



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

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

TRANSFORMACIONES ELECTROQUÍMICAS DE LA FTÁLIDA Z-LIGUSTÍLIDA PARA  
LA SÍNTESIS DE DERIVADOS Y ESTUDIO DE SU ACTIVIDAD BIOLÓGICA

**TESIS**

PARA OPTAR POR EL GRADO DE

**MAESTRA EN CIENCIAS**

PRESENTA

Q. CINTHYA ANABEL ANRANGO CAMACHO

ASESOR

DR. BERNARDO A. FRONTANA URIBE  
INSTITUTO DE QUÍMICA UNAM, CCIQS UAEMÉX-UNAM

CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX. ABRIL DE 2024



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.



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

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

TRANSFORMACIONES ELECTROQUÍMICAS DE LA FTÁLIDA Z-LIGUSTÍLIDA PARA LA  
SÍNTESIS DE DERIVADOS Y ESTUDIO DE SU ACTIVIDAD BIOLÓGICA

**T E S I S**

**PARA OPTAR POR EL GRADO DE**

**MAESTRA EN CIENCIAS**

**P R E S E N T A**

Q. CINTHYA ANABEL ANRANGO CAMACHO

**ASESOR**

DR. BERNARDO A. FRONTANA URIBE

INSTITUTO DE QUÍMICA UNAM, CCIQS UAEMÉX-UNAM



Ciudad de México, Abril de 2024

---

## Agradecimientos

A Dios por guiarme y cuidar de mí en todo momento.

A mis padres y hermano, José, Lilia y Michael, por su inmenso amor y apoyo incondicional.

A mi querido Álvaro por colmar mi vida de felicidad y ser un apoyo para alcanzar mis metas.

Al Dr. Bernardo Frontana por abrirme las puertas en el laboratorio de Electroquímica y Electrosíntesis para desarrollar mi proyecto de investigación. Le agradezco profundamente por el apoyo, tiempo y asesoría. Gracias por ser un guía y contribuir a mi formación personal y académica.

Al Dr. Guillermo Delgado, investigador del Instituto de Química-UNAM, por su confianza y apoyo en la obtención del extracto vegetal, así como en los análisis espectroscópicos de dos dimensiones.

A los integrantes del jurado por su atención y apoyo brindado durante la revisión de este documento: Dra. Rachel Mata Essayag, Dr. José Luz González Chávez, Dr. Eduardo Guillermo Delgado Lamas, Dr. Erick Cuevas Yáñez y al Dr. Arturo de Jesús García Mendoza.

A las técnicas académicas del CCIQS, MSc. María de las Nieves Zavala Segovia, MSc. Alejandra Núñez Pineda, MSc. Lizbeth Triana Cruz, a las técnicas académicas del IQ MSc. Isabel Chávez Uribe, Dra. María del Carmen García, Dra. Beatriz Quiroz García, y al técnico MSc. Antonio Nieto Camacho por el apoyo brindado con los diferentes servicios analíticos.

A CONAHCYT por la beca otorgada para la realización de los estudios de maestría con N° de CVU: 1178402.

Al Programa de Apoyo a los Estudios de Posgrado (PAEP-2023) por los recursos asignados para asistir al Congreso Internacional de la Sociedad Química de México, realizado en San Luis Potosí, del 2 al 6 de octubre de 2023.

---

---

## Dedicatoria

*A mis amados padres, José y Lilia*

---

## Eventos Científicos

Este trabajo se realizó en el Centro Conjunto de Investigación en Química Sustentable (CCIQS) UAEMéx-UNAM, ubicado en Toluca, Estado de México, México, y se ha presentado en los siguientes eventos científicos:

- ❖ XIV Simposio Interno. CCIQS UNAEM-UNAM, Toluca de Lerdo, Edo. Méx, México. Enero, 2024. Título del Trabajo: “Transformaciones electroquímicas de la ftálida Z-ligustílida para la síntesis de derivados de ftálida”.

Presentación Cartel. Modalidad Presencial

- ❖ XXXVIII Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Electroquímica y 16<sup>th</sup> Meeting of the Mexican Section of the Electrochemical Society. Los Mochis, Sinaloa. México. Octubre 2023. Título del Trabajo: “Transformaciones electroquímicas de la ftálida Z-ligustílida para la síntesis de derivados de ftálida y evaluación de actividad biológica”.

Presentación Oral. Modalidad Presencial

- ❖ Congreso Internacional de la Sociedad Química de México “La Química: de México para el Mundo”. San Luis Potosí, México. Octubre 2023. Título del Trabajo: “Transformaciones electroquímicas de la ftálida Z-ligustílida para la síntesis de derivados de ftálida y evaluación de actividad biológica”.

Presentación Oral. Modalidad Presencial

- ❖ XIII Simposio Interno. CCIQS UNAEM-UNAM, Toluca de Lerdo, Edo. Méx, México. Enero, 2023. Título del Trabajo: “Transformaciones electroquímicas de ftálidas para la síntesis de derivados de ftálida Z-ligustílida y posterior estudio de su bioactividad”

Presentación Cartel. Modalidad Presencial

---

## Índice de Contenido

<i>Agradecimientos</i> .....	3
<i>Dedicatoria</i> .....	4
<i>Eventos Científicos</i> .....	5
<i>Índice de Contenido</i> .....	6
<i>Índice de Figuras</i> .....	9
<i>Índice de Tablas</i> .....	17
<i>Símbolos y Abreviaturas</i> .....	18
<i>Resumen</i> .....	22
<i>Abstract</i> .....	23
Introducción .....	24
<b>Capítulo 1.</b> .....	25
Antecedentes.....	25
1.1 Ftálidas.....	25
1.1.1 Distribución y uso tradicional .....	25
1.1.2 Estructura y biosíntesis .....	26
1.1.3 Síntesis, reactividad y actividad biológica .....	27
1.2 Ftálida Z-ligustílida.....	29
1.2.1 Estructura .....	29
1.2.2 Distribución.....	30
1.2.3 Actividad biológica .....	31
1.2.4 Reactividad.....	31
1.3 Fundamentos de Electroquímica Orgánica.....	35
1.3.1 Principio de la transferencia electrónica .....	36
1.3.2 Doble capa eléctrica .....	37
1.3.3 Factores que limitan la velocidad de la reacción electroquímica.....	37
1.3.4 Celdas electroquímicas.....	40
1.3.5 Componentes de una celda electrolítica.....	40
1.4 Técnicas Electroquímicas .....	43
1.4.1 Voltamperometría cíclica (VC) .....	43
1.4.2 Electrólisis a potencial controlado o constante (EPC) .....	47

---

---

1.4.3	Electrólisis a corriente controlada o constante (ECC) .....	49
<b>Capítulo 2.</b>	.....	51
	Planteamiento del problema.....	51
	Hipótesis .....	51
	Objetivo General.....	52
	Objetivos Específicos.....	52
<b>Capítulo 3.</b>	.....	53
	Aislamiento, purificación y caracterización de la ftálica Z-ligustílida.....	53
3.1	Introducción.....	53
3.2	Aislamiento y purificación mediante técnicas cromatográficas .....	53
3.2.1	Cromatografía de adsorción en columna (CC).....	53
3.2.2	Sección experimental .....	53
3.2.3	Resultados y discusión .....	55
3.3	Conclusiones.....	67
<b>Capítulo 4.</b>	.....	69
	Estudios electroanalíticos de la ftálica Z-ligustílida.....	69
4.1	Introducción.....	69
4.2	Caracterización electroquímica mediante voltamperometría cíclica.....	69
4.2.1	Sección experimental .....	69
4.2.2	Sistema electroquímico y preparación de los electrodos .....	70
4.3	Resultados y discusión.....	71
4.4	Conclusiones.....	85
<b>Capítulo 5.</b>	.....	87
	Electrólisis preparativa de la ftálica Z-ligustílida.....	87
5.1	Introducción.....	87
5.2	Sección experimental.....	87
5.3	Resultados y discusión.....	88
5.4	Conclusiones.....	95
<b>Capítulo 6.</b>	.....	96
	Estudio de actividad biológica de los derivados de ftálica.....	96
6.1	Introducción.....	96

---

---

6.2	Sección experimental.....	96
6.3	Resultados y discusión.....	97
6.4	Conclusiones.....	101
	<b>Conclusión General</b> .....	103
	<b>Perspectivas</b> .....	105
	<b>Anexos</b> .....	107
	Aislamiento, purificación y caracterización de la ftálida Z-ligustílida.....	107
	Estudios electroanalíticos de la ftálida Z-ligustílida .....	113
	Electrólisis preparativa de la ftálida Z-ligustílida .....	119
	<b>Referencias</b> .....	125

---

## Índice de Figuras

<b>Figura 1.</b> Familia vegetal Apiaceae (Umbelliferae).....	25
<b>Figura 2.</b> Estructura química de la ftálida 1(3H)-isobenzofuran-1-ona.....	26
<b>Figura 3.</b> Clasificación estructural de las ftálidas.....	28
<b>Figura 4.</b> Ftálida quiral 3-((4-((4-fluorobencil)oxi)fenil)(hidroxi)metil)-5,7-dimetoxiisobenzofuran-1(3H)-ona.....	29
<b>Figura 5.</b> Isómeros de la ftálida ligustílida.....	30
<b>Figura 6.</b> a) Metabolitos secundarios aislados a partir de las raíces de <i>Ligusticum porteri</i> . b) Raíz de la especie vegetal <i>Ligusticum porteri</i> de la familia Apiaceae (Umbelliferae). .....	31
<b>Figura 7.</b> Productos de degradación de la ftálida Z-ligustílida ( <b>1</b> ).....	32
<b>Figura 8.</b> Reactividad química de la ftálida Z-ligustílida ( <b>1</b> ).....	34
<b>Figura 9.</b> Reacción de lactonización electroquímica.....	34
<b>Figura 10.</b> Principio de la transferencia electrónica en la interface electrodo-electrolito en una celda electrolítica.....	36
<b>Figura 11.</b> Curva voltamperométrica en régimen estacionario y no estacionario.....	39
<b>Figura 12.</b> Evolución de los perfiles de concentración en función del tiempo de electrólisis, disolución sin agitación.....	40
<b>Figura 13.</b> a) Potencial aplicado en función del tiempo para un experimento de voltamperometría cíclica. b) Voltamperograma cíclico para especies electroactivas reversibles. ....	44

---

---

<b>Figura 14.</b> a) Potencial constante y cambio de la corriente en las curvas de $i$ vs. $E$ a diferentes tiempos de electrólisis bajo régimen convectivo. b) Cambio de la corriente en el tiempo de electrólisis bajo condiciones potencioestáticas.....	48
<b>Figura 15.</b> a) Corriente constante y cambio del potencial en las curvas de $i$ vs. $E$ a diferentes tiempos de electrólisis. b) Cambio del potencial en el tiempo de electrólisis bajo condiciones galvanostáticas.....	50
<b>Figura 16.</b> a) Fraccionamiento con CC por gravedad del extracto hexánico usando un gradiente de elución Hex:AcOEt (100:0 a 0:100). b) Purificación por CC rápida del aceite café oscuro usando un gradiente de elución Hex:AcOEt (99:1). .....	55
<b>Figura 17.</b> Cromatograma de HPLC del aceite amarillo obtenido mediante CC rápida. Fase móvil MeOH:H <sub>2</sub> O (60:40), velocidad de flujo: 1 mL/min, elución isocrática. ....	59
<b>Figura 18.</b> Propuesta de ruta de degradación de la ftálica <i>Z</i> -ligustílida ( <b>1</b> ).....	59
<b>Figura 19.</b> Hidrógenos de la estructura de la ftálica <i>Z</i> -ligustílida ( <b>1</b> ).....	60
<b>Figura 20.</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) del aceite amarillo obtenido mediante purificación en CC rápida. ....	61
<b>Figura 21.</b> Espectro de RMN <sup>13</sup> C (700 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de la ftálica <b>1</b> . ....	62
<b>Figura 22.</b> Espectro de NOESY (700 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de la ftálica <b>1</b> .....	63
<b>Figura 23.</b> Hidrógenos de la estructura de la ftálica <i>Z</i> -butilidenftálica ( <b>2</b> ). ....	64
<b>Figura 24.</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H (700 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de la ftálica <b>2</b> . ....	64
<b>Figura 25.</b> Espectro de RMN <sup>13</sup> C (700 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de la ftálica <b>2</b> . ....	66

---

<b>Figura 26.</b> Espectro de NOESY (700 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de la ftálida <b>2</b> .....	67
<b>Figura 27.</b> Celda electroquímica de tres electrodos para voltamperometría cíclica. ....	70
<b>Figura 28.</b> Evaluación del efecto del electrolito soporte, disolvente y ET en la ventana de electroactividad. ....	71
<b>Figura 29.</b> Voltamperometría cíclica de la ftálida <i>Z</i> -ligustílida ( <b>1</b> ) (3 mM) en 0.1 M de TBAPF <sub>6</sub> en ACN (línea azul). Ventana electroactiva (línea discontinua negra). $v = 100 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$ , ET: GC, ER: Ag/Ag <sup>+</sup> , EA: alambre de Pt.....	73
<b>Figura 30.</b> Voltamperometría cíclica de la zona de reducción de la ftálida <b>1</b> (1 mM) en 0.1 M de TBAPF <sub>6</sub> en ACN, y $v$ desde $5 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$ hasta $5 \text{ V}\cdot\text{s}^{-1}$ . ET: GC, ER: Ag/Ag <sup>+</sup> , EA: alambre de Pt. Inserto: barridos de potencial desde 5 hasta $90 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$ . ....	74
<b>Figura 31.</b> a) Voltamperometría cíclica de ferroceno (1 mM) en 0.1 M de TBAPF <sub>6</sub> en ACN. $v$ desde 25 hasta $800 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$ . ET: GC, ER: Ag/Ag <sup>+</sup> , EA: alambre de Pt. b) Corriente de pico catódica ( $i_{pc}$ ) vs. $v$ .....	77
<b>Figura 32.</b> a) Corriente de pico catódica ( $i_{pc}$ ) vs. $v$ . b) $\ln(i_{pc})$ vs. $\ln(v)$ . c) Potencial de pico catódico ( $E_{pc}$ ) vs. $\ln(v)$ . d) Función de corriente de pico normalizada (IPCNORM) vs. $\log(v)$ . e) Potencial de pico catódico ( $E_{pc}$ ) vs. $v$ . ....	78
<b>Figura 33.</b> Propuesta de posibles rutas de reducción de la ftálida <b>1</b> . ....	80
<b>Figura 34.</b> a) Voltamperometría cíclica de la ftálida <b>1</b> (1 mM) (línea discontinua) y ftálida <b>1</b> (1 mM) en presencia de 2,3-dimetilfenol (10 mM) (línea azul) en 0.1 M de TBAPF <sub>6</sub> en ACN. $v = 80 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$ . b) Voltamperometría cíclica de la zona de reducción de la ftálida <b>1</b> (1 mM) en en presencia de 2,3-dimetilfenol (10 mM) en 0.1 M de TBAPF <sub>6</sub> en ACN. $v$ desde 0.005 hasta $5 \text{ V}\cdot\text{s}^{-1}$ . ET: GC, ER: Ag/Ag <sup>+</sup> , EA: alambre de Pt. Inserto: barridos de potencial desde 5 hasta $90 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$ . c) Corriente de pico catódica ( $i_{pc}$ ) vs. $v$ . d) Potencial de pico catódico ( $E_{pc}$ ) vs. $\ln(v)$ . e) Función de	

corriente de pico normalizada (IPCNORM) vs. $\log(v)$ . f) Potencial de pico catódico ( $E_{pc}$ ) vs. $v$ . .....	82
<b>Figura 35.</b> Carácter ácido de la materia prima y básico del radical anión de la ftálida <b>1</b> en un medio aprótico. ....	84
<b>Figura 36.</b> a) Voltamperometría cíclica para la oxidación de la ftálida <b>1</b> (1 mM) en 0.1 M de TBAPF <sub>6</sub> en ACN. $v = 50 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$ . ET: GC, ER: Ag/Ag <sup>+</sup> , EA: alambre de Pt. b) Corriente de pico anódico ( $i_{pc}$ ) vs. $v$ . ....	85
<b>Figura 37.</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) del derivado de la ftálida Z-ligustílida ( <b>1</b> ) obtenido mediante electrólisis potencioestática a -2 V vs. Ag/Ag <sup>+</sup> . ET: GC, EA: GC con 0.1 M de TBAPF <sub>6</sub> en ACN. ....	89
<b>Figura 38.</b> Hidrógenos en la estructura de la ftálida 6,7-dihidrologustílida. ....	89
<b>Figura 39.</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H (700 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de la ftálida 6,7-dihidrologustílida. ....	90
<b>Figura 40.</b> Espectro de RMN <sup>13</sup> C (700 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de la ftálida 6,7-dihidrologustílida. ....	91
<b>Figura 41.</b> Espectro de NOESY (700 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de la ftálida 6,7-dihidrologustílida. ....	92
<b>Figura 42.</b> Propuesta del mecanismo de reducción de la ftálida Z-ligustílida ( <b>1</b> ). ....	93
<b>Figura 43.</b> Bioensayo de toxicidad en <i>Artemia Salina</i> de los compuestos generados electroquímicamente. Los valores de LC <sub>50</sub> se obtuvieron con un límite de confianza del 95 %. Se utilizó K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> como control positivo. Las disoluciones se prepararon en DMSO desde 10 hasta 1000 $\mu\text{M}$ , siguiendo el protocolo descrito en la literatura. <sup>129</sup> ....	98
<b>Figura 44.</b> Derivado de ftálida 3-sustituida con alta actividad de inhibición para la enzima AChE (IC <sub>50</sub> = 2.66 nM). ....	99

---

<b>Figura 45.</b> Actividad inhibitoria en AChE por compuestos generados electroquímicamente. La actividad inhibitoria se determinó mediante el método de Ellman <sup>130</sup> ligeramente modificado, en el cual la tiocolina producida por AChE forma un aducto amarillo con el reactivo DNTB. Se utilizó galantamina como compuesto estándar. Los compuestos de prueba se disolvieron en ACN con una concentración final en los pozos de 0.5 %. Se utilizó una solución de la enzima AChE al 50 % en glicerol. Después de 30 min de inhibición a 25 °C, la absorbancia a 412 nm se leyó durante los primeros 5 min de la reacción. ....	100
<b>Figura 46.</b> Derivado de ftálica con alta actividad inhibitoria para la enzima $\alpha$ -Glucrat ( $IC_{50}$ = 6.82 $\mu$ M). ....	100
<b>Figura 47.</b> Actividad inhibitoria en a) $\alpha$ -Gluclev y b) $\alpha$ -Glucrat de los compuestos generados electroquímicamente. Para la $\alpha$ -Gluclev y la $\alpha$ -Glucrat se utilizó una disolución de la enzima al 50 % en glicerol. Los compuestos de prueba se disolvieron en DMSO al 50 % y se tomaron alícuotas de 25 $\mu$ L para añadir a la disolución amortiguadora en cada pozo. Después de 10 min de inhibición, la absorbancia a 405 nm se leyó durante los primeros 15 min de la reacción. Cada dato representa el promedio de las lecturas realizadas por triplicado. ....	101
<b>Figura 48.</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de la Z-ligustílida ( <b>1</b> ) y la Z-butídenftálica ( <b>2</b> ) presente en el aceite café oscuro obtenido mediante CC por gravedad. ....	107
<b>Figura 49.</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de la Z-ligustílida ( <b>1</b> ) y la Z-butídenftálica ( <b>2</b> ) presente en el aceite amarillo obtenido mediante CC rápida. ....	107
<b>Figura 50.</b> Experimento COSY (700 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de la ftálica Z-ligustílida ( <b>1</b> ). ....	108
<b>Figura 51.</b> Experimento HSQC (700 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de la ftálica Z-ligustílida ( <b>1</b> ). ....	108
<b>Figura 52.</b> Experimento HMBC (700 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de la ftálica Z-ligustílida ( <b>1</b> ). ....	109
<b>Figura 53.</b> Espectro de IR de la ftálica Z-ligustílida ( <b>1</b> ). ....	109

---

<b>Figura 54.</b> Espectro de masas DART de la ftálida Z-ligustílida (1).....	110
<b>Figura 55.</b> Experimento COSY (700 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de la ftálida Z-butilidenftálida (2).....	110
<b>Figura 56.</b> Experimento HSQC (700 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de la ftálida Z-butilidenftálida (2).....	111
<b>Figura 57.</b> Experimento HMBC (700 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de la ftálida Z-butilidenftálida (2). .....	111
<b>Figura 58.</b> Espectro de IR de la ftálida Z-butilidenftálida (2).....	112
<b>Figura 59.</b> Espectro de masas DART de la ftálida Z-butilidenftálida (2). .....	112
<b>Figura 60.</b> Compensación óhmica con ferroceno (1 mM) en 0.1 M de TBAPF <sub>6</sub> en ACN. a) Voltamperometría cíclica a diferentes $\nu$ , desde 0.025 hasta 800 mV·s <sup>-1</sup> . b) Relación lineal de $i_p$ vs. $\nu$ . c) Relación entre $E_p$ vs. $\log(\nu)$ . ET: GC, ER: Ag/Ag <sup>+</sup> , EA: alambre de Pt. ....	113
<b>Figura 61.</b> Compensación óhmica con ferroceno (1 mM) en 0.1 M de TBAPF <sub>6</sub> en ACN. a) Voltamperometría cíclica a diferentes $\nu$ , desde 0.025 hasta 800 mV·s <sup>-1</sup> . b) Relación lineal de $i_p$ vs. $\nu$ . c) Relación entre $E_p$ vs. $\log(\nu)$ . ET: Pt, ER: Ag/Ag <sup>+</sup> , EA: alambre de Pt. ....	114
<b>Figura 62.</b> Compensación óhmica con ferroceno (1 mM) en 0.1 M de TBAPF <sub>6</sub> en ACN. a) Voltamperometría cíclica a diferentes $\nu$ , desde 0.025 hasta 800 mV·s <sup>-1</sup> . b) Relación lineal de $i_p$ vs. $\nu$ . c) Relación entre $E_p$ vs. $\log(\nu)$ . ET: BDD, ER: Ag/Ag <sup>+</sup> , EA: alambre de Pt. ....	114
<b>Figura 63.</b> Compensación óhmica con ferroceno (1 mM) en 0.1 M de TBAPF <sub>6</sub> en ACN. a) Voltamperometría cíclica a diferentes $\nu$ , desde 0.025 hasta 800 mV·s <sup>-1</sup> . b) Relación lineal de $i_p$ vs. $\nu$ . c) Relación entre $E_p$ vs. $\log(\nu)$ . ET: Au, ER: Ag/Ag <sup>+</sup> , EA: alambre de Pt. ....	115
<b>Figura 64.</b> Ventanas de electroactividad en 0.1 M de TBAPF <sub>6</sub> en ACN. a) Voltamperometría cíclica en GC. b) Voltamperometría cíclica en Pt. c) Voltamperometría cíclica en BDD. d)	

---

Voltamperometría cíclica en Au. Los experimentos se realizaron a  $100 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$ , ER: Ag/Ag<sup>+</sup>, EA: alambre de Pt.....116

**Figura 65.** Ventanas de electroactividad en 0.1 M de TBAPF<sub>6</sub> en DMF. a) Voltamperometría cíclica en GC. b) Voltamperometría cíclica en Pt. c) Voltamperometría cíclica en BDD. d) Voltamperometría cíclica en Au. Los experimentos se realizaron a  $100 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$ , ER: Ag/Ag<sup>+</sup>, EA: alambre de Pt.....117

**Figura 66.** Respuesta electroquímica de la ftálica Z-ligustílida (**1**) (3 mM) en 0.1 M de TBAPF<sub>6</sub> en ACN. a) Voltamperometría cíclica en GC. b) Voltamperometría cíclica en Pt. c) Voltamperometría cíclica en BDD (1 mM de Z-ligustílida (**1**)). d) Voltamperometría cíclica en Au. Los experimentos se realizaron a  $100 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$ , ER: Ag/Ag<sup>+</sup>, EA: alambre de Pt.....117

**Figura 67.** Respuesta electroquímica de la ftálica Z-ligustílida (**1**) (1.4 mM) en 0.1 M de TBAPF<sub>6</sub> en DMF. a) Voltamperometría cíclica en GC. b) Voltamperometría cíclica en Pt. c) Voltamperometría cíclica en BDD. d) Voltamperometría cíclica en Au. Los experimentos se realizaron a  $100 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$ , ER: Ag/Ag<sup>+</sup>, EA: alambre de Pt.....118

**Figura 68.** Reacción potencioestática en celda dividida tipo H de la ftálica Z-ligustílida (**1**).....119

**Figura 69.** Cambio en la coloración de la disolución con el transcurso de la reacción. ....119

**Figura 70.** Espectro de IR de la ftálica 6,7-dihidrologustílida. .... 120

**Figura 71.** Espectro de COSY (700 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de la ftálica 6,7-dihidrologustílida. .... 120

**Figura 72.** Espectro de HSQC (700 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de la ftálica 6,7-dihidrologustílida. .... 121

**Figura 73.** Espectro de HMBC (700 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de la ftálica 6,7-dihidrologustílida. .... 121

**Figura 74.** Espectro de masas DART de la ftálica 6,7-dihidrologustílida. .... 122

---

---

<b>Figura 75.</b> Espectro de masas ESI de la ftálida 6,7-dihidrologustílida.....	122
<b>Figura 76.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ (700 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) del ciclodímero de la ftálida <i>Z</i> -ligustílida ( <b>1</b> ) obtenido en mezcla con la 6,7-dihidrologustílida.....	123
<b>Figura 77.</b> Bioensayo de <i>Artemia salina</i> .....	124

---

## Índice de Tablas

<b>Tabla 1.</b> Comparación de señales de RMN $^1\text{H}$ para la ftálida <b>1</b> y <b>2</b> en $\text{CDCl}_3$ . .....	55
<b>Tabla 2.</b> Cálculo de la abundancia de la ftálida <b>1</b> en el aceite café oscuro mediante RMN $^1\text{H}$ en $\text{CDCl}_3$ . .....	56
<b>Tabla 3.</b> Cálculo de la abundancia de la ftálida <b>1</b> en el aceite amarillo mediante RMN $^1\text{H}$ en $\text{CDCl}_3$ . .....	58
<b>Tabla 4.</b> Comparación de señales de RMN $^{13}\text{C}$ para la ftálida <b>1</b> y <b>2</b> en $\text{CDCl}_3$ . .....	62
<b>Tabla 5.</b> Parámetros electroquímicos de la reducción ftálida Z-ligustílida ( <b>1</b> ) en distintos ET y disolventes. ....	72
<b>Tabla 6.</b> Parámetros electroquímicos de la reducción ftálida Z-ligustílida ( <b>1</b> ) en presencia del 2,3-dimetilfenol en GC. ....	83
<b>Tabla 7.</b> Señales observadas en los experimentos de COSY, HSQC y HMBC de la ftálida 6,7-dihidroligustílida. ....	91
<b>Tabla 8.</b> Condiciones potencioestáticas y galvanostáticas de la electrólisis de reducción de la ftálida Z-ligustílida ( <b>1</b> ). ....	94
<b>Tabla 9.</b> Concentraciones letales medias de los derivados de ftálida para <i>Artemia salina</i> . ....	97

---

## Símbolos y Abreviaturas

---

Símbolo	Descripción	Unidades
<i>A</i>	Área electroactiva	$\text{cm}^2$
AChE	Enzima acetilcolinesterasa	
ACN	Acetonitrilo	
AKT	Proteína quinasa B	
AML	Leucemia mieloide aguda	
Au	Oro	
BDD	Diamante Dopado con Boro	
BV	Butler-Volmer	
<i>C</i>	Concentración de la disolución	$\text{mol}\cdot\text{cm}^{-3}$
CC	Cromatografía en columna	
ccf	Cromatografía en capa fina	
COSY	Espectroscopía de correlación homonuclear	
<i>D</i>	Coeficiente de difusión	$\text{cm}^2\cdot\text{s}^{-1}$
DART	Ionización por análisis directo en tiempo real	
DMF	Dimetilformamida	
DNTB	Reactivo de Ellman (5,5'-ditiobis-(ácido 2-nitrobenzoico))	
DFT	Teoría del funcional de la densidad	
<i>E</i>	Potencial eléctrico	V
$E_\lambda$	Potencial de inversión	V
$E_p$	Potencial de pico	V
$E_{p/2}$	Potencial de medio pico	V

---

---

$E^{0'}$	Potencial formal	V
$E_f$	Energía de nivel de Fermi	eV
$E_{cel}$	Potencial de celda	V
$E_{onset}$	Potencial de inicio de electrólisis	V
EA	Electrodo auxiliar	
ER	Electrodo de referencia	
ESI	Ionización por electrospray	
ET	Electrodo de trabajo	
EM	Espectrometría de masas	
$F$	Constante de Faraday	$C \cdot mol^{-1}$
GC-MS	Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas	
GC	Carbono vítreo	
GMC	Gota colgante de mercurio	
H	Plato teórico	
HMBC	Correlación cuántica múltiple heteronuclear	
HOMO	Orbital molecular ocupado de mayor energía	eV
HO-1	Enzima hemo-oxigenasa-1	
HPLC	Cromatografía de líquidos de alta resolución	
HSCCC	Cromatografía en contracorriente de alta resolución	
HSOMO	Orbital molecular ocupado por un solo electrón de mayor energía	eV
HSQC	Espectroscopía de correlación cuántica sencilla heteronuclear	
Hg	Mercurio	
Ir	Iridio	

---

---

<i>i</i>	Corriente Faradaica	A
<i>i<sub>p</sub></i>	Corriente de pico	A
IC <sub>50</sub>	Concentración inhibitoria media	mol·L <sup>-1</sup>
IR	Espectroscopía infrarroja	
<i>j</i>	Densidad de corriente	A·cm <sup>-2</sup>
<i>k<sup>o</sup></i>	Constante de velocidad heterogénea estándar	cm·s <sup>-1</sup>
<i>k<sub>f</sub></i>	Constante de velocidad de la reacción química directa	s <sup>-1</sup>
LC <sub>50</sub>	Concentración letal media	mol·L <sup>-1</sup>
LUMO	Orbital molecular desocupado de menor energía	eV
LSOMO	Orbital molecular ocupado por un solo electrón de menor energía	eV
N	Moles del compuesto	mol
NrF2	Factor nuclear eritroide-2	
NLRP3	Complejo de señalización para activación de citoquinas inflamatorias	
NOESY	Espectroscopía de mejoramiento nuclear de Overhauser	
<i>n</i>	Número de electrones transferidos	
Pt	Platino	
PKS	Enzima policétido sintasa	
PI3K	Enzima fosfatidilinositol-3-quinasa	
PI3K/AKT	Vía de señalización para la regulación de procesos celulares	
<i>Q</i>	Carga	C
<i>R</i>	Constante de gases ideales	J·mol <sup>-1</sup> ·K <sup>-1</sup>

---

---

RMN	Resonancia magnética nuclear	
$R_f$	Factor de retención	
$R_s$	Resistencia de la celda	$\Omega$
S	Especie electroactiva	
$T$	Temperatura	K
TBAPF <sub>6</sub>	Hexafluorofosfato de Tetrabutilamonio	
TBAP	Perclorato de Tetrabutilamonio	
VC	Voltamperometría cíclica	
VE	Ventana de electroactividad	
$v$	Velocidad de barrido de potencial	$V \cdot s^{-1}$
$\alpha$	Coefficiente de transferencia de carga o factor de simetría	
$\alpha$ -Glucorat	Enzima $\alpha$ -glucosidasa de ratón	
$\alpha$ -Glucolev	Enzima $\alpha$ -glucosidasa de levadura	
$\eta$	Sobrepotencial	V
$\delta$	Capa de difusión	

---

---

## Resumen

Este trabajo de investigación aborda la purificación y caracterización de la ftálida Z-ligustílida (**1**), el estudio electroquímico y la electrólisis preparativa de la ftálida **1** en un medio aprótico para la obtención de derivados de ftálida y evaluación de algunas de sus propiedades biológicas.

La purificación mediante cromatografía en columna rápida de un extracto hexánico de la especie *Ligusticum porteri* permitió la obtención de la ftálida **1** con una abundancia del 94 %, determinada por HPLC. El análisis electroquímico mediante VC de la ftálida **1** con un electrodo de GC en 0.1 M de TBAPF<sub>6</sub> en DMF y ACN mostró un máximo de  $i_{pa}$  a 1.4 V y un máximo de  $i_{pc}$  a -2 V vs. Ag/Ag<sup>+</sup>. La  $i_{pa}$  y la  $i_{pc}$  son independientes. En oxidación y reducción, la ftálida **1** muestra un comportamiento químicamente irreversible desde bajas hasta altas  $v$ . La reacción electroquímica de oxidación tiene asociada una pasivación del electrodo, mientras que, el proceso de reducción está controlado por difusión. La primera transferencia electrónica de la ftálida **1** ocurre de acuerdo con un mecanismo tipo EC<sub>irrev</sub>. La reacción química acoplada a la transferencia electrónica es la protonación, cuya constante de velocidad es mayor a la  $k^o$ . En un medio aprótico, la ftálida **1** actúa como un ácido de Brønsted-Lowry en presencia de la base generada tras el proceso de transferencia electrónica. En la electrólisis potencioestática a -2 V se obtuvo un rendimiento moderado del 67 % de la 6,7-dihidrologustílida y un bajo rendimiento de la Z-butilidenftálida (**2**) (31 %). El derivado **2** mostró la más alta toxicidad en *Artemia salina* y el mayor porcentaje de inhibición en las enzimas AChE,  $\alpha$ -Glucorat y  $\alpha$ -Glucolev en comparación con la 6,7-dihidrologustílida.

**Palabras clave:** electrodo de carbono vítreo (GC), mecanismo de transferencia electrónica acoplada a una reacción química irreversible (EC<sub>irrev</sub>), voltamperometría cíclica (VC), enzima acetilcolinesterasa (AChE), enzima  $\alpha$ -glucosidasa de ratón ( $\alpha$ -Glucorat) y enzima  $\alpha$ -glucosidasa de levadura ( $\alpha$ -Glucolev).

---

## Abstract

This research work deals with the purification and characterization of the phthalide *Z*-ligustilide (**1**), the electrochemical study and preparative electrolysis of phthalide **1** in an aprotic medium to obtain phthalide derivatives and further evaluation of some of its biological properties.

Purification by flash chromatography of a hexane extract of *Ligusticum porteri* species allowed the isolation of phthalide **1** with an abundance of 94 %, determined by HPLC. Electrochemical analysis by VC of phthalide **1** with a GC electrode in 0.1 M TBAPF<sub>6</sub> in DMF and ACN showed a maximum  $i_{pa}$  at 1.4 V and a maximum  $i_{pc}$  at -2 V vs. Ag/Ag<sup>+</sup>. The  $i_{pa}$  and  $i_{pc}$  are independent. In oxidation and reduction, phthalide **1** shows chemically irreversible behavior from low to high  $v$ . The electrochemical oxidation reaction has an associated electrode passivation, whereas the reduction process is diffusion controlled. The first electron transfer of phthalide **1** occurs according to an EC<sub>irrev</sub> type mechanism. The chemical reaction coupled to the electronic transfer is protonation, whose rate constant is greater than  $k^0$ . In an aprotic medium, phthalide **1** acts as a Brønsted-Lowry acid in the presence of the base generated after the electron transfer process. On potentiostatic electrolysis at -2 V vs. Ag/Ag<sup>+</sup>, a moderate yield of 67 % of the 6,7-dihydroligustilide and a low yield of the *Z*-butylidenephthalide (**2**) (31 %) were obtained. Phthalide derivative **2** showed the highest toxicity on *Artemia salina* and the highest percentage inhibition on AChE,  $\alpha$  Glucorat and  $\alpha$  Glucolev enzymes compared to 6,7-dihydroligustilide.

**Keywords:** glassy carbon (GC) electrode, electron transfer mechanism coupled to irreversible chemical reaction (EC<sub>irrev</sub>), cyclic voltammetry (CV), acetylcholinesterase enzyme (AChE), mouse  $\alpha$ -glucosidase enzyme ( $\alpha$  Glucorat) and yeast  $\alpha$ -glucosidase enzyme ( $\alpha$  Glucolev).

---

## Introducción

Los productos naturales son una fuente estructural para el desarrollo de nuevas moléculas con actividad farmacológica. Más del 80 % de los medicamentos son productos naturales o se inspiraron a partir de un compuesto natural.<sup>1</sup> La síntesis de derivados a partir de compuestos de origen natural permite modular su actividad biológica y generar conocimiento sobre su reactividad química y mecanismo de acción farmacológica. Por ejemplo, el ácido acetilsalicílico es el fármaco más utilizado a nivel mundial y su hallazgo se debe a la síntesis de derivados del ácido salicílico, el cual se forma a partir de la salicina, que es el producto natural obtenido del sauce (*Salix* sp.).<sup>2</sup>

A diferencia de la síntesis tradicional, la electroquímica es una ruta alterna de síntesis que emplea al electrón como reactivo en reacciones redox. La activación electroquímica por medio de la transferencia de electrones permite generar radicales, los cuales experimentan la reactividad clásica descrita en química orgánica. La electrólisis de Kolbe para obtener alcanos y olefinas a partir de la oxidación de ácidos orgánicos<sup>3</sup>, es un ejemplo del empleo de métodos electroquímicos en síntesis orgánica.

Las ftálicas son compuestos naturales bioactivos distribuidos en su mayoría en fuentes vegetales. Las especies vegetales de los géneros *Ligusticum* y *Angelica*, pertenecientes a la familia Umbelliferae o Apiaceae, contienen la mayor cantidad de ftálicas<sup>4</sup>. Entre los constituyentes principales, la ftálica *Z*-ligustílida posee una gran variedad de efectos farmacológicos<sup>5</sup>, y por ello ha sido objeto de estudio en la relación estructura-actividad.

En ese contexto, este trabajo tiene por objetivo estudiar por métodos electroquímicos la ftálica *Z*-ligustílida y obtener derivados naturales a partir de reacciones de oxidación y reducción electroquímica para una posterior evaluación de algunas de sus propiedades biológicas.

---

# Capítulo 1.

## Antecedentes

### 1.1 Ftálidas

#### 1.1.1 Distribución y uso tradicional

Las ftálidas son moléculas pequeñas presentes en los aceites esenciales de las especies vegetales. León y colaboradores<sup>6</sup> reportaron la distribución de ftálidas y sus derivados en 17 familias vegetales, incluyendo Apiaceae (Umbelliferae), Bignoniaceae, Cactaceae, Asteraceae (Compositae), Gentianaceae, Lamiaceae, Leguminosae (Fabaceae), Loganiaceae, Oleaceae, Onocleaceae, Orchidaceae, Papaveraceae, Piperaceae, Pittosporaceae, Poaceae (Gramineae) Polygonaceae, Saxifragaceae, Typhaceae; y como constituyentes de hongos, líquenes, y hepáticas. La mayor abundancia de ftálidas naturales está distribuida en el género *Ligusticum* y *Angelica* de la familia Apiaceae (Umbelliferae). La especie *Ligusticum chuanxiong* contiene más de 95 ftálidas<sup>7</sup> y la especie *Angelica sinensis* contiene alrededor de 50 ftálidas.<sup>8</sup>



**Figura 1.** Familia vegetal Apiaceae (Umbelliferae).

Las especies vegetales a base de ftálidas fueron una de las principales fuentes naturales en la medicina tradicional de Asia, Europa y América.<sup>9</sup> En China se reportó el uso de las raíces del género *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels, conocida como dang gui, para el tratamiento de anemia, desórdenes ginecológicos, como agente hematopoyético para la regulación de los ciclos menstruales<sup>10</sup>, y en el tratamiento de enfermedades cerebrales y cardiovasculares.<sup>11</sup> En Europa, las culturas asentadas alrededor de las regiones de Livonia y Courland reportaron el uso de 69 familias vegetales, entre ellas la familia Apiaceae, para tratar cuatro categorías de enfermedades: digestivas (24 %), cutáneas (22 %), respiratorias (11 %) y generales (11 %).<sup>12</sup> En las tribus de Hispanoamérica

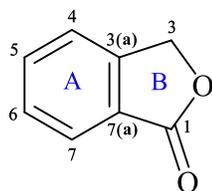
---

---

y América del Norte se reportó el uso de la raíz de la especie *Ligusticum*, conocida como Oshá, para tratar una variedad de enfermedades, incluyendo bronquitis, tuberculosis, neumonía, resaca y dolores de la garganta.<sup>13</sup> Otra planta perenne con actividad terapéutica y perteneciente a la familia Apiaceae es la especie *Lomatium*, una fuente vegetal de alto valor cultural y medicinal para las tribus al noroeste de Estados Unidos.<sup>14</sup> Además de su función antiinflamatoria, también se ha reportado su uso como conservante natural. Por ejemplo, la especie *Apium graveolens*, comúnmente conocida como apio, exhibe un efecto antioxidante y antimicrobiano que contribuye a la conservación de los alimentos.<sup>15</sup>

### 1.1.2 Estructura y biosíntesis

En general, la familia Umbelliferae tiene una alta cantidad de compuestos biológicamente activos que se pueden clasificar en tres grupos: compuestos polifenólicos, poliacetilenos y terpenoides.<sup>16</sup> Las ftálicas, caracterizadas por un fuerte aroma semejante al del apio<sup>6</sup>, son una clase de poliacetilenos o policétidos que pertenecen al grupo de metabolitos secundarios derivados de los ácidos grasos. Las ftálicas constan de una estructura bicíclica, conocida como 1(3*H*)-isobenzofuran-1-onas (**Figura 2**), la cual posee un anillo de benceno (anillo A) fusionado a una  $\gamma$ -lactona (anillo B) entre los carbonos 1 y 3.<sup>17</sup>



**Figura 2.** Estructura química de la ftálica 1(3*H*)-isobenzofuran-1-ona.

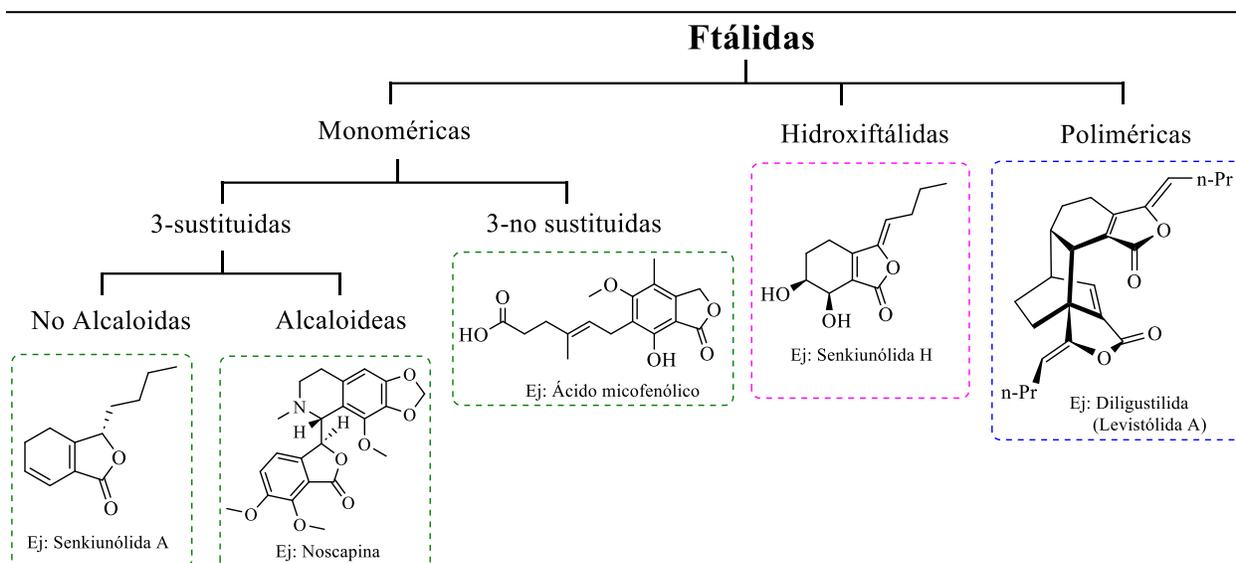
Este metabolito secundario se biosintetiza por la acción de un complejo multienzimático, llamado policétido sintasa (PKS).<sup>18,19</sup> La ruta biosintética de ftálicas inicia con la formación del tetracétido, a partir de una reacción de condensación entre una molécula de acetil-CoA con cuatro unidades de malonil-CoA, seguido de subsecuentes reacciones de condensación, oxidación y reacciones intramoleculares.<sup>20</sup>

---

### 1.1.3 Síntesis, reactividad y actividad biológica

En 1922, Davies & Perkin reportaron la primera síntesis de isobenzofuranonas, a partir de la descomposición térmica del 2-(bromometil) benzoato de etilo.<sup>21</sup> En 1955, Eliel *et al.* realizaron una reacción de reducción del ftalato de metilo con  $\text{LiAlH}_4$  para obtener la ftálida con buenos rendimientos.<sup>22</sup> En 1989, Watanabe *et al.* reportaron la síntesis de derivados de ftálida a partir de la reacción de cicloadición Diels-Alder entre furanonas sustituidas y sililoxidienos con rendimientos moderados y buenos.<sup>23</sup> Otras reacciones incluyen la *orto*-metalación dirigida<sup>24</sup>, la hidroacilación catalítica intramolecular<sup>25</sup> y reacciones de ciclación catalizadas por paladio.<sup>26,27</sup> Entre los sitios reactivos explorados en la ftálida están: el ataque nucleofílico en el grupo carbonilo<sup>28</sup>, reacciones de sustitución nucleofílica en el carbono 3<sup>29</sup> y reacciones con los dobles enlaces en los carbonos 4, 5, 6 y 7.<sup>30</sup>

Según su composición estructural, las ftálidas sintéticas y las de origen vegetal se clasifican en ftálidas monoméricas, hidroxiftálidas y ftálidas poliméricas (**Figura 3**). Las ftálidas monoméricas se subclasifican en 3-no sustituidas y 3-sustituidas, las cuales son las más abundantes en la naturaleza y en relación con el tipo del sustituyente en el carbono 3 se dividen en ftálidas alcaloideas y no alcaloidas.<sup>20</sup> Las hidroxiftálidas se caracterizan por la presencia del grupo hidroxilo y las ftálidas poliméricas resultan de la fusión de dos o más unidades de ftálida. De fuentes vegetales, se han aislado 27 ftálidas monoméricas, 54 hidroxiftálidas y 52 ftálidas poliméricas.<sup>5</sup> Dada su diversidad estructural, las ftálidas son intermediarios sintéticos para el desarrollo de nuevos compuestos orgánicos. Sankara *et al.* reportaron el uso de ftálidas 3-sustituidas como bloques de construcción en la síntesis orgánica de productos naturales, carbociclos y heterociclos.<sup>31</sup>



**Figura 3.** Clasificación estructural de las ftálidas.

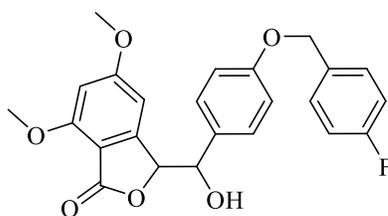
Los derivados de ftálida tienen una amplia gama de propiedades terapéuticas. Éstas incluyen la modulación de la función vascular, protección del sistema nervioso central, mejora en la reología sanguínea, efecto antioxidante, antiinflamatorio, analgésico, anticancerígeno y protección a los huesos y órganos.<sup>32</sup> Por ejemplo, la senkiunólida A, aislada de la especie *Ligusticum chuanxiong*, es una ftálida monomérica que inhibe la progresión de la osteoartritis al bloquear la activación del inflammasoma NLRP3.<sup>33</sup> Noscapina, una ftálida alcaloidea aislada del *Papaver somniferum*, retrasa el avance de la esclerosis múltiple al inhibir la desmielinización del sistema nervioso central y la actividad de la bradicina en condiciones inflamatorias.<sup>34</sup> La hidroxiftálida, senkiunólida H, ayuda en el accidente cerebrovascular isquémico mediante el efecto antiinflamatorio y antiapoptótico al regular la vía de señalización PI3K/AKT.<sup>35</sup> La actividad antioxidante de la ftálida dimérica, levistólida A aislada de *Ligusticum chuanxiong*, permite la expansión de células madre hematopoyéticas de cordón umbilical para el tratamiento de enfermedades hematológicas.<sup>36</sup>

Entre los primeros fármacos a base de ftálida administrados a nivel mundial están: la 3-*n*-butilftálida, aprobado por la administración de alimentos y medicamentos de China en 2002<sup>37</sup>, como medicamento antiplaquetario para el accidente cerebrovascular isquémico<sup>38</sup> y el ácido micofenólico, aprobado por la administración de alimentos y medicamentos de los Estados Unidos en 2012<sup>39</sup>, como fármaco inmunosupresor para disminuir el rechazo del organismo al trasplante de órganos.<sup>40</sup> Anderson *et al.* sintetizaron análogos del ácido micofenólico y encontraron que los

---

compuestos que carecían de la lactona eran menos citotóxicos.<sup>41</sup> Por lo tanto, parte de la actividad farmacológica de esta clase de productos naturales se atribuye a la presencia de la  $\gamma$ -lactona (anillo A) en la estructura de las 1(3*H*)-isobenzofuran-1-onas.

Por otro lado, la exploración del espacio químico de las ftálicas a través de la síntesis de derivados y el estudio de su actividad biológica ha contribuido a mejorar sus propiedades farmacológicas. Por ejemplo, Fan *et al.* diseñaron y sintetizaron 24 nuevos derivados de las ftálicas 3-sustituidas y encontraron que los sustituyentes tioéter y oxioéter en la posición 3 le proporcionan una actividad antifúngica similar al fungicida agrícola comercial, hymexazol.<sup>42</sup> En el desarrollo de nuevos fármacos antiinflamatorios, Chen *et al.* sintetizaron 31 nuevos derivados de ftálicas que incluyen híbridos de ftálicas con 1,2,4-oxadiazoles, ftálicas quirales y aquirales.<sup>43</sup> La ftálica quiral, **Figura 4**, mostró una tasa de inhibición del 95.23 % a 10  $\mu$ M con un valor de IC<sub>50</sub> de 0.76  $\mu$ M contra la inflamación vía activación del factor de transcripción, Nrf2, que regula la expresión de enzimas antioxidantes, como HO-1, para inhibir la respuesta inflamatoria a la desregulación del óxido nítrico. En el estudio de la actividad vasodilatadora, Tang *et al.* evaluaron la actividad terapéutica de diferentes derivados de ftálica, que incluyen monómeros, dímeros y enantiómeros.<sup>44</sup> Los bioensayos mostraron que los dímeros tienen mayor actividad vasodilatadora que los monómeros y que la quiralidad de la molécula también influye en la vasodilatación.



**Figura 4.** Ftálica quiral  
3-((4-((4-fluorobencil)oxi)fenil)(hidroxi)metil)-5,7-dimetoxiisobenzofuran-1(3*H*)-ona.

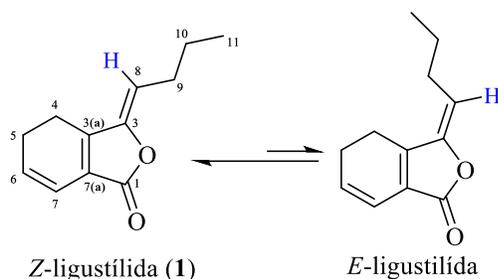
## 1.2 Ftálica Z-ligustílida

### 1.2.1 Estructura

La ftálica ligustílida, conocida como 3-butilidene-4,5-dihidro-3*H*-isobenzofuran-1-ona, es una ftálica 3-sustituida distribuida en la mayoría de las especies vegetales de la familia Umbelliferae.<sup>45,46</sup> La ftálica ligustílida es un isómero de la 3-butilftálica, que se caracteriza por

---

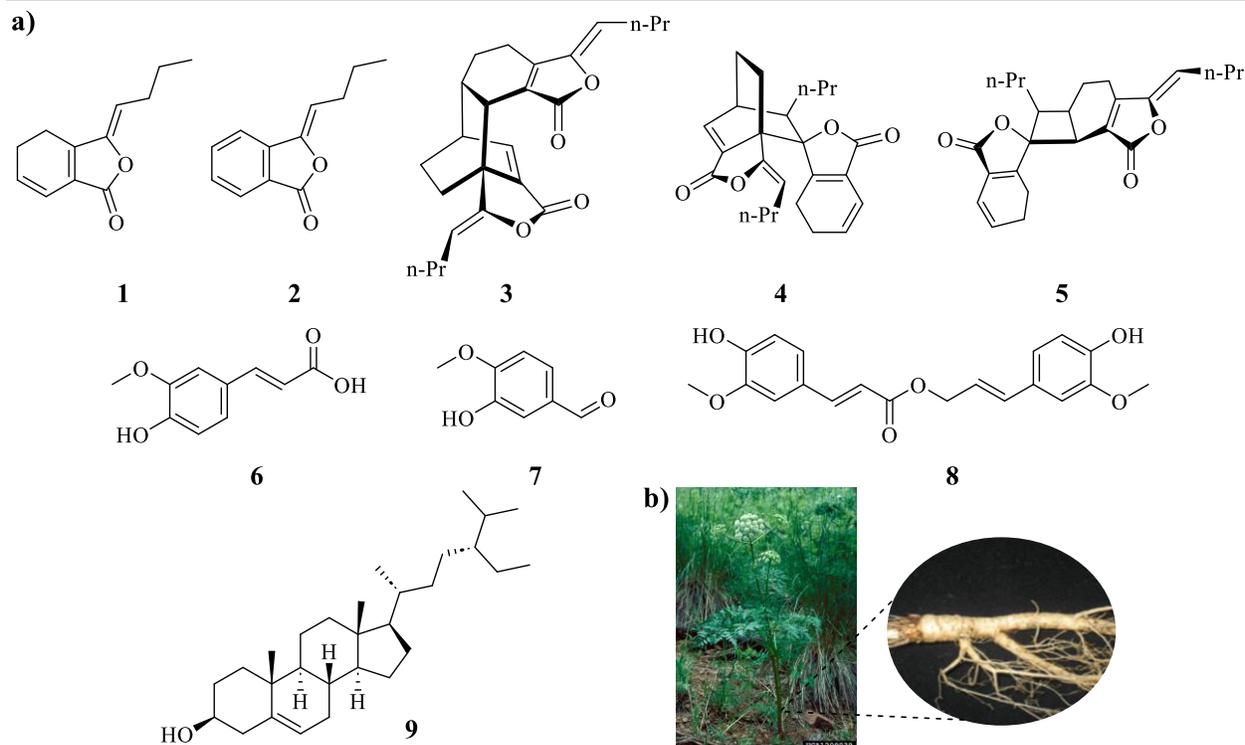
tener una estructura bicíclica con un doble enlace exocíclico y dos dobles enlaces en los carbonos 3(a), 7(a), 6 y 7 (**Figura 5**). La posición espacial de los átomos en el doble enlace exocíclico da lugar a los isómeros geométricos *Z* y *E*. El isómero *cis* (*Z*) es más estable que el isómero *trans* (*E*) debido a la menor repulsión estérica. Por lo tanto, el contenido de la ftálida *Z*-ligustílida (**1**) es 10 veces mayor que la *E*-ligustílida en las especies vegetales.<sup>47</sup> Con respecto a las propiedades físicas, la ftálida **1** es un aceite amarillo claro, con un punto de ebullición de 168-169 °C.



**Figura 5.** Isómeros de la ftálida ligustílida.

### 1.2.2 Distribución

El primer aislamiento de la ftálida **1** fue de la especie *Ligusticum acutilobum* en 1960<sup>48</sup>, seguido de *Cnidium officinale* Makino, *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels y *Ligusticum officinale* Koch.<sup>6</sup> Estas plantas son parte de la medicina tradicional China, y tienen el más alto contenido de la ftálida **1**. En México, la ftálida **1** se aísla de la raíz de la especie *Ligusticum porteri* (**Figura 6b**). La especie *Ligusticum porteri* es rica en ftálicas, incluyendo *Z*-ligustílida (**1**), *Z*-butilidenftálida (**2**), (*Z,Z'*)-(6*R*,7*R*)-(6.6',7.3'*a*)-diligustílida (**3**), toquinólida B (**4**) y riligustílida (**5**). Además de las ftálicas, en la raíz de esta especie también se han caracterizado la presencia del ácido ferúlico (**6**), isovainillina (**7**), ferulato de coniferilo (**8**) y  $\beta$ -sitosterol (**9**).<sup>49</sup> En la **Figura 6a** se presentan las estructuras de los metabolitos secundarios aislados de la raíz de la especie *Ligusticum porteri*.



**Figura 6.** a) Metabolitos secundarios aislados a partir de las raíces de *Ligusticum porteri*. b) Raíz de la especie vegetal *Ligusticum porteri* de la familia Apiaceae (Umbelliferae).

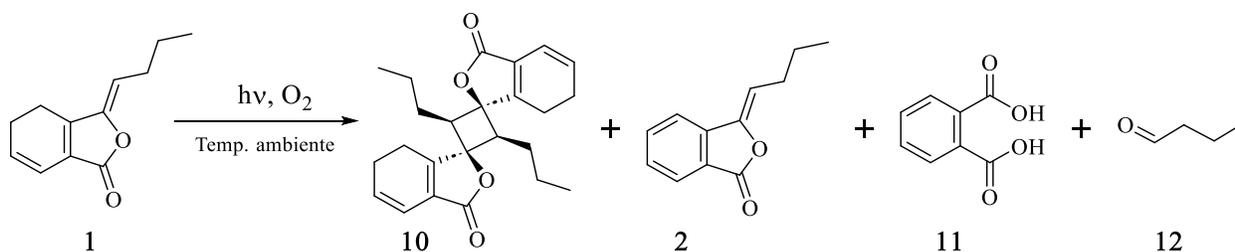
### 1.2.3 Actividad biológica

En la revisión de estudios farmacológicos y farmacocinéticos, Xie *et al.* reportaron que la ftálide **1** tiene alta actividad anticancerígena, antiinflamatoria, antioxidante, neuroprotectora, etc.<sup>50</sup> Por ejemplo, en el tratamiento de enfermedades neurológicas, la ftálide **1** actúa como antidepresivo y se asocia con el aumento de los niveles de neuroesteroides (progesterona y alopregnanolona).<sup>51</sup> En la leucemia mieloide aguda (AML, por sus siglas en inglés), la ftálide **1** induce la apoptosis a altas concentraciones (25 a 100  $\mu\text{M}$ ) y promueve la diferenciación de células de AML a bajas concentraciones (10 a 25  $\mu\text{M}$ ) por medio de la regulación de los receptores nucleares Nur77 y NOR-1.<sup>52</sup> Estas propiedades farmacológicas indican que la ftálide **1** es un compuesto prometedor para el desarrollo de nuevos fármacos.

### 1.2.4 Reactividad

La ftálide **1** es un compuesto lábil a temperatura ambiente. En exposición al aire, la ftálide **1** se transforma lentamente en la *Z*-butilidenftálide (**2**).<sup>53</sup> En el estudio del mecanismo de

aromatización, Zhuang *et al.* reportaron cálculos de la DFT con experimentos de control que demuestran que la aromatización resulta de una reacción de oxidación directa entre el oxígeno molecular del aire en estado basal triplete con la ftálida **1**.<sup>53</sup> Duric *et al.* evaluaron la estabilidad de la ftálida **1** tanto dentro del material vegetal como en presencia de luz durante 41 días.<sup>54</sup> Los resultados mostraron que la luz tiene una fuerte influencia en la estabilidad de la ftálida **1** vía reacciones de fotodimerización. El principal producto de degradación fue la formación del dímero *endo*-(*Z,Z'*)-(3,8',8,3')-diligustílida (**10**) (*Figura 7*). Otros factores que influyen en la estabilidad de la ftálida **1** son el pH, cosolventes y antioxidantes.<sup>55</sup> Schinkovitz *et al.* caracterizaron los productos de descomposición de la ftálida **1** en la oscuridad a 4 °C durante 42 h mediante qHNMR y GC-MS, y evaluaron el efecto de disolventes orgánicos en la estabilidad de **1**.<sup>56</sup> El estudio mostró que los principales productos de degradación son la ftálida **2**, el ácido ftálico (**11**) y el butiraldehído (**12**) (*Figura 7*). Además, se encontró que la estabilidad de **1** aumenta en disolución más que en su forma pura. La mezcla Hex/AcOEt (9:1, v:v) mantiene una pureza del 99.2 % de **1** cuando se almacena a -30 °C durante un periodo de 41 días. Otros disolventes orgánicos, como MeOH y DMSO, también actúan como agentes estabilizadores.



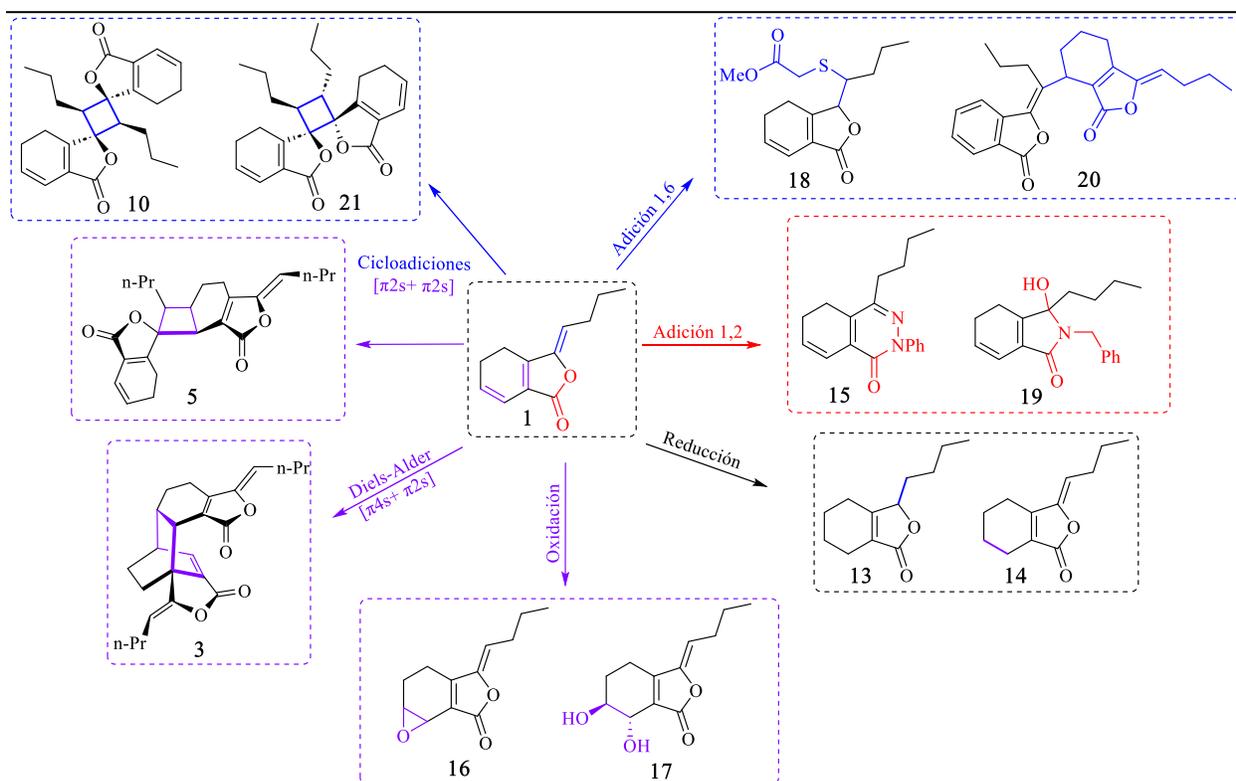
**Figura 7.** Productos de degradación de la ftálida *Z*-ligustilida (**1**).

En la exploración de la reactividad química de la ftálida **1**, se han obtenido productos de hidrogenación catalítica (**13,14**)<sup>46</sup>, de hidrólisis y tratamiento con fenilhidrazina (**15**), de epoxidación (**16, 17**)<sup>57</sup>, entre otros (*Figura 8*). Por ejemplo, Beck *et al.* llevaron a cabo reacciones de adición con nucleófilos de azufre y nitrógeno.<sup>58</sup> El carbonilo  $\alpha,\beta,\gamma,\delta$  insaturado en la estructura de la ftálida **1** le confiere reactividad electrofílica, por lo que actúa como aceptor de Michael con bases suaves, como el tioglicolato de metilo, para obtener el 8-(tioglicolil metil)-(6,7-dihidro)-*Z*-ligustilida (**18**). En presencia de bases fuertes como la bencilamina, la ftálida **1** experimenta adiciones 1,2 para dar lugar a la *N*-bencil-3-butyl-3-hidroxi-ftalimida (**19**).

---

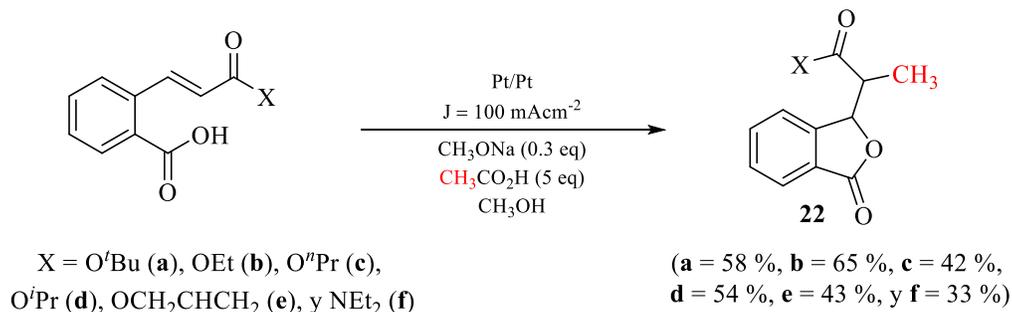
Rios *et al.* reportaron la obtención de la ftálida dimérica, diligustílida (**3**), al calentar la ftálida **1** en un tubo sellado a 160 °C durante 40 h, así como la síntesis de la dihidrologustílida y wallichilida a partir de la hidrogenación de **3**.<sup>59</sup> La ftálida **3** se obtuvo en mayor rendimiento, lo cual indica que la reacción de Diels-Alder fue regio- y estereoselectiva, en la que el ciclohexadieno homoanular y la olefina en el carbono 6 y 7 de la ftálida **1**, actúan como dieno y dienófilo, respectivamente (**Figura 8**). Dado el efecto de los ácidos de Lewis como catalizadores en la reacción de Diels-Alder<sup>60</sup>, Rios *et al.* realizaron la síntesis de la ftálida **3** en presencia de los ácidos Et<sub>2</sub>OBF<sub>3</sub> y SnCl<sub>4</sub>.<sup>61</sup> Sin embargo, el resultado fue la formación de ftálidas diméricas lineales (**20**). Por lo tanto, el ácido de Lewis forma complejos con el oxígeno del grupo carbonilo o con los carbonos olefínicos (C-6 y C-7) de la ftálida **1**, dando lugar a la formación de carbocationes que experimentan reacciones posteriores de adición intermolecular de Michael.

Por otro lado, Quiroz *et al.* reportaron la formación de fotociclodímeros [ $\pi 2s + \pi 2s$ ] al irradiar una disolución que contenía la ftálida **1** con una lámpara de Hg, bajo atmósfera de N<sub>2</sub> y a temperatura ambiente.<sup>62</sup> La reacción fotoquímica conduce a la formación de la ftálida riligustílida (**5**) (7 %), dímero natural aislado de la especie *Ligusticum chuanxiong*<sup>63</sup>, y tres dímeros simétricos en rendimientos de 18.5 % (**10**), 11 % y 7.5 %. El análisis de orbitales moleculares (HSOMO y LSOMO) y la evaluación de cargas de Mülliken indicaron que la regio- y estereoselectividad de la reacción se debe a la mayor reactividad del doble enlace entre el C-3 y C-8, dada su disponibilidad espacial y menor impedimento estérico. Para evaluar la influencia del catalizador en el producto de la reacción fotoquímica<sup>64</sup>, Shen *et al.* llevaron a cabo la reacción fotoquímica con el catalizador de Ir y obtuvieron la formación de la ftálida *endo*-(*Z,Z'*)-(3.8',8,3')-diligustílida (**21**) con un rendimiento del 70 %.<sup>65</sup> Por lo tanto, las condiciones de irradiación también influyen en la distribución de los productos diméricos de la ftálida **1**.



**Figura 8.** Reactividad química de la ftálide *Z*-ligustilida (**1**).

En electrosíntesis orgánica, se ha reportado la síntesis electroquímica de derivados de ftáldas mediante la oxidación de ácidos carboxílicos con electrodos de Pt en una celda no dividida.<sup>66</sup> En la que, mediante la oxidación directa de ácidos alifáticos, como el ácido acético, se obtienen radicales metilos que actúan como mediadores para la generación de radicales aroiloxi. Estos radicales centrados en oxígeno experimentan reacciones de adición intramolecular en presencia de dobles enlaces electrofílicos, para dar lugar a ftáldas sustituidas como el compuesto **22** con moderados y buenos rendimientos (**Figura 9**).



**Figura 9.** Reacción de lactonización electroquímica.

---

Duan *et al.* reportaron la síntesis de la 6,7-exopxiligustílida (**16**) mediante la oxidación de la ftálida *Z*-ligustílida en una disolución amortiguadora de acetato de amonio y acetonitrilo (1:1) con electrodos de GC.<sup>67</sup> Estos reportes sobre la electrosíntesis de derivados de ftálida destacan la ventaja de la técnica para acceder a nuevas rutas sintéticas de manera sostenible y económica en comparación a las metodologías de síntesis clásica.

### 1.3 Fundamentos de Electroquímica Orgánica

La electroquímica es una herramienta que permite estudiar y llevar a cabo reacciones de transferencia electrónica para la oxidación o reducción de moléculas en disolución. En química orgánica, estas reacciones no se asocian con la transferencia de electrones, sino con la transferencia de átomos de hidrógeno y oxígeno. Por ejemplo, el mecanismo de oxidación de compuestos alifáticos con permanganato se describe en términos de la transferencia de átomos de oxígeno, lo que resulta en la formación del alcohol y un resto de manganeso (V) inestable que evoluciona rápidamente en MnO<sub>2</sub> o Mn<sup>2+</sup> según el pH de la disolución.<sup>68</sup> Sin embargo, al considerar la estequiometría de la reacción, se observa que para que ocurra dicha reacción es necesaria una transferencia electrónica. En ese sentido, la electroquímica es una alternativa a los métodos de síntesis tradicionales que, en lugar de utilizar una especie oxidante o reductora, facilita la transferencia electrónica en disolución a través de un electrodo.<sup>69</sup>

A diferencia de la química orgánica tradicional, en la que la formación del intermediario reactivo y la posterior reacción química ocurren en disolución (fase homogénea), en electroquímica, la activación de la molécula se lleva a cabo en la superficie de un electrodo (fase heterogénea), y la reacción química tiene lugar en la disolución (fase homogénea).<sup>70</sup> La ventaja de utilizar un electrodo es que su potencial no es fijo y cambia de acuerdo a la diferencia de potencial impuesto mediante una fuente de poder externa. Esto permite la activación de diversas moléculas orgánicas en disolución y el acceso a nuevas rutas sintéticas.<sup>71,72</sup>

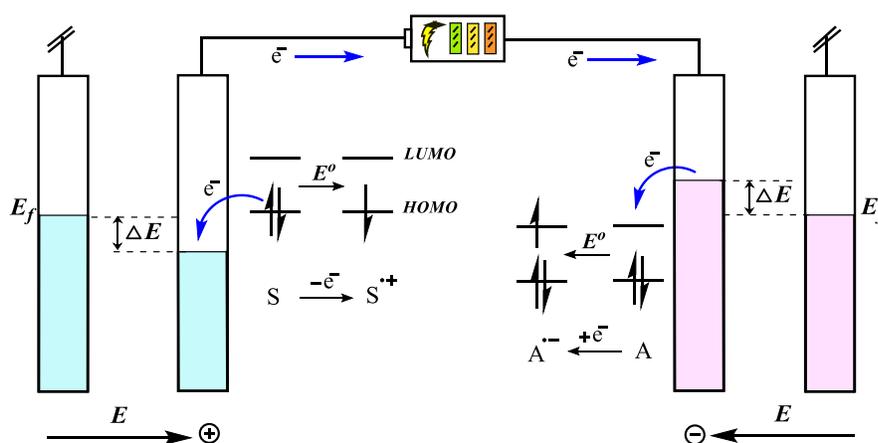
Siguiendo los principios 1 y 2 de la química verde<sup>73</sup>, el empleo de electrodos y fuentes de poder en lugar de agentes oxidantes y reductores reduce la generación de residuos tóxicos y aumenta la economía atómica de la reacción.<sup>72</sup> Además, las reacciones electroquímicas pueden llevarse a cabo bajo condiciones atmosféricas, por lo que evita el uso de sustancias y condiciones

---

peligrosas<sup>74</sup>, en línea con los principios 3, 5 y 12. Por lo tanto, la electroquímica se encamina a convertirse en un nuevo método de síntesis orgánica sostenible.

### 1.3.1 Principio de la transferencia electrónica

La activación de la molécula orgánica en la superficie del electrodo ocurre en la interface electrodo-disolución vía transferencia electrónica directa entre el sustrato en disolución y el electrodo.<sup>70</sup> En la mayoría de los casos, esta transferencia es de esfera externa, es decir, el electrón se transfiere sin la necesidad de la formación o ruptura de un enlace de la molécula en solución.<sup>75,76</sup> La energía de estabilización requerida es del orden de  $1 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ .<sup>75</sup> La transferencia electrónica depende del nivel de energía de los electrones en el electrodo y de la especie en disolución. El electrodo es un material conductor, cuyos electrones en el nivel más alto de energía son descritos por la energía del nivel de Fermi ( $E_f$ ).<sup>77</sup> La  $E_f$  no es fija y se modula al aplicar un potencial eléctrico ( $E$ ) con una fuente de poder externa. La aplicación de un  $E$  negativo desplaza la  $E_f$  hacia niveles de menor energía, mientras que un  $E$  positivo desplaza la  $E_f$  hacia niveles de mayor energía. Por lo tanto, la oxidación y reducción de la especie resulta termodinámicamente favorable según la  $E_f$  con respecto a la energía de los orbitales moleculares (HOMO y LUMO, por sus siglas en inglés) de una especie en disolución. Estos orbitales se encuentran relacionados con su potencial estándar ( $E^o$ ), que es el mínimo de energía para que ocurra el proceso de transferencia electrónica (*Figura 10*).



**Figura 10.** Principio de la transferencia electrónica en la interface electrodo-electrolito en una celda electrolítica.

---

La velocidad de la transferencia electrónica en la superficie del electrodo está limitada por la energía de activación. Para disminuir esta barrera de energía, se suministra un  $E$  mayor al potencial estándar ( $E^0$ ). Esta diferencia de potencial se denomina sobrepotencial ( $\eta$ ) y determina la rapidez con la que ocurre la transferencia electrónica entre el electrodo y la especie en disolución.<sup>78</sup>

$$\eta = E - E^0 \quad (1.1)$$

### 1.3.2 Doble capa eléctrica

En la región de la interface electrodo-disolución se genera la doble capa eléctrica resultado de la aplicación de una diferencia de potencial eléctrico ( $\Delta E$ ) en el electrodo que induce su polarización y resulta en la formación de una capa cargada en la superficie del electrodo.<sup>79</sup> Los iones solvatados del electrolito forman una capa alrededor de la superficie cargada del electrodo para mantener el balance de cargas. Esta interacción electrostática da lugar a la formación de la doble capa eléctrica, cuyo grosor está entre 1 y 10 nm, dependiendo de la  $\Delta E$  aplicado en el electrodo.<sup>77</sup> La doble capa eléctrica genera un gradiente de energía con una  $\Delta E \geq 1$  V entre la superficie del electrodo y el seno de la disolución, y una caída del  $E$  en el orden de  $10^6$  V·cm<sup>-1</sup>.<sup>77</sup> Como resultado de la formación del gradiente de  $E$ , sólo las especies cercanas a la superficie del electrodo experimentan la reacción de oxidación o reducción.

### 1.3.3 Factores que limitan la velocidad de la reacción electroquímica

La reacción electroquímica genera una corriente eléctrica ( $i$ ), denominada corriente Faradaica, y se expresa por la ecuación 1.2. Donde la  $i$  es directamente proporcional a la carga ( $Q$ ) que pasa por el electrodo. De acuerdo con la ley de Faraday<sup>80</sup>, la  $Q$  es proporcional al número de electrones involucrados en la reacción ( $n$ ), los moles del compuesto ( $N$ ) y la constante de Faraday ( $F$ ) (Ecuación 1.3).

$$i = Q/t \quad (1.2)$$

$$Q = n \cdot N \cdot F \quad (1.3)$$

---

La corriente Faradaica está condicionada por la velocidad de la transferencia electrónica. De acuerdo con Bard *et al.*<sup>81</sup>, la velocidad de la reacción electroquímica y, por ende, la corriente Faradaica generada está limitada por los siguientes procesos:

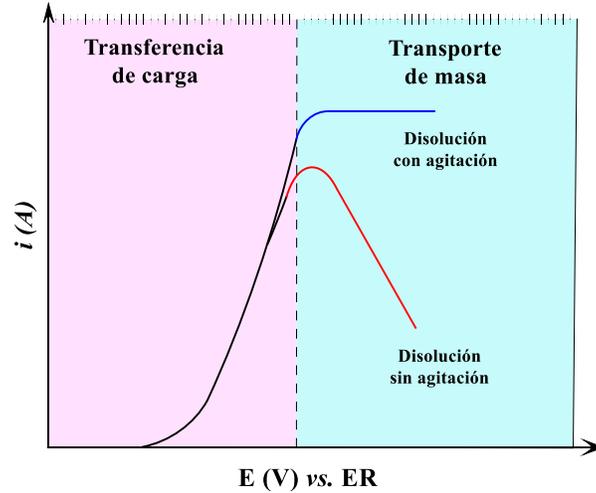
1. Transferencia electrónica en la superficie del electrodo.
2. Transporte de masa.
3. Reacciones químicas antes o después de la transferencia electrónica. Protonación y dimerización (fase homogénea), y descomposición catalítica (fase heterogénea).
4. Reacciones superficiales (procesos de adsorción, desorción, etc.).

La transferencia de carga y el transporte de masa son los principales factores que influyen en la velocidad de la reacción electroquímica. Si el paso limitante de la reacción es la transferencia de carga, la densidad de corriente generada ( $j = i/\text{área del electrodo}$ ) está descrita por la ecuación de Butler-Volmer (BV) (Ecuación 1.4). Donde la  $j$  en el electrodo depende del  $\eta$  aplicado, considerando que tanto la reacción anódica como la catódica ocurren en el mismo electrodo.

$$j = j_a - j_c = j_o [e^{(\alpha n F \eta / RT)} - e^{-(1-\alpha) n F \eta / RT}] \quad (1.4)$$

$j_a$  y  $j_c$  son las densidades de corriente anódica y catódica,  $j_o$  es la densidad de corriente de intercambio,  $\alpha$  es el coeficiente de transferencia,  $R$  es la constante de los gases ideales y  $T$  es la temperatura.

Cuando la reacción electroquímica está controlada por el transporte de masa, el sistema alcanza el máximo de corriente Faradaica ( $i_{max}$ ). Es decir, la transferencia electrónica es tan rápida en la superficie del electrodo que ahora la velocidad de la transferencia está limitada por la concentración de las especies en la superficie del electrodo (*Figura 11*).

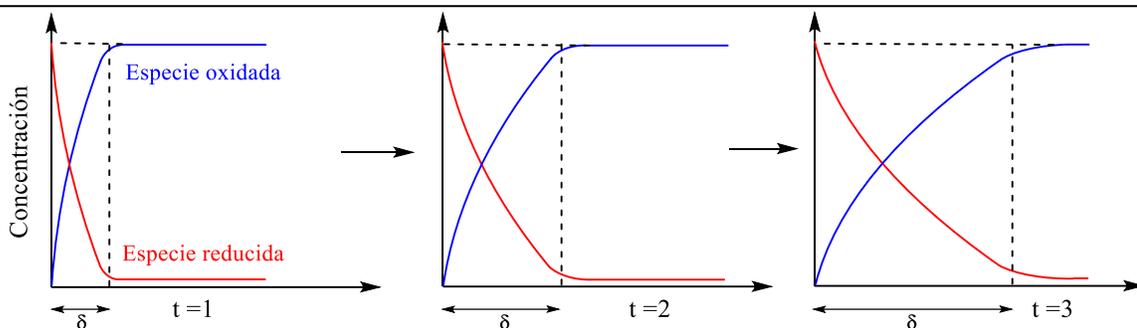


**Figura 11.** Curva voltamperométrica en régimen estacionario y no estacionario.

Si la velocidad de la reacción electroquímica está limitada por el transporte de masa, la  $\mathbf{j}$  está descrita por la ecuación de Nernst-Planck (Ecuación 1.5).<sup>81</sup>

$$\mathbf{j}(x) = -D \frac{\partial C(x)}{\partial x} - \frac{zF}{RT} DC \frac{\partial \phi(x)}{\partial x} + Cv(x) \quad (1.5)$$

Existen tres modos de transporte de masa: migración, difusión y convección. Sin embargo, el término por migración,  $\left(\frac{zF}{RT} DC \frac{\partial \phi(x)}{\partial x}\right)$ , se desprecia dado que el electrolito soporte está en alta concentración comparado con la especie en disolución.<sup>82</sup> El primer término corresponde al transporte por difusión, donde  $D$  es el coeficiente de difusión y  $\frac{\partial C(x)}{\partial x}$  es el gradiente de concentración de la especie en disolución a una distancia  $x$  de la superficie del electrodo. El tercer término es el aporte por convección, donde  $v(x)$  es la velocidad con la cual el volumen de la disolución se mueve a lo largo del eje ( $x$ ). En régimen estacionario, la  $\mathbf{j}$  depende únicamente del transporte por difusión. La **Figura 12** muestra los perfiles de concentración de la especie y el producto en una disolución sin agitación. El aumento en la capa de difusión ( $\delta$ ) y el gradiente de concentración con el tiempo de electrólisis causa la disminución de la  $\mathbf{j}$  (**Figura 11**).



**Figura 12.** Evolución de los perfiles de concentración en función del tiempo de electrólisis, disolución sin agitación.

Por el contrario, en una disolución con agitación, la  $\delta$  disminuye hasta que la  $j$  depende sólo del transporte por convección. Bajo estas condiciones, el gradiente de concentración es constante, y la velocidad de la transferencia electrónica está limitada por el grosor de la  $\delta$  (Ecuación 1.6).<sup>81</sup>

$$i_{max} = nF D c / \delta \quad (1.6)$$

### 1.3.4 Celdas electroquímicas

La celda electroquímica es un dispositivo mediante el cual la energía eléctrica se convierte en energía química o viceversa. Las celdas electroquímicas se dividen en celdas galvánicas y electrolíticas. Las celdas galvánicas producen energía eléctrica mediante una reacción redox espontánea en el electrodo.<sup>83</sup> Por el contrario, en la celda electrolítica, se utiliza energía eléctrica para impulsar la reacción redox no espontánea (**Figura 10**).

### 1.3.5 Componentes de una celda electrolítica

La celda electrolítica consta de una fuente de poder conectada a dos o tres electrodos que están sumergidos en la disolución de la reacción (**Figura 27**). En el laboratorio, se utilizan dos tipos de celdas: la dividida y la no dividida. En la celda no dividida, los electrodos se colocan en un mismo recipiente y comparten la disolución de la reacción. Esta celda se utiliza cuando el producto de la reacción es estable bajo las condiciones electroquímicas. Por el contrario, si el producto es inestable o genera una mezcla de productos compleja, se utiliza la celda dividida. En la celda dividida, los electrodos están separados por un material poroso que permite mantener la conductividad en la celda electrolítica.<sup>84</sup>

---

- **Fuente de Poder**

La fuente de poder permite llevar a cabo la reacción mediante el suministro de electricidad que da lugar al movimiento de los electrones del ánodo al cátodo.<sup>85</sup> En electroquímica se utilizan dos tipos de fuente de poder: potencióstatos y galvanostatos. El potencióstato controla la  $\Delta E$  aplicado al **ET** y el galvanostato controla el flujo de  $i$  que pasa a través del **ET** y el **EA** en la celda electroquímica.<sup>84</sup>

- **Electrodos**

Los electrodos son materiales sólidos que están en contacto con un medio, al que transmiten o del que reciben una corriente eléctrica.<sup>86</sup> Los electrodos deben poseer conductividad eléctrica, estabilidad química y electroquímica a las diferentes condiciones de reacción, rápida transferencia electrónica y reproducibilidad en sus propiedades eléctricas, químicas y microestructurales.<sup>86</sup> Los electrodos varían en términos de constitución, área superficial, precio, disponibilidad y estabilidad. Dado que la reacción redox ocurre en la superficie del electrodo, la elección del material afecta la selectividad, rendimiento y la eficiencia faradaica de la reacción.<sup>87</sup>

**Electrodo de trabajo (E.T.):** es el electrodo en el que ocurre la reacción de interés. En reacciones de oxidación, se emplean electrodos inertes a la reacción de oxidación, como Pt, Au, BDD y materiales a base de C (grafito, carbono vítreo (GC), GC reticulado). En las reacciones de reducción, la mayoría de los materiales son estables. Generalmente, se emplean electrodos de Pt, Au, materiales a base de C (grafito, GC, GC reticulado), acero inoxidable, Fe, Zn, Cu, Ni, entre otros.<sup>88</sup>

**Contraelectrodo o electrodo auxiliar (EA):** es el electrodo en el que se lleva a cabo un proceso electroquímico contrario al que ocurre sobre el **ET**, con el fin de cerrar el circuito eléctrico en la celda electroquímica.<sup>86</sup> La especie redox con la que se lleva a cabo la transferencia electrónica en el **EA** es diferente a la del **ET**. Las reacciones que ocurren en el **EA** deben ser favorables para evitar que limiten la velocidad de la reacción en el **ET**. Para las reacciones de oxidación, si el electrodo se corroe, se emplean metales de Cu, Zn, Ni, Mg como ánodos de sacrificio, y en

---

reacciones de reducción, se utilizan materiales que promuevan la reacción de evolución de hidrógeno.<sup>88</sup>

**Electrodo de referencia (ER):** es el electrodo que permite controlar el potencial eléctrico que se aplica al **ET**. Por ello, el **ER** debe ser estable y no polarizable, tener un potencial de equilibrio conocido y ser reproducible.<sup>89,90</sup>

- **Disolución electrolítica**

La disolución electrolítica es el medio en una reacción electroquímica que mantiene el flujo de la corriente por medio de la conductividad iónica.<sup>91</sup> La conductividad iónica de la disolución electrolítica depende de las propiedades de la sal, conocida como electrolito soporte y el disolvente. La sal proporciona los transportadores de carga, la mayoría de los cuales son electrolitos fuertes que se disocian completamente en sus respectivos iones al disolverse. El electrolito soporte se caracteriza por ser soluble en el disolvente, tener una alta estabilidad a la  $\Delta E$  aplicado y a las condiciones químicas de la reacción.<sup>92</sup> La concentración del electrolito soporte debe ser como mínimo 30 veces mayor a la concentración de la especie redox<sup>92</sup> para aumentar la conductividad de la disolución y evitar la contribución por migración al transporte de masa. En disolventes orgánicos se utilizan sales con características orgánicas, como las sales de amonio, dada su alta estabilidad y solubilidad.<sup>91</sup>

El disolvente es el medio en el que se lleva a cabo la reacción. Las propiedades del disolvente dependen del tipo de aplicación, pero la principal característica, es el alto poder de solvatación para disolver la sal y alcanzar una alta conductividad iónica. Además de solvatar al sustrato, el disolvente debe tener una alta estabilidad, baja reactividad, baja viscosidad y una alta constante dieléctrica que permita el transporte de las especies en disolución.<sup>82</sup> Dependiendo del tipo de reacción, los disolventes más utilizados en electroquímica son próticos<sup>93</sup>, mezclas de disolventes próticos y orgánicos<sup>94</sup>, y disolventes orgánicos como nitrilos, halogenados, amidas, sulfóxidos, sulfonas, éteres, carbonatos y lactonas.<sup>82</sup>

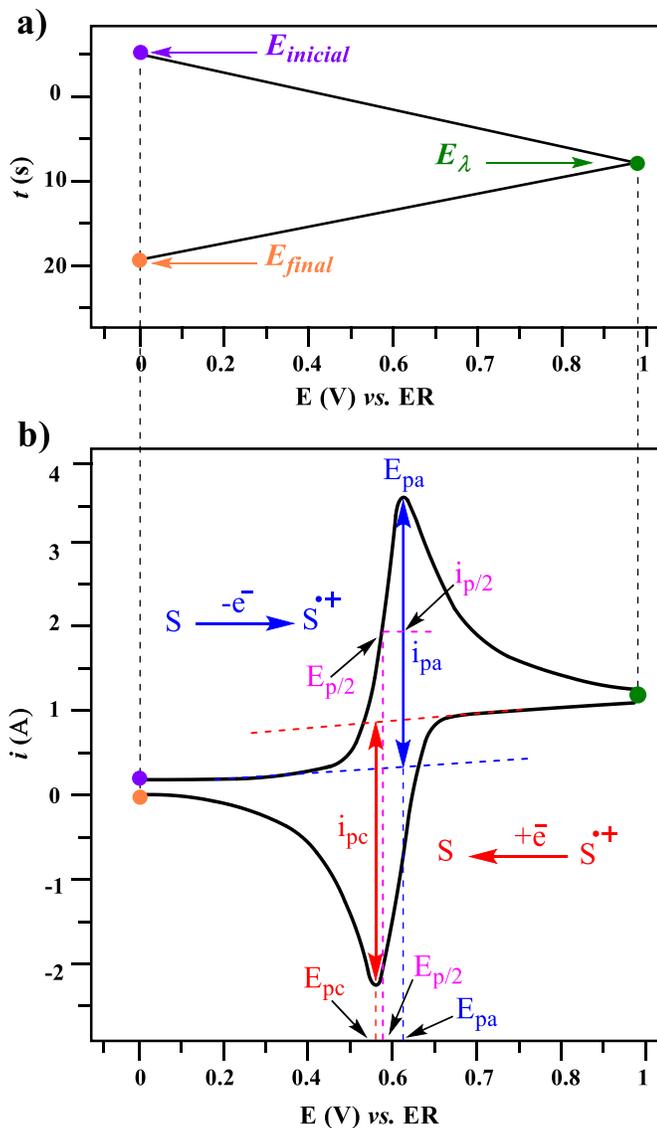
---

## 1.4 Técnicas Electroquímicas

La reacción electroquímica es un proceso heterogéneo que involucra el transporte de masa del seno de la disolución a la superficie del electrodo, la transferencia electrónica entre la superficie del electrodo y la especie en disolución, y el transporte de la especie generada al seno de la disolución. Las técnicas que se limitan al estudio de la transferencia electrónica en la superficie del electrodo se denominan técnicas electroanalíticas, como la voltamperometría cíclica (VC). Por otro lado, las técnicas que modifican la composición del seno de la disolución se conocen como electrólisis a escala preparativa. En este trabajo de investigación se utilizaron la voltamperometría cíclica, la electrólisis a potencial constante y la electrólisis a corriente constante, como se describe a continuación:

### 1.4.1 Voltamperometría cíclica (VC)

La voltamperometría cíclica (VC) es una técnica potenciodinámica que aporta información del comportamiento redox de la especie, mecanismo de reacción y parámetros termodinámicos.<sup>95</sup> En esta técnica electroanalítica, se emplea un área superficial del electrodo pequeña (0.008 y 0.070 cm<sup>2</sup>) en relación con el volumen de la disolución (2 y 10 mL)<sup>96</sup>, y el principal modo de transporte de masa es la difusión. La VC consiste en aplicar un barrido de  $E$  en el ET, el cual está inmerso en una disolución sin agitación, y medir la respuesta de la señal de la  $i$ . El barrido de  $E$  es lineal en el tiempo con una forma de onda triangular (**Figura 13a**), que indica un barrido de  $E$  entre dos valores, denominados potenciales de inversión ( $E_{\lambda}$ ). Los intervalos de  $E$  aplicados al ET se escogen considerando los valores en los que ocurre la reacción redox. El voltamperograma cíclico resulta de la medición de la  $i$  en el ET durante el barrido de  $E$  (**Figura 13b**). Debido a que el barrido de  $E$  varía linealmente con el tiempo, el eje horizontal en la **Figura 13b** también se puede considerar como un eje de tiempo.



**Figura 13.** a) Potencial aplicado en función del tiempo para un experimento de voltamperometría cíclica. b) Voltamperograma cíclico para especies electroactivas reversibles.

La **Figura 13** muestra el voltamperograma cíclico para una especie electroactiva (S). En el barrido a  $E$  positivos, se observa que al alcanzar el potencial de pico anódico ( $E_{pa}$ ), se obtiene el máximo de la corriente de pico anódica ( $i_{pa}$ ). Por el contrario, en el barrido de inversión (a  $E$  negativos), se alcanza el potencial de pico catódico ( $E_{pc}$ ) y se obtiene el máximo de la corriente de pico catódica ( $i_{pc}$ ). Los máximos de  $i_{pa}$  y  $i_{pc}$  indican la disminución de un estado de oxidación, como se observa en los perfiles de concentración de la **Figura 12**. La corriente es directamente proporcional a la pendiente de los perfiles de concentración de la especie en la superficie del electrodo. Por lo tanto, la VC es capaz de generar rápidamente un nuevo estado de oxidación

durante el barrido de ida y explorar el comportamiento químico y electroquímico de la especie generada en la superficie del electrodo en el barrido de inversión. Cuando la especie en disolución es química y electroquímicamente reversible<sup>97</sup> se observa un voltamperograma como el de la **Figura 13b**, denominado sistema reversible. En sistemas reversibles, la ecuación de Nernst (Ecuación 1.7), permite relacionar el potencial de celda con la concentración de las especies en la superficie del electrodo.

$$E = E^{o'} - \frac{RT}{nF} \left( \ln \frac{C_{Red}}{C_{ox}} \right) \quad (1.7)$$

$E^{o'}$  es el potencial formal (potencial estándar en las condiciones experimentales) en voltios (V) y  $C$  la concentración de las especies en disolución en mol·L<sup>-1</sup>. El  $E^{o'}$  se calcula con relación al  $E_{pc}$  y  $E_{pa}$  experimental (Ecuación 1.8), y  $n$  se determina a partir de la separación entre los potenciales de pico ( $\Delta E_p$ ) (Ecuación 1.9).

$$E^{o'} = \frac{E_{pa} + E_{pc}}{2} \quad (1.8)$$

$$\Delta E_p = E_{pa} - E_{pc} \cong \frac{0.059}{n} \quad (1.9)$$

Para evaluar si un sistema es reversible, cuasi- e irreversible se utilizan los siguientes criterios<sup>98</sup>:

a) Parámetro adimensional ( $\Lambda = k^0 \sqrt{RT/FD\nu}$ )

Sistema reversible  $\Lambda > 15$ ; cuasi reversible  $15 \geq \Lambda \geq 10^{-2(1+\alpha)}$ ; irreversible  $\Lambda < 10^{-2(1+\alpha)}$ .

b) Separación entre los potenciales de pico ( $\Delta E_p$ )

En sistemas reversibles, la velocidad de barrido es independiente de  $\Delta E_p$ , y dependiente de  $\Delta E_p$  en sistemas cuasi- e irreversibles. En sistemas reversibles, la  $\Delta E_p \leq 57$  mV (298 K), y en sistemas cuasi- e irreversibles, la  $\Delta E_p \geq 57$  mV (298 K).

---

c) Separación entre el  $E_p$  y el potencial de medio pico ( $E_{p/2}$ )

$$\text{Sistema reversible: } |E_{p/2} - E_p| = 2.218 \frac{RT}{F}$$

$$\text{Sistema irreversible: } |E_{p/2} - E_p| = 1.857 \frac{RT}{\alpha F}$$

De acuerdo con Savéant & Costentin<sup>98</sup>, el  $E_p$  tiene una relación lineal con el  $\ln(v)$  para un sistema irreversible (Ecuación 1.10).

$$E_{pc} = E^{o'} - \frac{RT}{\alpha n F} \left[ 0.780 + \ln \left( \frac{D^{\frac{1}{2}}}{k^0} \right) + \ln \left( \frac{\alpha n F}{RT} \right)^{\frac{1}{2}} \right] - \frac{RT}{2 \alpha n F} \ln (v) \quad (1.10)$$

$\alpha$  es el coeficiente de transferencia electrónica,  $k^0$  la constante de velocidad heterogénea estándar en  $\text{cm} \cdot \text{s}^{-1}$ ,  $v$  la velocidad de barrido en  $\text{V} \cdot \text{s}^{-1}$  y  $D$  es el coeficiente de difusión en  $\text{cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ .

d) Corriente de pico ( $i_p$ )

Para un sistema reversible como la **Figura 13b**, la  $i_p$  se describe por la ecuación de Randles-Sevcik (Ecuación 1.11) a 25 °C, donde  $A$  es el área electroactiva en  $\text{cm}^2$ ,  $C$  la concentración de las especies en disolución en  $\text{mol} \cdot \text{cm}^{-3}$ ,  $n$  el número de electrones,  $D$  el coeficiente de difusión en  $\text{cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$  y  $v$  la velocidad de barrido en  $\text{V} \cdot \text{s}^{-1}$ .

$$i_p = (2.69 \times 10^5) \cdot A \cdot C \cdot n^{3/2} \cdot D^{1/2} \cdot v^{1/2} \quad (1.11)$$

Para especies irreversibles, la ecuación 1.11 se modifica debido a la corrección de términos cinéticos, en la que se incluye al coeficiente de transferencia electrónica ( $\alpha$ ), y se tiene:

$$i_p = (2.99 \times 10^5) \cdot A \cdot C \cdot n \cdot D^{1/2} \cdot v^{1/2} \cdot \alpha^{1/2} \quad (1.12)$$

---

- **Electrólisis a escala preparativa**

La electrólisis a escala preparativa, conocida como coulometría, es una reacción electroquímica a escala de mmol a mol para el posterior aislamiento, caracterización y aplicación de los productos obtenidos.<sup>99</sup> La cantidad de sustrato consumido es directamente proporcional a la cantidad de carga total consumida (Ecuación 1.3). Para lograr la conversión cuantitativa se optimiza el diseño de la celda electroquímica<sup>100</sup>, el tamaño y el material del electrodo.<sup>101</sup> Además, se emplean grandes áreas superficiales del electrodo (alrededor de 1 y 50 cm<sup>2</sup>) en relación con el volumen de la disolución, entre 2 y 50 mL, para conseguir un transporte de masa efectivo. En esta técnica, el transporte de masa tiene un principal aporte por convección.<sup>102</sup>

#### 1.4.2 Electrólisis a potencial controlado o constante (EPC)

La electrólisis a potencial constante o potencioestática es un modo de electrólisis en el que se emplea un potencioestado y tres electrodos (**ET**, **ER** y **EA**). El potencioestado mantiene un **E** constante en el **ET** con respecto al **ER**, mientras la corriente que pasa entre el **ET** y el **EA** cambia durante el tiempo de electrólisis.<sup>96</sup> La resistencia que experimenta la **i** al pasar a través del medio de la disolución resulta en la caída óhmica del potencial<sup>103</sup>, y esta descrita por la Ley de Ohm (Ecuación 1.13). Donde **i** es la corriente en amperes (A),  $R_s$  es la resistencia de la celda en ohms ( $\Omega$ ) y  $E_{ir}$  es el potencial en voltios (V).

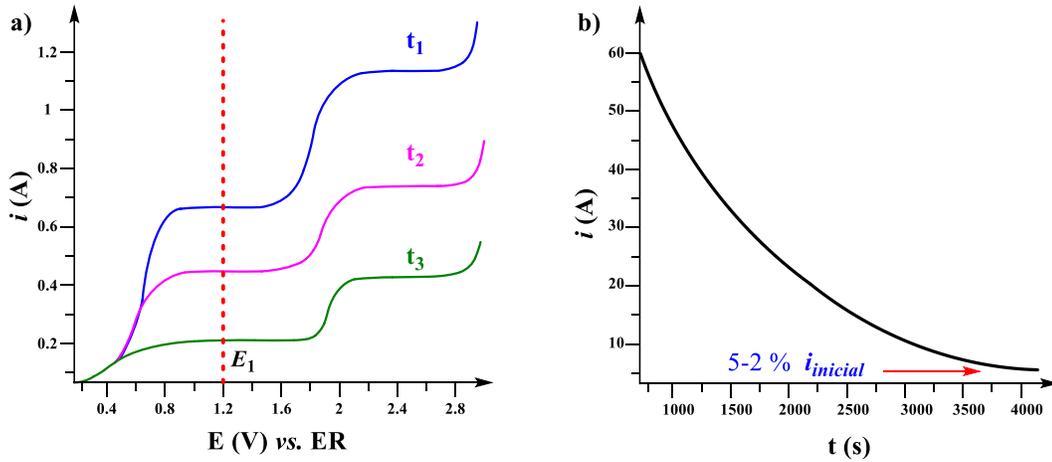
$$E_{ir} = i \cdot R_s \quad (1.13)$$

La corriente de celda, la resistencia y la caída óhmica varían conforme cambian las condiciones de la disolución durante la electrólisis. El potencial de celda ( $E_{cel}$ ) se define como la diferencia de **E** aplicado entre el **ET** y el **EA**.<sup>104</sup> Durante el proceso de electrólisis, el cambio en las condiciones de la reacción, la corriente de celda, y la resistencia resultan en la variación del  $E_{cel}$ . Dado que el potencioestado permite mantener constante el **E** en el **ET** con respecto al **ER** en el tiempo de electrólisis (**Figura 14a**), esta variación del **E** a medida que cambia el  $E_{cel}$ , sólo lo experimenta el **EA**. Por lo tanto, el **E** en el **EA** cambia dependiendo de la naturaleza de la reacción, el electrodo, y las condiciones de la reacción.

En ese sentido, si se conoce el potencial redox de la especie en disolución, la reacción potenciostática permite una reacción selectiva o evita la sobre-electrólisis de los productos durante el tiempo de reacción. En la **Figura 14b**, se muestra que la  $i$  es proporcional a la concentración de las especies electroactivas a un potencial aplicado y que su valor decae a medida que se consume el sustrato en la disolución. Una vez que la corriente alcanza el 5 o el 2 % de su valor inicial se tiene una estimación de que entre el 95 y 98 % del sustrato ha sido transformado, y por ende se puede concluir la electrólisis.<sup>96</sup> La contribución de la corriente capacitiva es baja dado que de acuerdo con la ecuación 1.14, la corriente capacitiva disminuye si el  $E$  aplicado al ET es constante en el tiempo.

$$i = \frac{\partial Q}{\partial t} = C \frac{\partial E}{\partial t} \quad (1.14)$$

Donde  $C$  es la capacitancia en  $C \cdot V^{-1}$ ,  $E$  es el potencial en V y  $t$  es el tiempo en s.



**Figura 14.** a) Potencial constante y cambio de la corriente en las curvas de  $i$  vs.  $E$  a diferentes tiempos de electrólisis bajo régimen convectivo. b) Cambio de la corriente en el tiempo de electrólisis bajo condiciones potenciostáticas.

La electrólisis a potencial constante también se puede llevar a cabo en dos electrodos (ET y EA). En este modo de electrólisis, el  $E_{cel}$  se mantiene constante y la  $i$  de celda varía conforme el avance de la reacción. Para mantener constante el  $E_{cel}$  durante el tiempo de electrólisis, la  $\Delta E$  aplicado en el ET y el EA cambia en función de las condiciones de la reacción, la  $i$  de celda y la  $R_s$ . Por lo tanto, si el producto de la reacción es inestable, éste puede llevar a cabo posteriores

---

reacciones que disminuyen la selectividad de la reacción. La electrólisis a potencial constante con dos electrodos utiliza fuentes de poder normales y portátiles<sup>104</sup>, por lo que se ocupa equipos de menor costo en relación con los potenciostatos.

### 1.4.3 Electrólisis a corriente controlada o constante (ECC)

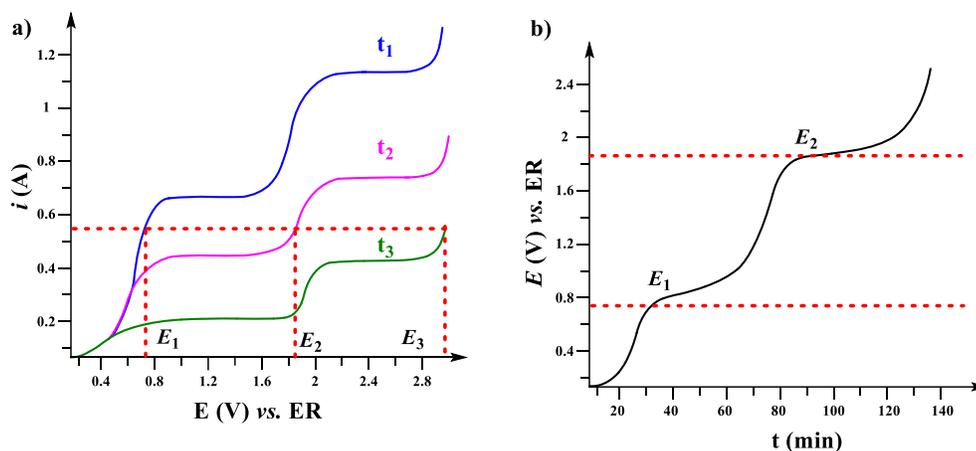
La electrólisis a corriente constante o galvanostática es un modo de electrólisis que utiliza una fuente de poder para pasar corriente directa entre dos electrodos (ET y EA). Dado el bajo costo del equipo y su fácil empleo, la electrólisis galvanostática es la técnica más utilizada en electrosíntesis cuando los productos de la reacción son estables.<sup>105</sup> La fuente de poder permite imponer una  $i$  constante mientras el  $E_{cel}$  es monitoreado durante el tiempo de reacción. La  $\Delta E$  aplicado en el ET y el EA cambia en dependencia de la  $R_s$  para mantener constante la  $i$  de celda.<sup>104</sup> Esta variación de la energía en los electrodos con el transcurso del tiempo compromete la selectividad y el rendimiento de la reacción. Para evitar el aumento de la  $R_s$ , y por ende el  $E_{cel}$ , se utilizan celdas con una menor separación y mayor área superficial de los electrodos.

Otro factor que limita la selectividad de la reacción es la  $i$  aplicada a la celda. De acuerdo con la ecuación 1.13, altos valores de  $i$  implican un aumento en el  $E_{cel}$ . Si la  $\Delta E$  que se impone en el ET y el EA por el aumento del  $E_{cel}$  alcanza la energía necesaria para consumir a la especie electroactiva en la interfase, su concentración disminuye y la  $\Delta E$  impuesto en el ET y el EA continúa en aumento con el tiempo de electrólisis (**Figura 15b**). Por lo tanto, la selectividad del sustrato inicial decae en caso de que éste sea electroactivo. Por ende, para evitar estas reacciones secundarias, se utilizan valores moderados de  $i$  que permiten el consumo cerca del 90 % del sustrato inicial antes de favorecer reacciones secundarias o sobre-electrólisis.<sup>106,107</sup> En ese sentido, el valor de la  $i$  aplicada a la celda controla indirectamente el  $E$  aplicado con el tiempo de electrólisis (**Figura 15a**). La selectividad de esta técnica depende de la concentración de la especie a electrolizar en la interfase del electrodo, así que encuentra especial valor en reacciones electrocatalíticas que emplean mediadores, o en celdas de flujo donde la concentración de especies en el electrodo se mantiene constante.

En la reacción electroquímica, la eficiencia faradaica ( $n_f$ ) se define como la cantidad de electrones transferidos en la reacción que forman parte del producto. Se calcula a partir de la carga teórica ( $Q_{teórica}$ ) y la carga experimental ( $Q_{exp}$ ) en coulombs (C), ecuación 1.15.

$$n_f = \frac{Q_{teórica}}{Q_{exp}} \times 100 \% \quad (1.15)$$

Si la reacción tiene una alta  $n_f$ , el cálculo de la carga teórica con la ecuación 1.2 y 1.3, proporciona información de la  $i$  y el tiempo necesario para detener la reacción y lograr una alta selectividad.<sup>108</sup> Sin embargo, en reacciones en las que la carga consumida no puede ser determinada por la baja  $n_f$  o por el aumento en el  $E_{cel}$ , el consumo total del sustrato en la reacción es monitoreado por técnicas externas de análisis como cromatográficas<sup>105</sup> y espectroscópicas.<sup>109</sup>



**Figura 15.** a) Corriente constante y cambio del potencial en las curvas de  $i$  vs.  $E$  a diferentes tiempos de electrólisis. b) Cambio del potencial en el tiempo de electrólisis bajo condiciones galvanostáticas.

---

## Capítulo 2.

### Planteamiento del problema

La ftálica *Z*-ligustílida es un metabolito secundario presente principalmente en la familia vegetal Umbelliferae, que tiene una amplia variedad de actividades farmacológicas conocidas. La síntesis orientada a la diversidad estructural de la ftálica *Z*-ligustílida ha permitido explorar el espacio químico para la obtención de derivados con mayor actividad biológica. Sin embargo, la mayoría de las metodologías reportadas para la obtención de estos derivados de ftálica utilizan reacciones clásicas de síntesis orgánica. Estas reacciones tienen baja economía atómica, bajos rendimientos, consumen alta energía y generan contaminantes ambientales, muchos de ellos tóxicos para la salud. En ese sentido, la electrosíntesis orgánica es una nueva alternativa para explorar la reactividad química de la ftálica y podría generar derivados con actividad biológica interesante y novedosa. Esta alternativa se encamina a ser un método de síntesis sostenible porque evita el uso de agentes oxidantes y reductores por medio de la imposición de un potencial en el electrodo que permite activar a las moléculas orgánicas en disolución.

### Hipótesis

La electroquímica permitirá explorar la reactividad de la ftálica *Z*-ligustílida a partir de la formación de intermediarios reactivos, y generar derivados de ftálica con actividad biológica modulada.

---

## Objetivo General

Estudiar la reactividad química de la ftálida *Z*-ligustílida con técnicas electroquímicas y llevar a cabo su transformación electroquímica para generar derivados de ftálida con actividad biológica modulada.

## Objetivos Específicos

1. Aislar y purificar la ftálida *Z*-ligustílida a partir de un extracto hexánico de las raíces de *Ligusticum porteri*.
2. Caracterizar electroquímicamente la ftálida *Z*-ligustílida en diferentes electrodos de trabajo, electrolitos soporte y disolventes.
3. Explorar reacciones de transformación electroquímica de la ftálida *Z*-ligustílida.
4. Purificar y caracterizar por métodos espectroscópicos los derivados de ftálida electrogenerados.
5. Realizar la evaluación de algunas actividades biológicas de los derivados de ftálida electrogenerados.

---

## Capítulo 3.

### Aislamiento, purificación y caracterización de la ftálica *Z*-ligustilida

#### 3.1 Introducción

Los métodos de extracción, aislamiento, purificación y caracterización de productos naturales han sido previamente estudiados por diferentes grupos de investigación.<sup>110</sup> La ftálicas, incluyendo **1**, son compuestos relativamente no polares de los aceites esenciales de su especie vegetal. Para su extracción se han empleado distintas técnicas, que incluyen maceración con disolventes orgánicos lipofílicos<sup>49</sup>, extracción líquida presurizada<sup>111</sup>, extracción asistida por ultrasonido<sup>112</sup>, y extracción por fluidos supercríticos<sup>54</sup>, en los que se busca optimizar la cinética del proceso de extracción, aumentar el contacto de la superficie de la muestra con el disolvente y preservar la estabilidad de los compuestos activos durante la extracción. En la purificación de la ftálica **1** se han reportado diferentes técnicas de separación, que incluyen HSCCC<sup>54,56</sup>, HPLC<sup>113</sup>, Prep TLC<sup>114</sup> y CC.<sup>49</sup> En este capítulo se describe el aislamiento, purificación y caracterización de la ftálica **1** a partir de un extracto hexánico obtenido por maceración de las raíces secas de *Ligusticum porteri*.

#### 3.2 Aislamiento y purificación mediante técnicas cromatográficas

##### 3.2.1 Cromatografía de adsorción en columna (CC)

En el aislamiento y purificación del extracto hexánico se utilizó la cromatografía de adsorción en columna dada su simplicidad, alta capacidad y bajo costo del adsorbente (SiO<sub>2</sub>). La separación se basa en las diferencias de afinidad del analito por la fase estacionaria (adsorbente) y la fase móvil (eluyente).<sup>115</sup>

##### 3.2.2 Sección experimental

###### *Información general*

La cromatografía en capa fina (ccf) se realizó en cromatofolios analíticos de Merck 60 F<sub>254</sub> con un espesor de 0.2 mm. La purificación por cromatografía en columna se llevó a cabo con gel de sílice de malla molecular 70-230 (CC por gravedad) y 230-400 (CC rápida). El sistema de

---

---

elución empleado fue una mezcla de *n*-hexano (Hex):acetato de etilo (AcOEt). Los disolventes se destilaron previo a su utilización. Para su visualización se utilizaron luz ultravioleta (UV) y disoluciones de sulfato cérico de amonio y molibdato de amonio como reveladores.

Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) se adquirieron en equipos Bruker Avance III a 400 MHz, Bruker Avance III a 300 MHz y se reporta los desplazamientos químicos ( $\delta$ ) en partes por millón (ppm), usando cloroformo deuterado ( $\text{CDCl}_3$ ) como disolvente y tetrametilsilano (TMS) como referencia interna, de la marca Aldrich. Los espectros de infrarrojo (IR) fueron adquiridos en un espectrofotómetro FT-IR Bruker Tensor 27. La cromatografía de líquidos de alta eficiencia (HPLC, por sus siglas en inglés) se llevó a cabo en un cromatógrafo Thermo Scientific Ultimate 3000, con una columna analítica de fase reversa (C-18, 5  $\mu\text{m}$ , 100 Å, 15  $\times$  4.6 mm), y disolventes grado HPLC (MeOH) y agua de filtro Mili-Q. La fase móvil consistió en una mezcla de agua (40 %) y MeOH (60 %) en una elución isocrática. Se estableció una velocidad de flujo de 1 mL/min y la temperatura del horno se mantuvo a 30 °C.

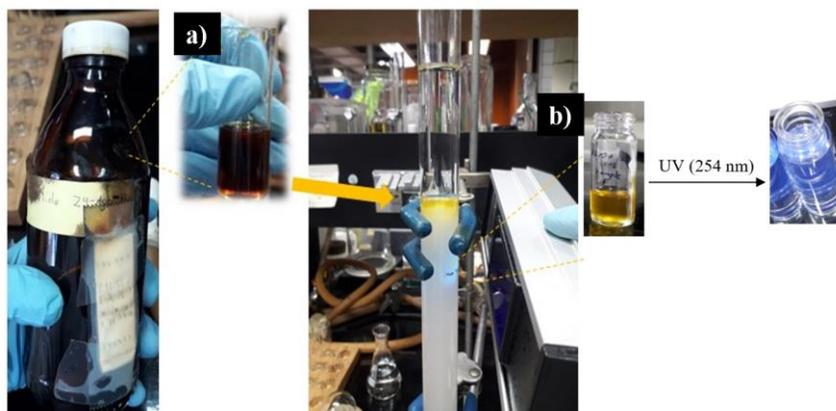
#### *Aislamiento y purificación*

El extracto hexánico, obtenido por el grupo del Dr. Guillermo Delgado en el laboratorio 1-C de productos naturales del Instituto de Química, fue fraccionado por CC de gravedad usando un gradiente de elución Hex:AcOEt (100:0 a 0:100), y un lavado de columna con MeOH. Se colectaron fracciones de 120 mL. Mediante ccf y luz UV, se identificaron las fracciones que contenían el compuesto fluorescente. De acuerdo con la literatura, la ftálica **1** presenta fluorescencia azul en presencia de luz UV a una longitud de onda de 254 nm. Las fracciones de menor polaridad que contenían **1** se concentraron y se obtuvo un aceite café oscuro (*Figura 16a*).

El aceite café oscuro (0.5 g) se adsorbió en gel de sílice de malla molecular 230-400 y se aplicó en una columna de vidrio (1.5 cm de diámetro), previamente empacada con una suspensión de gel de sílice de malla molecular 230-400 en Hex:AcOEt (99:1). La elución, utilizando la mezcla Hex:AcOEt (99:1), se realizó a una velocidad de flujo constante, alrededor de 4 cm/min. Se colectaron fracciones de 50 mL. La separación se siguió por ccf y las fracciones que contenían el compuesto fluorescente ( $R_f$ :0.37, Hex:AcOEt 9:1) se concentraron mediante evaporación del

---

disolvente en un rotavapor de la marca Bruker bajo presión reducida. Se obtuvo un aceite amarillo (200 mg) de olor penetrante similar al del apio (**Figura 16b**). Con el fin de preservar la estabilidad del compuesto **1**, previamente secado a alto vacío, se almacenó en un frasco ámbar, bajo atmósfera de nitrógeno y a bajas temperaturas ( $\sim 0\text{ }^{\circ}\text{C}$ ).



**Figura 16.** a) Fraccionamiento con CC por gravedad del extracto hexánico usando un gradiente de elución Hex:AcOEt (100:0 a 0:100). b) Purificación por CC rápida del aceite café oscuro usando un gradiente de elución Hex:AcOEt (99:1).

### 3.2.3 Resultados y discusión

El aceite café oscuro se analizó por ccf y se identificó la presencia mayoritaria de dos compuestos de polaridad cercana. De acuerdo con la comparación de las señales de RMN  $^1\text{H}$  reportadas en la literatura (**Tabla 1**), el compuesto de menor polaridad se atribuye a la ftálida **2** (*Z*-butilidenftálida) ( $R_f$ :0.37, Hex:AcOEt 9:1), y el compuesto de mayor polaridad a la ftálida **1** (*Z*-ligustílida).

**Tabla 1.** Comparación de señales de RMN  $^1\text{H}$  para la ftálida **1** y **2** en  $\text{CDCl}_3$ .

Posición	<i>Z</i> -ligustílida (1 <sup>a</sup> )	<i>Z</i> -ligustílida (1 <sup>b</sup> )	<i>Z</i> -butilidenftálida (2 <sup>c</sup> )	<i>Z</i> -butilidenftálida (2 <sup>b</sup> )
	$^1\text{H}$		$^1\text{H}$	
4	2.59, td, (9.5, 1.8)	2.59, t, (9) <sup>d</sup>	7.64, ddd, (7.8, 7.2, 1.1)	7.66, ddd, (7.8, 0.9, 0.8)
5	2.46, m	2.46-2.48, m <sup>d</sup> 2.47, ddd, (9.9, 4.3, 2.1, 1.5)	7.66, ddd, (8.0, 7.0, 1.1)	7.68, ddd, (7.8, 7.3, 1.0)
6	6, dt, (9.7, 4.3)	6, dt, (9.6, 4.2)	7.49, ddd, (8.0, 7.0, 1.2)	7.50, ddd, (7.7, 7.3, 0.9)

7	6.27, dt, (9.6, 2.1)	6.29, dt, (9.6, 2.0)	7.87, dt, (7.7, 1.0)	7.89, d, (7.5) <sup>d</sup>
8	5.21, t, (8)	5.22, t, (8)	5.63, t, (7.8)	5.64, t, (8)
9	2.37, c, (7.7)	2.38, c, (7.5) <sup>d</sup>	2.44, c, (7.6)	2.46, c, (7.5) <sup>d</sup>
10	1.50, s, (7.4)	1.51, s, (7.4)	1.54, s, (7.4)	1.56, s, (7.3)
11	0.95, t, (7.4)	0.96, t, (7.4)	0.98, t, (7.4)	0.99, t, (7.4)

<sup>a</sup>Datos obtenidos del espectro de RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) (**Figura 48**, ver Anexos).

<sup>b</sup>Datos reportados del espectro de RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>).<sup>56</sup>

<sup>c</sup>Datos obtenidos del espectro de RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) (**Figura 48**, ver Anexos).

<sup>d</sup>Datos reportados del espectro de RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>).<sup>116</sup>

En la tabla se indican el  $\delta$  en ppm, la multiplicidad y la constante de acoplamiento ( $J$ ) en Hz.

El análisis por RMN <sup>1</sup>H del aceite café oscuro obtenido mediante purificación en CC por gravedad mostró que el porcentaje de la ftálida **1** es menor al 60 % (**Tabla 2**). Por lo tanto, el incremento gradual de la polaridad durante la elución no favorece la separación de los compuestos debido a su similitud estructural.

**Tabla 2.** Cálculo de la abundancia de la ftálida **1** en el aceite café oscuro mediante RMN <sup>1</sup>H en CDCl<sub>3</sub>.

Posición	<b>Z-ligustílida (1)</b>		<b>Z-butilidenftálida (2)</b>	
	<sup>1</sup> H	Integral	<sup>1</sup> H	Integral
4			7.64, ddd, (7.8, 7.2, 1.1)	0.98
5			7.66, ddd, (8.0, 7.0, 1.1)	0.67
6	6, dt, (9.7, 4.3)	1.07	7.49, ddd, (8.0, 7.0, 1.2)	0.68
7	6.27, dt, (9.6, 2.1)	0.93	7.87, dt, (7.7, 1.0)	0.65
8	5.21, t, (8)	0.98	5.63, t, (7.8)	0.69
Suma		2.98		3.67
Promedio		0.99		0.73
Abundancia		57.56 %		42.44 %

<sup>a</sup>Datos obtenidos del espectro de RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) (**Figura 48**, ver Anexos).

En la tabla se indican el  $\delta$  en ppm, la multiplicidad y la constante de acoplamiento ( $J$ ) en Hz.

---

Con el objetivo de mejorar la metodología de purificación de la ftálica **1**, se llevó a cabo una evaluación del sistema de eluyente, el tamaño de partícula y la cantidad del adsorbente para la separación de la mezcla.

Para el sistema de elución se prepararon mezclas de Hex:CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, Hex:CHCl<sub>3</sub>, Hex:Et<sub>2</sub>O, Hex:AcOEt en distintas proporciones. De estos sistemas, se escogió la mezcla Hex:AcOEt en una proporción 99:1 porque permitió obtener un valor de R<sub>f</sub> entre 0.25 y 0.35, y una diferencia de R<sub>f</sub> cercano a 0.04. De acuerdo con la literatura<sup>117</sup>, la elución de mezclas complejas a un valor de R<sub>f</sub> alrededor de 0.35 permite obtener una buena separación. Este valor de R<sub>f</sub> indica que la velocidad de elución del soluto es lo suficientemente lenta para alcanzar el equilibrio entre la fase móvil y estacionaria, pero rápida para disminuir el ensanchamiento de la banda por difusión.<sup>115</sup>

La cantidad de muestra a purificar en CC es proporcional al área transversal de la columna. Still *et al.* reportaron una tabla que relaciona el diámetro de la columna con la cantidad de muestra a separar en función del valor de R<sub>f</sub> de las mezclas.<sup>117</sup> En este contexto, se utilizó un diámetro de 1.5 cm para separar 0.5 g de mezcla. En la selección del tamaño y cantidad del adsorbente, se evaluaron dos tamaños de partícula, 70-230 (63-200 μm) y 230-400 (40-63 μm), y distintas cantidades del gel de sílice para el llenado de la columna. La separación se siguió por ccf y se observó una mejor separación mediante la purificación con gel de sílice de tamaño de malla 230-400 (40-63 μm) en una proporción 50:1 (gel de sílice:muestra). Esta mayor eficiencia en la separación se atribuye a que el menor tamaño de partícula aumenta la uniformidad del adsorbente, así como los sitios de adsorción con el soluto.<sup>115</sup>

Por otro lado, la proporción 50:1 permitió conseguir una adecuada longitud de columna (L), para proveer el suficiente número de platos teóricos (N) sin alargar los tiempos de retención entre el soluto y el adsorbente.<sup>115</sup> Además de los tiempos de separación, el valor de N también afecta la altura del plato teórico (H), parámetro que relaciona la eficiencia de la separación con el ensanchamiento de la banda.<sup>115</sup> De acuerdo con la ecuación 1.15, el aumento en el valor de N disminuye el valor de H, y en consecuencia, el ensanchamiento de la banda para mejorar la eficiencia de la separación.

$$H = \frac{L}{N} \quad (1.15)$$

Las fracciones con la ftálida **1** se concentraron y se obtuvo un aceite amarillo con olor penetrante semejante al del apio. El análisis mediante RMN <sup>1</sup>H (**Tabla 3**) mostró una abundancia del 98.83 %, lo que confirma la mejora en la metodología de purificación. La purificación de la ftálida **1** se obtuvo con un rendimiento del 40 % en masa (ftálida **1**/extracto hexánico).

**Tabla 3.** Cálculo de la abundancia de la ftálida **1** en el aceite amarillo mediante RMN <sup>1</sup>H en CDCl<sub>3</sub>.

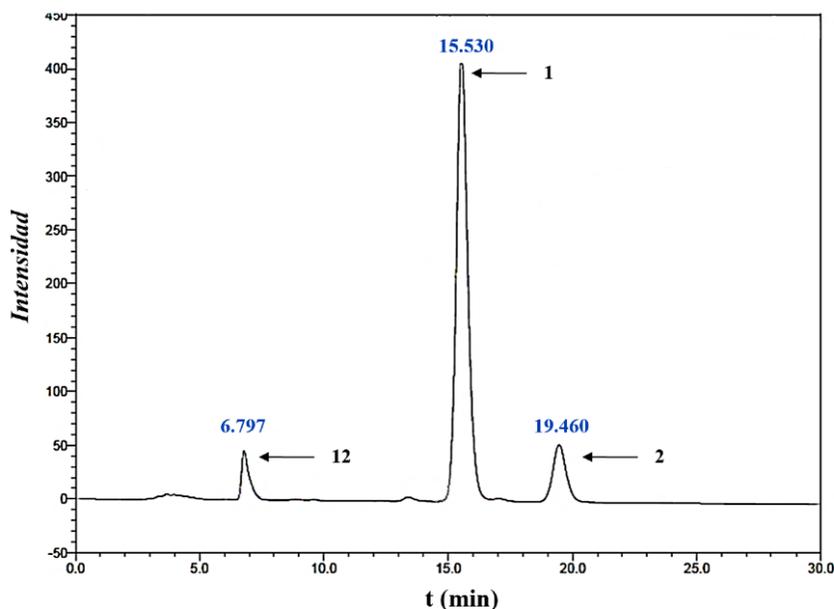
Posición	<b>Z-ligustílida (1)</b>		<b>Z-butilidenftálida (2)</b>	
	<sup>1</sup> H	Integral	<sup>1</sup> H	Integral
4			7.64, ddd, (7.8, 7.2, 1.1)	0.01
5			7.66, ddd, (8.0, 7.0, 1.1)	0.02
6	6, dt, (9.7, 4.3)	1.05	7.49, ddd, (8.0, 7.0, 1.2)	0.01
7	6.29, dt, (9.6, 2.1)	0.97	7.88, dt, (7.7, 1.0)	0.01
8	5.21, t, (8)	1.00	5.64, t, (7.8)	0.01
Suma		3.02		0.06
Promedio		1.01		0.012
Abundancia		98.83 %		1.17 %

<sup>a</sup>Datos obtenidos del espectro de RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) (ver **Figura 20**).

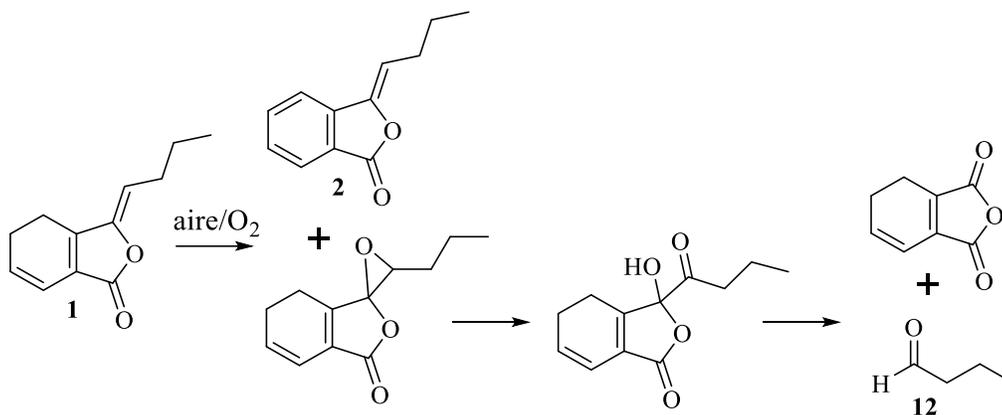
En la tabla se indican el δ en ppm, la multiplicidad y la constante de acoplamiento (*J*) en Hz.

La **Figura 17** muestra el análisis mediante HPLC del aceite amarillo obtenido por CC rápida. En el cromatograma se observa un pico a un tiempo de retención (*t<sub>R</sub>*) de 15.530 min que corresponde a la ftálida **1** (*Z*-ligustílida) con una pureza del 94 %, y una longitud de absorción máxima de luz UV (UV λ<sub>max</sub>) de 280 nm y 327.5 nm. El pico a un *t<sub>R</sub>* de 19.460 min corresponde a la ftálida **2** (*Z*-butilidenftálida) que se encuentra en menor proporción de acuerdo con la **Tabla 3**. Por último, el pico a un *t<sub>R</sub>* de 6.797 min se atribuye a un segundo producto de oxidación de mayor polaridad, que de acuerdo con la **Figura 7**, correspondería al compuesto **12**. En el espectro de RMN <sup>1</sup>H (**Figura 49**, ver Anexos) se observó una señal alrededor de 9.8 ppm, por lo que se confirma la presencia de un aldehído como un segundo producto de oxidación. En la **Figura 18** se

muestra que la ftálida **2** es el producto de deshidrogenación de la ftálida **1** y la ruta de degradación para la obtención de **12**.



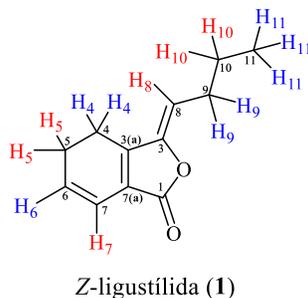
**Figura 17.** Cromatograma de HPLC del aceite amarillo obtenido mediante CC rápida. Fase móvil MeOH:H<sub>2</sub>O (60:40), velocidad de flujo: 1 mL/min, elución isocrática.



**Figura 18.** Propuesta de ruta de degradación de la ftálida Z-ligustílida (**1**).

La disminución en la abundancia de la ftálida **1** y la aparición de la ftálida **2** y el compuesto **12** muestran la baja estabilidad del compuesto **1**. Por ello, para llevar a cabo las transformaciones electroquímicas se almacenó a la ftálida **1** en un frasco ámbar, bajo atmósfera de nitrógeno y a temperaturas menores a los 0 °C.

- 
- *Discusión de las señales observadas en el espectro de RMN <sup>1</sup>H de la ftálida 1*



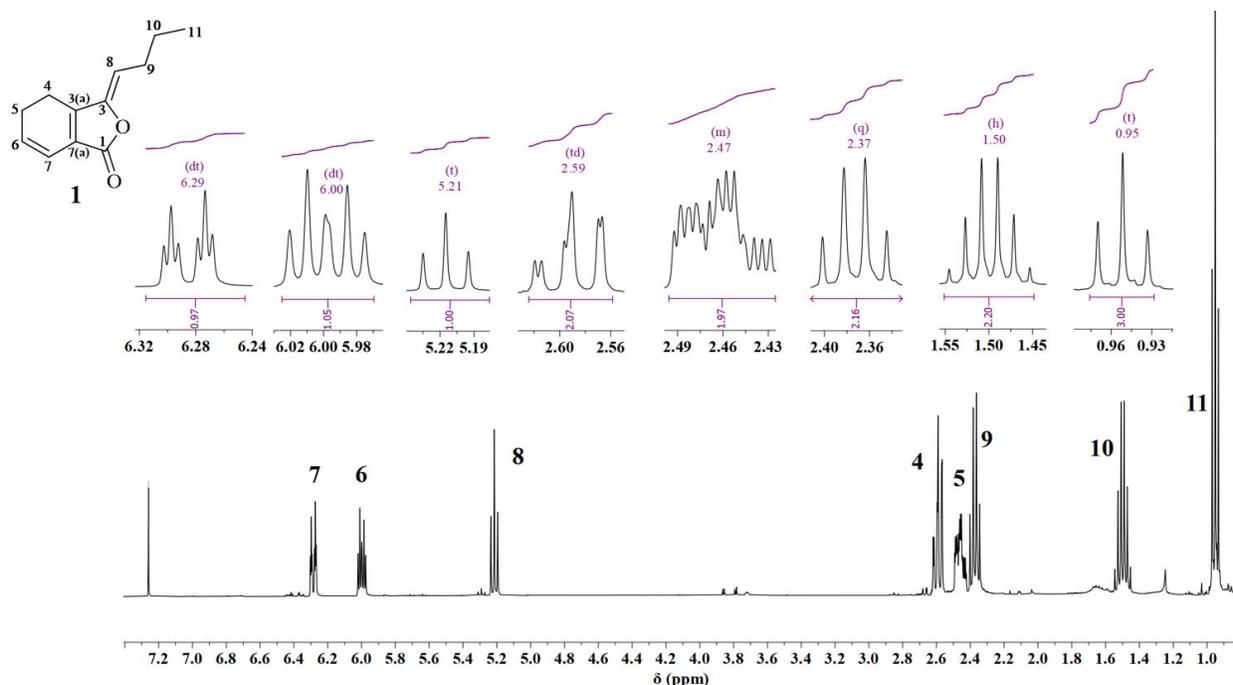
**Figura 19.** Hidrógenos de la estructura de la ftálida Z-ligustilida (1).

De acuerdo con la estructura de la ftálida **1** (**Figura 19**), en el espectro de RMN <sup>1</sup>H se observan 8 señales, las cuales corresponden a los hidrógenos químicamente equivalentes de cada carbono. Estas señales presentan una multiplicidad que viene dada por el número de hidrógenos en los carbonos adyacentes, es decir, el acoplamiento de los hidrógenos a tres enlaces de distancia. Para determinar la multiplicidad se aplica la regla “n + 1”, donde “n” representa el número de hidrógenos vecinos. Por ejemplo, el hidrógeno 11 (referentes al C-11) tiene una señal de triplete (t) por la presencia de dos hidrógenos en el carbono vecino (C-10). En ese sentido, el hidrógeno 10 tiene una señal de sextuplete (sx), el hidrógeno 9 una señal de cuadruplete (c) y el hidrógeno 8 una señal de triplete (t). La intensidad de las señales sigue el patrón del triángulo de Pascal, y el valor de su separación está determinada por la constante de acoplamiento (*J*).

En el ciclohexadieno, tanto los átomos de hidrógeno que se encuentran fuera del plano como los que forman parte del doble enlace no tienen libre rotación por el anillo, por lo tanto, se observan acoplamientos corto y a largo alcance. El hidrógeno 4 tienen una señal de triplete de dobletes (td) que resulta de la interacción con los hidrógenos del C-5 y la interacción de largo alcance con el hidrógeno del C-6. El hidrógeno 5 tiene una señal que corresponde a un triple doblete de dobletes (tdd), que resulta de la interacción con los hidrógenos del C-4, y dos interacciones de largo alcance con los hidrógenos del C-6 y C-7. El hidrógeno 5 experimenta dos interacciones de largo alcance con el hidrógeno 6 y 7 debido a la presencia del doble enlace entre el C-6 y el C-7. El doble enlace acorta la distancia entre los carbonos sp<sup>2</sup> y alarga la distancia con respecto al carbono sp<sup>2</sup> del hidrógeno 5. Por esta misma razón, el hidrógeno 6 y 7 presentan una señal denominada doble triplete (dt), ver **Figura 20**.

---

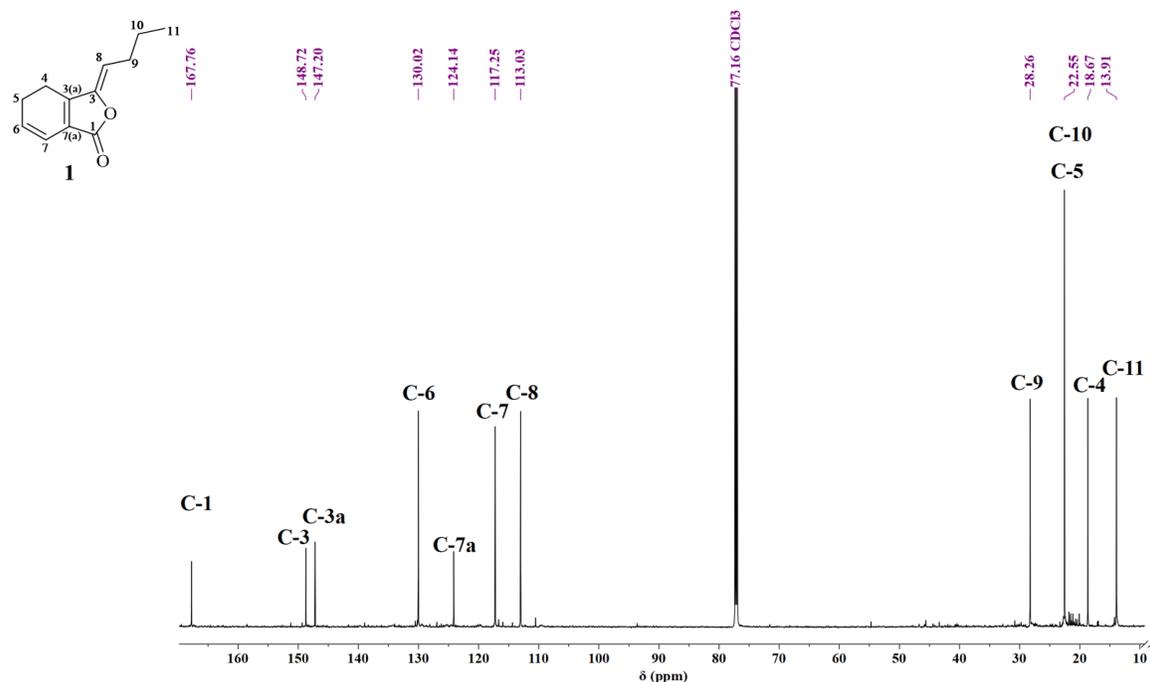
El desplazamiento químico ( $\delta$ ) de las señales depende de los efectos inductivos e hibridación de los átomos unidos al hidrógeno.<sup>118</sup> Por ejemplo, en la **Figura 20**, se observa que las señales de los hidrógenos en los carbonos C-6, C-7 y C-8 se desplazan hacia campos bajos debido a la conjugación y al efecto inductivo de la lactona. Los valores de  $\delta$ , multiplicidad y  $J$  se reportan en la **Tabla 1**. La conectividad a un enlace de distancia y la asignación de los hidrógenos se confirmó mediante el análisis de COSY (**Figura 50**, ver Anexos).



**Figura 20.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) del aceite amarillo obtenido mediante purificación en CC rápida.

En la **Figura 21** se muestra el espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  de la ftálica **1**. Se observan cuatro señales a campo alto, correspondientes a carbonos  $\text{sp}^3$ , y siete señales a campo bajo, correspondientes a carbonos  $\text{sp}^2$  y al carbono del grupo carbonilo que forma parte de un éster ( $\delta \sim 165\text{-}175$  ppm). El espectro de IR (**Figura 53**, ver Anexos) indica bandas de absorción en  $1758$ ,  $2929$  y  $1459$   $\text{cm}^{-1}$ , lo cual confirma la presencia de grupos metilos, metilenos y del grupo carbonilo de lactona. El análisis de los espectros de HSQC y HMBC (**Figura 51** y **Figura 52**, ver Anexos) permitió asignar las señales de los carbonos y confirmar la conectividad en la estructura de la ftálica **1**.

Los desplazamientos químicos de las señales de carbono se reportan en la **Tabla 4**, y se hace una comparación con las señales reportadas en la literatura. Los valores de  $\delta$  concuerdan con los reportados en la literatura. El espectro de EM indica un ion molecular de 191 m/z (**Figura 54**, ver Anexos). Por lo tanto, se confirma su fórmula molecular de  $C_{12}H_{14}O_2$ , y la conectividad en la estructura.



**Figura 21.** Espectro de RMN  $^{13}C$  (700 MHz,  $CDCl_3$ ) de la ftálida **1**.

**Tabla 4.** Comparación de señales de RMN  $^{13}C$  para la ftálida **1** y **2** en  $CDCl_3$ .

Posición	Z-ligustílida (1 <sup>a</sup> )	Z-ligustílida (1 <sup>b</sup> )	Z-butilidenftálida (2 <sup>a</sup> )	Z-butilidenftálida (2 <sup>b</sup> )
	$^{13}C$	$^{13}C$	$^{13}C$	$^{13}C$
1	167.80	167.28	167.30	167.40
3	148.72	148.20	145.87	145.41
3a	147.21	146.68	139.69	139.61
4	18.70	18.18	119.75	119.54
5	22.58	22.04	134.32	134.24
6	130.02	129.50	129.43	129.36
7	117.29	116.78	125.32	125.29
7a	124.17	123.65	124.56	---
8	113.08	112.55	109.55	109.54

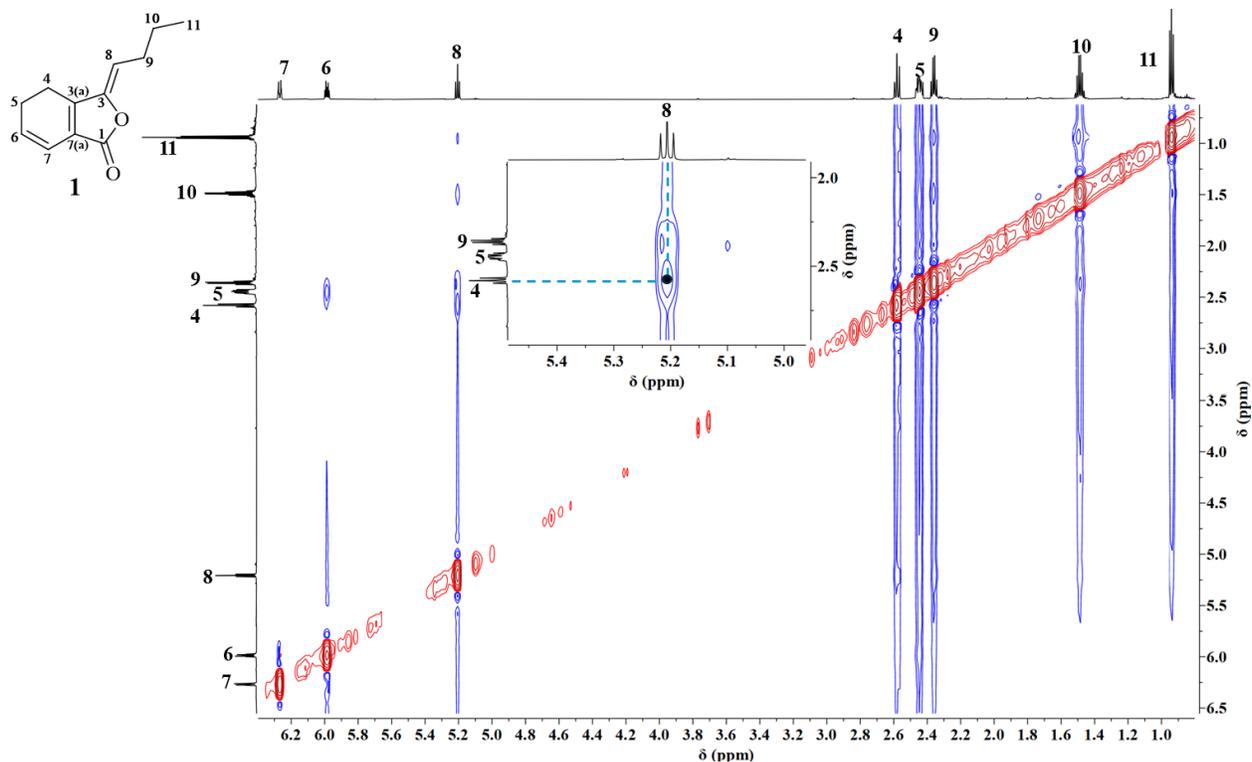
9	28.28	28.15	27.90	27.82
10	22.58	22.04	22.63	22.56
11	13.94	13.43	13.91	13.88

<sup>a</sup>Datos obtenidos del espectro de RMN <sup>13</sup>C (700 MHz, CDCl<sub>3</sub>) (ver *Figura 21*).

<sup>b</sup>Datos reportados del espectro de RMN <sup>13</sup>C (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>).<sup>56</sup>

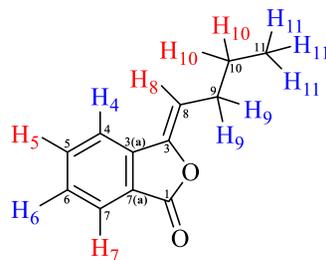
En la tabla se indica el  $\delta$  en ppm.

En el experimento NOESY (*Figura 22*) se muestran las interacciones entre los hidrógenos a través del espacio. Para que ocurra dicha interacción, los hidrógenos deben estar a una distancia menor a los 5 Å.<sup>118</sup> Como se observa en la *Figura 5* y la *Figura 19*, la interacción entre el H-8 y el H-4 es concluyente para discriminar entre el isómero *Z* y *E*. Por lo tanto, la estructura correspondiente a la ftálida **1** es la *Z*-ligustílida dada la interacción en la *Figura 22*. Este isómero es más estable que el isómero *E* debido a que la cadena alquílica se encuentra alejada de los metilenos del anillo, lo que resulta en una menor repulsión estérica.



*Figura 22.* Espectro de NOESY (700 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de la ftálida **1**.

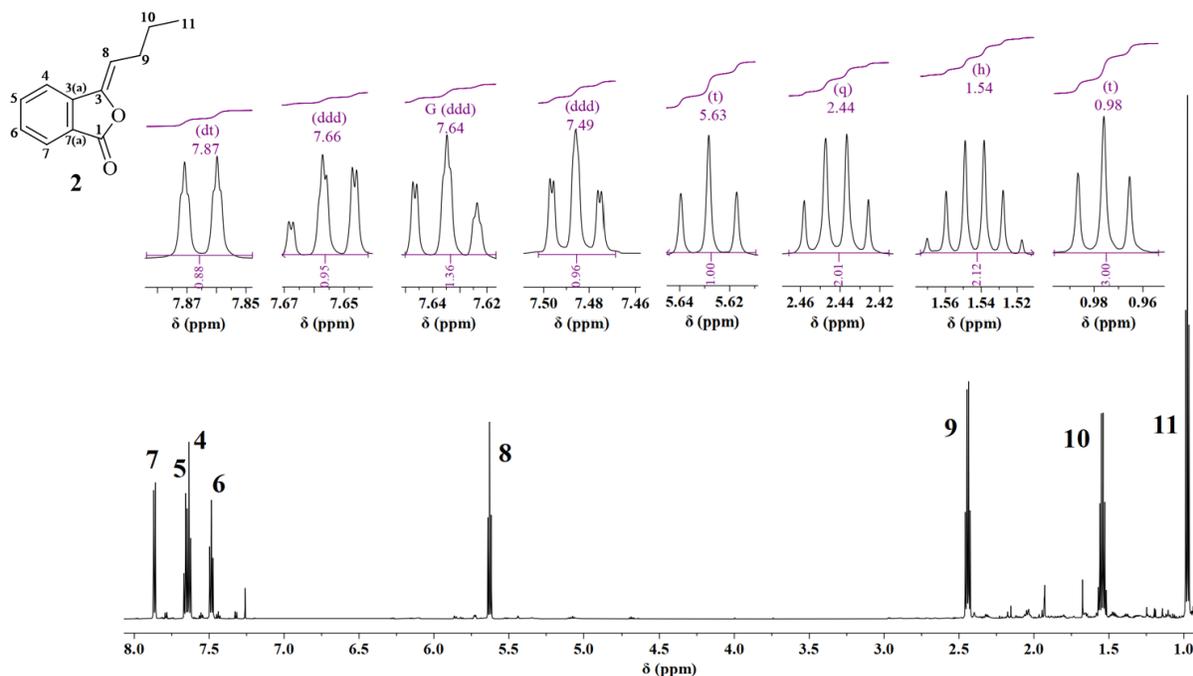
- *Discusión de las señales observadas en el espectro de RMN  $^1H$  de la ftálida 2*



Z-butilidenftálida (2)

**Figura 23.** Hidrógenos de la estructura de la ftálida Z-butilidenftálida (2).

La ftálida **2** muestra una ligera polaridad menor a la ftálida **1** en ccf. En el espectro de RMN  $^1H$  (**Figura 24**) se observan cinco señales a campo bajo, correspondientes a hidrógenos de anillos aromáticos y de dobles ligaduras, y tres señales a campo alto, correspondientes a hidrógenos de metilos y metilenos.



**Figura 24.** Espectro de RMN  $^1H$  (700 MHz,  $CDCl_3$ ) de la ftálida **2**.

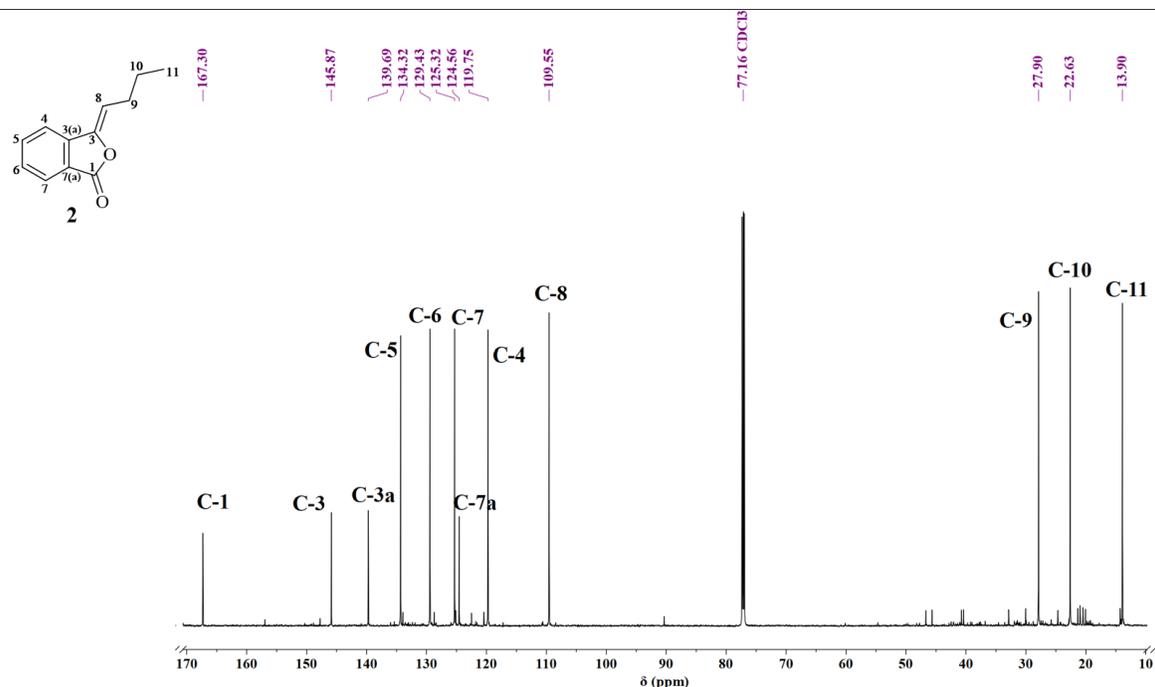
De acuerdo con el número de hidrógenos en el carbono vecino, el hidrógeno 11 presenta una señal de triplete (t), el hidrógeno 10 una señal de sextuplete (sx) y el hidrógeno 9 una señal de

---

cuadruplete (c). Estas señales aparecen a campo bajo y tienen diferentes desplazamientos por la hibridación del carbono. La señal del hidrógeno 9 y 10 se desplazan hacia un menor campo de lo esperado debido a su proximidad con el doble enlace entre el C-3 y el C-8. Estos hidrógenos sufren un fuerte efecto de desapantallamiento debido a la conjugación y el efecto inductivo del oxígeno del enlace C-O de la lactona.

Los hidrógenos 7, 6, 5 y 4 se observan a campo bajo ( $\delta \sim 7.4 - 8$  ppm) debido al efecto de desapantallamiento por anisotropía diamagnética que ejercen los electrones  $\pi$  del anillo aromático. En el espectro de la **Figura 24** se observan cuatro señales con diferentes desplazamientos debido a que es un sistema aromático *orto*-disustituido con sustituyentes diferentes. Es decir, no hay simetría en la molécula y los cuatro hidrógenos comparten un ambiente químico diferente. La señal a mayor desplazamiento corresponde al hidrógeno 7 debido al efecto inductivo de la lactona. El experimento COSY permitió asignar la señal del hidrógeno 6 mediante la interacción a tres enlaces de distancia entre el H-7 y el H-6 (**Figura 55**, ver Anexos). Las señales de los hidrógenos 4 y 5 muestran una ligera superposición. Sin embargo, el análisis mediante COSY para la interacción entre H-6 y H-5, y el experimento de HMBC para la interacción entre C-3a y H-5, permitieron distinguir correctamente la señal (**Figura 55** y **Figura 57**, ver Anexos).

Una vez asignadas las señales de los hidrógenos en el espectro de la **Figura 24**, se analizó el experimento de HSQC (**Figura 56**, ver Anexos) para asignar y confirmar las señales de los carbonos, y junto con el experimento de HMBC se corroboró la conectividad en la estructura de la ftálica **2**. En la **Figura 25** se muestran las señales asignadas a los carbonos. Los valores de  $\delta$ , multiplicidad y  $J$  de los hidrógenos se reportan en la **Tabla 1** y los  $\delta$  de las señales de carbono en la **Tabla 4**. Las señales se compararon con las reportadas en la literatura, y se encontró que la multiplicidad del hidrógeno 7 difiere de lo registrado. El análisis de HMBC muestra que el H-7, además de interactuar con el H-6, tiene una interacción a largo alcance con el H-5 y el H-6. Esto sugiere un valor cercano entre la  $J_{7-5}$  y la  $J_{7-6}$ , y por lo tanto le corresponde una multiplicidad de doble doblete de dobletes (ddd) en lugar de doble triplete (dt).



**Figura 25.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (700 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de la ftálida **2**.

En el espectro de la **Figura 25** se observan doce señales, correspondientes a carbonos  $\text{sp}^3$  (a campo alto) y  $\text{sp}^2$  (a campo bajo). El carbono del grupo carbonilo que forma parte de un éster muestra  $\delta$  de 167.30 ppm, lo cual coincide con los valores reportados en la literatura para este tipo de carbonos (aproximadamente 165-175 ppm). El análisis de IR (**Figura 58**, ver Anexos) también confirmó la presencia del carbonilo de lactona y los metilenos del anillo aromático por las bandas de absorción alrededor de 1758, 3038, 3050 y los sobretonos entre 2000 y 1667  $\text{cm}^{-1}$ . El espectro de EM de la ftálida **2** indica un ion molecular de 189 m/z (**Figura 59**, ver Anexos). Por lo tanto, se confirma su fórmula molecular de  $\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{O}_2$  y la conectividad en la estructura.

En el experimento NOESY (**Figura 26**) se observa la interacción del H-8 y el H-4 a través del espacio. Por lo tanto, la estructura correspondiente a la ftálida **2** es la *Z*-butilidenftálida. Esta conformación presenta la menor repulsión estérica, por lo tanto, es la estructura más estable.

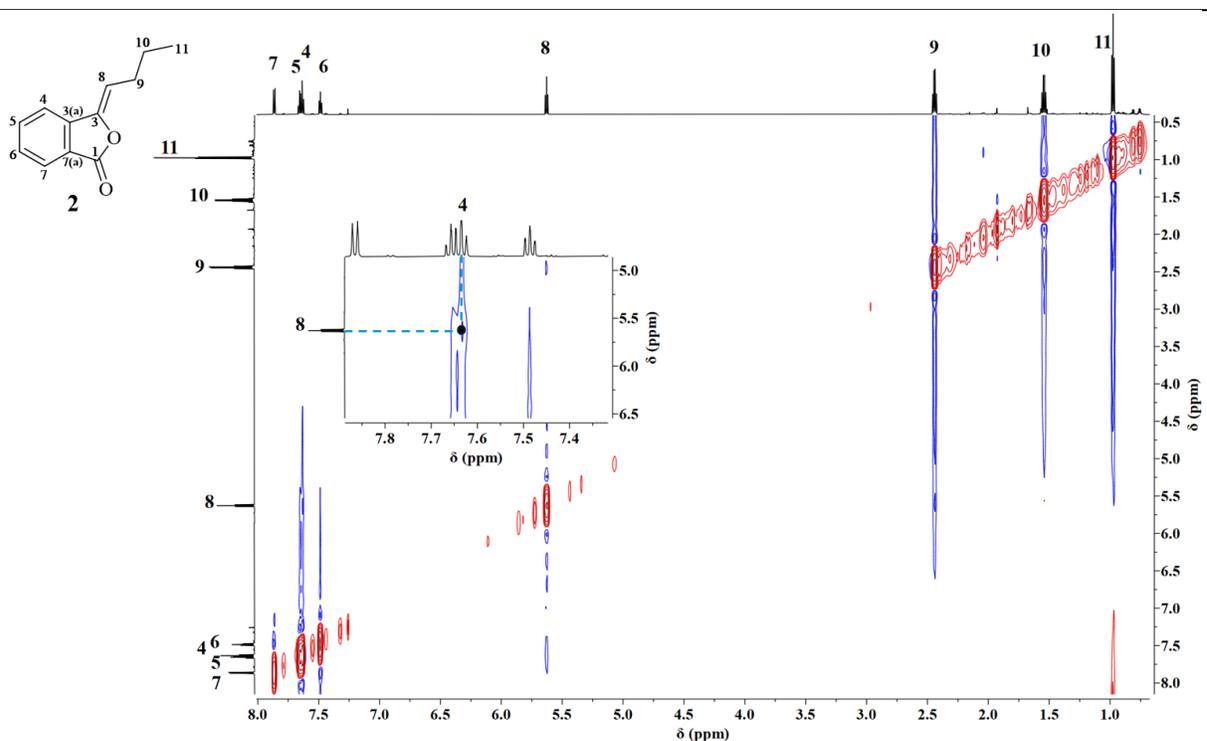


Figura 26. Espectro de NOESY (700 MHz,  $CDCl_3$ ) de la ftálida **2**.

### 3.3 Conclusiones

- El aislamiento y purificación de la ftálida Z-ligustílida (**1**) puede llevarse a cabo mediante CC rápida utilizando un sistema de elución Hex:AcOEt en una proporción 99:1.
- En el extracto hexánico de las raíces de *Ligusticum porteri* se identificaron las ftálicas Z-ligustílida (**1**) y la Z-butilidenftálida (**2**), ambas de naturaleza no polar y con una diferencia en el factor de retención ( $\Delta R_f$ ) de 0.04 debido a su similitud estructural. Por lo tanto, la purificación de esta mezcla resulta compleja.
- La optimización en la metodología de purificación de la ftálida **1** permitió obtener un aceite amarillo con un rendimiento del 40 % m/m (ftálida **1**/extracto hexánico).
- El cálculo del porcentaje de la ftálida **1** y **2** en el aceite amarillo mediante RMN  $^1H$  mostró una abundancia del 98.83 % de la ftálida **1**. La pureza de la ftálida **1** también se confirmó por HPLC y se encontró una abundancia del 94 %.
- La abundancia de la ftálida **1** disminuye con el tiempo de exposición al aire y al oxígeno debido a su naturaleza lábil e inestable. El principal producto de oxidación aislado fue la ftálida **2**, que resulta de la deshidrogenación de la ftálida **1**.

- 
- Los análisis de RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , COSY, HSQC, HMBC, IR y EM confirmaron la estructura de las ftálicas. Además, la interacción observada entre el H-8 y el H-4 en el experimento de NOESY permitió asignar la configuración Z en la ftálica **1** y **2**.

---

## Capítulo 4.

### Estudios electroanalíticos de la ftálica *Z*-ligustílica

#### 4.1 Introducción

Los estudios de caracterización electroquímica de ésteres cíclicos o lactonas insaturadas son escasos.<sup>119–122</sup> Para la ftálica 1(3*H*)-isobenzofuran-1-ona, se ha reportado un comportamiento cuasi-reversible a bajas velocidades de barrido ( $\leq 100 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$ ) en electrodos de GMC<sup>121</sup>, Hg-Pt<sup>119</sup> y GC<sup>122</sup>, y un comportamiento reversible a altas velocidades de barrido ( $\geq 5 \text{ V}\cdot\text{s}^{-1}$ ) en electrodos de GMC<sup>121</sup> y GC.<sup>122</sup> Beño *et al.* reportaron la reducción polarográfica de ftálicas 3-sustituidas en un sistema amortiguador en un intervalo de pH entre 5.0 y 9.0 con electrodos de GMC.<sup>120</sup> En este capítulo, se describe el comportamiento electroquímico de la ftálica **1** en disolventes orgánicos apróticos (ACN y DMF) con diferentes electrodos de trabajo y electrolito soporte usando voltamperometría cíclica (VC).

#### 4.2 Caracterización electroquímica mediante voltamperometría cíclica

##### 4.2.1 Sección experimental

###### *Información general*

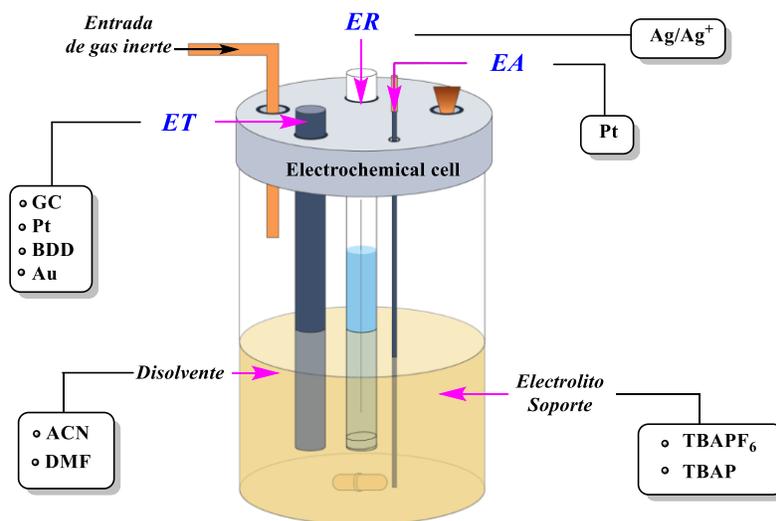
La caracterización electroquímica se realizó en el potenciostato AUTOLAB PG-30 acoplado a una computadora y controlado por un software NOVA 2.1.7. En los experimentos electroquímicos se empleó la compensación IR Positive feedback por la caída óhmica del medio. Para validar el método de compensación, se eligió a la especie redox de ferroceno como sistema de prueba (**Figura 60**, ver sección de compensación por la caída óhmica en Anexos).

Los disolventes empleados fueron purificados y secados. El disolvente aprótico DMF (99 %, Aldrich) se destiló en alto vacío y se almacenó sobre malla molecular de 4 Å. El disolvente ACN (grado HPLC) se secó a través de una columna de SiO<sub>2</sub> (malla 70-230) y se almacenó sobre malla molecular de 4 Å. Se utilizaron las sales de [Bu<sub>4</sub>N][PF<sub>6</sub>] (TBAPF<sub>6</sub>) (99 %, Aldrich) y [Bu<sub>4</sub>N][ClO<sub>4</sub>] (TBAP) (99 %, Aldrich), como electrolito soporte y se almacenaron en desecadores de drierita. Se

utilizó el reactivo 2,3-dimetilfenol con un 98 % de pureza (marca Aldrich). Todos los experimentos se desoxigenaron a través de un burbujeo constante con gas de  $N_2$ .

#### 4.2.2 Sistema electroquímico y preparación de los electrodos

Todos los experimentos se realizaron en una celda electroquímica convencional para tres electrodos (**Figura 27**), fabricada de vidrio con capacidad de 7 mL. Los experimentos se realizaron a temperatura ambiente y a presión atmosférica.



**Figura 27.** Celda electroquímica de tres electrodos para voltamperometría cíclica.

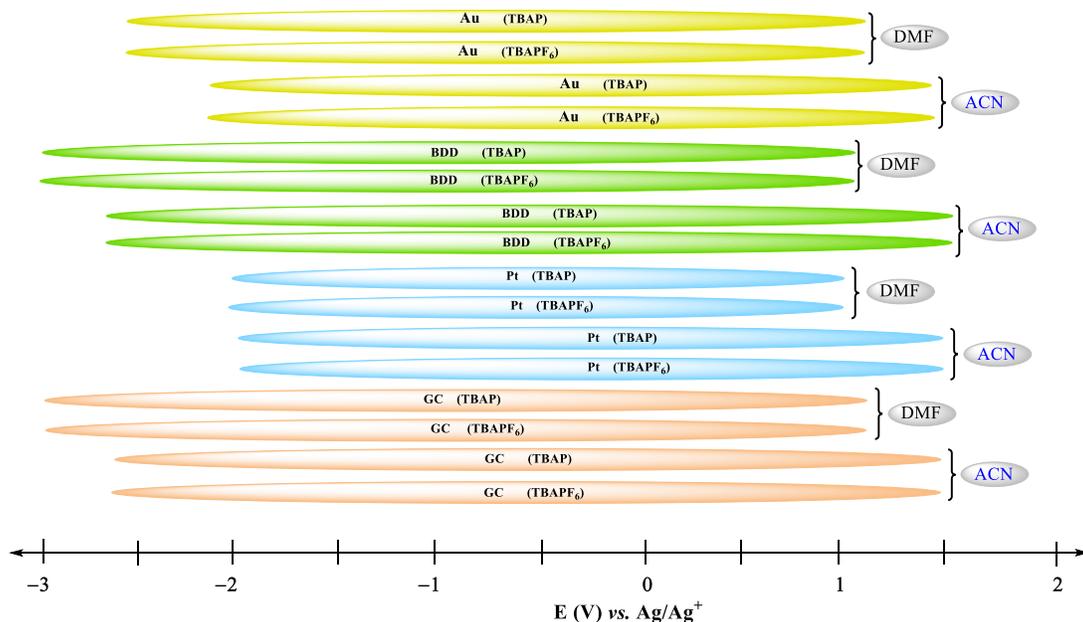
Para la obtención de las respuestas electroquímicas se utilizaron electrodos de carbono vítreo (GC, por sus siglas en inglés), platino (Pt), oro (Au) y diamante dopado con boro (BDD) como **ET**. La superficie de trabajo de los **ET** se pulió mecánicamente utilizando alúmina de 0.5 y 0.05  $\mu m$ . Se empleó un alambre de Pt como **EA** y un **ER** de  $Ag/Ag^+$ . Para sistemas no acuosos, la disolución del **ER** se preparó a una concentración 0.01 M de  $AgNO_3$  y 0.1 M de TBAP en ACN. La disolución electrolítica se preparó a una concentración 0.1 M del electrolito soporte en ACN y DMF. En los análisis electroquímicos, se utilizó una concentración de 1 mM de la ftálica Z-ligustílica (**1**) y 6 mL de la disolución electrolítica.

### 4.3 Resultados y discusión

- *Determinación de la ventana de electroactividad (VE)*

El primer estudio que se realizó fue determinar la ventana de electroactividad (VE). Para ello, se utilizó una celda de tres electrodos y la disolución electrolítica sin presencia de la especie redox. La VC se realizó desde pequeños intervalos de potencial hasta encontrar las barreras de reducción y oxidación de la disolución electrolítica en el ET (*Figura 64* y *Figura 65*, ver Anexos).

La *Figura 28* muestra la variación de la VE en función de la disolución electrolítica y el ET. El cambio del contraion en el electrolito de tetrabutilamonio no influye en las barreras de oxidación y reducción del sistema. El disolvente y el ET son los principales factores que restringen la VE. Por ello, los experimentos siguientes se realizaron con la sal de TBAPF<sub>6</sub> como electrolito soporte.



**Figura 28.** Evaluación del efecto del electrolito soporte, disolvente y ET en la ventana de electroactividad.

- *Evaluación de la respuesta electroquímica del compuesto de interés*

Para evaluar la respuesta electroquímica del compuesto de interés, se adicionó la ftálica **1** a la disolución electrolítica con una concentración de 1 mM. Luego, se realizaron barridos de **E**

conforme con la VE previamente determinada. La **Figura 29** muestra la evaluación de la respuesta electroquímica de la ftálida **1**, usando un electrodo de GC en 0.1 M de TBAPF<sub>6</sub> en ACN, con un  $E_{\lambda}$  en 1.6 V y -2.4 V. El barrido de  $E$  se inició en 0 V para evitar la electrólisis de **1**. El barrido se realizó a valores negativos como lo indica la flecha. Cuando la  $\Delta E$  aplicado en el ET es lo suficientemente negativo, se observa el potencial de inicio de electrólisis ( $E_{onset}$ ) a -1.88 V y un aumento de la corriente catódica debido al proceso de reducción en el electrodo para generar el radical anión de la ftálida **1**. Este proceso corresponde a la semirreacción de reducción, como se muestra en la esquina inferior derecha (**Figura 29**). Al alcanzar un  $E_{pc}$  de -2 V se obtuvo el máximo de  $i_{pc}$ . En este punto, la concentración de la ftálida **1** decae en la superficie del electrodo conforme avanza el barrido de  $E$  en el tiempo, lo que resulta en la disminución de la corriente faradaica. El decaimiento de la corriente se debe al gradiente de concentración de las especies en la superficie del electrodo, el cual está controlado por el transporte de masa difusivo (**Figura 11**).

En el barrido de inversión no se observa un aumento de corriente hasta el  $E_{onset}$  de 1.2 V. El aumento de la corriente anódica indica el proceso de oxidación de la ftálida **1**. La semirreacción de oxidación se muestra en las esquina superior izquierda (**Figura 29**). En el  $E_{pa}$  a 1.4 V se alcanza el máximo de  $i_{pa}$ , luego la corriente disminuye hasta el  $E_{\lambda}$  a 1.6 V. Para analizar si hay una dependencia entre la  $i_{pa}$  y la  $i_{pc}$  se repitió el experimento voltamperométrico, invirtiendo el sentido del barrido de potencial. Se observaron las mismas señales, lo que indica que no hay una dependencia entre los procesos de oxidación y reducción detectados. La VC de la ftálida **1** en los otros electrodos muestra el mismo comportamiento previamente descrito para GC a 100 mV·s<sup>-1</sup> (**Figura 66** y **Figura 67**, ver Anexos). En la **Tabla 5** se resumen los parámetros electroquímicos obtenidos para los distintos ET.

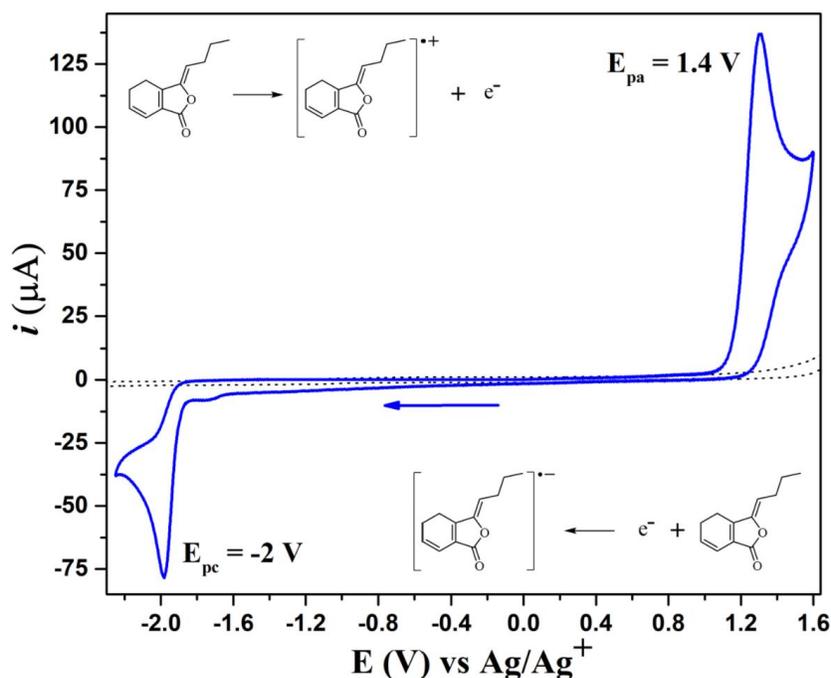
**Tabla 5.** Parámetros electroquímicos de la reducción ftálida Z-ligustílida (**1**) en distintos ET y disolventes.

ET	Disolvente			
	ACN		DMF	
	$E_{pa}^{a,b}$	$E_{pc}^{a,b}$	$E_{pa}^{a,b}$	$E_{pc}^{a,b}$
GC	1.4	-2.0	1.3	-2.0
Pt	1.4	---	---	-2.0

BDD	1.4	-2.1	1.3	-2.1
Au	1.5	-1.9	---	-2.0

<sup>a</sup>Los valores reportados se realizaron a una concentración de 1 mM de la ftálica Z-ligustilida (**1**) en 0.1 M de TBAPF<sub>6</sub>.

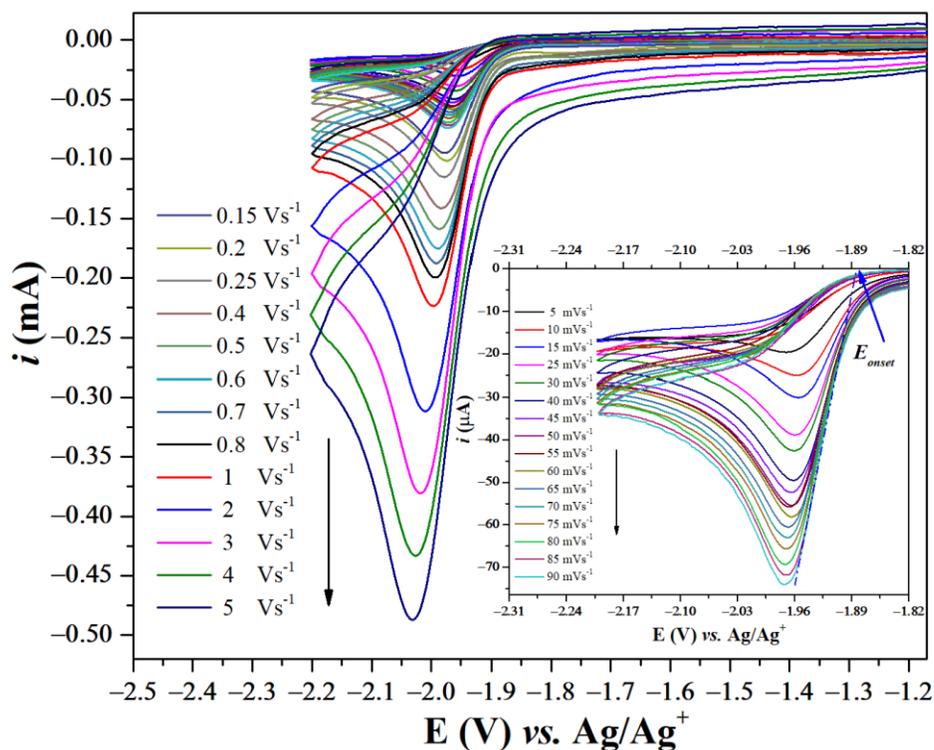
<sup>b</sup>E (V) vs. Ag/Ag<sup>+</sup>, EA: alambre de Pt.



**Figura 29.** Voltamperometría cíclica de la ftálica Z-ligustilida (**1**) (3 mM) en 0.1 M de TBAPF<sub>6</sub> en ACN (línea azul). Ventana electroactiva (línea discontinua negra).  $v = 100 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$ , ET: GC, ER: Ag/Ag<sup>+</sup>, EA: alambre de Pt.

La forma del voltamperograma en la **Figura 29** muestra una oxidación y reducción químicamente irreversible de la ftálica **1**. La irreversibilidad química indica que las reacciones químicas subsecuentes (como protonación, dimerización o descomposición) en la capa de difusión son más rápidas que la velocidad de la transferencia electrónica interfacial. En reducción, se evaluó cualitativamente la vida media del radical por medio de barridos de potencial a bajas y altas velocidades de barrido, como se muestra en la **Figura 30**. A altas velocidades de barrido (tiempos de electrólisis cortos), se observa el mismo comportamiento irreversible que a bajas velocidades de barrido. Esto indica que la vida media de la especie formada durante la reducción electroquímica es muy corta, pues incluso con un barrido a  $5 \text{ V}\cdot\text{s}^{-1}$ , la especie reducida no logra detectarse en el barrido de regreso. Los tiempos cortos y largos de la velocidad de barrido también tienen una relación con la  $i_{pc}$ . Como se observa en la **Figura 30**, la  $i_{pc}$  aumenta a medida que el tiempo del

barrido de potencial disminuye. Esto se debe a que el tamaño de la  $\delta$  es una función decreciente de la  $v$ , y como resultado la pendiente de los perfiles de concentración aumenta, como se observa en la **Figura 12**.



**Figura 30.** Voltamperometría cíclica de la zona de reducción de la ftálidea **1** (1 mM) en 0.1 M de TBAPF<sub>6</sub> en ACN, y  $v$  desde 5 mV·s<sup>-1</sup> hasta 5 V·s<sup>-1</sup>. ET: GC, ER: Ag/Ag<sup>+</sup>, EA: alambre de Pt. Inserto: barridos de potencial desde 5 hasta 90 mV·s<sup>-1</sup>.

A partir de la forma irreversible del voltamperograma de la **Figura 30**, y de parámetros como  $i_{pc}$ ,  $E_{pc}$ ,  $E_i$ ,  $E_{p/2}$  y  $v$  se llevó a cabo la caracterización de la primera transferencia electrónica catódica de la ftálidea **1**. Como se describió previamente, en sistemas irreversibles, el paso limitante de la reacción es la transferencia electrónica interfacial. Este paso se caracteriza por la constante estándar de velocidad de transferencia electrónica ( $k^0$ ). Para sistemas irreversibles, el valor de  $k^0$  es  $\leq 10^{-5}$  cm·s<sup>-1</sup>.<sup>98</sup> De acuerdo con la ecuación 1.10, para calcular el valor de  $k^0$  es necesario conocer el coeficiente de difusión ( $D$ ), el coeficiente de transferencia de carga ( $\alpha$ ) y el valor del potencial formal ( $E^0$ ).

En procesos controlados por difusión, los parámetros de  $i_{pc}$  y  $v$  permiten calcular  $D$  a partir de la ecuación 1.12 modificada de Randles-Sevcik para sistemas irreversibles. En la **Figura 32a** se observa una relación lineal de la  $i_{pc}$  vs.  $\sqrt{v}$ , lo cual indica que el proceso está controlado por difusión. Otro parámetro que permite analizar si el proceso está controlado por difusión es la pendiente de la relación lineal del  $\ln(i_{pc})$  vs.  $\ln(v)$ . De acuerdo con la literatura<sup>98</sup>, si la pendiente de la regresión lineal del  $\ln(i_{pc})$  vs.  $\ln(v)$  es igual a 0.5, el proceso está controlado por difusión. El valor obtenido de la regresión lineal fue de 0.45, ver **Figura 32b**. Por lo tanto, la especie reducida de la ftálica **1** en la superficie del electrodo se difunde libremente hacia el seno de la disolución.

Utilizando el valor de la pendiente de la relación lineal de la  $i_{pc}$  vs.  $\sqrt{v}$  (**Figura 32a**) y la ecuación 1.12, se tiene:

$$Pendiente = (2.99 \times 10^5) \cdot A \cdot C \cdot n \cdot \alpha^{1/2} \cdot D^{1/2} \quad (4.1)$$

$$D = \left( \frac{Pendiente}{(2.99 \times 10^5) \cdot A \cdot C \cdot n \cdot \alpha^{1/2}} \right)^2 \quad (4.2)$$

$\alpha$  es el coeficiente de transferencia de carga,  $A$  es el área electroactiva del electrodo,  $C$  la concentración de la especie en disolución, y  $n$  es el número de electrones transferidos.

En sistemas irreversibles, la relación lineal en la gráfica de  $E_{pc}$  como una función del  $\ln(v)$  permite determinar el valor de  $\alpha$  a partir de la pendiente, ver **Figura 32c**. Reemplazando en la ecuación 1.10, se tiene:

$$Pendiente = -\frac{R \cdot T}{2 \cdot n \cdot \alpha \cdot F} \quad (4.3)$$

$$n\alpha = -\frac{R \cdot T}{2 \cdot F \cdot (-pendiente)} = -\frac{8.314 \text{ J} \cdot \text{K}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot 298 \text{ K}}{2 \cdot 96500 \text{ C} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot (-0.0224)} = 0.57 \quad (4.4)$$

---

De la ecuación 4.4 se obtiene un valor de 0.57 para  $n\alpha$ , tomando  $R = 8.314 \text{ J}\cdot\text{K}^{-1}\cdot\text{mol}^{-1}$ ,  $T = 298 \text{ K}$  y  $F = 96\,500 \text{ C}\cdot\text{mol}^{-1}$ . El valor de 0.57 en un proceso controlado por difusión, indica que  $n$  es igual a 1 y  $\alpha$  es igual a 0.57. El parámetro  $\alpha$  describe la cinética de la transferencia electrónica, ya que está relacionado con la energía de activación de la reacción en los procesos de transferencia electrónica.

De acuerdo con Savéant & Costentin<sup>98</sup>,  $\alpha$  también se puede determinar a partir de la ecuación 4.5. Donde  $E_{p/2}$  es el potencial de medio pico y  $E_p$  es el potencial de pico.

$$\alpha = \frac{47.7 \text{ mV}}{E_{p/2} - E_p} = \frac{47.7 \text{ mV}}{78.1 \text{ mV}} = 0.6 \quad (4.5)$$

El valor de  $E_{p/2}$  y  $E_p$  se determinó a  $5 \text{ V}\cdot\text{s}^{-1}$ , y se obtuvo un valor de  $\alpha$  igual a 0.6, cercano al valor obtenido previamente en la ecuación 4.4.

Para observar si el valor de  $n$  varía con tiempos de electrólisis cortos se graficó la IPCNORM vs. el  $\log(v)$ . De acuerdo con Vincent & Peters<sup>121</sup>, la IPCNORM es la normalización de la función de corriente, que resulta de la división de la función de corriente (Ecuación 4.6) por el valor de la función de corriente a la máxima  $v$ , es decir a los  $5 \text{ V}\cdot\text{s}^{-1}$ . La función de corriente se describe como:

$$i_{pc}/v^{1/2} \cdot C \quad (4.6)$$

En la **Figura 32d** se observa que el número aparente de electrones transferidos a la ftálica **1** se mantiene alrededor de 1, tanto a tiempos de electrólisis largos como cortos.

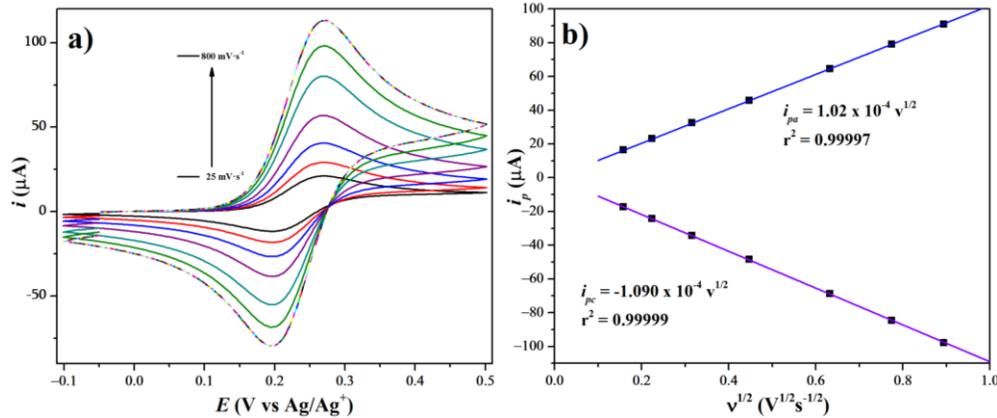
Para el cálculo del área electroactiva del electrodo de GC, se utilizó un sistema redox conocido, como el de ferroceno. Utilizando la ecuación 1.11 y la pendiente de la relación lineal de  $i_p$  vs.  $\sqrt{v}$  (**Figura 31**), se tiene:

$$\text{Pendiente} = 2.69 \times 10^5 \cdot A \cdot C \cdot n^{3/2} \cdot D^{1/2} \quad (4.7)$$


---

$$A = \frac{\text{Pendiente}}{2.69 \times 10^5 \cdot C \cdot n^{3/2} \cdot D^{1/2}} \quad (4.8)$$

De la ecuación 4.8 se obtiene un área electroactiva igual a  $0.08 \text{ cm}^2$ , tomando  $C = 1 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{cm}^{-3}$  y el valor reportado del  $D_{\text{ferroceno}}$  igual a  $2.7 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$  para GC en  $0.25 \text{ M}$  de  $\text{TBAPF}_6$  en ACN.<sup>97</sup>



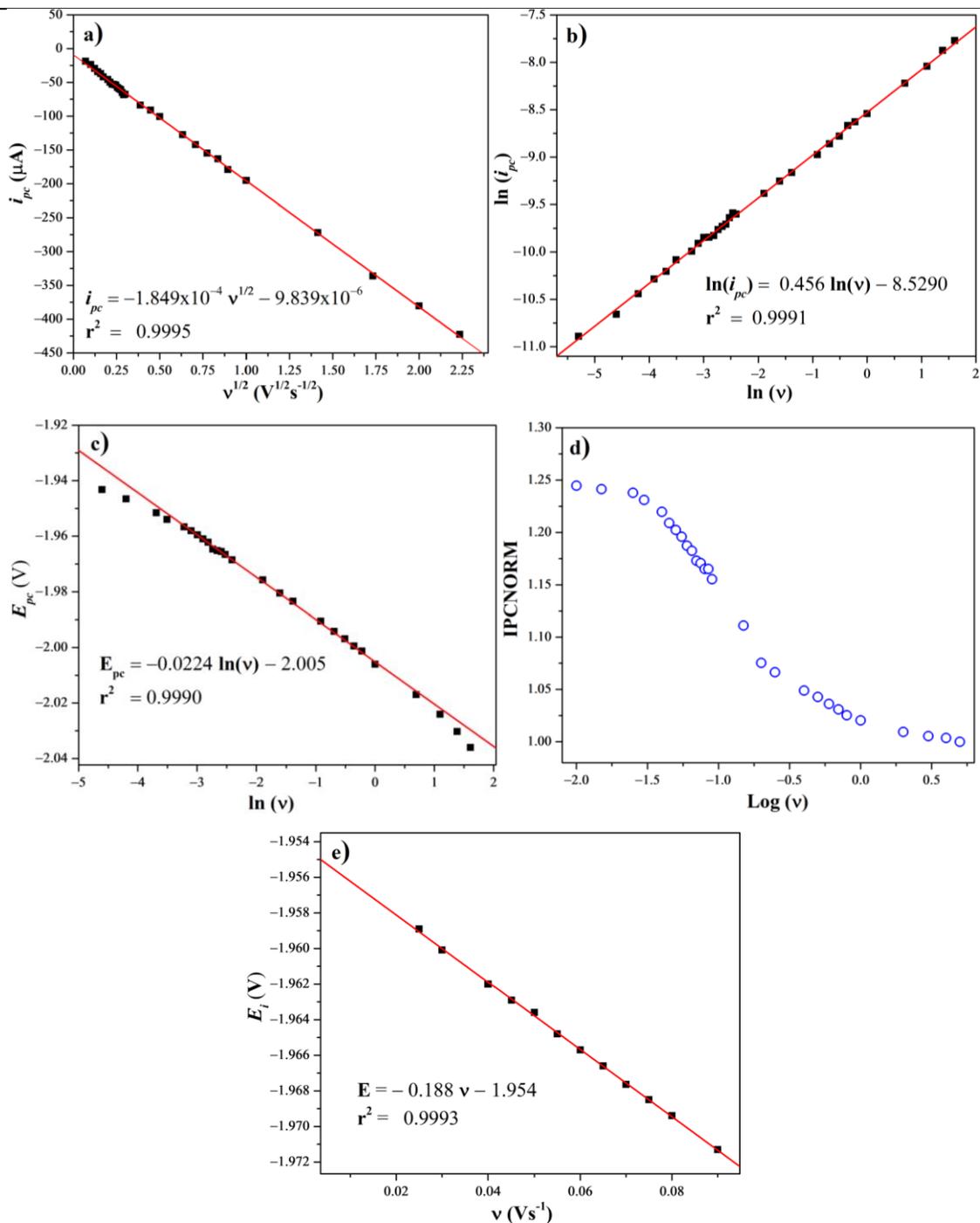
**Figura 31.** a) Voltamperometría cíclica de ferroceno ( $1 \text{ mM}$ ) en  $0.1 \text{ M}$  de  $\text{TBAPF}_6$  en ACN.  $v$  desde  $25$  hasta  $800 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$ . ET: GC, ER:  $\text{Ag}/\text{Ag}^+$ , EA: alambre de Pt. b) Corriente de pico catódica ( $i_{pc}$ ) vs.  $\sqrt{v}$ .

Reemplazando los valores obtenidos de  $\alpha$ ,  $A$  y  $n$  en la ecuación 4.2, se tiene:

$$D = 9.95 \times 10^{-5} \frac{\text{cm}^2}{\text{s}} \quad (4.9)$$

Este valor indica que la especie reducida de la ftálica **1** se difunde con una velocidad de  $9.95 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ .

Para estimar el valor  $E^{o'}$  en sistemas irreversibles, Espinoza *et al.* reportan que el potencial del punto de inflexión ( $E_i$ ) es el valor más cercano al potencial formal estándar ( $E^{o'}$ ).<sup>123</sup> El  $E_i$  es el potencial cuando la  $\frac{\partial^2 i}{\partial E^2} = 0$ . De la extrapolación de la curva obtenida por los valores de  $E_i$  en función del  $v$  (Figura 32e), se obtiene que  $E_i \cong E^{o'} \cong -1.95 \text{ V}$ .



**Figura 32.** a) Corriente de pico catódica ( $i_{pc}$ ) vs.  $\sqrt{v}$ . b)  $\ln(i_{pc})$  vs.  $\ln(v)$ . c) Potencial de pico catódico ( $E_{pc}$ ) vs.  $\ln(v)$ . d) Función de corriente de pico normalizada (IPCNORM) vs.  $\log(v)$ . e) Potencial de pico catódico ( $E_{pc}$ ) vs.  $v$ .

Conociendo el valor estimado de  $E^{o'}$ , el intercepto de la relación lineal del  $E_{pc}$  vs.  $\ln(v)$  (Figura 32c) y la ecuación 1.10, se tiene:

---


$$\text{Intercepto} - E^{0'} = -\frac{R \cdot T}{\alpha \cdot n \cdot F} \left[ 0.780 + \ln \left( \frac{1}{k^0} \right) + \ln \left( \frac{\alpha \cdot n \cdot F}{R \cdot T} \right)^{\frac{1}{2}} \right] \quad (5.0)$$

$$k^0 = e^{\left[ \frac{\alpha \cdot n \cdot F}{R \cdot T} (\text{intercepto} - E^{0'}) + 0.780 + \ln \left( \frac{\alpha \cdot n \cdot F}{R \cdot T} \right)^{\frac{1}{2}} + \ln D^{\frac{1}{2}} \right]} \quad (5.1)$$

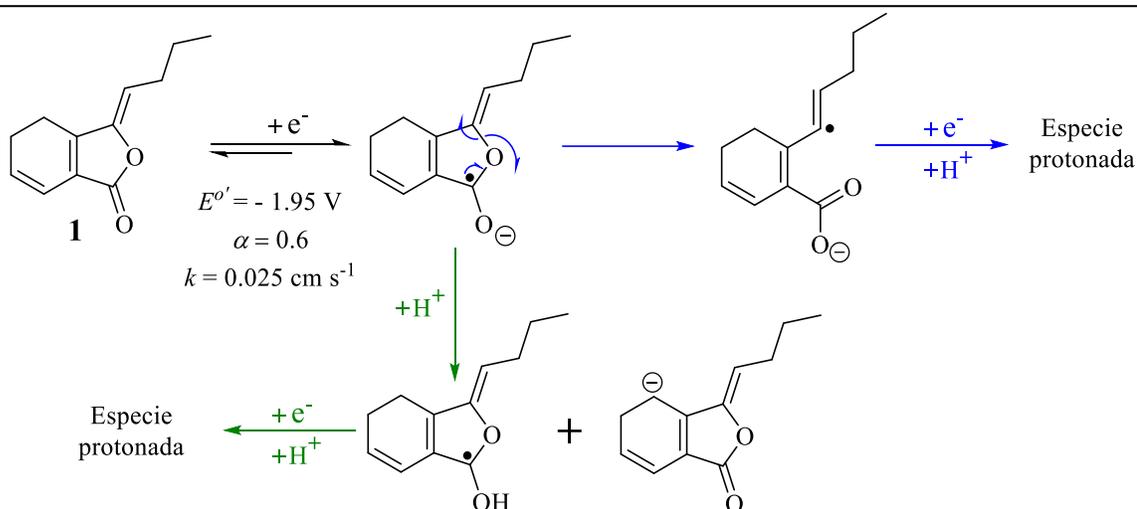
Reemplazando los valores obtenidos previamente, se tiene:

$$k^0 = 0.025 \frac{\text{cm}}{\text{s}} \quad (5.2)$$

El valor obtenido es mayor de acuerdo con lo reportado en la literatura para sistemas irreversibles ( $k^0 \leq 10^{-5}$ ).<sup>98</sup> Por lo tanto, la irreversibilidad del sistema se debe a que la transferencia electrónica tiene acoplada una reacción química irreversible (mecanismo tipo  $EC_{irrev}$ ), cuya constante de velocidad es mucho mayor a la  $k^0$ .

A diferencia del comportamiento cuasi-reversible a bajas  $v$  ( $50 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$ ) y reversible a altas  $v$  ( $5 \text{ V} \cdot \text{s}^{-1}$ ), con un valor de la  $k^0$  igual a  $0.03 \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$ , de la 1(3*H*)-isobenzofuran-1-ona en electrodos de GC en 0.1 M de TBAP en ACN<sup>121</sup>, la ftálica **1** presenta un comportamiento irreversible (desde 0.005 hasta  $5 \text{ V} \cdot \text{s}^{-1}$ ), con un valor de la  $k^0$  igual a  $0.025 \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$ . Esto sugiere que el efecto de resonancia en el sistema aromático de la 1(3*H*)-isobenzofuran-1-ona proporciona una mayor estabilidad al radical anión en comparación con el sistema  $\alpha, \beta, \gamma, \delta$ -insaturado de la ftálica **1**.

Una vez que ocurre la transferencia electrónica heterogénea, el radical anión formado de la ftálica **1** puede seguir dos posibles rutas de reacción (**Figura 33**). La primera implica la ruptura del enlace C-O cetálico (flecha azul en la **Figura 33**). Sin embargo, esta ruta es menos probable, dado que el radical anión formado es menos estable, y daría lugar a que la reacción química sea el paso limitante de la transferencia electrónica. Por otro lado, la segunda ruta involucra la protonación y la generación de un radical anión más estable (flecha verde en la **Figura 33**), lo cual concuerda con el comportamiento irreversible observado en la VC de la ftálica **1**.



**Figura 33.** Propuesta de posibles rutas de reducción de la ftálidea 1.

Para confirmar que el paso subsecuente a la reacción de transferencia electrónica heterogénea es la protonación, se realizó una VC en presencia del ácido 2,3-dimetilfenol. En la **Figura 34a** se observa el aumento de la corriente faradaica en presencia del ácido. Este aumento de la  $i_{pc}$  confirma que la reacción química que sigue a la transferencia electrónica heterogénea es la protonación para formar un radical relativamente estable centrado en carbono (**Figura 33**). En la **Figura 34b** se observa que el grado de irreversibilidad del proceso redox de la ftálidea con la adición del 2,3-dimetilfenol aumenta a mayores  $v$ . El  $E_{onset}$  disminuye de -1.88 V (**Figura 30**) a -1.83 V (**Figura 34a**) en presencia del ácido de Brønsted-Lowry, lo cual indica la presencia de un equilibrio ácido-base colateral que favorece la reacción de transferencia electrónica. A partir de la forma irreversible del voltamperograma de la **Figura 34b** se calcularon los parámetros de  $i_{pc}$ ,  $E_{pc}$ ,  $E_i$ ,  $E_{p/2}$  y  $v$ .

La relación lineal de la  $i_{pc}$  vs.  $\sqrt{v}$  indica que el proceso está controlado por difusión. Utilizando el valor de la pendiente de la relación lineal de la  $i_{pc}$  vs.  $\sqrt{v}$  (**Figura 34c**) y la ecuación 1.12, se tiene:

$$Pendiente = (2.99 \times 10^5) \cdot A \cdot C \cdot n \cdot \alpha^{1/2} \cdot D^{1/2} \quad (5.3)$$

$$D = \left( \frac{Pendiente}{(2.99 \times 10^5) \cdot A \cdot C \cdot n \cdot \alpha^{1/2}} \right)^2 \quad (5.4)$$

$\alpha$  es el coeficiente de transferencia de carga,  $A$  es el área electroactiva del electrodo,  $C$  la concentración de la especie en disolución, y  $n$  es el número de electrones transferidos.

En sistemas irreversibles, la relación lineal del  $E_{pc}$  vs.  $\ln(v)$  permite determinar el valor de  $\alpha$  a partir de la pendiente, ver **Figura 34d**. Reemplazando los valores en la ecuación 1.10, se tiene:

$$\text{Pendiente} = -\frac{R \cdot T}{2 \cdot n \cdot \alpha \cdot F} \quad (5.5)$$

$$n\alpha = -\frac{R \cdot T}{2 \cdot F \cdot (-\text{pendiente})} = -\frac{8.314 \text{ J} \cdot \text{K}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot 298 \text{ K}}{2 \cdot 96\,500 \text{ C} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot (-0.027)} = 0.50 \quad (5.6)$$

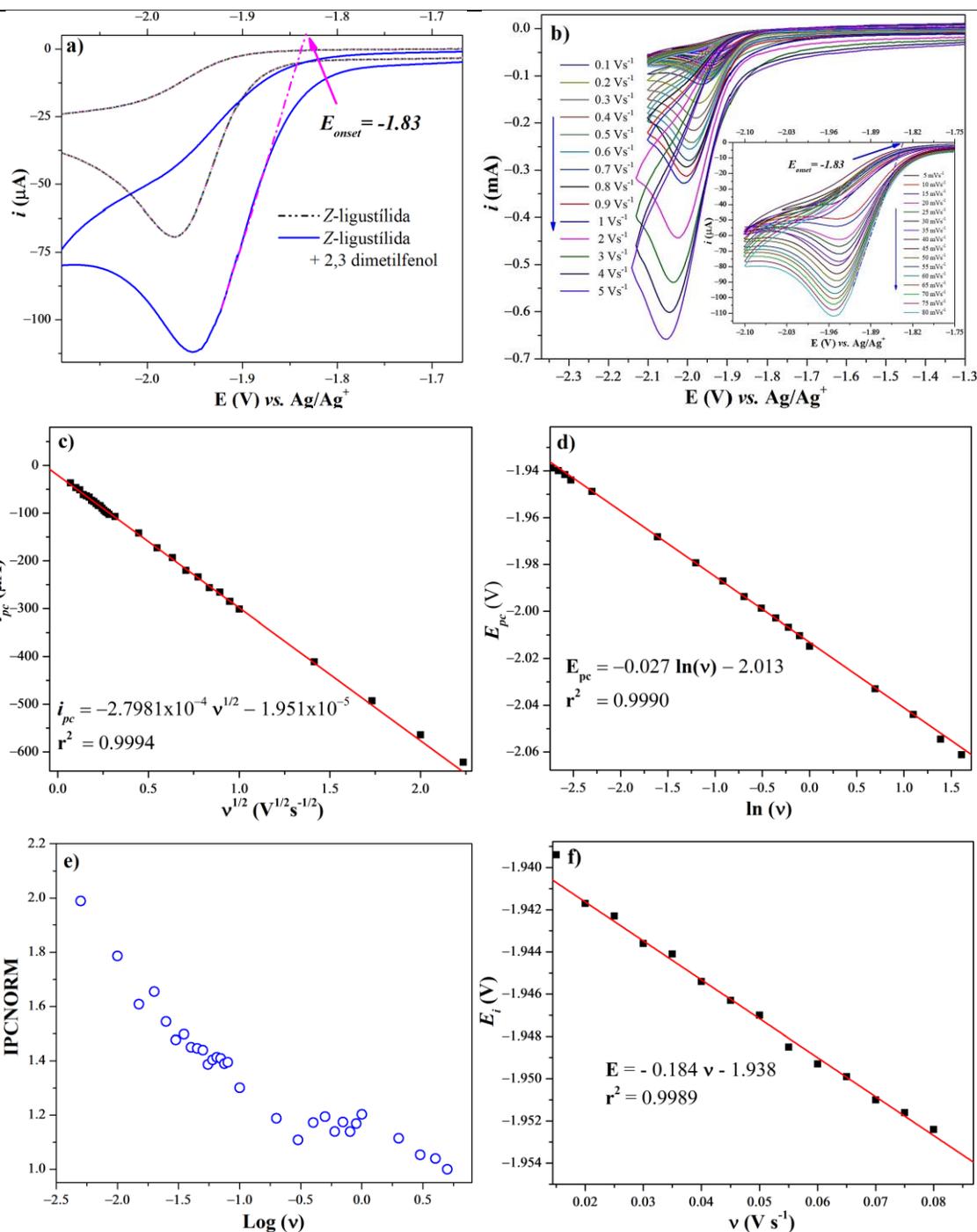
De la ecuación 5.6 se obtiene un valor de 0.50 para  $n\alpha$ , tomando  $R = 8.314 \text{ J} \cdot \text{K}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1}$ ,  $T = 298 \text{ K}$  y  $F = 96\,500 \text{ C} \cdot \text{mol}^{-1}$ . El valor de 0.50 en un proceso controlado por difusión, indica que  $n$  es igual a 1 y  $\alpha$  es igual a 0.50. Otra forma de determinar  $\alpha$  es a partir del  $E_{p/2}$  y el  $E_p$  (Ecuación 5.7). El valor de  $E_{p/2}$  y  $E_p$  se determinó a  $5 \text{ V} \cdot \text{s}^{-1}$ , y se obtuvo un valor de  $\alpha$  igual a 0.51, cercano al valor obtenido previamente en la ecuación 5.6.

$$\alpha = \frac{47.7 \text{ mV}}{E_{p/2} - E_p} = \frac{47.7 \text{ mV}}{93.8 \text{ mV}} = 0.51 \quad (5.7)$$

En la **Figura 34e** se observa que el número aparente de electrones transferidos a la ftálica **1** a altas velocidades de barrido es igual a 1 y que a tiempos de electrólisis cortos éste valor aumenta alrededor de 2 electrones. Reemplazando los valores obtenidos de  $\alpha$ ,  $A$  y  $n$  en la ecuación 5.4, se tiene:

$$D = 2.74 \times 10^{-4} \frac{\text{cm}^2}{\text{s}} \quad (5.8)$$

Este valor indica que la especie reducida de la ftálica **1** se difunde con una velocidad de  $2.74 \times 10^{-4} \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ . De la extrapolación de la curva obtenida por los valores de  $E_i$  en función de la  $v$  (**Figura 32e**), se obtiene que  $E_i \cong E^{o'} \cong -1.94 \text{ V}$ .



**Figura 34.** a) Voltamperometría cíclica de la fátalida 1 (1 mM) (línea discontinua) y fátalida 1 (1 mM) en presencia de 2,3-dimetilfenol (10 mM) (línea azul) en 0.1 M de TBAPF<sub>6</sub> en ACN.  $v = 80 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$ . b) Voltamperometría cíclica de la zona de reducción de la fátalida 1 (1 mM) en presencia de 2,3-dimetilfenol (10 mM) en 0.1 M de TBAPF<sub>6</sub> en ACN.  $v$  desde 0.005 hasta  $5 \text{ V}\cdot\text{s}^{-1}$ . ET: GC, ER: Ag/Ag<sup>+</sup>, EA: alambre de Pt. Inserto: barridos de potencial desde 5 hasta  $90 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$ . c) Corriente de pico catódica ( $i_{pc}$ ) vs.  $\sqrt{v}$ . d) Potencial de pico catódico ( $E_{pc}$ ) vs.  $\ln(v)$ . e) Función de corriente de pico normalizada (IPCNORM) vs.  $\log(v)$ . f) Potencial de pico catódico ( $E_{pc}$ ) vs.  $v$ .

Conociendo el valor estimado de  $E^{0'}$ , el intercepto de la relación lineal del  $E_{pc}$  vs.  $\ln(v)$  (Figura 34d) y la ecuación 1.10, se tiene:

$$\text{Intercepto} - E^{0'} = -\frac{R \cdot T}{\alpha \cdot n \cdot F} \left[ 0.780 + \ln\left(\frac{D^{\frac{1}{2}}}{k^0}\right) + \ln\left(\frac{\alpha \cdot n \cdot F}{R \cdot T}\right)^{\frac{1}{2}} \right] \quad (5.8)$$

$$k^0 = e^{\left[ \frac{\alpha \cdot n \cdot F}{R \cdot T} (\text{intercepto} - E^{0'}) + 0.780 + \ln\left(\frac{\alpha \cdot n \cdot F}{R \cdot T}\right)^{\frac{1}{2}} + \ln D^{\frac{1}{2}} \right]} \quad (5.9)$$

Reemplazando los valores obtenidos previamente, se tiene:

$$k^0 = 0.034 \frac{\text{cm}}{\text{s}} \quad (6.0)$$

El aumento en el valor de la  $k^0$  indica que el ácido tiene un efecto catalítico en la reacción de transferencia electrónica. En la **Tabla 6** se resumen los parámetros electroquímicos obtenidos del análisis de reducción de la ftálica Z-ligustilida (**1**) en un medio aprótico, y en presencia del ácido 2,3-dimetilfenol en GC.

**Tabla 6.** Parámetros electroquímicos de la reducción ftálica Z-ligustilida (**1**) en presencia del 2,3-dimetilfenol en GC.

Entrada	[ ] <sub>2,3-dimetilfenol</sub>	$E_{onset}^{ab}$	$E_i \cong E^{0'}$	$\alpha$	$n$	$D \times 10^{-5c}$	$k^0 \times 10^{-2d}$
1	0	-1.88	-1.95	0.6	1	9.95	2.5
2	0.01 M	-1.83	-1.94	0.5	1	0.27	3.4

<sup>a</sup>Los valores reportados se realizaron a una concentración de 1 mM de la ftálica Z-ligustilida (**1**) en 0.1 M de TBAPF<sub>6</sub> en ACN.

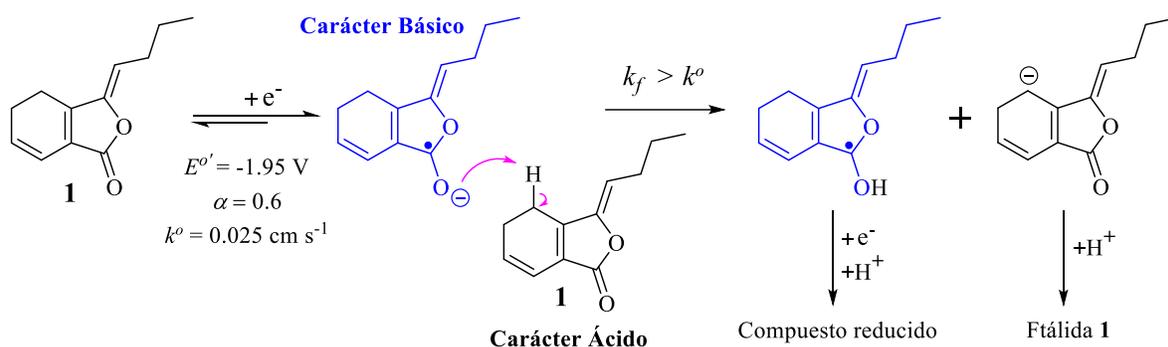
<sup>b</sup>E (V) vs. Ag/Ag<sup>+</sup>, EA: alambre de Pt.

<sup>c</sup>En cm<sup>2</sup>·s<sup>-1</sup>.

<sup>d</sup>En cm·s<sup>-1</sup>.

En la reducción electroquímica de la 1(3*H*)-isobenzofuran-1-ona, Pasciak *et al.*<sup>122</sup> reportaron que en un medio aprótico esta ftálica actúa como un ácido de Brønsted-Lowry en presencia del radical anión de la 1(3*H*)-isobenzofuran-1-ona. Es decir, el compuesto de partida actúa como una fuente de protón que neutraliza las bases generadas tras la transferencia electrónica. De manera similar, la ftálica **1** exhibe este comportamiento. En disolventes apróticos como ACN y DMF, la

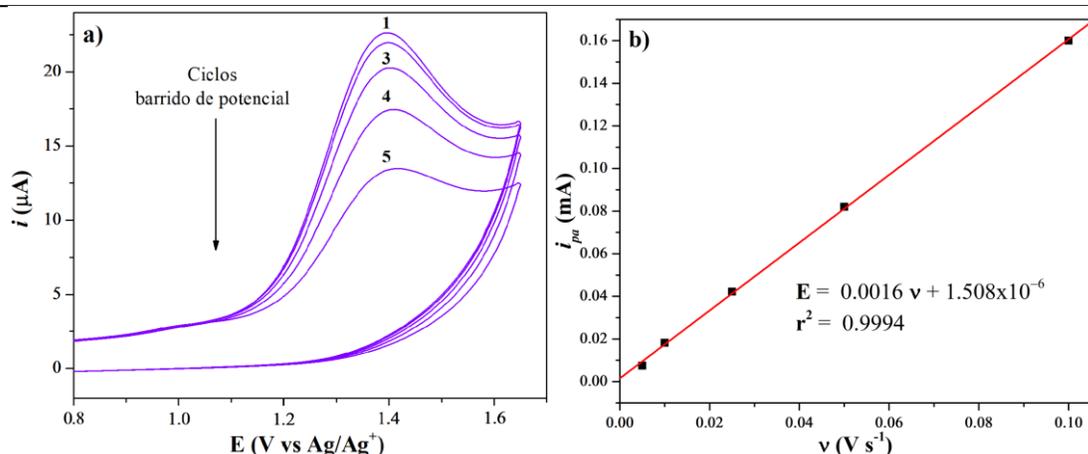
reducción electroquímica de la ftálida **1** involucra la reacción de transferencia electrónica para formar el radical anión de la ftálida **1** y una subsecuente reacción ácido-base de Brønsted-Lowry para formar un radical centrado en carbono que experimenta posteriores reacciones químicas (**Figura 35**).



**Figura 35.** Carácter ácido de la materia prima y básico del radical anión de la ftálida **1** en un medio aprótico.

Una vez que la ftálida **1** experimenta la reacción de transferencia electrónica y la reacción química irreversible, el radical formado lleva a cabo una segunda transferencia electrónica que puede ocurrir en la superficie del electrodo (proceso ECE) o en disolución, donde el electrón puede ser tomado del radical anión (proceso DISP). De acuerdo con las tablas de análisis cinético reportadas por Amatore *et al.*<sup>124</sup> y los valores obtenidos de los parámetros cinéticos, se propone que la segunda reducción se lleva a cabo bajo un proceso ECE-DISP. No obstante, esta propuesta requiere más estudios cinéticos y de simulación de señales electroquímicas para confirmar si existe un control cinético mixto, o cuál de los dos procesos gobierna la segunda transferencia electrónica.

En la zona de oxidación, se observó el decaimiento de la  $i_{pa}$  a un  $E_{pa}$  de 1.4 V vs. Ag/Ag<sup>+</sup> a medida que se aumentan los ciclos de barrido de potencial (**Figura 36a**). Esto sugiere que el radical catión formado se adsorbe en la superficie del electrodo. La relación lineal entre la  $i_{pa}$  vs la  $\nu$  confirma el proceso de adsorción de las especies en la superficie del electrodo (**Figura 36b**). Por lo tanto, este proceso tiene asociado una pasivación del electrodo que limita que se lleve a cabo de manera continua la electrólisis de las especies disueltas en la disolución electrolítica.



**Figura 36.** a) Voltamperometría cíclica para la oxidación de la ftálica **1** (1 mM) en 0.1 M de TBAPF<sub>6</sub> en ACN.  $v = 50 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$ . ET: GC, ER: Ag/Ag<sup>+</sup>, EA: alambre de Pt. b) Corriente de pico anódico ( $i_{pa}$ ) vs.  $v$ .

#### 4.4 Conclusiones

- La ftálica Z-ligustílida (**1**) tiene un  $E_{pc}$  a -2 V y un  $E_{pa}$  a 1.4 V vs. Ag/Ag<sup>+</sup>.
- En función del ET y la disolución electrolítica, se observa uno o los dos potenciales redox en los electrodos de GC, Pt, BDD y Au.
- El proceso de reducción y oxidación de la ftálica Z-ligustílida (**1**) es irreversible. En la zona de reducción se observa que la transferencia electrónica tiene acoplada una reacción química de protonación irreversible (mecanismo tipo EC<sub>irrev</sub>), cuya constante de velocidad es mucho mayor a la  $k^o$ .
- En oxidación, el decaimiento de la  $i_{pa}$  con el aumento en el número de ciclos del barrido de potencial, y la relación lineal de la  $i_{pa}$  vs.  $v$  confirmaron que este proceso tiene asociado una pasivación del electrodo, lo cual limita que se lleve a cabo de manera continua la electrólisis de las especies disueltas en la disolución electrolítica.
- La relación lineal de la  $i_{pc}$  vs.  $\sqrt{v}$  indican que el proceso de reducción en un medio aprótico está controlado por difusión, con un coeficiente de difusión ( $D$ ) igual a  $9.95 \times 10^{-5} \text{ cm}^2\cdot\text{s}^{-1}$ , y una constante de velocidad de transferencia electrónica heterogénea ( $k^o$ ) igual a  $2.5 \times 10^{-2} \text{ cm}\cdot\text{s}^{-1}$  en GC a 0.1 M de TBAPF<sub>6</sub> en ACN.
- La irreversibilidad del proceso y los parámetros cinéticos indican que el paso lento de la reacción es la transferencia electrónica heterogénea.

- 
- En un medio aprótico como ACN y DMF, la ftálida *Z*-ligustílida (**1**) actúa como un ácido de Brønsted-Lowry que neutraliza las bases generadas de la ftálida **1** tras el proceso de transferencia electrónica.
  - El aumento de la  $i_{pc}$  en presencia del 2,3-dimetilfenol confirma que el paso siguiente a la formación del radical anión es la protonación. Además, la presencia del ácido tiene un efecto catalítico en la reacción de transferencia electrónica debido al aumento en el valor de la  $k^o$ .

---

## Capítulo 5.

### Electrólisis preparativa de la ftálica *Z*-ligustílida

#### 5.1 Introducción

En este capítulo se presentan los experimentos realizados a escala milimolar de la ftálica *Z*-ligustílida. La electrólisis se llevó a cabo a potenciales de reducción debido a la pasivación del electrodo en oxidación. Además, se presentan las electrólisis en condiciones potencioestáticas y galvanostáticas para evaluar su efecto en el rendimiento de la reacción. Los derivados obtenidos se caracterizaron por medio de técnicas espectroscópicas.

#### 5.2 Sección experimental

##### *Información general*

La electrólisis potencioestática se realizó en el potencioestato AUTOLAB PG-30 acoplado a una computadora y controlado por un software NOVA 2.1.7. y la electrólisis galvanostática con la fuente de poder ROHDE & SCHWARZ HMP4040 de 384 W.

Se utilizaron placas de carbón vítreo de dimensiones de 1 × 6 cm. Los disolventes empleados fueron purificados y secados. El disolvente aprótico DMF (99 %, Aldrich) se destiló en alto vacío y se almacenó sobre malla molecular de 4 Å. El disolvente aprótico ACN (Tecsiquim grado HPLC) se secó a través de una columna de SiO<sub>2</sub> (malla 70-230) y se almacenó sobre malla molecular de 4 Å. La sal [Bu<sub>4</sub>N][PF<sub>6</sub>] (TBAPF<sub>6</sub>) (98 %, Aldrich) se almacenó en desecadores de drierita. Todos los experimentos se desoxigenaron a través de un burbujeo con gas de N<sub>2</sub>.

##### *Caracterización espectroscópica*

Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) se adquirieron en equipos Bruker Avance III a 300 y 700 MHz. Los desplazamientos químicos ( $\delta$ ) se reportan en partes por millón (ppm), usando cloroformo deuterado (CDCl<sub>3</sub>) como disolvente y tetrametilsilano (TMS) como referencia interna, de la marca Sigma-Aldrich.

---

### 5.3 Resultados y discusión

A partir de los resultados obtenidos en la caracterización electroquímica, se utilizaron los electrodos de carbono vítreo como **ET** y **EA**, y una disolución electrolítica de TBAPF<sub>6</sub> como electrolito soporte en ACN y DMF.

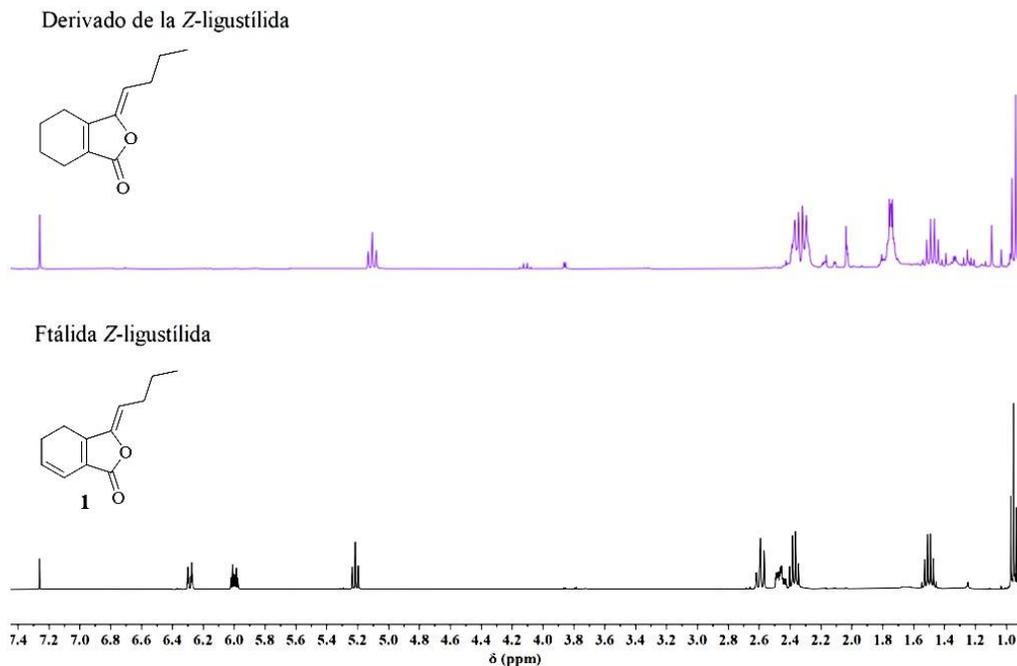
La electrólisis potenciostática se llevó a cabo a un  $E_{pc}$  de -2 V vs. Ag/Ag<sup>+</sup> en una celda dividida tipo H (**Figura 68**) para evitar reacciones no deseadas o el aumento de la resistencia por la pasivación del **EA** en oxidación. La disolución de 7 mL en cada lado de la celda se desgasificó por 10 min, y durante la electrólisis se mantuvo una atmósfera inerte para evitar la oxidación de la materia prima. La reacción fue seguida mediante ccf y durante la electrólisis se observó un cambio en el color de la disolución (**Figura 69**). Luego de 1 h de electrólisis, se observó el consumo total de la materia prima (1 mmol) y la aparición de tres compuestos por ccf, dos de cercana polaridad a la ftálida *Z*-ligustílida y uno de mayor polaridad en la base de la placa cromatográfica. Al revelar con la disolución de sulfato cérico de amonio y molibdato de amonio, se observó la presencia de otro compuesto polar, pero con menor intensidad. A partir del área bajo la curva de *i* de electrólisis vs. tiempo, se determinó la carga consumida en la reacción (150 C). Utilizando la ecuación 1.3 y el valor obtenido de *Q*, se calculó el número de electrones transferidos en esta reacción, el cual fue igual a dos por cada milimol de la ftálida **1**.

Para remover el electrolito soporte del crudo de reacción se utilizó un embudo de separación. Dada la solubilidad de TBAPF<sub>6</sub> en disolventes orgánicos apolares como hexano, se utilizó éter para separarlo de la fase orgánica. Luego, la fase orgánica se evaporó en un rotavapor a presión reducida y se obtuvo un aceite de color oscuro. Éste se analizó por ccf con un sistema de disolventes Hex:AcOEt (9:1), y se observó la presencia mayoritaria de dos compuestos de cercana polaridad a la materia prima. Estos compuestos tienen una  $\Delta R_f \leq 0.06$ , por lo tanto, para su purificación se utilizó una columna rápida con un sistema de elución Hex:AcOEt (97:3).

El compuesto de menor polaridad corresponde a la ftálida *Z*-butilidenftálida (**2**), el cual fue previamente caracterizado en la purificación de la materia prima. El segundo compuesto de polaridad cercana a la ftálida *Z*-ligustílida (**1**) corresponde a un producto de deshidrogenación. En el espectro de RMN <sup>1</sup>H (**Figura 37**) se observa la desaparición de las señales alrededor de 6 ppm,

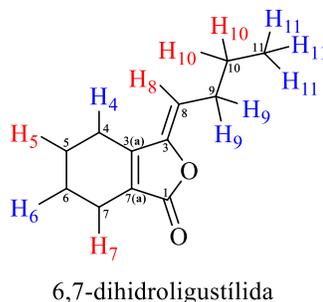
---

y el aumento de señales a campo alto. La señal alrededor de 5 ppm sugiere la presencia de hidrógenos vinílicos.

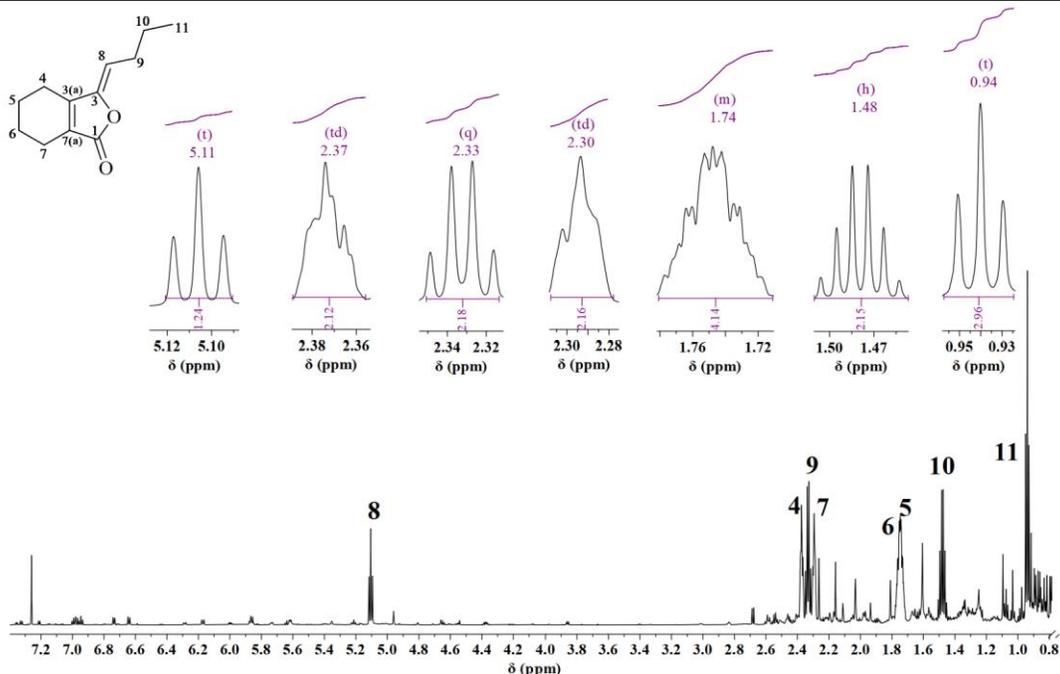


**Figura 37.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) del derivado de la ftálida Z-ligustilida (**1**) obtenido mediante electrólisis potencioestática a  $-2\text{ V}$  vs.  $\text{Ag}/\text{Ag}^+$ . ET: GC, EA: GC con  $0.1\text{ M}$  de  $\text{TBAPF}_6$  en ACN.

En el espectro de IR (**Figura 70**), se observa la banda de absorción en  $1757\text{ cm}^{-1}$ , lo cual confirma la presencia del grupo carbonilo de lactona. En ese sentido, se propone que el compuesto obtenido corresponde a la ftálida 6,7-dihidroligustilida (**Figura 38**).



**Figura 38.** Hidrógenos en la estructura de la ftálida 6,7-dihidroligustilida.

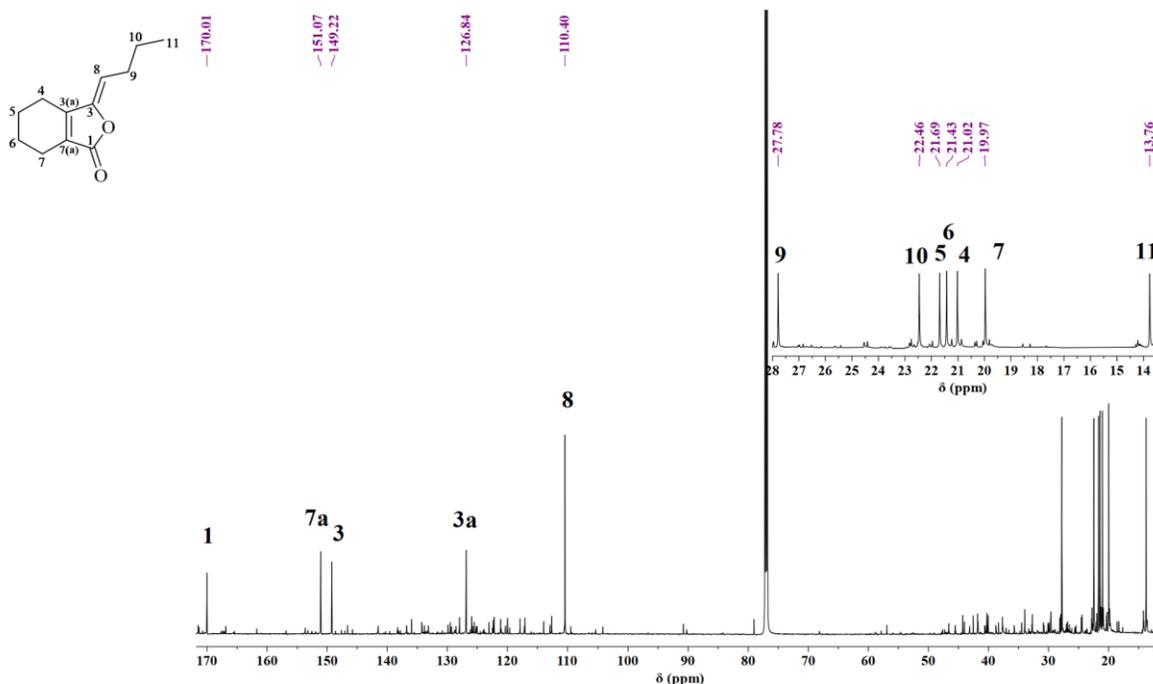


**Figura 39.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (700 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de la ftálica 6,7-dihidroligustilida.

De acuerdo con la estructura propuesta en la **Figura 38** y el espectro de la **Figura 39**, la señal de triplete (t) corresponde al hidrógeno 8 que resulta de la interacción con los hidrógenos del C-9, y debido a la conjugación con la lactona, se observa su desplazamiento a 5.10 ppm. El hidrógeno 9 por estar cercano al enlace C-O sufre el efecto desapantallamiento y por ello se observa su señal a 2.33 ppm. La señal de cuadruplete (c) del hidrógeno 9 resulta de la interacción con los hidrógenos del C-10 y el hidrógeno del C-8. Debido a la mayor distancia del hidrógeno 10 y 11 con el anillo de lactona no se observa el efecto de desapantallamiento, y por ello sus señales aparecen a campo alto. El hidrógeno 10 tiene una señal de sextuplete (sx) por la interacción con los hidrógenos del C-11 y C-9, y el hidrógeno 11 la señal de triplete (t) por su interacción con los hidrógenos del C-10. Los hidrógenos 7 y 4 del ciclohexadieno aparecen alrededor de 2.38 y 2.28 ppm debido al efecto electroatractor de la lactona. Por el contrario, los hidrógenos 6 y 5 sufren en menor medida ese efecto por la distancia del enlace, y por ello se observan a un desplazamiento de 1.78 y 1.72 ppm.

Para confirmar la estructura propuesta de las señales en el espectro de RMN  $^1\text{H}$  (**Figura 39**) se realizaron análisis de RMN  $^{13}\text{C}$ , COSY, HSQC y HMBC. En el espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (**Figura 40**), se observa a 170 ppm la señal correspondiente a la lactona. Las señales de los carbonos  $\text{sp}^2$

aparecen a 110.40 ppm para C-8, a 126 ppm para el C-3a, a 149 ppm para el C-3 y a 151 ppm para el C-7a. La asignación del C-3, C-3a, C-7a se realizó con base en las interacciones observadas en el experimento de HMBC (**Tabla 7**).



**Figura 40.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (700 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de la ftálica 6,7-dihidroligustilida.

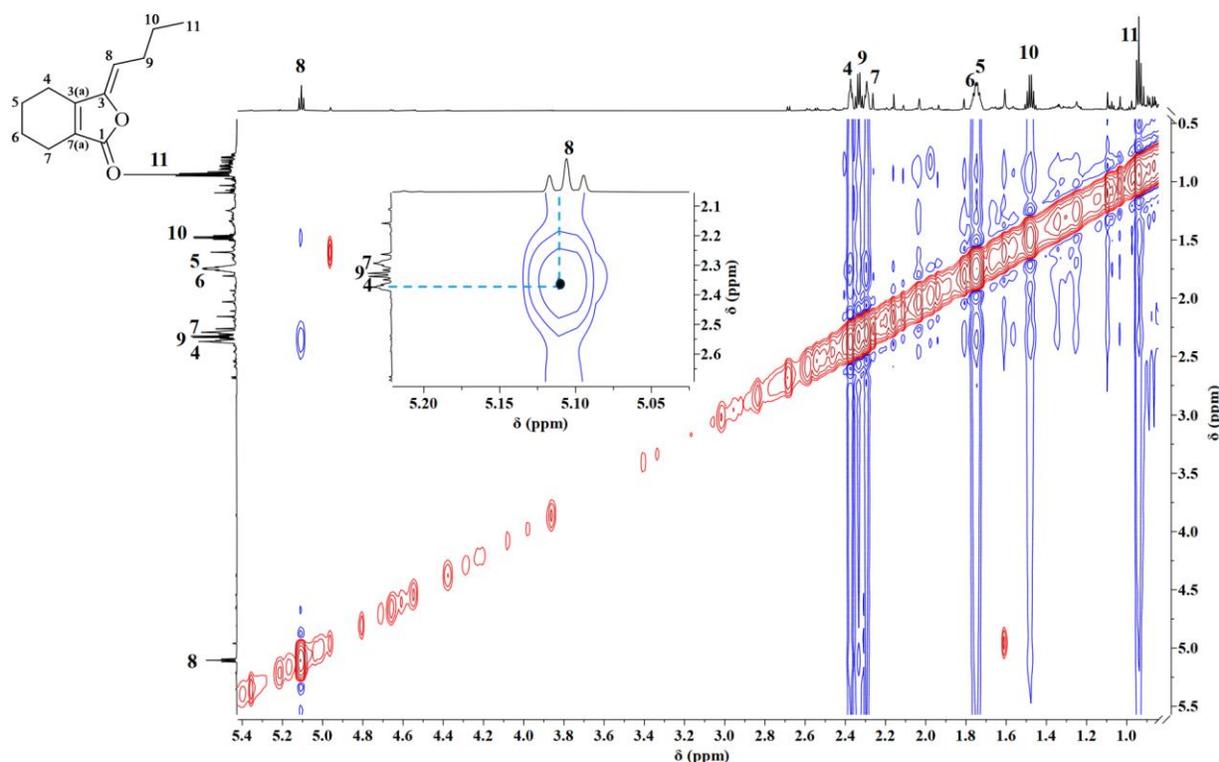
En los experimentos COSY, HSQC y HMBC (**Figura 71**, **Figura 72**, **Figura 73**) se observaron las siguientes interacciones (**Tabla 7**) que permitieron asignar y confirmar las señales de los carbonos en la **Figura 40**, y corroborar las señales de los hidrógenos en la **Figura 39**.

**Tabla 7.** Señales observadas en los experimentos de COSY, HSQC y HMBC de la ftálica 6,7-dihidroligustilida.

COSY	HSQC	HMBC
H- 11 y H-10	H-11 y C-11	C-3 y H-8
H-10 y H-9	H-10 y C-10	C-3a y H-4
H-9 y H-8	H-9 y C-9	C-7a y H-7
H-7 y H-6	H-8 y C-8	C-6 y H-5
H-6 y H-5	H-7 y C-7	C-7a y H-6
H-4 y H-5	H-6 y C-6	C-3a y H-5

H-5 y C-5	C-7 y H-5
H-4 y C-4	C-6 y H-4
	C-8 y H-10
	C-9 y H-11

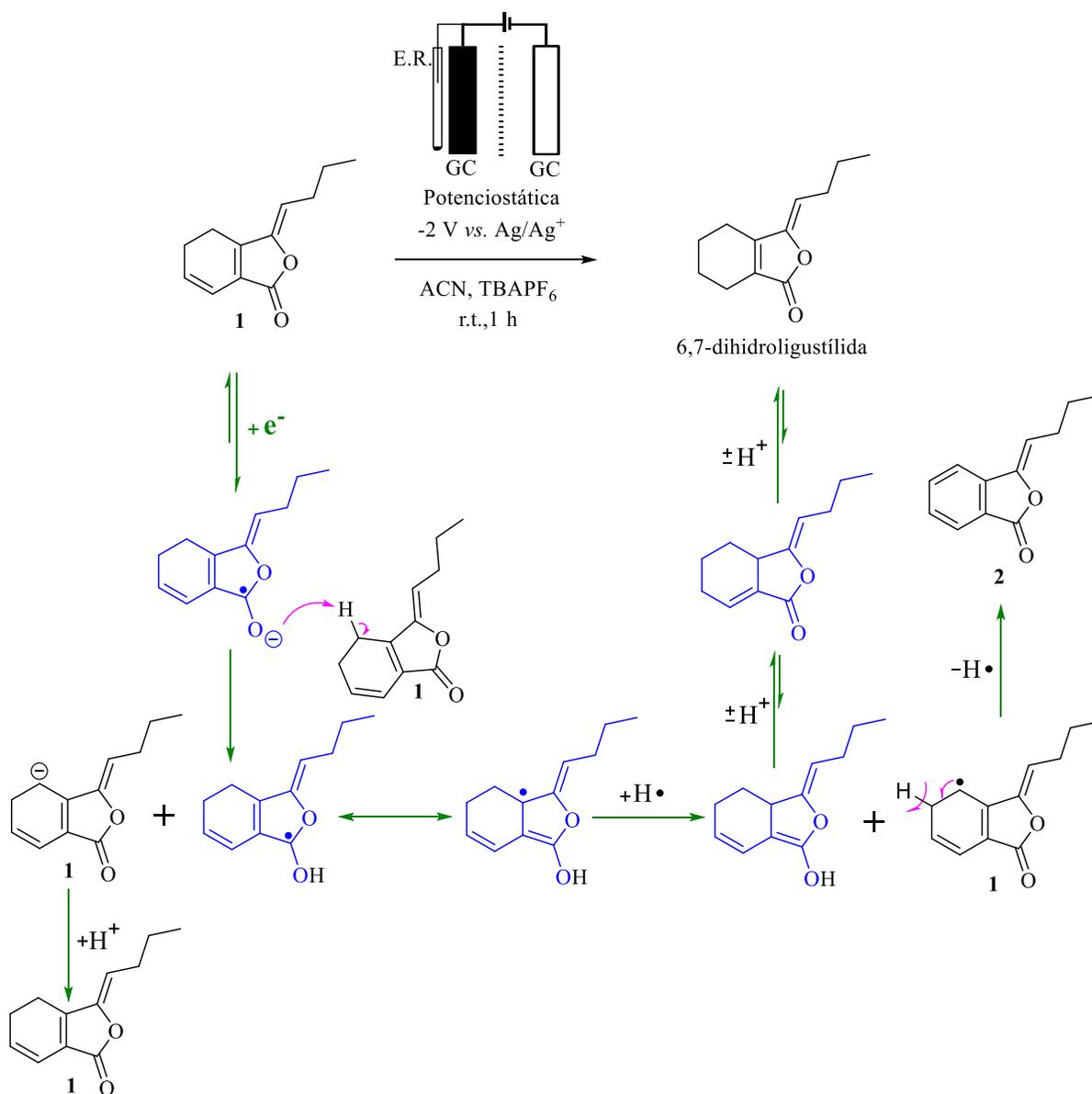
En la **Figura 41** se observa la interacción en el espacio entre el H-8 con el H-4. Esta interacción permite discriminar entre el isómero *Z* y *E*. Por lo tanto, la estructura correspondiente a la ftálide 6,7-dihidroligustilida corresponde a la configuración *Z*.



**Figura 41.** Espectro de NOESY (700 MHz,  $CDCl_3$ ) de la ftálide 6,7-dihidroligustilida.

De acuerdo con los productos caracterizados se observa que el mecanismo que sigue la reacción electroquímica de reducción es la que se muestra en la **Figura 42**. La ftálide *Z*-ligustilida (**1**) acepta un electrón del electrodo para formar un radical anión, el cual es muy inestable. Por ello, el radical anión experimenta una reacción de protonación irreversible para estabilizarse y la deslocalización de la carga por la conjugación de la molécula permite la formación de un radical centrado en un carbono terciario. Este radical puede ser reducido en dos maneras: 1) en la superficie del electrodo (ECE), o 2) tomar un electrón de un segundo radical anión en la disolución

(DISP) para formar el respectivo dianión que llevará a cabo una posterior protonación y desprotonación para dar lugar a la 6,7-dihidroligustílida y la *Z*-butilidenftálida (**2**).



**Figura 42.** Propuesta del mecanismo de reducción de la ftálida *Z*-ligustílida (**1**).

La reacción también se llevó a cabo bajo diferentes condiciones galvanostáticas, desde altas (2 A) hasta bajas (1 mA) *i* de celda. Sin embargo, en la placa de ccf se observa la formación de más productos de electrólisis y la desaparición de la 6,7-dihidroligustílida. Por ende, el producto reducido es inestable y lleva a cabo posteriores reacciones de reducción que disminuyen la

selectividad de la reacción electroquímica. En la **Tabla 8** se muestra el rendimiento de la electrólisis de reducción de la ftálida **1** en condiciones potencioestáticas y galvanostáticas.

**Tabla 8.** Condiciones potencioestáticas y galvanostáticas de la electrólisis de reducción de la ftálida **Z**-ligustílida (**1**).

Entrada <sup>a</sup>	Condiciones	Disolvente	Electrodos	Rendimiento <sup>d</sup>	
				6,7-dihidrologustílida	<i>Z</i> -butilidenftálida
1	Potencioestática <sup>b</sup>	ACN	GC(-)/GC(+)	67	31
		DMF	GC(-)/GC(+)	64	35
2	Galvanostática <sup>c</sup>	ACN	GC(-)/GC(+)	30	27
		DMF	GC(-)/GC(+)	28	33

<sup>a</sup>Todos los experimentos se llevaron a cabo a temperatura ambiente.

<sup>b</sup>- 2 V vs. Ag/Ag<sup>+</sup>.

<sup>c</sup>Con 3.5 mA,  $0.5 \times 10^{-3}$  moles de la ftálida **1** se consumen después de 3 h de electrólisis.

<sup>d</sup>En %.

Otros métodos de síntesis para la obtención de la 6,7-dihidrologustílida incluyen la hidrogenación catalítica de la ftálida **1** con Pd<sup>46</sup> y la síntesis total a partir del ácido ftálico.<sup>125</sup> En la hidrogenación catalítica se reportan bajos rendimientos (~ 45 %) dada la poca selectividad, y en la síntesis total de 4 etapas se reporta un rendimiento por término medio del 85 % en cada etapa. Sin embargo, en esta ruta sintética se emplean compuestos organolíticos, los cuales, debido a su naturaleza pirofórica<sup>126</sup>, requieren el uso de un protocolo de reacción y equipos de protección personal adecuados. Por lo tanto, la electrosíntesis es un método eficaz para la síntesis de derivados de productos naturales porque aumenta la economía atómica, disminuye los tiempos de reacción, y evita el empleo de sustancias y condiciones peligrosas.

---

## 5.4 Conclusiones

- La reducción electroquímica de la ftálida *Z*-ligustílida a un  $E_{pc}$  de -2 V vs. Ag/Ag<sup>+</sup> permitió la obtención de dos derivados, la *Z*-butilidenftálida (**2**) y la 6,7-dihidroligustílida.
- La *Z*-butilidenftálida (**2**) es el producto de oxidación y sus señales espectroscópicas concuerdan con las analizadas en el capítulo 3.
- La 6,7-dihidroligustílida presenta una configuración *Z*, la cual se asignó con base en la interacción espacial entre el H-8 y el H-4 observada en el espectro de NOESY.
- En la reacción electroquímica para la obtención de la 6,7-dihidroligustílida se consumen dos electrones y dos protones. La primera transferencia electrónica tiene acoplada una reacción química irreversible (mecanismo tipo EC<sub>irrev</sub>), cuya constante de velocidad es mucho mayor a la  $k^0$ . Para la segunda transferencia electrónica se propone un mecanismo tipo ECE-DISP. No obstante, esta propuesta requiere más estudios cinéticos y de simulación de señales electroquímicas para confirmar si existe un control cinético mixto o si gobierna uno de los dos procesos.
- La formación de la *Z*-butilidenftálida (**2**) confirma que la ftálida *Z*-ligustílida (**1**) también actúa como un ácido de Brønsted-Lowry en presencia de una base como el radical anión de la ftálida **1**.
- En la reacción potenciostática aumenta el rendimiento de la reacción debido a que se tiene un control del potencial impuesto a la disolución. Por el contrario, en condiciones galvanostáticas, el potencial varía con el tiempo de reacción, por lo que genera una mayor cantidad de subproductos que disminuyen el rendimiento de esta reacción. Esto implica que los derivados obtenidos electroquímicamente son capaces de seguir reaccionando en posteriores reacciones de reducción dando lugar a una baja selectividad.

---

## Capítulo 6.

### Estudio de actividad biológica de los derivados de ftálida

#### 6.1 Introducción

Las especies vegetales pertenecientes a la familia *Umbelliferae* presentan alta actividad biológica. Entre éstas, la ftálida *Z*-ligustílida aislada de la especie *Ligusticum porteri*, es un metabolito secundario de interés para la obtención de nuevos fármacos dada su actividad terapéutica. Por ello, es de interés evaluar si los derivados electrogenerados aumentan o disminuyen su actividad biológica. En este capítulo se presenta el análisis biológico de los derivados obtenidos en la reacción electroquímica de reducción. Para evaluar la posible actividad biológica de estos compuestos, se realizaron bioensayos de toxicidad en *Artemia salina*. Además, se realizaron estudios de inhibición de la enzima acetilcolinesterasa (AChE) para potencial aplicación en la enfermedad de Alzheimer<sup>127</sup>, y la inhibición de la  $\alpha$ -glucosidasa de levadura y la  $\alpha$ -glucosidasa de ratón para el tratamiento de la diabetes tipo 2.<sup>128</sup>

#### 6.2 Sección experimental

##### *Información general*

##### Materiales

Quistes de *Artemia salina* de la marca Eclosionazul. Sal marina de la marca Instant Ocean. Agua desionizada. Bomba de aire. Botella plástica. Lámpara. Pipeta de 100  $\mu$ L. Placa de 96 pozos para cultivo celular. Microscopio invertido de la Marca Nikon DIAPHOT 300.

##### Procedimiento

Para llevar a cabo el bioensayo de los quistes de *Artemia salina* se siguió el procedimiento descrito por Colegate & Molyneux.<sup>129</sup> Para ello, se colocaron los quistes de *Artemia salina* en una botella de agua que contenía una disolución de sal marina en agua desionizada a una concentración de 35.8  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  (**Figura 77**). Después de 24-36 h de incubación a temperatura ambiente en presencia de luz y bajo condiciones aeróbicas en el medio, se observó la eclosión de los nauplios. Para el

---

ensayo se utilizaron nauplios de segundo y tercer estadio. Para la evaluación de toxicidad de los compuestos se prepararon disoluciones del compuesto de interés en DMSO a una concentración de 20 mmol. De esta disolución se tomó 100  $\mu$ L y se añadió a 100  $\mu$ L de agua desionizada con presencia de *Artemia salina*. Después de 24 h de exposición de la *Artemia salina* a los compuestos se evaluó el número de artemias muertas mediante un microscopio invertido. El experimento se realizó por triplicado.

También se evaluó su actividad para la acetilcolinesterasa (AChE),  $\alpha$ -glucosidasa de levadura y la  $\alpha$ -glucosidasa de ratón. Para llevar a cabo estos experimentos se utilizó el procedimiento descrito en la literatura.<sup>130,131</sup> El porcentaje de inhibición de la actividad enzimática se calculó mediante la ecuación 6.1:

$$\% \text{ inhibición} = 1 - \left( \frac{DO_{\text{muestra}}}{DO_{\text{control}}} \right) \times 100 \quad (6.1)$$

Donde  $DO_{\text{control}}$  es la absorbancia de la muestra control y  $DO_{\text{muestra}}$  es la absorbancia de la muestra de prueba.

### 6.3 Resultados y discusión

En la **Tabla 9** se muestran los resultados obtenidos del ensayo biológico contra *Artemia salina* en la que se indica la concentración letal media ( $LC_{50}$ ), la toxicidad relativa con relación al  $K_2Cr_2O_7$ . Los límites de confianza del 95% de la  $LC_{50}$  se derivaron a partir de la siguiente relación:

$$\log LC_{50} \pm 2 ES LC_{50}$$

**Tabla 9.** Concentraciones letales medias de los derivados de ftálica para *Artemia salina*.

Compuesto	Ensayo en <i>Artemia Salina</i> , $LC_{50}^a$	Toxicidad relativa <sup>b</sup>	Límites de confianza del 95 % de la $LC_{50}$	
			Límite inferior	Límite superior
Z-ligustílida (1)	33.88	6.46	24.04	47.75

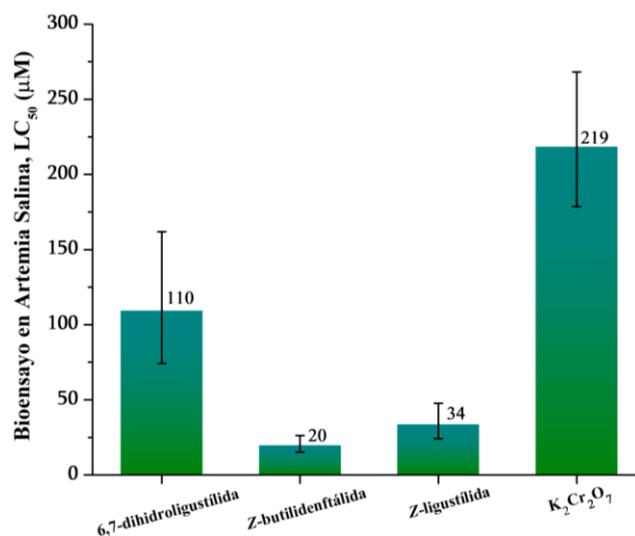
6,7-dihidroligustílida	109.67	2.00	74.3	161.8
Z-butilidenftálida ( <b>2</b> )	19.95	10.96	15.13	26.3
K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	218.77	1	178.52	268.1

<sup>a</sup>En  $\mu\text{M}$ .

<sup>b</sup>Toxicidad relativa en relación con el K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>.

En cuanto a los resultados obtenidos en el bioensayo de toxicidad en *Artemia salina* de los compuestos generados electroquímicamente, la **Figura 43** muestra que la 6,7-dihidroligustílida es el derivado de ftálida que presenta el valor más alto de LC<sub>50</sub> ( $109.67 \pm 0.17$ ), lo cual indica que se requiere una alta concentración de éste compuesto para causar un toxicidad significativa en comparación con el derivado Z-butilidenftálida (**2**), que presenta el valor más bajo de LC<sub>50</sub> ( $19.95 \pm 0.29$ ).

Por lo tanto, la Z-butilidenftálida (**2**) resulta ser el más tóxico de los derivados de ftálida obtenidos electroquímicamente. Este aumento en toxicidad se atribuye a la presencia del anillo aromático en la estructura.

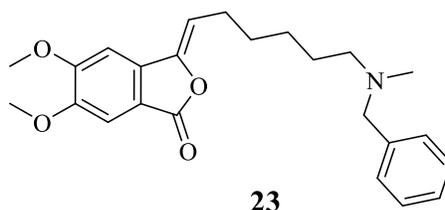


**Figura 43.** Bioensayo de toxicidad en *Artemia Salina* de los compuestos generados electroquímicamente. Los valores de LC<sub>50</sub> se obtuvieron con un límite de confianza del 95 %. Se utilizó K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> como control positivo. Las disoluciones se prepararon en DMSO desde 10 hasta 1000  $\mu\text{M}$ , siguiendo el protocolo descrito en la literatura.<sup>129</sup>

Dada la toxicidad en *Artemia Salina* de los derivados obtenidos, se realizó un experimento de cernimiento para evaluar su actividad inhibitoria en la enzima acetilcolinesterasa (AChE),

---

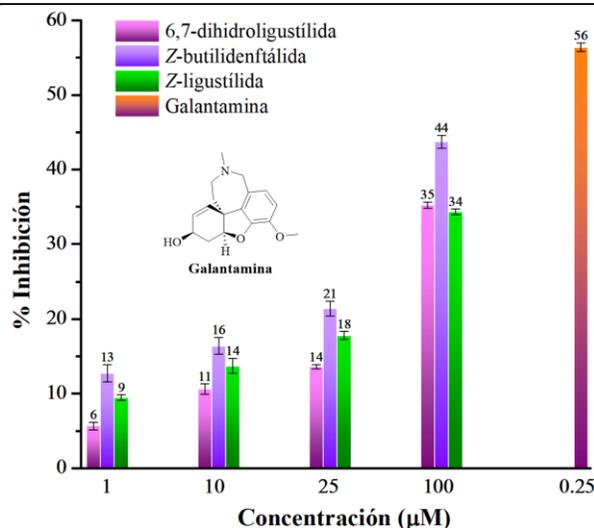
debido a que estudios previos han mostrado que los derivados de ftálida tienen actividad neuroprotectora. Entre ellos, la ftálida **23** (*Figura 44*) presenta una actividad de inhibición sobre la enzima AChE, con una concentración inhibitoria media ( $IC_{50}$ ) de 2.66 nM.<sup>29</sup>



*Figura 44.* Derivado de ftálida 3-sustituida con alta actividad de inhibición para la enzima AChE ( $IC_{50}$  = 2.66 nM).

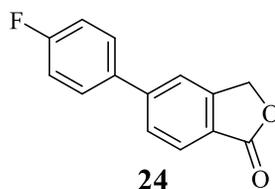
En la *Figura 45* se observa que el porcentaje de inhibición de los derivados electrogenerados frente a la enzima AChE es bajo en comparación con el estándar de galantamina. Entre los derivados de ftálida, la *Z*-butilidenftálida (**2**) presenta el mayor porcentaje de inhibición, seguido de la *Z*-ligustílida (**1**) y la 6,7-dihidroligustílida. Esto indica que el anillo aromático es clave para la interacción con el sitio catalítico de la enzima AChE mediante interacciones del tipo  $\pi$ - $\pi$ . Otra interacción que también se ve favorecida es con el sitio periférico de la enzima, mediante puentes de hidrógeno entre aminoácidos de AChE, como la fenilalanina, y los oxígenos del grupo de la lactona.

Anand *et al.*<sup>132</sup> reportaron que la presencia del grupo bencil-amino en la galantamina es el responsable de su alta actividad inhibitoria, mediante interacciones del tipo  $\pi$ - $\pi$  y catión- $\pi$  con el sitio catalítico de AChE. Estas interacciones se han demostrado mediante cristalografía de rayos X y estudios de relación estructura-actividad (SAR). En comparación con la ftálida **23**, se observa que el grupo bencil-amino es esencial para la actividad inhibitoria y su reemplazo por un doble enlace exocíclico en la posición del C-3, como la *Z*-butilidenftálida (**2**), causa una disminución en su actividad inhibitoria. En consecuencia, el producto de hidrogenación de la ftálida **1**, 6,7-dihidroligustílida, es el derivado de ftálida con la menor actividad inhibitoria en la enzima AChE.



**Figura 45.** Actividad inhibitoria en AChE por compuestos generados electroquímicamente. La actividad inhibitoria se determinó mediante el método de Ellman<sup>130</sup> ligeramente modificado, en el cual la tiocolina producida por AChE forma un aducto amarillo con el reactivo DNTB. Se utilizó galantamina como compuesto estándar. Los compuestos de prueba se disolvieron en ACN con una concentración final en los pozos de 0.5 %. Se utilizó una solución de la enzima AChE al 50 % en glicerol. Después de 30 min de inhibición a 25 °C, la absorbancia a 412 nm se leyó durante los primeros 5 min de la reacción.

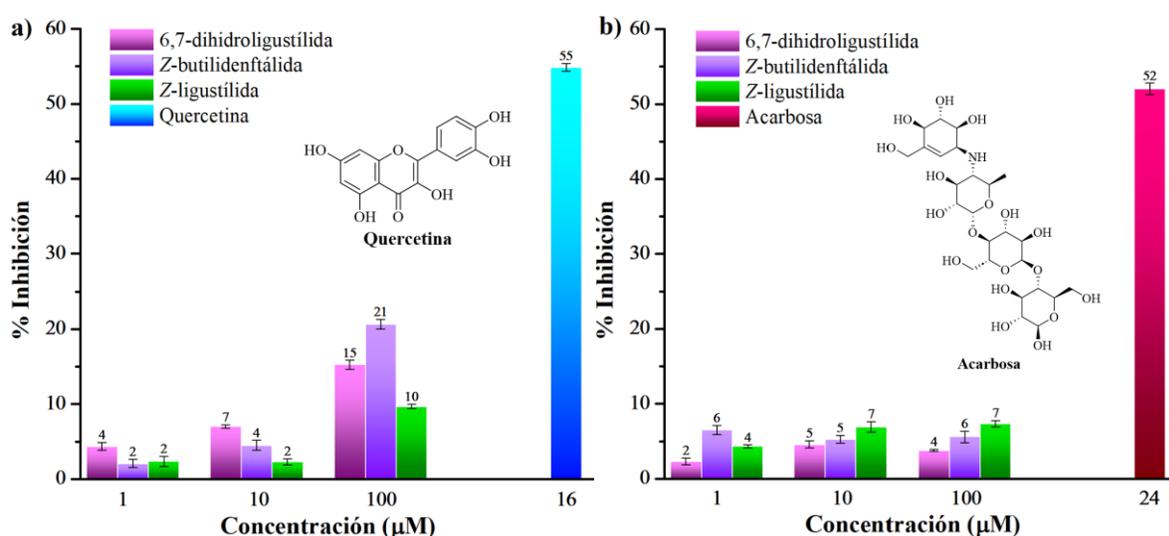
Otro estudio que se realizó fue el de evaluar su actividad inhibitoria en la enzima  $\alpha$ -glucosidasa de levadura ( $\alpha$ -Gluclev) y la  $\alpha$ -glucosidasa de ratón ( $\alpha$ -Glucrat). Zahra *et al.*<sup>133</sup> reportaron que los derivados de las isobenzofuranonas tienen alta actividad inhibitoria en comparación al compuesto estándar de acarbosa. Por ejemplo, la ftálida **24** (**Figura 46**) mostró un valor de  $IC_{50}$  de  $6.82 \pm 0.02 \mu M$  en la enzima  $\alpha$ -Glucrat, lo que representa un poder de inhibición de 127 veces mayor al compuesto estándar de acarbosa.



**Figura 46.** Derivado de ftálida con alta actividad inhibitoria para la enzima  $\alpha$ -Glucrat ( $IC_{50} = 6.82 \mu M$ ).

La evaluación de la actividad inhibitoria en la enzima  $\alpha$  Gluclev y  $\alpha$  Glucrat de los derivados de ftálida se muestra en la **Figura 47**. Los derivados de ftálida muestran baja actividad

inhibidora en comparación con el compuesto estándar de quercetina para la enzima  $\alpha$ -Gluclev y acarbosa en la enzima  $\alpha$ -Glucrat. Entre las dos enzimas, se observa que la actividad inhibitoria de los derivados de ftálica es mayor en la  $\alpha$ -Gluclev. A una concentración de 100  $\mu$ M, la Z-butilidenftálica (**2**) tiene el mayor porcentaje de inhibición en la  $\alpha$ -Gluclev, seguido de la 6,7-dihidrologustílica y la Z-ligustílica (**1**) (*Figura 47a*). Por el contrario, en la  $\alpha$ -Glucrat, la Z-ligustílica (**1**) y la Z-butilidenftálica (**2**) tienen el mayor porcentaje de inhibición, seguido de la 6,7-dihidrologustílica (*Figura 47b*). Esto sugiere que la presencia del anillo aromático (interacciones del tipo  $\pi$ - $\pi$ ) y el grupo lactona (interacciones del tipo puentes de hidrógeno) favorecen su interacción con el sitio activo de la enzima. En comparación con la ftálica **24**, se observa que la presencia de un sustituyente electroattractor en la posición *para* del fenilo aumenta su actividad inhibitoria en la enzima  $\alpha$ -Glucrat.



**Figura 47.** Actividad inhibitoria en a)  $\alpha$ -Gluclev y b)  $\alpha$ -Glucrat de los compuestos generados electroquímicamente. Para la  $\alpha$ -Gluclev y la  $\alpha$ -Glucrat se utilizó una disolución de la enzima al 50 % en glicerol. Los compuestos de prueba se disolvieron en DMSO al 50 % y se tomaron alícuotas de 25  $\mu$ L para añadir a la disolución amortiguadora en cada pozo. Después de 10 min de inhibición, la absorbancia a 405 nm se leyó durante los primeros 15 min de la reacción. Cada dato representa el promedio de las lecturas realizadas por triplicado.

## 6.4 Conclusiones

- El bioensayo de toxicidad frente a *Artemia salina* es una herramienta útil para la detección preliminar de compuestos con posible actividad biológica debido a que la técnica permite obtener resultados rápidos y reproducibles.

- 
- La actividad tóxica de los derivados de ftálida frente a *Artemia salina* sugieren posibles aplicaciones biológicas futuras para estos compuestos.
  - La *Z*-butilidenftálida (**2**) mostró la mayor toxicidad frente a *Artemia salina*, seguida de la *Z*-ligustílida (**1**) y la 6,7-dihidroliqustílida.
  - Los derivados de ftálida electrogenerados muestran un bajo porcentaje de inhibición frente a la enzima AChE en comparación con el estándar de galantamina. No obstante, entre los derivados de ftálida, la *Z*-butilidenftálida (**2**) presenta el mayor porcentaje de inhibición, seguido de la *Z*-ligustílida (**1**) y la 6,7-dihidroliqustílida, lo cual indica que la presencia del anillo aromático en la estructura aumenta su interacción con el sitio catalítico de la enzima AChE mediante interacciones del tipo  $\pi$ - $\pi$ . Otra interacción que se favorece son las de puentes de hidrógeno entre los aminoácidos de AChE, como la fenilalanina, y los oxígenos del grupo de la lactona.
  - En la enzima  $\alpha$ -Gluclev y  $\alpha$ -Glucrat, las ftálidas *Z*-ligustílida (**1**) y *Z*-butilidenftálida (**2**) mostraron el mayor porcentaje de inhibición, lo cual sugiere que estos compuestos interactúan con el sitio activo de la enzima mediante interacciones del tipo  $\pi$ - $\pi$  y puentes de hidrógeno.

---

## Conclusión General

La ftálida *Z*-ligustílida (**1**), aislada del extracto hexánico de la especie *Ligusticum porteri*, es una especie electroactiva que presenta un  $E_{pc}$  a -2 V y un  $E_{pa}$  a 1.4 V vs. Ag/Ag<sup>+</sup>. La electrólisis a escala preparativa permitió la generación de derivados de ftálida, los cuales mostraron actividad tóxica frente a *Artemia salina* y bajo porcentaje de inhibición en las enzimas AChE,  $\alpha$ -Gluclev y  $\alpha$ -Glucrat. En ese sentido, la electroquímica permitió explorar la reactividad de la ftálida *Z*-ligustílida y generar derivados de ftálida con actividad biológica modulada.

1. A partir de técnicas cromatográficas, como la CC rápida, se logró la purificación de la ftálida *Z*-ligustílida (**1**) con un 94 % de abundancia.
2. El análisis electroquímico de la ftálida *Z*-ligustílida (**1**) mostró un proceso irreversible a un  $E_{pa}$  de 1.4 V vs. Ag/Ag<sup>+</sup>, el cual tiene asociado una pasivación del electrodo. Por el contrario, en la zona de reducción a un  $E_{pc}$  de -2 V vs. Ag/Ag<sup>+</sup>, el proceso de transferencia electrónica es irreversible y está controlado por difusión. Este proceso irreversible se caracterizó por un mecanismo tipo  $EC_{irrev}$ , en el que la transferencia electrónica en fase heterogénea tiene acoplada una reacción química irreversible de protonación, cuya constante de velocidad es mayor a la  $k^o$ .
3. En la reacción de reducción electroquímica a escala preparativa se obtuvo la formación de la 6,7-dihidroliqustílida y la *Z*-butilidenoftálida (**2**). La obtención de estos derivados, en un medio aprótico como ACN y DMF, confirma que la ftálida (**1**) actúa como ácido de Brønsted-Lowry en presencia de la base generada tras la transferencia electrónica en la ftálida **1**.
4. El experimento NOESY permitió asignar la configuración *Z* a partir de la interacción observada entre el H-8 y el H-4.

- 
5. Los derivados electrogenerados mostraron actividad tóxica frente a *Artemia salina*. La *Z*-butilidenftálida (**2**) mostró la mayor toxicidad, seguida de la *Z*-ligustílida (**1**) y la 6,7-dihidroliqustílida.
  
  6. El porcentaje de inhibición de los derivados de ftálida en las enzimas AChE,  $\alpha$ -Gluclev y  $\alpha$ -Glucrat fue bajo en comparación con el compuesto estándar de cada enzima. Entre los derivados de ftálida, la *Z*-butilidenftálida (**2**) mostró la mayor actividad de inhibición, lo cual se justifica por la presencia del anillo aromático y la lactona que permiten interacciones del tipo  $\pi$ - $\pi$  y puentes de hidrógeno con el sitio activo y periférico de las enzimas.

---

## Perspectivas

La formación de un radical anión centrado en carbono a partir de la ftálida (**1**) abre la posibilidad de llevar a cabo futuras reacciones químicas para continuar con la exploración de la reactividad de la ftálida *Z*-ligustílida (**1**) y obtener nuevos derivados con actividad biológica novedosa.

Entre los productos obtenidos, la *Z*-butilidenftálida (**2**) tiene un  $E_{pc}$  de -2.2 V vs. Ag/Ag<sup>+</sup> en GC a 0.1 M de TBAPF<sub>6</sub> en ACN. Por lo tanto, la reducción electroquímica sería una alternativa sostenible para la síntesis de la *n*-butilftálida, el cual es un derivado de alto interés farmacológico.

En la reducción electroquímica de la ftálida **1** a -2 V vs. Ag/Ag<sup>+</sup> se obtuvo la formación de un ciclodímero de la *Z*-ligustílida (**1**). En el espectro de RMN <sup>1</sup>H no se observa la señal característica del H-8 de la ftálida **1** a un  $\delta \sim 5.2$  ppm (**Figura 76**). En su lugar, se observan señales a  $\delta$  6.17 ppm y  $\delta$  5.86 ppm, que de acuerdo con lo reportado en la literatura<sup>54</sup>, corresponden al H-7 y al H-6. Por lo tanto, el doble enlace que reaccionó en la formación del ciclodímero es el de la posición entre el C-3 y C-8. De las posibles estructuras que se pueden obtener para este ciclodímero, se propone la *endo*-(*Z,Z'*)-(3,8',8,3')-diligustílida (**10**) (**Figura 7**) debido a que es la estructura más estable y con el menor impedimento estérico. Sin embargo, este ciclodímero se obtuvo en un bajo rendimiento, por lo que no fue posible llevar a cabo su aislamiento y purificación para poder corroborar su estructura. Para confirmar que el ciclodímero obtenido no es un producto de oxidación de la ftálida **1**, también se realizó una prueba sin pasar corriente en la celda y no se observó la formación de este producto. Por consiguiente, para mejorar la formación del dímero, se requiere optimizar las condiciones de reacción. Se sugiere el uso de disolventes y sales que estabilicen al radical para que se pueda llevar a cabo la reacción de cicloadición [ $\pi 2s + \pi 2s$ ].

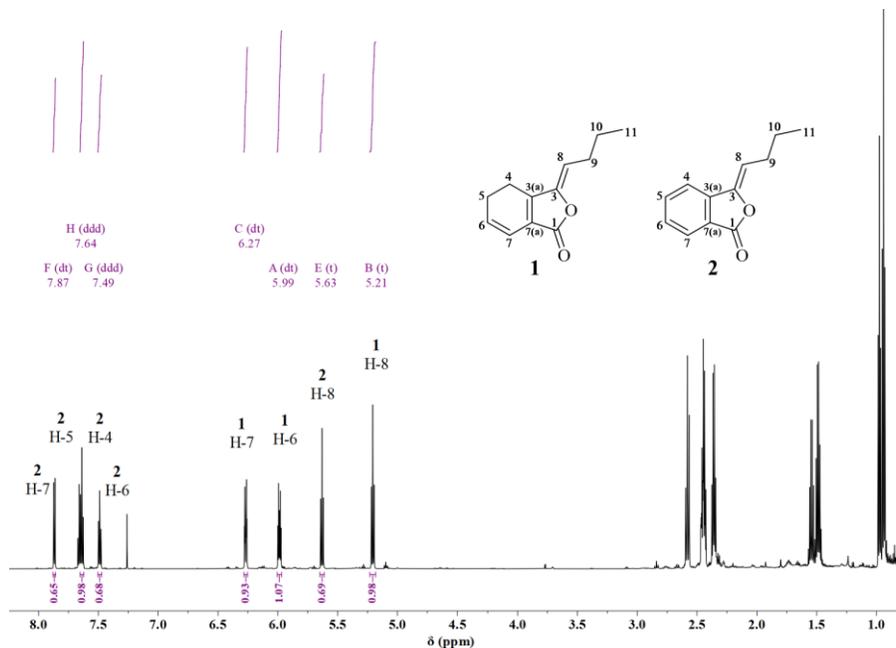
En la reacción de oxidación se utilizó un medio aprótico, no obstante, un estudio posterior con diferentes condiciones de reacción podría evitar la pasivación del electrodo para llevar a cabo la electrólisis de oxidación.

---

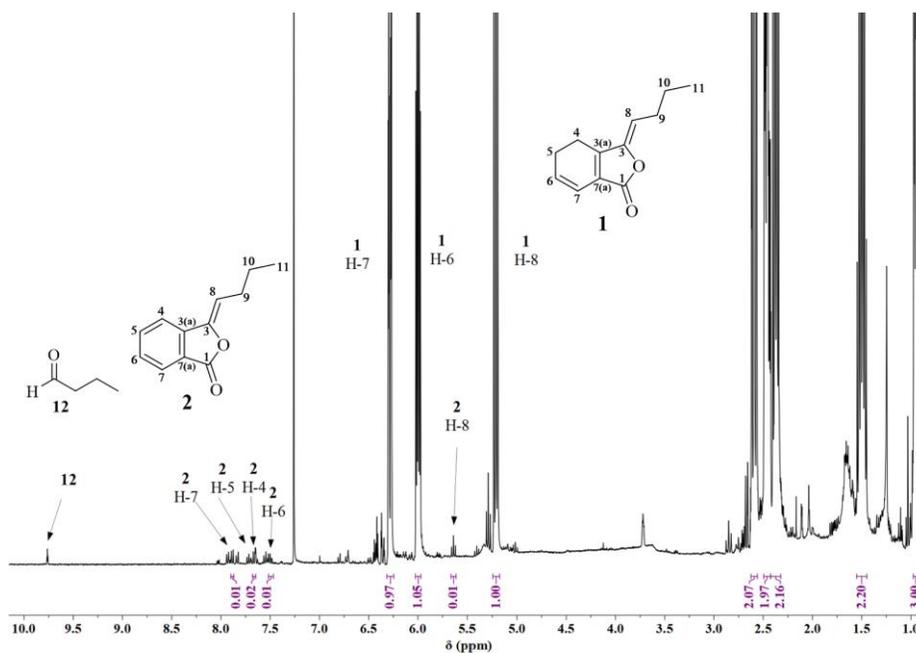
La reacción de oxidación de la ftálica **1** también se podría llevar a cabo mediante el uso de mediadores y explorar la reactividad de esta molécula. Siguiendo las condiciones reportadas por Horn *et al.*<sup>134</sup>, en este trabajo se exploró la oxidación del enlace C-H alílico utilizando Cl<sub>4</sub>NHPI como mediador. No obstante, no se obtuvo la oxidación de la ftálica **1**, ni la formación de un nuevo derivado. Por lo tanto, es necesario realizar un estudio posterior con diferentes condiciones de reacción.

## Anexos

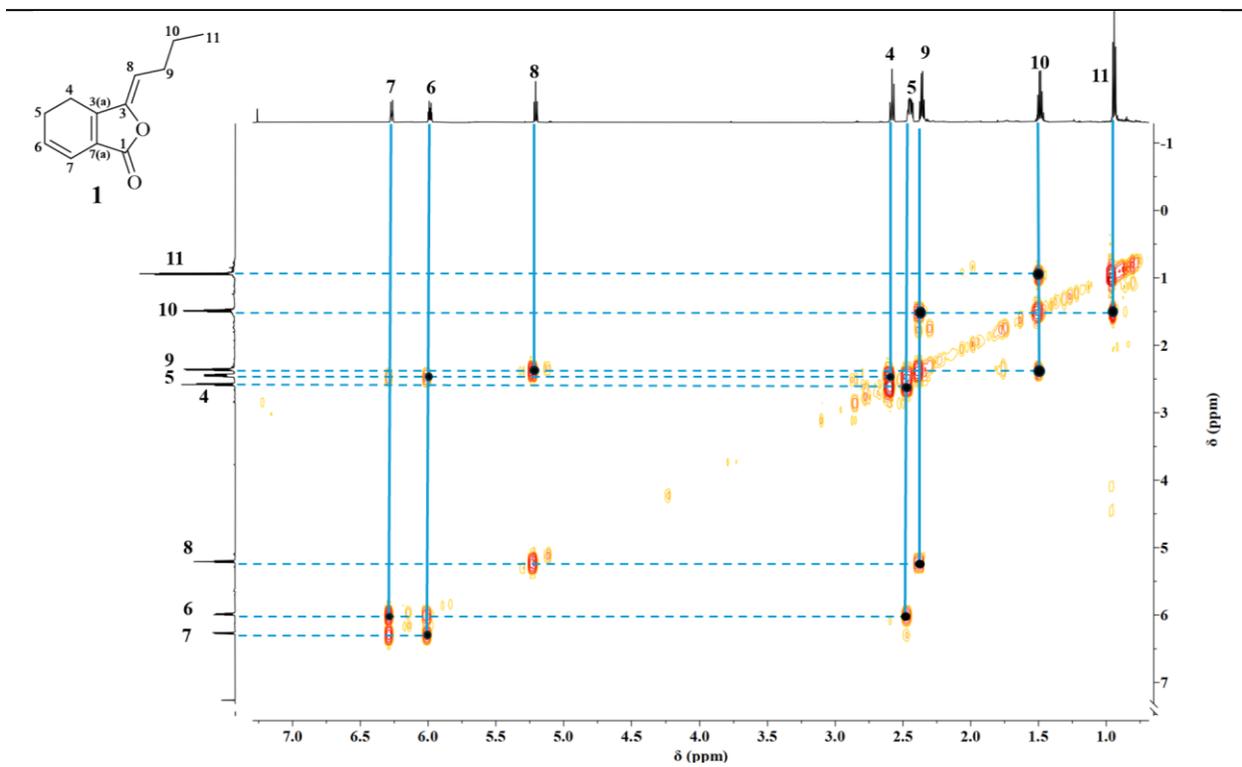
### Aislamiento, purificación y caracterización de la ftálide *Z*-ligustílica



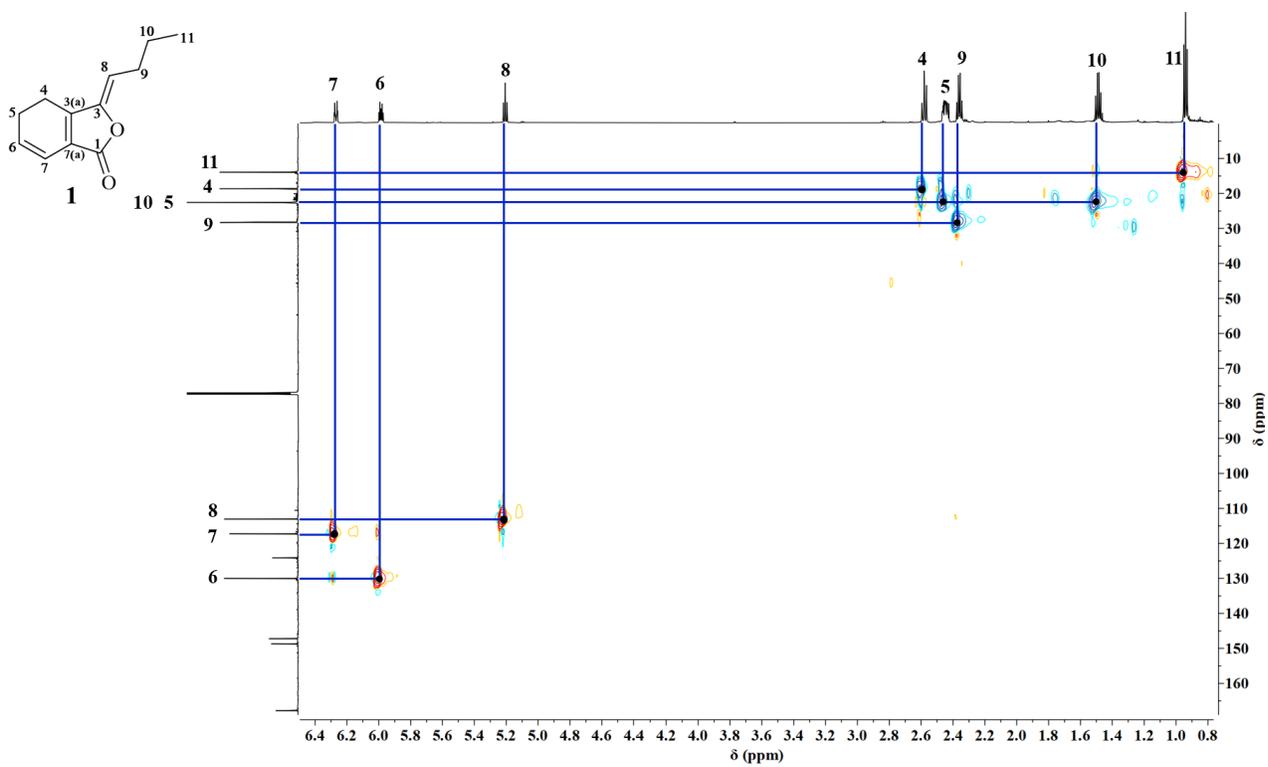
**Figura 48.** Espectro de RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de la *Z*-ligustílica (**1**) y la *Z*-butilidenftálica (**2**) presente en el aceite café oscuro obtenido mediante CC por gravedad.



**Figura 49.** Espectro de RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de la *Z*-ligustílica (**1**) y la *Z*-butilidenftálica (**2**) presente en el aceite amarillo obtenido mediante CC rápida.



**Figura 50.** Experimento COSY (700 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de la fálida Z-ligustilida (**1**).



**Figura 51.** Experimento HSQC (700 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de la fálida Z-ligustilida (**1**).

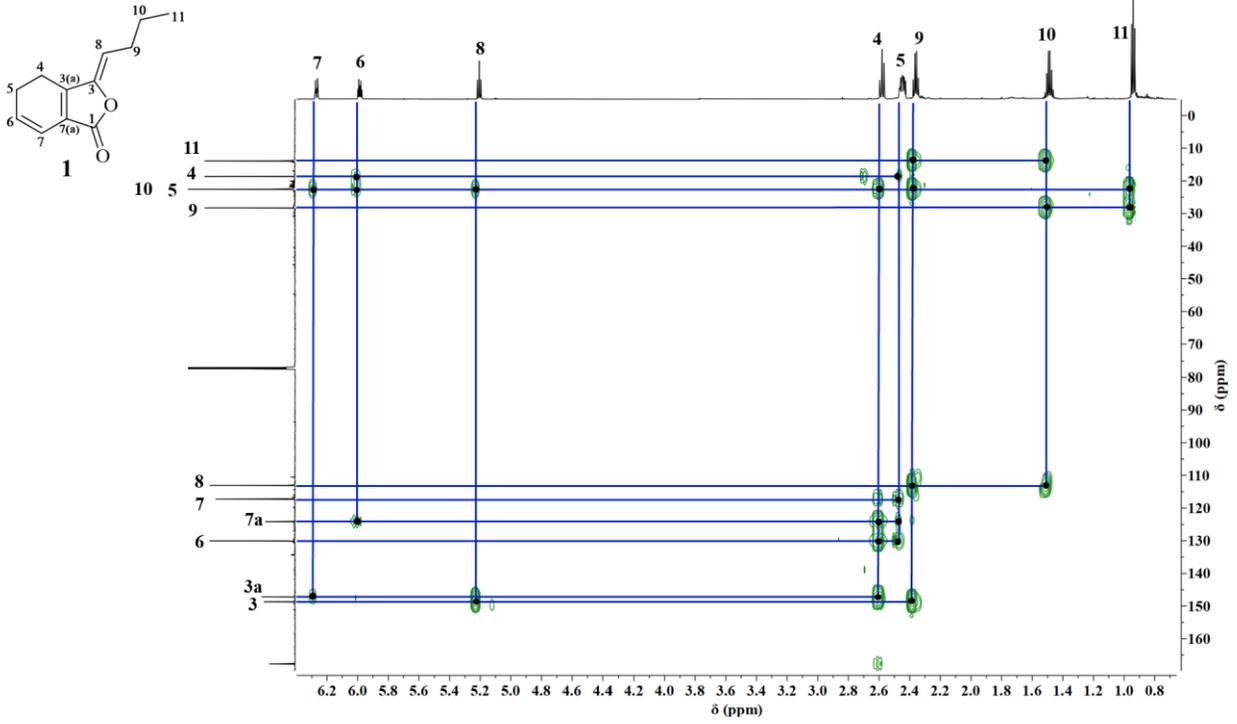


Figura 52. Experimento HMBC (700 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de la ftálica Z-ligustilida (1).

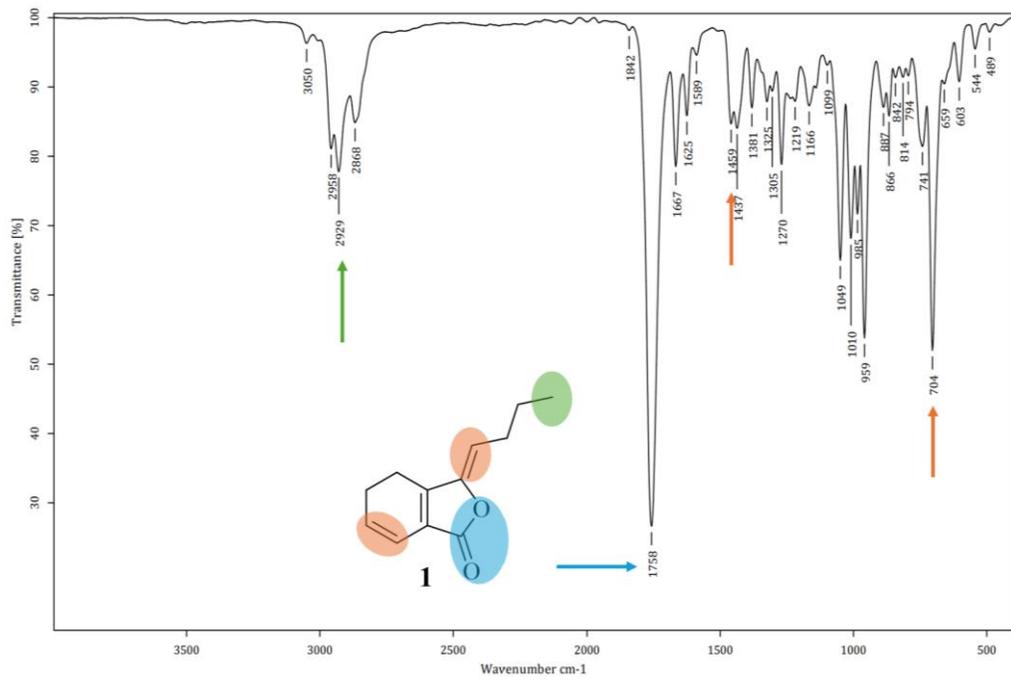
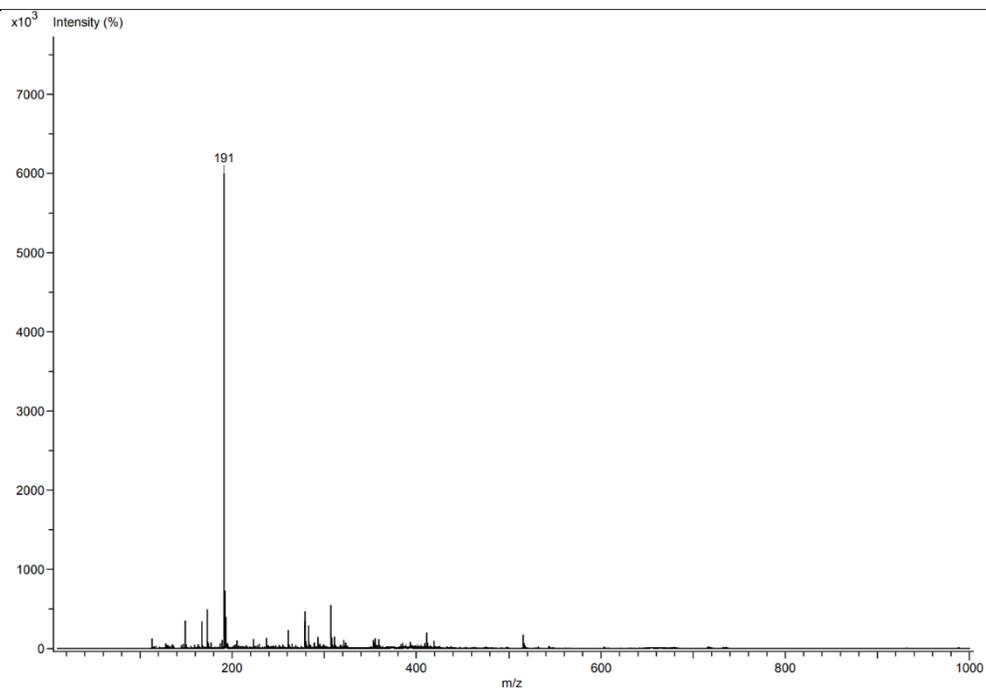
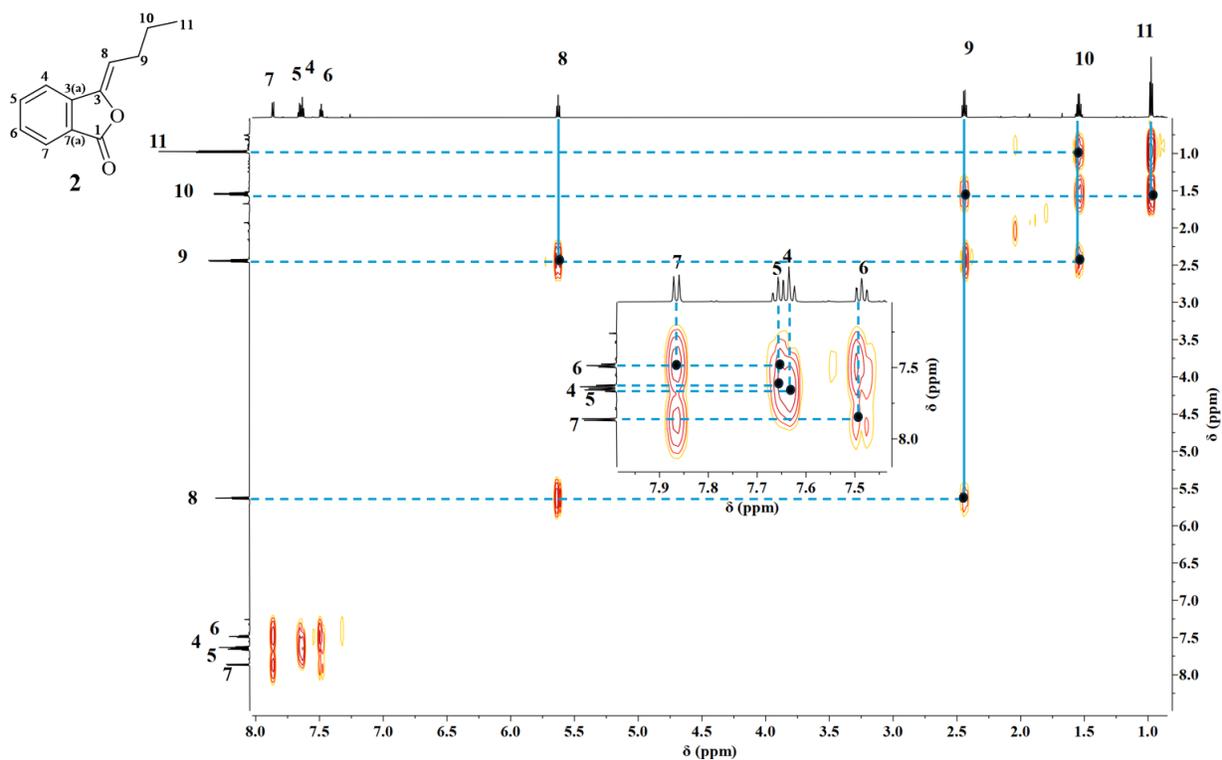


Figura 53. Espectro de IR de la ftálica Z-ligustilida (1).



**Figura 54.** Espectro de masas DART de la ftálida *Z*-ligustilida (**1**).



**Figura 55.** Experimento COSY (700 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de la ftálida *Z*-butilidenftálida (**2**).

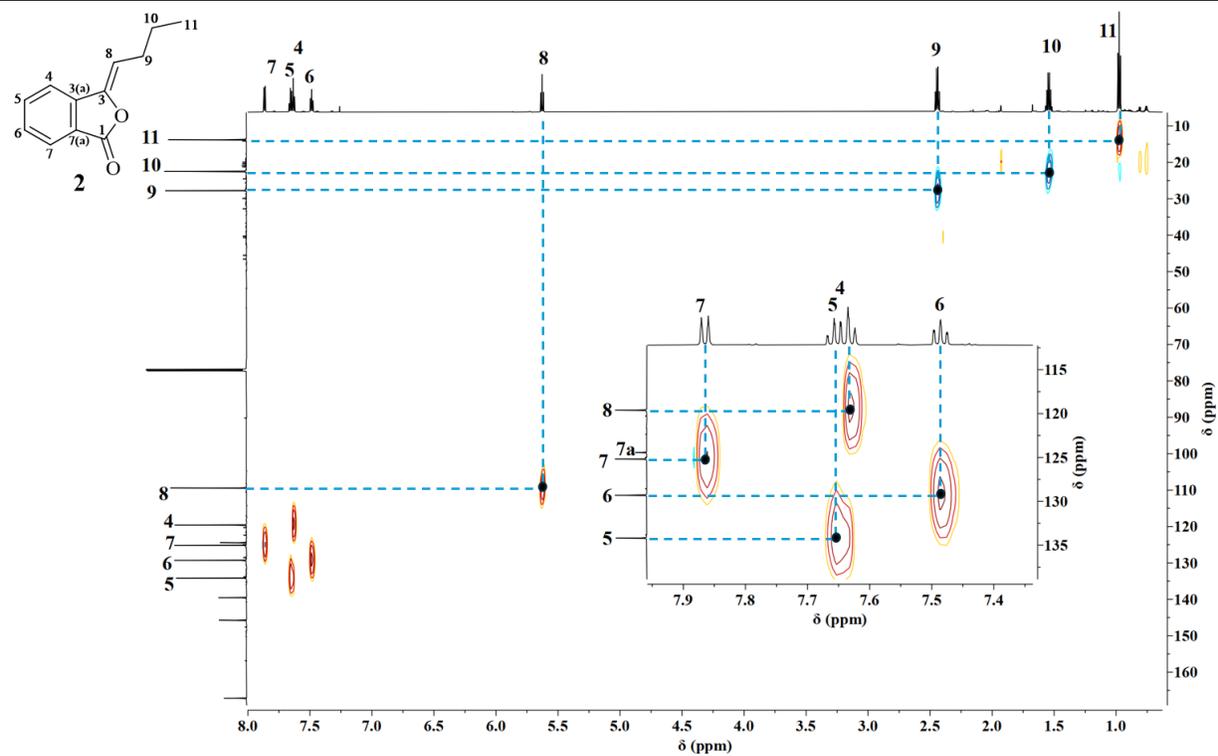


Figura 56. Experimento HSQC (700 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de la ftálica Z-butilidenftálica (2).

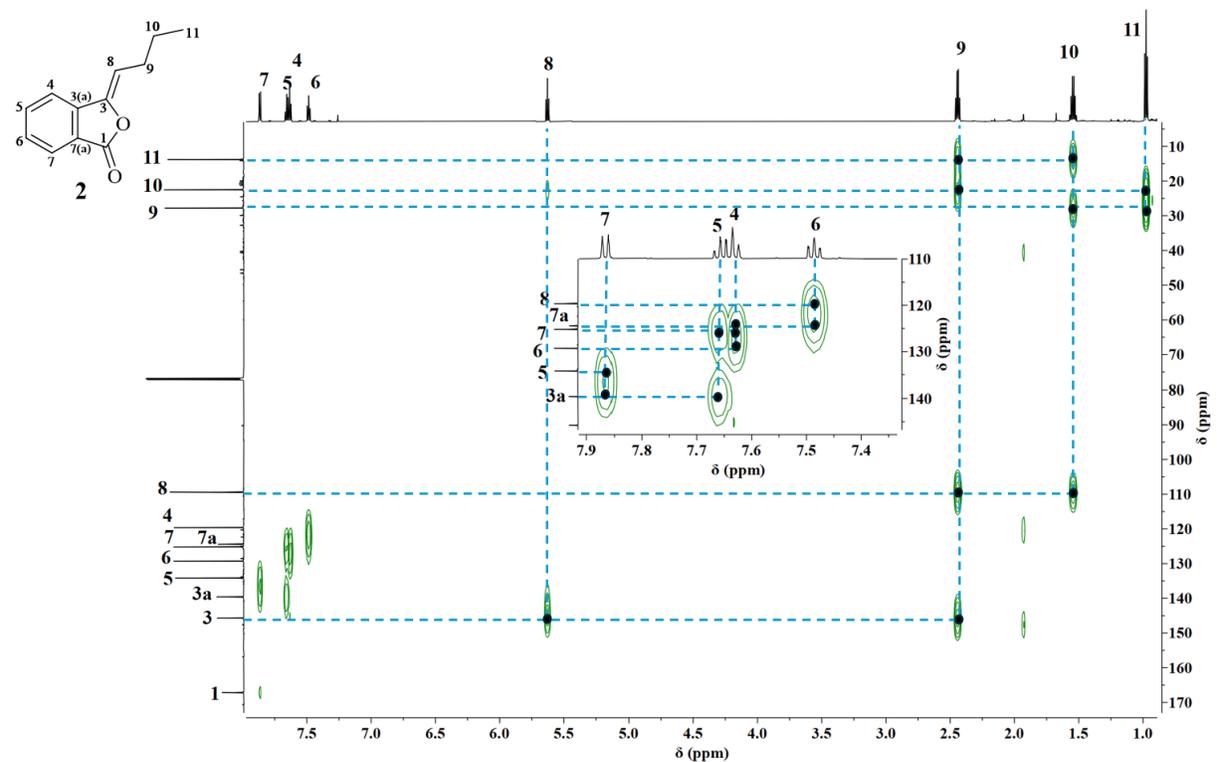
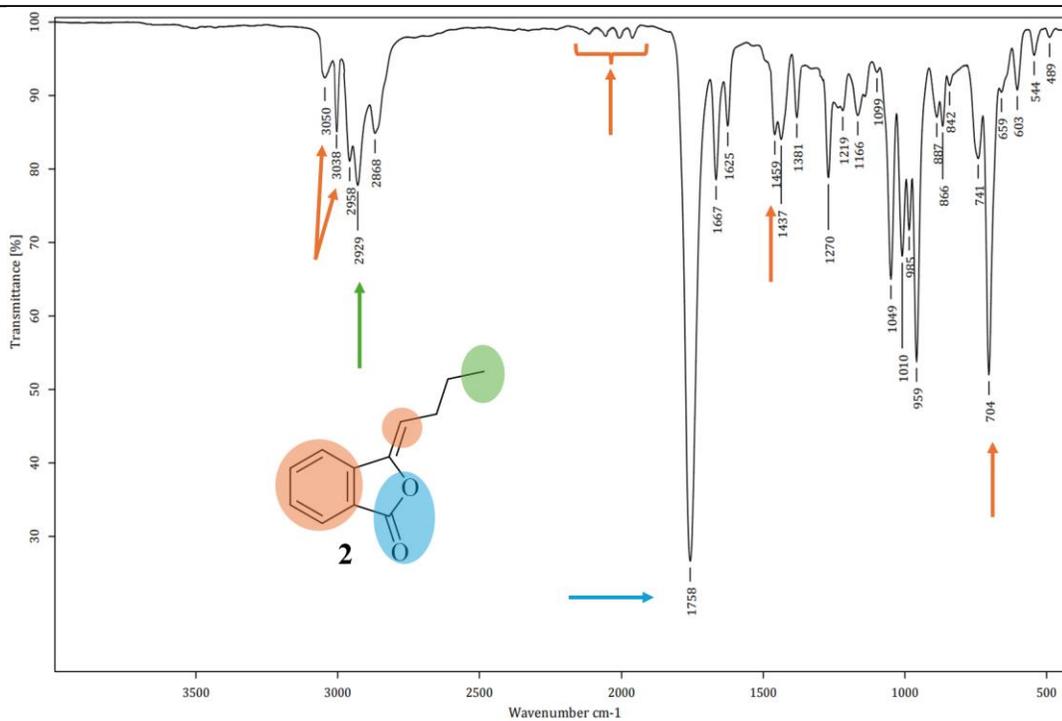
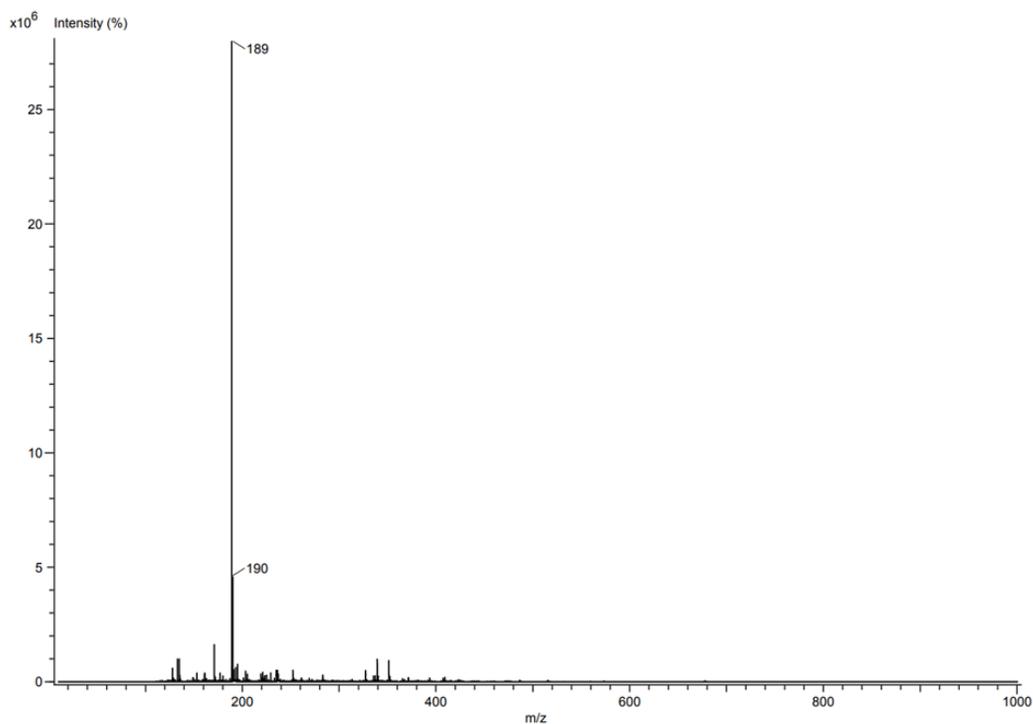


Figura 57. Experimento HMBC (700 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de la ftálica Z-butilidenftálica (2).



**Figura 58.** Espectro de IR de la ftálide Z-butilidenftálide (2).

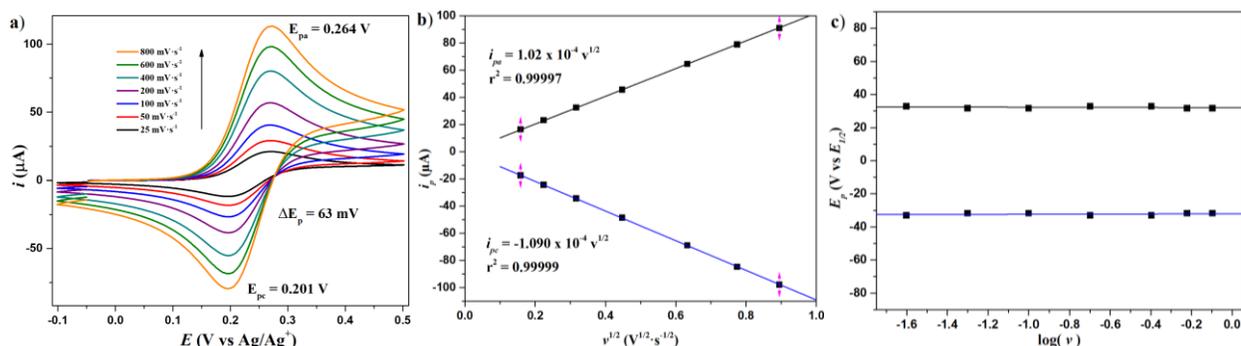


**Figura 59.** Espectro de masas DART de la ftálide Z-butilidenftálide (2).

## Estudios electroanalíticos de la ftálica *Z*-ligustílica

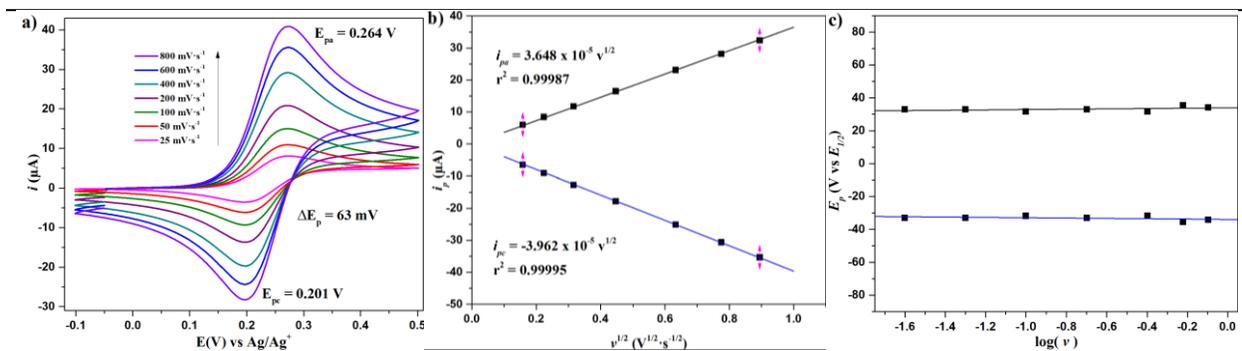
- *Compensación por la caída óhmica*

Para validar el método de compensación por la caída óhmica se utilizó el sistema redox estándar de ferroceno. En el potenciostato AUTOLAB PG-30, se determinó la resistencia de la disolución a través de la función *i*-interrupt y se compensó la caída óhmica mediante la función IR Positive feedback entre el 80 y 85 % del valor de la resistencia. A continuación, se presentan los resultados obtenidos en los electrodos de GC, Pt, Au y BDD.



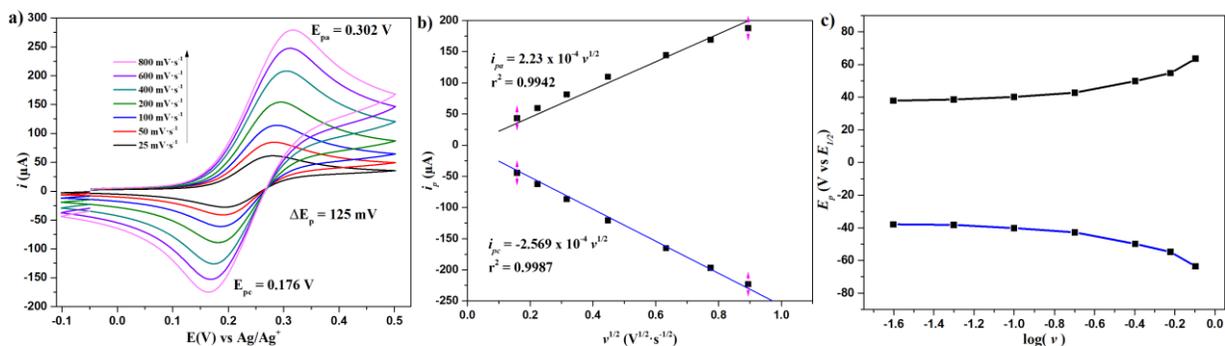
**Figura 60.** *Compensación óhmica con ferroceno (1 mM) en 0.1 M de TBAPF<sub>6</sub> en ACN. a) Voltamperometría cíclica a diferentes  $v$ , desde 0.025 hasta 800 mV·s<sup>-1</sup>. b) Relación lineal de  $i_p$  vs.  $\sqrt{v}$ . c) Relación entre  $E_p$  vs.  $\log(v)$ . ET: GC, ER: Ag/Ag<sup>+</sup>, EA: alambre de Pt.*

En la **Figura 60a**, se observa que, con la compensación de la caída óhmica para el ET de GC, la separación de picos (63 mV) se mantiene constante desde bajas hasta altas  $v$  (0.025 a 800 mV·s<sup>-1</sup>). En la **Figura 60b** se presenta la relación lineal de la  $i_p$  con la  $\sqrt{v}$ , característica del sistema redox de ferroceno, y en la **Figura 60c**, la relación independiente del potencial de pico anódico y catódico con el aumento de la  $v$ .



**Figura 61.** Compensación óhmica con ferroceno (1 mM) en 0.1 M de TBAPF<sub>6</sub> en ACN. a) Voltamperometría cíclica a diferentes  $v$ , desde 0.025 hasta 800  $mV \cdot s^{-1}$ . b) Relación lineal de  $i_p$  vs.  $\sqrt{v}$ . c) Relación entre  $E_p$  vs.  $\log(v)$ . ET: Pt, ER: Ag/Ag<sup>+</sup>, EA: alambre de Pt.

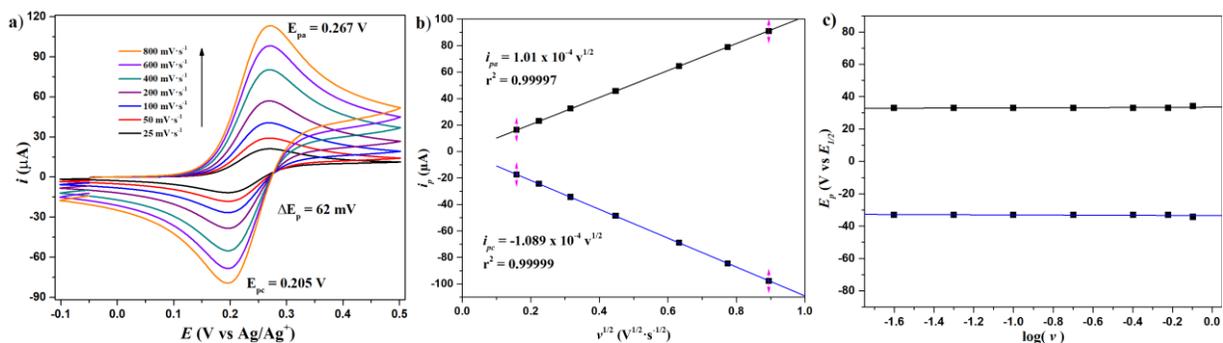
En la **Figura 61a**, se observa que, con la compensación de la caída óhmica para el ET de Pt, la separación de picos (63 mV) se mantiene constante desde bajas hasta altas  $v$  (0.025 a 800  $mV \cdot s^{-1}$ ). En la **Figura 61b** se presenta la relación lineal de la  $i_p$  con la  $\sqrt{v}$ , característica del sistema redox de ferroceno, y en la **Figura 61c**, la relación independiente del potencial de pico anódico y catódico con el aumento de la  $v$ .



**Figura 62.** Compensación óhmica con ferroceno (1 mM) en 0.1 M de TBAPF<sub>6</sub> en ACN. a) Voltamperometría cíclica a diferentes  $v$ , desde 0.025 hasta 800  $mV \cdot s^{-1}$ . b) Relación lineal de  $i_p$  vs.  $\sqrt{v}$ . c) Relación entre  $E_p$  vs.  $\log(v)$ . ET: BDD, ER: Ag/Ag<sup>+</sup>, EA: alambre de Pt.

En la **Figura 62a**, se observa que, con la compensación de la caída óhmica para el ET de BDD, la separación de picos se mantiene constante a un valor de 76 mV desde 25 hasta 100  $mV \cdot s^{-1}$ , y a altas  $v$  (800  $mV \cdot s^{-1}$ ) la separación de picos aumenta a 125 mV. En la **Figura 62b** se presenta la relación lineal de la  $i_p$  con la  $\sqrt{v}$ , característica del sistema redox de ferroceno. En la **Figura 62c** se observa la relación independiente del potencial de pico anódico y catódico con el aumento

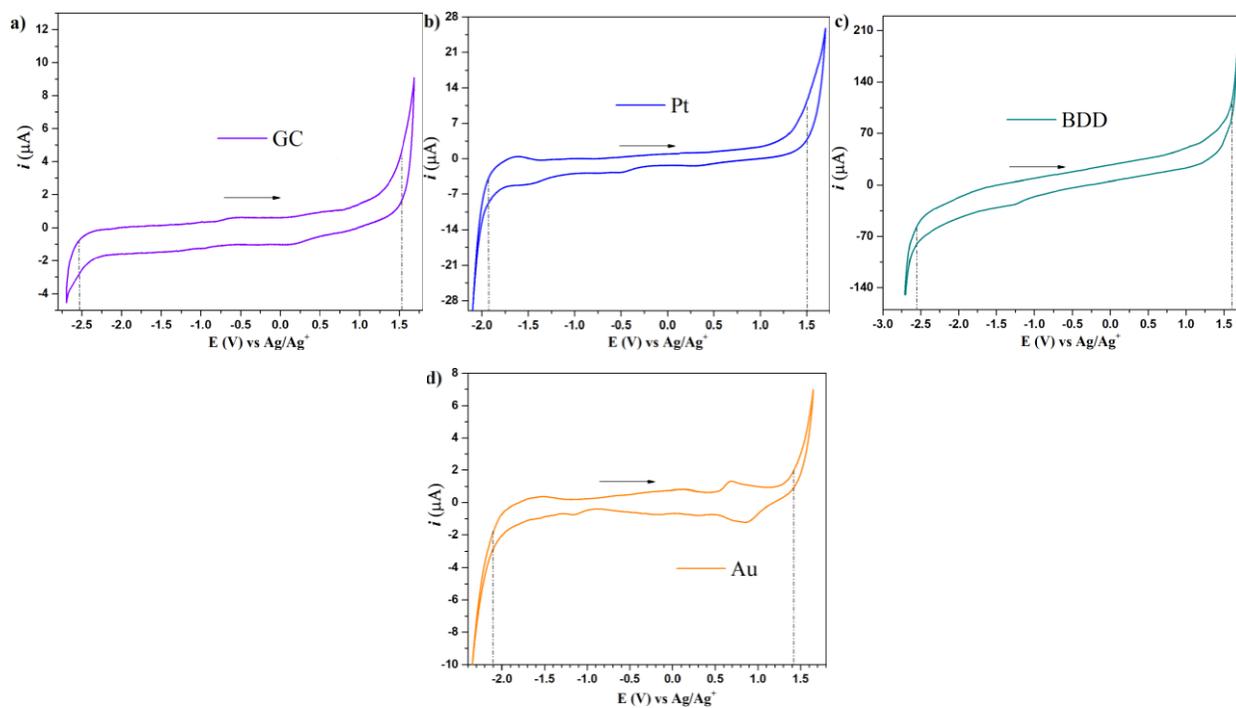
de la  $v$ . El potencial de pico se mantiene constante a bajas  $v$ , pero se observa un ligero aumento a altas  $v$  debido a que el efecto de la caída óhmica se vuelve más prominente a mayores  $v$ .



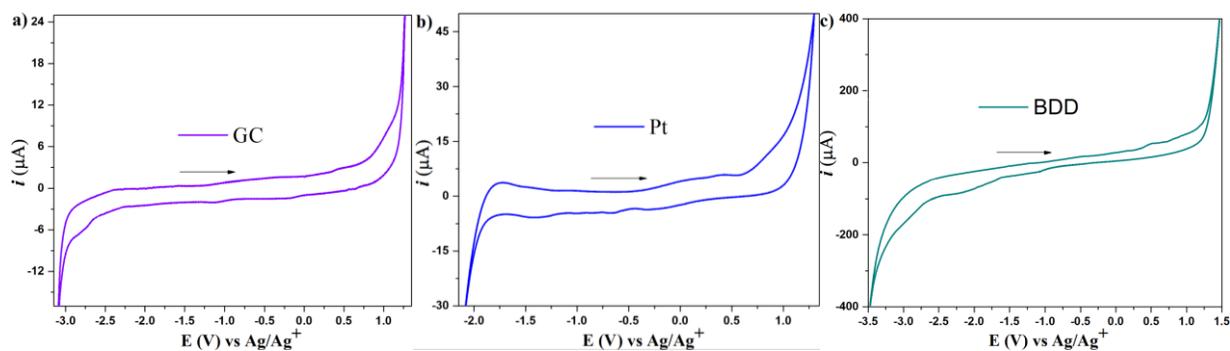
**Figura 63.** Compensación óhmica con ferroceno (1 mM) en 0.1 M de TBAPF<sub>6</sub> en ACN. a) Voltamperometría cíclica a diferentes  $v$ , desde 0.025 hasta 800 mV·s<sup>-1</sup>. b) Relación lineal de  $i_p$  vs.  $\sqrt{v}$ . c) Relación entre  $E_p$  vs.  $\log(v)$ . ET: Au, ER: Ag/Ag<sup>+</sup>, EA: alambre de Pt.

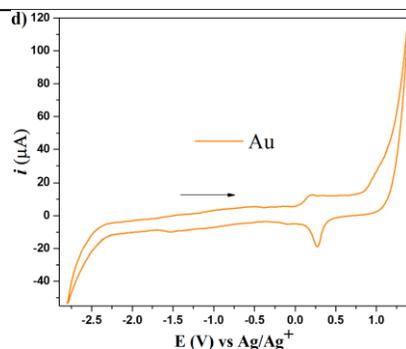
En la **Figura 63a**, se observa que, con la compensación de la caída óhmica para el ET de Au, la separación de picos (62 mV) se mantiene constante desde bajas hasta altas  $v$  (0.025 a 800 mV·s<sup>-1</sup>). En la **Figura 63b** se presenta la relación lineal de la  $i_p$  con la  $\sqrt{v}$ , característica del sistema redox de ferroceno, y en la **Figura 63c**, la relación independiente del potencial de pico anódico y catódico con el aumento de la  $v$ .

Ventanas de electroactividad (VE) para los electrodos de GC, Pt, BDD y Au en las diferentes disoluciones electrolíticas



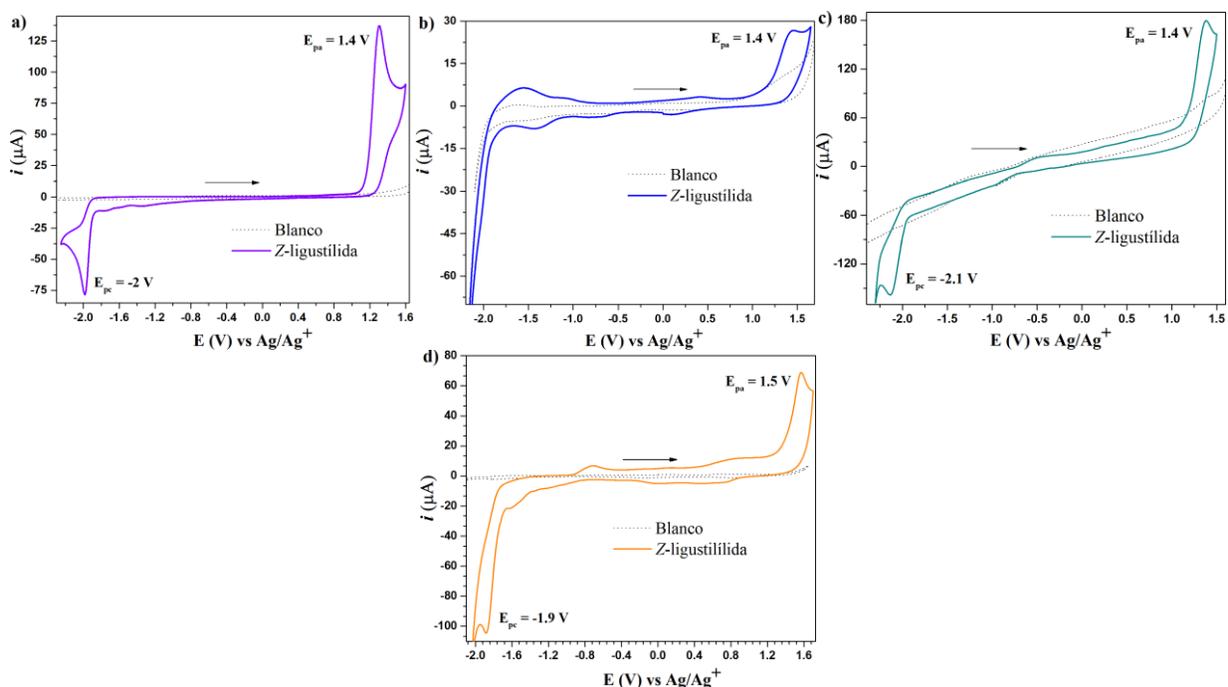
**Figura 64.** Ventanas de electroactividad en 0.1 M de TBAPF<sub>6</sub> en ACN. a) Voltamperometría cíclica en GC. b) Voltamperometría cíclica en Pt. c) Voltamperometría cíclica en BDD. d) Voltamperometría cíclica en Au. Los experimentos se realizaron a 100 mV·s<sup>-1</sup>, ER: Ag/Ag<sup>+</sup>, EA: alambre de Pt.



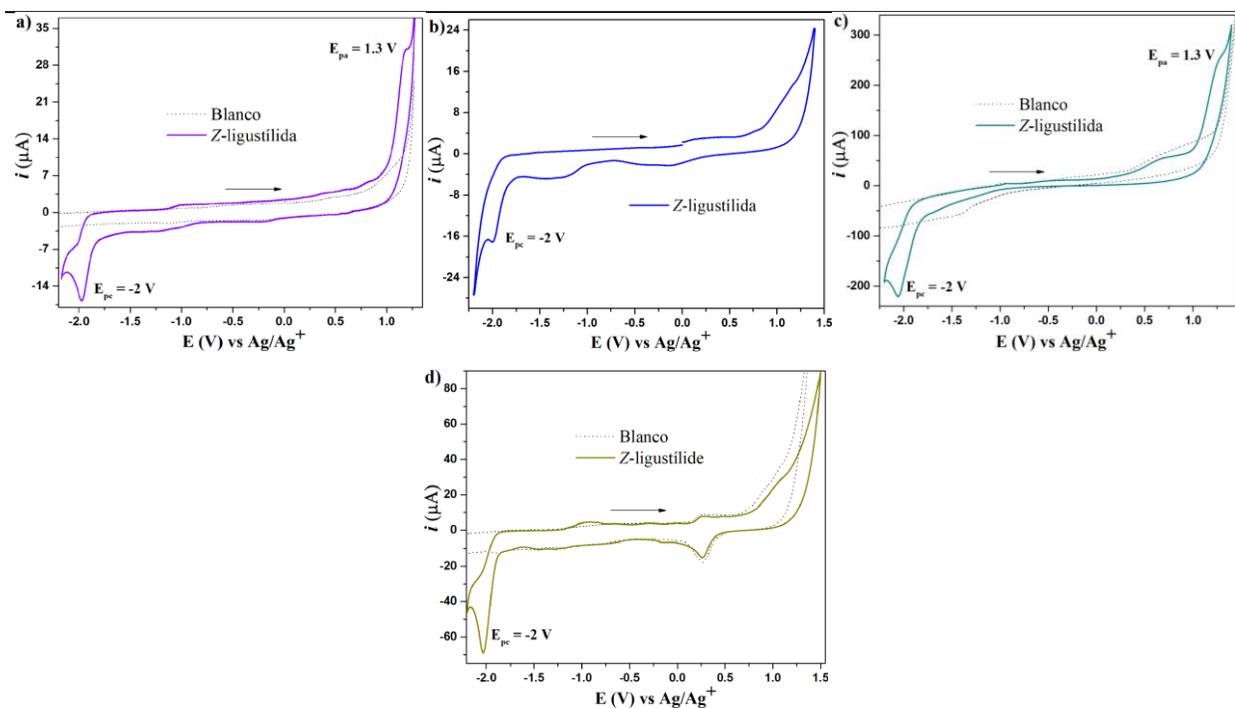


**Figura 65.** Ventanas de electroactividad en 0.1 M de TBAPF<sub>6</sub> en DMF. a) Voltamperometría cíclica en GC. b) Voltamperometría cíclica en Pt. c) Voltamperometría cíclica en BDD. d) Voltamperometría cíclica en Au. Los experimentos se realizaron a 100 mV·s<sup>-1</sup>, ER: Ag/Ag<sup>+</sup>, EA: alambre de Pt.

Respuesta electroquímica de la ftálica Z-ligustilida en los electrodos de GC, Pt, BDD y Au en las diferentes disoluciones electrolíticas



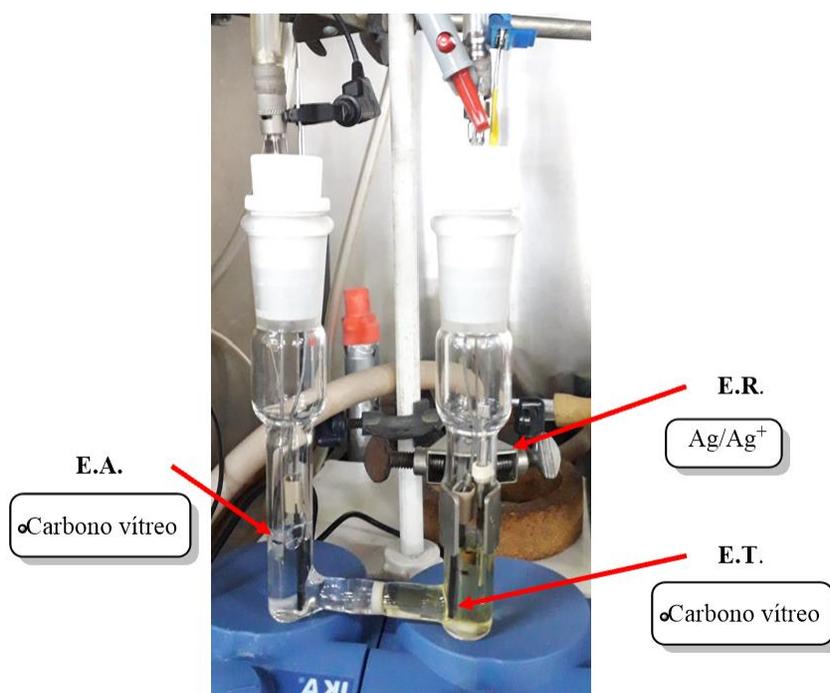
**Figura 66.** Respuesta electroquímica de la ftálica Z-ligustilida (**I**) (3 mM) en 0.1 M de TBAPF<sub>6</sub> en ACN. a) Voltamperometría cíclica en GC. b) Voltamperometría cíclica en Pt. c) Voltamperometría cíclica en BDD (1 mM de Z-ligustilida (**I**)). d) Voltamperometría cíclica en Au. Los experimentos se realizaron a 100 mV·s<sup>-1</sup>, ER: Ag/Ag<sup>+</sup>, EA: alambre de Pt.



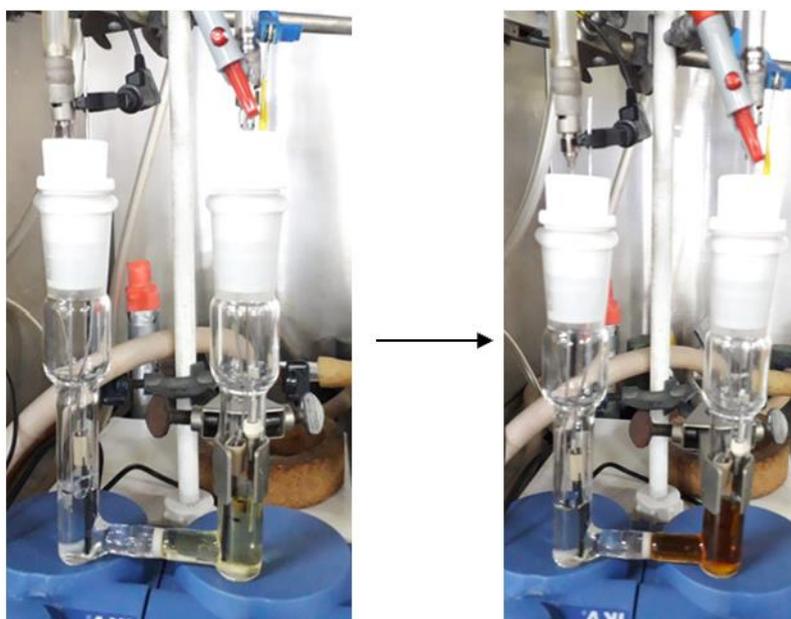
**Figura 67.** Respuesta electroquímica de la ftálica Z-ligustilida (1.4 mM) en 0.1 M de TBAPF<sub>6</sub> en DMF. a) Voltamperometría cíclica en GC. b) Voltamperometría cíclica en Pt. c) Voltamperometría cíclica en BDD. d) Voltamperometría cíclica en Au. Los experimentos se realizaron a 100 mV·s<sup>-1</sup>, ER: Ag/Ag<sup>+</sup>, EA: alambre de Pt.

---

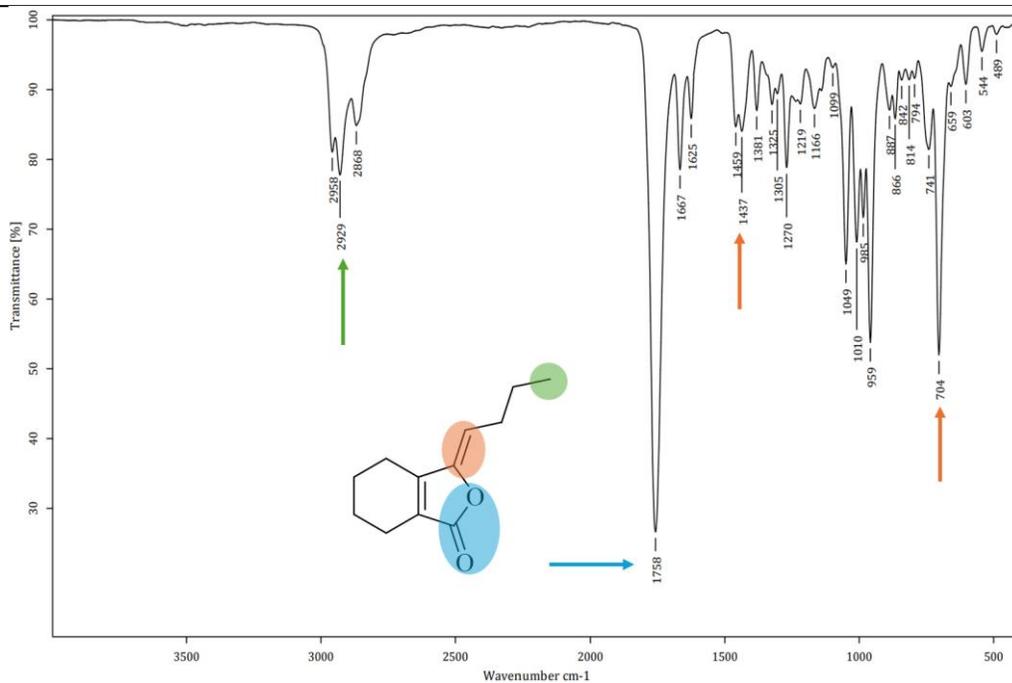
## Electrólisis preparativa de la ftálica Z-ligustílida



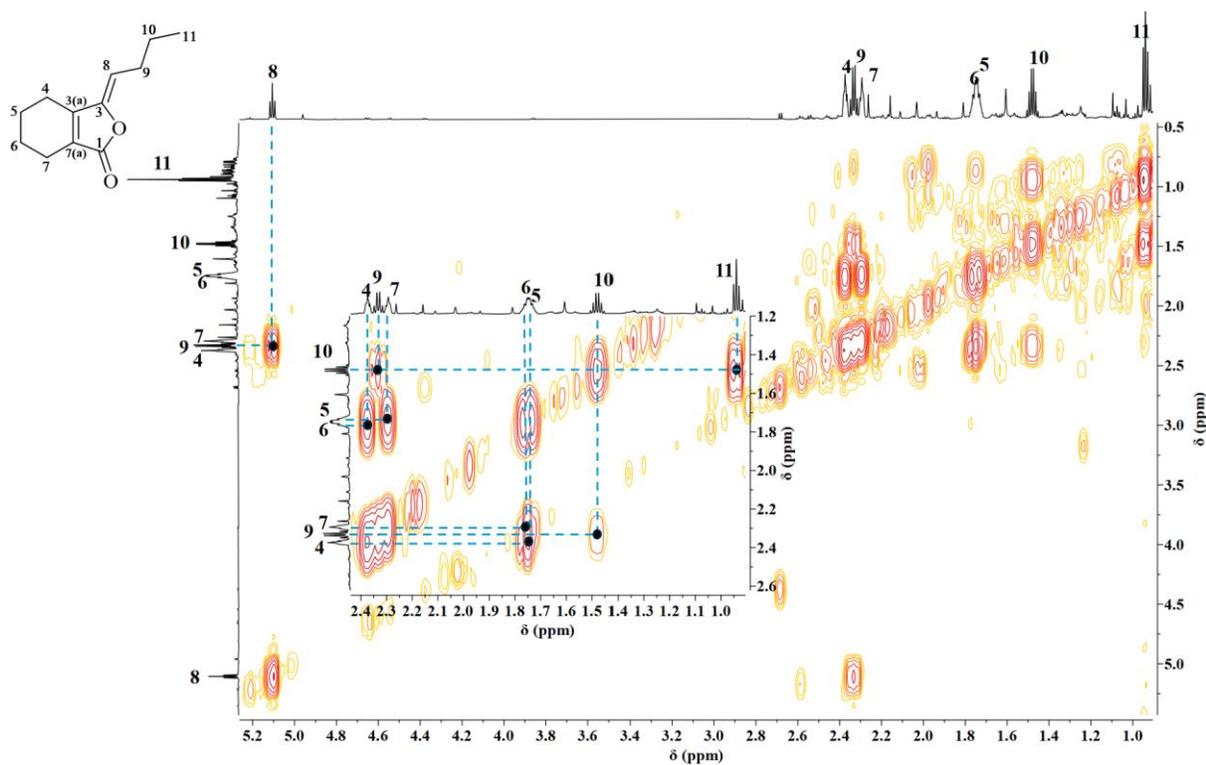
*Figura 68. Reacción potenciostática en celda dividida tipo H de la ftálica Z-ligustílida (1).*



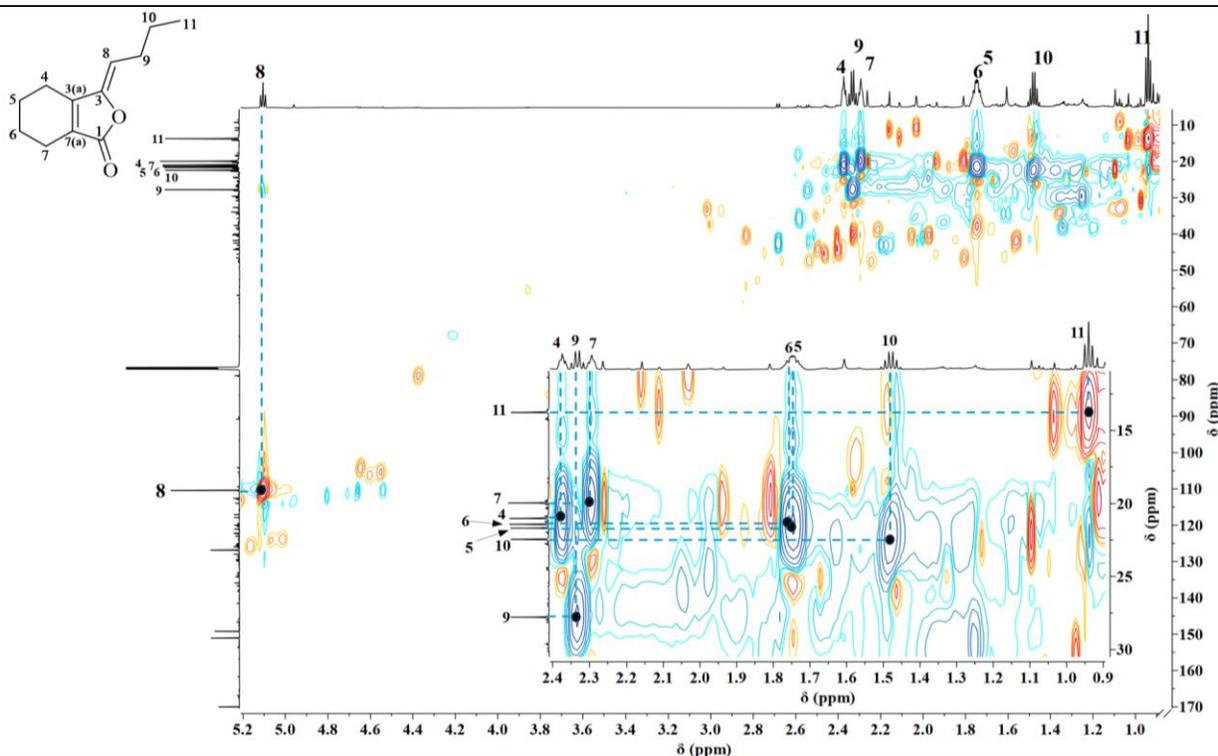
*Figura 69. Cambio en la coloración de la disolución con el transcurso de la reacción.*



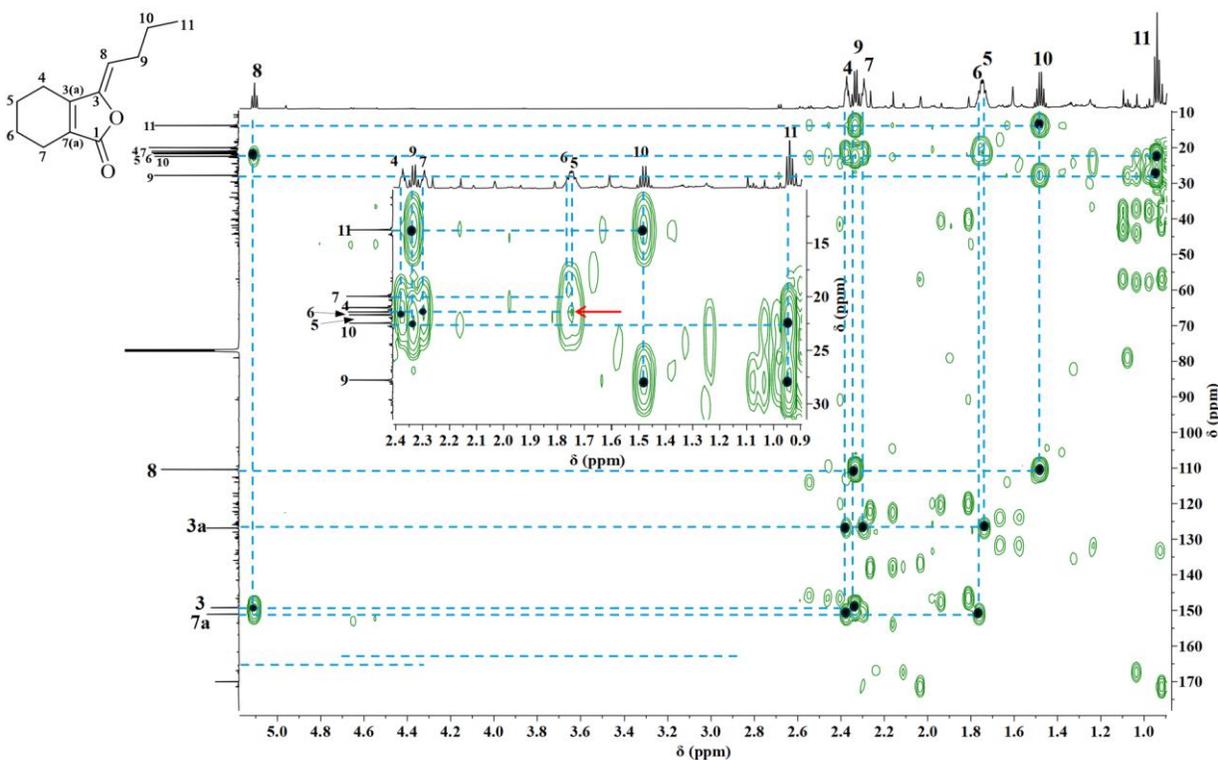
**Figura 70.** Espectro de IR de la ftálica 6,7-dihidroligustilida.



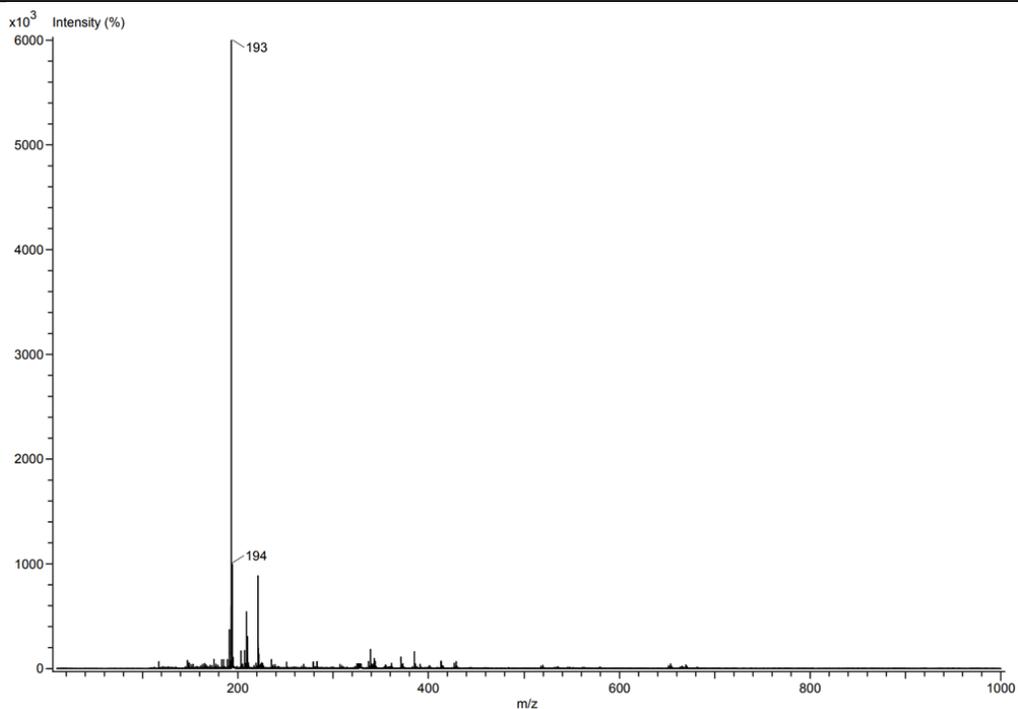
**Figura 71.** Espectro de COSY (700 MHz,  $CDCl_3$ ) de la ftálica 6,7-dihidroligustilida.



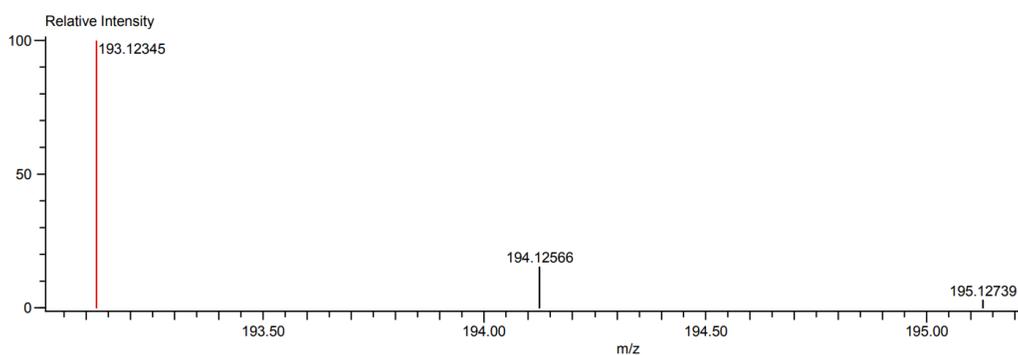
**Figura 72.** Espectro de HSQC (700 MHz,  $CDCl_3$ ) de la fátida 6,7-dihidroligustílida.



**Figura 73.** Espectro de HMBC (700 MHz,  $CDCl_3$ ) de la fátida 6,7-dihidroligustílida.

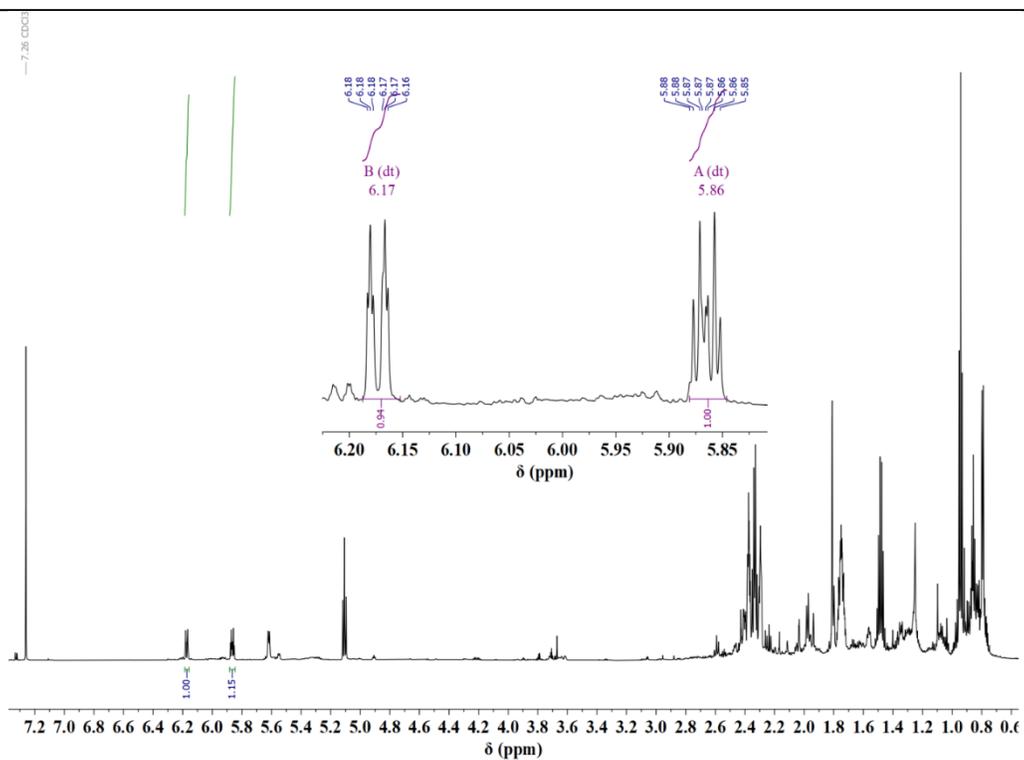


**Figura 74.** Espectro de masas DART de la ftálida 6,7-dihidroligustilida.



Mass	Intensity	Calc. Mass	Mass Difference (mmu)	Mass Difference (ppm)	Possible Formula	Unsaturation Number
193.12345	613736.98	193.12285	0.59	3.06	$^{12}\text{C}_{12}^{1}\text{H}_{17}^{16}\text{O}_2$	4.5

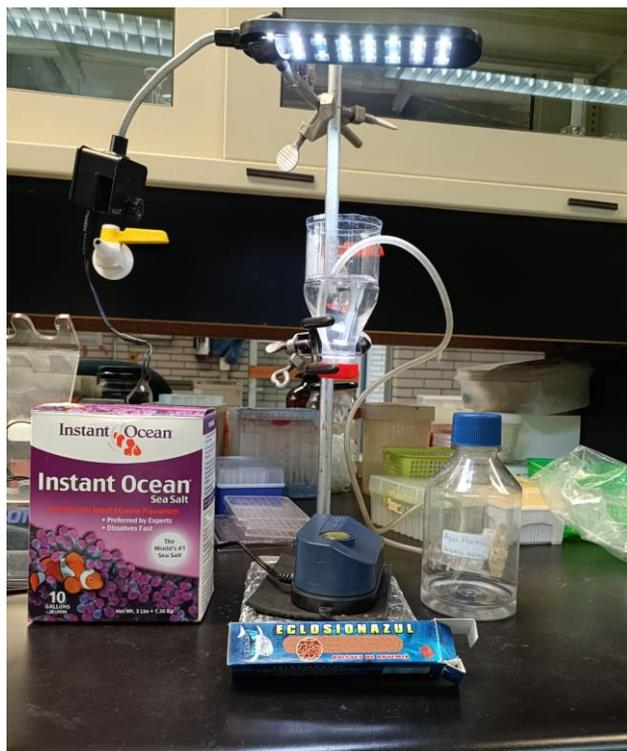
**Figura 75.** Espectro de masas ESI de la ftálida 6,7-dihidroligustilida.



**Figura 76.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (700 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) del ciclodímero de la ftálica Z-ligustílida (**1**) obtenido en mezcla con la 6,7-dihidroligustílida.

---

**Estudio de actividad biológica de los derivados de ftálica**



*Figura 77. Bioensayo de Artemia salina.*

---

## Referencias

- (1) Aware, C. B.; Patil, D. N.; Suryawanshi, S. S.; Mali, P. R.; Rane, M. R.; Gurav, R. G.; Jadhav, J. P. Natural Bioactive Products as Promising Therapeutics: A Review of Natural Product-Based Drug Development. *South African Journal of Botany* **2022**, *151*, 512–528. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2022.05.028>.
  - (2) Montinari, M. R.; Minelli, S.; De Caterina, R. The First 3500 years of Aspirin History from Its Roots – A Concise Summary. *Vascul Pharmacol* **2019**, *113*, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.vph.2018.10.008>.
  - (3) Teetz, N.; Holtmann, D.; Harnisch, F.; Stöckl, M. Upgrading Kolbe Electrolysis—Highly Efficient Production of Green Fuels and Solvents by Coupling Biosynthesis and Electrosynthesis. *Angewandte Chemie International Edition* **2022**, *61* (50). <https://doi.org/10.1002/anie.202210596>.
  - (4) Sadıkoğulları, B. C.; Şenel, P.; Çini, N.; Faysal, A. Al; Odabaşoğlu, M.; Özdemir, A. D.; Gölcü, A. An Overview of Natural and Synthetic Phthalides Involved in Cancer Studies: Past, Present, and Future. *ChemistrySelect* **2022**, *7* (37). <https://doi.org/10.1002/slct.202202004>.
  - (5) Chen, Y.; Cheng, Q.; Lv, S.; Kang, Z.; Zeng, S. Advances in the Phytochemistry and Pharmacology of Plant-Derived Phthalides. *Heliyon* **2023**, *9* (12), e22957. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e22957>.
  - (6) León, A.; Del-Ángel, M.; Ávila, J. L.; Delgado, G. Phthalides: Distribution in Nature, Chemical Reactivity, Synthesis, and Biological Activity. In *Progress in the chemistry of organic natural products*; **2017**; Vol. 104, pp 127–246. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-45618-8\\_2](https://doi.org/10.1007/978-3-319-45618-8_2).
  - (7) Yan, H.; Zhou, Y.; Tang, F.; Wang, C.; Wu, J.; Hu, C.; Xie, X.; Peng, C.; Tan, Y. A Comprehensive Investigation on the Chemical Diversity and Efficacy of Different Parts of
-

- (8) Wang, K.; Liu, X.; Cai, G.; Gong, J.; Guo, Y.; Gao, W. Chemical Composition Analysis of *Angelica Sinensis* (Oliv.) Diels and Its Four Processed Products by Ultra-high-performance Liquid Chromatography Coupled with Quadrupole-orbitrap Mass Spectrometry Combining with Nontargeted Metabolomics. *J Sep Sci* **2023**, *46* (24), 2300473. <https://doi.org/10.1002/jssc.202300473>.
- (9) Donkor, P. O.; Chen, Y.; Ding, L.; Qiu, F. Locally and Traditionally Used *Ligusticum* Species – A Review of Their Phytochemistry, Pharmacology and Pharmacokinetics. *J Ethnopharmacol* **2016**, *194*, 530–548. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.10.012>.
- (10) Batiha, G. E.-S.; Shaheen, H. M.; Elhawary, E. A.; Mostafa, N. M.; Eldahshan, O. A.; Sabatier, J.-M. Phytochemical Constituents, Folk Medicinal Uses, and Biological Activities of Genus *Angelica*: A Review. *Molecules* **2022**, *28* (1), 267. <https://doi.org/10.3390/molecules28010267>.
- (11) Han, Y.; Chen, Y.; Zhang, Q.; Liu, B.-W.; Yang, L.; Xu, Y.-H.; Zhao, Y.-H. Overview of Therapeutic Potentiality of *Angelica Sinensis* for Ischemic Stroke. *Phytomedicine* **2021**, *90*, 153652. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2021.153652>.
- (12) Prakofjewa, J.; Anegg, M.; Kalle, R.; Simanova, A.; Prüse, B.; Pieroni, A.; Sõukand, R. Diverse in Local, Overlapping in Official Medical Botany: Critical Analysis of Medicinal Plant Records from the Historic Regions of Livonia and Courland in Northeast Europe, 1829–1895. *Plants* **2022**, *11* (8), 1065. <https://doi.org/10.3390/plants11081065>.
- (13) Linares, E.; Bye, R. A. A Study of Four Medicinal Plant Complexes of Mexico and Adjacent United States. *J Ethnopharmacol* **1987**, *19* (2), 153–183. [https://doi.org/10.1016/0378-8741\(87\)90039-0](https://doi.org/10.1016/0378-8741(87)90039-0).

- 
- (14) Endress, B. A.; Averett, J. P.; Steinmetz, S.; Quaempts, E. J. Forgotten Forbs: Standard Vegetation Surveys Underrepresent Ecologically and Culturally Important Forbs in a Threatened Grassland Ecosystem. *Conserv Sci Pract* **2022**, *4* (10). <https://doi.org/10.1111/csp2.12813>.
- (15) Salehi, B.; Venditti, A.; Frezza, C.; Yüce-tepe, A.; Altuntaş, Ü.; Uluata, S.; Butnariu, M.; Sarac, I.; Shaheen, S.; A. Petropoulos, S.; R. Matthews, K.; Sibel Kılıç, C.; Atanassova, M.; Oluwaseun Adetunji, C.; Oluwaseun Ademiluyi, A.; Özçelik, B.; Valere Tsouh Fokou, P.; Martins, N.; C. Cho, W.; Sharifi-Rad, J. Apium Plants: Beyond Simple Food and Phytopharmacological Applications. *Applied Sciences* **2019**, *9* (17), 3547. <https://doi.org/10.3390/app9173547>.
- (16) Wang, X.-J.; Luo, Q.; Li, T.; Meng, P.-H.; Pu, Y.-T.; Liu, J.-X.; Zhang, J.; Liu, H.; Tan, G.-F.; Xiong, A.-S. Origin, Evolution, Breeding, and Omics of Apiaceae: A Family of Vegetables and Medicinal Plants. *Hortic Res* **2022**, *9*. <https://doi.org/10.1093/hr/uhac076>.
- (17) Awasthi, A.; Singh, M.; Rathee, G.; Chandra, R. Recent Advancements in Synthetic Methodologies of 3-Substituted Phthalides and Their Application in the Total Synthesis of Biologically Active Natural Products. *RSC Adv* **2020**, *10* (21), 12626–12652. <https://doi.org/10.1039/D0RA00701C>.
- (18) Regueira, T. B.; Kildegaard, K. R.; Hansen, B. G.; Mortensen, U. H.; Hertweck, C.; Nielsen, J. Molecular Basis for Mycophenolic Acid Biosynthesis in *Penicillium Brevicompactum*. *Appl Environ Microbiol* **2011**, *77* (9), 3035–3043. <https://doi.org/10.1128/AEM.03015-10>.
- (19) Hopwood, D. A. Genetic Contributions to Understanding Polyketide Synthases. *Chem Rev* **1997**, *97* (7), 2465–2498. <https://doi.org/10.1021/cr960034i>.
- (20) Karmakar, R.; Pahari, P.; Mal, D. Phthalides and Phthalans: Synthetic Methodologies and Their Applications in the Total Synthesis. *Chem Rev* **2014**, *114* (12), 6213–6284. <https://doi.org/10.1021/cr400524q>.
-

- 
- (21) Davies, W.; Perkin, W. H. CCLXIV.—The Chlorination and Bromination of the Toluic Acids and the Preparation of the Phthalaldehydic Acids. *J. Chem. Soc., Trans.* **1922**, 121 (0), 2202–2215. <https://doi.org/10.1039/CT9222102202>.
- (22) Eliel, E. L.; Burgstahler, A. W.; Rivard, D. E.; Haefele, L. The Methyl Esters of 3-Hydroxyphthalic Acid. Selective Reduction of Monomethyl Phthalates with Lithium Aluminum Hydride. *J Am Chem Soc* **1955**, 77 (19), 5092–5095. <https://doi.org/10.1021/ja01624a042>.
- (23) Watanabe, M.; Tsukazaki, M.; Hamada, Y.; Iwao, M.; Furukawa, S. An Efficient Synthesis of Phthalides by Diels-Alder Reaction of Sulfur-Substituted Furanones with Silyloxydienes: A Formal Synthesis of Mycophenolic Acid. *Chem Pharm Bull (Tokyo)* **1989**, 37 (11), 2948–2951. <https://doi.org/10.1248/cpb.37.2948>.
- (24) Knochel, P.; Cole, K. P. Directed Ortho Metalation in 2021: A Tribute to Victor Snieckus (August 1, 1937–December 18, 2020). *Org Process Res Dev* **2021**, 25 (10), 2188–2191. <https://doi.org/10.1021/acs.oprd.1c00271>.
- (25) Yang, J.; Yoshikai, N. Cobalt-Catalyzed Enantioselective Intramolecular Hydroacylation of Ketones and Olefins. *J Am Chem Soc* **2014**, 136 (48), 16748–16751. <https://doi.org/10.1021/ja509919x>.
- (26) Rao, W.-H.; Jiang, L.-L.; Zhao, J.-X.; Jiang, X.; Zou, G.-D.; Zhou, Y.-Q.; Tang, L. Selective *O*-Cyclization of *N*-Methoxy Aryl Amides with CH<sub>2</sub>Br<sub>2</sub> or 1,2-DCE via Palladium-Catalyzed C–H Activation. *Org Lett* **2018**, 20 (19), 6198–6201. <https://doi.org/10.1021/acs.orglett.8b02678>.
- (27) Kattela, S.; de Lucca, E. C.; Correia, C. R. D. Enantioselective Synthesis of Phthalides and Isochromanones via Heck–Matsuda Arylation of Dihydrofurans. *Chemistry – A European Journal* **2018**, 24 (67), 17691–17696. <https://doi.org/10.1002/chem.201804958>.
-

- 
- (28) Mahmoud, N. F. H.; El-Hashash, M. A.; Elsayed, G. A. Utility of 3-Benzylidenefuran-2(3H)-One and 3-Benzylideneisobenzofuran-1(3H)-One as Precursors of Biologically Active Novel Heterocycles. *Journal of the Iranian Chemical Society* **2019**, *16* (4), 765–775. <https://doi.org/10.1007/s13738-018-1553-2>.
- (29) Luo, L.; Song, Q.; Li, Y.; Cao, Z.; Qiang, X.; Tan, Z.; Deng, Y. Design, Synthesis and Evaluation of Phthalide Alkyl Tertiary Amine Derivatives as Promising Acetylcholinesterase Inhibitors with High Potency and Selectivity against Alzheimer's Disease. *Bioorg Med Chem* **2020**, *28* (8), 115400. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2020.115400>.
- (30) Jiang, Q.; Zhu, C.; Zhao, H.; Su, W. Rh<sup>III</sup>-Catalyzed C–H Olefination of Benzoic Acids under Mild Conditions Using Oxygen as the Sole Oxidant. *Chem Asian J* **2016**, *11* (3), 356–359. <https://doi.org/10.1002/asia.201500601>.
- (31) Sankara, C. S.; Gaikwad, S. P.; Namboothiri, I. N. N. Synthesis of Natural Products, Carbocycles, and Heterocycles by Hauser–Kraus Annulation. *Synlett* **2023**, *34* (17), 1961–1977. <https://doi.org/10.1055/a-2068-7126>.
- (32) Wei, X.; Zeng, Y.; Sun, C.; Meng, F.; Wang, Y. Recent Advances in Natural Phthalides: Distribution, Chemistry, and Biological Activities. *Fitoterapia* **2022**, *160*, 105223. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2022.105223>.
- (33) Shao, M.; Lv, D.; Zhou, K.; Sun, H.; Wang, Z. Senkyunolide A Inhibits the Progression of Osteoarthritis by Inhibiting the NLRP3 Signalling Pathway. *Pharm Biol* **2022**, *60* (1), 535–542. <https://doi.org/10.1080/13880209.2022.2042327>.
- (34) Altinoz, M. A.; Guloksuz, S.; Ozpinar, A. Immunomodifying and Neuroprotective Effects of Noscipine: Implications for Multiple Sclerosis, Neurodegenerative, and Psychiatric Disorders. *Chem Biol Interact* **2022**, *352*, 109794. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2021.109794>.
-

- 
- (35) Jiang, Y.; Luo, Y.; Chen, X.; Liu, N.; Hou, J.; Piao, J.; Song, C.; Si, C.; Hu, W.; Li, X. Senkyunolide H Protects PC12 Cells from OGD/R-Induced Injury via CAMP-PI3K/AKT Signaling Pathway. *J Ethnopharmacol* **2022**, *282*, 114659. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2021.114659>.
- (36) He, M.; Xu, H.; Liu, G.; Yang, M.; Zhang, W.; Li, Y.; Zhang, H.; Wang, C.; Zhang, Y.; Liu, X.; Xu, S.; Ding, Y.; Li, Y.; Gao, Y.; Zhang, Q. Levistilide A Promotes Expansion of Human Umbilical Cord Blood Hematopoietic Stem Cells by Enhancing Antioxidant Activity. *Front Pharmacol* **2022**, *13*. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.806837>.
- (37) Wang, S.; Ma, F.; Huang, L.; Zhang, Y.; Peng, Y.; Xing, C.; Feng, Y.; Wang, X.; Peng, Y. DI-3-n-Butylphthalide (NBP): A Promising Therapeutic Agent for Ischemic Stroke. *CNS Neurol Disord Drug Targets* **2018**, *17* (5), 338–347. <https://doi.org/10.2174/1871527317666180612125843>.
- (38) Wang, X.; Luan, X.; Yang, Z. The Effect of Butylphthalide on Improving the Neurological Function of Patients with Acute Anterior Circulation Cerebral Infarction after Mechanical Thrombectomy. *Medicine* **2023**, *102* (34), e34616. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000034616>.
- (39) Rostas, S.; Kim, M.; Gabardi, S. Risk Evaluation and Mitigation Strategies: A Focus on the Mycophenolic Acid Preparations. *Progress in Transplantation* **2014**, *24* (1), 33–36. <https://doi.org/10.7182/pit2014521>.
- (40) Ferreira, P. C. L.; Thiesen, F. V.; Pereira, A. G.; Zimmer, A. R.; Fröhlich, P. E. A Short Overview on Mycophenolic Acid Pharmacology and Pharmacokinetics. *Clin Transplant* **2020**, *34* (8). <https://doi.org/10.1111/ctr.13997>.
- (41) Anderson, W. K.; Boehm, T. L.; Makara, G. M.; Swann, R. T. Synthesis and Modeling Studies with Monocyclic Analogues of Mycophenolic Acid. *J Med Chem* **1996**, *39* (1), 46–55. <https://doi.org/10.1021/jm9501339>.
-

- 
- (42) Fan, L.; Luo, B.; Luo, Z.; Zhang, L.; Fan, J.; Xue, W.; Tang, L.; Li, Y. Synthesis and Antifungal Activities of 3-Substituted Phthalide Derivatives. *Zeitschrift für Naturforschung B* **2019**, *74* (11–12), 811–818. <https://doi.org/10.1515/znb-2019-0110>.
- (43) Chen, L. Z.; Wu, J.; Li, K.; Wu, Q. Q.; Chen, R.; Liu, X. H.; Ruan, B. F. Novel Phthalide Derivatives: Synthesis and Anti-Inflammatory Activity in Vitro and in Vivo. *Eur J Med Chem* **2020**, *206*, 112722. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2020.112722>.
- (44) Tang, F.; Yan, Y.-M.; Yan, H.-L.; Wang, L.-X.; Hu, C.-J.; Wang, H.-L.; Ao, H.; Peng, C.; Tan, Y.-Z. Chuanxiongdiolides R4 and R5, Phthalide Dimers with a Complex Polycyclic Skeleton from the Aerial Parts of Ligusticum Chuanxiong and Their Vasodilator Activity. *Bioorg Chem* **2021**, *107*, 104523. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2020.104523>.
- (45) Mitsuhashi, H.; Nagai, U.; Muramatsu, T. Studies on the Constituents of Umbelliferae Plants. III. Structure of Ligustilide. *Chem Pharm Bull (Tokyo)* **1961**, *9* (2), 115–119. <https://doi.org/10.1248/cpb.9.115>.
- (46) Mitsuhashi, H.; Nagai, U. Studies on the Constituents of Umbelliferae Plants—VII. *Tetrahedron* **1963**, *19* (8), 1277–1283. [https://doi.org/10.1016/S0040-4020\(01\)98590-4](https://doi.org/10.1016/S0040-4020(01)98590-4).
- (47) Yang, J. ying; Chen, H. hu; Wu, J.; Gong, S. xiao; Chen, C. qing; Zhang, T. jun; Wang, M. jie. Advances in Studies on Pharmacological Functions of Ligustilide and Their Mechanisms. *Chinese Herbal Medicines*. **2012**. <https://doi.org/10.3969/j.issn.1674-6384.2012.01.005>.
- (48) Mitsuhashi, H.; Nagai, U.; Muramatsu, T.; Tashiro, H. Studies on the Constituents of Umbelliferae Plants. II. Isolation of the Active Principles of Ligusticum Root. *Chem Pharm Bull (Tokyo)* **1960**, *8* (3), 243–245. <https://doi.org/10.1248/cpb.8.243>.
- (49) León, A.; Toscano, R. A.; Tortoriello, J.; Delgado, G. Phthalides and Other Constituents from *Ligusticum Porteri*; Sedative and Spasmolytic Activities of Some Natural Products
-

- 
- and Derivatives. *Nat Prod Res* **2011**, 25 (13), 1234–1242. <https://doi.org/10.1080/14786419.2010.534735>.
- (50) Xie, Q.; Zhang, L.; Xie, L.; Zheng, Y.; Liu, K.; Tang, H.; Liao, Y.; Li, X. Z-ligustilide: A Review of Its Pharmacokinetics and Pharmacology. *Phytotherapy Research* **2020**, 34 (8), 1966–1991. <https://doi.org/10.1002/ptr.6662>.
- (51) Ma, J.-C.; Zhang, H.-L.; Huang, H.-P.; Ma, Z.-L.; Chen, S.-F.; Qiu, Z.-K.; Chen, J.-S. Antidepressant-like Effects of Z-ligustilide on Chronic Unpredictable Mild Stress-induced Depression in Rats. *Exp Ther Med* **2021**, 22 (1), 677. <https://doi.org/10.3892/etm.2021.10109>.
- (52) Wang, C.; Liu, G.; Dou, G.; Yang, Y.; Chen, L.; Ma, H.; Jiang, Z.; Ma, H.; Li, C.; Li, L.; Jiang, M.; Lu, Q.; Li, P.; Qi, H. Z-Ligustilide Selectively Targets AML by Restoring Nuclear Receptors Nur77 and NOR-1-Mediated Apoptosis and Differentiation. *Phytomedicine* **2021**, 82, 153448. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2020.153448>.
- (53) Zhuang, Y.-Q.; Zou, J.; Zhang, S.-Y.; Wu, J.-M.; Long, L.; Chen, X.-B.; Chen, G.-D.; Hu, D.; Wang, Y.-H.; Gao, H. Oxidative Aromatization Mechanism of Ligustilide. *Chemical Communications* **2023**, 59 (64), 9742–9745. <https://doi.org/10.1039/D3CC02121A>.
- (54) Duric, K.; Liu, Y.; Chen, S.-N.; Lankin, D. C.; Nikolic, D.; McAlpine, J. B.; Friesen, J. B.; Pauli, G. F. Studying Mass Balance and the Stability of ( Z )-Ligustilide from *Angelica Sinensis* Helps to Bridge a Botanical Instability–Bioactivity Chasm. *J Nat Prod* **2019**, 82 (9), 2400–2408. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.8b00962>.
- (55) Cui, F.; Feng, L.; Hu, J. Factors Affecting Stability of Z -Ligustilide in the Volatile Oil of *Radix Angelicae Sinensis* and *Ligusticum Chuanxiong* and Its Stability Prediction. *Drug Dev Ind Pharm* **2006**, 32 (6), 747–755. <https://doi.org/10.1080/03639040500529101>.
-

- 
- (56) Schinkovitz, A.; Pro, S. M.; Main, M.; Chen, S.-N.; Jaki, B. U.; Lankin, D. C.; Pauli, G. F. Dynamic Nature of the Ligustilide Complex. *J Nat Prod* **2008**, *71* (9), 1604–1611. <https://doi.org/10.1021/np800137n>.
- (57) Kaouadji, M.; De Pachtere, F.; Pouget, C.; Chulia, A. J.; Lavaitte, S. Three Additional Phthalide Derivatives, an Epoxy monomer and Two Dimers, from *Ligusticum Wallichii* Rhizomes. *J Nat Prod* **1986**, *49* (5), 872–877. <https://doi.org/10.1021/np50047a018>.
- (58) Beck, J. J.; Stermitz, F. R. Addition of Methyl Thioglycolate and Benzylamine to (Z)-Ligustilide, a Bioactive Unsaturated Lactone Constituent of Several Herbal Medicines. An Improved Synthesis of (Z)-Ligustilide. *J Nat Prod* **1995**, *58* (7), 1047–1055. <https://doi.org/10.1021/np50121a009>.
- (59) Rios, Y. M.; Delgado, G.; Toscano, R. Chemical Reactivity of Phthalides. Relay Synthesis of Diligustilide, Rel-(3'R)-3',8'-Dihydrodiligustilide and Wallichilide. *Tetrahedron* **1998**, *54* (14), 3355–3366. [https://doi.org/10.1016/S0040-4020\(98\)00080-5](https://doi.org/10.1016/S0040-4020(98)00080-5).
- (60) Vermeeren, P.; Tiezza, M. D.; van Dongen, M.; Fernández, I.; Bickelhaupt, F. M.; Hamlin, T. A. Lewis Acid-Catalyzed Diels-Alder Reactions: Reactivity Trends across the Periodic Table. *Chemistry – A European Journal* **2021**, *27* (41), 10610–10620. <https://doi.org/10.1002/chem.202100522>.
- (61) Rios, M. Y.; Delgado, G. Lewis Acid Catalyzed Transformations of Z-Ligustilide. *J Mex Chem Soc* **1999**, *43* (3–4), 127–132.
- (62) Quiroz-García, B.; Figueroa, R.; Cogordan, J. A.; Delgado, G. Photocyclodimers from Z-Ligustilide. Experimental Results and FMO Analysis. *Tetrahedron Lett* **2005**, *46* (17), 3003–3006. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2005.03.024>.
- (63) Zhang, X.; Xiao, H.; Xu, Q.; Li, X.; Wang, J.; Liang, X. Characterization of Phthalides in *Ligusticum Chuanxiong* by Liquid Chromatographic-Atmospheric Pressure Chemical
-

- 
- Ionization-Mass Spectrometry. *J Chromatogr Sci* **2003**, *41* (8), 428–433.  
<https://doi.org/10.1093/chromsci/41.8.428>.
- (64) Großkopf, J.; Kratz, T.; Rigotti, T.; Bach, T. Enantioselective Photochemical Reactions Enabled by Triplet Energy Transfer. *Chem Rev* **2022**, *122* (2), 1626–1653.  
<https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.1c00272>.
- (65) Sheng, B.; Vo, Y.; Lan, P.; Gardiner, M. G.; Banwell, M. G.; Sun, P. Direct and Metal-Catalyzed Photochemical Dimerization of the Phthalide (*Z*)-Ligustilide Leading to Both [2 + 2] and [4 + 2] Cycloadducts: Application to Total Syntheses of Tokinolides A–C and Riligustilide. *Org Lett* **2019**, *21* (16), 6295–6299.  
<https://doi.org/10.1021/acs.orglett.9b02172>.
- (66) Hayrapetyan, D.; Shkepu, V.; Seilkhanov, O. T.; Zhanabil, Z.; Lam, K. Electrochemical Synthesis of Phthalides via Anodic Activation of Aromatic Carboxylic Acids. *Chemical Communications* **2017**, *53* (60), 8451–8454. <https://doi.org/10.1039/C7CC03669H>.
- (67) Duan, F.; Xu, W.; Liu, J.; Jia, Z.; Chen, K.; Chen, Y.; Wang, M.; Ma, K.; Dong, J.; Chen, L.; Xiao, H. Preparing the Key Metabolite of *Z*-Ligustilide in Vivo by a Specific Electrochemical Reaction. *J Sep Sci* **2018**, *41* (13), 2799–2807.  
<https://doi.org/10.1002/jssc.201800164>.
- (68) Blotevogel, J.; Rappé, A. K.; Mayeno, A. N.; Sale, T. C.; Borch, T. The Mechanism of C–H Bond Oxidation by Aqueous Permanganate. *Environ Sci Technol* **2018**, *52* (17), 9845–9850.  
<https://doi.org/10.1021/acs.est.8b03157>.
- (69) Meyer, T. H.; Choi, I.; Tian, C.; Ackermann, L. Powering the Future: How Can Electrochemistry Make a Difference in Organic Synthesis? *Chem* **2020**, *6* (10), 2484–2496.  
<https://doi.org/10.1016/j.chempr.2020.08.025>.
-

- 
- (70) Cembellín, S.; Batanero, B. Organic Electrosynthesis Towards Sustainability: Fundamentals and Greener Methodologies. *The Chemical Record* **2021**, *21* (9), 2453–2471. <https://doi.org/10.1002/tcr.202100128>.
- (71) Wiebe, A.; Gieshoff, T.; Möhle, S.; Rodrigo, E.; Zirbes, M.; Waldvogel, S. R. Electrifying Organic Synthesis. *Angewandte Chemie International Edition* **2018**, *57* (20), 5594–5619. <https://doi.org/10.1002/anie.201711060>.
- (72) Zhu, C.; Ang, N. W. J.; Meyer, T. H.; Qiu, Y.; Ackermann, L. Organic Electrochemistry: Molecular Syntheses with Potential. *ACS Cent Sci* **2021**, *7* (3), 415–431. <https://doi.org/10.1021/acscentsci.0c01532>.
- (73) Anastas, P.; Eghbali, N. Green Chemistry: Principles and Practice. *Chem. Soc. Rev.* **2010**, *39* (1), 301–312. <https://doi.org/10.1039/B918763B>.
- (74) Francke, R. Concepts for Sustainable Organic Electrosynthesis. *Curr Opin Electrochem* **2022**, *36*, 101111. <https://doi.org/10.1016/j.coelec.2022.101111>.
- (75) Hammerich, O.; Speiser, B. *Organic Electrochemistry*; Hammerich, O., Speiser, B., Eds.; CRC Press, 2015. <https://doi.org/10.1201/b19122>.
- (76) Schiffer, Z. J.; Lazouski, N.; Corbin, N.; Manthiram, K. Nature of the First Electron Transfer in Electrochemical Ammonia Activation in a Nonaqueous Medium. *The Journal of Physical Chemistry C* **2019**, *123* (15), 9713–9720. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.9b00669>.
- (77) Fuchigami, T.; Inagi, S.; Atobe, M. *Fundamentals and Applications of Organic Electrochemistry*; Fuchigami, T., Inagi, S., Atobe, M., Eds.; Wiley, **2014**. <https://doi.org/10.1002/9781118670750>.
- (78) Nutting, J. E.; Gerken, J. B.; Stamoulis, A. G.; Bruns, D. L.; Stahl, S. S. “How Should I Think about Voltage? What Is Overpotential?”: Establishing an Organic Chemistry Intuition
-

- 
- for Electrochemistry. *J Org Chem* **2021**, *86* (22), 15875–15885. <https://doi.org/10.1021/acs.joc.1c01520>.
- (79) Dourado, A. H. B. Electric Double Layer: The Good, the Bad, and the Beauty. *Electrochem* **2022**, *3* (4), 789–808. <https://doi.org/10.3390/electrochem3040052>.
- (80) Jensen, W. B. Faraday's Laws or Faraday's Law? *J Chem Educ* **2012**, *89* (9), 1208–1209. <https://doi.org/10.1021/ed101193q>.
- (81) Bard, a; Faulkner, L. Allen J. Bard and Larry R. Faulkner, *Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications*, New York: Wiley, 2001. *Russian Journal of Electrochemistry* **2002**, *38* (12), 1505–1506. <https://doi.org/10.1023/A:1021637209564>.
- (82) Creager, S. Solvents and Supporting Electrolytes. In *Handbook of Electrochemistry*; Elsevier, 2007; pp 57–72. <https://doi.org/10.1016/B978-044451958-0.50004-5>.
- (83) Xie, S.; Zhen, C.-H.; Chen, H.; Cao, D.; Zhang, J.; Zhou, Y.; Li, J.-T.; Sun, S.-G. Charging Galvanic Cell for Rapid H<sub>2</sub> Production in Neutral and/or Acidic Seawater. *The Journal of Physical Chemistry C* **2022**, *126* (40), 17002–17010. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.2c05731>.
- (84) Hilt, G. Basic Strategies and Types of Applications in Organic Electrochemistry. *ChemElectroChem* **2020**, *7* (2), 395–405. <https://doi.org/10.1002/celec.201901799>.
- (85) Petrovic, S. Basic Electrochemistry Concepts. In *Electrochemistry Crash Course for Engineers*; Springer International Publishing: Cham, **2021**; pp 3–10. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-61562-8\\_2](https://doi.org/10.1007/978-3-030-61562-8_2).
- (86) Swain, G. M. Solid Electrode Materials. In *Handbook of Electrochemistry*; Elsevier, **2007**; pp 111–153. <https://doi.org/10.1016/B978-044451958-0.50006-9>.
-

- 
- (87) Liu, C.; Li, R.; Zhou, W.; Liang, Y.; Shi, Y.; Li, R.-L.; Ling, Y.; Yu, Y.; Li, J.; Zhang, B. Selectivity Origin of Organic Electrosynthesis Controlled by Electrode Materials: A Case Study on Pinacols. *ACS Catal* **2021**, *11* (14), 8958–8967. <https://doi.org/10.1021/acscatal.1c01382>.
- (88) Schotten, C.; Nicholls, T. P.; Bourne, R. A.; Kapur, N.; Nguyen, B. N.; Willans, C. E. Making Electrochemistry Easily Accessible to the Synthetic Chemist. *Green Chemistry* **2020**, *22* (11), 3358–3375. <https://doi.org/10.1039/D0GC01247E>.
- (89) Troudt, B. K.; Rousseau, C. R.; Dong, X. I. N.; Anderson, E. L.; Bühlmann, P. Recent Progress in the Development of Improved Reference Electrodes for Electrochemistry. *Analytical Sciences* **2022**, *38* (1), 71–83. <https://doi.org/10.2116/analsci.21SAR11>.
- (90) Shinwari, M. W.; Zhitomirsky, D.; Deen, I. A.; Selvaganapathy, P. R.; Deen, M. J.; Landheer, D. Microfabricated Reference Electrodes and Their Biosensing Applications. *Sensors* **2010**, *10* (3), 1679–1715. <https://doi.org/10.3390/s100301679>.
- (91) Kingston, C.; Palkowitz, M. D.; Takahira, Y.; Vantourout, J. C.; Peters, B. K.; Kawamata, Y.; Baran, P. S. A Survival Guide for the “Electro-Curious.” *Acc Chem Res* **2020**, *53* (1), 72–83. <https://doi.org/10.1021/acs.accounts.9b00539>.
- (92) Stang, C.; Harnisch, F. The Dilemma of Supporting Electrolytes for Electroorganic Synthesis: A Case Study on Kolbe Electrolysis. *ChemSusChem* **2016**, *9* (1), 50–60. <https://doi.org/10.1002/cssc.201501407>.
- (93) Harnisch, F.; Schröder, U. Tapping Renewables: A New Dawn for Organic Electrosynthesis in Aqueous Reaction Media. *ChemElectroChem* **2019**, *6* (16), 4126–4133. <https://doi.org/10.1002/celec.201900456>.
-

- 
- (94) Murray, A. T.; Voskian, S.; Schreier, M.; Hatton, T. A.; Surendranath, Y. Electrosynthesis of Hydrogen Peroxide by Phase-Transfer Catalysis. *Joule* **2019**, *3* (12), 2942–2954. <https://doi.org/10.1016/j.joule.2019.09.019>.
- (95) Yamada, H.; Yoshii, K.; Asahi, M.; Chiku, M.; Kitazumi, Y. Cyclic Voltammetry Part 1: Fundamentals. *Electrochemistry* **2022**, *90* (10), 22–66082. <https://doi.org/10.5796/electrochemistry.22-66082>.
- (96) Rafiee, M.; Mayer, M. N.; Punchihewa, B. T.; Mumau, M. R. Constant Potential and Constant Current Electrolysis: An Introduction and Comparison of Different Techniques for Organic Electrosynthesis. *J Org Chem* **2021**, *86* (22), 15866–15874. <https://doi.org/10.1021/acs.joc.1c01391>.
- (97) Elgrishi, N.; Rountree, K. J.; McCarthy, B. D.; Rountree, E. S.; Eisenhart, T. T.; Dempsey, J. L. A Practical Beginner's Guide to Cyclic Voltammetry. *J Chem Educ* **2018**, *95* (2). <https://doi.org/10.1021/acs.jchemed.7b00361>.
- (98) Savéant, J.; Costentin, C. *Elements of Molecular and Biomolecular Electrochemistry*; Wiley, **2019**. <https://doi.org/10.1002/9781119292364>.
- (99) Hu, P.; Peters, B. K.; Malapit, C. A.; Vantourout, J. C.; Wang, P.; Li, J.; Mele, L.; Echeverria, P.-G.; Minter, S. D.; Baran, P. S. Electroreductive Olefin–Ketone Coupling. *J Am Chem Soc* **2020**, *142* (50), 20979–20986. <https://doi.org/10.1021/jacs.0c11214>.
- (100) Stephen, H. R.; Schotten, C.; Nicholls, T. P.; Woodward, M.; Bourne, R. A.; Kapur, N.; Willans, C. E. A Versatile Electrochemical Batch Reactor for Synthetic Organic and Inorganic Transformations and Analytical Electrochemistry. *Org Process Res Dev* **2020**, *24* (6), 1084–1089. <https://doi.org/10.1021/acs.oprd.0c00091>.
-

- 
- (101) Heard, D. M.; Lennox, A. J. J. Electrode Materials in Modern Organic Electrochemistry. *Angewandte Chemie International Edition* **2020**, *59* (43), 18866–18884. <https://doi.org/10.1002/anie.202005745>.
- (102) Pletcher, D.; Green, R. A.; Brown, R. C. D. Flow Electrolysis Cells for the Synthetic Organic Chemistry Laboratory. *Chem Rev* **2018**, *118* (9), 4573–4591. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.7b00360>.
- (103) Forschner, L.; Artmann, E.; Jacob, T.; Engstfeld, A. K. Electric Potential Distribution Inside the Electrolyte during High Voltage Electrolysis. *The Journal of Physical Chemistry C* **2023**, *127* (9), 4387–4394. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.2c07873>.
- (104) Siu, J. C.; Parry, J. B.; Lin, S. Aminoxyl-Catalyzed Electrochemical Diazidation of Alkenes Mediated by a Metastable Charge-Transfer Complex. *J Am Chem Soc* **2019**, *141* (7), 2825–2831. <https://doi.org/10.1021/jacs.8b13192>.
- (105) Frankowski, K. J.; Liu, R.; Milligan, G. L.; Moeller, K. D.; Aubé, J. Practical Electrochemical Anodic Oxidation of Polycyclic Lactams for Late Stage Functionalization. *Angewandte Chemie International Edition* **2015**, *54* (36), 10555–10558. <https://doi.org/10.1002/anie.201504775>.
- (106) Nguyen, B. H.; Perkins, R. J.; Smith, J. A.; Moeller, K. D. Photovoltaic-Driven Organic Electrosynthesis and Efforts toward More Sustainable Oxidation Reactions. *Beilstein Journal of Organic Chemistry* **2015**, *11*, 280–287. <https://doi.org/10.3762/bjoc.11.32>.
- (107) Yoshida, J.; Shimizu, A.; Hayashi, R. Electrogenated Cationic Reactive Intermediates: The Pool Method and Further Advances. *Chem Rev* **2018**, *118* (9), 4702–4730. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.7b00475>.
- (108) Winter, J.; Prenzel, T.; Wirtanen, T.; Schollmeyer, D.; Waldvogel, S. R. Direct Electrochemical Synthesis of 2,3-Disubstituted Quinoline *N*-Oxides by Cathodic Reduction
-

- (109) Peters, B. K.; Rodriguez, K. X.; Reisberg, S. H.; Beil, S. B.; Hickey, D. P.; Kawamata, Y.; Collins, M.; Starr, J.; Chen, L.; Udyavara, S.; Klunder, K.; Gorey, T. J.; Anderson, S. L.; Neurock, M.; Minter, S. D.; Baran, P. S. Scalable and Safe Synthetic Organic Electroreduction Inspired by Li-Ion Battery Chemistry. *Science (1979)* **2019**, *363* (6429), 838–845. <https://doi.org/10.1126/science.aav5606>.
- (110) Zhang, Q. W.; Lin, L. G.; Ye, W. C. Techniques for Extraction and Isolation of Natural Products: A Comprehensive Review. *Chinese Medicine (United Kingdom)*. 2018. <https://doi.org/10.1186/s13020-018-0177-x>.
- (111) Li, P.; Li, S. P.; Lao, S. C.; Fu, C. M.; Kan, K. K. W.; Wang, Y. T. Optimization of Pressurized Liquid Extraction for Z-Ligustilide, Z-Butylidenephthalide and Ferulic Acid in Angelica Sinensis. *J Pharm Biomed Anal* **2006**, *40* (5), 1073–1079. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2005.08.035>.
- (112) Yi, T.; Zhang, H.; Xie, J.; Xue, D. A New Procedure for the Preparative Separation and Isolation of Z-Ligustilide from the Roots of Angelica Sinensis. *J Sep Sci* **2007**, *30* (12). <https://doi.org/10.1002/jssc.200700001>.
- (113) Beck, J. J.; Chou, S.-C. The Structural Diversity of Phthalides from the Apiaceae. *J Nat Prod* **2007**, *70* (5), 891–900. <https://doi.org/10.1021/np0605586>.
- (114) Lin, L.-Z.; He, X.-G.; Lian, L.-Z.; King, W.; Elliott, J. Liquid Chromatographic–Electrospray Mass Spectrometric Study of the Phthalides of Angelica Sinensis and Chemical Changes of Z-Ligustilide. *J Chromatogr A* **1998**, *810* (1–2), 71–79. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(98\)00201-5](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(98)00201-5).

- 
- (115) Hage, D. S. Chromatography. In *Principles and Applications of Clinical Mass Spectrometry*; Elsevier, 2018; pp 1–32. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816063-3.00001-3>.
- (116) Giap, T. H.; Dung, N. A.; Thoa, H. T.; Dang, N. H.; Dat, N. T.; Hang, N. T. M.; Van Cuong, P.; Van Hung, N.; Van Minh, C.; Mishchenko, N. P.; Fedoreev, S. A.; Thanh, L. N. Phthalides and Other Metabolites from Roots of *Ligusticum Wallichii*. *Chem Nat Compd* **2018**, *54* (1), 34–37. <https://doi.org/10.1007/s10600-018-2253-y>.
- (117) Still, W. C.; Kahn, M.; Mitra, A. Rapid Chromatographic Technique for Preparative Separations with Moderate Resolution. *J Org Chem* **1978**, *43* (14), 2923–2925. <https://doi.org/10.1021/jo00408a041>.
- (118) Pavia, D. L.; Lampman, G. M.; Kriz, G. S.; Vyvyan, J. R. *Introduction to Spectroscopy*. **2015**.
- (119) Leedy, D. W.; Muck, D. L. Cathodic Reduction of Phthalimide Systems in Nonaqueous Solutions. *J Am Chem Soc* **1971**, *93* (17), 4264–4270. <https://doi.org/10.1021/ja00746a029>.
- (120) Beňo, A.; Hrnčiar, P.; Lácová, M. On Phthalides and Indandiones. XLVIII. A Study of the Polarographic Reduction and of the Transmission of Electronic Effects in Substituted 3-Arylmethylenephthalides. *Collect Czechoslov Chem Commun* **1972**, *37* (10), 3295–3301. <https://doi.org/10.1135/cccc19723295>.
- (121) Vincent, M. L.; Peters, D. G. Electrolytic Cleavage of Acyclic and Cyclic Aromatic Esters. *Journal of Electroanalytical Chemistry* **1992**, *327* (1–2), 121–135. [https://doi.org/10.1016/0022-0728\(92\)80141-P](https://doi.org/10.1016/0022-0728(92)80141-P).
- (122) Pasciak, E. M.; Hochstetler, S. E.; Mubarak, M. S.; Evans, D. H.; Peters, D. G. Electrochemical Reduction of Phthalide at Carbon Cathodes in Dimethylformamide: Effects of Supporting Electrolyte and Gas Chromatographic Injector-Port Chemistry on the Product
-

- 
- Distribution. *Electrochim Acta* **2013**, *113*, 557–563.  
<https://doi.org/10.1016/j.electacta.2013.09.124>.
- (123) Espinoza, E. M.; Clark, J. A.; Soliman, J.; Derr, J. B.; Morales, M.; Vullev, V. I. Practical Aspects of Cyclic Voltammetry: How to Estimate Reduction Potentials When Irreversibility Prevails. *J Electrochem Soc* **2019**, *166* (5), H3175–H3187.  
<https://doi.org/10.1149/2.0241905jes>.
- (124) Amatore, C.; Capobianco, G.; Farnia, G.; Sandona, G.; Saveant, J. M.; Severin, M. G.; Vianello, E. Kinetics and Mechanism of Self-Protonation Reactions in Organic Electrochemical Processes. *J Am Chem Soc* **1985**, *107* (7), 1815–1824.  
<https://doi.org/10.1021/ja00293a003>.
- (125) Li, S.; Fang, X.; Wang, Z.; Yang, Y.; Li, Y. Total Synthesis of 6,7—Dihydrologustilide. *Synth Commun* **1993**, *23* (14), 2051–2054. <https://doi.org/10.1080/00397919308009865>.
- (126) Gau, M. R.; Zdilla, M. J. A Protocol for Safe Lithiation Reactions Using Organolithium Reagents. *Journal of Visualized Experiments* **2016**, *2016* (117).  
<https://doi.org/10.3791/54705>.
- (127) Huda, A. S.; Hasan, A. E. Z.; Safithri, M. Acetylcholinesterase Enzyme Inhibitor and Antioxidant Activities from A Mixture Extracts of Black Tea, Red Betel, Cinnamon and Curcuma. *Current Biochemistry* **2023**, *9* (2), 63–72. <https://doi.org/10.29244/cb.9.2.2>.
- (128) Hossain, U.; Das, A. K.; Ghosh, S.; Sil, P. C. An Overview on the Role of Bioactive  $\alpha$ -Glucosidase Inhibitors in Ameliorating Diabetic Complications. *Food and Chemical Toxicology* **2020**, *145*, 111738. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2020.111738>.
- (129) Colegate, S. M.; Molyneux, R. J. *Bioactive Natural Products: Detection, Isolation, and Structural Determination, Second Edition*; 2007.
-

- 
- (130) Ellman, G. L.; Courtney, K. D.; Andres, V.; Featherstone, R. M. A New and Rapid Colorimetric Determination of Acetylcholinesterase Activity. *Biochem Pharmacol* **1961**, *7* (2), 88–95. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(61\)90145-9](https://doi.org/10.1016/0006-2952(61)90145-9).
- (131) Lankatillake, C.; Luo, S.; Flavel, M.; Lenon, G. B.; Gill, H.; Huynh, T.; Dias, D. A. Screening Natural Product Extracts for Potential Enzyme Inhibitors: Protocols, and the Standardisation of the Usage of Blanks in  $\alpha$ -Amylase,  $\alpha$ -Glucosidase and Lipase Assays. *Plant Methods* **2021**, *17* (1), 3. <https://doi.org/10.1186/s13007-020-00702-5>.
- (132) Anand, P.; Singh, B.; Singh, N. A Review on Coumarins as Acetylcholinesterase Inhibitors for Alzheimer's Disease. *Bioorg Med Chem* **2012**, *20* (3), 1175–1180. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2011.12.042>.
- (133) Zahra, S.; Zaib, S.; Khan, I. Identification of Isobenzofuranone Derivatives as Promising Antidiabetic Agents: Synthesis, in Vitro and in Vivo Inhibition of  $\alpha$ -Glucosidase and  $\alpha$ -Amylase, Computational Docking Analysis and Molecular Dynamics Simulations. *Int J Biol Macromol* **2024**, *259*, 129241. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.129241>.
- (134) Horn, E. J.; Rosen, B. R.; Chen, Y.; Tang, J.; Chen, K.; Eastgate, M. D.; Baran, P. S. Scalable and Sustainable Electrochemical Allylic C–H Oxidation. *Nature* **2016**, *533* (7601), 77–81. <https://doi.org/10.1038/nature17431>.
-