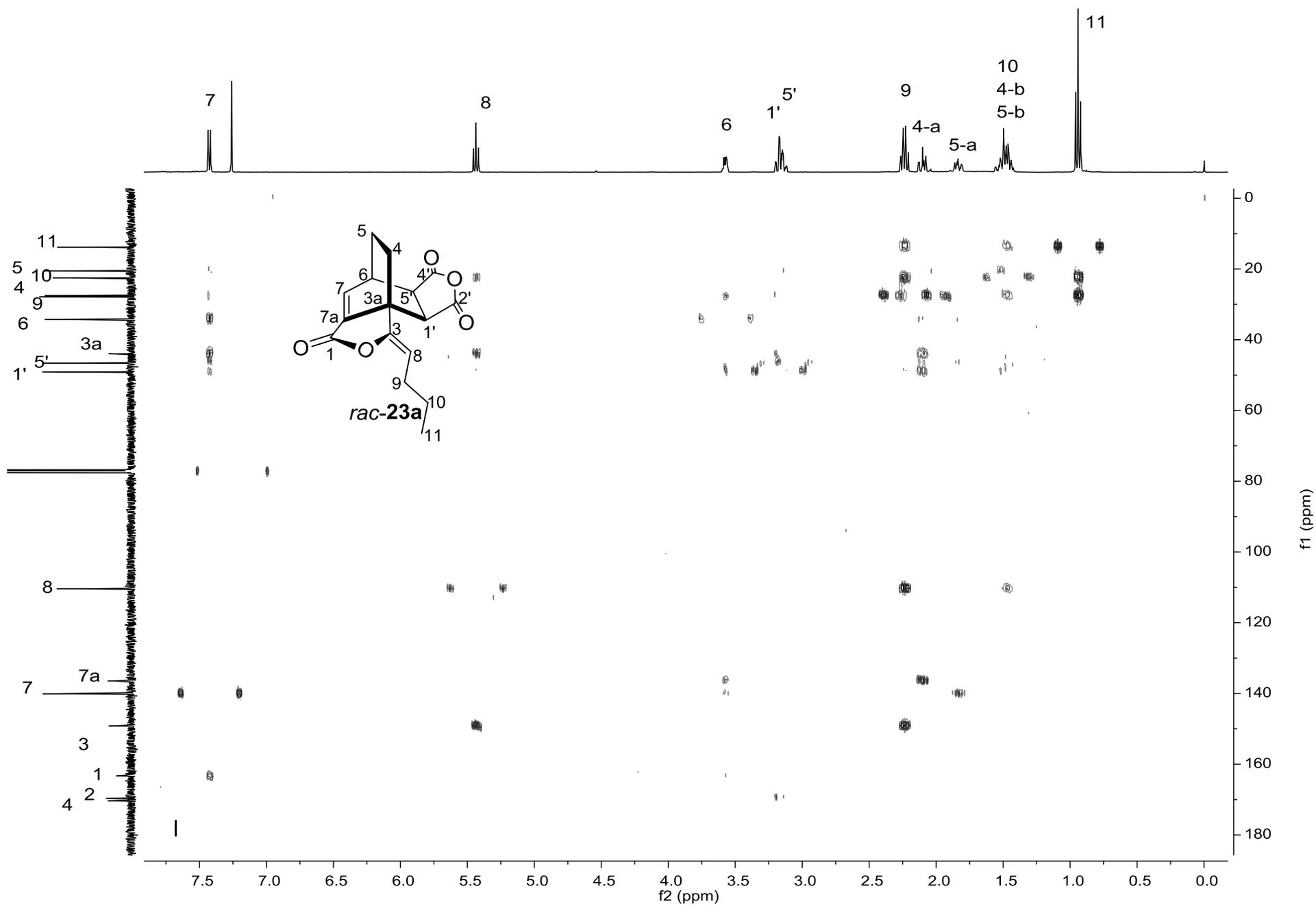
Espectro 4. COSY (400 MHz, CDCl₃) de *rac-23a*.



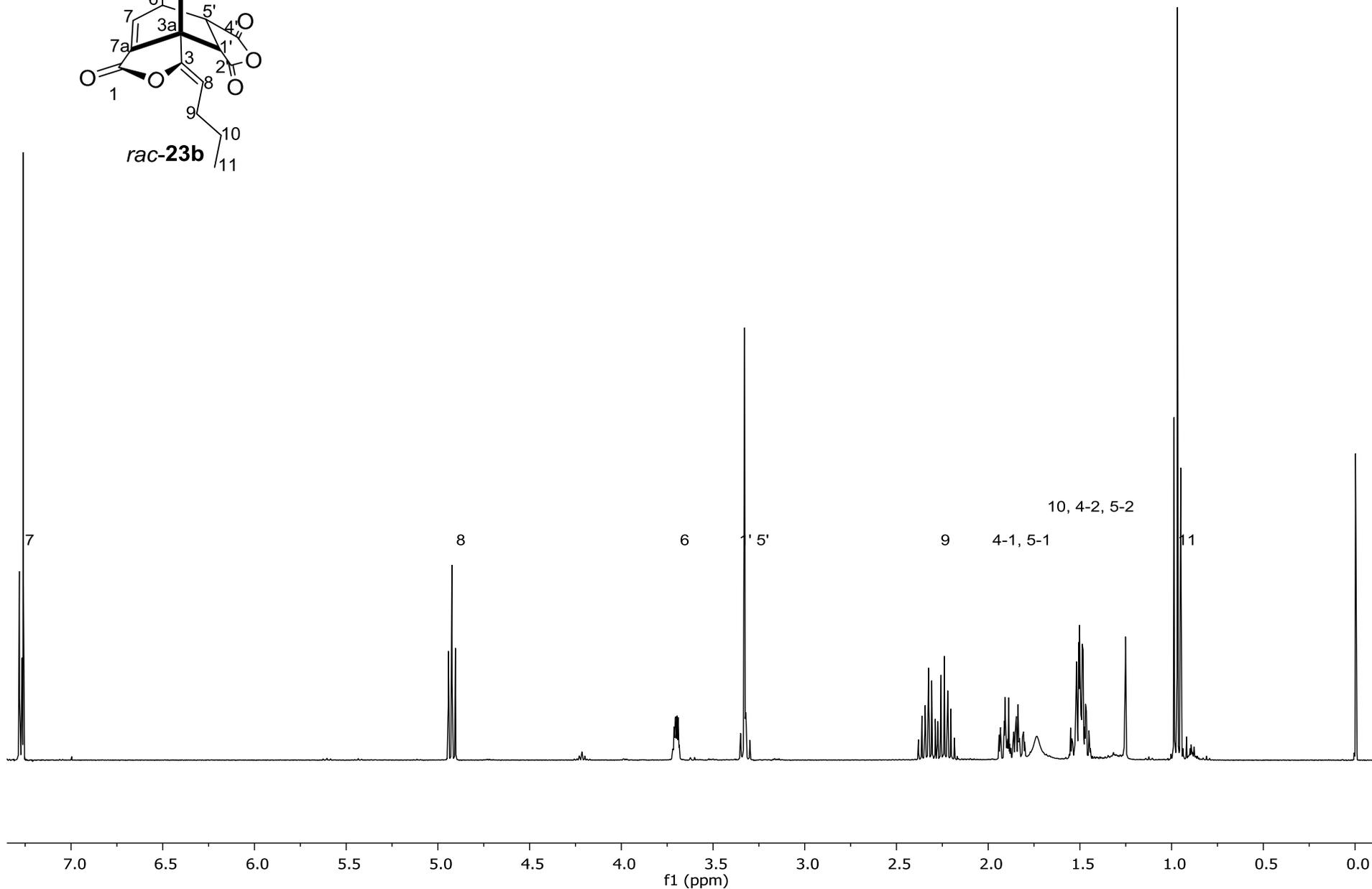
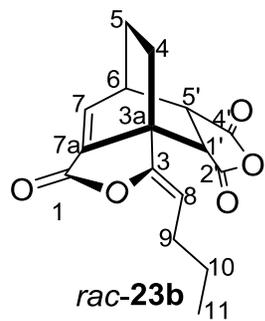
Espectro 5. Apilación RMN- ^{13}C , DEPT-135 y DEPT-90 (100 MHz, CDCl_3) de *rac-23a*.



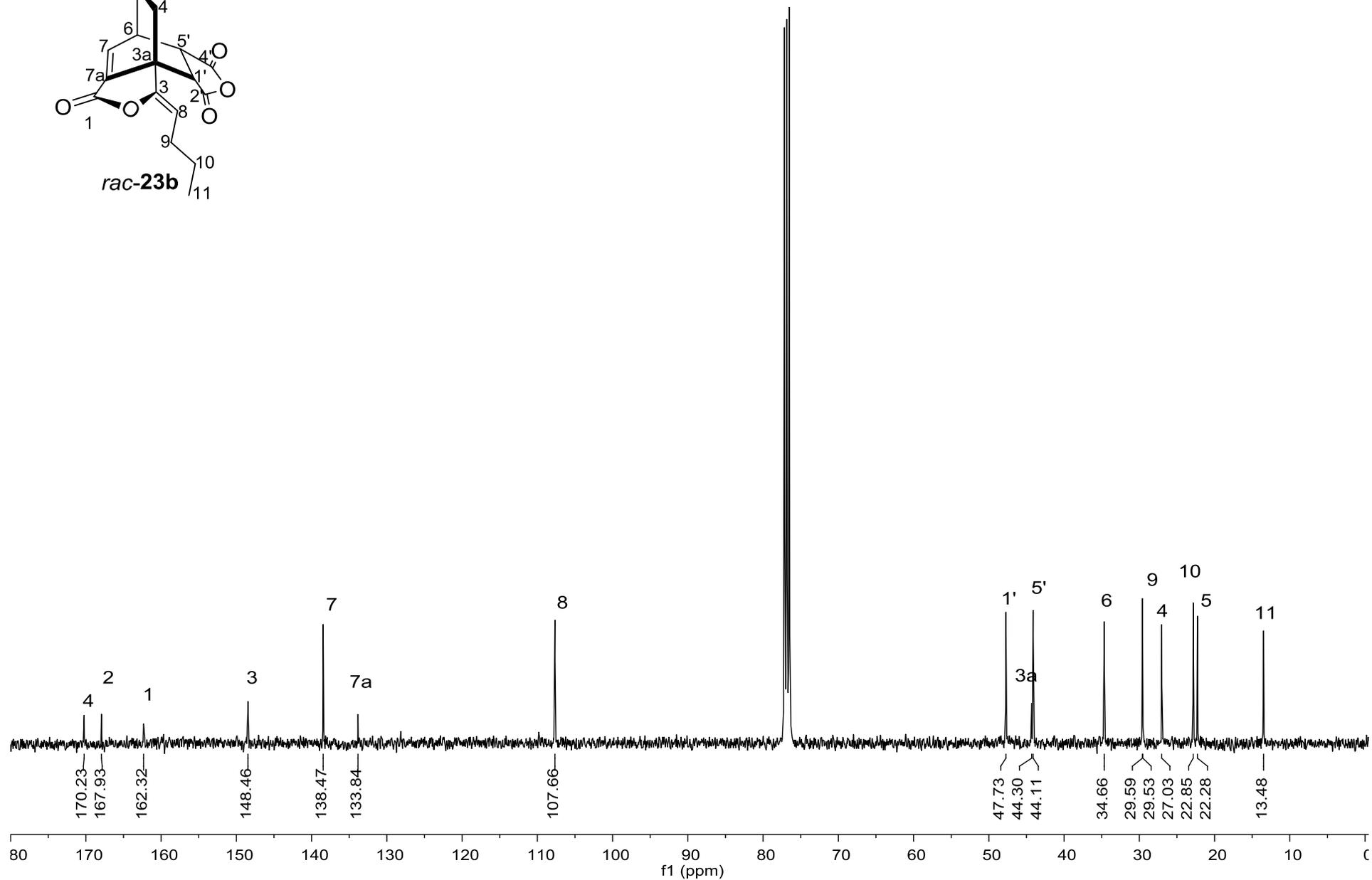
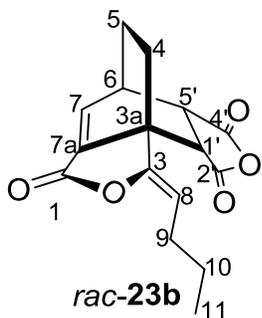
Espectro 6. HSQC (400 MHz, CDCl_3) de *rac-23a*.



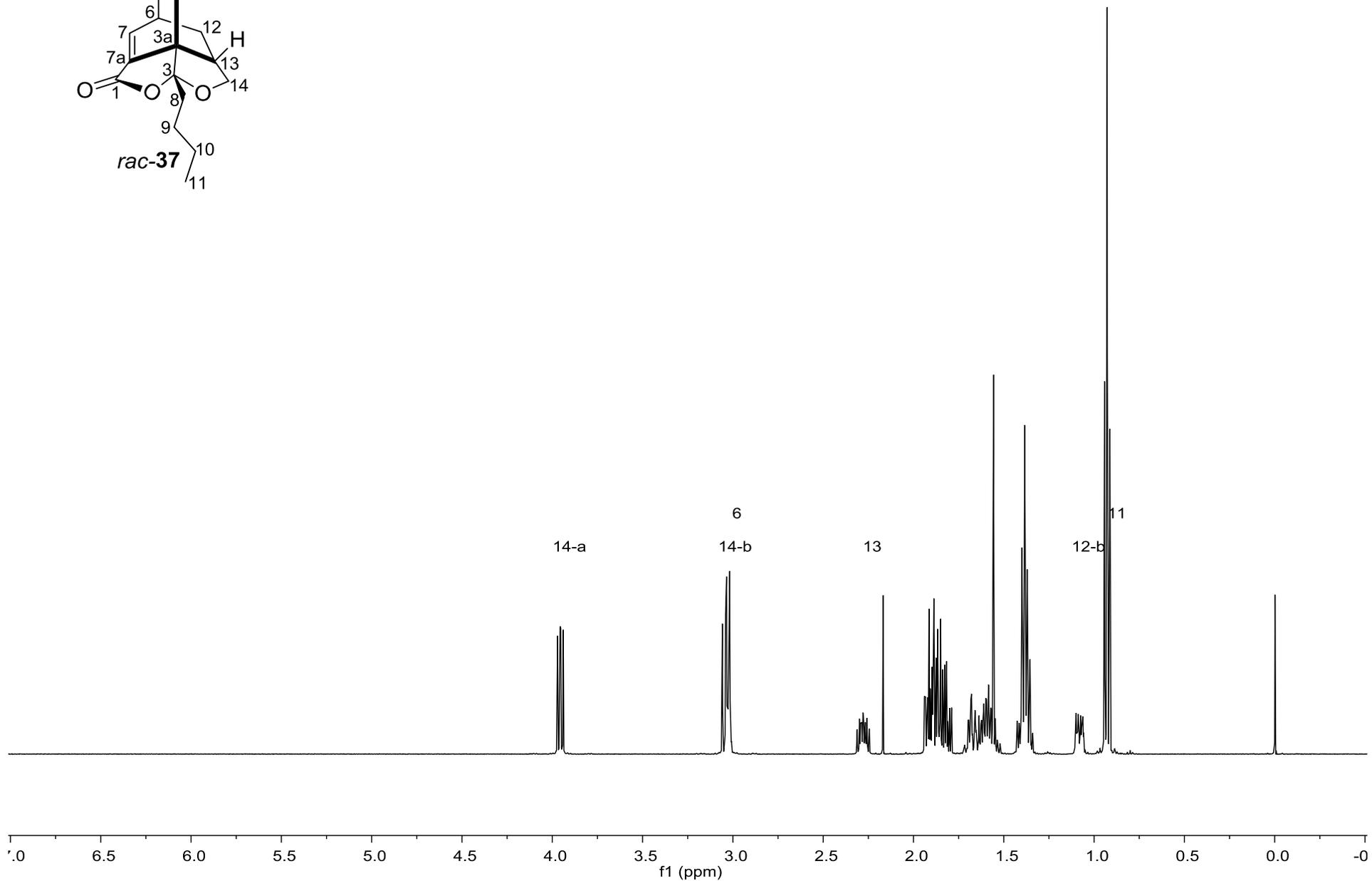
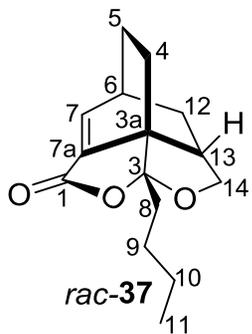
Espectro 7. HMBC (400 MHz, CDCl₃) de *rac-23a*.



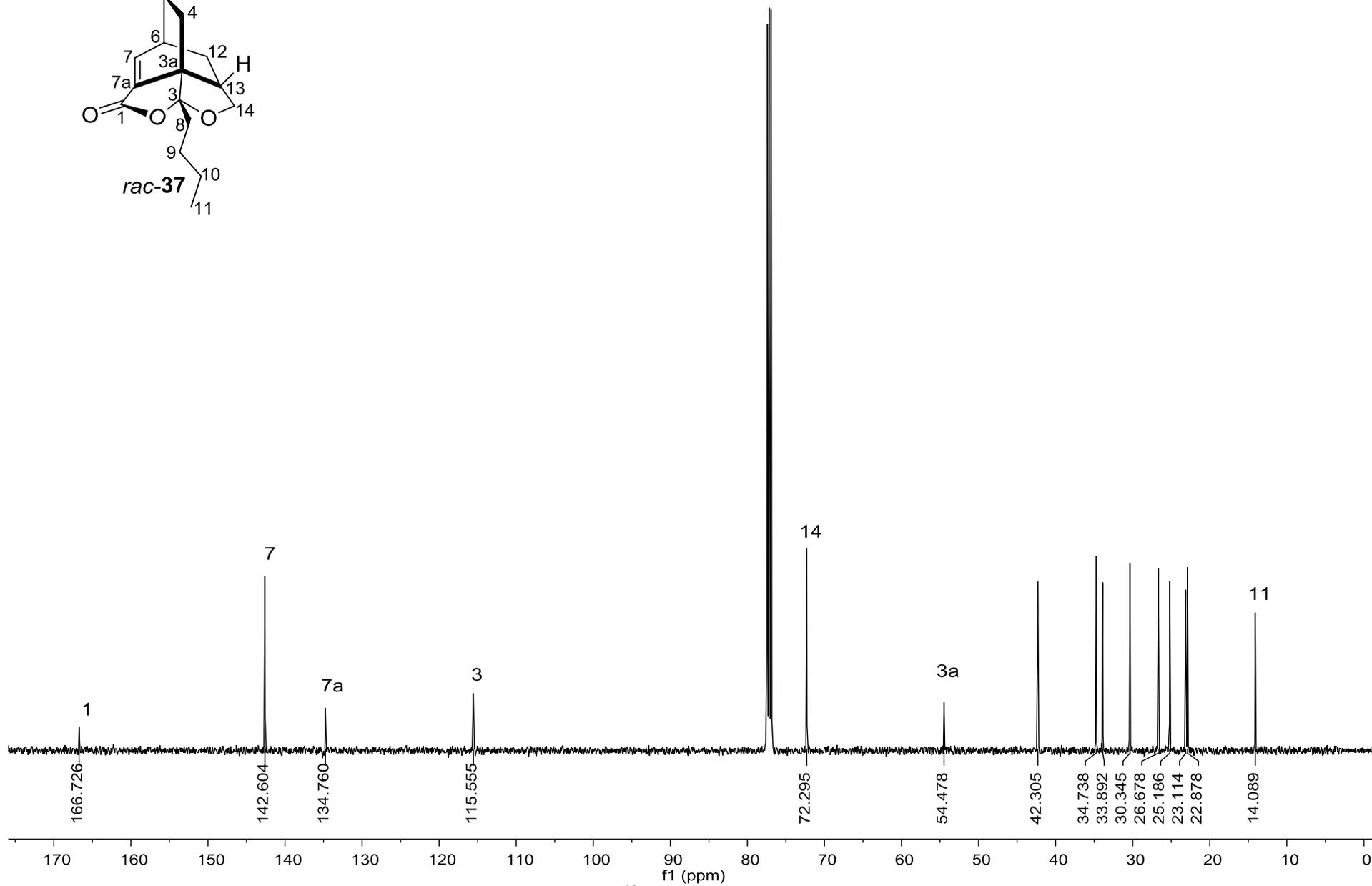
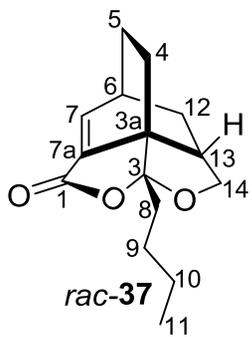
Espectro 8. RMN-¹H (500 MHz, CDCl₃) de *rac-23b*.



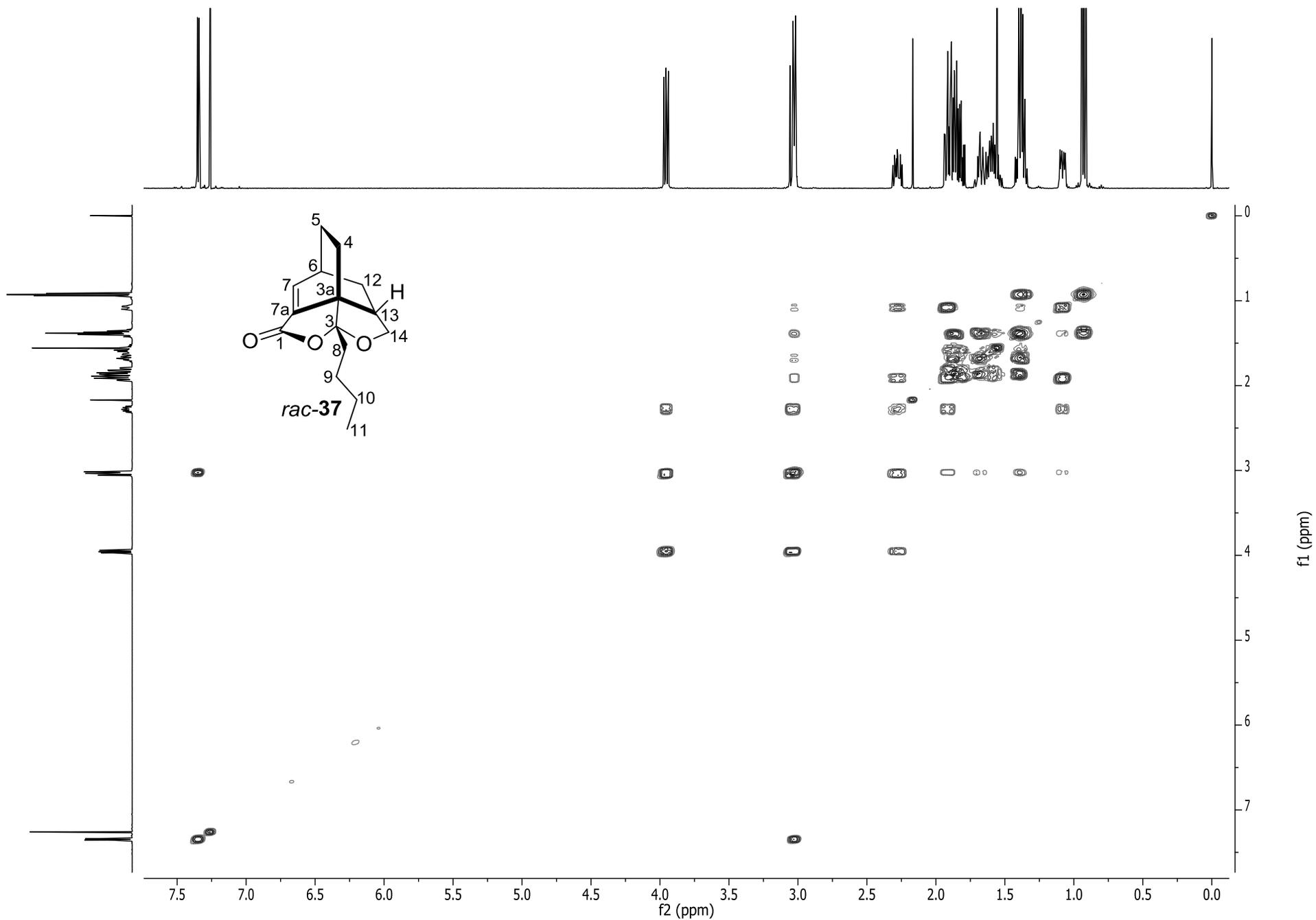
Espectro 9. RMN-¹³C (100 MHz, CDCl₃) de *rac-23b*.



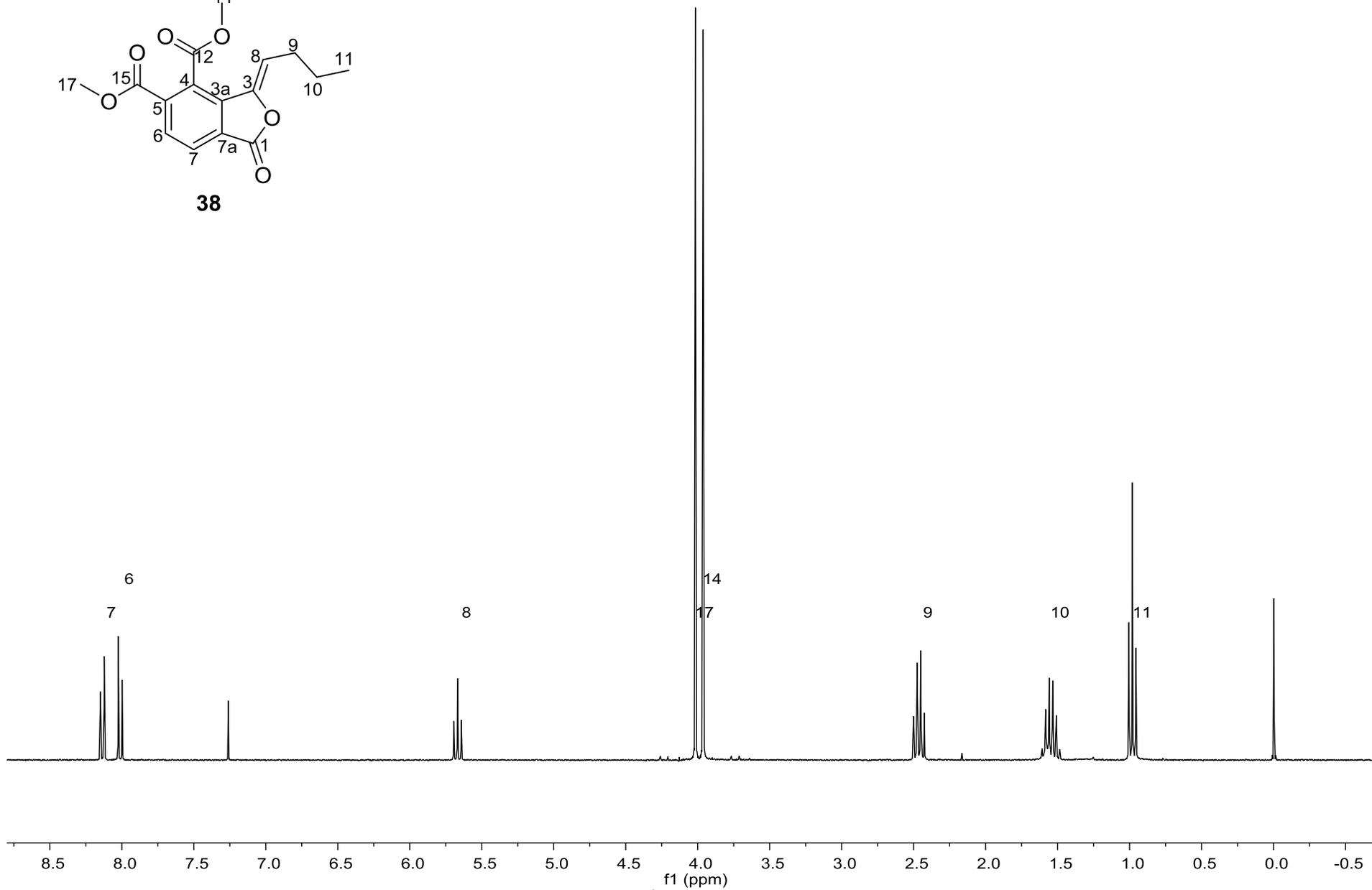
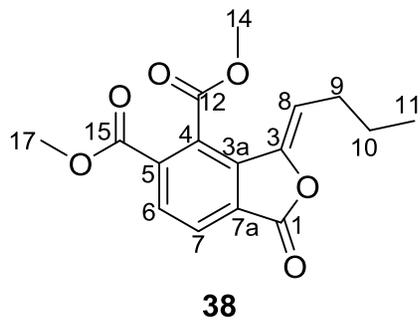
Espectro 10. RMN-¹H (500 MHz, CDCl₃) de *rac-37*.



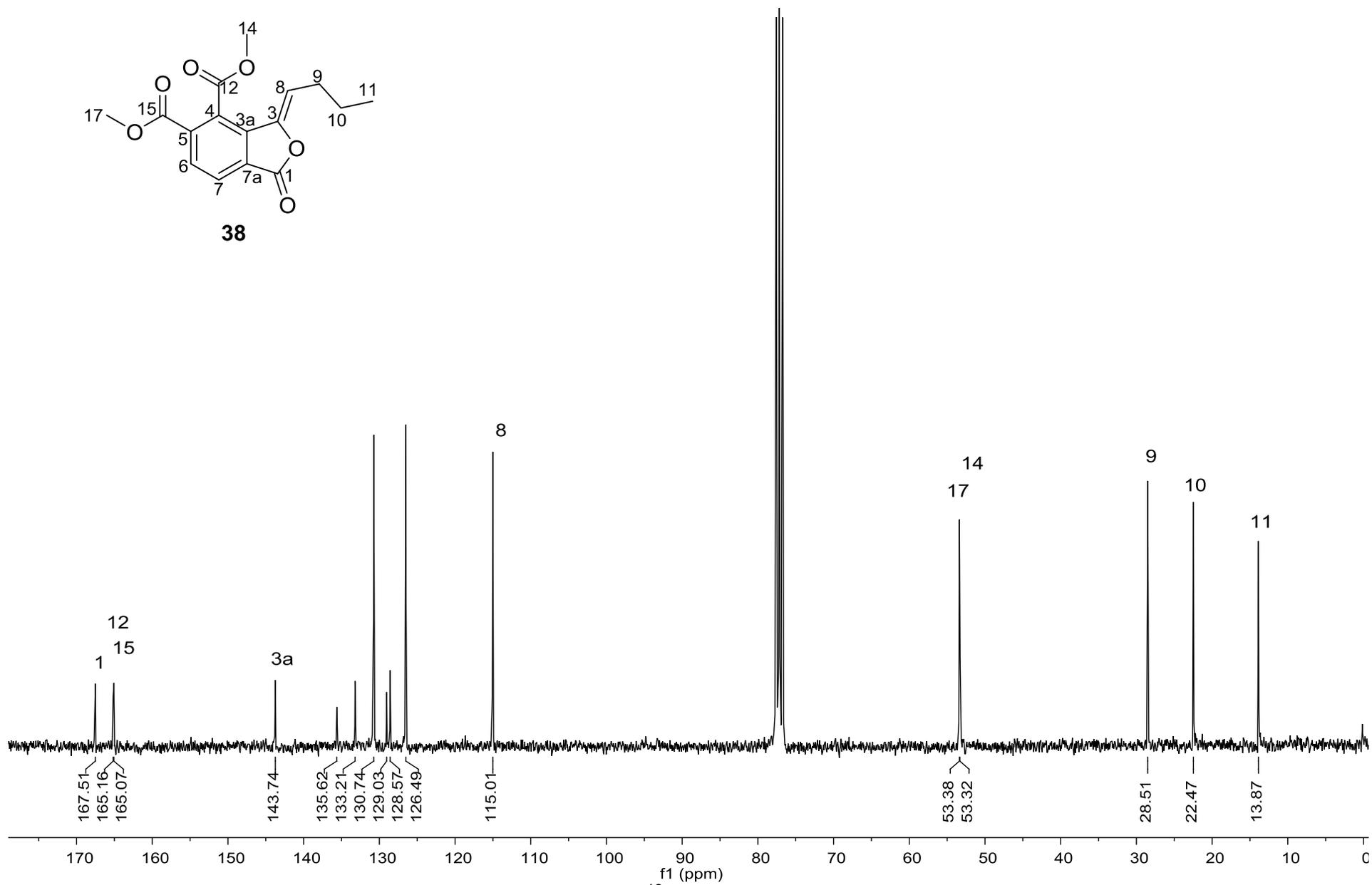
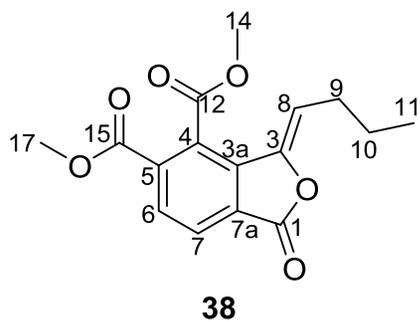
Espectro 11. RMN-¹³C (126 MHz, CDCl₃) de *rac-37*.



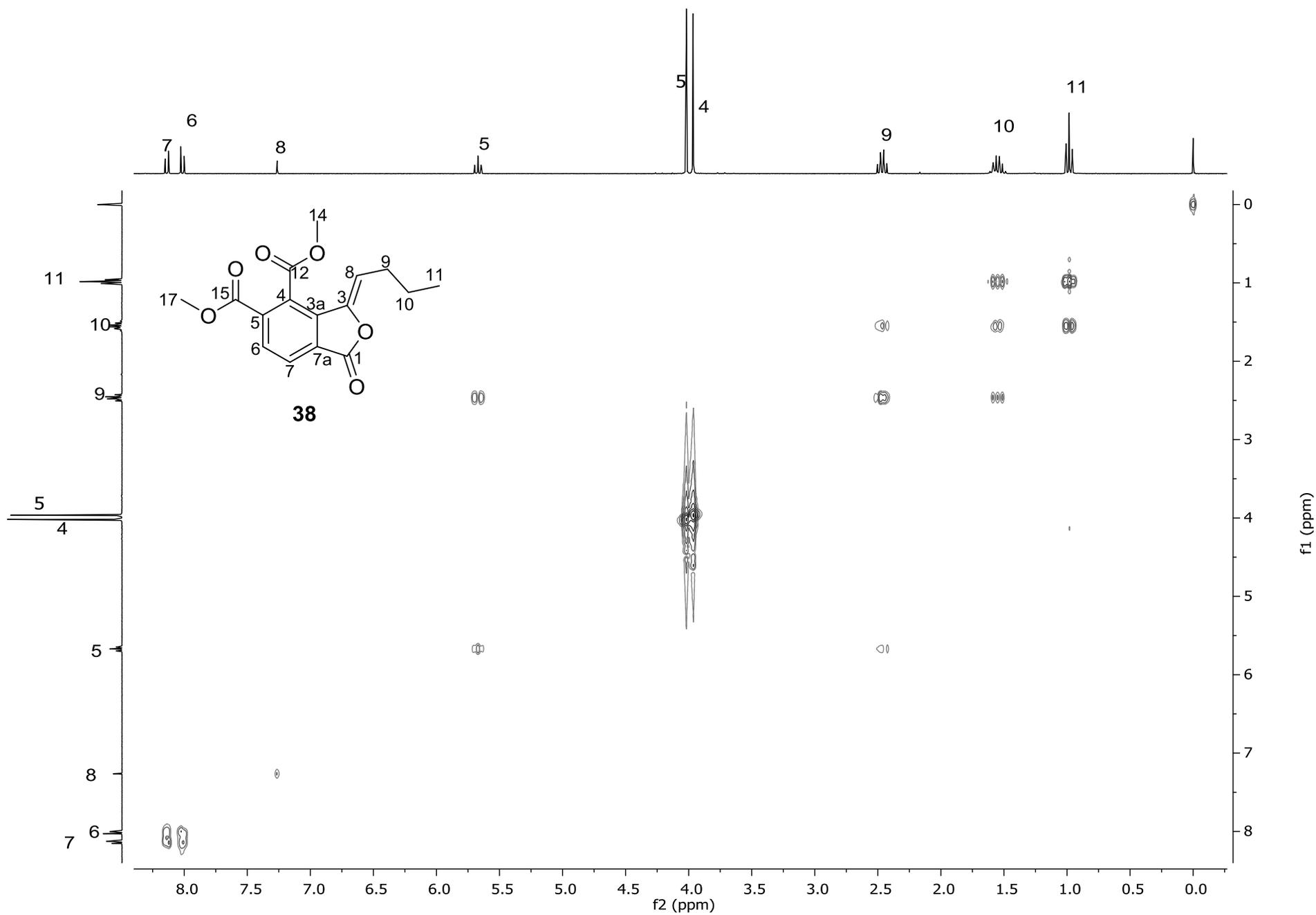
Espectro 12. COSY (500 MHz, CDCl₃) de *rac-37*.



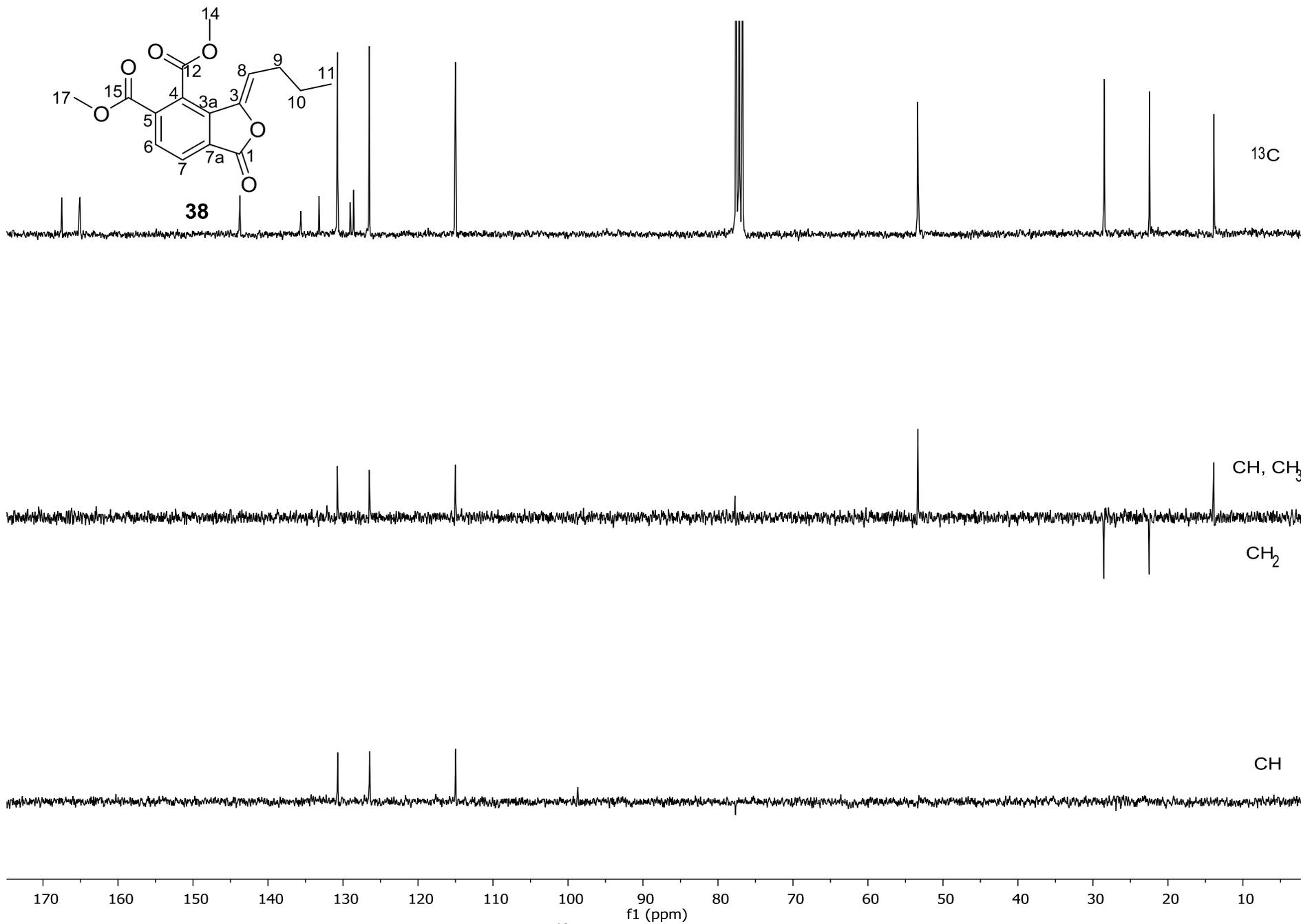
Espectro 13. RMN- ^1H (300 MHz, CDCl_3) de **38**.



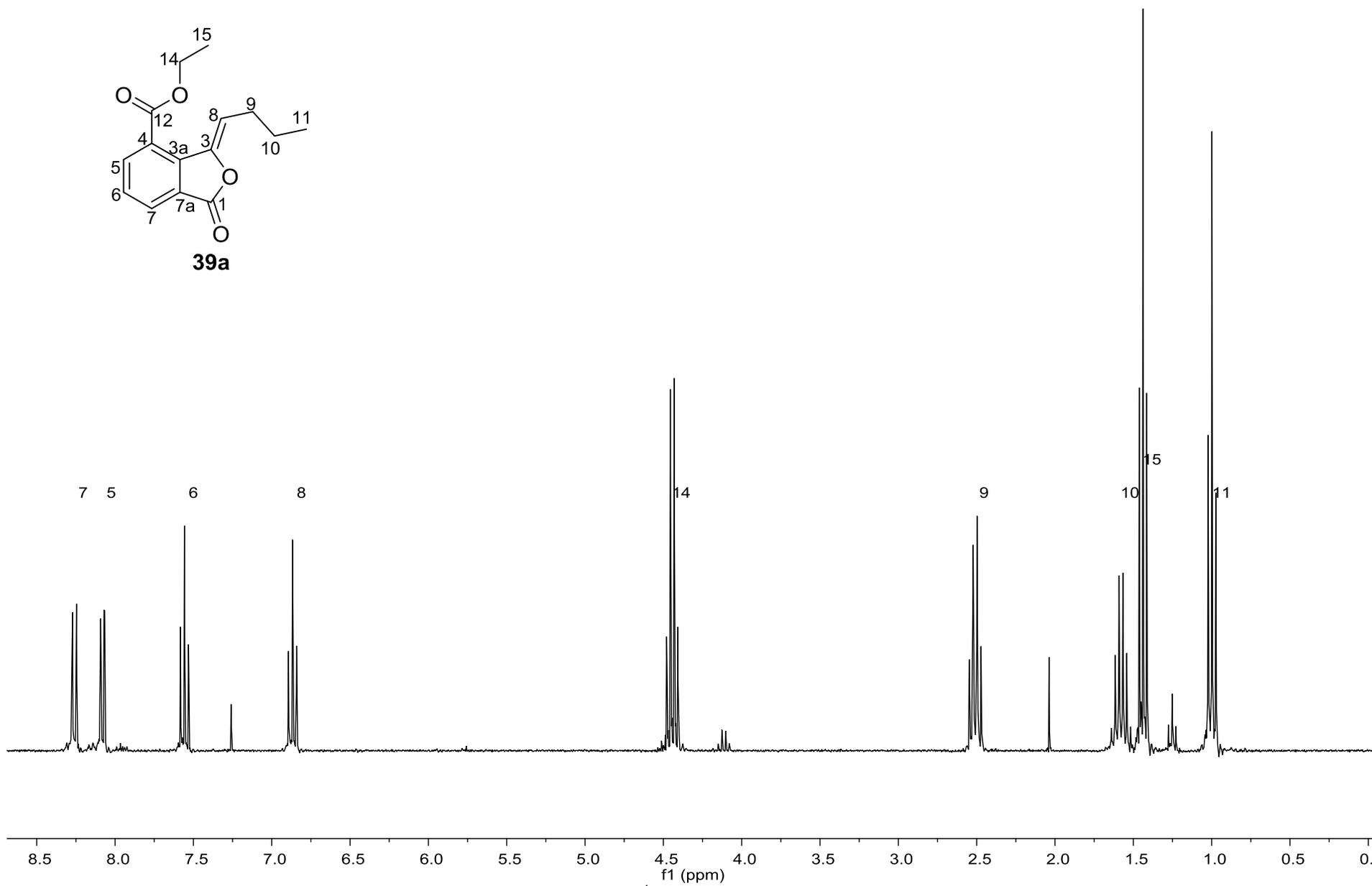
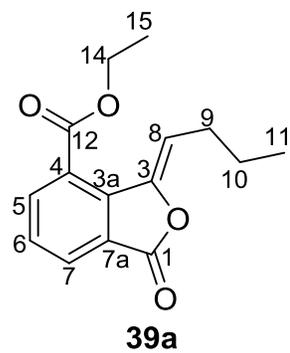
Espectro 14. RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃) de **38**.



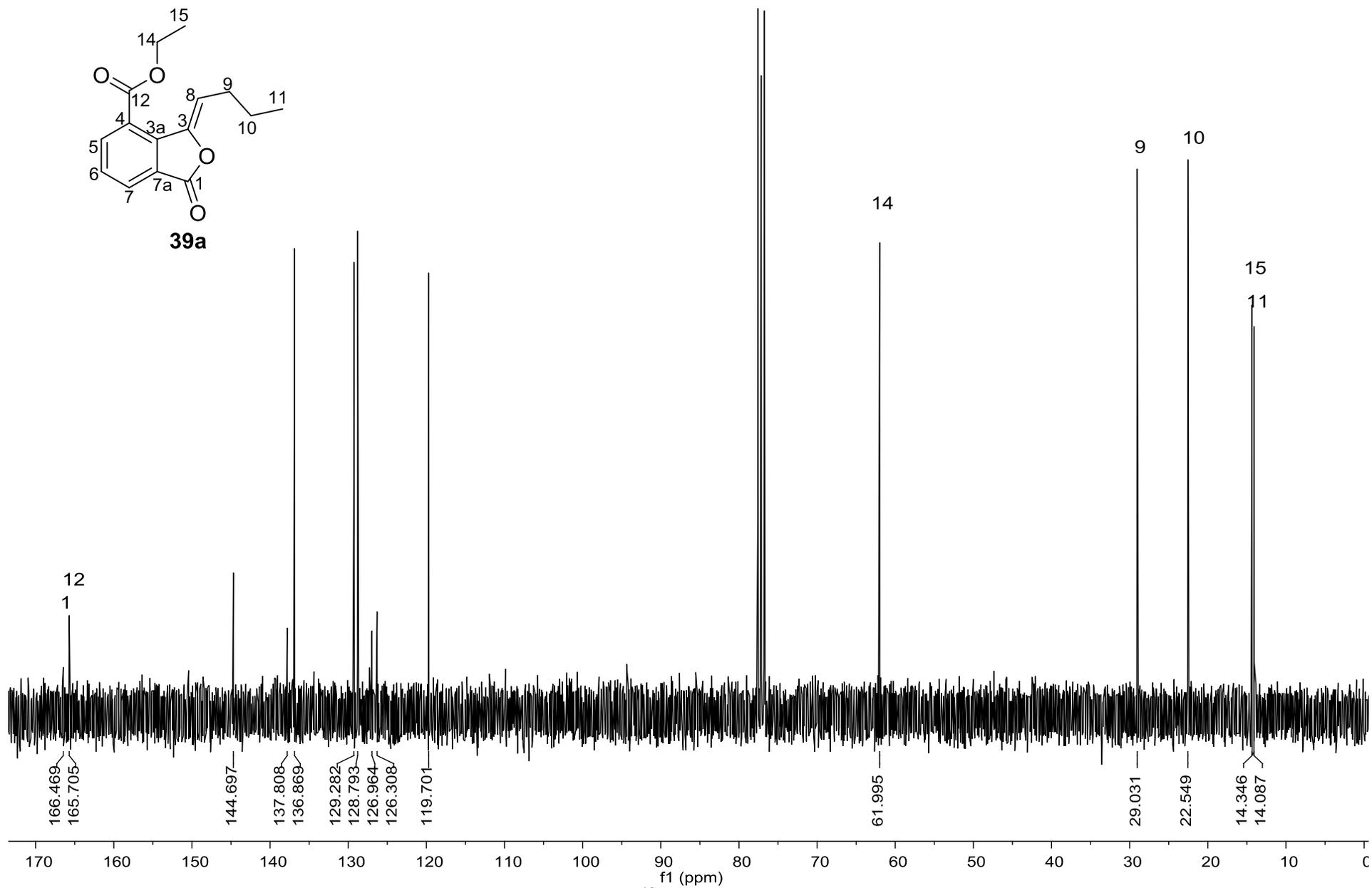
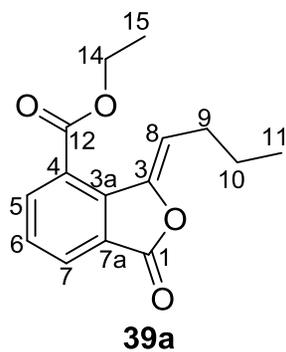
Espectro 15. COSY (300 MHz, CDCl₃) de **38**.



Espectro 16. Apilados RMN- ^{13}C , DEPT-135 y DEPT-90 (75 MHz, CDCl_3) de **38**.



Espectro 17. RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) de **39a**.



Espectro 18. RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃) de **39a**.

