



00584
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

APROXIMACIONES SINTÉTICAS Y CORRELACIONES
QUÍMICAS DE CICLOADUCTOS NATURALES
DIMÉRICOS DERIVADOS DEL Z-LIGUSTILIDO

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:
DOCTOR EN CIENCIAS QUÍMICAS
(QUÍMICA ORGÁNICA)
P R E S E N T A
M. en C. MA. YOLANDA RÍOS GÓMEZ

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

México, D. F.

1996

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



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 está 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.

**ESTA TESIS FUE DESARROLLADA EN EL INSTITUTO DE QUIMICA
DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
CON APOYO FINANCIERO PARCIAL DE
CONACyT (Beca doctoral y Proyecto 4794-N9406) Y
PADEP-UNAM (Proyectos 005351, 005369 y 005372)**

SUSTENTANTE: M. en C. MA. YOLANDA RIOS GOMEZ

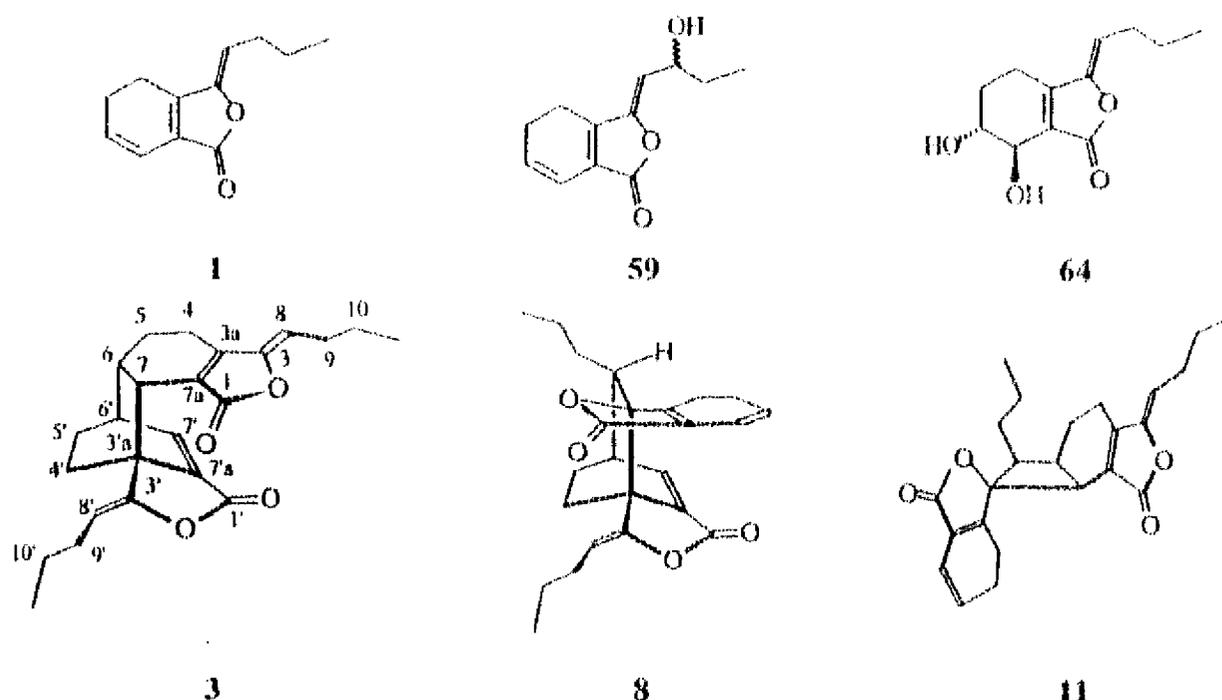
ASESOR: DR. E. GUILLERMO DELGADO LAMAS

CONTENIDO	Página
RESUMEN	1
OBJETIVOS	5
INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES	6
DISCUSIÓN DE RESULTADOS	
1) Reactividad Química de Z-ligustilido (1)	14
2) Reactividad Química de Diligustilido (3)	
2.A Correlación Química Diligustilido (3) → <i>rel</i> -(3' <i>R</i>)-3',8'-Dihidro diligustilido (4)	28
2.B Condensaciones Aldólicas Intramoleculares de Diligustilido (3)	41
2.B.1 Asignación en RMN ¹ H Y RMN ¹³ C de 48	51
2.C Correlación Química Diligustilido (3) → Wallichilido (5)	59
SECCION EXPERIMENTAL	
PARTE 1.	
Aislamiento de los Constituyentes Químicos de <i>Ligusticum porteri</i> (<i>Umbelliferae</i>)	71
PARTE 2.	
Aproximaciones Sintéticas y Correlaciones Químicas de Cicloaductos Diméricos	
Derivados del Z-ligustilido (1)	81
2.A. Reactividad Química de Z-ligustilido (1).	81
2.B. Reactividad Química de Toquinólido B (8)	89
2.C. Reactividad Química de Diligustilido (3)	91
2.C.1. Obtención de <i>rel</i> -(3' <i>R</i>)- (45) y <i>rel</i> -(3' <i>S</i>)-3',8'-dihidro diligustilido (4)	91
2.C.2. Ciclizaciones de Diligustilido (3) en Medio Alcalino	101
2.C.3. Obtención y Reactividad Química de Wallichilido (5)	105
2.C.4. Reacciones Adicionales	109
CONCLUSIONES	110
ESPECTROS	
Espectro 1. RMN ¹ H (CDCl ₃ , 200 MHz) de Z-ligustilido (1)	113
Espectro 2. RMN ¹ H (CDCl ₃ , 500 MHz) del Dímero 30	114
Espectro 3. RMN ¹³ C (CDCl ₃ , 75 MHz) del Dímero 30	115
Espectro 4. RMN ¹ H (CDCl ₃ , 200 MHz) del Dímero 31	116
Espectro 5. RMN ¹ H (CDCl ₃ , 200 MHz) del Dímero 32	117
Espectro 6. RMN ¹ H (CDCl ₃ , 300 MHz) del Dímero 33	118
Espectro 7. RMN ¹³ C (CDCl ₃ , 75 MHz) del Dímero 33	119
Espectro 8. RMN ¹ H (CDCl ₃ , 200 MHz) de Diligustilido (3)	120

Espectro 9. RMN ¹³ C (CDCl ₃ , 50 MHz) de Diligustilido (3)	121
Espectro 10. RMN ¹ H (CDCl ₃ , 300 MHz) de <i>rel</i> -(7'aR)-7',7'a-Dihidrodiligustilido (37)	122
Espectro 11. RMN ¹ H (CDCl ₃ , 200 MHz) de Toquinólido B (8)	123
Espectro 12. RMN ¹³ C (CDCl ₃ , 200 MHz) de Toquinólido B (8)	124
Espectro 13. RMN ¹ H (CDCl ₃ , 50 MHz) de 39	125
Espectro 14. RMN ¹³ C (CDCl ₃ , 50 MHz) de 39	126
Espectro 15. RMN ¹ H (CDCl ₃ , 200 MHz) de 40	127
Espectro 16. RMN ¹³ C (CDCl ₃ , 50 MHz) de 40	128
Espectro 17. RMN ¹ H (CDCl ₃ , 300 MHz) de Desmetilwallichilido (41)	129
Espectro 18. RMN ¹³ C (CDCl ₃ , 75 MHz) de Desmetilwallichilido (41)	130
Espectro 19. RMN ¹ H (CD ₃ OD, 300 MHz) del diácido 42	131
Espectro 20. RMN ¹³ C (CD ₃ OD, 75 MHz) del diácido 42	132
Espectro 21. RMN ¹ H (CDCl ₃ , 200 MHz) del hidroxiaácido 43	133
Espectro 22. RMN ¹³ C (CDCl ₃ , 75 MHz) del hidroxiaácido 43	134
Espectro 23. RMN ¹ H (CDCl ₃ , 500 MHz) de <i>rel</i> -(3'S)-3',8'-Dihidrodiligustilido (45)	135
Espectro 24. RMN ¹³ C (CDCl ₃ , 125 MHz) de <i>rel</i> -(3'S)-3',8'-Dihidrodiligustilido (45)	136
Espectro 25. IR (CHCl ₃) de <i>rel</i> -(3'R)-3',8'-Dihidrodiligustilido (4)	137
Espectro 26. RMN ¹ H (CDCl ₃ , 300 MHz) de <i>rel</i> -(3'R)-3',8'-Dihidrodiligustilido (4)	138
Espectro 27. RMN ¹³ C (CDCl ₃ , 75 MHz) de <i>rel</i> -(3'R)-3',8'-Dihidrodiligustilido (4)	139
Espectro 28. IR (CHCl ₃) de 46	140
Espectro 29. RMN ¹ H (CDCl ₃ , 500 MHz) de 46	141
Espectro 30. RMN ¹ H (CDCl ₃ , 300 MHz) de 47	142
Espectro 31. RMN ¹ H (CDCl ₃ , 300 MHz) del diéster 48	143
Espectro 32. RMN ¹³ C (CDCl ₃ , 75 MHz) del diéster 48	144
Espectro 33. RMN ¹ H (CDCl ₃ , 300 MHz) de 49	145
Espectro 34. RMN ¹³ C (CDCl ₃ , 75 MHz) de 49	146
Espectro 35. RMN ¹ H (CDCl ₃ , 200 MHz) de 49 + 50	147
Espectro 36. RMN ¹ H (CDCl ₃ , 300 MHz) de 51	148
Espectro 37. RMN ¹³ C (CDCl ₃ , 75 MHz) de 51	149
Espectro 38. RMN ¹ H (CDCl ₃ , 300 MHz) de Wallichilido (5)	150
Espectro 39. RMN ¹³ C (CDCl ₃ , 75 MHz) de Wallichilido (5)	151
Espectro 40. RMN ¹ H (CDCl ₃ , 200 MHz) de 53	152
Espectro 41. RMN ¹ H (CDCl ₃ , 300 MHz) de la mezcla 54 + 55	153
Espectro 42. RMN ¹ H (CDCl ₃ , 300 MHz) de <i>rel</i> -(7'aR)-7',7'a-Dihidrowallichilido (58)	154
BIBLIOGRAFIA	155

RESUMEN

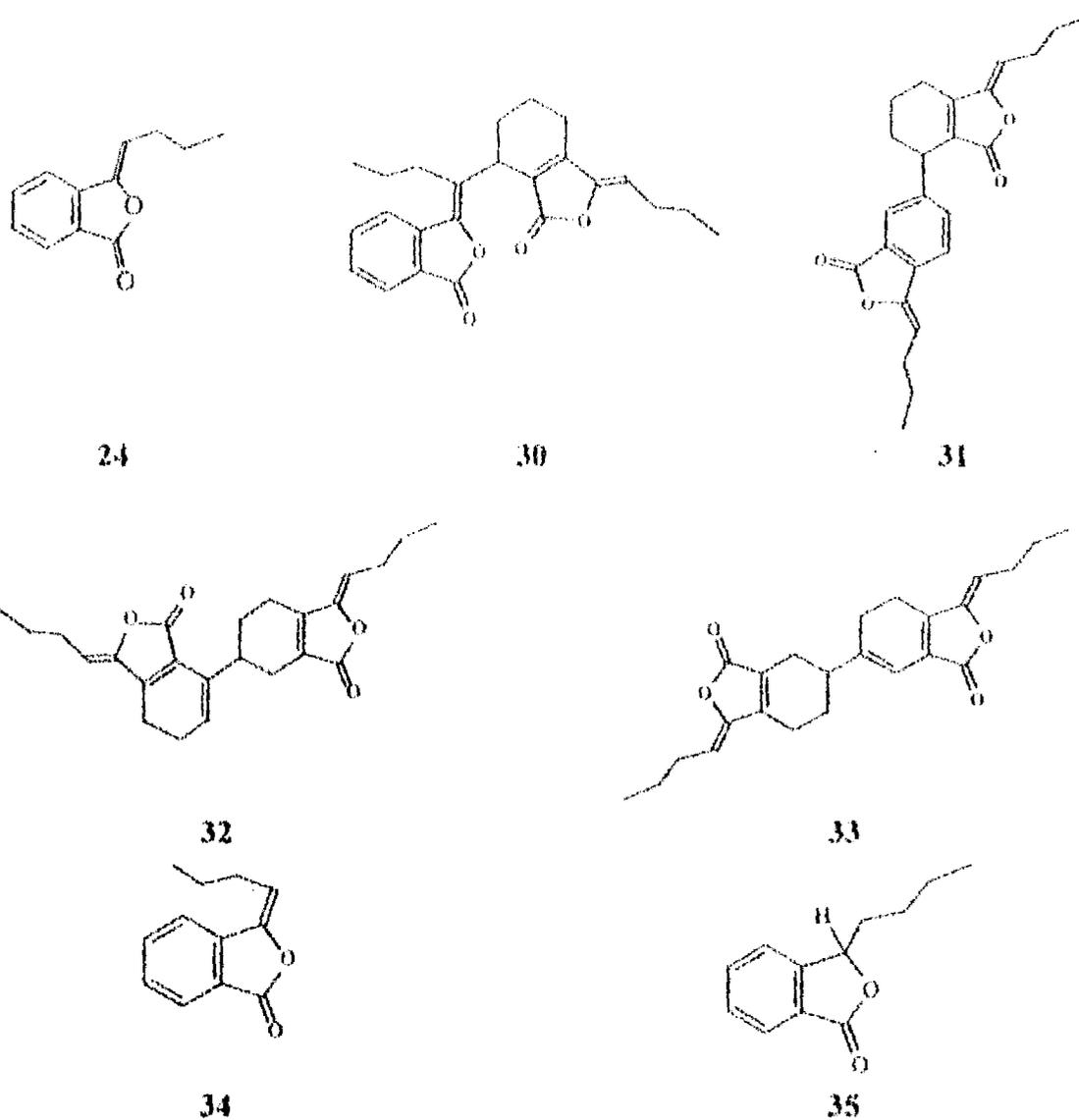
Ligusticum porteri (Umbelliferae) y *Myroxylon balsamum* (Leguminosae) son las especies vegetales que constituyen el complejo "chuchupate". Este complejo es ampliamente utilizado por los Tarahumaras en el tratamiento de enfermedades como reumatismo, vitiligo, cólicos, infecciones y disturbios gastrointestinales y ginecológicos.¹⁻⁵ El estudio químico de *L. porteri* ha permitido determinar que los constituyentes químicos mayoritarios presentes en la misma son los ftálidos monoméricos Z-ligustilido (1), senkyunólido F (59) y senkyunólido I (64), y los ftálidos diméricos diligustilido (3), toquinólido B (8) y ritigustilido (11).^{15,18}



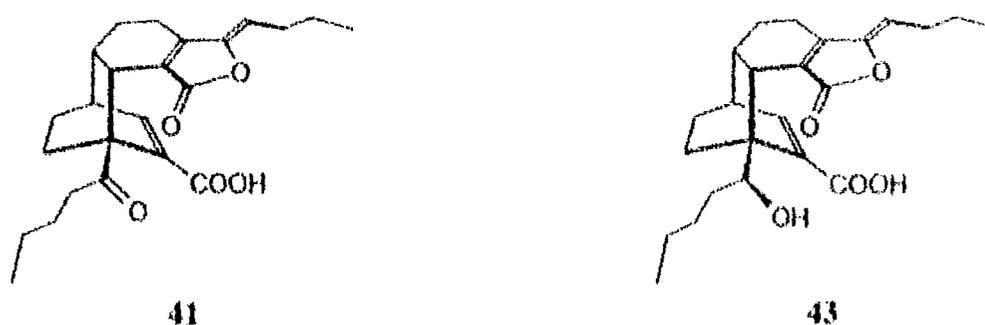
Recientemente, el estudio de estos compuestos ha adquirido un gran interés ya que se han evaluado una gran cantidad de propiedades farmacológicas que los hacen candidatos idóneos para su uso en medicina de patente. Así, se ha informado su actividad como relajantes musculares,⁵¹ tranquilizantes,⁵²⁻⁵⁴ antiinflamatorios,⁵⁵⁻⁵⁸ inhibidores de crecimiento celular,⁵⁹⁻⁶⁰ en el tratamiento de arteriosclerosis,⁶¹ de la hipertensión,⁶² de problemas cardiovasculares,⁶³ de isquemia y desórdenes circulatorios,⁶⁴ de la enfermedad de Alzheimer,⁶⁵ en profilaxis dental,⁶⁶ como promotores del crecimiento de cabello,⁶⁷ como agentes que favorecen la absorción en piel⁶⁸ y como antioxidantes.⁶⁹ Sin embargo, a pesar de su importancia, se conoce muy poco acerca de la reactividad química y la síntesis de estos compuestos.

El objetivo principal de este trabajo es la generación de conocimiento referente a la reactividad química y la actividad biológica de los ftálidos mediante la realización de ciertas correlaciones químicas y la formación de derivados, así como la obtención de la información sobre la bioevaluación de las sustancias obtenidas.

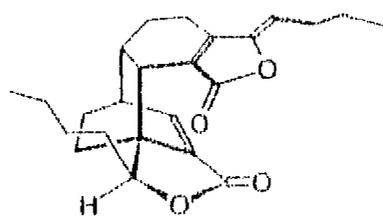
Bajo catálisis con ácidos de Lewis, el Z-ligustilido (1) presenta las siguientes reacciones: deshidrogenación para generar 24, deshidrogenación-isomerización produciendo 34, deshidrogenación-hidrogenación generando 35, y dimerización, obteniéndose los compuestos 30-33. 30 y 33 son los constituyentes mayoritarios de las mezclas de dimerización.



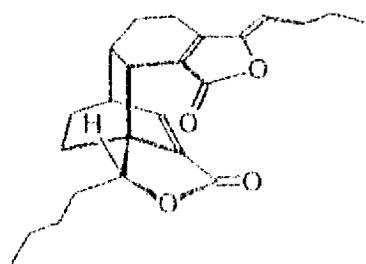
La hidrólisis alcalina de diligustilido (3) provoca la apertura regioselectiva de la lactona fusionada al bíciclo, lo que permite obtener desmetilwallichilido (41). La reducción de 41 con NaBH₄ en MeOH produce el hidroxiaácido 43.



La lactonización de 43 utilizando SOCl₂ permite generar el correspondiente 3',8'-dihidroderivado. Es notable la importancia del disolvente en esta reacción. Cuando ésta se efectúa en CH₂Cl₂ o C₆H₆, se obtiene *rel*-(3'S)-3',8'-dihydrodiligustilido (45), en tanto que cuando se lleva a cabo en THF se obtiene *rel*-(3'R)-3',8'-dihydrodiligustilido (4). Esto indica dos mecanismos de lactonización diferentes, dependientes del disolvente utilizado.

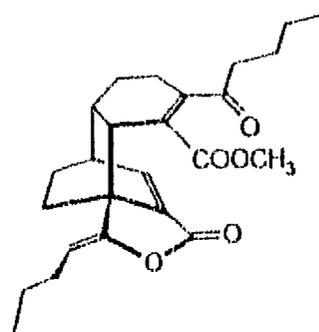


45

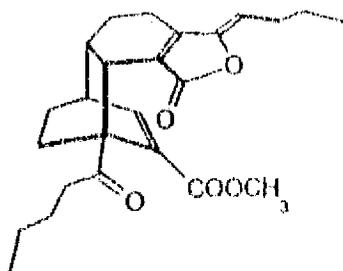


4

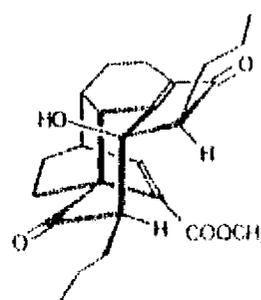
La *regio*-selectividad en la reacción de metanólisis alcalina en MeOH de **3** es dependiente de la temperatura. A 65°C se efectúa la apertura *regio*-selectiva de la lactona $\alpha,\beta,\gamma,\delta$ -insaturada presente en el compuesto, generando **53** como producto mayoritario, en tanto que a 0°C reacciona preferentemente la lactona fusionada al bicyclo, obteniéndose **5** en mayor proporción. Esta reacción también muestra una marcada dependencia del disolvente. Cuando se efectúa en THF o *i*-PrOH, reacciones de condensación tipo aldólica generan el producto de C-alquilación **49**, en tanto que cuando se efectúa en la mezcla de disolventes H₂O-Me₂CO, además de **49**, se generan sus correspondientes productos de O-alquilación y epimerización **50** y **51**, respectivamente.



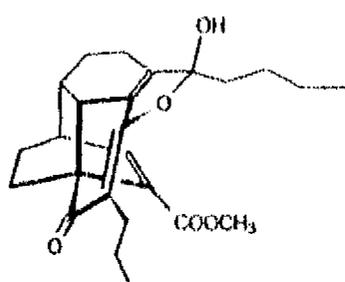
53



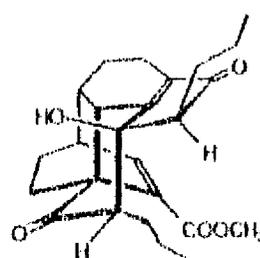
5



49



50



51

Los productos naturales y algunos derivados obtenidos han sido evaluados preliminarmente como sedantes, relajantes de músculo liso y agentes citotóxicos. Los resultados obtenidos indican que **8**, **40**, **41** y **42** potencializan el efecto sedante del pentobarbital sodico en un 70.8, 101.0, 66.0 y 52.3 % respectivamente; mientras que **1**, **8** y **59** provocan una relajación en ileon de aislado de cobayo del 41.5%, 32.4% y 54.6 % respectivamente a una concentración de 0.05 mg/ml. El compuesto **8** es citotóxico para las líneas celulares de KB y HCT-15.

Ligusticum porteri (Umbelliferae) and *Myroxylon balsamum* (Leguminosae) are the species that comprise the "Chuchupate" complex which is used by the Tarahumara in the treatment of rheumatism, vitiligo, colics, skin infections and gastrointestinal and gynecologic ailments.¹⁻⁵ Previous chemical analysis of *L. porteri* have established that the monomeric phthalides Z-ligustilide (1), senkymolide F (59) and senkymolide I (60), and the dimeric phthalides diligustilide (3), tokynolide B (8) and riligustilide (11) are its major constituents.^{13,18}

Recently, the study of these compounds has acquired interest due to their biological activities, and they may be considered as candidates to be used in patent medicine. It has been reported they have bioactivity as muscle relaxants,⁵¹ central nervous system tranquilizers,⁵²⁻⁵⁴ therapeutic agents for treatment of inflammation,⁵⁵⁻⁵⁸ cell growth inhibitors,⁵⁹⁻⁶⁰ for the treatment of arteriosclerosis,⁶¹ antihypertensives and antispasmodics,⁶² for the treatment cardiovascular diseases,⁶³ ischemia and circulatory disorders,⁶⁴ for the treatment of Alzheimer's disease,⁶⁵ for prophylaxis of periodontal diseases,⁶⁶ in hair growth preparations,⁶⁷ as skin penetration enhancer⁶⁸ and as inhibitors for peroxidation of lipids.⁶⁹ However, in spite of their importance, little is known regarding their synthesis and chemical reactivity.

The aim of this study is to provide knowledge on the chemical reactivity of phthalides, carrying out several chemical correlations and obtaining some derivatives. In addition, some preliminary bioevaluations of phthalides have been performed.

Under Lewis acid catalysis, Z-ligustilide (1) gave the following reactions: dehydrogenation to afford 24, dehydrogenation-isomerization to give 34, dehydrogenation-hydrogenation to produce both 35 and dimerization, to afford the compounds 30-33, with 30 and 33 as the major dimeric constituents.

The alkaline hydrolysis of diligustilide (3) afforded the chemoselective lactone ring opening of the bicyclic system to give demethylwallichilide (41). Reduction of 41 with NaBH₄ in MeOH afforded 43. The lactonization of this last compound, using SOCl₂, led to obtain the 3',8'-dihydroderivative. However, the reaction product is solvent dependent. In CH₂Cl₂ or C₆H₆, *rel*-(3'S)-3',8'-dihydrodiligustilide (45) is obtained; while in THF *rel*-(3'R)-3',8'-dihydrodiligustilide (4) is produced. This results indicates that are two routes for lactonization, and that they are solvent dependent.

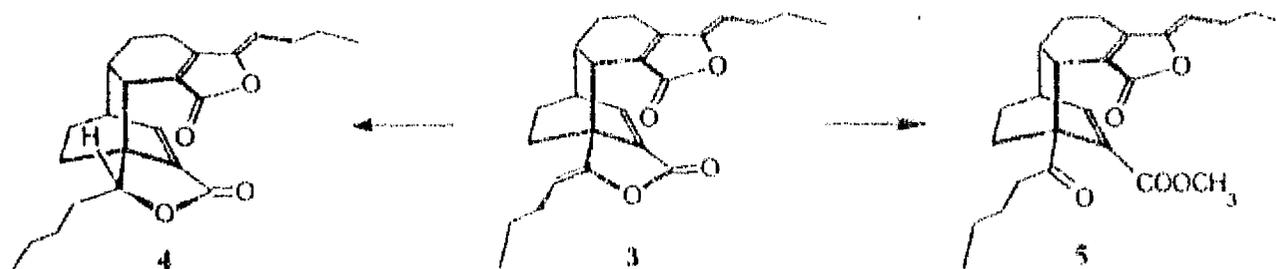
The regioselectivity in the methanolysis of 3 depends on the temperature just for the reaction. At 65°C a regioselective ring opening of the $\alpha,\beta,\gamma,\delta$ -insaturated lactone system was observed, to afford 45 as the major product; while at 0°C the α,β -insaturated lactone system reacted to form 5 as the major product. This reaction displayed a remarkable dependence on the solvent used. In THF or *i*-PrOH, aldolic condensations were observed to afford the C-alkylation product 49, while in H₂O-Me₂CO, in addition to 49, the O-alkylation and epimerization products 50 and 51 were obtained.

Some of these compounds were evaluated as sedatives, muscle relaxants and cytotoxic agents. 8 and 41 enhanced the sedative effect of pentobarbital in 71% and 66 %, respectively; 1, 8 and 59 relaxed the ileon in 41.5%, 32.4% and 54.6 %, respectively, at concentration of 0.05 mg/ml, and 8 was cytotoxic to KB and HCT-15 cell lines.

Explorar la reactividad química de algunos flávidos naturales, tanto monoméricos como diméricos, con el propósito de contribuir a un mejor conocimiento de los mismos.

1) Obtener los cicloaductos naturales diméricos $[4\pi s + 2\pi s]$ a partir del monómero *Z*-ligustilido (1).

2) Realizar la correlación química de los flávidos diméricos diligustilido (3) a 3'(*R*)-3',8'-dihydrodiligustilido (4) y diligustilido (3) a wallichilido (5) con el propósito de confirmar sus estructuras.



3) Realizar las bioevaluaciones pertinentes que permitan ponderar el potencial farmacológico de estos productos naturales y sus derivados.

INTRODUCCION Y ANTECEDENTES

Myroxylon balsamum (Leguminosae) y *Ligusticum porteri* (Umbelliferae) son las especies vegetales que constituyen el complejo "Chuchupate". Este complejo es ampliamente utilizado por los Tarahumaras en el tratamiento de enfermedades como reumatismo, vitiligo, cólicos, infecciones, disturbios gastrointestinales y ginecológicos.¹⁻⁵

Hasta ahora, sólo dos especies han sido incluidas en el género *Myroxylon*: *M. balsamum* y *M. peruifolium*. Ambas son endémicas del continente americano, localizándose desde México hasta Perú, y se caracterizan por estar constituidas químicamente por isoflavonoides.⁶⁻⁸

El género *Ligusticum* presenta mayor distribución que *Myroxylon*. Sus especies pueden ser localizadas en la zona norte de México, en Japón y en China, países donde son ampliamente utilizadas en la medicina tradicional. El aprecio que tienen estas plantas ha motivado un gran interés por su estudio, y los resultados de sus análisis químicos han permitido determinar que los principales constituyentes en las mismas son los ftálicos.⁹⁻¹³

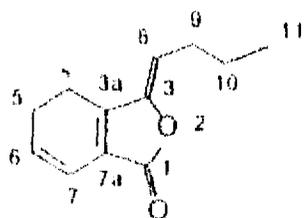
L. porteri es una planta originaria del estado de Chihuahua. Es la única especie de este género que se localiza en México y los estudios químicos efectuados a la misma indican que entre sus constituyentes se encuentran también algunos ftálicos.^{15,18}

Los ftálicos son un grupo de productos naturales derivados biosintéticamente del ácido acético.^{10,11} Se encuentran distribuidos principalmente en plantas pertenecientes a las tribus *Ammiae* y *Peucedaneae* de la familia *Umbelliferae*.⁹⁻⁵⁰ La mayoría de las especies incluidas en estas tribus se utilizan en la medicina tradicional en diversas partes del mundo. Entre los usos populares atribuidos a las mismas pueden mencionarse su empleo como antiespasmódicos, anticonvulsivantes, sedantes, analgésicos, en el tratamiento del reumatismo y de algunos disturbios ginecológicos.^{10-20,26-29,34,42,44,50} Se considera que la presencia de los ftálicos es la responsable de la actividad biológica de las preparaciones obtenidas de estas plantas.¹¹

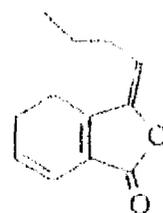
Recientemente, el estudio de estos compuestos ha adquirido un notable interés, y han sido evaluadas una amplia variedad de propiedades farmacológicas que los hacen candidatos idóneos para ser utilizados en medicina de patente. Así, se ha informado su actividad como relajantes musculares,⁵¹ tranquilizantes,⁵²⁻⁵⁴ antiinflamatorios,¹⁵⁻⁵⁸ inhibidores de crecimiento celular,⁵⁹⁻⁶⁰ en el tratamiento de arterioesclerosis,⁶¹ de la hipertensión,⁶² de problemas cardiovasculares,⁶³ de isquemia y desordenes circulatorios,⁶⁴ de la enfermedad de Alzheimer,⁶⁵ en profilaxis dental,⁶⁶ como promotores del crecimiento de cabello,⁶⁷ como agentes que favorecen la absorción de sustancias a través de la piel⁶⁸ y como antioxidantes.⁶⁹

Como productos naturales, los ftálicos se han aislado como monómeros y dímeros. A la fecha suman treinta y seis monómeros y diez dímeros caracterizados en la naturaleza.

Estos últimos pueden ser considerados, de acuerdo a sus características estructurales, como el resultado de reacciones biogénicas análogas a las cicloadiciones $[\pi 2s + \pi 2s]$ y $[\pi 4s + \pi 2s]$ de los monómeros *E*- y *Z*-ligustilido. Las estructuras de algunos monómeros y de los dímeros se ilustran en los esquemas 1 y 2, respectivamente.

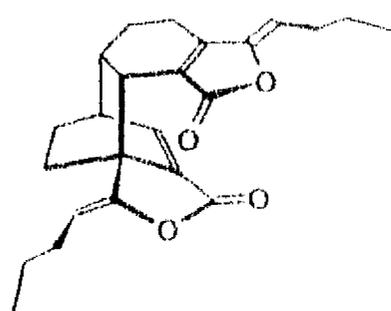


Z-ligustilido (1)¹⁰

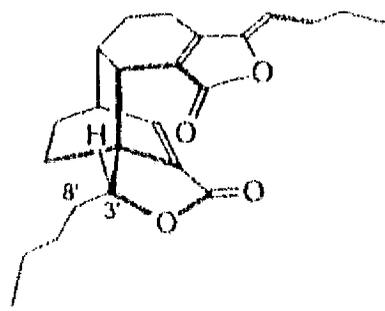


E-ligustilido (2)³⁶

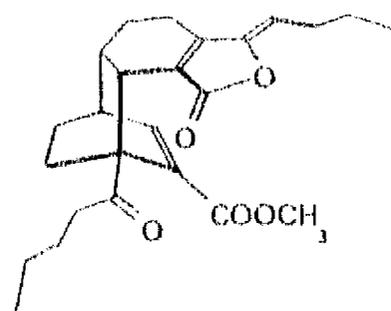
Esquema 1. Ftálidos monoméricos



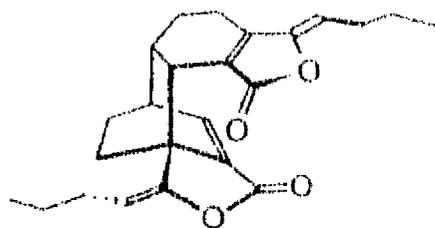
Diligustilido (3)³¹



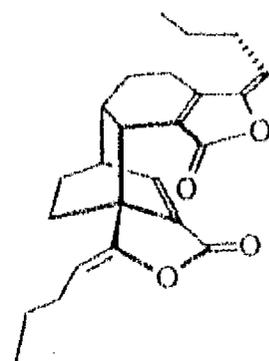
3',8'-Dihydrodiligustilido (4)¹⁴⁻¹⁵



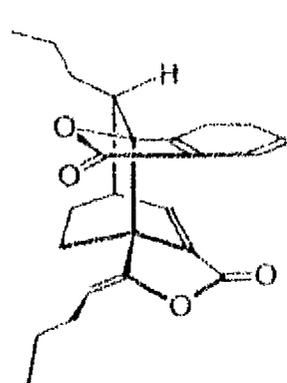
Wallichilido (5)¹¹



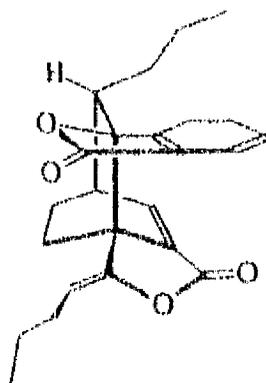
Levistólido B (6)³³



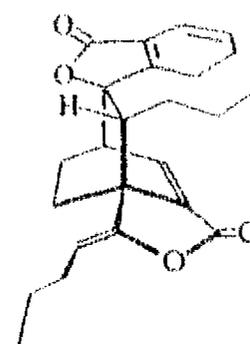
Senkyunólido O (7)¹⁷



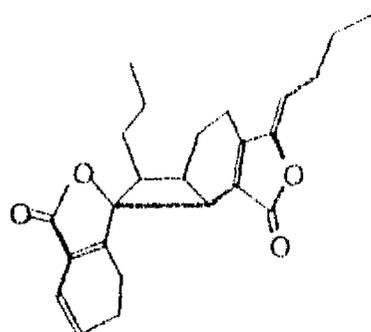
Toquinólido B (8)³⁸



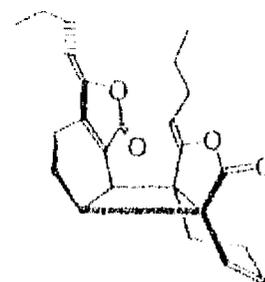
Angeólido (9)²⁹



E-232 (10)⁴⁴



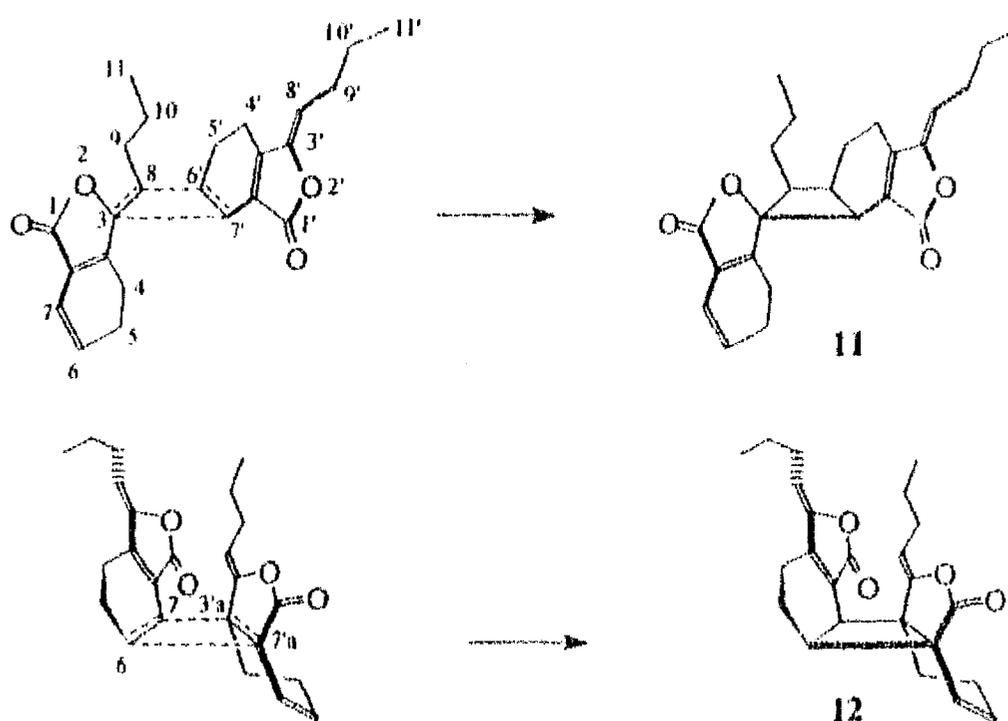
Riligustilido (11)⁸



Toquinólido A (12)³⁸

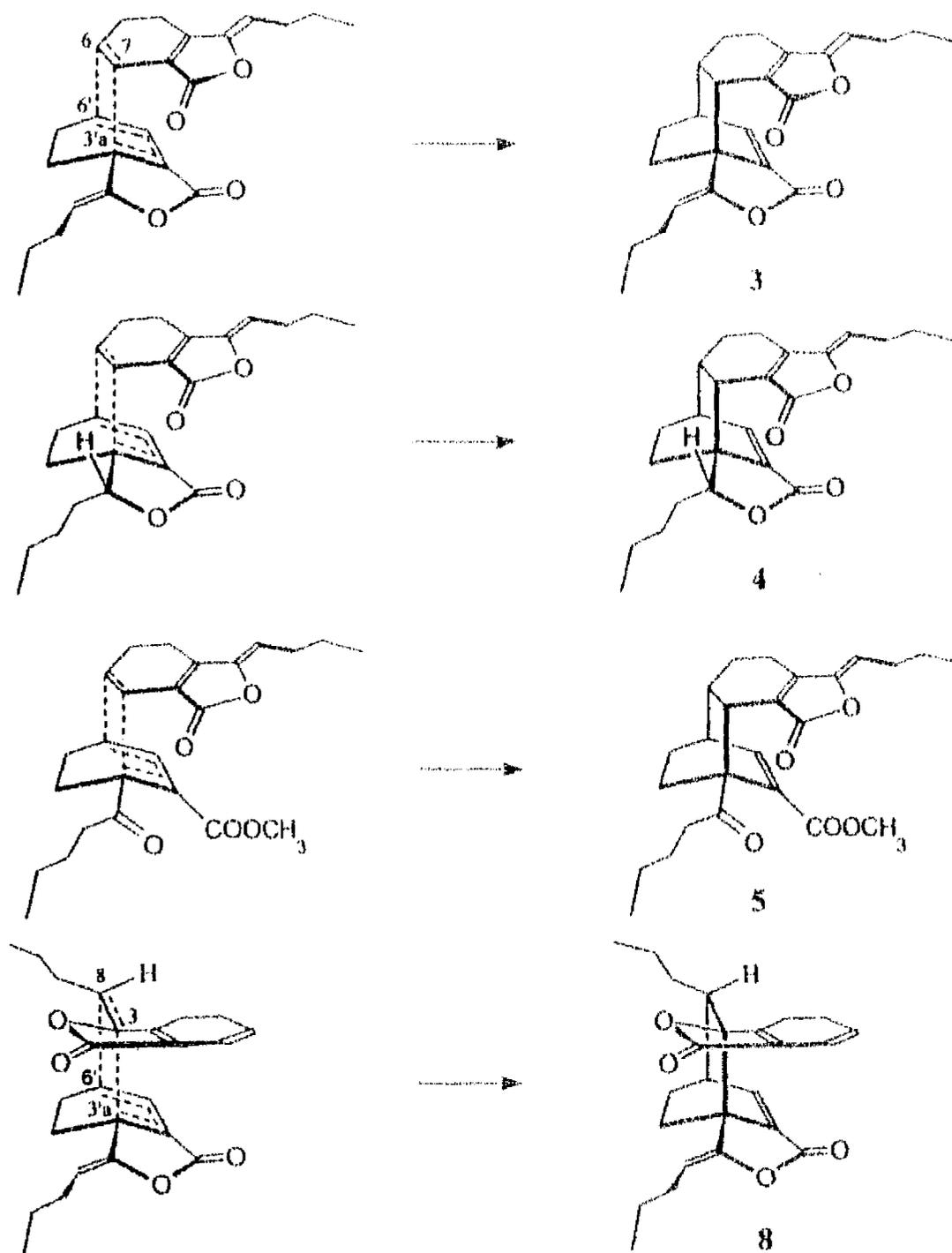
Esquema 2. Ftálidos diméricos naturales

Seis de estos dímeros derivan de **1**, dos de ellos como aductos [$\pi 2s + \pi 2s$], el riligustilido (**11**), que resulta de la unión entre los carbonos 3 con 7' y 8 con 6' y el toquinólido A (**12**), donde la unión de ambos monómeros es a través de los carbonos 6 con 7'a y 7 con 3'a (esquema 3).



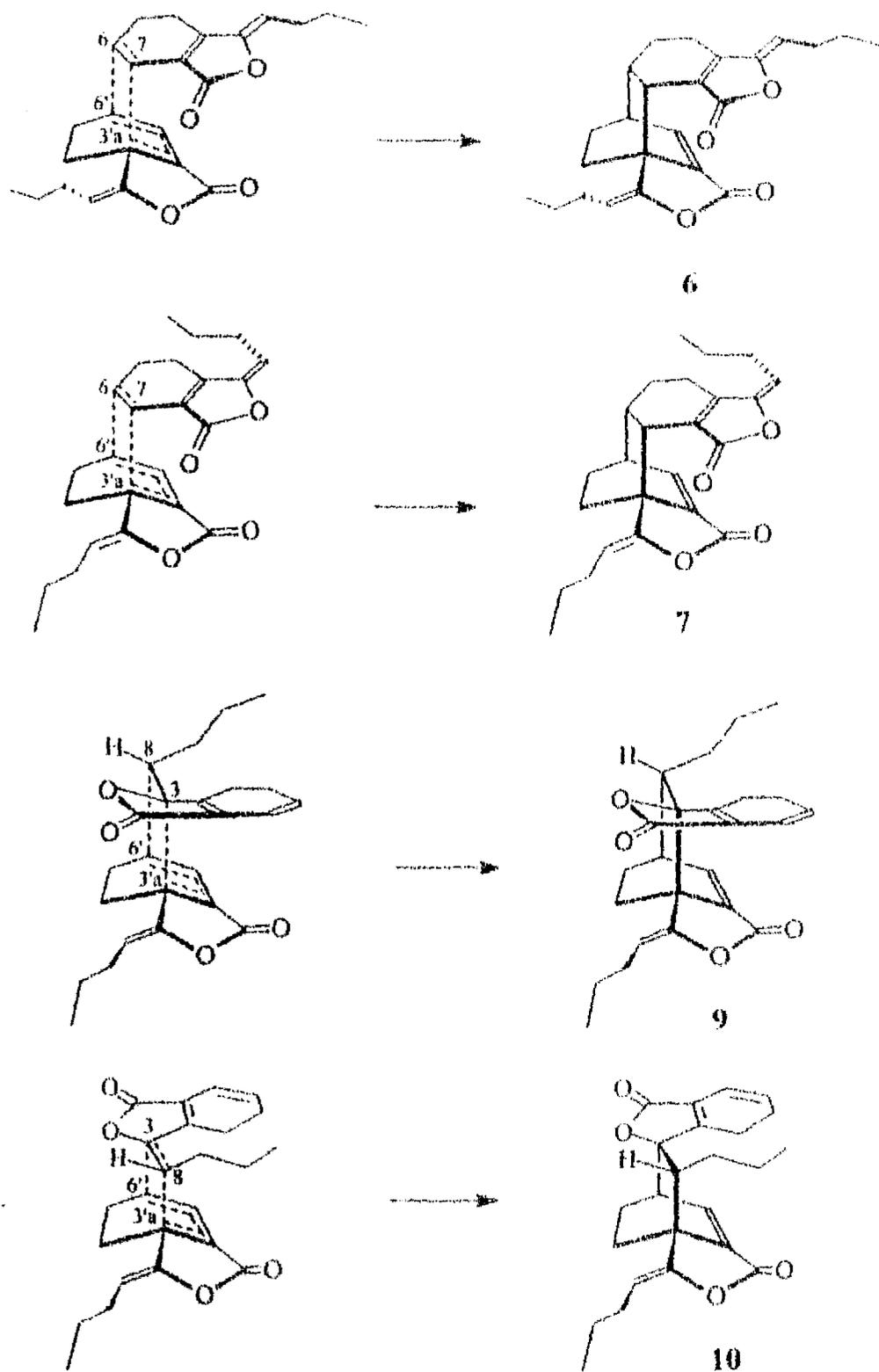
Esquema 3. Hipótesis de dimerización de 1 en el vegetal para producir 11 y 12

Los cuatro dímeros restantes del *Z*-ligustilido (1) son aductos $[\pi 4s + \pi 2s]$; el diligustilido (3) y el 3'.8'-dihydrodiligustilido (4) representan aductos *endo* de la unión entre los carbonos 6 con 6' y 7 con 3'a; el wallichilido (5) presenta los mismos sitios de unión que 3 y 4, y es considerado un análogo del diligustilido, en el que en lugar de la lactona fusionada al bicyclo, se encuentra el cetoéster metílico correspondiente; finalmente, el toquinólido B (8) corresponde al aducto *endo* que resulta de la unión entre los carbonos 3 con 3'a y 8 con 6' (esquema 4).



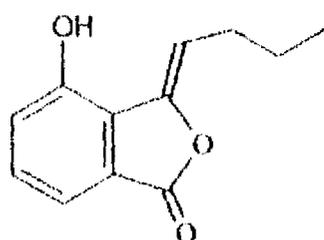
Esquema 4. Hipótesis de dimerización de 1 en la biosíntesis de 3, 4, 5 y 8.

El levistolído B (6) y el senkymólido O (7) resultan de la combinación $[\pi 4s + \pi 2s]$ *endo* entre los carbonos 6 con 6' y 7 con 3'a de una unidad Z- (1) y una unidad E- (2) del ligustilído, en tanto que el angeólido (9) se origina de esta misma combinación entre los carbonos 3 con 3'a y 8 con 6'. Finalmente, el dímero E-232 (10) resulta de la combinación $[\pi 4s + \pi 2s]$ *exo* entre los carbonos 3 con 6' y 8 con 3'a, respectivamente. (esquema 5).

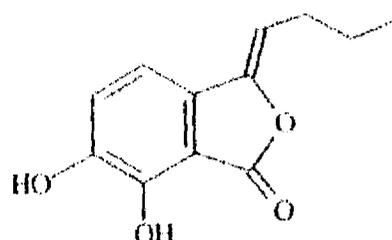


Esquema 5. Hipótesis de dimerización de 1 en la biosíntesis de 6, 7, 9 y 10

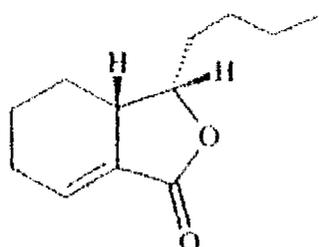
Ninguno de estos dímeros ha sido obtenido sintéticamente, sin embargo, se han publicado algunos artículos^{70,71} referentes a la síntesis de ftálicos monoméricos, principalmente de los derivados aromáticos, tales como el 3-butiliden-4-hidroxi-ftálico (13)⁷² y el Z-3-butiliden-6,7-dihidroxi-ftálico (14)⁷³ entre otros.⁷⁴ Recientemente, se han informado síntesis regioselectivas y asimétricas de ftálicos.⁷⁵ El (+)-*cis*-(15), el (+)-*trans*-neocnidilido (16),⁷⁶ y el 6,7-dihidroglustilido (17),⁷⁷ son los únicos ftálicos no aromáticos sintetizados hasta ahora.



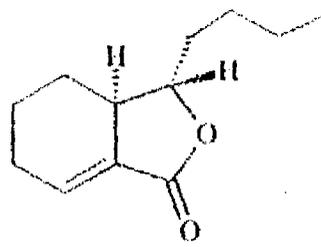
13



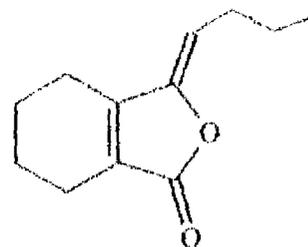
14



15



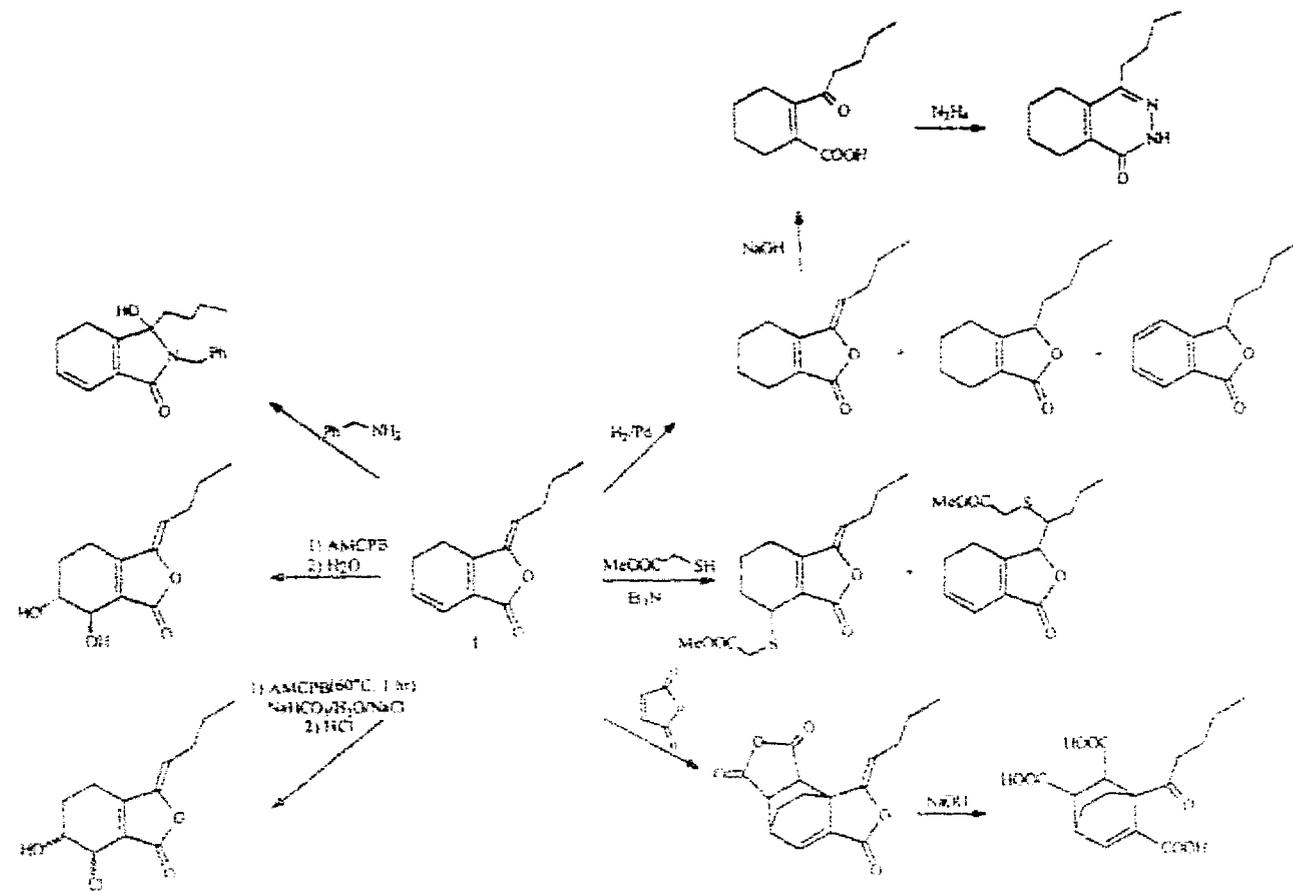
16



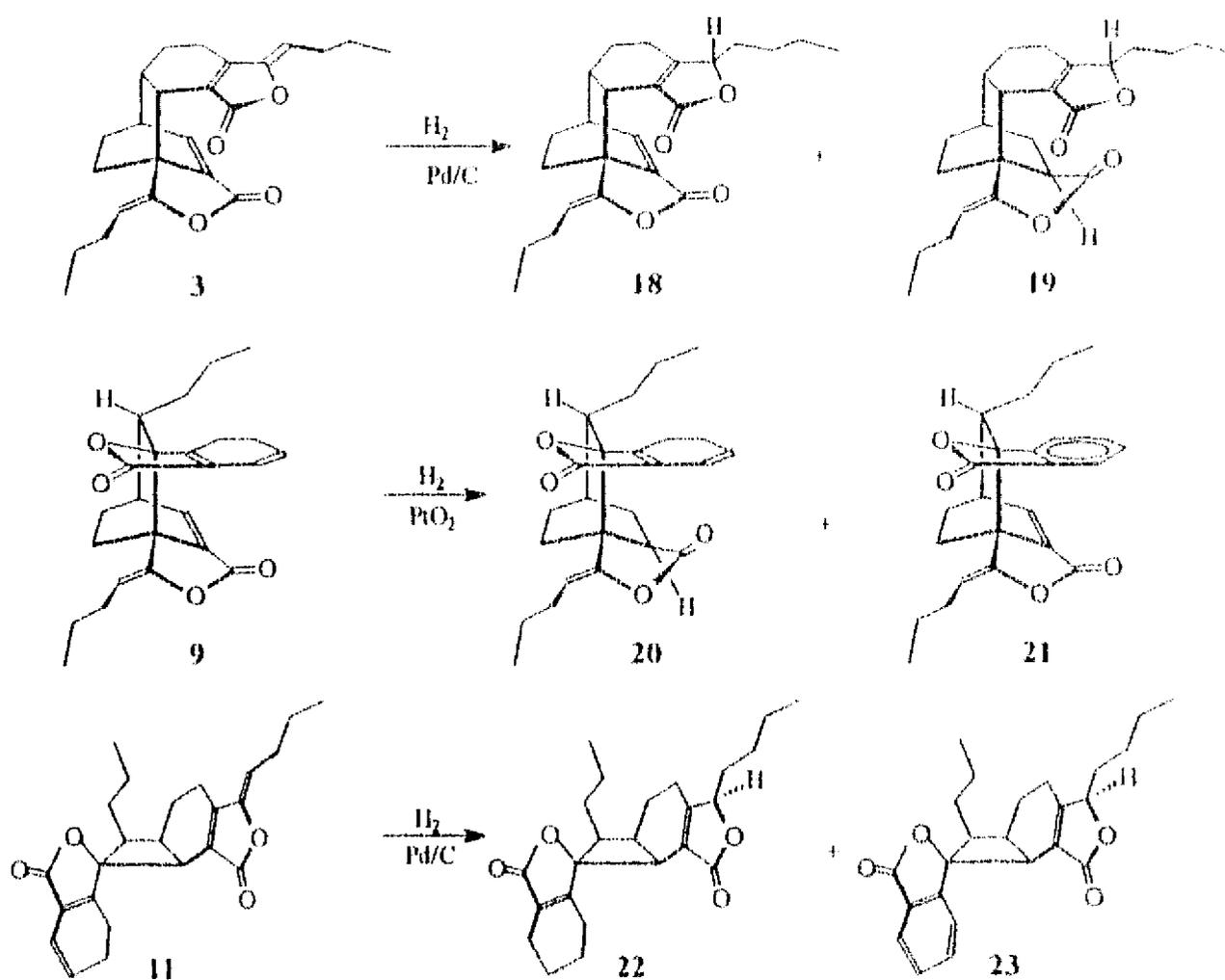
17

El comportamiento químico de los ftálicos, tanto monoméricos como diméricos, ha sido poco analizado. Para el Z-ligustilido (1), existen informes en la literatura acerca de las reacciones de hidrogenación catalítica,^{10,24} de cicloadición (Diels-Alder) con anhídrido maleico,²⁴ de epoxidación,⁷⁸⁻⁷⁹ de hidrólisis alcalina y tratamiento con hidrazina,^{24,25} de oxidación,^{24,25} así como de adición de metilglicolato y benzilamina⁸⁰ (esquema 6).

Se conocen además los productos de hidrogenación catalítica de los dímeros diligustilido (3),¹⁵ angeblido (9)²⁹ y riligustilido (11)¹⁵ 18-23 (esquema 7).

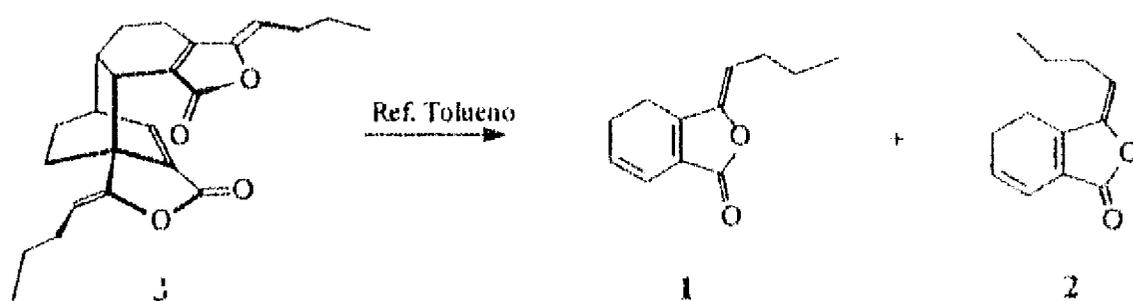


Esquema 6. Reactividad química informada para *Z*-ligustilido (1)



Esquema 7. Reactividad química informada para 3, 9 y 11

Por otra parte, se ha comprobado que el calentamiento del diligustilido (3) a reflujo en tolueno, genera una mezcla de los monómeros del ligustilido 1 y 2 mediante una reacción retro-Diels-Alder (esquema 8).³¹



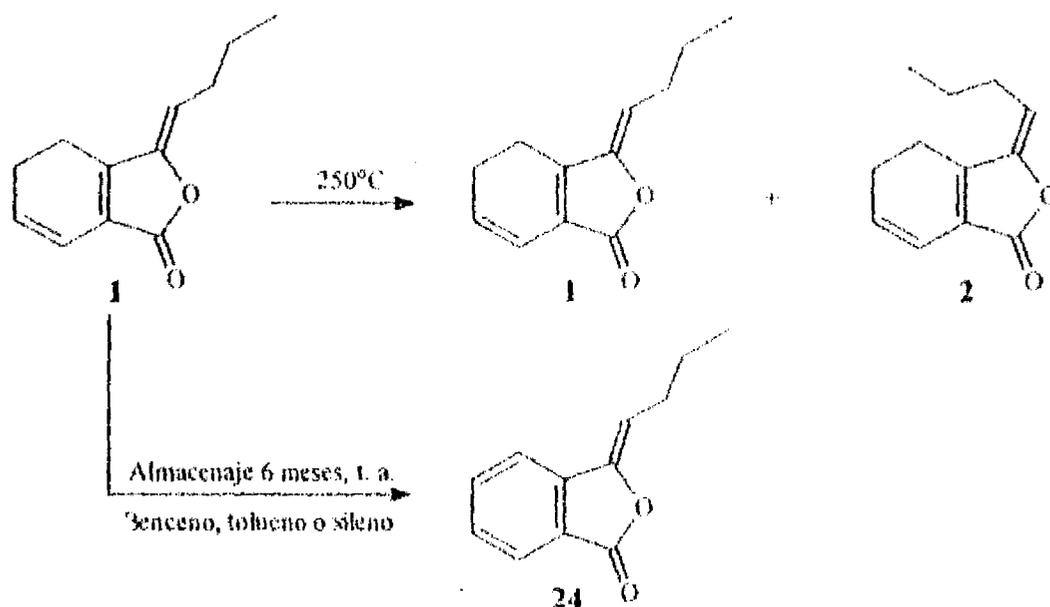
Esquema 8. Reacción retro-Diels-Alder de 3

Por su arquitectura molecular, los fláidos representan sustratos idóneos para ensayos de *situ*-, *regio*- y *estereo*-selectividad, por lo que la reactividad de este grupo de sustancias constituye el argumento de la presente investigación.

A) Reactividad Química de *Z*-Ligustilido (1).

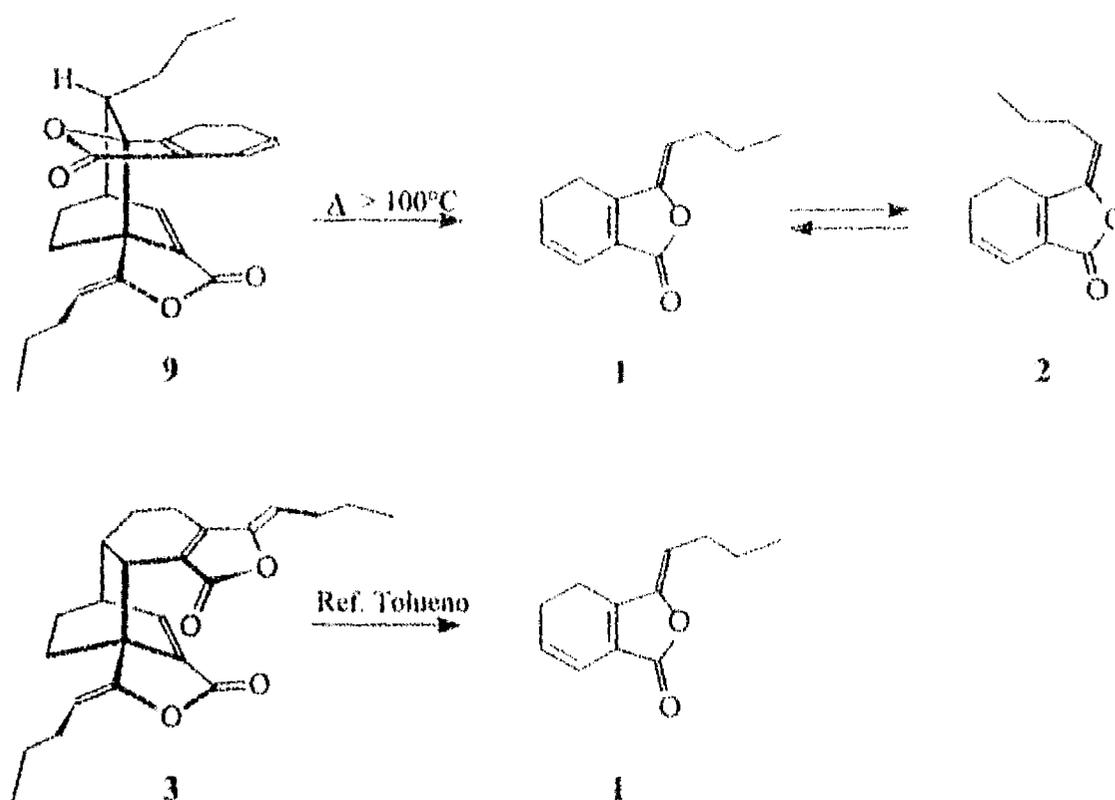
Z-ligustilido (1) se considera el precursor biogénico de los ftálicos diméricos aislados hasta ahora de fuentes naturales. 1 debe dimerizarse a través de dos posibles reacciones de cicloadición: una reacción $[\pi 4s + \pi 2s]$ (Diels-Alder) para generar los productos naturales 3-10 (esquemas 4 y 5), y una reacción $[\pi 2s + \pi 2s]$ para dar origen a 11-12 (esquema 3).^{14,31}

Sin embargo, los intentos realizados hasta ahora para efectuar las reacciones de cicloadición de 1 tendientes a la obtención de los dímeros 3-12, han resultado infructuosos, y solo han permitido obtener el producto de autooxidación 24, cuando esta reacción de dimerización se lleva a cabo en presencia de oxígeno, o una mezcla de 1 y el producto de isomerización 2, en ausencia del mismo.⁸¹ Existen informes en la literatura acerca de una isomerización lenta de 1 a 2 a temperatura ambiente y una isomerización rápida a temperaturas mayores a los 100°C (esquema 9)¹⁹



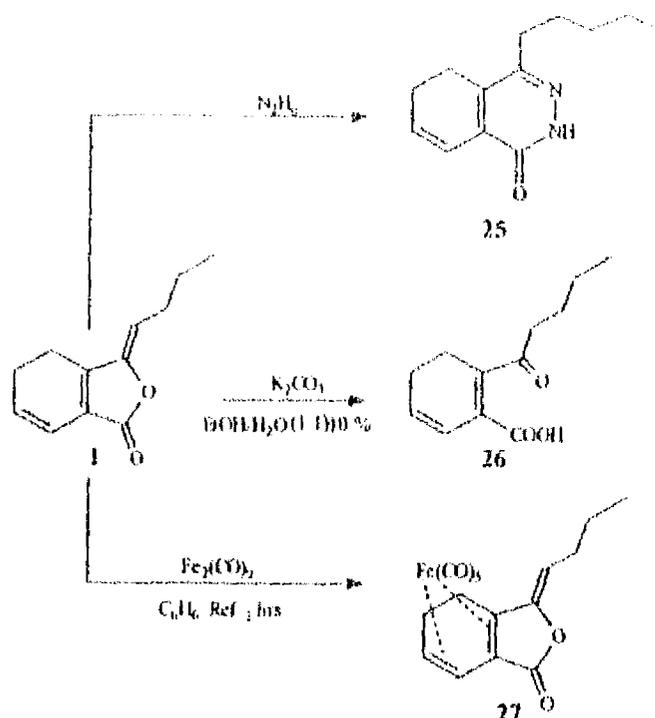
Esquema 9. Intentos de cicloadición de 1

En sentido inverso, la termólisis del angeólido (9) por calentamiento a temperaturas superiores al punto de fusión, o en solución arriba de 100°C, provocó la retrocicloaddición al monómero 1, que subsecuentemente se isomeriza a 2.²⁹ De manera análoga, la termólisis de diligustilido (3) a la temperatura de reflujo del tolueno conduce a la obtención de 1 en un 60% de rendimiento después de diez horas de reacción.³¹ (esquema 10).



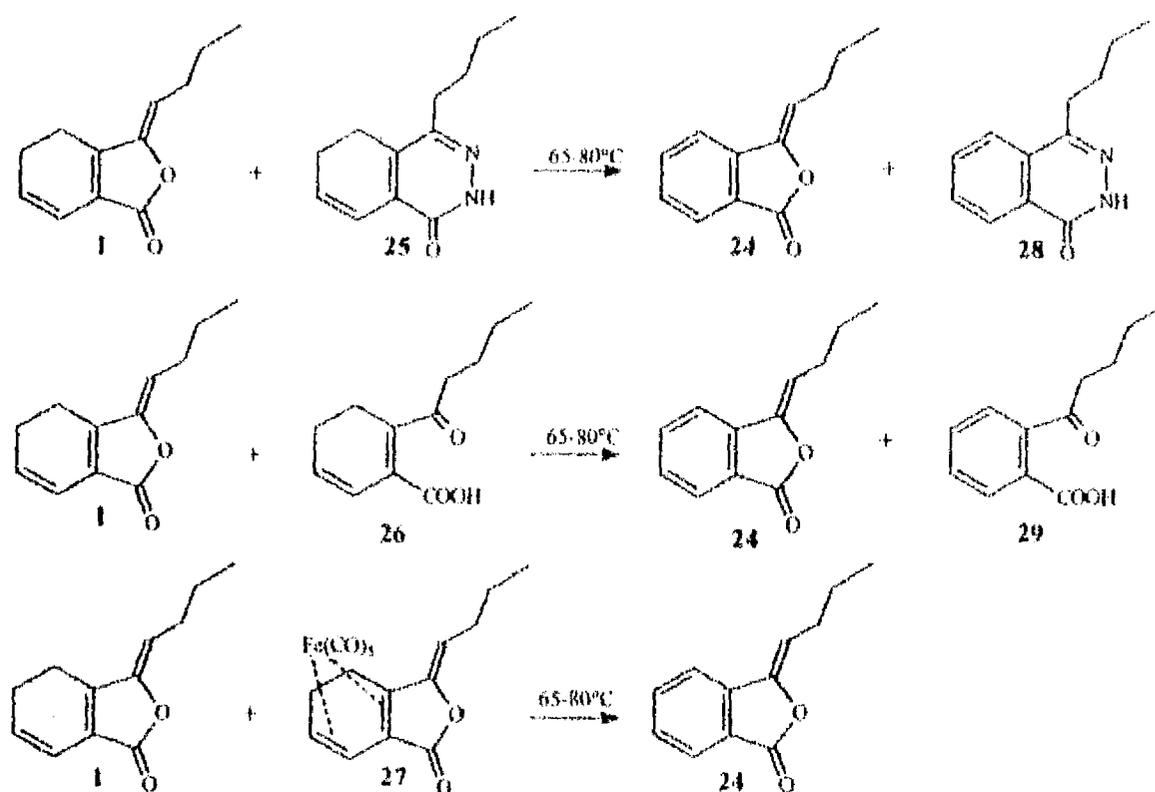
Esquema 10. Reacción retro-Diels-Alder de 9 y 3

Los primeros intentos de dimerización efectuados en el presente trabajo consistieron en someter 1 a calentamiento a diferentes temperaturas en tubo abierto, obteniéndose en todos los casos su aromatización, generándose 24 como producto de la reacción, y la polimerización parcial. Con el fin de lograr la cicloaddición se efectuaron modificaciones estructurales a este monómero, las cuales se encuentran indicadas en el esquema 11; el objetivo de tales modificaciones fue ensayar la dimerización entre 1 y los productos 25, 26 y 27. La obtención de análogos de 25 y 26 ha sido informada previamente,^{24,25} sin embargo, tanto estos compuestos como 27, fueron sintetizados por primera ocasión en el presente trabajo.³²⁻³⁴



Esquema 11. Modificaciones estructurales de 1

Cantidades equimoleculares de 1 con 25, 1 con 26 y 1 con 27 fueron mezcladas y puestas a reaccionar bajo calentamiento, obteniéndose solo los productos de deshidrogenación correspondientes, como se indica en el esquema 12.



Esquema 12. Intentos de dimerización de 1 con 25, 26 y 27

El análisis estructural del dieno homoanular en **1** permite establecer su carácter captodativo: por un lado, la presencia del carbonilo desactiva dicho sistema, y los enlaces σ C(3a)-C(4) y C(6)-C(7) lo activan. Adicionalmente, la conjugación con el doble enlace exocíclico aumenta la deslocalización electrónica (figura 1).

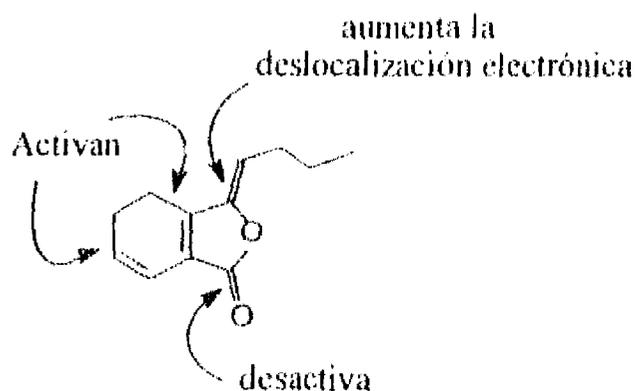


Figura 1. Distribución electrónica de Z-Ligustilido

Existen informes en la literatura acerca de la conveniencia de utilizar catálisis en las dimerizaciones de este tipo de dienos, siendo los ácidos de Lewis los catalizadores más frecuentemente utilizados. Su función consiste en efectuar una redistribución de la densidad electrónica de los orbitales π , disminuyendo la energía de los mismos, de tal modo que la reacción pueda efectuarse más rápidamente y bajo condiciones más suaves,⁸⁵⁻⁸⁷ o bien con mayor *regio*-^{88,89} y *estereo*-selectividad.^{90,91} Los ácidos más comúnmente utilizados son AlCl_3 ,⁹² TiCl_4 ,⁹³ ZnBr_2 , ZnI_2 , BF_3OEt_2 ,⁹⁴ EtAlCl_2 ,⁹⁵ Et_2AlCl , Me_3Al ,⁹⁰ y LiClO_4 .⁹⁶⁻⁹⁸

Se ensayó la reacción de autocicloaddición de Z-ligustilido (**1**) con ZnCl_2 , EtAlCl_2 , BF_3OEt_2 y SnCl_4 . Los dos primeros no favorecen transformación alguna, mientras que los dos últimos producen una mezcla de cinco productos mayoritarios en cada caso, que fueron purificados mediante el procedimiento descrito en la sección experimental.

Para el caso particular de la reacción con BF_3OEt_2 la elucidación estructural de los productos obtenidos se llevará a cabo en el orden en que éstos eluyeron en el proceso cromatográfico.

El compuesto de menor polaridad correspondió, de acuerdo con la comparación de sus parámetros espectroscópicos con los informados en la literatura, al producto de deshidrogenación del Z-ligustilido **24**.⁸¹

Dos de los cuatro compuestos restantes presentaron al análisis por espectrometría de masas un peso molecular de 378 y los dos restantes de 380, lo que permitió determinar su naturaleza dimérica, ya que el Z-ligustilido (**1**, espectro 1, $\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{O}_2$) tiene un peso molecular de 190.

El segundo producto obtenido en orden creciente de polaridad presentó en espectrometría de masas un peso molecular de 378. En el espectro de UV exhibe máximos de absorción en λ_{max} , 271, 256, y 209 nm, correspondientes a la presencia de un carbonilo $\alpha,\beta,\gamma,\delta$ insaturado, anillo aromático y doble enlace. Estos sistemas conjugados son corroborados por la observación de bandas de absorción en 1771, 1677 y 1610 cm^{-1} en el espectro de IR.⁹⁹ El análisis por RMN¹H (espectro 2) para este compuesto permite deducir la presencia de un anillo aromático disustituido de acuerdo con la observación de cuatro señales de resonancia con integración total para cuatro hidrógenos en la zona de δ 7.92 a 7.50. La presencia de sólo un hidrógeno en la posición 8 queda determinada por la observación de un triplete con integración para un hidrógeno en δ 5.21. Esto permite deducir que la unidad monomérica aromatizada se une a una segunda unidad a través del C-8 (figura 2).

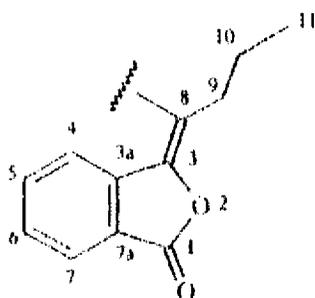


Figura 2

En δ 3.99 resuena un protón, como un singulete amplio, que integra para un hidrógeno, el cual por desplazamiento químico, debe encontrarse vecino a grupos desprotectores (dobles enlaces o grupo carbonilo). Éste se ubica sobre la segunda unidad, precisamente en el carbono donde se une la unidad monomérica mostrada en la figura 2. Existen tres posibles sitios de unión para este compuesto, C-4 (donde el hidrógeno es alílico), C-6 (hidrógeno alifático) y C-7 (donde el hidrógeno es doblemente alílico y β a un grupo carbonilo). El desplazamiento químico (δ 3.99) de este hidrógeno indica que el segundo sitio de unión entre ambas unidades es C-7 (figura 3).

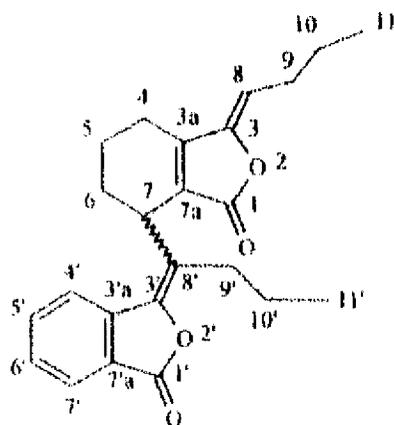


Figura 3

La unidad monomérica aromatizada posee configuración Z- en el doble enlace C(3')-C(8') de acuerdo con la observación de la correlación entre las señales debidas a H-9' [(2.53, 1H, H-9'a) y (2.28, 1H, H-9'b)], y H-10' (1.64, 2H, H-10') con H-4' en el experimento NOESY (figura 4). Esta correlación puede ser observada solo para el caso en que la cadena alifática C-8'-C-11' se encuentra espacialmente orientada del mismo lado que el anillo aromático.

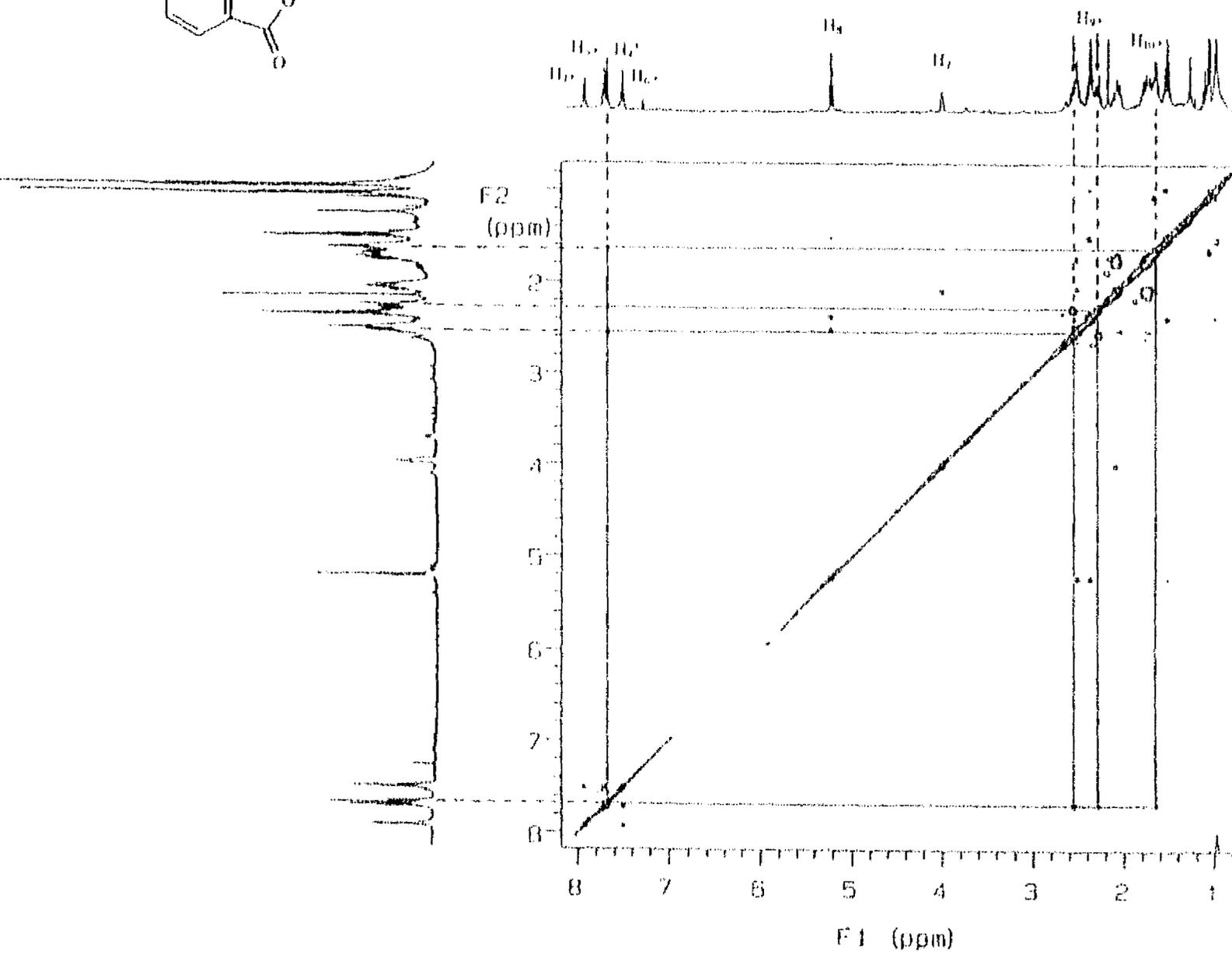
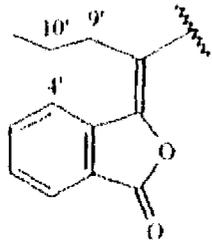
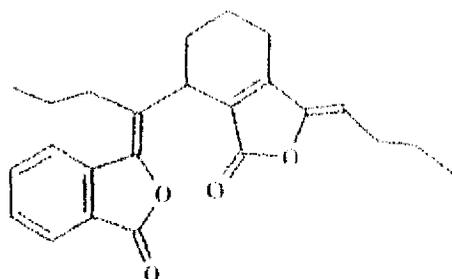


Figura 4

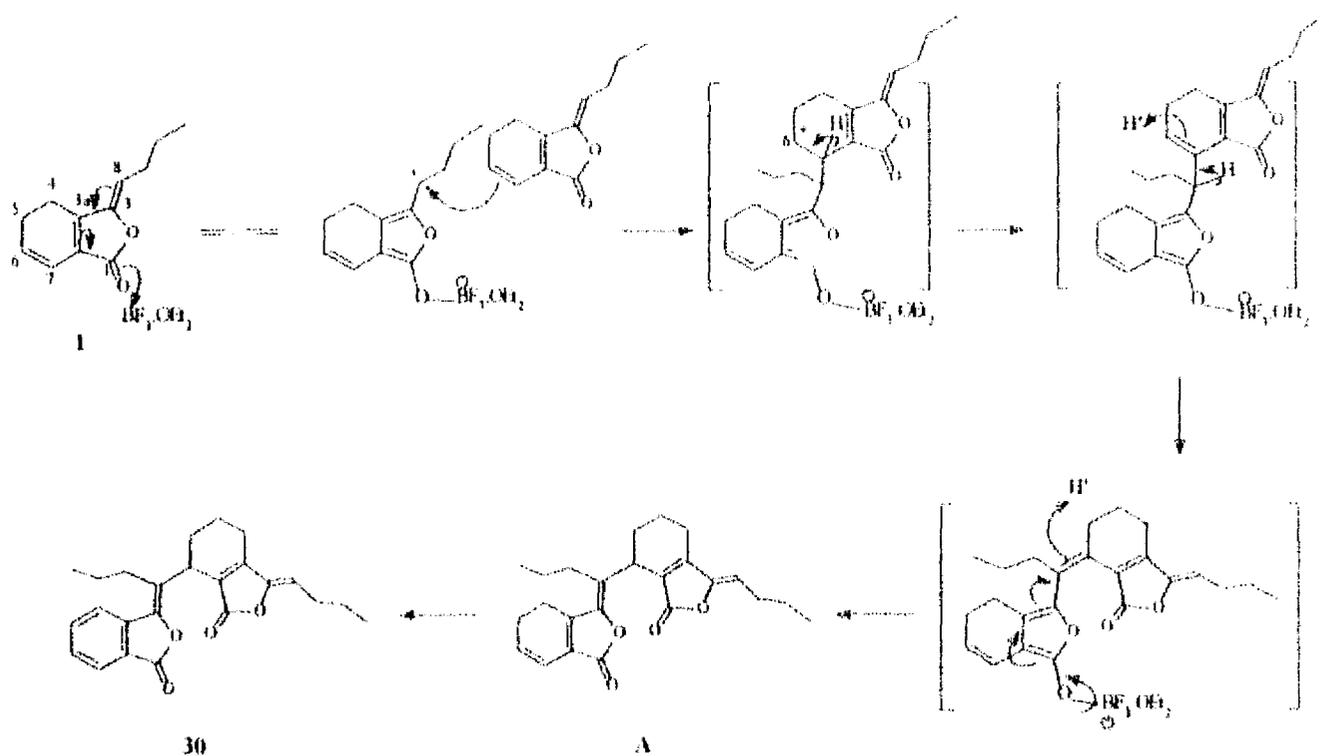
Por tanto, queda establecida la estructura **30** para este producto de reacción.



30

En el espectro de RMN¹³C (espectro 3) se observa la presencia de los veinticuatro carbonos presentes en el compuesto. Dos de ellos son de tipo carbonilo de éster y se desplazan en δ 168.61 (s, C-1) y 166.64 (s, C-1'), los siete carbonos tetrasustituídos sobre anillo aromático y doble enlace en δ 152.60 (s, C-3a), 148.77 (s, C-3), 143.21 (s, C-3'), 138.32 (s, C-3'a), 127.16 (s, C-7a), 127.16 (s, C-7'a) y 127.16 (s, C-8'), los seis carbonos doblete en δ 134.33 (d, C-5'), 128.78 (d, C-6'), 125.55 (d, C-7'), 122.96 (d, C-4') 111.38 (d, C-8) y 36.19 (d, C-7), los metilenos alifáticos, y dos carbonos cuarteto, correspondientes a C-11' (14.47) y C-11 (13.73).

El mecanismo propuesto para la obtención de este compuesto implica la coordinación del ácido de Lewis con el grupo carbonilo y la consecuente generación de un carbocatión sobre C-8. El ataque del doble enlace C(6)-C(7) de la segunda unidad genera un carbocatión secundario sobre el C(6) de ésta, una vez efectuada la dimerización, el cual puede ser estabilizado por la formación de un doble enlace. Finalmente, la equilibración mediante isomerizaciones de los dobles enlaces presentes, lleva a la formación del compuesto **A**, cuya aromatización genera **30** (esquema 13).



Esquema 13. Mecanismo de obtención de 30

El tercer compuesto obtenido en orden creciente de polaridad presentó también un peso molecular de 378. Las señales triplete que se manifiestan en δ 5.60 y δ 5.30 en el espectro de RMN¹H (espectro 4), se asignan a H-8' y H-8 respectivamente, lo que indica la unión de ambos monómeros por el anillo de seis miembros. La presencia de tres hidrógenos bencenoides puede deducirse de la observación de las señales en: δ 7.56 (1H, d, $J=1.8$ Hz, *meta*), δ 7.55 (1H, d, $J=6.5$ Hz, *orto*) y δ 7.54 (1H, dd, $J=1.8, 6.5$ Hz, *orto y meta*), las cuales pueden ser asignadas a los hidrógenos H-7, H-4 y H-5, respectivamente, de una de las unidades. Estos datos permiten establecer al C-6 de esta unidad como el sitio de unión (figura 5).

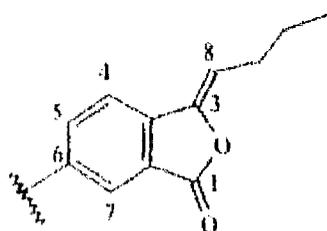
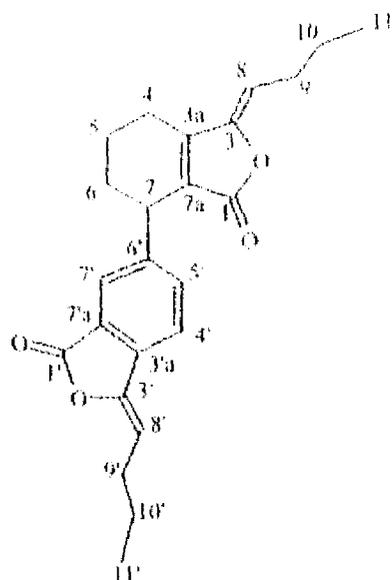


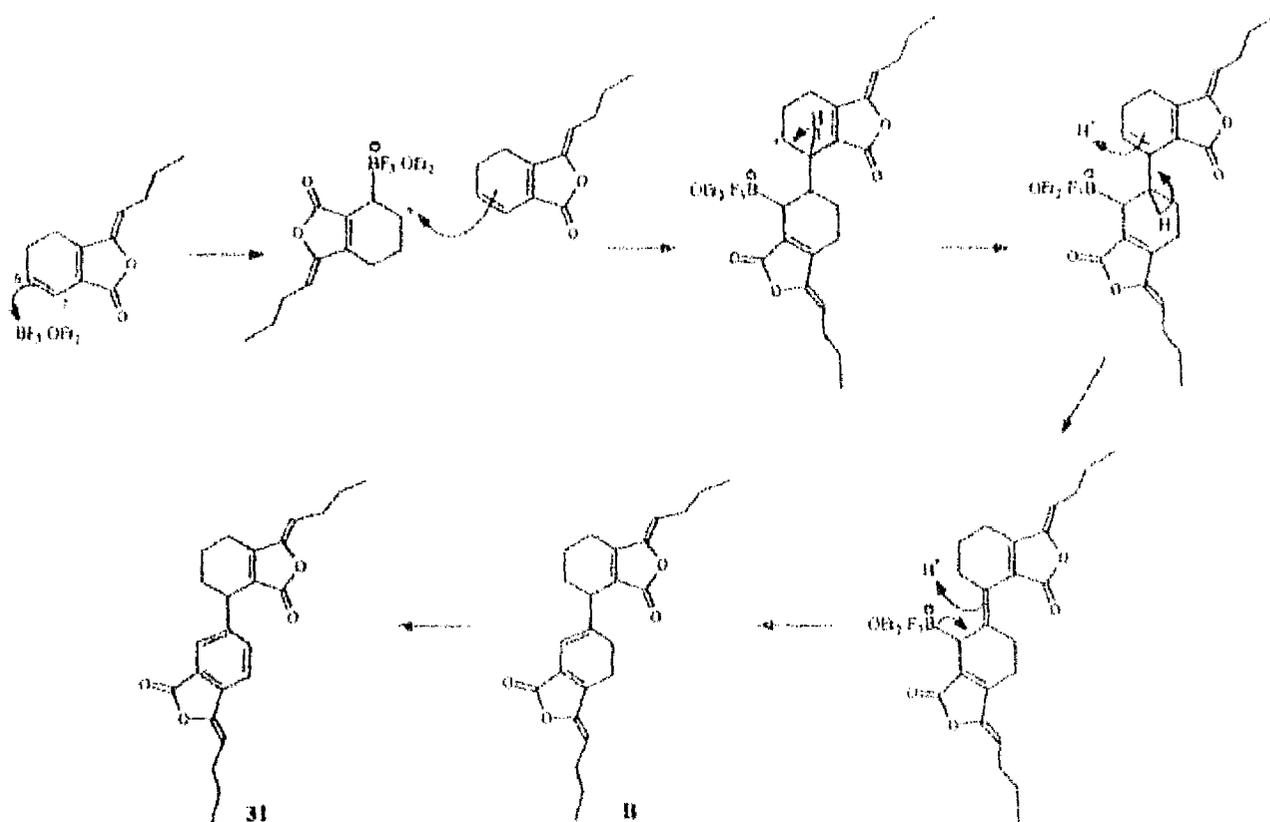
Figura 5

Análogamente a 30, este compuesto presenta una señal simple en δ 3.95, asignable a H-7 del segundo monómero, lo que permite establecer la unión de los mismos entre los carbonos C-6' y C-7, y determinar la estructura 31 para este compuesto.



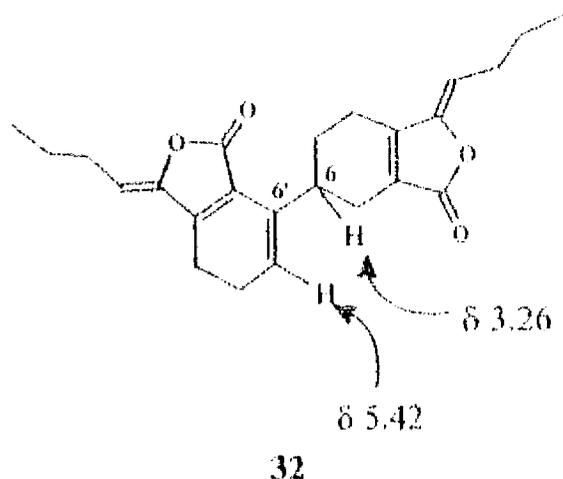
31

El mecanismo de formación de este producto implica ahora la coordinación del $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ con el doble enlace C(6)-C(7) de uno de los monómeros y la generación de un carbocatión sobre C(6), que se estabiliza por la adición de la olefina C(6)-C(7) de la segunda unidad monomérica, obteniéndose nuevamente un carbocatión sobre C(6). Este intermediario se estabiliza por la regeneración del doble enlace entre C(6)-C(7), el cual se isomeriza para conducir al intermediario B, cuya deshidrogenación genera el producto 31 (esquema 14).

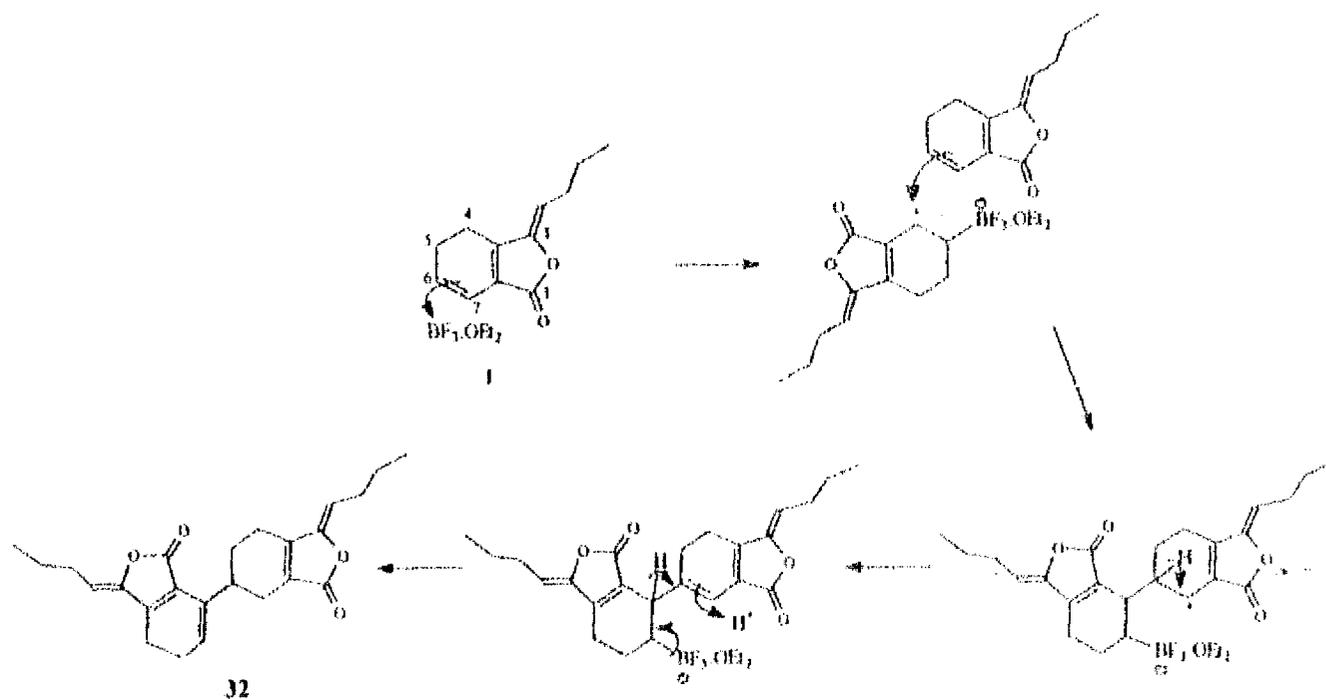


Esquema 14. Mecanismo de obtención de 31

El cuarto compuesto presenta un peso molecular de 380 y señales de resonancia para los hidrógenos H-8 y H-8' en RMN¹H (espectro 5) en δ 5.21 y δ 5.13. El sitio de dimerización puede determinarse de la señal singlete amplio que aparece en δ 5.42, que es asignada por desplazamiento químico al H-6 de uno de los monómeros. El segundo monómero se une también en C-6, ya que se observa la señal simple debida a su hidrógeno en δ 3.26, desplazada a campo alto en $\Delta\delta = 0.73$ ppm respecto a H-7 en **30** y en $\Delta\delta = 0.69$ ppm respecto a este mismo hidrógeno en **31**. Por tanto, la estructura propuesta para este compuesto corresponde a **32**.



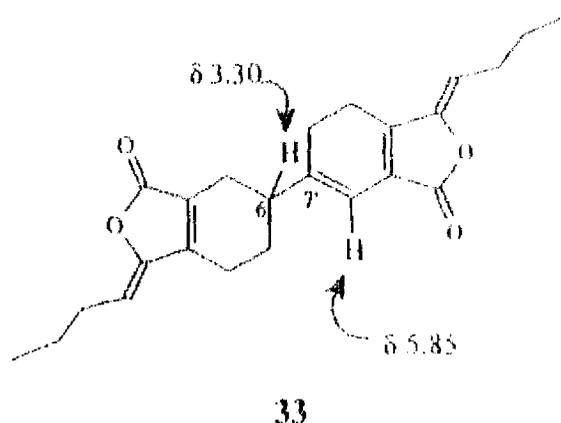
El mecanismo de formación de **32** implica nuevamente la formación de un carbocatión secundario, ahora sobre C-7, después de la coordinación del $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ con el doble enlace C(6)-C(7) de la primera unidad monomérica, seguido del ataque de este mismo enlace del segundo monómero, para generar nuevamente un carbocatión sobre el C-7 de la segunda unidad, y subsecuentes equilibraciones de protón (esquema 15).



Esquema 15. Mecanismo de obtención de 32

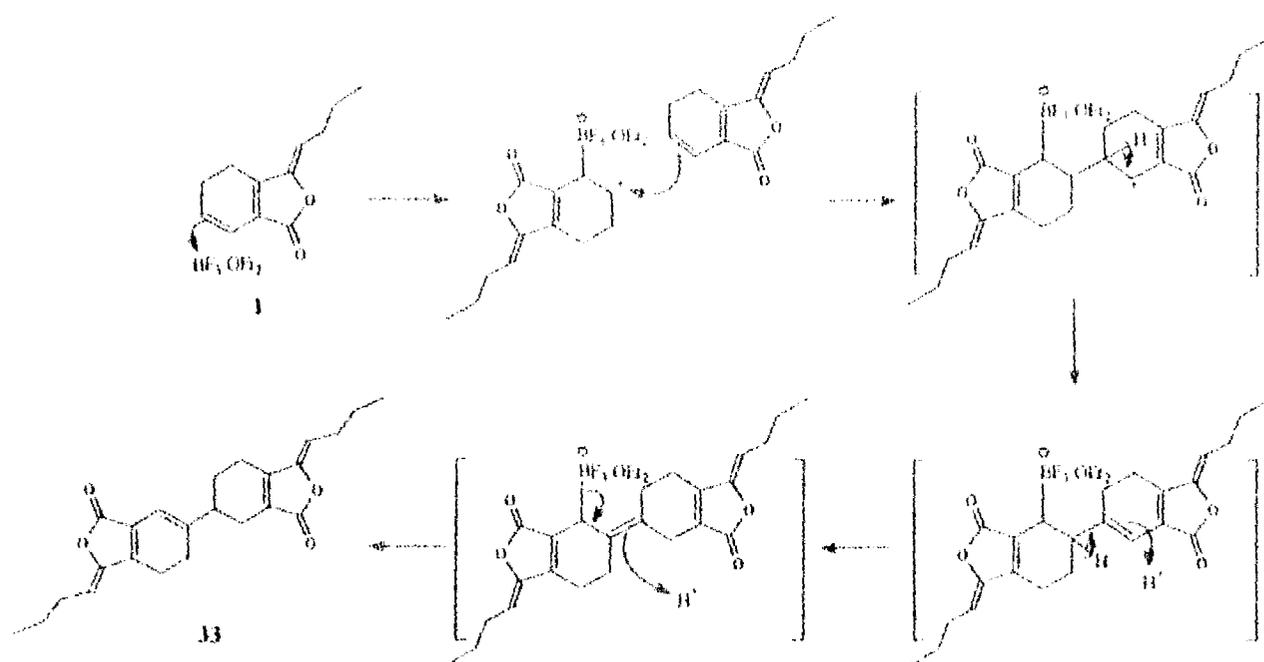
El quinto compuesto obtenido en orden creciente de polaridad es un aceite de color amarillo. El peso molecular registrado para este compuesto por espectrometría de masas fue 380, lo que nuevamente permite determinar su naturaleza dimérica. En el espectro de RMN¹H (espectro 6) esta sustancia presenta tres señales en la zona de resonancia de los hidrógenos vinílicos, un singulete que integra para un hidrógeno en δ 5.85 y los tripletes con integración para un protón cada uno en δ 5.23 y 5.21, asignables estos últimos a H-8 y H-8' respectivamente.

Los sitios de unión entre ambas unidades pueden establecerse por la observación de las señales singulete en δ 5.85, desplazada a campo bajo 0.43 ppm respecto a H-6 en **32**, y singulete amplio en δ 3.30. La primera de ellas debe corresponder a H-7 de la primera unidad monomérica, ya que su multiplicidad indica que el sitio de unión de este monómero es C-6 y la diferencia de desplazamiento químico indica el efecto desprotector del grupo carbonilo, la segunda corresponde en desplazamiento químico a un hidrógeno alílico, pudiendo ser asignado a H-6 del segundo monómero, estableciéndose la estructura **33** para este compuesto.



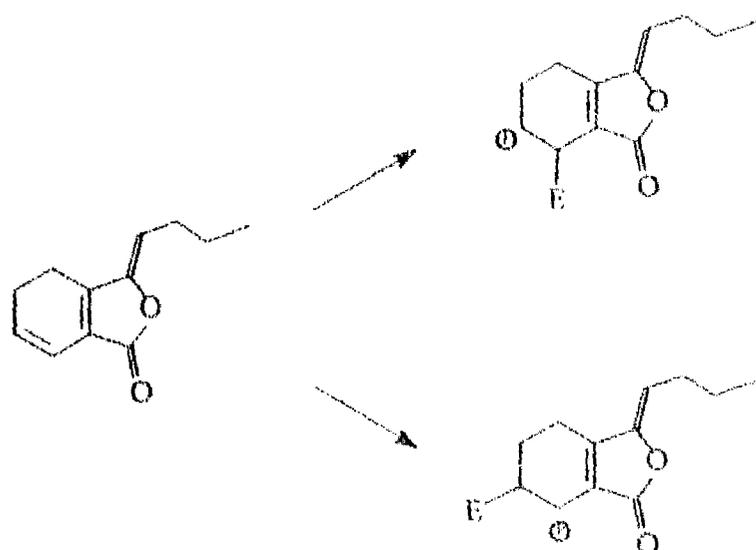
Los datos obtenidos en RMN¹³C (espectro 7) para este compuesto son concordantes con la estructura molecular propuesta.

El mecanismo de formación de **33** es análogo al de **32**, e implica la formación de carbocatión sobre C-6 de uno de los monómeros, el ataque por el doble enlace C(6)-C(7) del segundo monómero y la formación de carbocatión sobre C-7 de esta segunda unidad, y subsecuentes equilibraciones (esquema 16).



Esquema 16. Mecanismo de obtención de 33

Los productos de reacción obtenidos sugieren que el doble enlace C(6)-C(7) se polariza en ambas direcciones, debido a que no se manifiesta una regioselectividad notoria. Este comportamiento químico indica que C-6 contiene baja densidad electrónica, lo que permite describir la obtención de 30 y 31 como productos de reacción, sin embargo, la vecindad de C-7 al doble enlace C(3a)-C(7a) hace que el carbocation alílico que genera también sea estable, explicando la formación de 32 y 33. Lo anterior permite concluir que ambos carbocationes se forman y por tanto que no existe una regioselección notoria en la reactividad del doble enlace C(6)-C(7), cuyos carbonos deben contener densidades electrónicas muy parecidas (esquema 17).



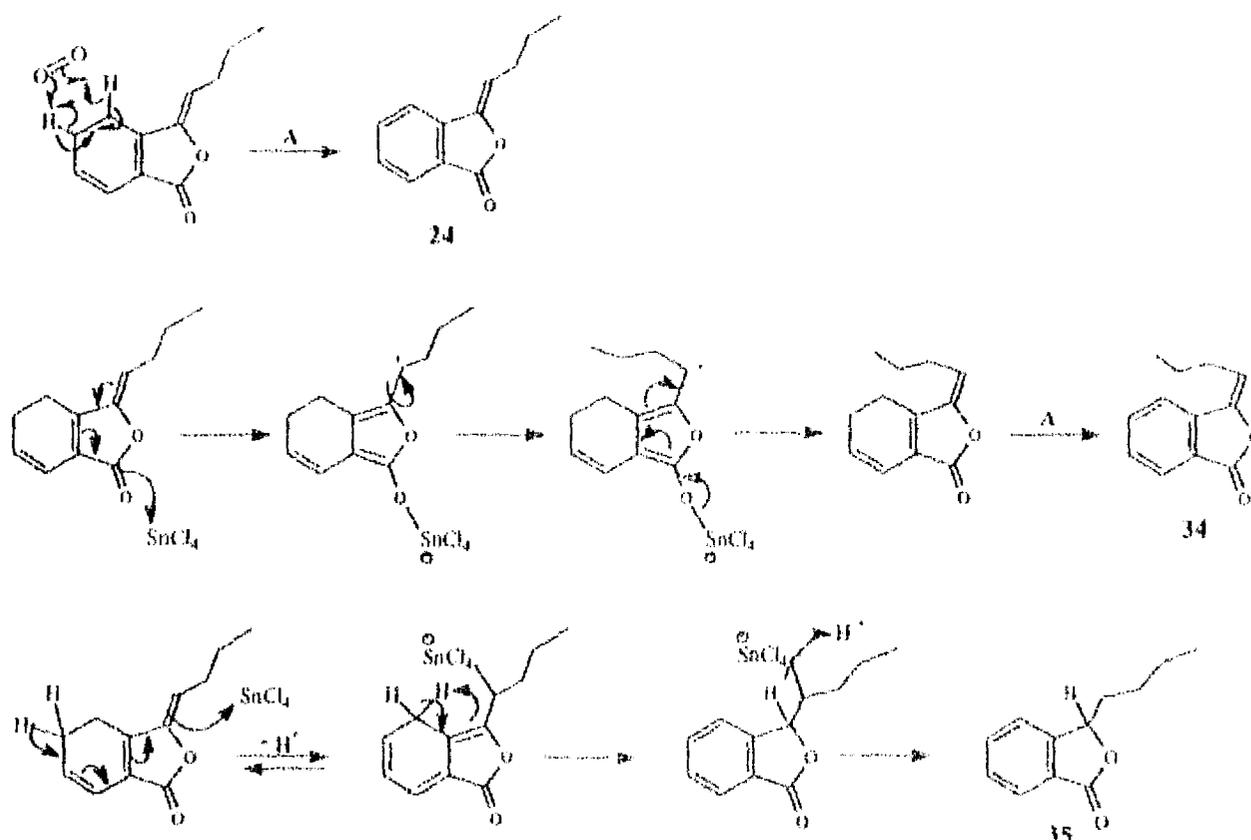
Esquema 17. C-6 y C-7 como centros electrofílicos

Las asignaciones de las señales de resonancia en los compuestos 30-33 fueron realizadas utilizando los experimentos de COSY, NOESY, RMN¹³C, DEPT, HMQC y HMBC.

En la reacción de 1 catalizada con SnCl₄ fue posible la obtención de 24, 30 y 33, además de dos compuestos diferentes a los obtenidos de la reacción con BF₃·OEt₂. Ambos compuestos son monómeros, de acuerdo con el peso molecular registrado para los mismos y la observación de sólo una señal triple con integración para tres hidrógenos en la zona de resonancia de H-11.

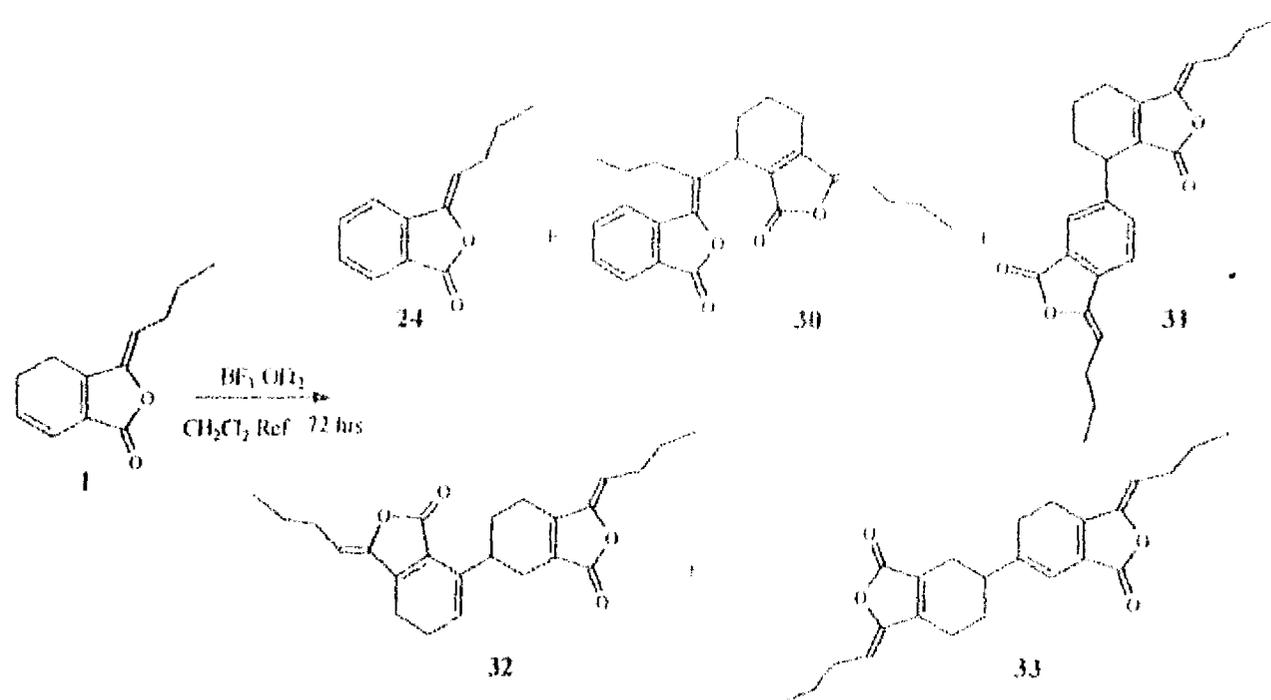
En el primero de estos compuestos H-8 se presenta en δ 5.88 en el espectro de RMN¹H. Cuatro señales adicionales en la zona de hidrógenos aromáticos indican la deshidrogenación del ciclohexadieno. La comparación de sus datos espectroscópicos con los informados en la literatura para el *E*-butilidenfálido (34)³¹ permitieron establecer su identidad.

El segundo compuesto obtenido de la reacción de 1 con SnCl₄ es también aromático, de acuerdo con la observación de cuatro hidrógenos de este tipo en la zona de δ 8.04 a δ 7.40 en su espectro de RMN¹H. Una señal doble de doble en δ 5.48 pudo ser asignada a H-3, hidrógeno geminal a oxígeno y bencílico, estableciéndose la estructura de 3,8 dihidroligustilido (35) para este compuesto. Los mecanismos de formación de 24, 34 y 35 se indican en el esquema 18.

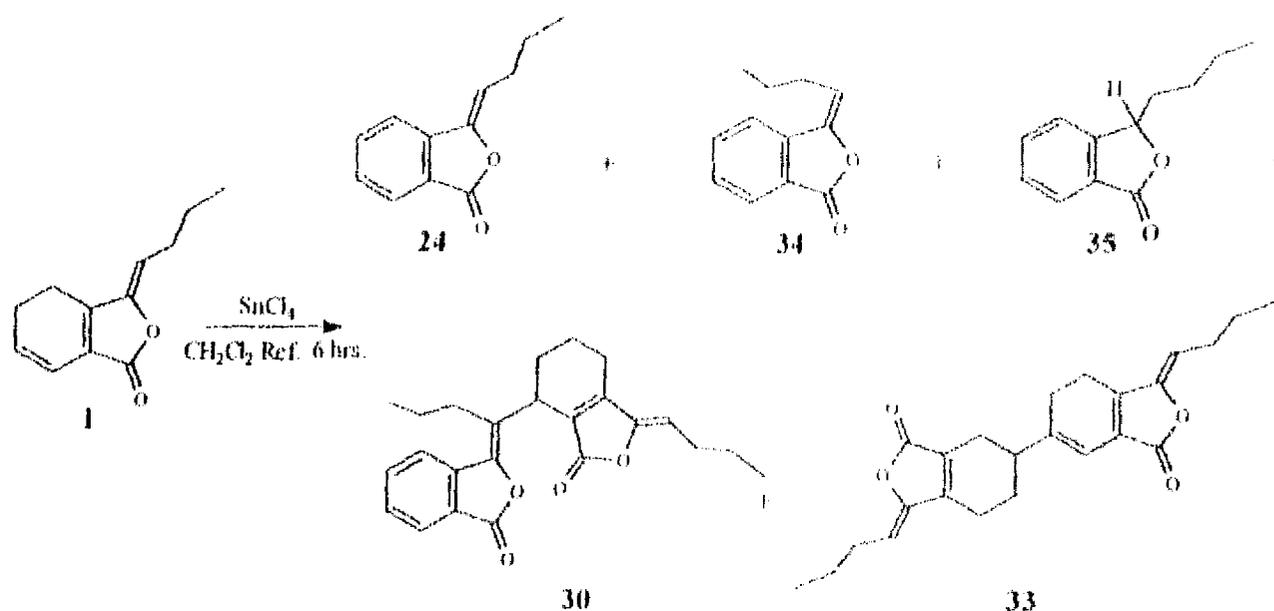


Esquema 18. Mecanismos de obtención de 24, 34 y 35

Los resultados obtenidos para las reacciones de dimerización de **1** con $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ y SnCl_4 , se ilustran en los esquemas 19 y 20, respectivamente.



Esquema 19. Reactividad química de **1 con $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$**



Esquema 20. Reactividad química de **1 con SnCl_4**

Debido a que no se sintetizaron los cicloaductos deseados a partir de Z-ligustilido, es conveniente considerar procedimientos experimentales adicionales que involucren factores como la disminución del ΔV ,¹⁰⁰ el efecto del disolvente,^{101,102} y la aplicación de alta presión. Sin embargo, los resultados obtenidos permitieron conocer la reactividad intrínseca de Z-ligustilido en las condiciones de reacción ensayadas, y evaluar desfavorablemente la posibilidad de que los ftálicos diméricos caracterizados hasta ahora, sean artefactos, como lo sugiere su estructura molecular y su existencia como mezclas racémicas.

B) Reactividad Química de Diligustilido (3).

Con el fin de analizar la reactividad química del diligustilido (3), se procedió a su obtención a partir de su fuente natural como se describe en la parte 1 de la sección experimental. Inicialmente se describirá y justificará la correlación química de 3 a *rel*-(3'*R*)-3',8'-dihidro-diligustilido (4); posteriormente se dará cuenta sobre las condensaciones aldólicas intramoleculares de 3 y finalmente, se discutirá la correlación química de diligustilido (3) a wallichilido (5).

B.1) Correlación Química Diligustilido (3) \rightarrow *rel*-(3'*R*)-3',8'-dihidro-diligustilido (4).

El diligustilido (3) fue aislado por primera ocasión por Kaouadji en 1983 a partir de la planta medicinal *Ligusticum wallichii*.¹¹ Su estructura fue determinada con base en el análisis de sus propiedades espectroscópicas y confirmada mediante análisis por difracción de rayos X.¹⁵ En el presente trabajo, esta sustancia constituye la materia prima para la síntesis parcial de 3,8-dihidro-diligustilido (36), que es un producto natural aislado por primera ocasión de esta misma fuente natural.¹⁴ La determinación estructural de esta última sustancia estuvo fundamentada principalmente por el análisis de sus parámetros espectroscópicos. Algunos datos relevantes publicados por Kaouadji¹⁴ sobre este compuesto se muestran en la figura 6.

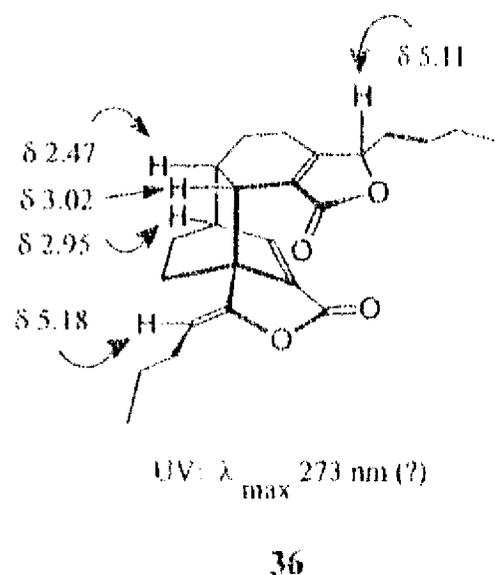
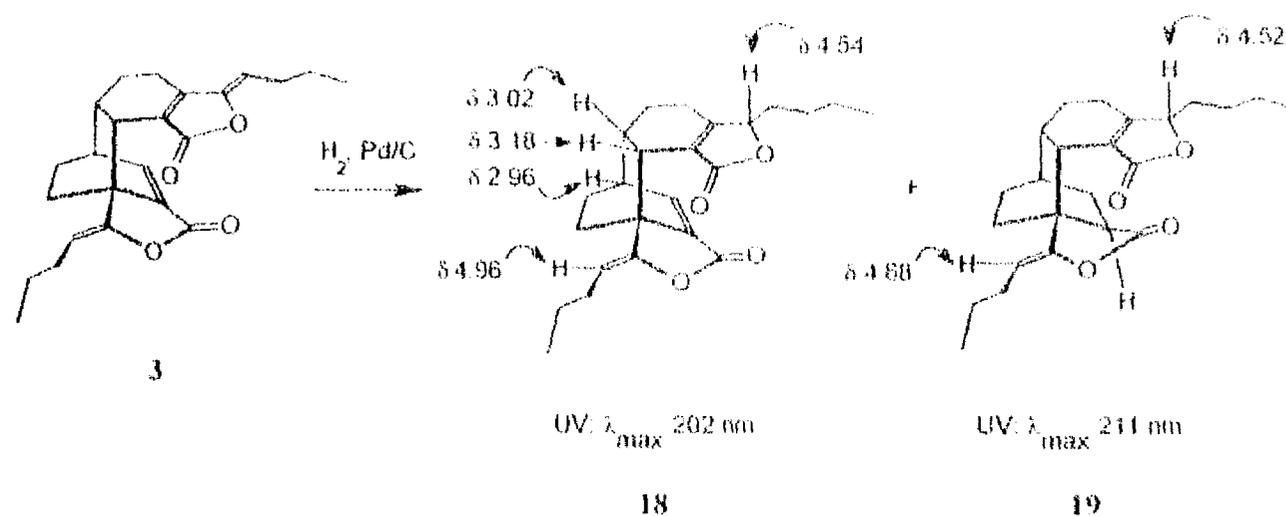


Figura 6. Asignaciones de 3,8-dihidro-diligustilido (36) informadas en la literatura¹⁴

Sin embargo, la estructura propuesta para este compuesto no está de acuerdo con el máximo de absorción informado en el espectro de ultravioleta para el mismo (λ_{\max} 273 nm), el cual debe ser atribuido a la presencia de una lactona $\alpha,\beta,\gamma,\delta$ -insaturada.

Por otra parte, la hidrogenación catalítica del diligustilido (3), realizada en nuestro laboratorio,¹⁵ permitió la obtención del *rel*-(3*S*)-3,8-dihidro- y del *rel*-(3*S*,7'*aR*)-3,8-7',7'a-

tetrahidroderivados **18** y **19** respectivamente, de acuerdo con el análisis de sus datos espectroscópicos, algunos de los cuales se presentan sucintamente en el esquema 21.



Esquema 21. Hidrogenación catalítica de diligustilido (3)¹⁵

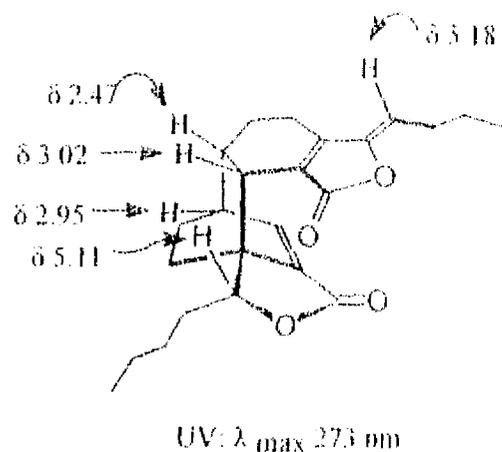
La comparación de los datos para ambos dihidroderivados: el informado en la literatura como producto natural, **36** (figura 6),¹¹ y el obtenido de la reacción de hidrogenación, **18** (esquema 21),¹⁵ proporcionó evidencia que ambas sustancias son diferentes. El análisis de los datos obtenidos para **18** y de los informados por Kaouadji para **36** permitió proponer la corrección estructural para **36**, con base en las siguientes observaciones:

a). El máximo de absorción al ultravioleta indica la presencia de una lactona $\alpha,\beta,\gamma,\delta$ -insaturada.

b) El desplazamiento químico del hidrógeno en δ 5.18 debe ser atribuido a H-8 (el protón δ de una lactona $\alpha,\beta,\gamma,\delta$ -insaturada) y no a H-3'.

c) El desplazamiento químico del hidrógeno en δ 5.11 debe ser atribuido a H-3'. El desplazamiento a campo bajo del mismo puede ser justificado por el efecto desprotector del oxígeno del carbonilo de la lactona $\alpha,\beta,\gamma,\delta$ -insaturada, lo que permitió proponer la estereoquímica de este centro quiral.

Estas evidencias permitieron deducir la estructura **4** para este producto natural, correspondiente al *rel*-(3'*R*)-3',8'-dihidrodiligustilido, y por lo tanto, corregir la estructura del mismo (figura 7).

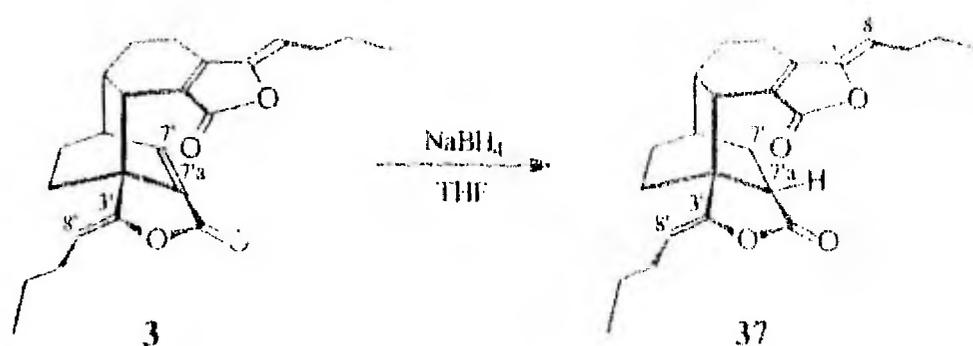


4

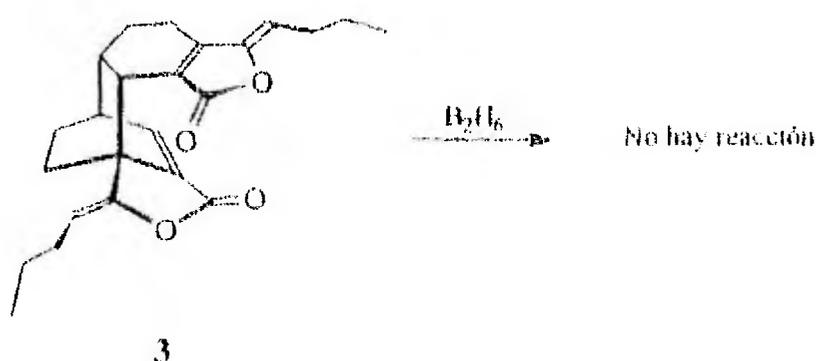
Figura 7. Estructura corregida para el dihidrodiligustilido natural mediante la reasignación de los datos informados por Kaouadji.¹⁵

A fin de apoyar la corrección estructural realizada mediante el análisis espectroscópico y así proporcionar argumentos químicos a ésta, se propuso efectuar la correlación química entre diligustilido (**3**) (espectros 8 y 9) y *rel*-(3'*R*)-3',8'-dihidrodiligustilido (**4**). Las propiedades espectroscópicas de **3** (sección experimental, pág. 74) serán por tanto tomadas como base para la determinación estructural de los intermediarios y productos en dicha correlación.

Como se mencionó anteriormente, la hidrogenación catalítica de diligustilido (**3**) genera una mezcla de *rel*-(3*S*)-3,8-dihidrodiligustilido (**18**) y de *rel*-(3*S*,7'*aR*)-3,8-7',7'*a*-tetrahidrodiligustilido (**19**) (esquema 21). Adicionalmente, en el presente estudio se ensayó la reducción de este compuesto con NaBH₄ a temperatura ambiente, utilizando THF como disolvente, lo que permitió obtener un solo producto, que fue caracterizado como el *rel*-(7'*aS*)-7',7'*a*-dihidroderivado (**37**) de acuerdo al análisis comparativo de sus datos espectroscópicos con los de **3** y **19**. Particularmente, el aumento de dos unidades de masa en el peso molecular con respecto a **3**, la presencia de los máximos de absorción en λ_{\max} 287 y 222 nm, correspondientes a carbonilo $\alpha,\beta,\gamma,\delta$ -insaturado y éter de enol en el espectro de UV, y la desaparición de la señal doblete debida a H-7' en RMN¹H (espectro 10), identifican a este compuesto como un dihidroderivado. Adicionalmente, la banda de absorción en 1773 cm⁻¹ en el espectro de IR, permite suponer una menor tensión en el sistema lactónico (lactona *cis*) que en **19**, donde este carbonilo presenta banda de absorción en 1792 cm⁻¹ (lactona *trans*).



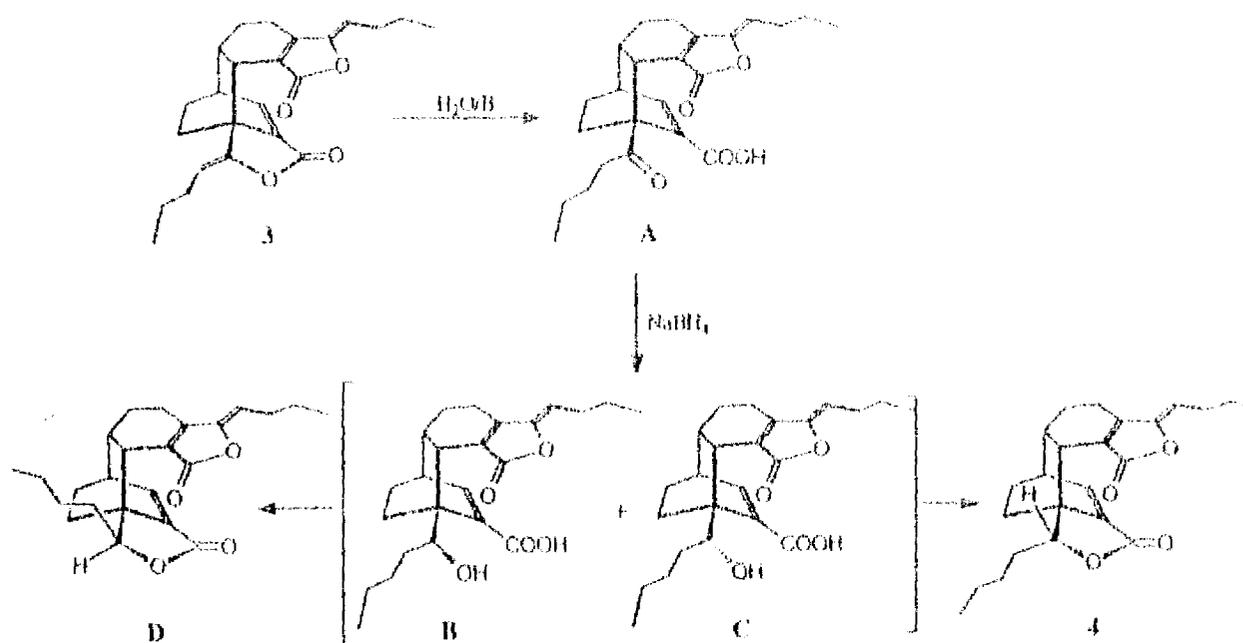
El comportamiento químico de **3** en estas dos últimas reacciones establece que los dobles enlaces C(3)-C(8) y C(7)-C(7'a) son más reactivos frente a nucleófilos por ser más deficientes electrónicamente que el doble enlace C(3')-C(8'). Existen informes en la literatura sobre el empleo de diborano (B_2H_6) como agente reductor para olefinas ricas en electrones,¹⁰³⁻¹⁰⁴ el cual actúa a través del ataque hacia el centro de mayor densidad electrónica. Sin embargo, el empleo del mismo en la reducción de **3** no genera productos de reacción (esquema 22).



Esquema 22. Intento de reacción de **3** con diborano

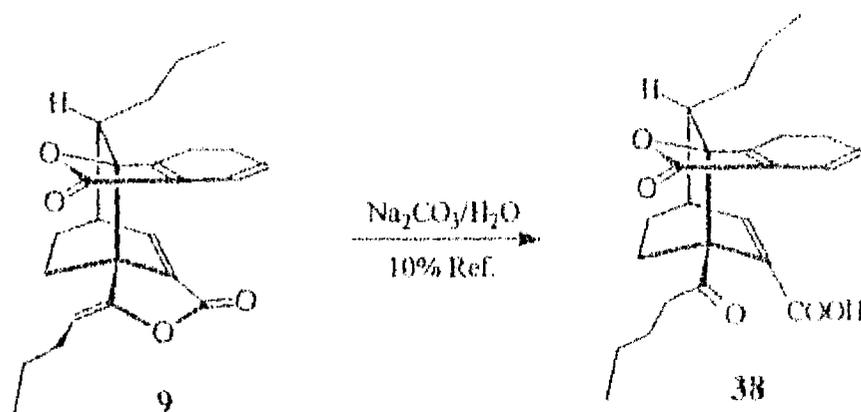
Con el fin de lograr la correlación de **3** a **4**, se decidió considerar la diferente reactividad de las γ -lactonas.

El análisis estructural de **3** permite suponer que la lactona fusionada a la base del sistema bicyclico contiene mayor tensión angular, siendo, por tanto, el sitio más reactivo en una hidrólisis alcalina. Esta transformación permitiría obtener el cetoácido **A**, que mediante reducción generaría una mezcla epimérica de los alcoholes **B** y **C**, cuya lactonización conduciría a la formación de los compuestos **D** y **4**, siendo este último el producto deseado. Estas presunciones se muestran en el esquema 23.



Esquema 23. Propuesta de correlación 3 \Rightarrow 4

Existe un informe en la literatura sobre la hidrólisis alcalina del angeólido (9),²⁹ la cual genera el cetoácido correspondiente 38 proveniente de la apertura de la lactona fusionada al bicyclo (esquema 24). Esta transformación es consistente con la presunción referida al diligustilido (3).

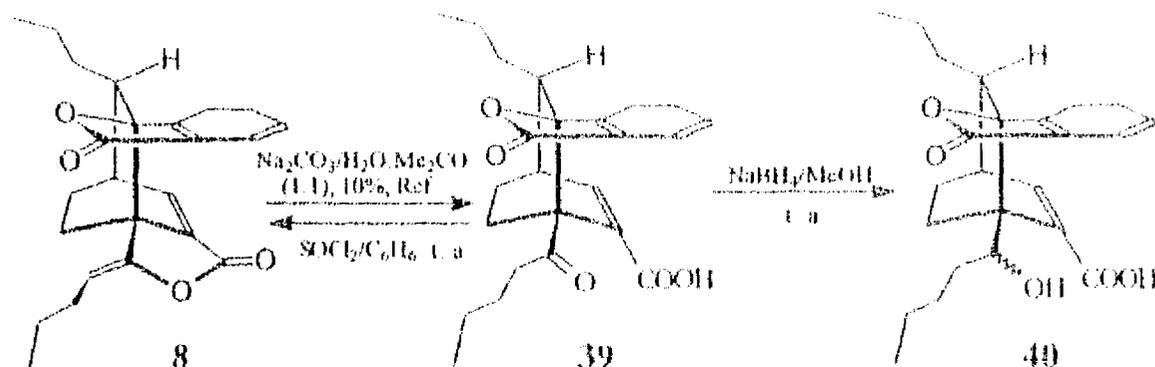


Esquema 24. Hidrólisis alcalina de angeólido (9).

La similitud estructural entre el angeólido (9) y el toquinólido B (8) (son epímeros en C-8), y la disponibilidad de este último en el laboratorio permitió utilizarlo como compuesto modelo para el establecimiento de la reactividad química de las lactonas y generar analogías químicas con la reacción de hidrólisis de 3.

Al aplicar sobre 8 (espectros 11 y 12) las condiciones de hidrólisis descritas para 9, se observó completa insolubilidad de la materia prima, por lo que fue necesario adicionar acetona como codisolvente. Esto permitió la obtención del cetoácido correspondiente (39)

(espectros 13 y 14). Tomando a **39** como nuevo compuesto modelo, se ensayaron las condiciones para efectuar la reacción de reducción, como se indica en el esquema 25.



Esquema 25. Reactividad química de toquinólido B (8)

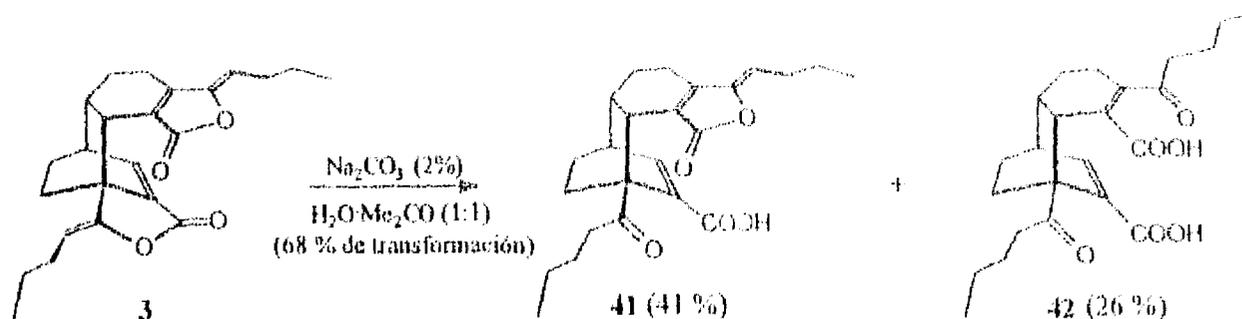
Como se puede observar, la hidrólisis de **8** genera sólo el producto **39**, correspondiente a la apertura de la lactona fusionada al sistema bicíclico. La reducción de **39** generó el producto **40**, que no sufrió lactonización *in situ*, y que pudo ser aislado y caracterizado (espectros 15 y 16). Estos resultados sugieren la mayor labilidad de la lactona fusionada al biciclo.

Es conveniente mencionar que todos los derivados obtenidos a partir del toquinólido B (**8**) son lábiles en las condiciones normales de manipulación, mostrando una notable tendencia a la aromatización.

La aplicación de las condiciones antes mencionadas (Na_2CO_3 10% / $\text{H}_2\text{O}:\text{Me}_2\text{CO}$) a diligustilido (**3**) permitió la obtención de dos productos de reacción. El primero de ellos presenta en espectrometría de masas un peso molecular de 398, lo que indica la adición de una molécula de agua. Un máximo de absorción en λ_{max} 273 nm en UV, las bandas de absorción en 1754 y 1707 cm^{-1} en el espectro de IR, la desaparición de una de las señales debidas a protones vinílicos en RMN^1H (espectro 17 comparado con el espectro 8), y la existencia de una señal para carbonilo de cetona a expensas de la desaparición de uno de los metinos vinílicos en RMN^{13}C (espectro 18 comparado con el espectro 9), permiten determinar la estructura **41** para este primer producto de reacción.

El segundo compuesto obtenido corresponde a **42**, de acuerdo con la observación de un peso molecular de 416 observado en espectrometría de masas, la desaparición de las dos señales debidas a hidrógeno vinílico en RMN^1H (espectro 19) y la presencia de dos señales para carbonilo de cetona a expensas de la desaparición de los hidrógenos vinílicos (espectro 20). El producto no deseado, **42**, constituyó el compuesto mayoritario.

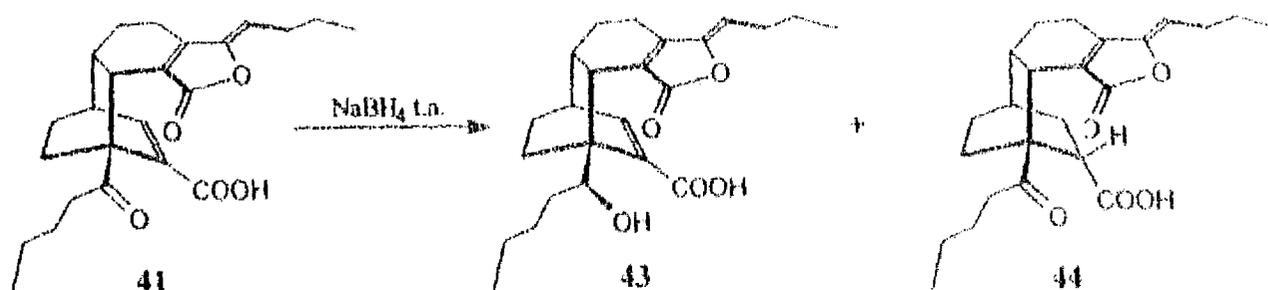
La disminución en la concentración del Na_2CO_3 adicionado, hasta un 2%, generó esta misma mezcla con un rendimiento del 42 y 26 % de **41** y **42**, respectivamente, y 32 % de recuperación de **3** (esquema 26). Estos productos fueron separados mediante cromatografía en columna.



Esquema 26. Hidrólisis alcalina de diligustílido (3). Apertura *situ*-selectiva de la lactona fusionada al biciclo.

La formación de **41** como producto mayoritario a bajas concentraciones de la base indica que, efectivamente, la lactona fusionada al sistema bicéfico es más reactiva, presumiblemente por la tensión anular, sin embargo, la accesibilidad de la lactona $\alpha,\beta,\gamma,\delta$ insaturada al nucleófilo la hace también considerablemente reactiva, favoreciendo la transformación de **41** en **42**, sobre todo a altas concentraciones de la base.

La reducción de **41** fue efectuada con NaBH_4 en metanol a temperatura ambiente,¹⁰⁵ para generar una mezcla de **43** (espectros 21 y 22) y **44** (esquema 27) como productos de reacción en un rendimiento de 36 y 3 %, respectivamente. La recuperación de 51 % de materia prima indica que **41** reacciona muy lentamente frente a NaBH_4 en este disolvente. Aún en periodos prolongados de reacción, el rendimiento de **43** no pudo ser incrementado significativamente. Esto puede deberse a que durante la reacción el ácido carboxílico presente en el compuesto y el disolvente mismo consumen al reactivo NaBH_4 , con la consecuente formación de una gran cantidad de boratos que ocultan la materia prima impidiendo que la reacción proceda. A fin de solucionar este problema y aumentar el rendimiento del producto deseado, se ensayó la reacción en THF. Sin embargo, bajo estas condiciones se obtuvo la misma mezcla de productos (**43** + **44**) en 17 y 44 % de rendimiento, respectivamente, favoreciéndose por tanto la reducción 1,4 sobre la 1,2 (esquema 27, tabla 1).



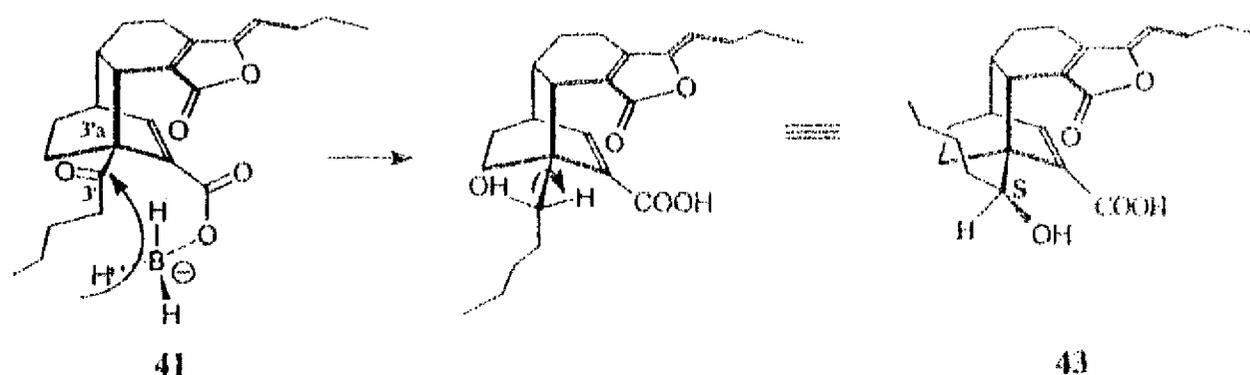
Esquema 27. Reducción diastereodiferenciada de 41

Disolvente	% de transformación	Rendimiento (%)	
		43	44
MeOH	39	36	3.0
THF	63	17	47

Tabla 1. Porcentaje de transformación y de rendimiento de 43 y 44 en la reducción de 3

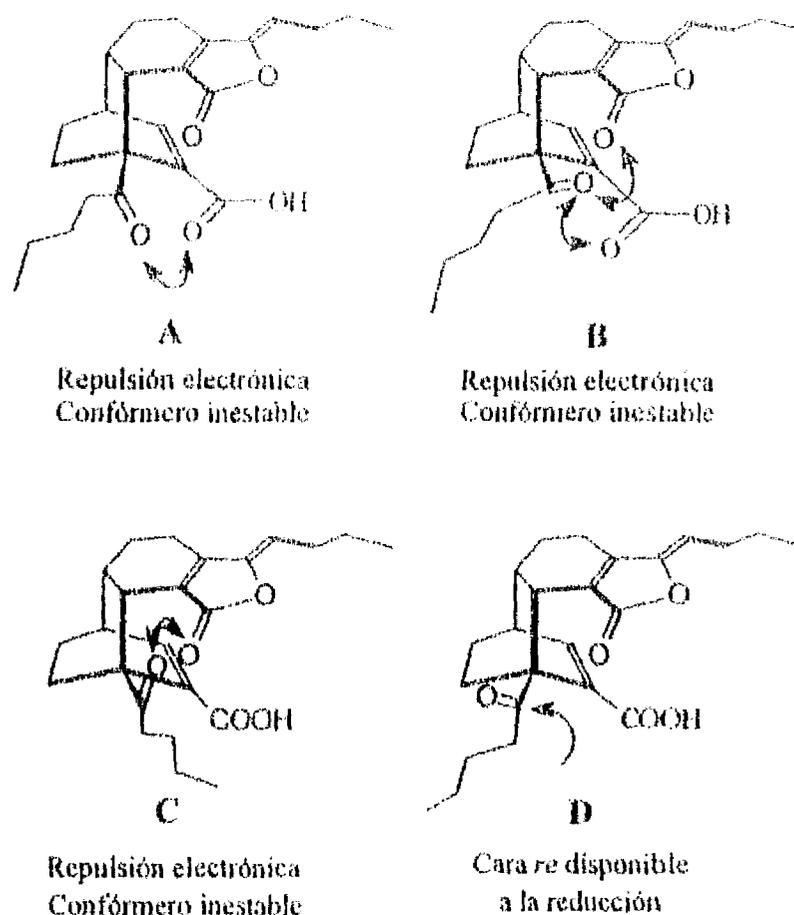
La *situ*-diferenciación en la reducción con NaBH_4 puede explicarse mediante la teoría de ácidos y bases duros y blandos.¹⁰⁶ El NaBH_4 en metanol (duro) reacciona con el carbonilo (duro), mientras que en THF (blando) reacciona con C-7' (blando).

Independientemente del disolvente utilizado en la reducción de 41, se obtiene como producto a 43, que corresponde al alcohol con configuración *rel-S* en C-3'. La formación de éste único diastereoisómero implica la reducción diastereocara diferenciadora del carbonilo, lo que lleva a proponer que éste presenta rotación restringida a través del enlace C(3')-C(3'a) y un mecanismo de reducción en que el boro del NaBH_4 se asocia con el grupo carboxilo, por lo que el hidruro se adiciona por la cara *re* del grupo carbonilo (esquema 28).



Esquema 28. Mecanismo de reducción diastereocara diferenciadora del carbonilo C-3'

La restricción en la rotación de la cadena a lo largo del enlace C(3')-C(3'a) puede explicarse por la existencia de repulsión estérica y electrónica en algunos de los posibles conformeros para 35 (esquema 29). De acuerdo con ello, 41 debe adoptar la conformación D durante la reacción de reducción.



Esquema 29. Análisis conformacional de la butilcetona mediante el giro del enlace σ C(3')-C(3'a) de 41

El hidroxiaácido **43** pudo ser aislado y caracterizado espectroscópicamente. Su lactonización fue llevada a cabo utilizando cloruro de tionilo, cloruro de tosilo o cloruro de mesilo en tres disolventes diferentes:

1). En cloroformo o benceno, se obtiene un solo producto, que presenta un peso molecular de 382, lo que indica que corresponde a un dihidroderivado de **3**. Los máximos de absorción en $\lambda_{\text{máx}}$ 282, 252 y 220 nm en el espectro de UV indican la presencia de los cromóforos carbonilo $\alpha,\beta,\gamma,\delta$ -insaturado, carbonilo α,β -insaturado y éter de enol, respectivamente, y la observación en el IR de las bandas de absorción en 1770 y 1750 cm^{-1} corroboran la presencia de los dos carbonilos lactónicos. En RMN¹H (espectro 23), este producto presenta dos señales en la zona de resonancia de los hidrógenos vinílicos; la primera de ellas como un triplete en δ 5.14 que puede ser atribuida a H-8 y la segunda como un doble de doble en δ 4.38 que debe corresponder a H-3'. Estas características espectroscópicas y el análisis del espectro de RMN¹³C (espectro 24) permiten determinar la estructura del *rel*-(3'*S*)-3',8'-dihidrodistililido (**45**) como producto de reacción. La estereoquímica del centro quiral en C-3' fue confirmada por la ausencia de señal de correlación entre su hidrógeno y H-7 en el experimento NOESY.

2). En THF se obtiene el producto epimérico en C-3' de 45, el *rel*-(3'*R*)-3',8'-dihidrodistigustilido (**4**) de acuerdo con la observación del mismo peso molecular y prácticamente las mismas propiedades espectroscópicas en UV e IR (espectro 25) para el compuesto obtenido, sin embargo, en RMN¹H (espectro 26), los hidrógenos vinílico y base de lactona resuenan en δ 5.18 (H-8) y δ 5.11 (H-3'), respectivamente. El desplazamiento a campo bajo de H-3' está de acuerdo con el efecto desprotector del grupo carbonilo C-1 estableciendo la configuración *R* en este carbono. La configuración en este centro quiral fue confirmada por la observación de señal de correlación entre H-3' y H-7 en el experimento NOESY para este compuesto (figura 8). Los datos obtenidos a partir del espectro de RMN¹³C (espectro 27) para este compuesto están de acuerdo con la estructura molecular propuesta.

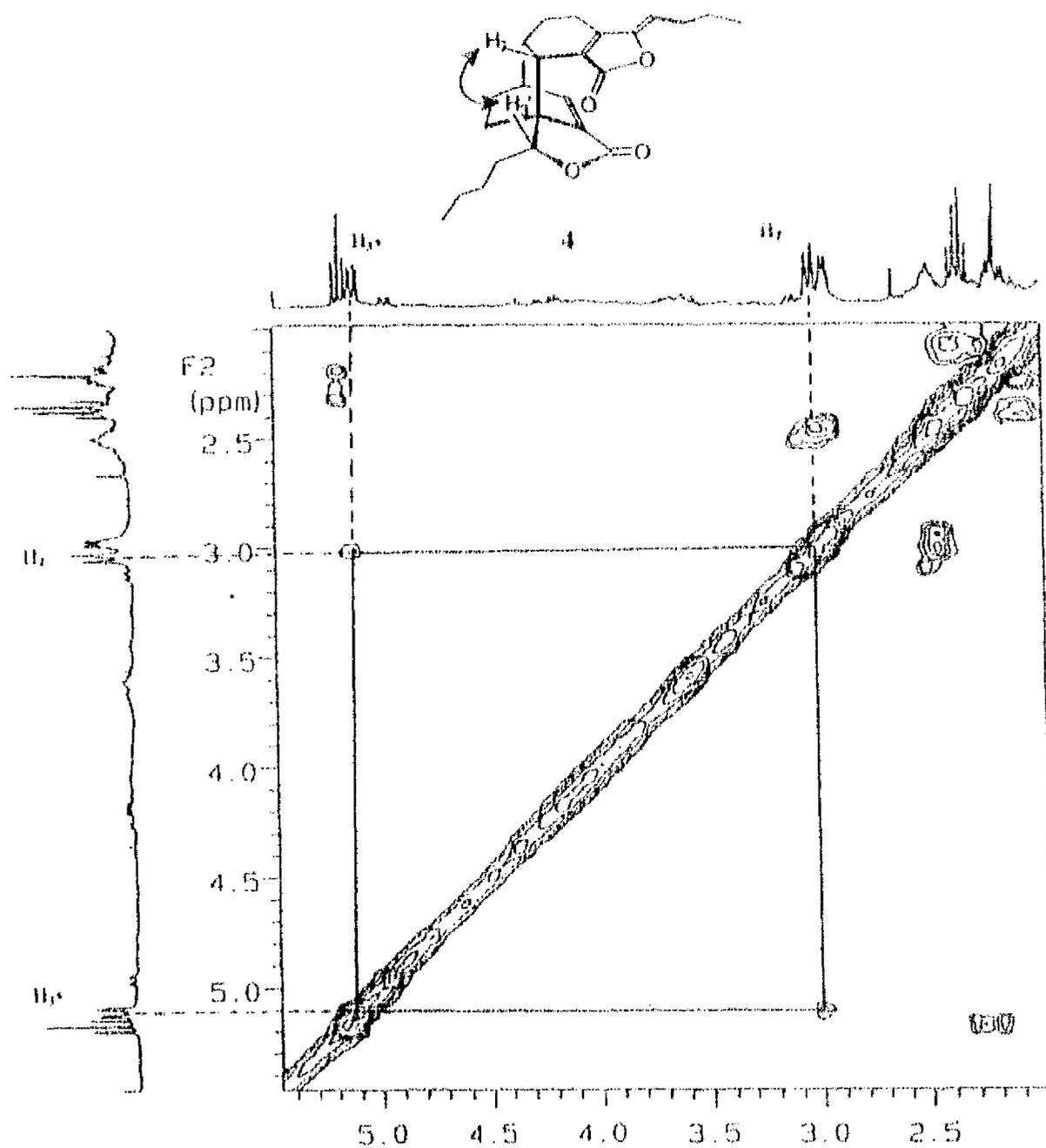
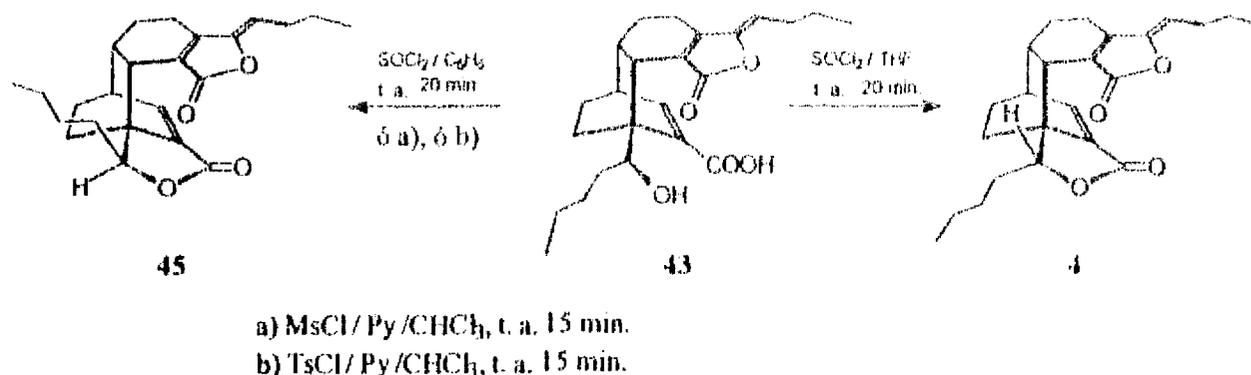


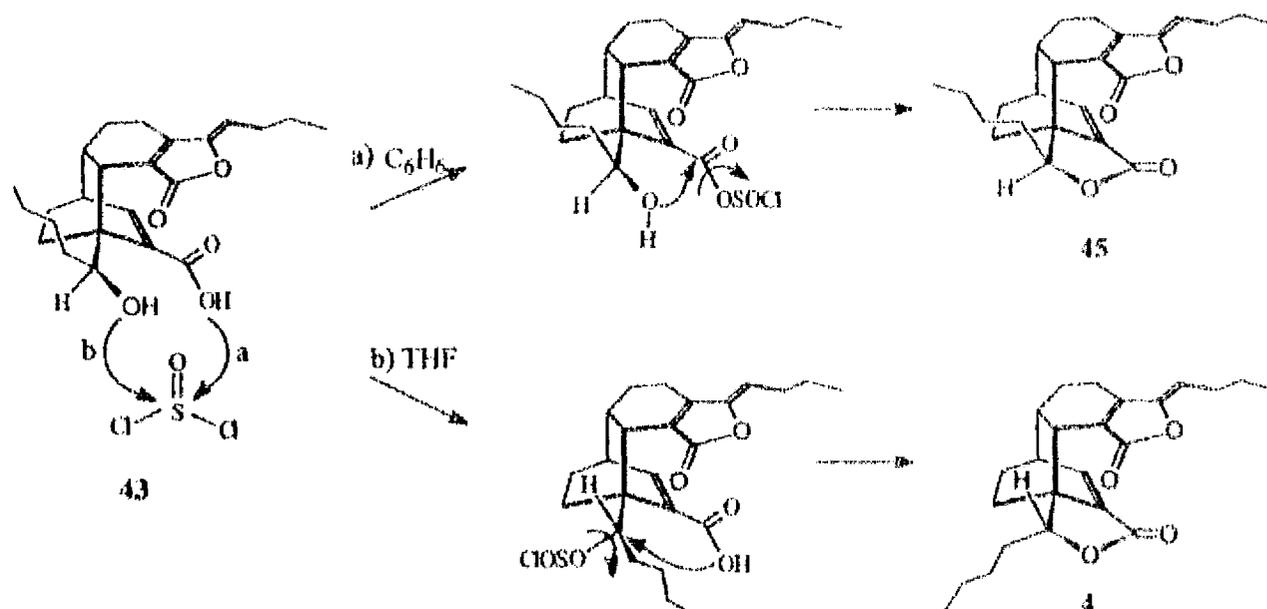
Figura 8. Correlación entre H-3' y H-7 de 4 en el experimento NOESY

Cabe mencionar que la transformación de 43 en sus correspondientes productos lactonizados es cuantitativa, y que las dos rutas mencionadas producen selectivamente el epímero indicado (esquema 30).



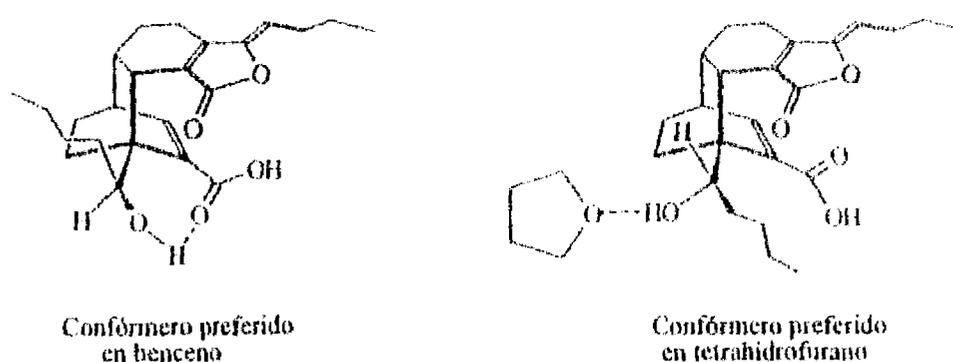
Esquema 30. Obtención estereoespecífica de 45 ó 4 por efecto del disolvente

La estereoselección observada puede explicarse mediante los mecanismos de reacción indicados en el esquema 31. Para los casos en los que fue utilizado cloruro de tosilo, cloruro de mesilo y cloruro de tionilo en benceno, el mecanismo de reacción es mostrado en la ruta a de este esquema, en la cual ocurre la activación del grupo ácido mediante la formación del anhídrido mixto correspondiente y posterior ataque al carbonilo por parte del grupo hidroxilo en C-3', para generar en los tres casos 45. Cuando se utiliza THF, el grupo hidroxilo se supone orientado al exterior de la molécula encontrándose disponible a la activación por parte del cloruro de tionilo; en este caso, el ataque del hidroxilo del ácido carboxílico provoca la inversión de la configuración en el centro quiral C-3', obteniéndose el producto deseado 4.



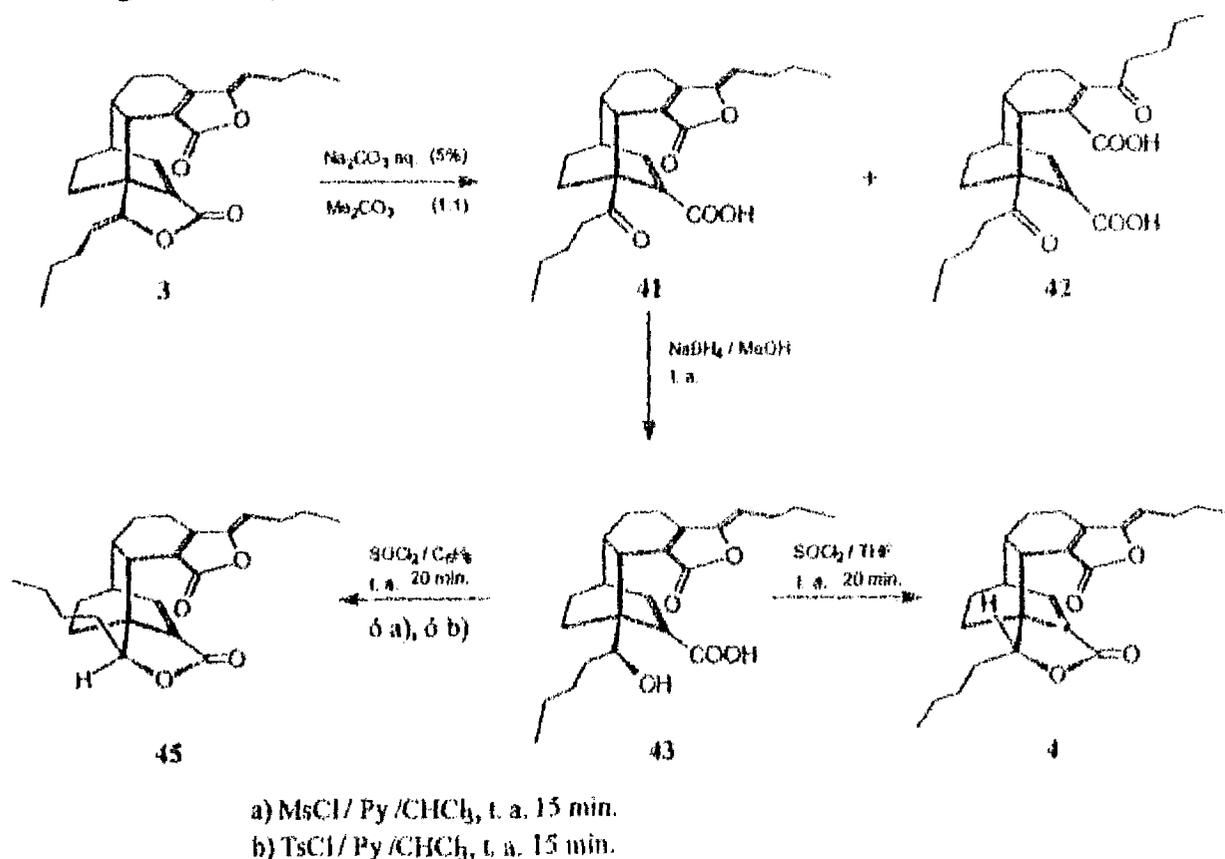
Esquema 31. Mecanismo de lactonización en la obtención de 45 y 4

La diferencia en el comportamiento químico de **43** con el cambio de disolvente en la reacción de lactonización puede explicarse mediante el análisis conformacional de este compuesto en ambientes diferentes de polaridad. Así, en un disolvente poco polar (benceno), el grupo hidroxilo en C-3' se orientará preferentemente orientado al interior de la molécula, posiblemente formando un puente de hidrógeno con el carbonilo del ácido carboxílico, por lo que se encontrará poco disponible a la activación por parte del electrófilo (cloruro de tionilo, *inter alia*). En un disolvente de mayor polaridad (THF), este hidroxilo se podrá orientar al exterior de la molécula, formando un puente de hidrógeno con el disolvente, pudiendo reaccionar con el electrófilo (esquema 32).



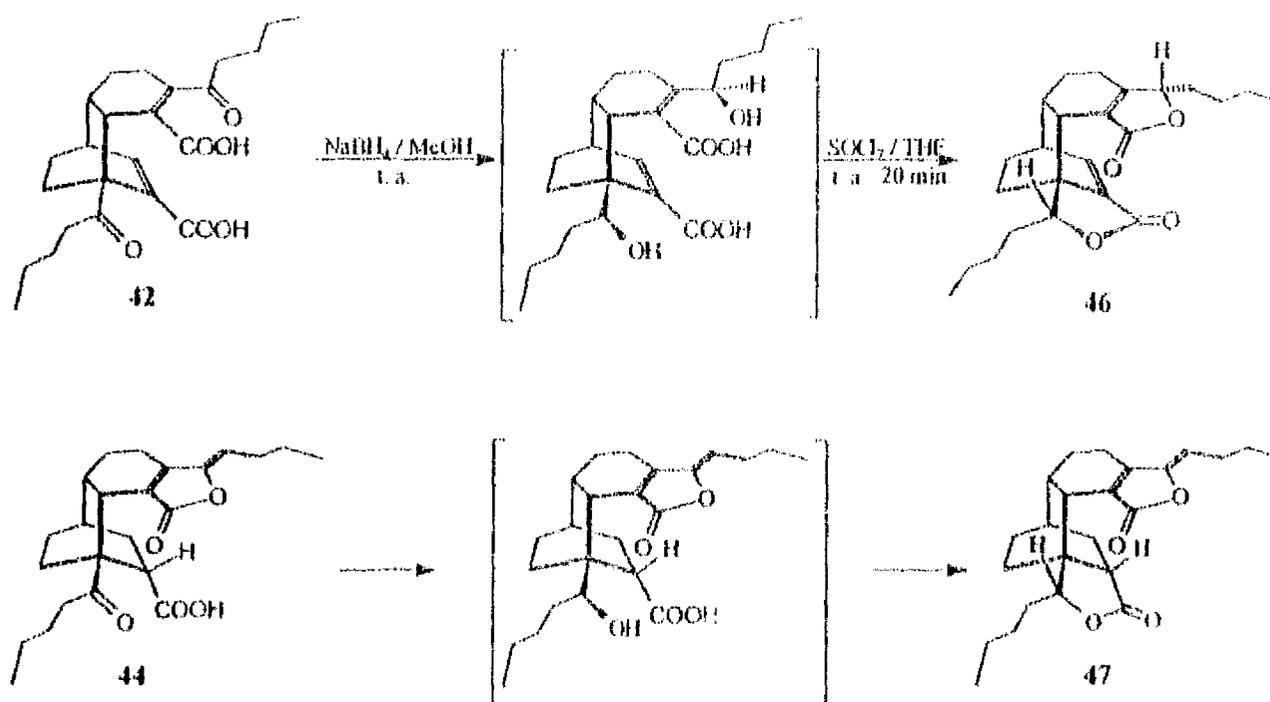
Esquema 32. Análisis conformacional de **43 en benceno y tetrahidrofurano**

El esquema 33 muestra la correlación exitosa entre diligustilido (**3**) y *rel*-(3'*R*)-3',8'-dihidrodiligustilido (**4**).



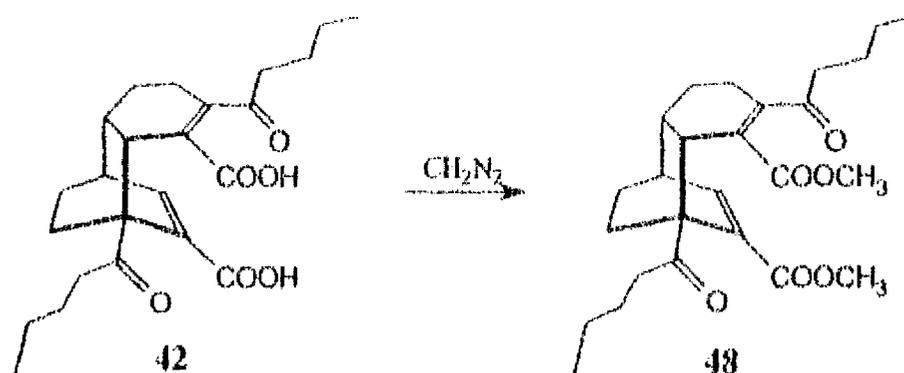
Esquema 33. Correlación diligustilido (3**) \rightarrow *rel*-(3'*R*)-3',8'-dihidrodiligustilido (**4**)**

Las reacciones de reducción y lactonización (SOCl_2 en THF) fueron aplicadas a **42**, lo que permitió obtener *rel*-(3'*R*)-3(*S*)-3',8'-3,8-tetrahidrodiligustilido (**46**), (espectros 28 y 29), y a **44**, que permitió la obtención de 3'(*R*)-3',8'-7'a(*S*)-7',7'a-tetrahidrodiligustilido (**47**), (espectro 30). Ambas reacciones se ilustran en el esquema 34. La estereoquímica de los centros quirales en **46** puede proponerse de manera análoga por el análisis conformacional propuesto en el esquema 31.



Esquema 34. Reacción de lactonización de 42 y 44 en THF

Adicionalmente, la reacción de metilación con diazometano de **42** permitió la obtención del diéster metílico correspondiente **48** (espectros 31 y 32, esquema 35).

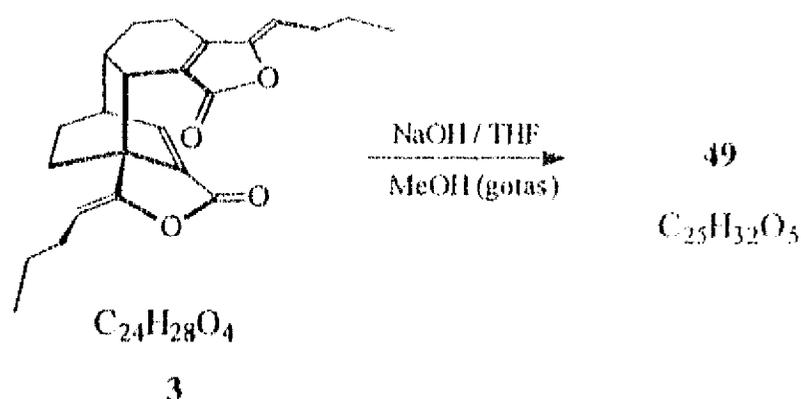


Esquema 35. Metilación de 42 con diazometano

B.2) Condensaciones Aldólicas Intramoleculares del Diligustilido (3) en Medio Alcalino.

Como se mencionó anteriormente, durante el proceso de obtención de 41 a partir de 3 se presentó el inconveniente de la formación de 42 como producto indeseado (esquema 26). La presencia de este compuesto puede ser explicada por la apertura de la lactona $\alpha,\beta,\gamma,\delta$ -insaturada de 41 por acción del agua en presencia de un exceso de base. En los intentos tendientes a optimizar la *situ*-selección en la apertura de las lactonas y de obtener exclusivamente 41 como producto de la hidrólisis, 3 fue disuelto en THF y puesto a reaccionar con una cantidad equivalente de NaOH. A fin de aumentar la solubilidad de la base en el THF, fueron adicionadas gotas de metanol al seno de la reacción.

La reacción de 3 bajo estas condiciones permitió la obtención de un solo producto de reacción, consumiéndose totalmente la materia prima. El compuesto obtenido presentó por espectrometría de masas un peso molecular de 412, correspondiente a una fórmula molecular $C_{25}H_{32}O_5$, no concordante con la estructura del producto esperado 41 ($C_{24}H_{30}O_5$), y que permite deducir la adición de metanol (esquema 36).



Esquema 36. Adición de metanol a 3

El máximo de absorción obtenido en el espectro de UV para este compuesto es $\lambda_{\text{máx}}$ 222 nm, que puede ser atribuido a la presencia de una cetona α,β -insaturada. Es importante notar la ausencia del máximo de absorción en $\lambda_{\text{máx}}$ 273 nm, correspondiente a la presencia de la lactona $\alpha,\beta,\gamma,\delta$ -insaturada en la materia prima 3.

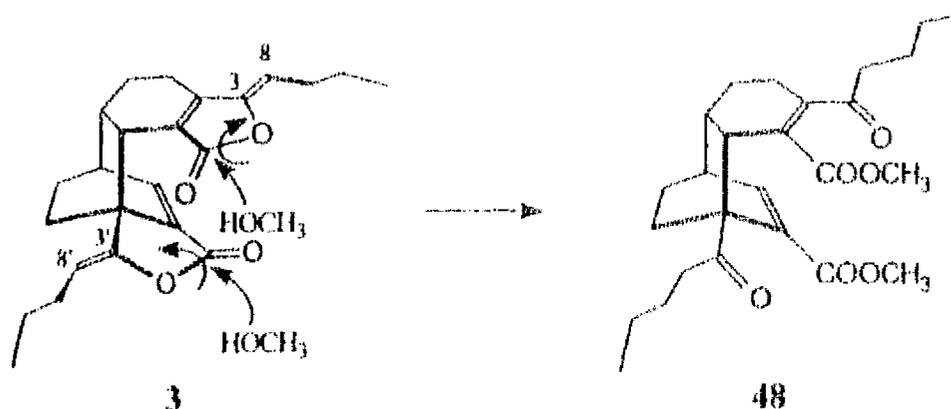
En IR, esta sustancia presenta bandas de absorción en 3435, 1721, 1676, 1612, y 1437 cm^{-1} , características para grupo hidroxilo, carbonilo de éster, carbonilo α,β -insaturado y dobles enlaces, respectivamente.

El análisis estructural de 3 (espectros 8 y 9) permite deducir la presencia de dos carbonilos de lactona, cinco carbonos cuaternarios sp^2 , tres carbonos terciarios sp^2 , un carbono cuaternario sp^3 , tres metinos sp^3 , ocho metilenos y dos metilos.

En el experimento DEPT del espectro de RMN¹³C (espectro 34), el compuesto **49** muestra la presencia de tres carbonilos, dos de ellos de cetona [207.80 (s) y 206.55 (s)] y uno de éster [169.32 (s)], tres carbonos cuaternarios sp², un carbono terciario sp², un carbono cuaternario sp³, cinco metinos sp³, ocho metilenos y dos metilos, además de un carbono cuaternario geminal a oxígeno [81.75 (s)], y el metilo de un grupo éster [51.84 (c)].

La diferencia entre la materia prima (**3**) y el producto de reacción radica en la generación de (a) dos carbonilos de cetona, (b) dos metinos sp³, (c) un carbono cuaternario geminal a oxígeno, y (d) un metilo de éster, y de la ausencia de (a) los carbonilos lactónicos, (b) dos carbonos cuaternarios sp² y (c) dos carbonos terciarios sp².

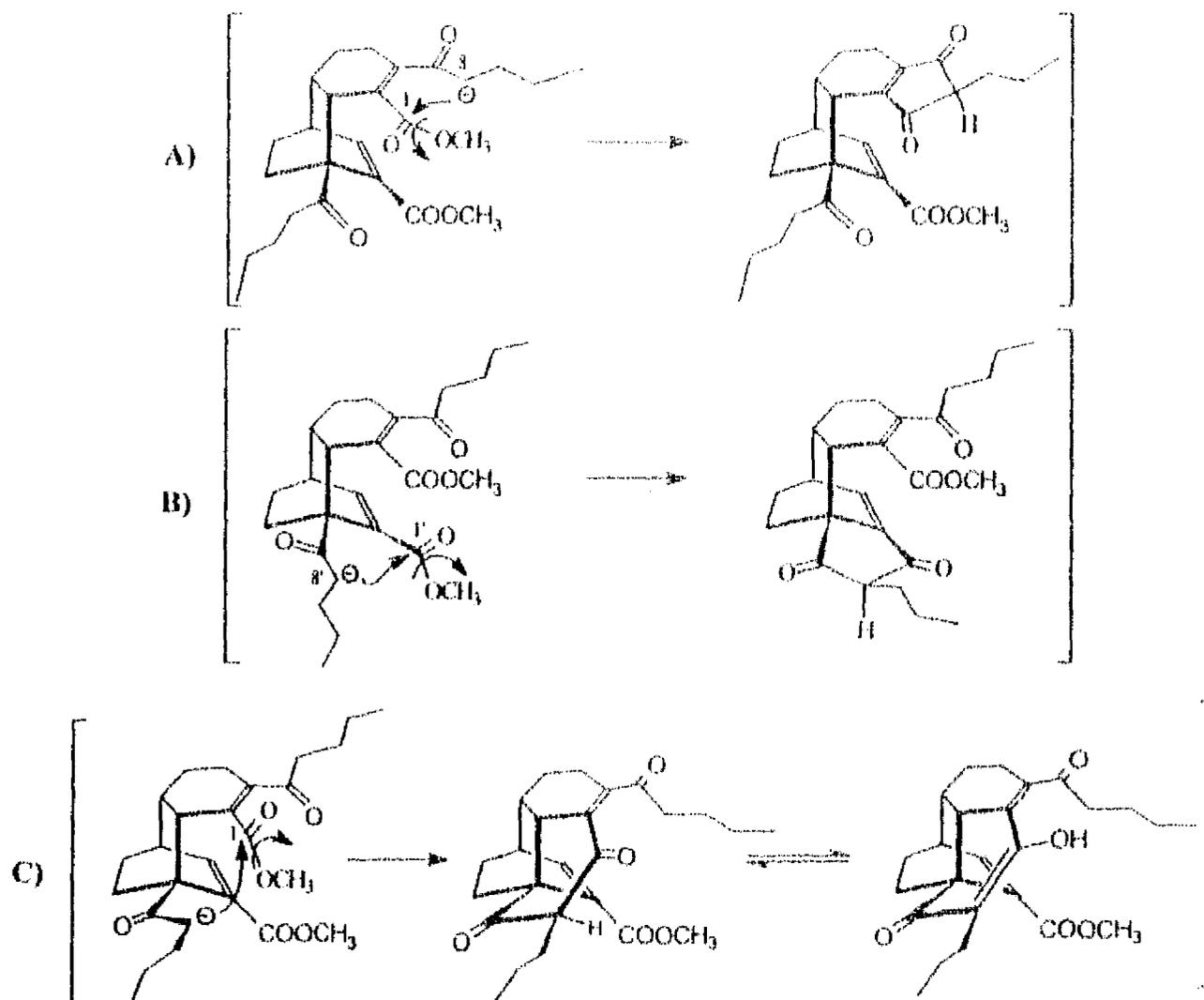
La apertura de cualquiera de las lactonas en **3** permite la formación de un enol que inmediatamente se equilibra a la cetona correspondiente, lo que permite explicar la transformación de los dos carbonos cuaternarios sp² C-3 y C-3' en dos carbonilos de cetona en el producto (esquema 37).



Esquema 37. Metanólisis de 3

La desaparición de las señales para dos carbonos terciarios sp² correspondientes a C-8 y C-8' y su transformación en dos metinos sp³ implica que los dos metilenos generados como resultado de la reacción anterior (y α a carbonilos cetónicos) se vean involucrados en una reacción ácido-base con sustracción de uno de los protones de cada carbono (el número de metilenos tanto en **3**, como en el producto es ocho).

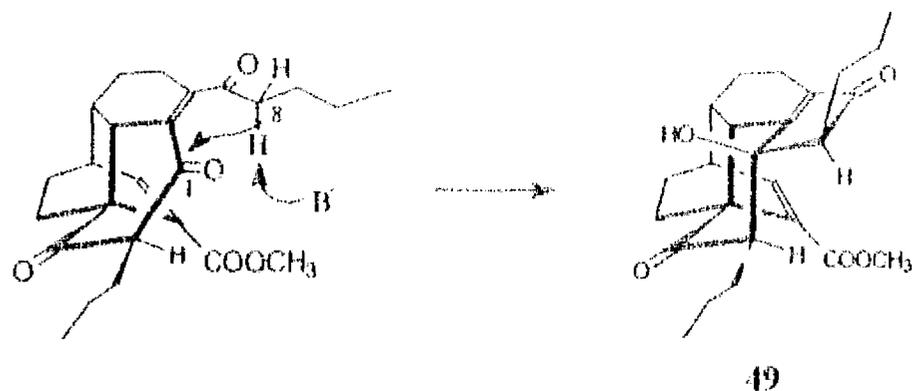
Por razones estereoquímicas, para el carbanión generado sobre C-8, C-1 se constituye como posible centro electrofílico, permitiendo la formación de una 1,3 dicetona en anillo de cinco miembros (ruta A, esquema 38), mientras que existen dos posibles sitios de reacción para el carbanión generado sobre C-8': el carbonilo C-1' con lo cual también se generaría una 1,3 dicetona en anillo de cinco miembros (ruta B, esquema 38), y el carbonilo C-1, que conduce a la formación de un anillo de seis miembros que puede adoptar conformación de pseudosilla (ruta C, esquema 38). En cualquiera de los tres casos, se explica la pérdida de uno de los grupos éster y la transformación de su carbonilo de éster a un grupo cetona.



Esquema 38. Posibles sitios reactivos en condensaciones aldólicas intramoleculares.

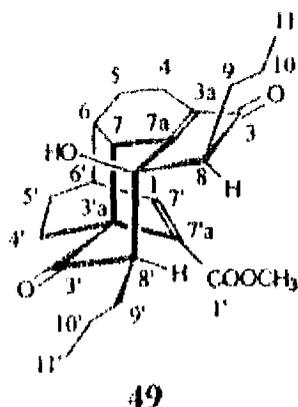
Los intermediarios generados por las rutas A y B, indicadas en el esquema 38, poseen grupos éster que continuarían reaccionando en estas condiciones, en tanto que en el producto obtenido posee un éster metílico. Este hecho, aunado a la estabilidad de los anillos de seis miembros con respecto a los de cinco, aún en los intermediarios de reacción, hacen suponer que la ruta C es la que opera en el mecanismo de reacción.

La existencia de un carbono cuaternario geminal a oxhidrilo (este último evidenciado en IR), puede explicarse mediante la adición del carbanión generado sobre C-8 del intermediario propuesto en la ruta C al carbonilo C-1 (esquema 39).



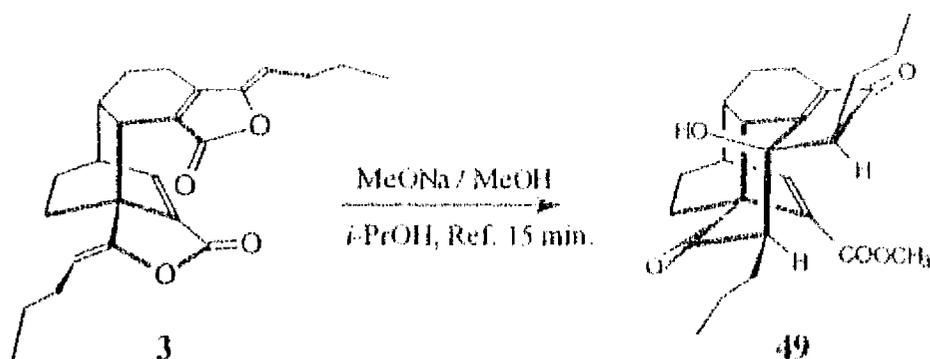
Esquema 39. Condensación tipo aldólica sobre C-1

La discusión anterior permite establecer la estructura 49 para este producto de reacción, donde las cadenas de propilo tienen orientación *exo* con respecto al sistema policíclico. La numeración para este compuesto siguiendo la numeración del diligustilido (3) se muestra en 49.



En el espectro de RMN¹H de 49 (espectro 33) es posible observar el doblete correspondiente a H-7' en δ 7.37, en δ 3.66 se observa la señal singulete debida al metilo del grupo éster. H-6', H-7 y H-6 presentan señal de resonancia en δ 2.92, 2.89 y 2.40, y finalmente, en δ 2.52 y δ 2.27 aparecen las señales de H-8 y H-8'. La discusión sobre la asignación de los desplazamientos químicos, tanto en hidrógeno, como en carbono trece para este compuesto se encuentra en la página 51.

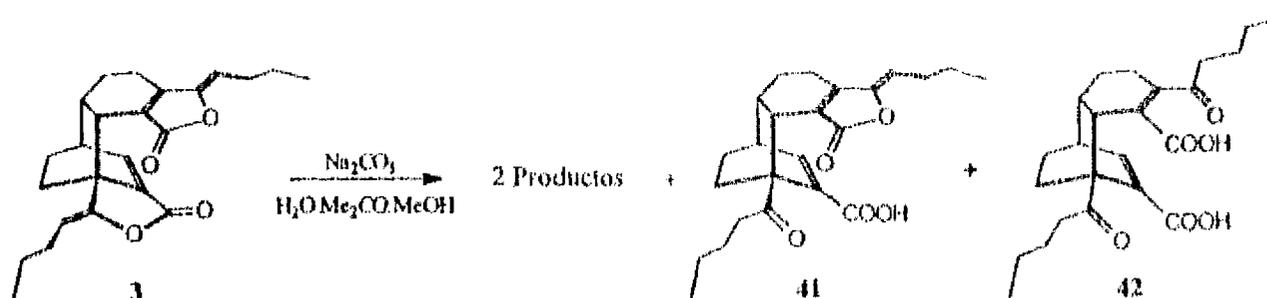
Un segundo método de obtención de 49 consiste en tratar 3 con un equivalente de metóxido de sodio en metanol, utilizando isopropanol como disolvente. Bajo estas condiciones la reacción solo requiere quince minutos de reflujo, pero presenta el inconveniente de que genera componentes minoritarios, obteniéndose el producto solo en un 84 % de rendimiento (esquema 40).



Esquema 40. Segundo método de obtención de 49

Como se mencionó anteriormente, durante el proceso de obtención de **41** y **42** a partir de **3** (esquema 26), se presentaron problemas de solubilidad de la materia prima en el medio acuoso, razón por la cual fue necesaria la adición de codisolventes, encontrando que la mezcla idónea para efectuar dicha reacción es acetona-agua (1:1). Sin embargo, en ensayos de esta reacción utilizando como sistema disolvente la mezcla agua-acetona-metanol en diferentes proporciones fue posible observar la aparente formación de tres productos de reacción, los cuales fueron separados mediante cromatografía en columna. El desarrollo de este proceso cromatográfico permitió sin embargo la obtención de cinco productos de reacción, tres de los cuales presentan gran similitud en su comportamiento cromatográfico en capa fina.

La separación cromatográfica de la mezcla de reacción antes mencionada permitió resolver la mezcla total en cuatro componentes que revelaban de manera homogénea al análisis por CCF, de los cuales, los dos de mayor polaridad correspondieron precisamente a **41** y **42** (esquema 41). A continuación se describirá la elucidación estructural solo de los dos primeros componentes desconocidos de esta mezcla.



Esquema 41. Apertura en medio básico de los sistemas lactónicos de 3 en H₂O:Me₂CO:MeOH

Los dos componentes de menor polaridad manifestaron un comportamiento homogéneo en CCF y sólo mediante un análisis minucioso pudieron separarse. De ellos, el constituyente de menor polaridad presentó al análisis por RMN¹H (espectro 35) los parámetros espectroscópicos de **49** y señales atribuibles a un constituyente adicional (**50**). Aún cuando fue llevada a cabo una experimentación exhaustiva, no fue posible lograr la separación de esta mezcla cromatográficamente homogénea. Cabe mencionar que cuando **49** se obtiene en forma pura, presenta consistencia aceitosa y que repetidos intentos de cristalización fueron infructuosos. Sin embargo, en esta ocasión, la mezcla obtenida presentó formación espontánea de cristales, que fueron adecuados para llevar a cabo un análisis por difracción de Rayos X (figura 9). Este estudio permitió determinar que la muestra analizada estaba constituida, efectivamente, por **49** y el isómero **50**, cuya formación se explicará posteriormente.

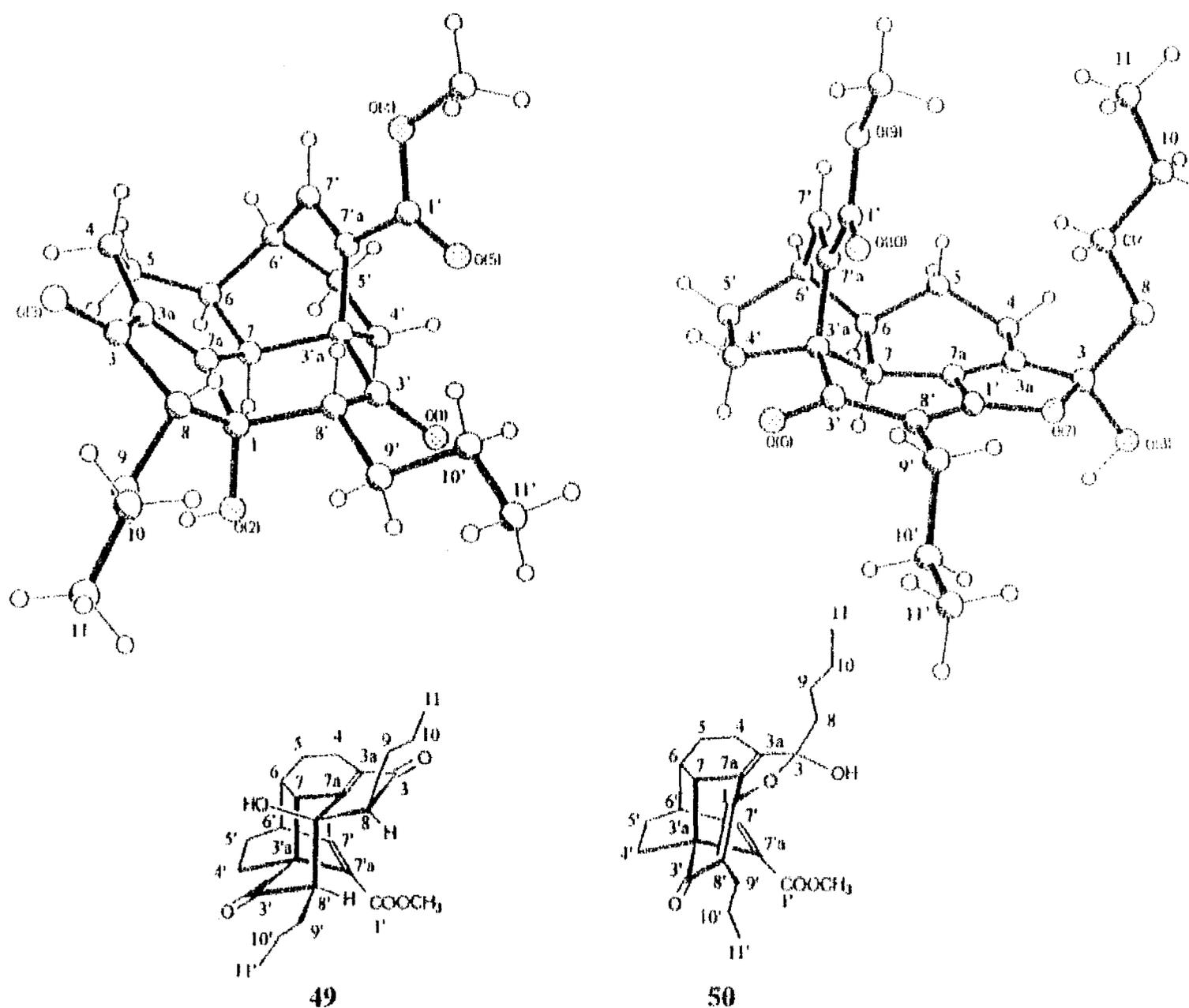


Figura 9. Difracción de Rayos X de 49 y 50

Como se mencionó anteriormente, los ftálicos son productos naturales que han sido aislados de su fuente natural como mezclas racémicas, registrando un valor de cero para la rotación óptica. Para este caso particular, el análisis del arreglo molecular entre **49** y **50** permite visualizar la presencia de ambos enantiómeros de cada compuesto en un arreglo alternado **49-50-49'-50'**, generado a través de la formación de puentes de hidrógeno entre: el oxígeno del carbonilo C(3') en **49** y el hidrógeno del hidroxilo sobre C(3) en **50**; el oxígeno del carbonilo C(3') en **50** y el hidrógeno del hidroxilo sobre C(1) en **49'**, el oxígeno del carbonilo en C(3') de **49'** con el hidrógeno del hidroxilo en C(3) en **50'**, y el oxígeno del carbonilo en C(3') de **50'** y el hidrógeno del hidroxilo en C(1) de **49'** (figura 10).

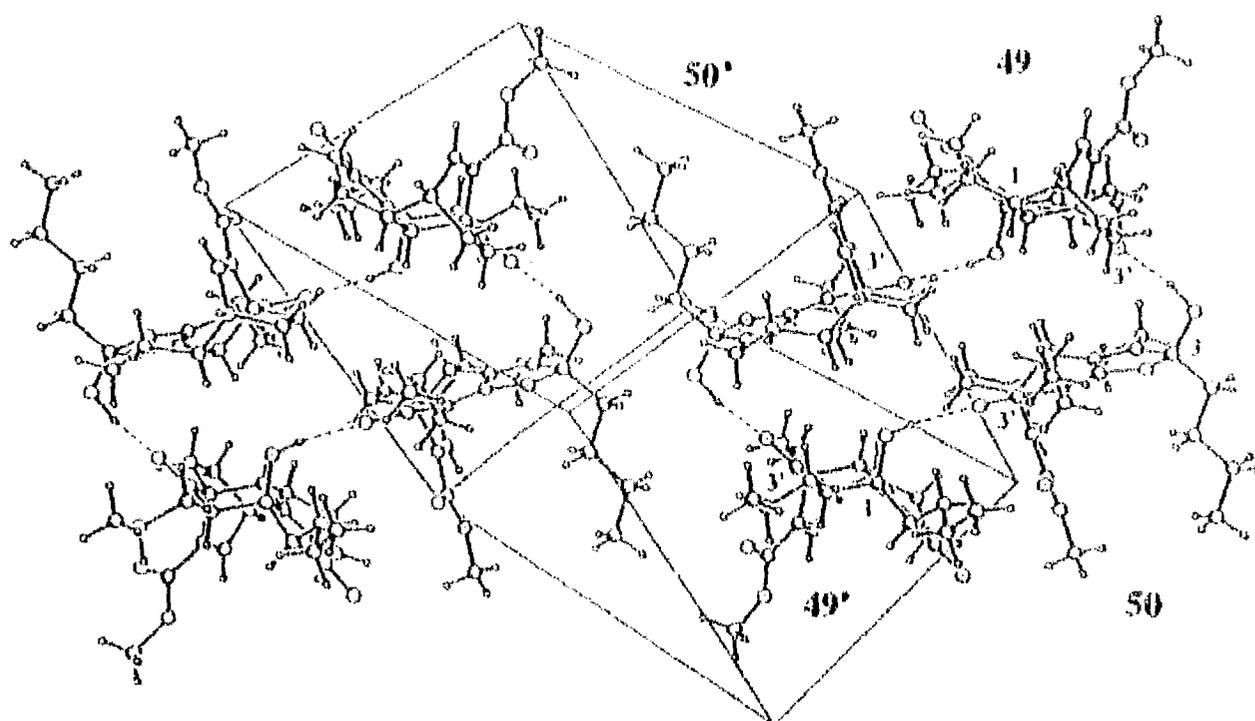


Figura 10 Estructura macrocíclica de la red cristalina formada por la mezcla de **49 y **50**.**

El segundo constituyente obtenido de esta reacción es un isómero de **49** y **50** y presenta en el espectro de IR las bandas de absorción de grupo hidroxilo, carbonilo de éster, carbonilo de cetona α,β -insaturada y dobles enlaces en 3589, 1711 y 1672 cm^{-1} , respectivamente. Adicionalmente, el máximo de absorción observado para este compuesto en el UV es de 228 nm, confirmando la presencia del carbonilo de cetona α,β -insaturada análogo a **49**.

En el espectro de RMN¹H (espectro 36) de **51** es posible observar el doblete correspondiente a C-7', desplazado en δ 7.36, y la señal simple de grupo metoxilo en δ 3.68. En RMN¹³C (espectro 37) se manifiesta el mismo número de carbonos cuaternarios, metinos, metilenos y metilos que en **49**, lo que permite suponer se trata de un estereoisómero del mismo.

Las diferencias más significativas al comparar los espectros de RMN¹H de **49** (espectro 34) y este producto de reacción (espectro 36) son el desplazamiento a campo bajo de la señal atribuida a H-8' que ahora resuena en δ 2.69 ($\Delta\delta = 2.69 - 2.27 = 0.42$ ppm) y un pequeño desplazamiento a campo alto de la señal debida a H-8 que se desplaza en δ 2.38 ($\Delta\delta = 2.38 - 2.52 = -0.14$ ppm). Las asignaciones de estas señales fueron realizadas tomando como criterio los datos obtenidos del experimento HMQC (figura 11), donde es posible observar la correlación existente entre los cinco carbonos doblete con hibridación sp³ y sus hidrógenos correspondientes. Específicamente, el carbono desplazado a campo más bajo, en δ 57.58, (asignado a C-8 en **49**) correlaciona con la señal en δ 2.38, en tanto que el carbono en δ 52.89 (C-8' en **49**) correlaciona con la señal en δ 2.69.

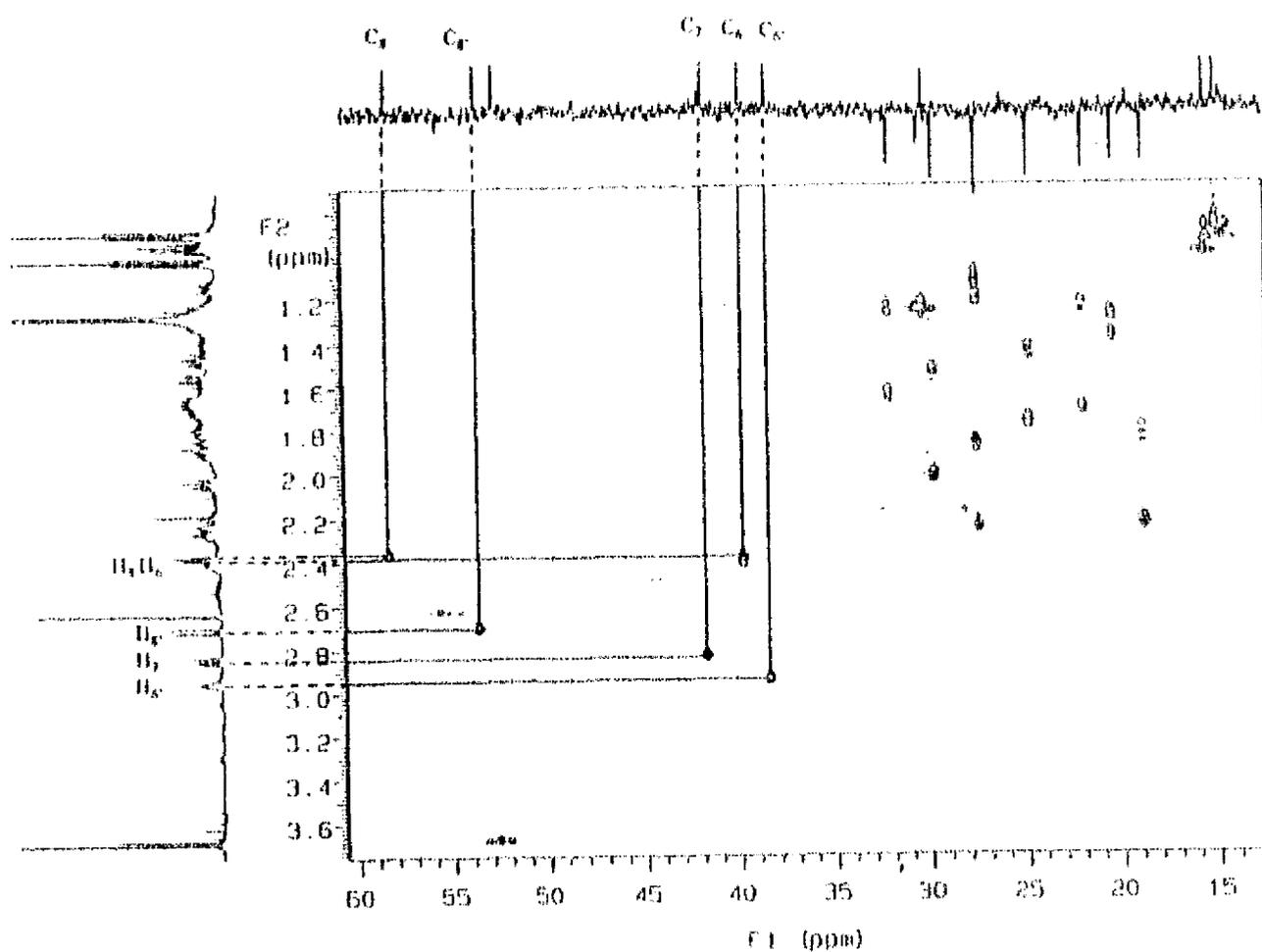
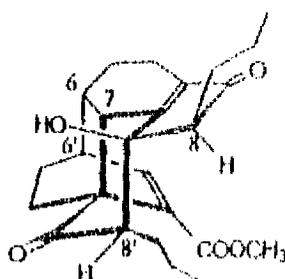


Figura 11. Experimento HMQC de **51**

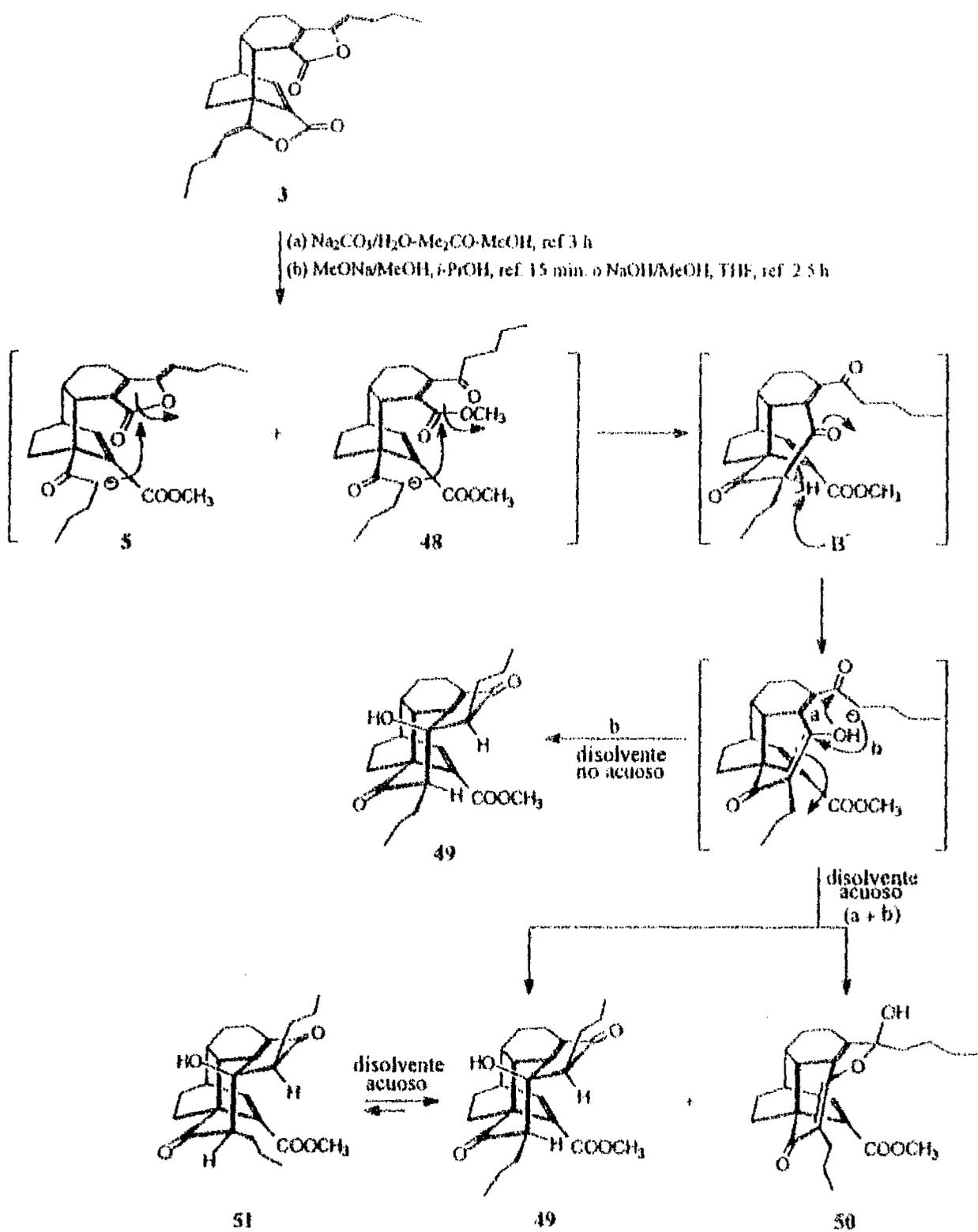
El desplazamiento a campo bajo de H-8' puede explicarse si se supone a este compuesto un epímero de **49** en este centro quiral, ya que la orientación de H-8' en el mismo lo obliga a acercarse al carbonilo que ejerce un efecto desprotector sobre el mismo. Por otra parte, el desplazamiento a campo alto de H-8 puede explicarse por un efecto de compresión por parte del propilo sobre C-8' sobre H-8. De esta manera puede proponerse la estructura **51** que es el epímero de **49**, para este producto de reacción.



51

Estos resultados permiten establecer que en sistemas no acuosos el producto de reacción preferido es aquel en el que está involucrada la reacción de C-alkilación (**49**), mientras que en sistemas acuosos existe competencia entre la C- y la O-alkilación (obtención de la mezcla **49** + **50**).¹⁰⁷ Asimismo, en estos sistemas **51** (considerado producto cinético) puede equilibrarse en tiempos largos de reacción a **49** (considerado producto termodinámico), como se indica en el esquema 42.

Estos hechos pueden explicarse tomando en cuenta que en sistemas no acuosos la carga negativa del carbanión generado en la reacción ácido base se localiza en el átomo menos electronegativo (carbono), que es entonces el adecuado para llevar a la adición nucleofílica. En medio acuoso, en cambio, el factor principal de la acidez de un hidrógeno es la estabilización por resonancia del anión que se genere como resultado de su sustracción; este mecanismo deslocaliza la carga negativa preferentemente hacia átomos más electronegativos que el carbono, en este caso oxígeno, que realiza la adición. Debido precisamente a este mecanismo en medio acuoso, H-8' puede ser sustraído por la base, llevando a cabo el equilibrio ceto-enol con C-3', lo que provoca la epimerización de **51** a **49**.



Esquema 42. Mecanismo de obtención de 49, 50, 51 a partir de 3

ASIGNACION EN RMN¹H Y RMN¹³C DE 49.

La relación estructural entre **3** y **49** permitió utilizar algunos de los datos espectroscópicos informados para **3** en la asignación de los desplazamientos químicos, tanto en ¹H como en ¹³C de **49**. Para la asignación del total de las señales en este último compuesto se utilizaron además los datos obtenidos de los experimentos COSY, HMQC y HMBC.¹⁹⁸

En el experimento COSY de **49** y por analogía con **3**, la señal de H-7', que se encuentra desplazada en δ 7.37 presenta correlación con el singulete amplio que resuena en δ 2.92, correspondiente por tanto a H-6', éste a su vez correlaciona con un multiplete con desplazamiento químico en δ 2.40, y que es asignado a H-6 (figura 12). En este mismo experimento H-6 presenta correlación con dos multipletes con δ 1.80 y δ 1.24, que deben corresponder por tanto a H-5a y H-5b (figura 13).

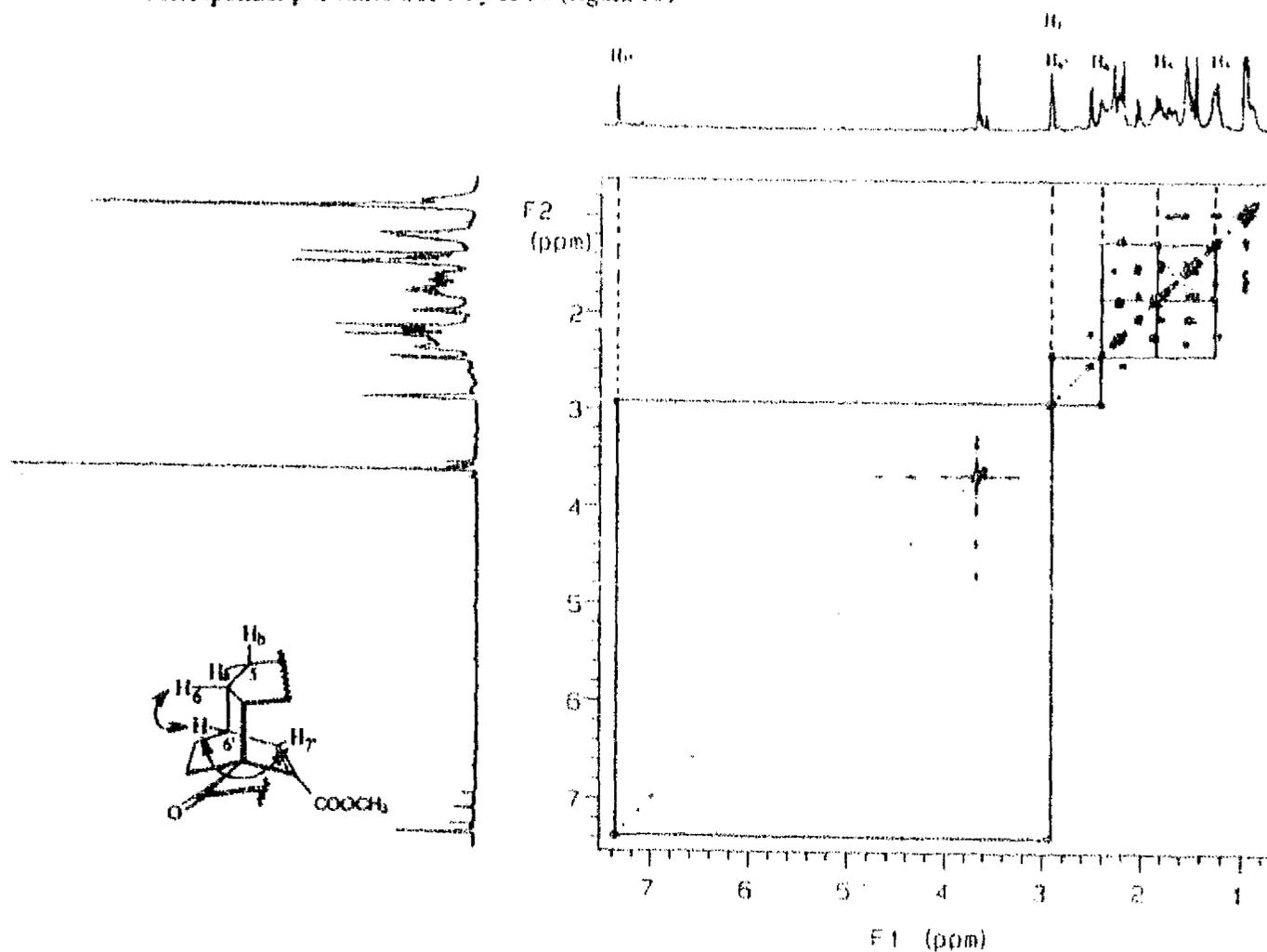


Figura 12. Fragmento del espectro COSY de **49**

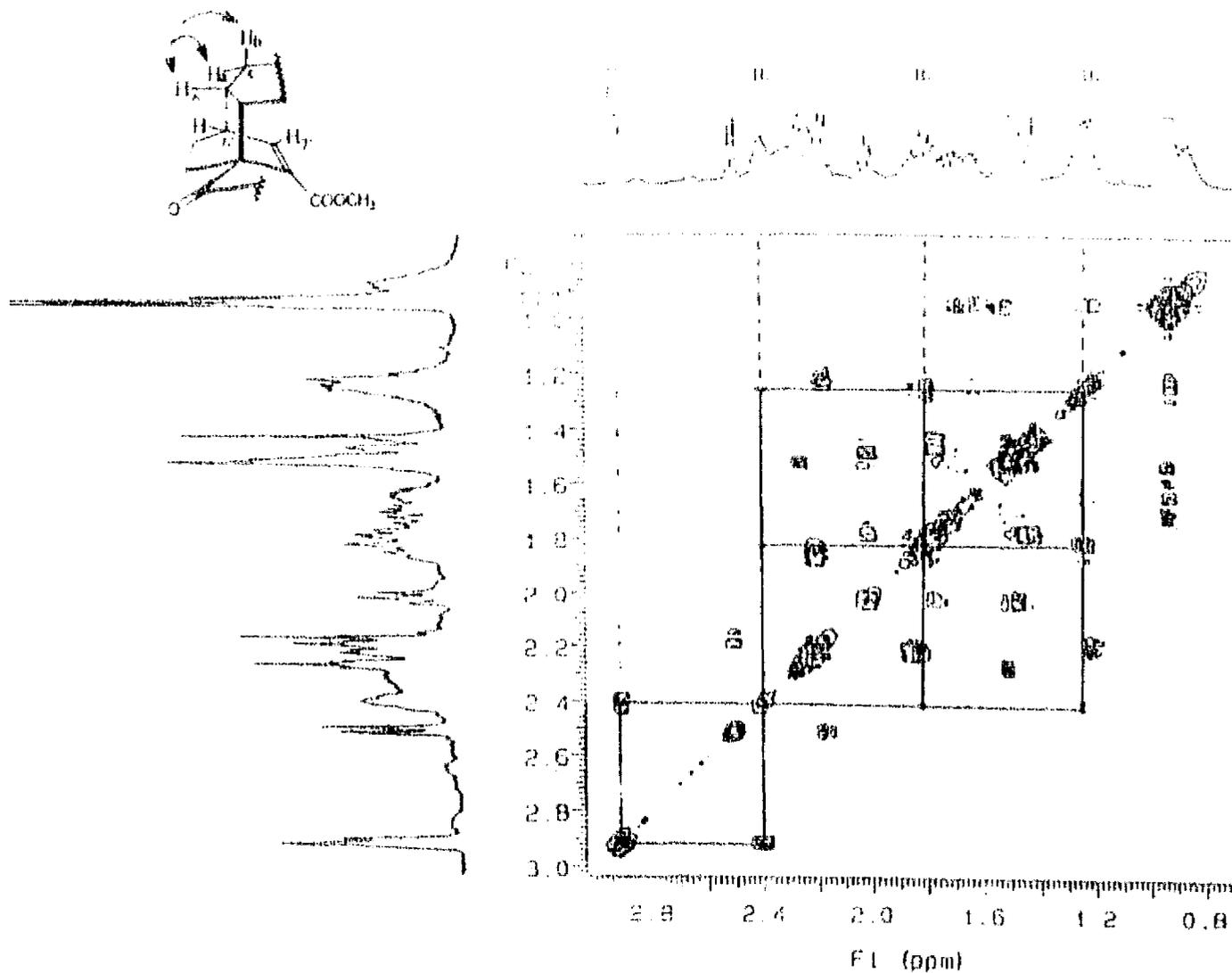
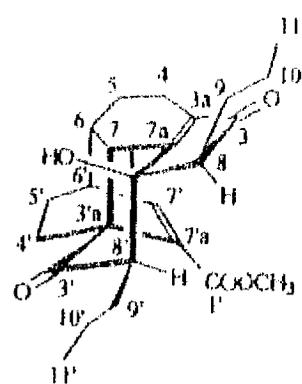


Figura 13. Fragmento del espectro COSY de 49

En el experimento HMQC¹⁰⁸ (figura 14), la señal debida a H-7' en RMN¹H presenta correlación con el carbono doblete que resuena en δ 148.63 (C-7'), en tanto que H-6' y H-6 correlacionan con los carbonos doblete con señal de resonancia en δ 37.66 (C-6') y δ 38.46 (C-6), respectivamente; las señales asignadas a H-5a y H-5b correlacionan con el carbono con δ 26.20 (C-5). El carbono en δ 40.55 correlaciona con el singulete amplio en δ 2.89 y corresponde, por tanto, a C-7.

En esta misma figura es observable la correlación existente entre los dos carbonos doblete asignables a C-8 y C-8'. De esta manera, el carbono que resuena en δ 59.21 presenta señal de correlación con el doble de doble en δ 2.52, en tanto que el carbono en δ 54.24 correlaciona con el doble de doble en δ 2.27.



49

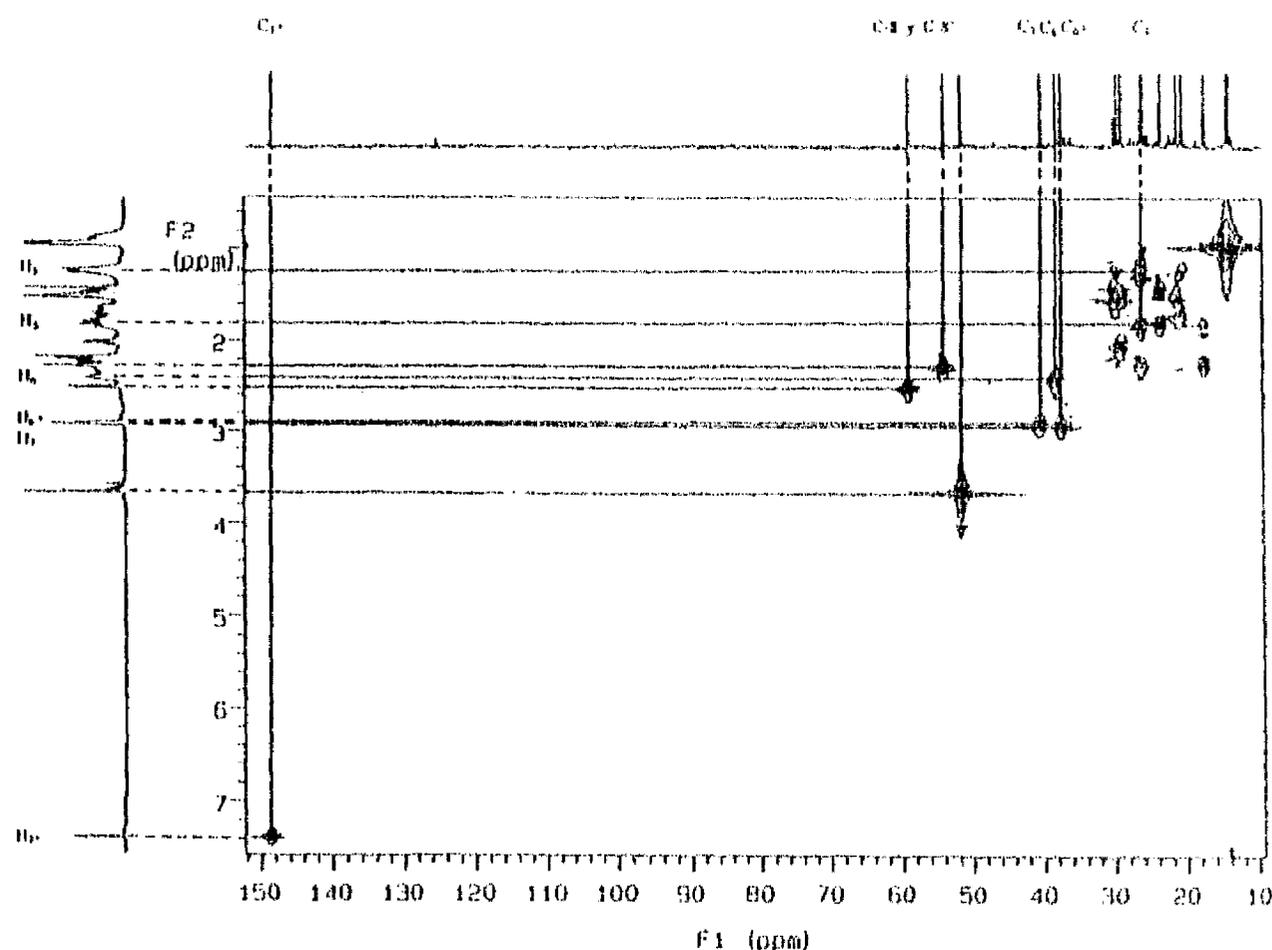


Figura 14. Fragmento del espectro HMQC de 49

En la figura 15 se muestra el espectro obtenido del experimento HMBC, que permite determinar la correlación existente entre un hidrógeno y los carbonos que se encuentren ubicados a dos y tres ligaduras σ del mismo¹⁰⁸ (en la discusión de este experimento se marcará con su número correspondiente al carbono situado en posición apropiada para presentar correlación y con flechas de doble punta las correlaciones observadas). En esta figura H-7' presenta tres señales de correlación: (a) con un singulete desplazado en δ 164.28 y que debe ser asignado por tanto a H-7'a, (b) con un singulete que resuena en δ 53.65 que debe corresponder a C-3'a y (c) con un doblete con señal de resonancia en δ 37.66 que anteriormente fue asignado a C-6' (estructura parcial A).

H-6' y H-7, que se encuentran prácticamente en el mismo desplazamiento químico (δ 2.90) presentan nueve señales de correlación, cinco de las cuales han sido previamente asignadas: el doblete debido a C-7', el singulete asignado a C-3', los dobletes de C-7 y C-6 y el triplete debido a C-5. De las cuatro correlaciones restantes tres son debidas a H-7 y son el singulete en δ 169.32 que por desplazamiento químico debe ser atribuido al carbonilo del grupo éster (C-1') y los singuletes en δ 138.43 y 134.95 que deben corresponder por tanto a C-7a y C-3a respectivamente. La cuarta correlación es debida a H-6' y es con un metileno desplazado en δ 29.25, que puede corresponder a C-4' ó C-5'. Estas últimas correlaciones se ilustran en la estructura parcial B de la figura 15.

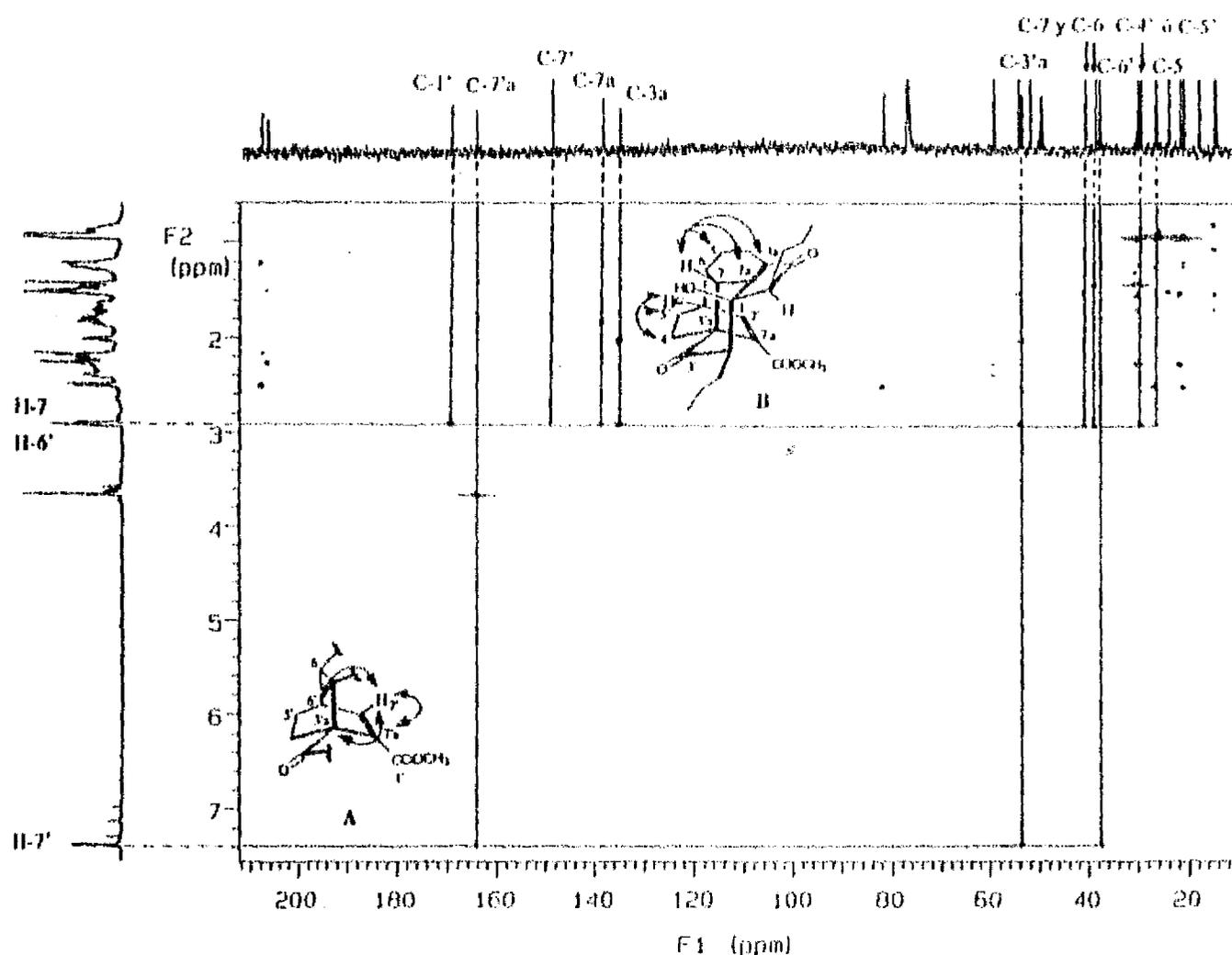


Figura 15. Experimento HMBC de 49

En este experimento el doble de doble δ 2.52 presenta tres señales de correlación: con la señal del carbonilo en δ 207.80, con el carbono cuaternario base de alcohol en δ 81.75 (C-1) y con los carbonos debidos a dos metilenos en δ 26.46 y δ 20.66. El doble de doble en δ 2.27 por su parte, correlaciona con la segunda señal de carbonilo en δ 206.55, con el doblete en δ 59.21 (C-8 ó C-8') y con dos metilenos en δ 29.88 y δ 21.38 (estructuras parciales A y B, figura 16).

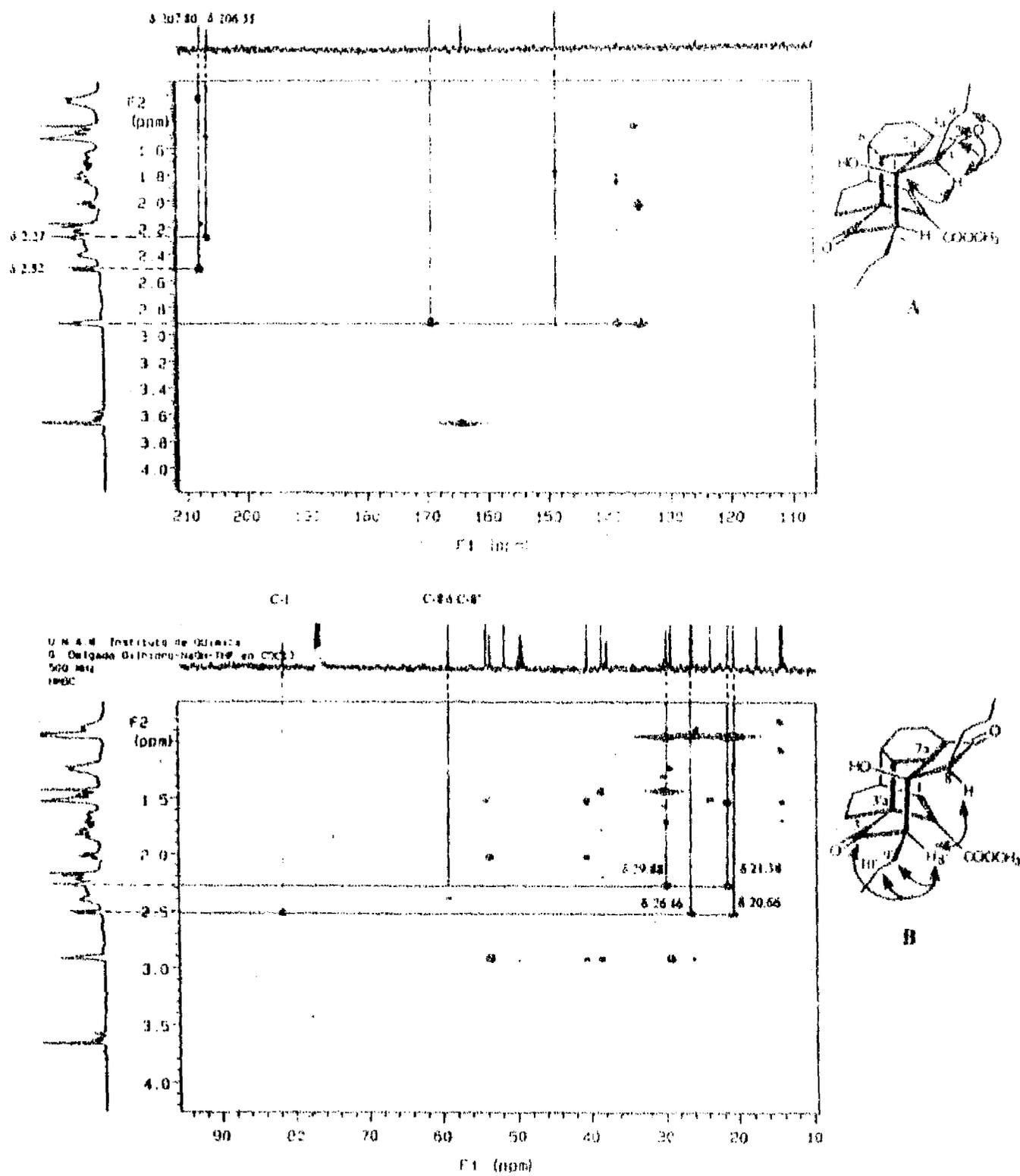
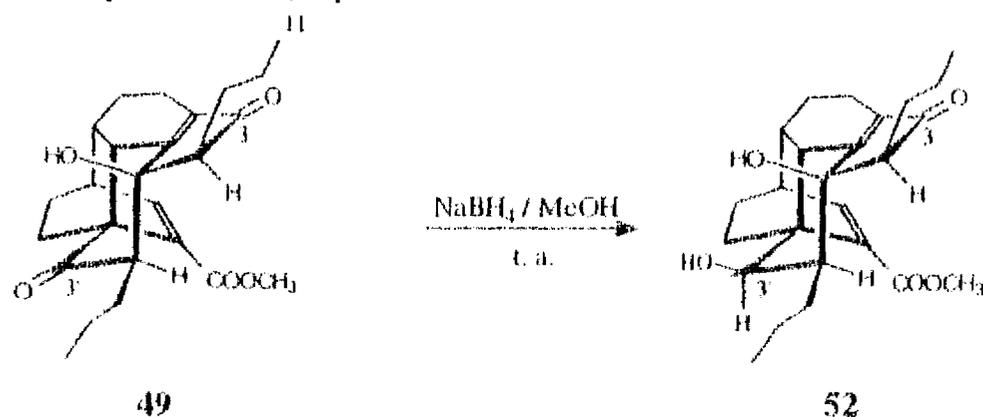


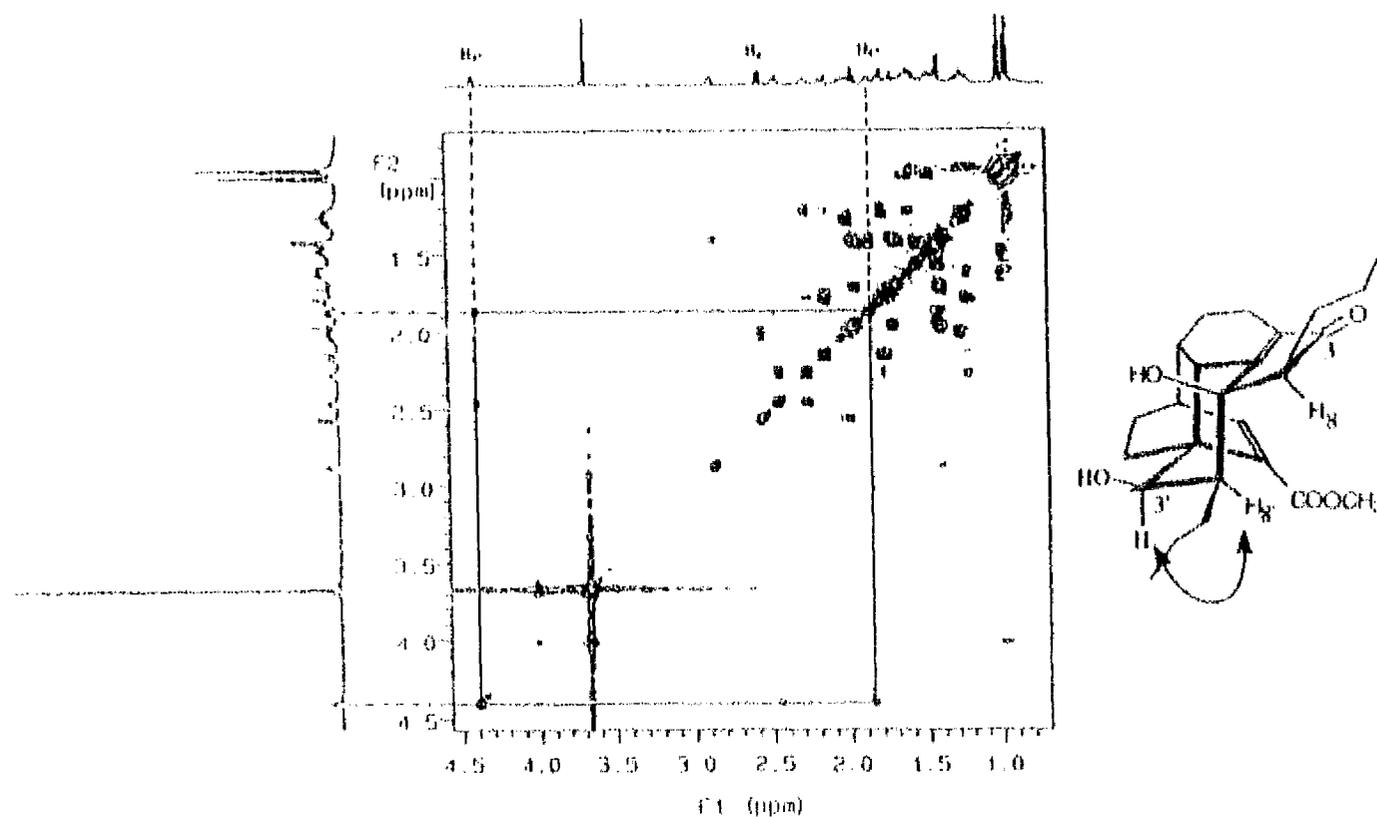
Figura 16. Experimento HMBC de 49

Con el fin de llevar a cabo las asignaciones inequívocas de estas señales, **49** fue sometido a reducción con NaBH_4 en metanol a temperatura ambiente,¹⁰⁵ lo que permitió obtener un producto de reacción. Este presentó un aumento en dos unidades de masa y un máximo de absorción en el UV en λ_{max} 220 nm, lo que indica la reducción del carbonilo C-3' para generar el producto **52** (esquema 43).



Esquema 43. Reducción de **49**

En el experimento COSY de **52** (figura 17), una señal en δ 4.40, atribuida al hidrógeno geminal al hidroxilo H-3' presenta correlación con una señal (doble de doble de doble), que integra para un hidrógeno centrada en δ 1.87, que debe corresponder a H-8', en tanto que la señal doble de doble debida a H₈ permanece prácticamente inalterada en cuanto a desplazamiento químico con respecto a **49**, localizándose en δ 2.57 ($\Delta\delta = 2.57 - 2.52 = 0.05$ ppm).



Corroborando lo anterior, en el experimento HMQC del compuesto **52** (figura 18), la señal en δ 1.87 (H-8') correlaciona con el carbono que resuena en δ 56.64, mientras que la señal con desplazamiento químico en δ 2.57 (H-8) correlaciona con el carbono en δ 61.49.

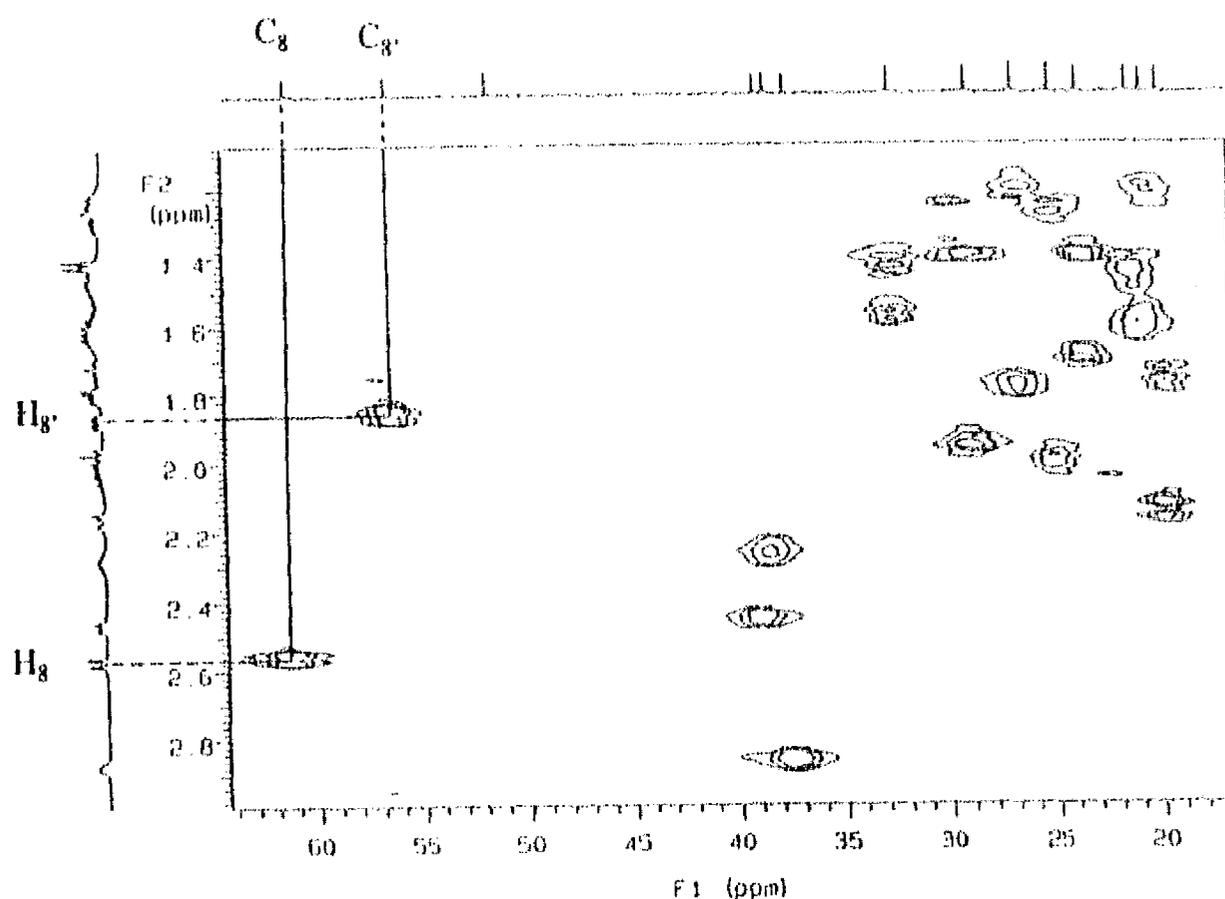


Figura 18. Experimento HMQC de 52

Esto permite concluir que para el compuesto **49**, la señal doble de doble que resuena en δ 2.52 corresponde a H-8 y que su carbono tiene un desplazamiento químico en δ 59.21. El doble de doble en δ 2.27 corresponde a H-8' y su carbono resuena en δ 54.24.

Por tanto, la señal del carbonilo en δ 207.80 corresponde a C-3 y los metilenos en δ 26.46 y δ 20.66 a C-9 ó C-10. Por otra parte, el carbonilo en δ 206.55 corresponde a C-3' y los metilenos en δ 29.87 y δ 21.38 a C-9' ó C-10'.

La asignación de estos cuatro carbonos puede hacerse si se toma en cuenta que H-8 de **52** presenta en el experimento COSY correlación con la señal múltiple en δ 2.22 que debe corresponder a H-9 y que este a su vez correlaciona con el multiplete en δ 1.27 asignable a H-10; en HMQC H-9 correlaciona con el carbono en δ 26.73 (C-9) y H-10 con el de δ 19.56 (C-10). Por su parte, H-8' correlaciona con el multiplete en δ 1.51, que corresponde a H-9' y cuya señal correlaciona en el HMQC con el carbono con δ 29.68 (C-9') encontrándose a C-10' desplazado en δ 21.13. Esto permite la asignación de los hidrógenos y carbonos de la cadena propilo de **52** (figura 19).

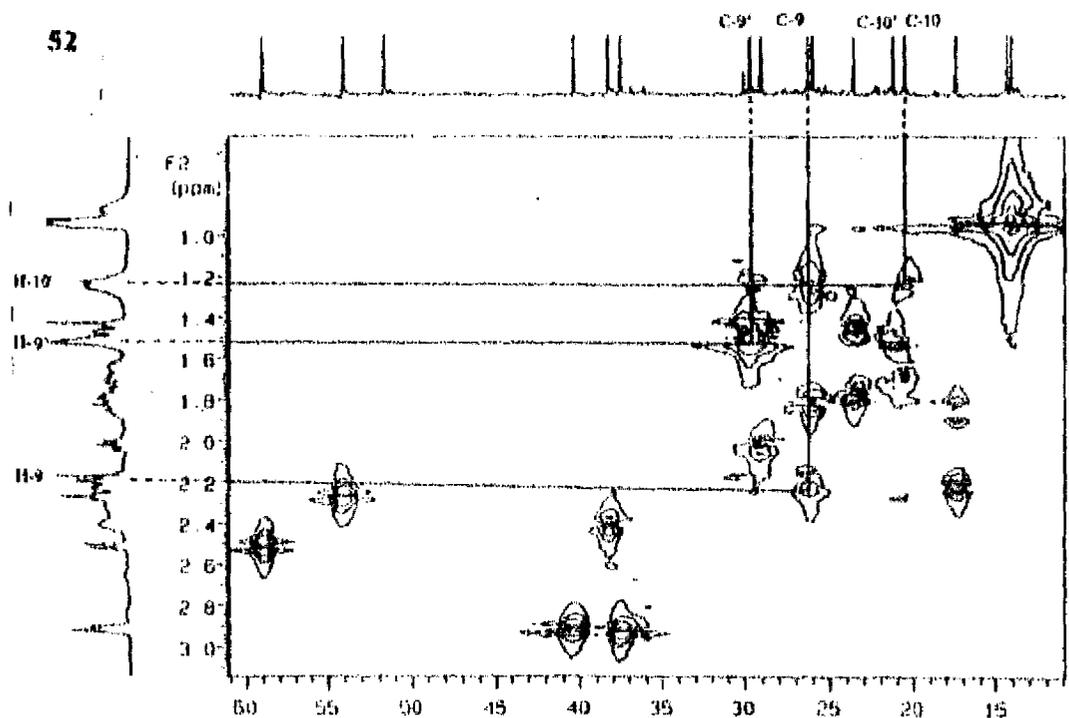
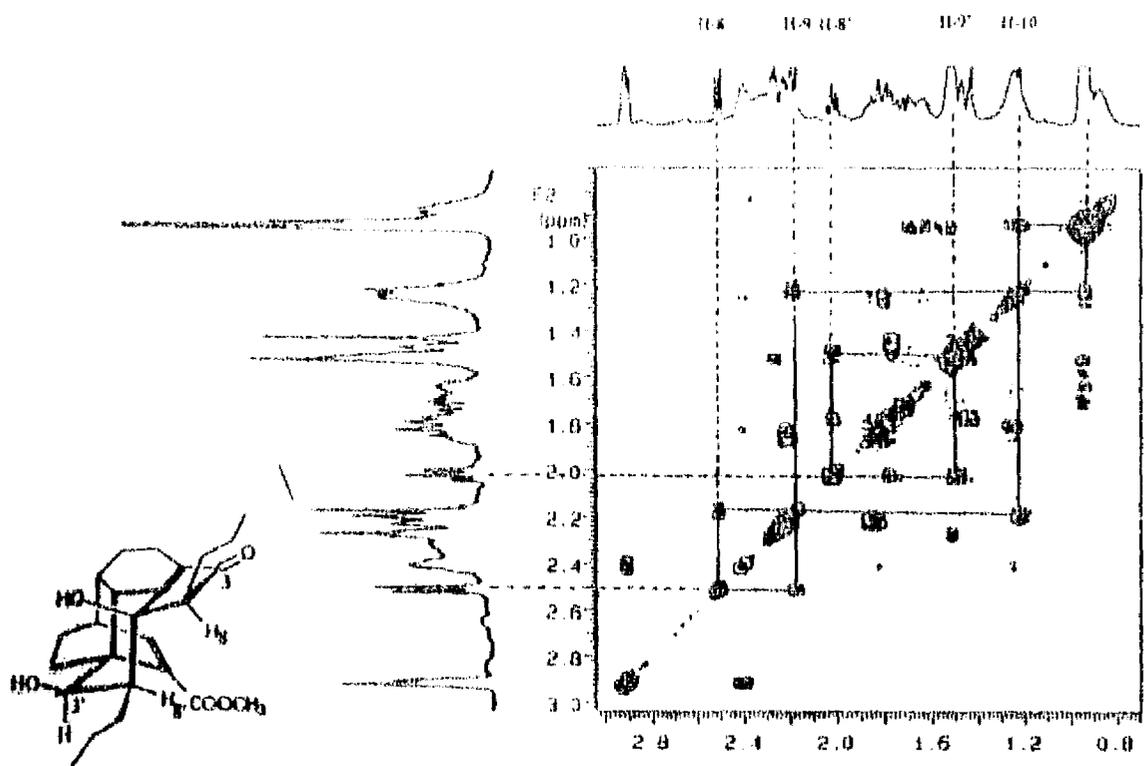
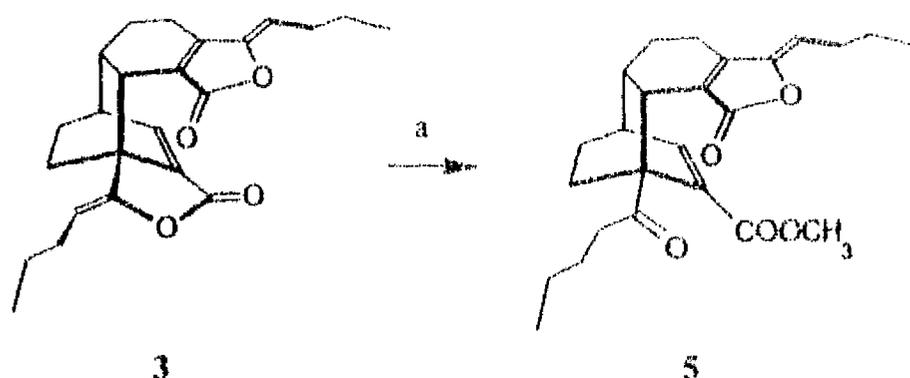


Figura 19. Experimento HMQC de 52

B.3) Correlación Química Diligustilido (3)-Wallichilido (5).

El wallichilido (5) fue aislado por primera ocasión en 1984 por un grupo de investigadores japoneses, a partir de las raíces de *Ligusticum wallichii*, mediante purificación por cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR), usando una columna Lichroprep RP-8 (Tipo C), una mezcla metanol-agua-ácido acético (200:40:1) como fase móvil y un flujo de 8 ml por minuto.¹³

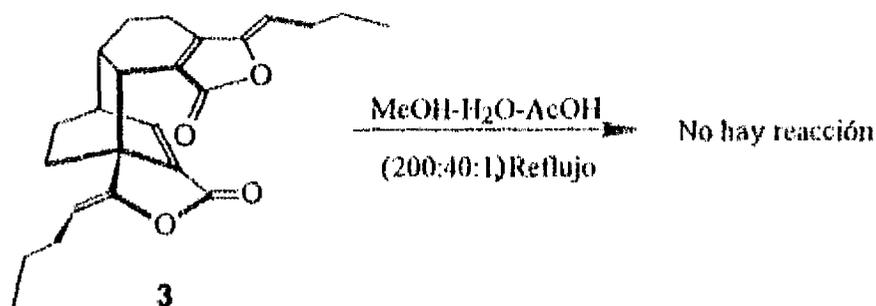
Las condiciones empleadas en el proceso de purificación de wallichilido (5) en CLAR y la relación estructural entre ambas moléculas, permiten suponer que probablemente 5 represente un artefacto de diligustilido (3), generado durante el aislamiento, mediante la apertura selectiva de la lactona fusionada al sistema bicyclo, por acción del metanol y la presión, como se indica en el esquema 44.



(a) MeOH-H₂O-AcOH (200:40:1), flujo de 8 ml/min.

Esquema 44. Posible reacción de metanólisis del diligustilido en CLAR.

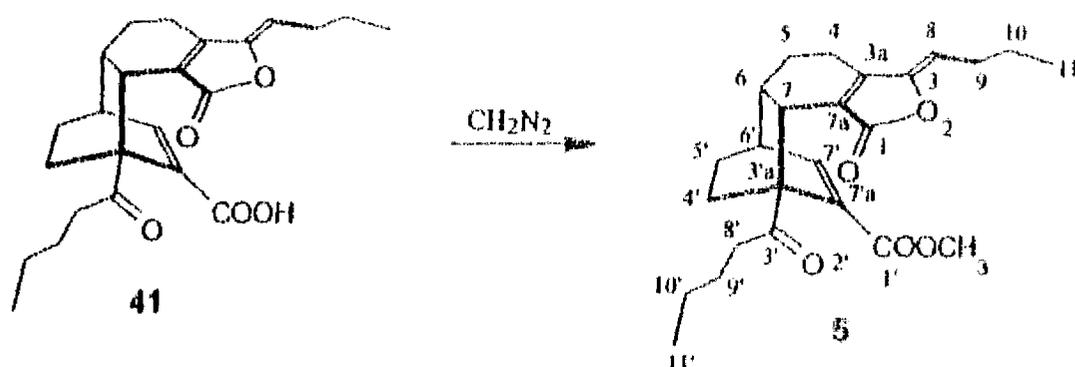
El tratamiento a reflujo de diligustilido (3) en la mezcla utilizada como sistema eluyente en su separación por CLAR [metanol-agua-ácido acético (200:40:1)], durante 2, 8, 16 y 24 h, no provoca la transformación de la materia prima. Este mismo experimento fue realizado a temperatura ambiente, adicionando gel de sílice, y después de varias horas (hasta acumular 144), la materia prima se mantuvo inalterada (esquema 45). En este experimento tanto el reflujo como la adición de silicagel tenían como objetivo catalizar la reacción de metanólisis, simulando el efecto de la presión en CLAR.



Esquema 45. Intento de transformación de 3 en las condiciones de separación por CLAR

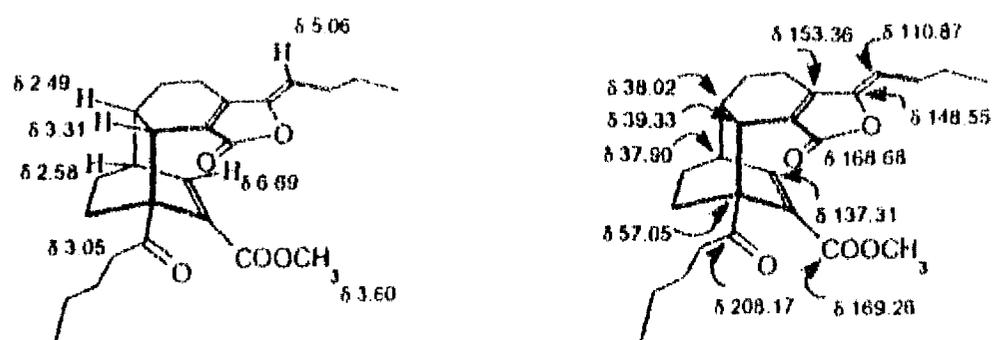
Los resultados obtenidos de este experimento indican que wallichilido (5) es estable a las condiciones descritas y que muy probablemente no sea un artefacto.

Con el fin de obtener una muestra auténtica de wallichilido (5), el cetoácido 41, obtenido como producto de la hidrólisis de 3 (esquema 26) fue sometido a metilación con diazometano, obteniéndose un producto cuyos parámetros espectroscópicos (espectros 38-39) fueron idénticos a los informados en la literatura para wallichilido (5) (esquema 46).¹³ Sin embargo, este no constituye un método adecuado de obtención para 5, ya que su rendimiento global es del 39 %, debido a la baja *situ*-selectividad en la reacción de obtención de 41.



Esquema 46. Obtención de wallichilido (5) a partir de 41.

Los datos espectroscópicos más relevantes que permiten caracterizar a 5 se muestran en el esquema 47.



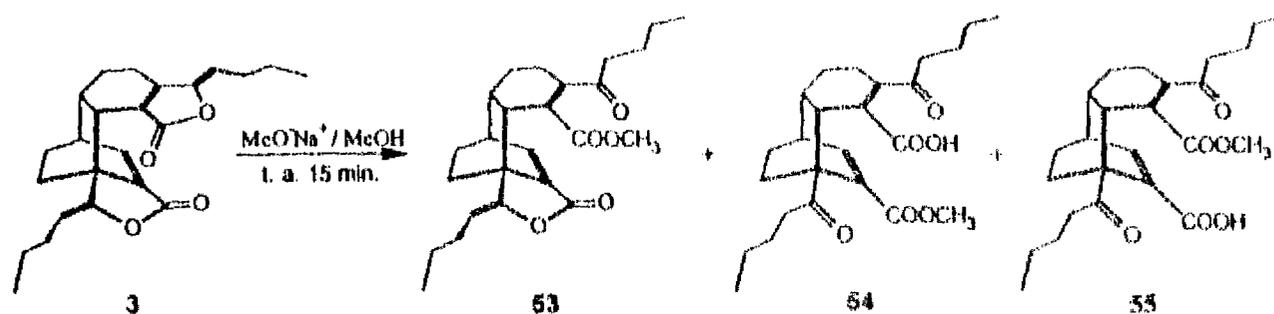
Esquema 47. Datos selectos de RMN¹H y ¹³C de 5.

A continuación se describirán los ensayos de metanólisis de diligustilido (3) utilizando diferentes condiciones alcalinas, los cuales tienen como objetivo optimizar la obtención de 5 a partir de 3.

La metanólisis de **3**, usando metóxido de sodio en metanol a temperatura ambiente durante 15 minutos, genera una mezcla compleja de productos, dos de los cuales (los mayoritarios) fueron separados cromatográficamente y caracterizados de acuerdo con sus parámetros espectroscópicos.

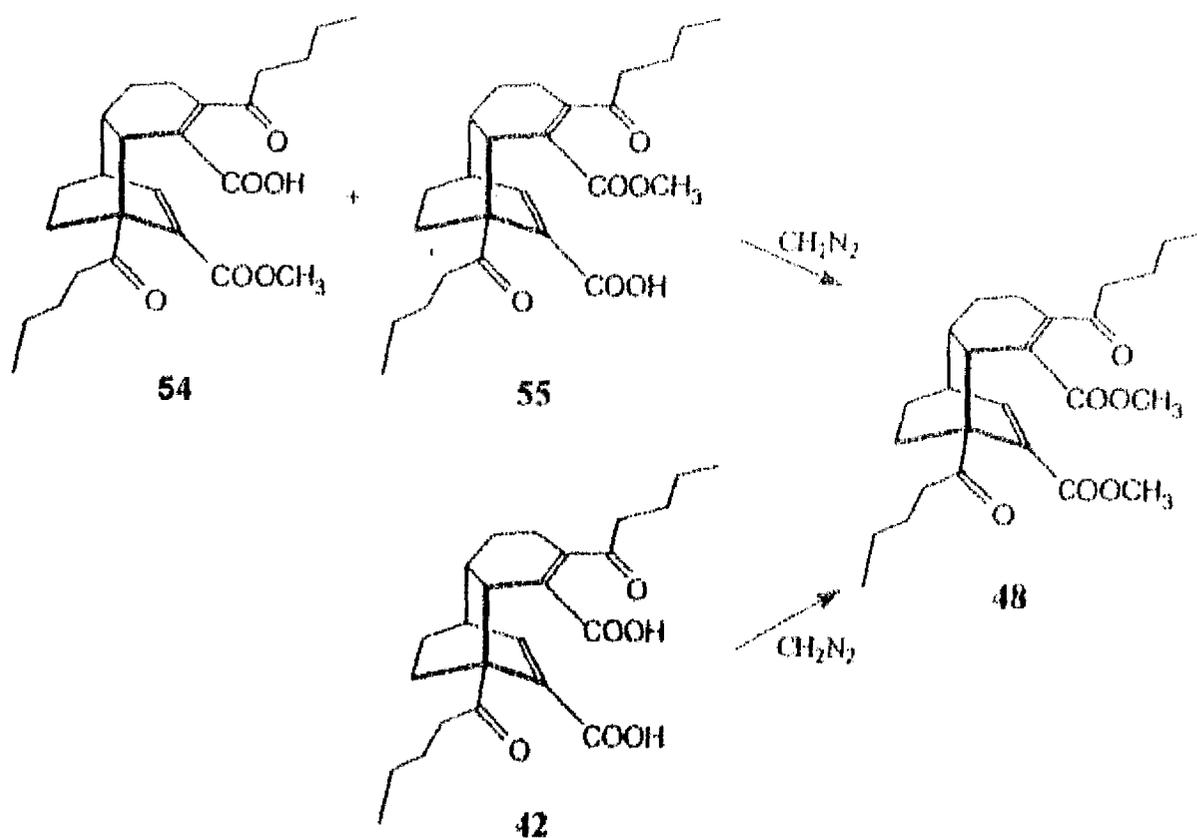
El primero de ellos presenta en RMN¹H (espectro 40) la señal característica de metoxilo (δ 3.58), sin embargo, sus datos espectroscópicos no son concordantes con los de wallichilido (**5**), mostrando la señal de resonancia para H-7' en δ 7.29. Esto permite determinar que corresponde al producto de la apertura de la lactona $\alpha,\beta,\gamma,\delta$ -insaturada, y que su estructura corresponde a **53** (esquema 48).

El segundo componente cromatográficamente homogéneo obtenido de esta transformación estuvo realmente constituido por una mezcla de dos sustancias con idéntico R_f, de acuerdo con la observación de dos señales de resonancia para H-7' en δ 7.27 y δ 7.10 (espectro 41). La intensidad de estas señales permite determinar una relación aproximada 3:2 entre ambos productos. La ausencia de las señales triplete debidas a H-8 y H-8' en ambos compuestos indica la apertura de las dos lactonas, sin embargo, la presencia de dos singuletes que integran para tres hidrógenos (δ 3.62 y δ 3.41), indica la existencia de solo un éster metílico en cada compuesto. La segunda lactona debió abrirse por acción de agua, generando el ácido correspondiente y dando origen a los productos **54** y **55** (esquema 48).



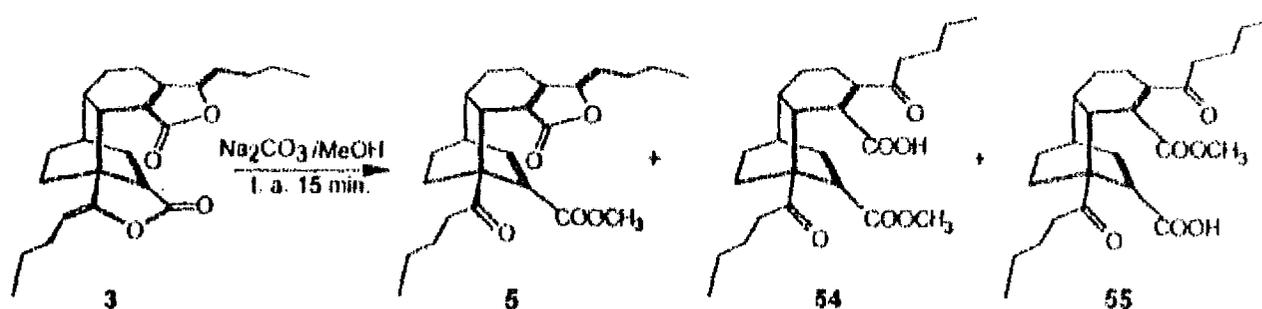
Esquema 48. Metanólisis de 3 con MeONa/MeOH

La existencia de **54** y **55** en la mezcla antes indicada fue corroborada mediante la metilación con diazometano, lo que genera el producto **48** (espectros 31 y 32), idéntico en R_f y propiedades espectroscópicas al producto obtenido de la metilación de **42**, a su vez preparado por hidrólisis de **3** (esquema 49).



Esquema 49. Metilación de 42, 54 y 55 y obtención de 48 como único producto.

La reacción de metanólisis a reflujo con una base débil (Na_2CO_3 al 10% en metanol) permitió nuevamente la obtención de una mezcla compleja de productos, dos de ellos como mayoritarios: wallichilido (5) y la mezcla 54 y 55, de acuerdo al análisis de sus datos espectroscópicos (esquema 50).



Esquema 50. Metanólisis de 3 con $\text{Na}_2\text{CO}_3/\text{MeOH}$

La obtención de 54 cuando se utiliza metóxido de sodio a temperatura ambiente y de 5 cuando la base usada es carbonato de sodio a reflujo, llevó a realizar un estudio de las condiciones de esta reacción, específicamente de la influencia de la base y de la temperatura utilizadas.

De esta manera, utilizando 10 ml de metanol como disolvente y 30 minutos de reacción, se probaron cinco bases a tres diferentes temperaturas. En todos los casos se obtuvieron mezclas de al menos seis productos de reacción, de acuerdo con la observación del mismo número de dobletes asignables a H-7' en el espectro de RMN¹H (figura 20).

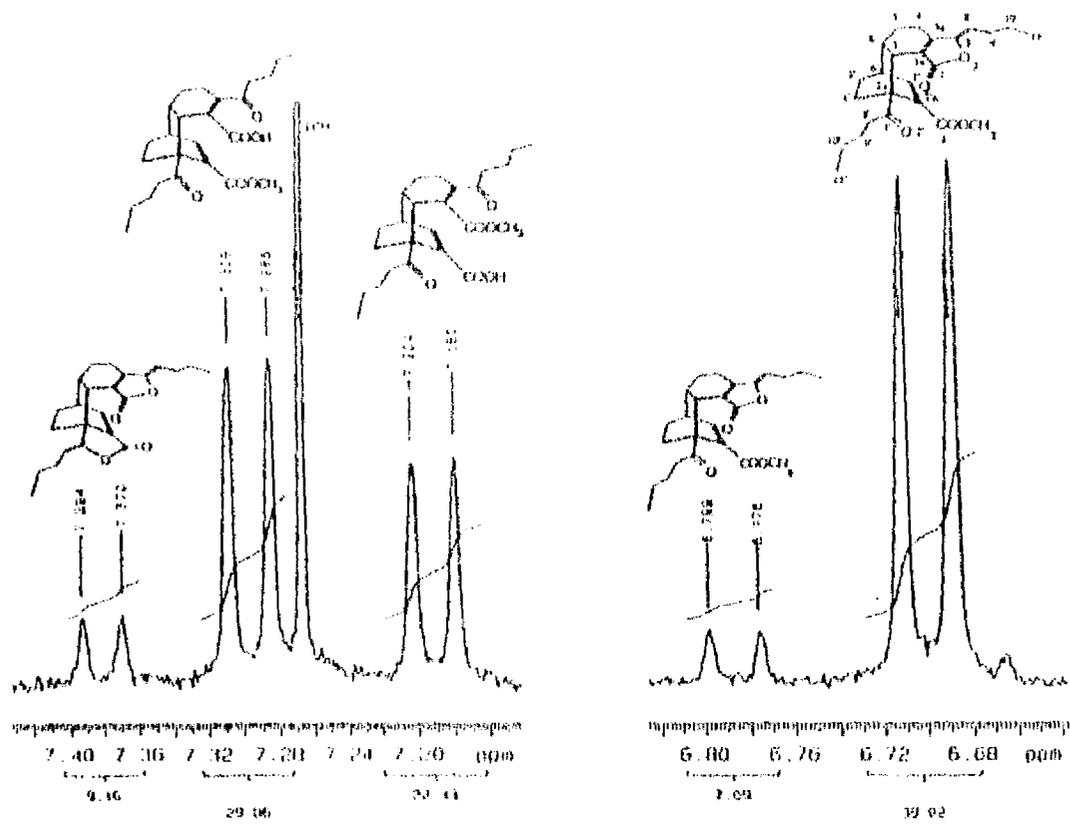


Figura 20. Señales de H-7 en RMN¹H para los productos de metanólisis de 3.

La identificación de cinco de estos componentes se llevó a cabo al comparar el desplazamiento químico de H-7' con los de los compuestos previamente aislados, y la integral del área bajo la curva para cada señal, permitió determinar la proporción de cada componente en la mezcla. La tabla 2 incluye esta proporción expresada en porcentaje para cada caso.

Los resultados informados en la tabla 2 indican que mientras más débil sea la base utilizada, se observa mayor selectividad en la apertura de la lactona unida al bicyclo, lo que llevará a la obtención del wallichilido (5) en mayor rendimiento. Así, cuando se emplea Li₂CO₃, se obtiene un rendimiento del 58.1 %. Este rendimiento va en decremento a medida que aumenta la fuerza de la base hasta llegar a Cs₂CO₃ (ensayos 3,,5,6,7). Por otro lado, a menor temperatura de reacción, se obtiene mayor rendimiento de 5. Por ejemplo los ensayos 2-4 con Na₂CO₃ a tres diferentes temperaturas y los ensayos 8-10 con MeONa a las mismas tres temperaturas.

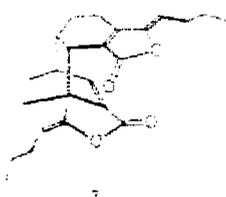
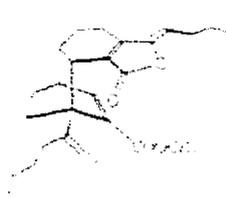
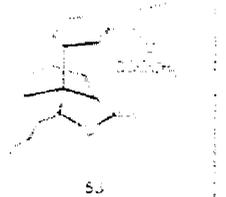
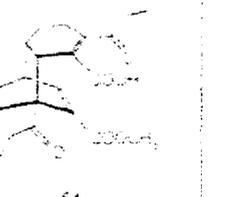
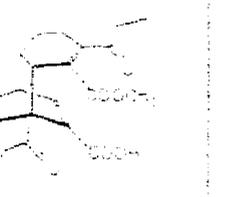
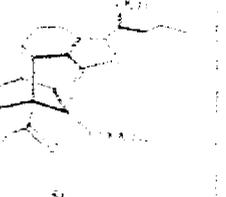
Ensayo	Base	T (°C)							Rend total
1	H ₂ CO ₃	0	8.0	58.1	0.0	4.5	15.0	14.3	99.9
2		t. a.	11.1	52.8	0.0	11.8	19.1	5.1	99.9
3	Na ₂ CO ₃	0	19.1	55.8	0.0	6.1	12.0	4.0	97.0
4		t. a.	2.1	51.5	0.0	12.7	16.1	11.7	92.1
5		Refl.	0.0	50.6	0.0	20.2	22.4	0.0	93.2
6	K ₂ CO ₃	t. a.	4.8	31.2	0.0	18.2	27.4	5.2	86.8
7	Cs ₂ CO ₃	t. a.	7.0	17.0	0.0	21.4	34.4	3.7	83.6
8	MeO-Na ⁺	0	6.7	49.0	9.0	8.0	5.0	22.1	99.8
9		t. a.	9.2	25.2	12.6	16.0	12.6	18.0	93.6
10		Refl.	25.0	0.0	0.0	43.8	0.0	0.0	19.5

Tabla 2. Composición de las mezclas de metanólisis de 3 obtenidas con diferentes bases y temperaturas

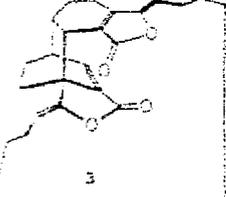
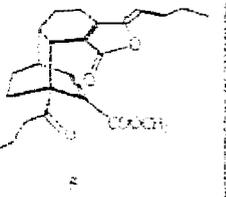
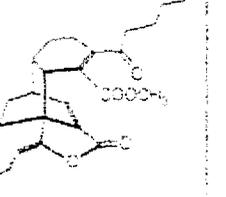
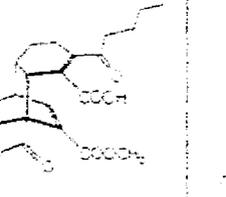
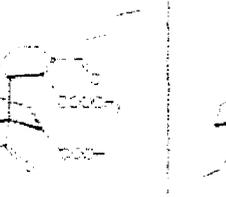
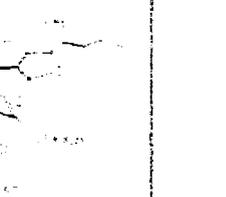
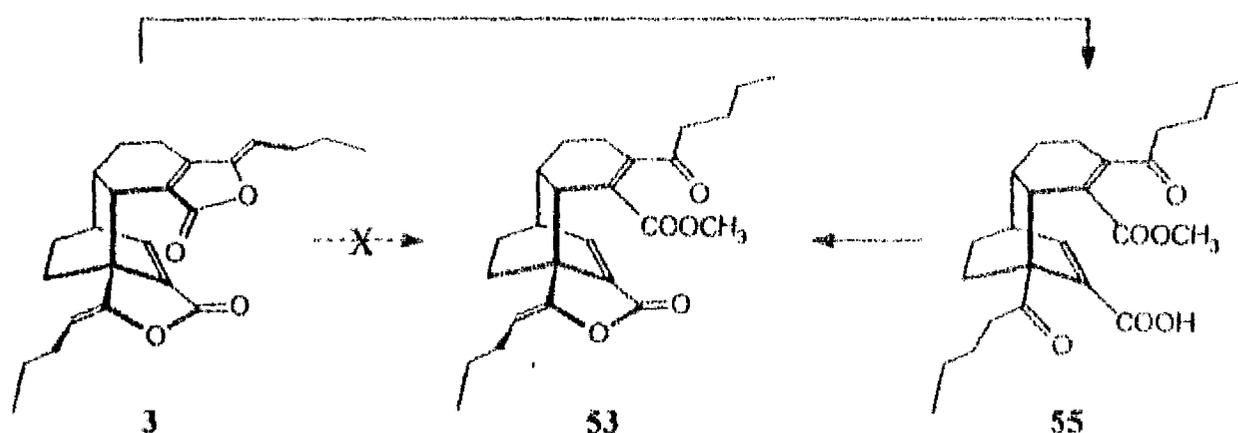
Ensayo	T °C	Trat.							
1	0	H ₂ O	5.5	65.8	0.0	9.9	12.6	6.0	0.0
2	0	HCl	6.0	67.9	0.0	8.4	12.7	5.0	0.0
3	t. a.	H ₂ O	4.7	55.1	0.0	15.27	18.4	6.6	0.0
4	t. a.	HCl	4.0	57.5	7.2	8.0	10.0	5.9	7.4
5	Refl.	H ₂ O	8.5	36.3	0.0	20.85	27.7	6.6	0.0
6	Refl.	HCl	7.6	40.9	15.6	11.7	12.6	4.6	7.1

Tabla 3. Composición de las mezclas de metanólisis de 3 a tres temperaturas, concluyendo la reacción en medio neutro y ácido

La tabla 2 también indica que **53** se obtiene solamente cuando se emplea MeONa como base, y que su rendimiento aumenta a medida que la temperatura se incrementa (ensayos 8-10). Las proporciones para los otros componentes de la mezcla de reacción en estos mismos ensayos son indicativas de lo que está ocurriendo en la misma. Así, puede observarse que la proporción de **56** permanece prácticamente inalterada y que la cantidad de materia prima (**3**) va en aumento conforme la temperatura aumenta, lo que indica claramente, que debe estar ocurriendo la apertura de los sistemas láctónicos y su posterior relactonización. De hecho, bajo las condiciones de reflujo, prácticamente sólo se encuentran presentes tres compuestos en la mezcla de reacción: **5**, **53** y **56**. Esto indica que bajo estas condiciones **5**, **54** y **55** deben constituir las materias primas de **3** y **53**.

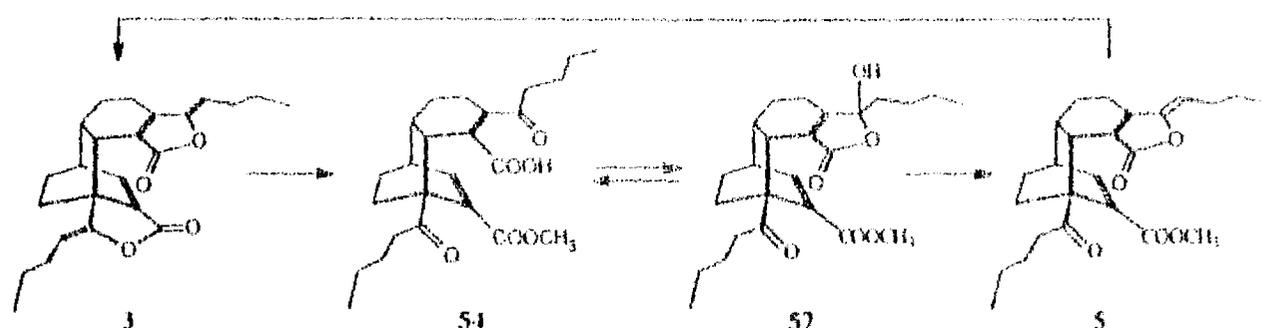
Con el objeto de comprobar esta presunción, se repitió la reacción con MeONa concluyendo la reacción de dos maneras diferentes: (a) a los 15 minutos de reacción la mitad de la mezcla total fue recuperada mediante adición de agua (ensayos 1, 3, 5, tabla 3), y (b) la mitad de la mezcla de reacción remanente fue sometida a tratamiento ácido durante 15 minutos más, con el propósito de favorecer la reacción de relactonización (ensayos 2, 4, 6, tabla 3).

Los resultados obtenidos indican cambios significativos en las proporciones de los componentes de la mezcla de reacción sólo a temperatura ambiente y a reflujo. La obtención de **53** sólo procede al acidular la reacción (ensayos 4 y 6), y se mejora su rendimiento en medio ácido, lo que sugiere que este compuesto proviene del cetoácido **55** y no directamente de diligustilido (**3**), ya que al diluir la reacción con agua no se obtiene **53** (esquema 51). Al acidular, la suma del porcentaje de **53** (15.6 %, ensayo 6) y **55** (12.6 %, ensayo 6) es similar al porcentaje obtenido de **55** en el tratamiento con agua (27.7 %, ensayo 5).



Esquema 51. Ruta de obtención de 53 a partir de 3

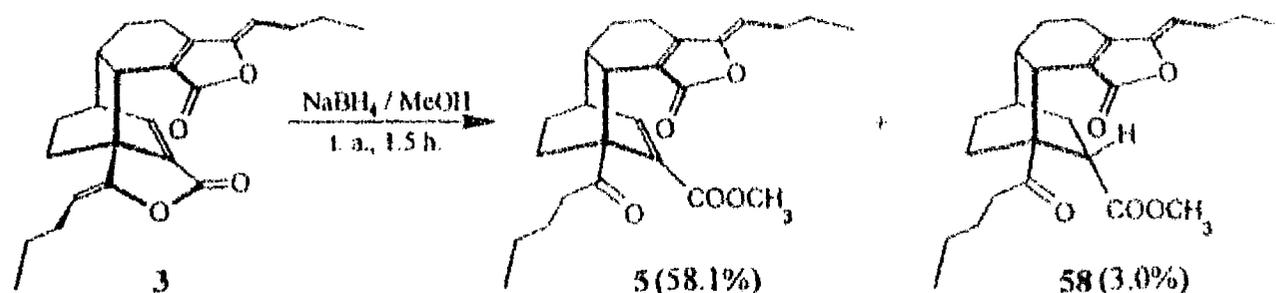
De igual manera, los porcentajes de **54**, **57** y **5**, obtenidos en los ensayos 4 y 6, indican que **54** se encuentra en equilibrio con **57**, y que este último a su vez da origen a **5** (esquema 52). A mayores concentraciones de ácido, **5** debe transformarse en **3**.



Esquema 52. Ruta de obtención de 53 y 57 a partir de 3

De acuerdo con lo anterior, la utilización de MeONa en metanol en baño de hielo durante 15 minutos permite transformar 3 en 5 con un 65.8 % de rendimiento; la utilización de esta misma base a reflujo durante 30 minutos permite obtener 53 con 43.8 % de rendimiento, logrando una recuperación de 25 % de la materia prima.

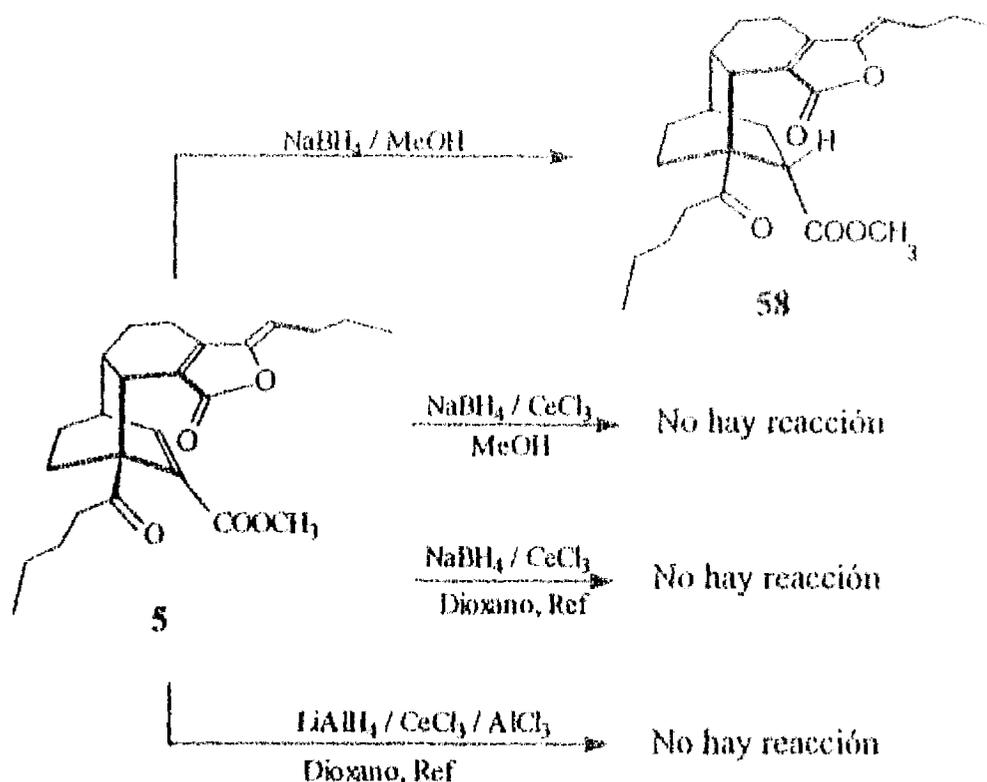
Un método alternativo que permitió la obtención de 5 a partir de 3, aunque con menor rendimiento, consiste en tratar a este último con NaBH₄ en MeOH, a temperatura ambiente durante 1.5 h. Bajo estas condiciones de reacción se recupera la materia prima en 28 % y dos productos de reacción son obtenidos como se indica en el esquema 53.



Esquema 53. Reacción de 3 con NaBH₄/MeOH.

La obtención de estos productos indica que el NaBH₄ actúa como base frente al metanol y este último lleva a cabo el ataque nucleofílico hacia el carbonilo de la lactona fusionada con el sistema bicyclico, generando 5, el cual una vez formado sufre reducción 1,4 por acción del NaBH₄ para generar 58 (espectro 42). Este procedimiento presenta la ventaja de que mediante la adición de CeCl₃·7H₂O¹⁰⁹ al medio de reacción se puede evitar la reducción 1,4, obteniéndose 5 como único producto, sin competencia por parte de la reacción de apertura de la lactona α,β,γ,δ-insaturada (ver página 31).

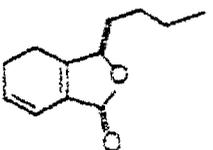
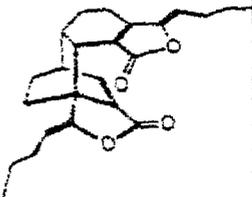
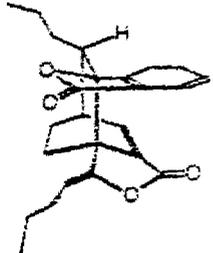
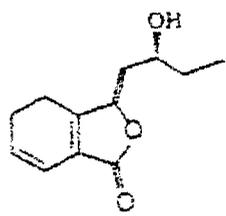
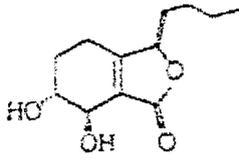
Lo anterior está de acuerdo con la observación de la imposibilidad de efectuar la reacción de reducción de wallichilido (5) con NaBH₄ y LiAlH₄ aún en diferentes disolventes (esquema 54) ya que en todos los casos la materia prima se recupera inalterada, sin embargo, aún cuando se usa metanol como disolvente en esta reacción y exceso de NaBH₄, no se observó la apertura de la lactona α,β,γ,δ-insaturada.



Esquema 54. Reducción de 5.

Bioevaluación de algunos Constituyentes Químicos de *Ligusticum porteri* y sus derivados.

Algunos de los flálidos obtenidos como productos naturales a partir de las raíces de *L. porteri* y sus derivados fueron analizados biológicamente de acuerdo al uso popular atribuido a este vegetal. Las pruebas de bioevaluación ensayadas incluyen su actividad como agentes sedantes, relajantes de músculo liso, antitumorales y antimicrobianos y fueron realizadas en el Centro de Investigación Biomédica del Sur por el Dr. Jaime Tortoriello y la M. en C. María Luisa Villarreal. Los resultados obtenidos indican que 8, 40, 41 y 42 potencializan el efecto sedante del pentobarbital sodico en un 70.8, 101.0, 66.0 y 52.3 % respectivamente, mientras que 1, 8 y 59 provocan una relajación en ileon aislado de cobayo del 41.5%, 32.4% y 54.6 % respectivamente a una concentración de 0.05 mg/ml. El compuesto 8 es citotóxico para las líneas celulares de KB y HCT-15 como se indica en las tablas 4-6..

					
	1	3	8	9	64
Efecto sedante^a 50 mg/Kg (250 μl, ip)	46.3 %	24.6 %	70.8 %	34.6 %	*
Relajante de musculo liso^b 0.05 mg/ml	41.5 %	*	32.4 %	54.6 %	*
Toxicidad (LC₅₀)^c	20.1	> 1000	517	*	> 1000

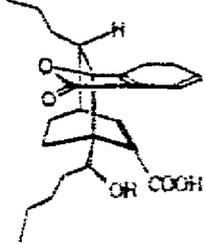
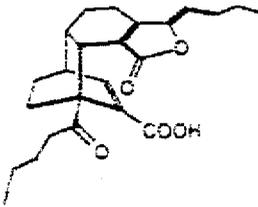
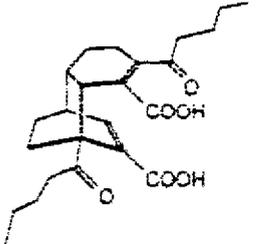
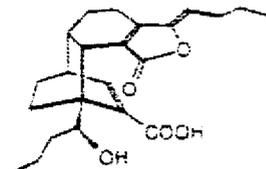
^a Ratón macho adulto

^b Ileo de cobayo macho adulto

^c *Artemia salina* (ppm)

(*) No evaluada

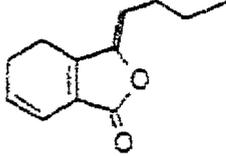
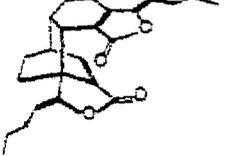
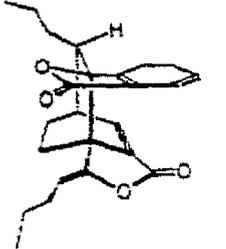
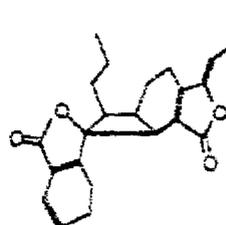
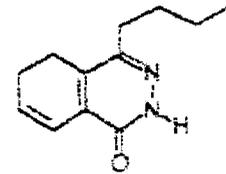
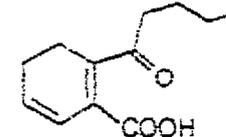
Tabla 4. Bioevaluación de algunos Constituyentes Químicos de *Ligusticum porteri*

				
	40	41	42	43
Efecto sedante^a 50 mg/Kg (250 µl, ip)	101%	66%	52.3%	36.2%
Relajante de musculo liso^b 0.05 mg/ml	---	0.0 %	9.3 %	----

^a Ratón macho adulto

^b ileo de cobayo macho adulto

Tabla 5. Bioevaluación de algunos derivados de Diligustilido y Toquinólido B.

Substancia/Linea celular	 1	 3	 8	 11	 25	 26
UISO-SQC-1	> 20	> 20	4.8	> 20	> 20	11.5
KB	> 20	15.8	2.1	> 20	17.4	> 20
HCT-15-COLON	7.94	8.7	1.5	6.6	18.2	2.75

UISO-SQC-1 Carcinoma de Cervix

KB Carcinoma nasofaríngeo humano

HCT-15-COLON carcinoma de colon

Tabla 6. Actividad Citotóxica de algunos Constituyentes Químicos y Derivados de *Ligusticum porteri* (Umbelliferae) ED₅₀ (µg/ml).

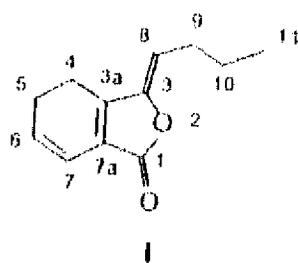
SECCION EXPERIMENTAL

PARTE I. AISLAMIENTO DE LOS CONSTITUYENTES OLIMICOS DE *Ligusticum porteri* (Umbelliferae)

1.8 Kg de las raíces de la planta medicinal *Ligusticum porteri* (Umbelliferae) fueron macerados durante tres días y por tres ocasiones con cada uno de los siguientes disolventes: hexano, acetona y etanol. El disolvente de cada maceración fue eliminado por destilación a presión reducida hasta la obtención del extracto correspondiente.

41.5 g del extracto hexánico fueron adsorbidos en 80 g de gel de sílice (Merck, malla 70:230) y aplicados en una columna cromatográfica empacada con 400 g de gel de sílice malla 230-400. La elución fue iniciada con hexano 100%, obteniéndose fracciones de 250 ml. A lo largo del proceso cromatográfico, la homogeneidad de las fracciones obtenidas y el criterio de reunión de las mismas estuvo basado en el análisis de cada una de ellas por cromatografía en capa fina.

La elución con hexano 100 %, permitió obtener un residuo aceitoso de color amarillo claro, constituido, de acuerdo con su análisis por cromatografía en capa fina (CCF) por un compuesto mayoritario que revela de color verde al UV y amarillo con sulfato cérico amoniacal. Este compuesto fue identificado como *Z*-ligustilido (**1**)¹⁰ y se encontraba mezclado con ácidos grasos y acilglicéridos. La purificación final del mismo se llevó a cabo mediante sucesivas recromatografías en columna.



Aceite amarillo claro.

Rf = 0.46 (hexano - acetato de etilo 95 :5).

IR (CHCl₃) ν_{max} : 2963, 2934, 2873, 1758, 1669, 1461, 1305, 1274, 1056, 1013 cm⁻¹.

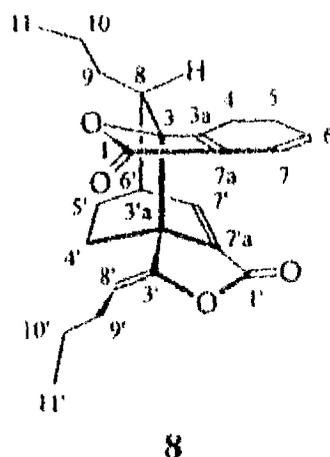
UV (MeOH) λ_{max} (ε): 322 (14678), 273 (15238), 209 (20995).

RMN¹H (200 MHz, CDCl₃, espectro 1) δ (Integración, multiplicidad, J, asignación): 6.28 (1H, dt, J=9.7, 1.8 Hz, H-7), 6.00 (1H, dt, J=9.7, 4.2 Hz, H-6), 5.24 (1H, t, J=8.0 Hz, H-8), 2.65-2.45 (4H, m, H-4, H-5), 2.38 (2H, dd, J=15.4, 7.7 Hz, H-9), 1.52 (2H, c, J=7.0 Hz, H-10), 0.95 (3H, t, J=7.0 Hz, H-11).

RMN¹³C (CDCl₃) δ (multiplicidad, asignación): 167.6 (s, C-1), 149.0 (s, C-3), 147.2 (s, C-3a), 130.0 (d, C-6), 124.3 (s, C-7a), 117.4 (s, C-7), 112.7 (d, C-8), 28.2 (t, C-9), 22.6 (t, C-5), 22.5 (t, C-10), 18.6 (t, C-4), 13.8 (q (c-11)).¹¹

EM (IE, 70 eV): m/z [fragmento] (intensidad relativa): 190 [M⁺] (28), 161 (46.3), 159 (31), 148 (36), 106 (36), 105 (58), 78 (40), 77 (52), 55 (100), 51 (44), 50 (30), 39 (39).¹⁵

A partir de la fracción 138 y hasta la 197 la polaridad del sistema eluyente en el proceso cromatográfico fue hexano-Acetato de etilo (98:2), proporción con la cual eluyó una mezcla de cuatro compuestos. Esta mezcla (2.4 g) se adsorbió en 3 g de gel de sílice 70:230 y se aplicó en una columna cromatográfica empacada con 80 g de gel de sílice para placa, utilizando como eluyente inicial hexano 100%. Con este sistema de elución se logró obtener en forma pura Z-ligustilido (1). En fracciones eluidas con hexano-AcOEt (99:1) fue posible aislar un compuesto cristalino que reveló de color amarillo con sulfato cérico amónico que se identificó como toquinólido B (8)³⁸ de acuerdo con los parámetros espectroscópicos registrados para el mismo.



Agujas blancas cristalinas.

p.f. : 75-78°C.³⁸

Rf = 0.5 (hexano- acetato de etilo 8:2).

UV (MeOH) λ_{\max} nm (ϵ) : 280 (6100).

IR (CHCl₃) ν_{\max} : 2961, 2932, 2873, 1753, 1704, 1660 1464, 1172, 1072, 1024 cm⁻¹.

RMN¹H (200 MHz, CDCl₃): 7.53 (1H, d, J=6.6 Hz, H-7'), 6.17 (1H, dt, J=9.6, 1.8 Hz, H-7), 5.92 (1H, dt, J=9.6, 4.0 Hz, H-6), 4.62 (1H, dd, J=6.9, 6.9 Hz H-8'), 3.12 (1H, ddd,

$J=6.6, 4.4, 1.7$ Hz, H-6'), 2.50 (1H, dd, $J=9.5, 8.5$ Hz, H-4'), 2.4-2.1 (3H, m, H-5', H-5), 2.1-1.9 (4H, m, H-4', H-9', H-4), 1.69 (1H, m, H-8), 1.4-1.2 (8H, m, H-4, H-5', H-9, H-10, H-10'), 0.88 (3H, t, $J=7.0$ Hz, H-11 ó H-11'), 0.82 (3H, t, $J=7.0$ Hz, H-11' ó H-11).

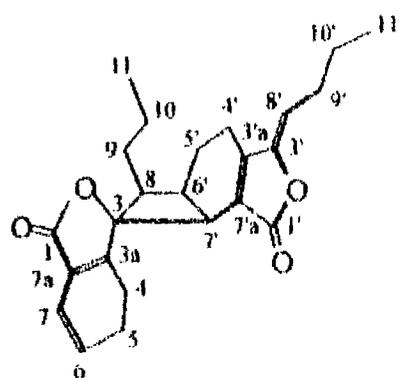
RMN¹³C (50 MHz, CDCl₃) δ (multiplicidad, asignación): 170.30 (s, C-1), 164.09 (s, C-1'), 161.66 (s, C-3a), 148.41 (s, C-3'), 144.84 (d, C-7'), 132.83 (s, C-7'a), 129.26 (d, C-6), 125.44 (s, C-7a) 116.49 (d, C-7), 107.31 (d, C-8'), 89.53 (s, C-3), 49.99 (s, C-3'a), 42.59 (d, C-8), 36.60 (d, C-6'), 28.48 (t, C-9), 28.29 (t, C-4'), 26.91 (t, C-9'), 22.52 (t, C-5), 22.41 (t, C-10'), 20.99 (t, C-10), 20.96 (t, C-4), 16.89 (t, C-5'), 14.03 (c, C-11 ó C-11'), 13.41 (c, C-11' ó C-11).

EM (IE, 70 eV): 380 [M⁺] (0.2 %), 191 (4), 190 (3.2), 148 (12), 105 (20), 77 (29), 55 (100).

La elución de la columna con hexano-acetato de etilo (95:5) permitió la obtención de la mezcla de β -sitosterol y estigmasterol.

A partir de la fracción 198 y hasta la 242 del proceso cromatográfico inicial [eluidas con hexano-acetato de etilo (95:5)] se obtuvo la mezcla de β -sitosterol-estigmasterol de manera constante.

Las fracciones 250-275 de este mismo proceso cromatográfico fueron eluidas con la mezcla de disolventes hexano-acetato de etilo (8:2). El análisis por CCF de las mismas indicó la presencia de dos sustancias mayoritarias que revelaron de manera homogénea con sulfato cérico amoniacal, una de ellas de color café rojizo y la segunda de color amarillo. La recromatografía de estas fracciones, utilizando gel de sílice 70:230 como fase estacionaria y la mezcla de disolventes hexano-acetato de etilo (95:5) a lo largo de todo el proceso cromatográfico permitió obtener una mezcla de estas dos sustancias que también revelan al UV y a partir de la fracción 65 la más polar de ellas en forma pura. La mezcla de estas fracciones se resolvió en sus constituyentes individuales mediante cromatografía en placa preparativa (Pre-coated TLC plates SIL G-50 UV₂₅₄, 20 x 20 cm, 2 mm) utilizando hexano-acetato de etilo (8:2) como sistema eluyente. El análisis espectroscópico de los constituyentes de estas fracciones permitió identificarlos como riligustilido (11)⁸ y diligustilido (3).³¹ La identidad de estas sustancias se confirmó mediante comparación directa con muestras auténticas aisladas previamente en nuestro laboratorio.



11

Agujas blancas cristalinas.

p.f. 138-141°C.⁸

Rf = 0.43 (hexano- acetato de etilo 7:3).

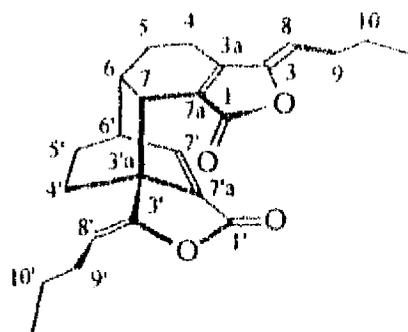
IR (CHCl₃) ν_{\max} : 2962, 2933, 2873, 1755, 1676, 1431, 1303, 1064, cm⁻¹.

UV (EtOH) λ_{\max} nm (ϵ): 283 (20328), 213 (8861).

RMN¹H (200 MHz, CDCl₃): 6.17 (1H, dd, J=9.4, 2.0 Hz, H-7), 5.93 (1H, dt, J= 9.4, 4.0 Hz, H-6), 5.22 (1H, t, J=7.9 Hz, H-8'), 3.47 (1H, d, J=7.8 Hz, H-7'), 2.95 (1H, dd, J=7.0, 7.0 Hz, H-8), 2.80-2.65 (2H, m, H-9), 2.62-2.55 (3H, m, H-5, H-6'), 2.33 (1H, dd, J=14.3, 7.6, H-9'), 2.15 (2H, dd, J=11.0, 10.8 Hz, H-5'), 1.50 (2H, dd, J=15.2, 7.0 Hz, H-9), 1.45 (4H, c, J=7.0 Hz, H-10, H-10'), 1.13 (3H, m, H-4', H-9'), 0.95 (3H, t, J=7.0 Hz, H-11 ó H-11'), 0.86 (3H, t, J=7.0 Hz; H-11' ó H-11).

RMN¹³C (50 MHz, CDCl₃): 170.47 (s, C-1'), 168.63 (s, C-1), 160.33 (s, C-3a), 154.75 (s, C-3'a), 149.20 (s, C-3'), 128.81 (d, C-6), 123.41 (s, C-7a), 122.3 (s, C-7'a), 116.92 (d, C-7), 112.24 (d, C-8'), 91.99 (s, C-3), 43.90 (d, C-6'), 34.81 (d, C-7'), 32.23 (d, C-8), 27.87 (t, C-9'), 26.16 (t, C-9), 22.45 (t, C-10'), 22.30 (t, C-10), 20.86 (t, C-5), 20.56 (t, C-5'), 19.96 (t, C-4), 19.50 (t, C-4'), 14.05 (c, C-11), 13.77 (c, C-11').

EM: (IE, 70 eV): 190 [M⁺/2] (100), 188 (52), 175 (10), 161 (55), 159 (88), 148 (69), 146 (20), 131 (9), 115 (10), 103 (12), 91 (15), 77 (25), 55 (50).¹⁴



3

Agujas blancas cristalinas.

p.f. 123-125°C.¹⁵

Rf = 0.43 (hexano- acetato de etilo 7:3).

IR (CHCl₃) ν_{\max} : 3015, 2960, 2872, 1790, 1767, 1710, 1667, 1620 cm⁻¹.

UV (EtOH) λ_{max} nm (ϵ): 273 (24208), 228 (12252).

RMN¹H (200 MHz, CDCl₃, espectro 8): 7.37 (1H, d, J=6.6 Hz, H-7'), 5.03 (1H, t, J=7.8 Hz, H-8), 5.00 (1H, t, J=7.8 Hz, H-8'), 3.26 (1H, d, J=9.0 Hz, H-7), 3.0 (1H, ddd, J=4.5, 2.0, 2.0 Hz, H-6'), 2.56 (1H, dd, J=7.3, 8.0 Hz, H-6), 2.28 (2H, dd, J=14.0, 7.0 Hz, H-9), 2.17 (2H, dd, J=14.0, 7.0 Hz, H-9'), 2.1-1.95 (3H, m, H-4, H-4'), 1.95-1.80 (3H, m, H-5, H-4'), 1.60-1.20 (2H, m, H-5'), 1.45 (2H, c, J=7.0 Hz, H-10), 1.44 (2H, c, J=7.0 Hz, H-10'), 0.93 (3H, t, J=7.0 Hz, H-11), 0.92 (3H, t, J=7.0 Hz, H-11).

RMN¹³C (50 MHz, CDCl₃, espectro 9): 168.12 (s, C-1), 164.63 (s, C-1'), 154.88 (s, C-3a), 150.37 (s, C-3'), 147.80 (s, C-3), 142.09 (d, C-7'), 133.80 (s, C-7'a), 126.27 (s, C-7a), 111.80 (d, C-8), 108.16 (d, C-8'), 47.34 (s, C-3'a), 41.30 (d, C-7, C-6'), 38.01 (d, C-6), 30.74 (t, C-4'), 28.63 (t, C-5), 27.75 (t, C-9), 27.24 (t, C-9'), 25.55 (t, C-5'), 22.05 (t, C-10, C-10'), 19.48 (t, C-4), 13.76* (q, C-11), 13.62* (q, C-11').

EM (IE, 70 eV): 380 [M⁺] (22), 191 (95), 190 (100), 161 (37), 148 (97), 55 (30).¹⁵

Las fracciones posteriores de este proceso cromatográfico no presentaron homogeneidad en el análisis por CCF por lo que no fueron analizadas posteriormente.

El extracto de acetato de etilo (105.7 g) se adsorbió en 162 g de celita y se aplicó en una columna cromatográfica empacada con 1 Kg de gel de sílice para placa. El eluyente inicial utilizado fue hexano 100 %, obteniéndose fracciones de 500 ml. En las fracciones 3-54 se obtuvo, mediante cromatografías sucesivas, Z-ligustilido (1), identificado mediante comparación con una muestra auténtica.

El toquinólido B (8) y el β -sitosterol constituyeron los componentes principales de las fracciones 56-61, eluidas con hexano-acetato de etilo (9:1), mientras que el diligustilido (3) fue el compuesto mayoritario de las fracciones 68-78, eluidas con hexano-acetato de etilo (85:15). El riligustilido (11) se obtuvo en estas mismas fracciones pero como constituyente minoritario. Cada uno de estos compuestos fue aislado mediante la aplicación de las técnicas cromatográficas convencionales como se indica en el tratamiento del extracto hexánico.

La cantidad obtenida de cada compuesto y su porcentaje con respecto al peso seco de raíz utilizada se indican en la tabla 7:

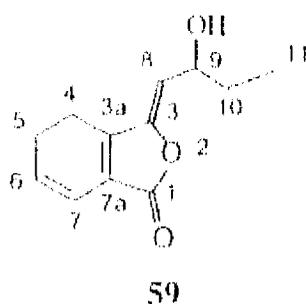
Compuesto	Peso (g)	Porcentaje
Z-ligustilido	32.0	1.8
Toquinólido B	2.5	0.14
Riligustilido	0.031	0.0017
Diligustilido	1.8	0.093

Tabla 7. Porcentaje de los flávidos obtenidos de la raíz de *L. porteri*.

Con el fin de obtener mayor cantidad de los constituyentes químicos de la raíz de *L. porteri* fue necesario efectuar un segundo proceso de purificación, empleando en esta ocasión 5 Kg de material seco. Este fue tratado mediante maceración con hexano, acetona y metanol, obteniéndose 262, 292 y 191 g de cada extracto, respectivamente.

Los extractos de hexano y acetona fueron sometidos a los procesos de purificación convencionales, a fin de ser resueltos en sus componentes individuales (ver tratamiento experimental detallado para el extracto hexánico del primer estudio). Esta separación permitió obtener los flálidos *Z*-ligustilido (**1**, 58 g), toquinólido B (**8**, 4.7 g), y diligustilido (**3**, 7.1 g).

En las fracciones 59-73 de la columna cromatográfica del extracto acetónico, eluidas con hexano-acetato de etilo (7:3), se obtuvo una mezcla de compuestos cuyo constituyente más polar no había sido aislado en el presente estudio. Los 3.1 g obtenidos de esta mezcla se adsorbieron en 3 g de gel de sílice 70:230 y se aplicaron en una columna cromatográfica empacada con 90 g de la misma gel de sílice, iniciando la elución con hexano-acetato de etilo (9:1) y obteniéndose fracciones de 100 ml. El compuesto deseado eluyó en las fracciones 7-12 y se aplicó en una cromatoplaaca preparativa para su purificación final (Pre-coated TLC plates SH. G-50 UV₂₅₄, 20 x 20 cm, 2 mm), utilizando la mezcla hexano-acetato de etilo (7:3) como sistema eluyente. Este procedimiento permitió obtener 243 mg (0.0049%) de senkynólido F (**59**).^{19,35,38}



Agujas blancas cristalinas.

p. f. 124-126°C.³⁵

R_f = 0.3 (hexano- acetato de etilo 6:4).

IR (CHCl₃) ν_{max}: 3605, 3007, 2967, 2936, 1766, 1665 cm⁻¹.

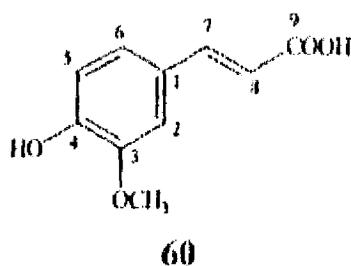
UV (EtOH) λ_{max} nm (ε) : 283 (6300), 296 (6100), 323 (7300).

RMN¹H (300 MHz, CDCl₃): 6.26 (1H, dt, J=9.7, 1.8 Hz, H-7), 6.06 (1H, dt, J=9.7, 4.1 Hz, H-6), 5.25 (1H, d, J=8.6 Hz, H-8), 4.73 (1H, dt, J=8.4, 6.6 Hz, H-9), 2.92 (1H, sa, OH), 2.70-2.42 (4H, m, H-4, H-5), 1.80-1.56 (2H, m, H-10), 0.95 (3H, t, J=7.4 Hz, H-11).

RMN¹³C (75 MHz, CDCl₃): 167.2 (s, C-1), 147.88 (s, C-7a), 147.23 (s, C-3a), 124.91 (s, C-3), 131.00 (d, C-8), 116.63 (d, C-7), 113.94 (d, C-6), 67.88 (d, C-9), 29.96 (t, C-10), 22.20 (t, C-4), 18.22 (t, C-5), 18.22 (c, C-11).

EM (IE, 70 eV): 206 [M⁺] (70), 191 (40), 189 (45), 175 (5), 165 (4), 147 (10), 103 (100), 91 (20), 85 (25), 83 (10), 81 (28), 79 (30), 77 (20), 71 (29), 69 (90).¹⁵

Las fracciones 74-111 del extracto acetónico fueron eluidas con hexano-acetato de etilo (7:3) y mostraron al análisis por CCF estar compuestas por dos sustancias que revelan con luz UV. Este conjunto de fracciones (1 g) se aplicó, previa adsorción, sobre gel de sílice 70:230, a una columna cromatográfica empacada con 30 g de la misma gel de sílice. La columna cromatográfica fue eluida con la mezcla hexano-acetato de etilo (85:15), obteniéndose fracciones de 100 ml. A partir de la fracción 7 y hasta la 17, se obtuvo nuevamente la mezcla de ambas sustancias; en las fracciones 18-31 se obtuvo en forma pura el segundo constituyente de la mezcla como un compuesto resinoso de color amarillo. Los parámetros espectroscópicos tanto del producto natural (**60**) como de su derivado acetilado (Ac₂O/Py, **61**), permitieron identificarlo como ácido ferúlico.^{37,38}



Aceite resinoso amarillo obscuro.

Rf = 0.45 (hexano - acetato de etilo 4:6).

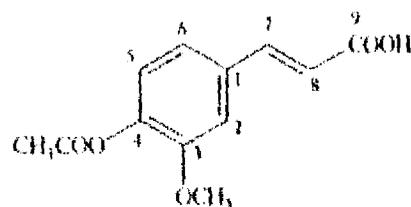
IR (CHCl₃) ν_{\max} : cm⁻¹.

UV (EtOH) λ_{\max} nm (ϵ):

RMN¹H (300 MHz, CDCl₃): 7.70 (1H, d, J=15.6, H-7), 7.09 (1H, dd, J=8.4, 1.8 Hz, H-6), 7.05 (1H, d, J=1.8 Hz, H-2), 6.93 (1H, d, J=8.4 Hz, H-5), 6.29 (1H, d, J=15.6 Hz, H-8), 3.94 (3H, s, OCH₃).

RMN¹³C (75 MHz, CDCl₃): 171.70 (s, C-9), 148.38 (s, C-3), 147.03 (d, C-7), 146.81 (s, C-4), 126.67 (s, C-1), 123.53 (d, C-6), 114.77 (d, C-8 ó C-5), 114.52 (d, C-5 ó C-8), 109.51 (d, C-2), 55.96 (c, OCH₃).

Datos físicos y espectroscópicos de 61.



61

Polvo blanco amorfo.

pf. 195-197°C

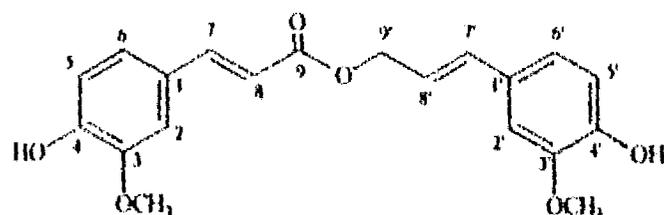
Rf = 0.4 (hexano - acetato de etilo 5:5).

IR (CHCl₃) ν_{\max} : 3524, 1763, 1690, 1636, 1508, 1196 cm⁻¹.

RMN¹H (300 MHz, CDCl₃): 12.24 (1H, sa. COOH), 7.57 (1H, d, J=15.9 Hz, H-7), 7.41 (1H, d, J=2.1 Hz, H-2), 7.20 (1H, dd, J=8.7, 2.1 Hz, H-6), 7.07 (1H, d, J=8.4 Hz, H-5), 6.53 (1H, d, J=15.9 Hz, H-8), 3.84 (3H, s, OCH₃), 2.27 (3H, s, OCOCH₃).

RMN¹³C (75 MHz, CDCl₃): 168.03 (s, C-9), 167.50 (s, OCOCH₃), 151.05 (s, C-3), 143.11 (d, C-7), 140.75 (s, C-4), 133.15 (s, C-1), 122.94 (d, C-5), 121.00 (d, C-6), 119.37 (d, C-8), 111.5 (d, C-2), 55.77 (c, OCH₃), 20.27 (c, OCOCH₃).

La resolución de la mezcla obtenida en las fracciones 7-17 se logró mediante cromatografía en placa preparativa (Pre-coated TLC plates SIL G-50 UV₂₅₄, 20 x 20 cm 2 mm), eluyendo en dos ocasiones con el sistema hexano-acetato de etilo (70:30), el revelado con luz UV y el lavado de la silicagel de cada una de las regiones permitió recuperar ambos compuestos en forma pura. El análisis de los datos espectroscópicos para el constituyente menos polar y su producto de acetilación 63 indicaron su identidad como ferulato de coniferilo (62), previamente aislado de *Cnidium officinale* y *Angelica acutiloba*.^{37,38}



62

Aceite resinoso amarillo obscuro.

Rf = 0.5 (hexano - acetato de etilo 4:6).

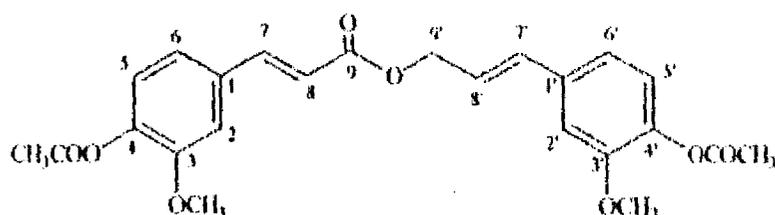
IR (CHCl₃) ν_{max} : 3330, 1680, 1615, 1580 y 1505 cm⁻¹.

UV (EtOH) λ_{max} nm (ϵ): 272 (11900), 298 (12800), 320 (13300).

RMN¹H (300 MHz, CDCl₃): 7.65 (1H, d, J=15.9 Hz, H-7), 7.07 (1H, dd, J=8.1, 2.1 Hz, H-6), 7.03 (1H, d, J=2.1 Hz, H-2), 6.94 (1H, d, J=2.1 Hz, H-2'), 6.92 (1H, dd, J=8.4, 2.1 Hz, H-6'), 6.91 (1H, d, J=8.4 Hz, H-5'), 6.86 (1H, d, J=8.1 Hz, H-5), 6.63 (1H, d, J=15.9 Hz, H-7'), 6.33 (1H, d, J=15.9 Hz, H-8), 6.20 (1H, dt, J=15.9, 6.6 Hz, H-8'), 5.95 (1H, sa, OH), 5.70 (1H, sa, OH), 4.84 (2H, dd, J=6.6, 0.9 Hz, H-9'), 3.92 (3H, s, OCH₃), 3.90 (3H, s, OCH₃).

EM (IE, 70 eV): 356 [M⁺] (14), 194 (92), 179 (25), 177 (100), 162 (30), 145 (19), 131 (67).³⁷

Datos físicos y espectroscópicos de 63.



63

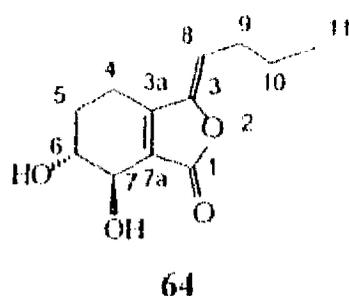
Rf = 0.4 (hexano- acetato de etilo 7:3).

RMN¹H (300 MHz, CDCl₃): 7.69 (1H, d, J=15.9 Hz, H-7), 7.13 (1H, dd, J=8.1, 2.1 Hz, H-6), 7.11 (1H, d, J=2.1 Hz, H-2), 7.05 (1H, d, J=8.1 Hz, H-5), 7.00 (3H, d, J=5.4 Hz, H-2', H-6', H-5'), 6.68 (1H, d, J=15.9 Hz, H-7'), 6.43 (1H, d, J=15.9 Hz, H-8), 6.31 (1H, dt, J=15.9, 6.6 Hz, H-8'), 4.86 (2H, dd, J=6.6, 1.2 Hz, H-9'), 3.86 (3H, s, OCH₃), 3.85 (3H, s, OCH₃), 2.32 (3H, s, OCOCH₃), 2.31 (3H, s, OCOCH₃).

RMN¹³C (75 MHz, CDCl₃): 169.02 (s, OCOCH₃), 168.77 (s, OCOCH₃), 166.53 (s, C-9), 151.43 (s, C-3 ó C-3'), 151.18 (s, C-3' ó C-3), 144.15 (d, C-7), 141.52 (s, C-4), 139.68 (s, C-4'), 135.28 (s, C-1), 133.68 (d, C-7'), 133.31 (s, C-1'), 123.56 (d, C-8'), 123.28 (d, C-6, ó C-6'), 122.88 (d, C-6', C-6), 121.26 (d, C-8), 119.41 (d, C-5), 118.06 (d, C-5'), 111.29 (d, C-2), 110.25 (d, C-2'), 65.03 (t, C-9'), 55.87 (c, OCH₃), 20.62 (c, OCOCH₃).

ESTA TESIS NO PUEDE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

Las fracciones 118-135 del proceso cromatográfico del extracto acetónico de *L. porteri* mostraron al análisis por CCF estar constituidas por ácido ferúlico (60) y ferulato de coniferilo (62), en adición de un tercer compuesto de mayor polaridad. Con el objetivo de obtener este último compuesto en forma pura, 1 g del residuo de estas fracciones se adsorbió en un gramo de gel de sílice 70:230 y se aplicó en una columna cromatográfica empacada con 8 g de gel de sílice para placa. El eluyente inicial fue hexano-acetato de etilo (7:3), obteniéndose fracciones de 100 ml. Las fracciones 10-12 de esta columna presentaron a este compuesto como el constituyente mayoritario, por lo que su residuo se aplicó en una cromatoplaque preparativa (Pre-coated TLC plates SH. G-50 UV₂₅₄, 20 x 20 cm, 2 mm), que fue eluida dos veces utilizando como sistema eluyente la misma mezcla diclorometano-acetona (7:3). El *cis*-6,7-dihidroxi-*Z*-ligustilido (64)^{13,19,35,39} se obtuvo durante este procedimiento.



Aceite amarillo claro.

R_f = 0.46 (cloroformo - acetona 8:2).

IR (CHCl₃) ν_{max}: 3400, 1765, 1675, 1638, 1410, 1270, 1190 y 950 cm⁻¹

UV (MeOH) λ_{max} nm. (ε) : 272 (10500).

RMN¹H (300 MHz, CDCl₃): 5.28 (1H, t, J=7.8 Hz, H-8), 4.48 (1H, d, J=5.4 Hz, H-7), 3.96 (1H, ddd, J= 9.8, 5.4, 3.1 Hz, H-6), 2.58 (2H, m, H-4), 2.36 (2H, dd, J=15.1, 7.5 Hz, H-9), 2.07 (1H, m, H-5), 1.89 (1H, m, H-5), 1.48 (2H, c, J=7.5 Hz, H-10), 0.94 (3H, t, J=7.5 Hz, H-11).

RMN¹³C (75 MHz, CDCl₃): 169.17 (s, C-1), 153.15 (s, C-3a), 148.06 (s, C-3), 125.78 (s, C-7a), 114.09 (d, C-8), 71.43 (d, C-6), 67.18 (d, C-7), 27.97 (t, C-9), 26.22 (t, C-5), 22.16 (t, C-10), 18.80 (t, C-4), 13.67 (c, C-11).

EM (IE, 70 eV): 224 [M⁺] (31), 206 (5), 195 (5), 180 (100), 165 (19), 151 (44), 138 (14), 123 (5), 95 (17), 55 (27).¹³

SITUACION EXPERIMENTAL

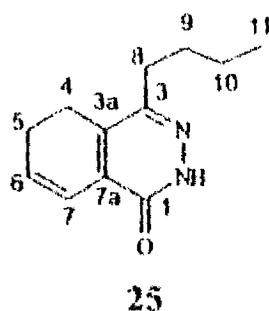
El Z-ligustilido (1), el diligustilido (3) y el toquinólido B (8), utilizados en el presente estudio, se obtuvieron a partir de las raíces de *Ligusticum porteri* (*Umbelliferae*). Su aislamiento se efectuó mediante el empleo de técnicas convencionales de separación como se indica en la parte I de esta sección experimental.

En esta segunda parte se describe el procedimiento empleado en las reacciones de transformación efectuadas a Z-ligustilido (1), diligustilido (3), toquinólido B (8) y wallichilido (5).

REACTIVIDAD QUIMICA DEL Z-LIGUSTILIDO (1).

A). Reacción con hidrazina.

A una solución de 93.1 mg (0.49 mmol) de Z-ligustilido (1) en 5 ml de etanol, se adicionó 1 ml de hidrazina anhidra. La mezcla total obtenida se sometió a reflujo durante 1 hora, lo que permitió obtener un solo producto de reacción. Al cabo de este tiempo, el disolvente de la mezcla se eliminó por destilación a presión reducida, y el residuo obtenido se adsorbió sobre gel de sílice 70:230, y se aplicó en una columna cromatográfica empacada con 15 g de la misma gel de sílice. El compuesto 25 (79 mg, 79% de rendimiento) se obtuvo en forma pura utilizando mezcla hexano-acetato de etilo (9:1).



Aceite amarillo.

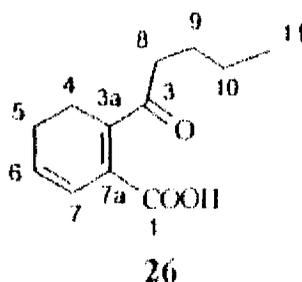
R_f = 0.2 (hexano - acetato de etilo 8:2).

RMN¹H (200 MHz, CDCl₃): 11.67 (1H, sa, NH), 6.83 (1H, dt, J=9.7, 1.9 Hz, H-7), 6.28 (1H, dt, J=9.7, 4.4 Hz, H-6), 2.70-2.55 (4H, m, H-4 y H-5), 2.39 (2H, m, H-9), 1.67-1.25 (4H, m, H-8 y H-10), 0.95 (3H, t, J=7.0 Hz, H-11).

RMN¹³C (50 MHz, CDCl₃): 159.62 (s, C-1), 148.55 (s, C-3), 136.01 (s, C-3a), 132.78 (d, C-6), 131.67 (s, C-7a), 120.27 (d, C-7), 31.99 (t, C-8), 29.86 (t, C-4), 22.40 (t, C-9), 22.02 (t, C-5), 21.75 (t, C-10), 13.88 (q, C-11).

B). Hidrólisis con K₂CO₃.

El Z-ligustilido (**1**) (50.3 mg, 0.26 mmol) se disolvió en 5 ml de etanol y se hizo reaccionar, bajo calentamiento en baño maría, con 5 ml de una solución acuosa de K₂CO₃ al 10 % durante 30 minutos. Al término de este periodo se observó la transformación total de la materia prima en un producto de mayor polaridad. La recuperación de la mezcla de reacción se efectuó mediante acidulación con una solución acuosa de HCl al 10 % y extracción de la fase resultante con acetato de etilo (20 ml por tres ocasiones). El residuo obtenido se aplicó en tres cromatoplasmas analíticas de 20 x 10 cm con base de aluminio, eluyéndolas con hexano-acetato de etilo (7:3), lo que permitió obtener **26** (47.4 mg, 86%). **1** y **26** deben ser almacenados bajo atmósfera inerte, pues reaccionan con oxígeno en presencia de luz para generar sus correspondientes productos aromatzados **24** y **29**, respectivamente.



Aceite amarillo claro

Rf = 0.2 (hexano - acetato de etilo 8:2).

IR (película): 3365, 2956, 2931, 2870, 1743, 1276, 1068 y 893 cm⁻¹.

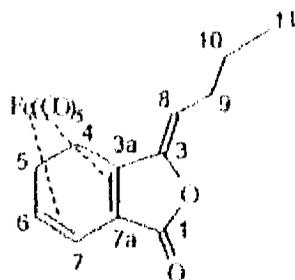
RMN¹H (200 MHz, CDCl₃): 6.16 (1H, dt, J=9.7, 0.8 Hz, H-7), 5.97 (1H, dt, J=9.7, 2.8 Hz, H-6), 4.5-3.3 (1H, sa, -OH), 2.50 (4H, sa, W_{1/2}=9.7 Hz, H-4 y H-5), 1.95 (2H, sa, W_{1/2}=37.2 Hz, H-8), 1.32 (4H, sa, W_{1/2}=23.0 Hz, H-9 y H-10), 0.90 (3H, t, J=6.4 Hz, H-11).

RMN¹³C (50 MHz, CDCl₃): 201.00 (s, C-3), 169.50 (s, C-1), 158.81 (s, C-3a), 130.16 (d, C-6), -126.00 (s, C-7a), 116.32 (d, C-7), 35.90 (t, C-8), 25.10 (t, C-4), 22.45 (t, C-9 y C-5), 19.33 (t, C-10), 13.80 (q, C-11).

C). Reacción con Fe₂(CO)₉.

El producto natural Z-ligustilido (**1**) (387.0 mg, 2.0 mmol) se hizo reaccionar con 2.78 g (7.85 mmol) de Fe₂(CO)₉ en benceno anhidro a reflujo, controlando la reacción por cromatografía en capa fina. Al cabo de dos horas ésta se dió por concluída, recuperando la

mezcla de productos por filtración a través de alúmina neutra. Para la purificación de los productos, 465.0 mg de la mezcla obtenida se aplicaron en una columna cromatográfica, utilizando como eluyente hexano 100%. Esto permitió obtener tres compuestos: el producto deseado (**27**) parcialmente puro, el producto de aromatización del *Z*-ligustilido (**24**) y un producto polimérico que no fue analizado. Las fracciones que contenían a **27** fueron aplicadas en una cromatoplaque preparativa (20 cm x 20 cm x 2 mm), obteniéndose de esta manera 292 mg (0.76 mmol, 37.2 % de rendimiento) del mismo.



27

R_f = 0.45 (hexano - acetato de etilo 9:1).

RMN¹H (300 MHz, CDCl₃): 6.09 (1H, d, J=6.9 Hz, H-7), 5.00 (1H, t, J=7.8 Hz, H-8), 3.33 (1H, ddd, J=6.6, 3.9, 1.8 Hz, H-6), 2.33-2.15 (4H, m, H-5, H-4), 1.98-1.76 (2H, m, H-9), 1.44 (2H, c, J=7.5 Hz, H-10), 0.92 (3H, t, J=7.5 Hz, H-11).

D) Dimerización de **1**.

d.1) Por calentamiento.

Muestras de aproximadamente 50 mg (0.26 mmol) de **1** se mezclaron con cantidades equivalentes de **25**, **26** y **27**. Las mezclas se desoxigenaron mediante burbujeo de nitrógeno durante 15 minutos y se pusieron a calentar a 65-80°C. Al cabo de 5 horas de calentamiento solo se llevó a cabo la reacción de deshidrogenación (aromatización) de las dos materias primas de cada mezcla, recuperándose sus productos **24**, **28** y **29**.

d.2) con LiClO₄ en THF.

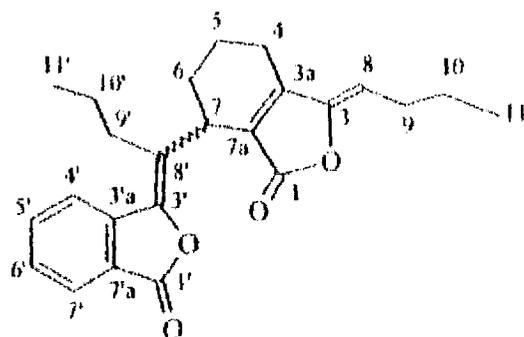
Tres muestras de **1** que contenían 45.7 mg (0.24 mmol), 72.7 mg (0.38 mmol) y 65.3 mg (0.34 mmol) respectivamente se disolvieron en 10 ml de THF cada una. Estas mezclas se desoxigenaron mediante burbujeo de nitrógeno durante 15 minutos y se pusieron a reaccionar, bajo atmósfera de nitrógeno, con 12.8 mg (0.12 mmol), 20.35 mg (0.19 mmol) y 18.3 mg (0.17 mmol) de LiClO₄, respectivamente. Cada una de las mezclas anteriores se sometió a diferente temperatura: 0°C, temperatura ambiente y reflujo durante 48 horas. Al cabo de este tiempo, en los tres casos se recuperó una mezcla de **1** y su producto de aromatización **24**.

d.3) con Et₂AlCl.

El compuesto **1** (1.06 g, 5.58 mmol) se depositó mediante jeringa en un matraz bola de una boca seco y provisto de agitador magnético. Sobre el mismo y bajo atmósfera de nitrógeno, se adicionó gota a gota y con agitación 1.0 ml (2.79 mmol) de Et₂AlCl (Aldrich, solución en CH₂Cl₂, la mezcla de reacción se calentó notablemente al adicionar el ácido de Lewis). La mezcla resultante se dejó reaccionar a temperatura ambiente y con agitación durante 7 días sin observar transformación de la materia prima, por lo que se llevó a cabo una segunda adición de 1 ml del ácido de Lewis (5.6 mmol en total). 24 horas después de la segunda adición la materia prima continuó inalterada. La mezcla de reacción se sometió a reflujo con tolueno durante 6 horas, al cabo de las cuales se recupera **1**, su producto de deshidrogenación (**24**), y el producto de isomerización de **24** en el doble enlace C(3)-C(8) (**34**).

d.4) con BF₃OEt₂.

Una solución de **1** (322.5 mg, 0.21 mmol) en CH₂Cl₂ (10 ml) se desoxigenó mediante burbujeo con nitrógeno durante 15 minutos. Al cabo de este tiempo, bajo atmósfera de nitrógeno, se adicionaron 1.5 ml (12.9 mmol) de BF₃OEt₂ mediante goteo lento con agitación. La mezcla total se sometió a reflujo durante 24 horas sin observar transformación de la materia prima. Un tiempo prolongado de reacción (15 días a temperatura ambiente) permitió obtener una mezcla compleja de productos. La mezcla total se adsorbió sobre gel de sílice 70:230 y se aplicó en una columna cromatográfica empacada con 60 g de la misma gel de sílice. La elución se inició con hexano-acetato de etilo (95:5). De este y sucesivos procesos cromatográficos en placa preparativa se aislaron 133.1 mg (0.70 mmol, 41.7 %) de **24**, 64.6 mg (0.17 mmol, 20.0%) de **30**, 51.4 mg (0.14 mmol, 16.0 %) de **33**, 4.5 mg (0.012 mmol, 1.4 %) de **31**, 4.0 mg (0.01 mmol, 1.2 %) de **32**, además de una fracción polimérica. La repetición de este procedimiento de reacción, refluendo por 72 horas permitió la obtención de esta misma mezcla de compuestos.



30

Aceite amarillo

R_f = 0.6 (hexano - acetato de etilo 8:2).

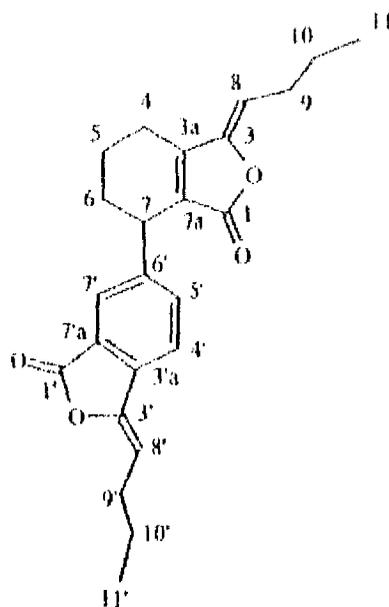
IR (película) ν_{\max} : 3022, 2961, 2935, 2873, 1771, 1677, 1610, 1473, 1458, 1266, 1090, 1018 y 768 cm⁻¹.

UV (MeOH) λ_{\max} nm (ϵ): 271 (7247), 256.5 (6022), 209.5 (13034).

RMN¹H (500 MHz, CDCl₃, espectro 2): 7.92 (1H, dt, J=8.0,0.5 Hz, H-7'), 7.70 (1H, ddd, J=8.0,7.0,1.0 Hz, H-5'), 7.66 (1H, d, J=8.0, 1Hz, H-4'), 7.50 (1H, ddd, J=8.0,7.0,1.0 Hz, H-6'), 5.21 (1H, t, J=7.5 Hz, H-8), 3.99 (1H, sa, $W_{1/2}$ =16 Hz, H-7), 2.53 (1H, m, H-9'a), 2.51 (2H, m, H-4), 2.37 (2H, c, J=7.5 Hz, H-9), 2.28 (1H, m, H-9'b), 2.07 (2H, m, H-5), 1.76 (2H, m, H-6), 1.64 (2H, m, H-10'), 1.51 (2H, c, J=7.5 Hz, H-10), 1.05 (3H, t, J=7.5 Hz, H-11'), 0.97 (3H, t, J=7.5 Hz, H-11).

RMN¹³C (75 MHz, CDCl₃, espectro 3): 168.61 (s, C-1), 166.64 (s, C-1'), 152.60 (s, C-3a), 148.77 (s, C-3), 143.21 (s, C-3'), 138.32 (s, C-3'a), 134.33 (d, C-5'), 128.78 (d, C-6'), 127.16 (s, C-7a), 127.16 (s, C-7'a), 127.16 (s, C-8'), 125.55 (d, C-7'), 122.96 (d, C-4'), 111.38 (d, C-8), 36.19 (d, C-7), 31.75 (t, C-9'), 28.50 (t, C-6), 27.88 (t, C-9), 22.53 (t, C-10'), 22.36 (t, C-10), 21.40 (t, C-5), 21.17 (t, C-4), 14.47 (c, C-11') 13.73 (c, C-11).

EM (IE, 70 eV):378 [M⁺] (23), 349 [M⁺-C₂H₅] (11), 335 [M⁺-C₃H₇] (24), 319 (16), 192 [C₂H₅⁺] (100), 190 [C₃H₇⁺] (96), 187 [C₃H₇-H⁺] (64), 186 (53), 149 (25), 148 (20), 105 (17), 91 (9), 77 (13), 59 (19), 55 (23).



31

Aceite amarillo

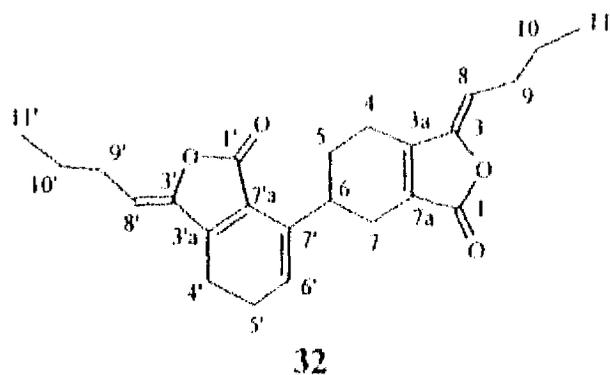
Rf = 0.25 (hexano - acetato de etilo 9:1).

IR (CHCl₃) ν_{\max} : 2965, 2936, 2876, 1773, 1732, 1464, 1267, 1091, 1024 cm⁻¹.

UV (MeOH) λ_{\max} nm (ϵ): 269 (18818), 207 (5139).

RMN¹H (200 MHz, CDCl₃, espectro 4): 7.68-7.49 (3H, m, H-4', H-5' y H-7'), 5.60 (3H, t, J=7.9 Hz, H-8'), 5.30 (3H, t, J=7.9 Hz, H-8), 3.95 (1H, sa, W_{1/2}=10.1 Hz, H-7), 2.53 (2H, m, H-4), 2.44 (2H, dd, 15.0, 7.4 Hz, H-9'), 2.40 (2H, dd, J=15.2, 7.5 Hz, H-9), 1.77 (2H, m, H-6), 1.60 (2H, m, H-5), 1.54 (4H, c, J=7.5 Hz, H-10 y H-10'), 0.99 (3H, t, J=7.2 Hz, H-11), 0.98 (3H, t, J=7.2 Hz, H-11').

EM (IE, 70 eV): 378 [M⁺] (36), 349 [M⁺-C₂H₅] (94), 338 (62), 309 [M⁺-C₃H₅CO] (100), 296 [M⁺-C₄H₆CO] (46), 254 (50), 192 [¹³C] (32), 190 [¹³C] (25), 187 [¹³C - H] (47), 186 (17), 149 (37), 104 (18), 97 (17), 83 (21), 71 (30), 57 (34) 55 (35), 43 (42).



Aceite amarillo

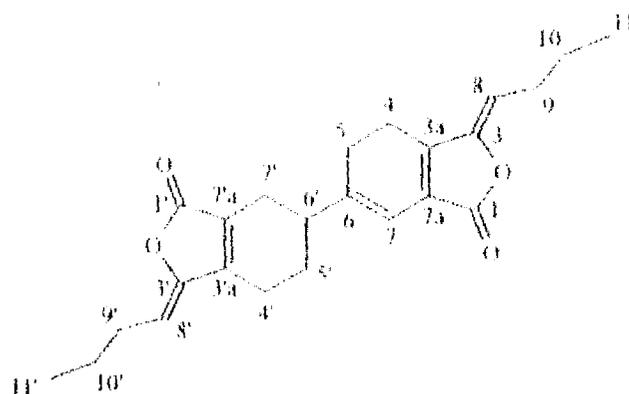
R_f = 0.2 (hexano - acetato de etilo 9:1).

IR (CHCl₃) ν_{max}: 2963, 2932, 2874, 1773, 1732, 1456, 1094, 1024 cm⁻¹.

UV (MeOH) λ_{max} nm (ε): 268 (2442), 207 (665).

RMN¹H (200 MHz, CDCl₃, espectro 5): 5.42 (1H, m, H-6'), 5.21 (1H, t, J=7.9 Hz, H-8), 5.13 (1H, t, J=7.9 Hz, H-8'), 3.26 (1H, m H-6), 3.08 (2H, m, H-4'), 2.97 (2H, d, J=11-5'), 2.36 (2H, dd, J=7.7, 7.5 Hz, H-9, H-9'), 2.35 (4H, dd, J=7.7, 7.5 Hz, H-4, H-7), 1.77 (2H, m, H-5), 1.50 (4H, m, H-10, H-10'), 0.96 (3H, t, J=7.4 Hz, H-11), 0.94 (3H, t, J=7.4 Hz, H-11').

EM (IE, 70 eV): 380 [M⁺] (44), 378 [M⁺-H₂] (29), 349 [M⁺-H₂ - C₂H₅] (59), 336 (16), 319 (8), 294 [M⁺-H₂ - C₄H₆CO] (9), 256 (14), 192 [¹³C] (100), 190 [¹³C] (46), 189 (54), 187 [¹³C - H] (27), 186 (24), 161 (21), 149 (33), 129 (20), 104 (14), 97 (25), 83 (31), 73 (27), 71 (31), 57 (49), 55 (48), 43 (44).



33

Aceite amarillo

Rf = 0.5 (hexano - acetato de etilo 8:2).

IR (CHCl₃) ν_{\max} : 2963, 2934, 2874, 1771, 1734, 1464, 1267, 1092, 1036 cm⁻¹.

UV (MeOH) λ_{\max} nm (ϵ): 269 (7419), 256 (6935), 207 (17733).

RMN¹H (300 MHz, CDCl₃, espectro 6): 5.85 (1H, s, H-7), 5.23 (1H, t, J=7.5 Hz, H-8), 5.21 (1H, t, J=7.5 Hz, H-8'), 3.30 (1H, sa, $W_{1/2}$ =8.0 Hz, H-6'), 2.65 (2H, m, H-4), 2.51 (2H, m, H-5), 2.36 (6H, m, H-4', H-9' y H-9), 1.77 (4H, m, H-5' y H-7'), 1.51 (2H, c, J=7.5 Hz, H-10), 1.49 (2H, c, J=4.5 Hz, H-10'), 0.97 (3H, t, J=7.5 Hz, H-11), 0.95 (3H, t, J=7.5 Hz, H-11').

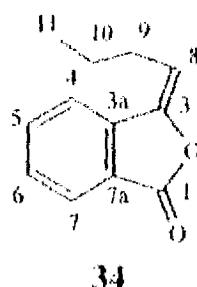
RMN¹³C (75 MHz, CDCl₃, espectro 7): 168.86 (s, C-1'), 167.74 (s, C-1), 153.07 (s, C-6), 148.64 (s, C-3), 148.38 (s, C-3'), 145.86 (s, C-3a), 143.37 (s, C-3'a), 126.45 (s, C-7a), 124.68 (s, C-7'a), 113.60 (d, C-7), 112.83 (d, C-8), 111.95 (d, C-8'), 37.76 (d, C-6'), 28.10 (d, C-9), 27.88 (d, C-9'), 26.98 (d, C-7'), 26.41 (d, C-5), 22.40 (d, C-10), 22.35 (d, C-10'), 21.07 (d, C-4'), 19.49 (d, C-4), 17.94 (d, C-5'), 13.83 (q, C-11), 13.74 (q, C-11').

EM (IE, 70 eV): 380 [M⁺] (22), 378 [M⁺-H₂] (18), 349 [M⁺-C₂H₅] (24), 335 [M⁺-C₃H₇] (17), 192 [C₁₀H₁₄O₂] (100), 190 [C₁₀H₁₂O₂] (62), 187 [C₁₀H₁₀O₂-H] (43), 186 (35), 149 (27), 105 (15), 91 (8), 77 (9), 55 (17).

d.5) Reacción con SnCl₄.

Una solución de **1** (1.02 g, 5.37 mmol) en CH₂Cl₂ (10 ml) se desoxigenó mediante burbujeo con nitrógeno durante 15 minutos. Al cabo de este tiempo, bajo atmósfera de nitrógeno, se adicionaron 0.6 ml (3.4 mmol) de una solución 1M de SnCl₄ en CH₂Cl₂ (Aldrich, la mezcla de reacción se calienta notablemente al adicionar el ácido de Lewis). mediante goteo lento con agitación. La mezcla total se dejó a temperatura ambiente durante 7 días sin observar transformación de la materia prima, por lo que se adicionaron 0.5 ml

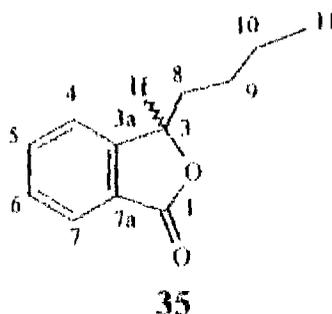
más del ácido de Lewis (6.2 mmol en total), sin embargo, 24 horas después de la segunda adición, la materia prima continuaba inalterada. La mezcla de reacción se sometió a reflujo con CH_2Cl_2 durante 6 horas, al cabo de las cuales, la mezcla se lavó por cuatro ocasiones con 10 ml de una solución saturada de NH_4Cl y se extrajo con CHCl_3 . El extracto obtenido se separó en sus componentes mediante cromatografía en columna, utilizando mezclas de hexano-acetato de etilo como sistema eluyente. De éste y sucesivos procesos cromatográficos en placa preparativa se aislaron los compuestos **24**, **30** y **33**, previamente identificados en la dimerización de **1** con BF_3OEt_2 , además de **34** y **35**.



Aceite amarillo claro.

Rf = 0.4 (hexano - acetato de etilo 9:1).

RMN¹H (300 MHz, CDCl_3): 7.94 (1H, dd, J=7.8, 0.9 Hz, H-7), 7.72 (2H, dd, J=8.1, 1.2 Hz, H-4 y H-5), 7.55 (1H, m, H-6), 5.88 (1H, t, J=7.8 Hz, H-8), 2.55 (2H, dd, J=15.3, 7.8 Hz, H-9), 1.65 (2H, c, J=7.2 Hz, H-10), 1.04 (3H, t, J=7.2 Hz, H-11).



Aceite amarillo claro.

Rf = 0.3 (hexano - acetato de etilo 9:1).

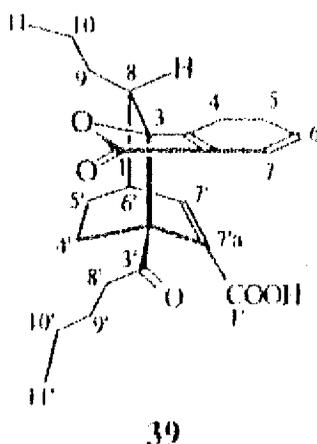
RMN¹H (300 MHz, CDCl_3): 7.90 (1H, d, J=7.5 Hz, H-7), 7.67 (1H, ddd, J=7.8, 7.8, 1.5 Hz, H-5), 7.53 (1H, dd, J=7.5, 7.5 Hz, H-6), 7.44 (1H, dd, J=7.5, 0.8 Hz, H-4), 5.48 (1H, dd, J=8.1, 4.5 Hz, H-3), 2.04 (2H, m, H-9), 1.78 (2H, m, H-8), 1.37 (2H, m, H-10), 0.91 (3H, t, J=7.2 Hz, H-11).

RMN¹³C (75 MHz, CDCl_3): 170.68 (s, C-1), 150.10 (s, C-3a), 136.51 (s, C-7a), 133.90 (d, C-7), 129.00 (d, C-5), 125.70 (d, C-6), 121.67 (d, C-4), 81.43 (d, C-3), 34.42 (t, C-8), 26.87 (t, C-9), 22.41 (t, C-10), 13.85 (c, C-11).

REACTIVIDAD QUIMICA DE TOQUINOLIDO B (8).

A) Hidrólisis.

El tratamiento de 100 mg (0.262 mmol) de toquinólido B (8) con 10 ml de una solución acuosa de Na_2CO_3 bajo reflujo durante 10 minutos, como se describe por Hölle para la conversión de angeólido (9) en su cetoácido correspondiente (38)²⁹ no permitió obtener resultados positivos en la conversión de 8 en su correspondiente cetoácido 39 debido a la insolubilidad de la materia prima bajo estas condiciones. Aunque la reacción se llevó a cabo durante prolongados periodos de tiempo, no se logró la transformación de 8. Estos resultados condujeron a ensayar la reacción utilizando mezclas de disolventes. A una solución de 8 (55.8 mg, 0.146 mmol) en 10 ml de acetona fue adicionada una solución de 1.0 g de Na_2CO_3 disuelto en 10 ml de agua. Esta mezcla fue calentada a reflujo por 20 minutos (control por CCF) al cabo de los cuales se obtuvo un producto de reacción de mayor polaridad y materia prima remanente. La mezcla fue acidulada con HCl diluido al 10% hasta pH=4 y extraída con 30 ml de acetato de etilo por tres ocasiones. Las fases orgánicas fueron reunidas, lavadas con salmuera, secadas con sulfato de sodio anhidro y concentradas a presión reducida lo que generó un residuo que se purificó mediante cromatografía en columna usando mezclas de hexano-acetato de etilo, para obtener 38.2 mg (65 %) del producto de hidrólisis 39 y 11.1 mg (20 %) de materia prima (8).



Polvo blanco amorfo.

Pf = 194-196 °C

Rf = 0.3 (hexano - acetato de etilo 6:4).

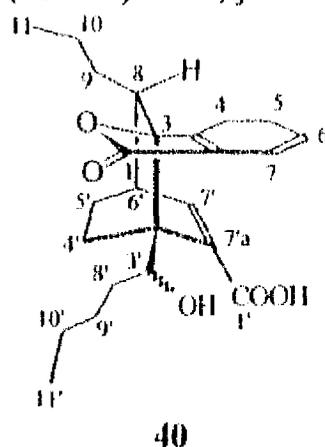
IR (CHCl_3) ν_{max} : 3003, 2960, 2873, 1748, 1690, 1431, 1276, 1071 cm^{-1} .

RMN¹H (200 MHz, CDCl_3 , espectro 12): 8.50 (1H, s, COOH), 7.48 (1H, d, J=7.2 Hz, H-7'), 6.12 (1H, dt, J=9.7, 1.7 Hz, H-7), 5.87 (1H, dt, J=9.7, 3.9 Hz, H-6), 2.88 (1H, da, J=6.2 Hz, H-6'), 2.7-2.0 (H-8, H-5', H-5, H-4', H-4), 1.7-1.0 (H-10', H-10, H-9', H-9), 0.84 (H-11 ó H-11'), 0.83 (H-11' ó H-11).

RMN¹³C (50 MHz, CDCl₃, espectro 13): 208.25 (s, C-3'), 170.76 (s, C-1), 169.86 (s, C-3a), 166.68 (s, C-1'), 149.47 (d, C-7'), 136.05 (s, C-7'a), 128.33 (d, C-6), 122.21 (s, C-7a), 116.45 (d, C-7), 90.26 (s, C-3), 58.51 (s, C-3'a), 42.68 (d, C-8), 40.88 (t, C-8'), 33.49 (d, C-6'), 27.53 (t, C-4), 25.21 (t, C-5, t, C-9), 22.62 (t, C-9'), 22.11 (t, C-10), 21.93 (t, C-10'), 20.70 (t, C-5'), 18.16 (t, C-4'), 14.02 (c, C-11 ó C-11'), 13.89 (c, C-11' ó C-11).

B). Reducción.

A una solución mantenida en agitación de NaBH₄ (21.3 mg, 0.55 mmol) en metanol se adicionó una solución de 114.6 mg (0.287 mmol) de **39** en 10 ml de metanol. La mezcla resultante se mezcló por tres horas a temperatura ambiente, y después de este tiempo el análisis por CCF mostró conversión total del material de partida en un producto de menor polaridad. La reacción se dio por concluida mediante la adición de 20 ml de agua y acidificación de la mezcla resultante hasta pH=4 con una solución de HCl al 10%. Esta mezcla se extrajo con 25 ml de acetato de etilo por tres ocasiones. Las fases orgánicas fueron lavadas con salmuera, secadas con Na₂SO₄ y concentradas a presión reducida, lo que permitió obtener un producto crudo que fue purificado sobre gel de sílice (hexano-acetato de etilo 1:1) para obtener 89.9 mg (78.4 %) de **40**, y 19.1 mg (16.6 %) de **39**.



Aceite amarillo.

Rf = 0.6 (hexano - acetato de etilo 6:4).

IR (CHCl₃) ν_{\max} : 3496, 2957, 2932, 2873, 1759, 1664, 1466, 1239, 1185, 1065 cm⁻¹.

RMN¹H (200 MHz, CDCl₃, espectro 14): 7.50 (1H, d, J=6.8 Hz, H-7'), 6.19 (1H, dt, J=9.4, 1.7 Hz, H-7), 5.96 (1H, dt, J=9.7, 4.1 Hz, H-6), 4.33 (1H, dd, J=9.2, 2.0 Hz, H-3), 3.07 (1H, m, H-6'), 2.7-2.0 (H-8, H-5', H-5, H-4', H-4), 1.8-1.0 (H-10', H-10, H-9', H-9), 0.87 (H-11 ó H-11'), 0.86 (H-11' ó H-11).

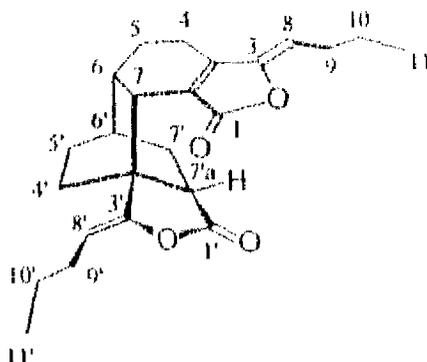
RMN¹³C (50 MHz, CDCl₃, espectro 15): 170.22 (s, C-1), 167.16 (s, C-3a), 162.69 (s, C-1'), 144.87 (d, C-7'), 135.09 (s, C-7'a), 129.49 (d, C-6), 125.26 (s, C-7a), 116.38 (d, C-7), 89.56 (s, C-3), 89.01 (d, C-3'), 49.85 (s, C-3'a), 44.93 (d, C-8), 35.07 (d, C-6'), 29.55 (t, C-8'), 29.24 (t, C-4), 28.68 (t, C-5), 27.16 (t, C-9), 22.54 (t, C-9'), 22.22 (t, C-10), 21.31 (t, C-10'), 20.99 (t, C-5'), 17.31 (t, C-4'), 14.05 (c, C-11 ó C-11'), 13.63 (c, C-11' ó C-11).

REACTIVIDAD QUÍMICA DE DILIGUSTILIDO (3).

A). Obtención de *rel*-(3'*R*)- (45) y *rel*-(3'*S*)-3',8'-dihidrodiligustilido (4).

a.1) Reducción con NaBH₄ en THF.

A una solución mantenida en agitación de NaBH₄ (4.6 mg, 0.12 mmol) en 5 ml de THF fue adicionada gota a gota una solución de diligustilido (3) (20.5 mg 0.054 mmol) disuelto en 10 ml de THF. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 40 minutos y posteriormente se diluyó con 15 ml de agua. La mezcla se extrajo con acetato de etilo durante tres ocasiones con 20 ml cada vez. Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron con Na₂SO₄ y se evaporaron mediante destilación a presión reducida para producir 37 (19.4 mg, 94%) como un aceite amarillo claro.



37

Aceite amarillo claro.

R_f = 0.56 (hexano - acetato de etilo 8:2).

IR (película) ν_{\max} : 2958, 2929, 2873, 1801, 1773, 1728, 1463, 1273, 1124, 1072 cm⁻¹.

IR (CHCl₃, espectro 10) ν_{\max} : 2962, 2933, 2874, 1174, 1720, 1464, 1279, 1128, 1074 cm⁻¹.

UV (MeOH) λ_{\max} nm (ϵ): 287 (1892), 241 (5966), 222 (16007).

RMN¹H (300 MHz, CDCl₃, espectro 11): 5.15 (1H, t, J=7.8 Hz, H-8), 4.72 (1H, t, J=7.5 Hz, H-8'), 2.93 (1H, d, J=9.6 Hz, H-7), 2.57 (1H, ddd, J=12.6, 5.4, 2.5 Hz, H-6'), 2.48 (1H, m, H-6), 2.33 (1H, dd, J=15.3, 8.1 Hz, H-7'a), 2.22 (1H, m, H-4'), 2.13 (2H, m), 2.0-1.94 (m), 1.94-1.90 (m), 1.88-1.80 (m), 1.70-1.32 (m), 0.94 (3H, t, J=7.2 Hz, H-11 ó H-11'), 0.92 (3H, t, J=7.2 Hz, H-11 ó H-11').

EM (IE, 70 eV): 382 [M⁺] (14), 380 [M⁺-2H] (28), 354 [M⁺-CO] (10), 343 (27), 342 (52), 314 (90), 313 (47), 285 (33), 279 (18), 270 (30), 258 (29), 228 (20), 214 (9), 191 (22), 167 (42), 163 (89), 149 (100), 129 (15), 107 (58), 91 (25), 83 (38), 79 (37), 77 (24), 61 (40), 57 (38), 55 (83), 43 (38), 41 (31).

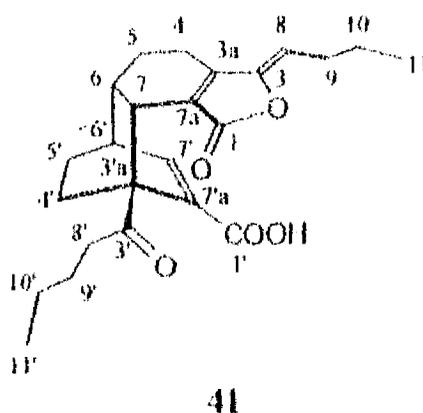
a.2) Intentos de reducción con diborano.

Método A. A una solución de diligustilido (**3**) (101.6 mg, 0.27 mmol) disuelto en 15 ml de THF anhidro a 0°C se burbujeó diborano (generado por la reacción de NaBH₄ (5 mg en 2 ml de THF) con BF₃·OEt₂ (100 µl en 5 ml de THF)).¹⁰⁴ La reacción se mezcló a temperatura ambiente y se monitoreó mediante RMN¹H (el exceso de B₂H₆ fue captado en un recipiente que contenía acetona). No se observaron cambios al cabo de 18 horas.

Método B. A una solución de **3** (101.3 mg, 0.26 mmol) en 15 ml de THF a 0°C se adicionaron 0.6 ml (0.23 mmol) de una solución 1M de BH₃·THF, manteniéndose en agitación constante durante 24 horas. El análisis por CCF y RMN¹H de la misma después de tres horas de reacción indicó que no hubo transformación de la materia prima. Subsecuente calentamiento de la solución a temperatura ambiente por dos días tampoco permitió observar transformación de la materia prima.

a.3) Hidrólisis de diligustilido (**3**).

A una solución de diligustilido (**3**) (500.4 mg, 1.31 mmol) disuelto en 25 ml de acetona se adicionó una solución de Na₂CO₃ (500 mg) disuelto en 25 ml de agua. La mezcla se calentó a ebullición durante 3.5 horas. Al cabo de este tiempo la mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, se aciduló hasta pH=4 con HCl al 10% y se extrajo con tres volúmenes de 15 ml de acetato de etilo. La fase orgánica se lavó con salmuera, se secó con Na₂SO₄ y se concentró a presión reducida. El residuo obtenido se purificó por cromatografía en columna usando mezclas de hexano-acetato de etilo para obtener diligustilido (**3**) (159.4 mg, 0.42 mmol, 32%), desmetilwallichilido (**41**) (210.6 mg, 0.529 mmol, 41 %) y el dicetodiácido (**42**) (130.1 mg, 0.314 mmol, 26.0 %).



Sólido blanco amorfo.

R_f = 0.44 (hexano - acetato de etilo 5:5).

UV (MeOH) λ_{max} nm (ε): 273 (28855).

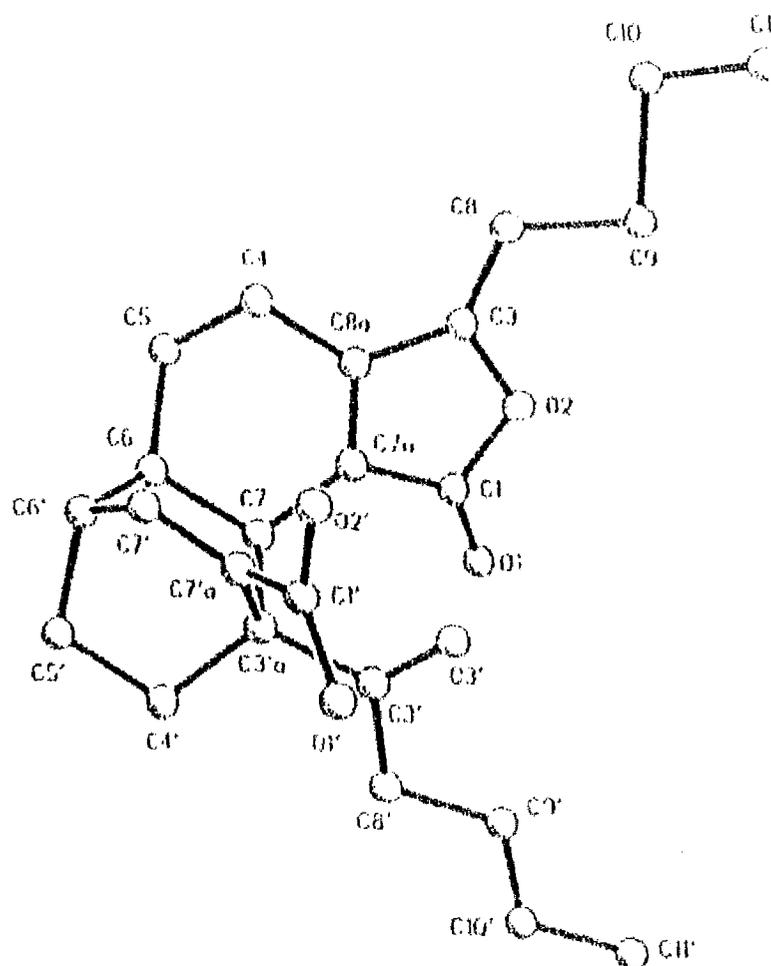
IR (CHCl₃, espectro 16) ν_{\max} : 3502, 3005, 2958, 2936, 2872, 2661 (ancha), 1754, 1707, 1450, 1433, 1408, 1380, 1278, 1168, 1103, 1078 y 1058 cm⁻¹.

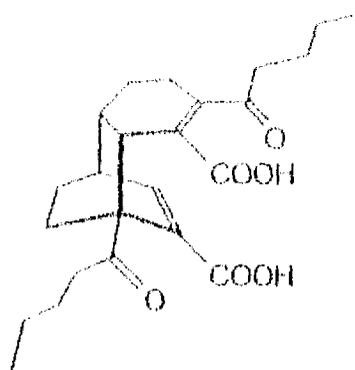
RMN¹H (300 MHz, CDCl₃, espectro 17): 6.98 (1H, d, J=7.0 Hz, H-7'), 5.09 (1H, t, J=7.8 Hz, H-8), 3.24 (1H, d, J=9.0 Hz, H-7),), 2.97 (1H, ddd, J=8.4, 6.3, 6.0 Hz, H-8'), 2.66 (1H, ddd, J=7.0, 2.4, 2.0 Hz, H-6'), 2.59 (1H, dd, J=8.4, 6.3 Hz, H-8'), 2.53 (1H, dd, J=7.5, 7.5 Hz, H-6), 2.28 (2H, ddd, J=7.7, 7.7, 2.0 Hz, H-4), 2.17 (2H, m, H-9), 1.88 (2H, m, H-5), 1.62 (4H, m, H-4', H-5'), 1.40 (2H, e, J=7.0 Hz, H-10), 1.35 (2H, e, J=7.0 Hz, H-10'), 1.28 (2H, dd, J=7.0, 7.0 Hz, H-9'), 0.93 (3H, t, J=7.0 Hz, H-11), 0.92 (3H, t, J=7.0 Hz, H-11').

RMN¹³C (75 MHz, CDCl₃, espectro 18): 209.00 (s, C-3'), 171.18 (s, C-1'), 169.28 (s, C-1), 153.51 (s, C-3a), 148.38 (s, C-3), 19.01 (t, C-4), 142.48 (d, C-7'), 136.77 (s, C-7'a), 126.77 (s, C-7a), 111.35 (d, C-8), 57.11 (s, C-3'a), 39.15 (d, C-7), 38.75 (t, C-8'), 38.22 (d, C-6'), 37.70 (d, C-6), 29.23 (t, C-4'), 28.48 (t, C-5), 27.81 (t, C-9), 27.69 (t, C-9'), 25.33 (t, C-5'), 22.23 (t, C-10, C-10'), 13.98 (e, C-11), 13.75 (e, C-11').

EM (IE, 70 eV): 398 [M⁺] (1.3 %), 396 [M⁺-2H] (1), 380 [M⁺-H₂O] (3.1), 351 [M⁺-C₂H₄] (1), 257 (11), 192 (28), 191 (68), 190 (86), 161 (51), 148 (100), 105 (33), 79 (18), 77 (25), 57 (17), 55 (22).

Rx:





42

Rf = 0.46 (hexano - acetato de etilo 5:5).

UV (MeOH) λ_{\max} nm (ϵ): 300 (32640), 253 (6773), 212 (28533).

IR (CHCl₃) ν_{\max} : 3572, 2961, 2936, 2874, 2638, 1697, 1631, 1425, 1352, 1088 cm⁻¹.

RMN¹H (300 MHz, CD₃OD, espectro 19): 7.29 (1H, d, J=7.0 Hz, H-7'), 2.87 (1H, m, H-6'), 2.69 (1H, d, J=9.9 Hz, H-7), 2.44 (1H, m, H-6), 2.22 (4H, dd, J=7.8, 7.8 Hz, H-8, H-8'), 2.10 (1H, m, H-4), 1.98 (2H, m, H-5), 1.88-1.72 (2H, m, H-10), 1.66 (2H, m, H-9, H-9'), 1.51 (4H, m, H-9, H-9', H-10), 1.24 (2H, m, H-10'), 1.1 (1H, m, H-4), 0.90 (3H, t, J=7.0 Hz, H-11), 0.89 (3H, t, J=7.0 Hz, H-11').

RMN¹³C (75 MHz, CD₃OD, espectro 20): 203.67 (s, C-3, C-3'), 168.27 (s, C-1), 166.40 (s, C-1'), 147.88 (d, C-7'), 144.90 (s, C-3a), 138.47 (s, C-7'a), 134.25 (s, C-7a), 50.85 (s, C-3'a), 39.68 (d, C-6), 37.74 (d, C-7, C-6'), 37.10 (t, C-8'), 30.45 (t, C-5), 29.22 (t, C-9'), 27.01 (t, C-4', C-9), 26.58 (t, C-8), 24.92 (t, C-5'), 23.60 (t, C-10), 22.52 (t, C-10'), 21.20 (t, C-4), 14.71 (c, C-11), 14.25 (c, C-11').

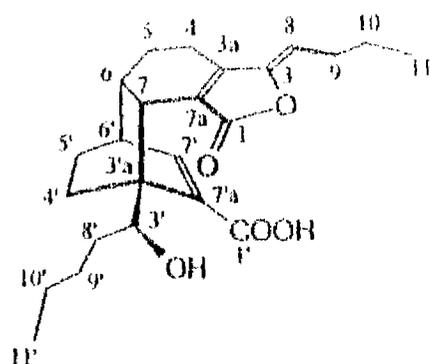
EM (IE, 70 eV): 398 [M'-H₂O] (9), 380 [M'-2H₂O] (67), 351 [M'-2H₂O - C₂H₅] (100), 323 [M'-2H₂O - n-Bu] (22), 309 (13), 257 (7), 229 (8), 191 (4), 171 (8), 151 (10), 129 (10), 97 (14), 57 (30), 43 (26).

a.4) Reducción de desmetilwallichilido (41).

a.4.1) En metanol.

A una solución de NaBH₄ (380 mg, 10 mmol) en 10 ml de metanol mantenida en agitación fue adicionada gota a gota una solución de desmetilwallichilido (41) (464 mg (1.166 mmol) disuelto en 10 ml de metanol. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante dos horas (el control mediante CCF indicó la obtención de dos productos de reacción de menor polaridad que la materia prima y que el rendimiento de éstos no aumenta respecto al tiempo). La reacción se concluyó mediante la adición de 20 ml de agua, la acidificación hasta pH=4 con HCl al 10% y la extracción con tres porciones de 25 ml de

acetato de etilo. Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron con Na_2SO_4 y se concentraron a presión reducida. El material resultante se purificó mediante cromatografía en columna utilizando gradientes de polaridad obtenidos con la mezcla hexano-acetato de etilo para obtener 236.2 mg (0.59 mmol, 50 %) de **41**, 166.9 mg (0.417 mmol, 36 %) de **43**, y 14.9 mg (0.037 mmol, 3 %) de **44**.



43

Rf = 0.56 (hexano - acetato de etilo 6:4).

IR (CHCl_3) ν_{max} : 3401, 2959, 2934, 2872, 1732, 1628, 1458, 1428, 1226, 1209, 757 cm^{-1} .

UV (MeOH) λ_{max} , nm (ϵ): 275 (5775), 204 (5875).

RMN^1H (200 MHz, CDCl_3 , espectro 21): 7.37 (1H, d, $J=6.9$ Hz, H-7'), 5.16 (1H, t, $J=7.8$ Hz, H-8), 4.49 (1H, d, $J=8.4$ Hz, H-3'), 3.34 (1H, d, $J=9.3$ Hz, H-7), 2.64 (1H, m, H-6'), 2.50 (1H, dd, $J=7.8, 7.6$ Hz, H-6), 2.32 (2H, m, H-4), 2.15-1.96 (2H, m, H-9), 1.96-1.80 (4H, m, H-4', H-5), 1.70-1.20 (12H, m, H-5', H-8', H-9', H-10', H-9, H-10), 0.92 (3H, t, $J=7.3$ Hz, H-11), 0.84 (3H, t, $J=9.0$ Hz, H-11').

RMN^{13}C (75 MHz, CDCl_3 , espectro 22): 172.45 (s, C-1), 169.86 (s, C-1'), 155.10 (s, C-3a), 149.00 (d, C-7'), 148.63 (s, C-3), 136.80 (s, C-7'a), 128.07 (s, C-7a), 112.61 (d, C-8), 70.29 (d, C-3'), 49.64 (s, C-3'a), 39.52 (d, C-6), 39.31 (d, C-6'), 38.49 (d, C-7), 34.38 (t, C-8'), 29.77 (t, C-4'), 29.63 (t, C-5), 27.94 (t, C-9), 25.95 (t, C-5'), 22.73 (t, C-10), 22.29 (t, C-9', C-10'), 19.58 (t, C-4), 14.10 (c, C-11'), 13.74 (c, C-11).

EM (IE, 70 eV): 282 [M^+-16] (1.8), 193 (100), 192 (94), 191 (97), 190 (73), 175 (11), 161 (32), 149 (38), 148 (90), 135 (16), 107 (92), 105 (32), 91 (38), 85 (23), 79 (48), 77 (55), 71 (19), 69 (19), 57 (20), 55 (35), 43 (30), 41 (27).

a.4.2) En THF/MeOH (5:2).

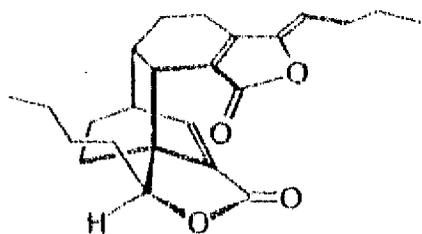
A 198.8 mg (0.55 mmol) de desmetilwallichilido (**41**) disueltos en 10 ml de THF anhidro se adicionaron 372.2 mg (2 mmol) de $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ disueltos en 4 ml de MeOH; esta mezcla se dejó en agitación por un período de 15 minutos. Esta solución se adicionó gota a

gota sobre 103.9 mg (2.7 mmol) de NaBH_4 disueltos en 10 ml de THF, dejando que la reacción transcurriera durante 30 minutos (control por CCF). La conclusión de la misma se llevó a cabo mediante la adición de 4 ml de acetona, la eliminación del THF presente hasta un volumen aproximado de 2 ml y la adición de 10 ml de CH_2Cl_2 , con lo que se formaron dos fases. La fase orgánica se separó y se lavó con NaOH 1M (3 veces) y con agua, para posteriormente secarse con Na_2SO_4 y concentrarse a presión reducida. Los constituyentes de la misma se separaron en sus componentes individuales mediante cromatografía en placa preparativa, para obtener 13.6 mg (27 %) de **41** y los productos de reacción **43** (14.0 mg, 0.035 mmol, 16.6 %) y **44** (113.8 mg, 0.28 mmol, 43.6 %).

a.5) Lactonización de **43**.

Método A. Una solución del compuesto **43** (103 mg, 0.25 mmol) disuelto en 10 ml de CH_2Cl_2 se colocó en baño de hielo durante 15 minutos, al cabo de los cuales se adicionaron 0.3 ml de piridina y 0.3 ml (3.8 mmol) de cloruro de mesilo. La mezcla de reacción se mantuvo en agitación durante 15 minutos, después de los cuales, el análisis por CCF indicó que la materia prima se había consumido y transformado en un producto ligeramente más polar que el material de partida. La recuperación del mismo se efectuó mediante adición de agua (10 ml), a fin de hidrolizar el exceso de cloruro de mesilo, y separación de las dos fases resultantes. La fase acuosa se extrajo exhaustivamente con CH_2Cl_2 y la fase orgánica total se lavó con ácido clorhídrico al 10% (eliminación de la piridina), con una solución de NaHCO_3 , con salmuera y con agua y secada con Na_2SO_4 . Su evaporación produjo un residuo que se purificó por cromatografía en columna, utilizando hexano-acetato de etilo (9:1) como sistema eluyente, permitiendo obtener 82.6 mg (0.21 mmol, 84 %) de *rel*-(3'*S*)-3',8'-dihidrodistililidol (45). El mismo producto se obtuvo usando cloruro de tionilo en sustitución de cloruro de mesilo.

Método B. A una solución de **43** (110 mg, 0.277 mmol) en 5 ml de benceno, mantenida en agitación a temperatura ambiente, se adicionaron gota a gota 0.3 ml de cloruro de tionilo. La solución se mezcló por 15 minutos, al cabo de los cuales se adicionaron 10 ml de agua, con el fin de destruir el exceso de cloruro de tionilo. La mezcla se extrajo con tres porciones de 20 ml de acetato de etilo, y las fases orgánicas se reunieron para lavarse con salmuera, secarse con Na_2SO_4 , filtrarse y evaporarse bajo presión reducida. La separación mediante cromatografía en columna del producto de reacción, utilizando hexano-acetato de etilo como sistema eluyente, permitió obtener 90.3 mg (86%) de **45**.



45

Aceite amarillo claro.

Rf = 0.5 (hexano - acetato de etilo 6:4).

IR (CHCl₃) ν_{\max} : 2959, 2934, 2874, 1869, 1466, 1261, 1178 cm⁻¹.

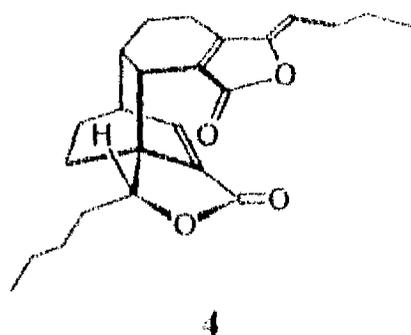
UV (MeOH) λ_{\max} nm (ϵ): 281 (8323), 245 (4552).

RMN¹H (500 MHz, CDCl₃, espectro 23): 7.35 (1H, d, J=6.5 Hz, H-7'), 5.14 (1H, t, J=8.0 Hz, H-8), 4.38 (1H, dd, J=10.5, 4.2 Hz, H-3'), 3.25 (1H, d, J=8.0 Hz, H-7), 2.99 (1H, m, H-6'), 2.52 (1H, dd, J=7.5 Hz, H-6), 2.31 (2H, dd, J=15.5, 8.0 Hz, H-9), 2.27-1.12 (1H, m, H-9'), 2.08-1.94 (3H, m, H-5' y H-9'), 1.94-1.84 (2H, m, H-4, H-5'), 1.60-1.50 (1H, m, H-4), 1.50-1.20 (8H, m, H-4', H-5, H-10', H-10), 0.94 (3H, t, J=7.2 Hz, H-11), 0.93 (3H, t, J=7.2 Hz, H-11').

RMN¹³C (125 MHz, CDCl₃, espectro 24): 169.29 (s, C-1), 167.80 (s, C-1'), 156.93 (s, C-3a), 147.95 (s, C-3), 142.87 (d, C-7'), 136.67 (s, C-7a), 126.89 (s, C-7'a), 112.54 (d, C-8), 89.95 (s, C-3'), 49.67 (s, C-3'a), 41.30 (d, C-6'), 39.63 (d, C-6), 39.49 (d, C-7), 31.57 (t, C-8'), 29.76 (t, C-4 y C-5'), 28.95 (t, C-5), 27.90 (t, C-9), 26.55 (d, C-4'), 22.29 (t, C-10), 22.19 (t, C-10'), 20.52 (t, C-9'), 13.83 (c, C-11), 13.69 (c, C-11').

EM (IE, 70 eV): 382 [M⁺] (1.5%), 339 [M⁺-C₃H₅] (1.0), 193 (66), 192 (54), 190 (67), 161 (23), 148 (68), 124 (22), 107 (100), 105 (27), 91 (19), 79 (26), 77 (34), 57 (22), 55 (28).

Método C. A una solución de **43** (100.4 mg, 0.251 mmol) en 5 ml de THF controlada a temperatura ambiente fueron adicionados 0.3 ml de cloruro de tionilo. Después de 15 minutos de reacción, ésta se dió por terminada mediante adición de 10 ml de agua. La mezcla se extrajo con tres porciones de 20 ml de acetato de etilo, y las fases orgánicas reunidas se lavaron con salmuera, se secaron con Na₂SO₄, se filtraron y se evaporaron bajo presión reducida. La separación mediante cromatografía en columna del producto de reacción, utilizando hexano-acetato de etilo como sistema eluyente, permitió obtener 79.1 mg (0.207 mmol, 82 %) de *rel*-(3'*R*)-3',8'-dihidrodiligustilido (**4**) como un aceite amarillo claro.



Rf = 0.5 (hexano - acetato de etilo 6:4).

IR (CHCl₃, espectro 25) ν_{\max} : 2961, 2936, 2876, 1770, 1750, 1466, 1267, 1182 cm⁻¹.

UV (MeOH) λ_{\max} nm (ϵ): 220 (9808), 282 (7811), 252 (4688).

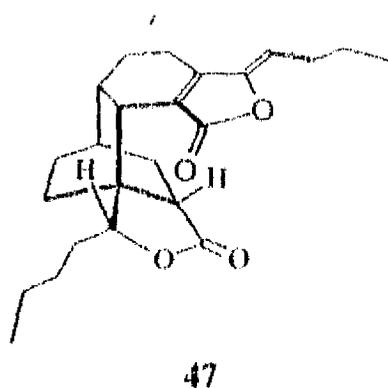
RMN¹H (300 MHz, CDCl₃, espectro 26): 7.31 (1H, d, J=6.3 Hz, H-7'), 5.18 (1H, t, J=7.8 Hz, H-8), 5.11 (1H, dd, J=9.6, 2.7 Hz, H-3'), 3.02 (1H, d, J=8.4 Hz, H-7), 2.95 (1H, ddd, J=6.6, 5.1, 2.4 Hz, H-6'), 2.47 (1H, m, H-6), 2.33 (2H, dd, J=15.0, 8.1 Hz, H-9), 2.22-2.12 (2H, m, H-4), 1.92-1.82 (3H, m, H-4', H-5, H-8'), 1.82-1.70 (2H, m, H-5', H-8'), 1.66-1.52 (3H, m, H-4, H-5, H-4'), 1.52-1.34 (7H, m, H-5', H-9', H-10, H-10'), 0.94 (3H, t, J=7.2 Hz, H-11), 0.93 (3H, t, J=6.9 Hz, H-11').

RMN¹³C (75 MHz, CDCl₃, espectro 27): 170.53 (s, C-1), 167.64 (s, C-1'), 156.07 (s, C-3), 148.26 (s, C-3a), 141.83 (d, C-7'), 135.93 (s, C-7'a), 125.99 (s, C-7a), 113.17 (d, C-8), 84.32 (d, C-3'), 48.27 (s, C-3'a), 40.61 (d, C-6'), 39.82 (d, C-7), 39.02 (d, C-6), 31.97 (t, C-8'), 28.74 (t, C-5), 28.68 (t, C-9'), 28.00 (t, C-9), 25.82 (t, C-5' y C-4'), 22.50 (t, C-10'), 22.25 (t, C-10), 19.73 (t, C-4), 13.95 (c, C-11'), 13.79 (c, C-11).

EM (IE, 70 eV): 382 [M⁺] (3.8), 366 [M⁺-16] (2), 193 (100), 192 (56), 191 (32), 190 (83), 161 (25), 148 (52), 137 (8), 107 (41), 105 (11), 91 (12), 85 (13), 79 (14), 77 (12), 57 (17), 55 (16), 43 (13), 41 (12).

a.6) Lactonización de 44.

El compuesto **44** (55.8 mg, 0.14 mmol) se redujo como se indica para la reducción de desmetilwallichilido (**41**) (página 94) y se lactonizó por el método C recién descrito (página 97), lo que permitió obtener 44.9 mg (0.116 mmol, 83.8 %) de *rel*-(3'*R*)-3',8'-tetrahidrodiligustilido (**47**).



Aceite amarillo claro.

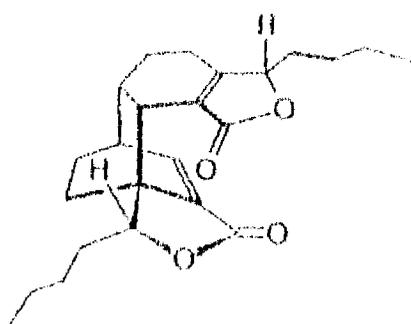
Rf = 0.66 (hexano - acetato de etilo 8:2).

IR (CHCl₃, espectro 28) ν_{\max} : 2959, 2934, 2874, 1767, 1676, 1466, 1178, 1089 cm⁻¹.

RMN¹H (500 MHz, CDCl₃, espectro 29): 5.14 (1H, t, J=8.0 Hz, H-8), 4.05 (1H, dd, J=10.5, 4.5 Hz, H-3'), 2.95 (1H, d, J=8.5 Hz, H-7), 2.34 (1H, m, H-6), 2.27 (1H, m, H-6'), 1.80-1.25 (CH y CH₂), 0.94 (3H, t, J=7.2 Hz, H-11), 0.92 (3H, t, J=7.2 Hz, H-11').

a.7) Transformación de 42 en 47.

El dicetodiácido 42 se disolvió en 15 ml de metanol y se trató con NaBH₄ como se indica en a.4.1, lo que permitió obtener su dihidroxiácido correspondiente. Este hidroxiácido se disolvió en 5 ml de THF y trató como se indica en a.5, método C, observándose transformación cuantitativa de la materia de partida a 46. El producto se purificó mediante cromatografía en placa preparativa (hexano-acetato de etilo 8:2)



46

Aceite amarillo.

Rf = 0.6 (hexano-acetato de etilo 8:2).

IR (CHCl₃) ν_{\max} : 2959, 2935, 2876, 1740, 1664, 1468, 1332, 1182, 1055 cm⁻¹.

UV (MeOH) λ_{\max} nm (ϵ): 218 (14049).

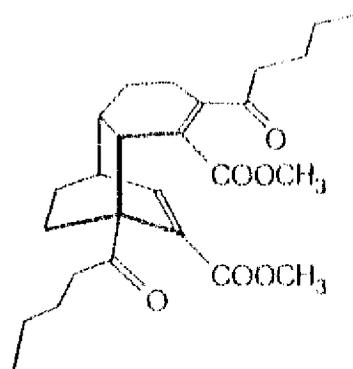
RMN¹H (300 MHz, CDCl₃): 7.29 (1H, d, J=6.6 Hz, H-7'), 5.23 (1H, dd, J=9.6, 2.7 Hz, H-3'), 4.66 (1H, ddd, J=7.2, 4.2, 2.1 Hz, H-8), 3.00 (1H, dd, J=9.3, 1.5 Hz, H-7), 2.92 (1H, ddd, J=6.6, 4.8, 2.7 Hz, H-6'), 2.47 (1H, m, H-6), 2.33 (2H, dd, J=15.0, 8.1 Hz, H-9), 2.22-2.12 (2H, m, H-4), 2.06 (1H, m, H-5'), 1.92-1.82 (3H, m, H-4', H-5, H-8'), 1.82-1.70 (2H, m, H-5' H-8'), 1.66-1.52 (3H, m, H-4, H-5, H-4'), 1.52-1.34 (7H, m, H-5', H-9', H-10, H-10'), 0.94 (3H, t, J=7.2 Hz, H-11), 0.93 (3H, t, J=6.9 Hz, H-11').

RMN¹³C (75 MHz, CDCl₃): 170.53 (s, C-1), 167.64 (s, C-1'), 156.07 (s, C-3a), 148.26 (s, C-3), 141.83 (d, C-7'), 135.93 (s, C-7'a), 125.99 (s, C-7a), 113.17 (d, C-8), 84.32 (d, C-3'), 48.27 (s, C-3'a), 40.61 (d, C-6'), 39.82 (d, C-7), 39.02 (d, C-6), 31.97 (t, C-4'), 28.74 (t, C-5), 28.68 (t, C-9'), 28.00 (t, C-9), 25.82 (t, C-5' y C-8'), 22.50 (t, C-10), 22.25 (t, C-10'), 19.73 (t, C-4), 13.95 (c, C-11), 13.79 (c, C-11').

EM (IE, 70 eV): 384 [M^+] (5), 368 [M^+-16] (3), 304 (4), 236 (3), 193 (100), 192 (74), 175 (7), 149 (8), 147 (11), 137 (149, 135 (7), 123 (7), 107 (26), 91 (9), 79 (12), 57 (14), 43 (9), 41 (8).

a.8) Reacción de 42 con diazometano.

A una solución de 42 en éter etílico a 0°C se le adicionó gota a gota una solución etérea de diazometano (formado a partir de diazald), obteniéndose 48 cuantitativamente.



48

Aceite amarillo.

R_f = 0.4 (hexano-acetato de etilo 7:3).

RMN¹H (300 MHz, CDCl₃, espectro 31): 7.43 (1H, d, J=6.9 Hz, H-7'), 3.61 (3H, s, OCH₃), 3.40 (3H, s, OCH₃), 2.76 (1H, d, J=9.6 Hz, H-7), 2.67 (1H, dd, J=6.6, 3.9, 2.4 Hz, H-6'), 2.54-1.98 (6H, m, H-4, H-8, H-8'), 1.99 (1H, dd, J=12.3, 3.3 Hz, H-9), 1.88-1.20 (13H, m), 0.96 (3H, t, J=7.3 Hz, H-11), 0.89 (3H, t, J=7.3 Hz, H-11').

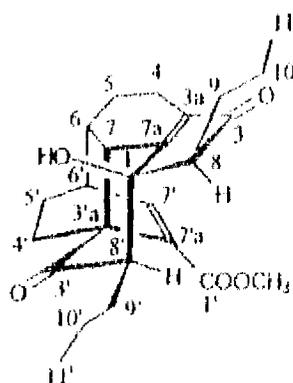
RMN¹³C (75 MHz, CDCl₃, espectro 32): 209.83 (s, C-3 ó C-3'), 200.20 (s, C-3 ó C-3'), 165.24 (s, C-1 ó C-1'), 163.82 (s, C-1 ó C-1'), 147.12 (d, C-7'), 142.54 (s, C-3a), 135.28 (s, C-7'a), 127.99 (s, C-7a), 59.81 (c, OCH₃), 51.47 (c, OCH₃), 51.01 (s, C-3'a), 44.52 (d, C-6), 41.94 (t, C-8 y C'8'), 38.40 (d, C-7 ó C-6'), 38.06 (d, C-7 ó C-6'), 26.43 (t), 26.00 (t), 25.82 (t), 25.60 (t, C-5), 22.07 (t, C-10 ó C-10'), 21.91 (t, C-10 ó C-10'), 14.47 (c, C-11 ó C-11'), 13.79 (c, C-11' ó C-11).

B. Ciclizaciones del diligustilido (3) en medio alcalino.

b.1). Reacciones de condensación aldólica.

b.1.1) Con MeOH-NaOH en THF.

A una solución de diligustilido (3) (65.7 mg, 0.17 mmol) en 5 ml de THF se adicionaron 18.4 mg (0.46 mmol) de NaOH en perlas pequeñas, las cuales permanecen en estado sólido en el fondo del matr az. A fin de aumentar la solubilidad de la base, se adicionaron 0.5 ml de metanol. La mezcla heterogénea se sometió a reflujo por 2.5 horas (análisis por CCF) sin lograr la disolución del NaOH. Este proceso llevó a la obtención cuantitativa de 49, de mayor polaridad que la materia prima. El THF de la mezcla de reacción fue eliminado a presión reducida hasta un volumen aproximado de 3 ml, adicionándose entonces 10 ml de CH₂Cl₂. La fase orgánica (CH₂Cl₂) se lavó por cinco ocasiones con una solución acuosa de HCl al 10 %, con solución saturada de NaHCO₃, con salmuera, y con agua destilada (10 ml cada uno). El disolvente de la fase orgánica se eliminó por destilación a presión reducida y el residuo obtenido se aplicó en un columna cromatográfica, utilizando como eluyente la mezcla hexano-acetato de etilo (8:2), lo que permitió obtener 49 (65 mg, 92 %).



49

Aceite amarillo.

R_f = 0.4 (hexano-acetato de etilo 7:3).

IR (pelicula) ν_{\max} : 3435, 2957, 2871, 1721, 1676, 1612, 1437, 1381, 1298, 1260, 1215, 1087, 915, 741 cm⁻¹.

UV (MeOH) λ_{\max} nm (ϵ): 297 (4799), 222 (3125).

RMN¹H (300 MHz, CDCl₃, espectro 33): 7.37 (1H, d, J=7.2 Hz, H-7'), 3.66 (3H, s, -OCH₃), 2.92 (1H, sa, W_{1/2}= 6.6 Hz, H-6'), 2.89 (1H, sa, W_{1/2}= 6.0 Hz, H-7), 2.52 (1H, dd, J=10.2, 2.4 Hz, H-8), 2.40 (1H, H-4a), 2.40 (1H, m, H-6), 2.27 (1H, H-8'), 2.02 (1H, t, J=9.3 Hz, H-5a), 1.85 (1H, m, H-4b), 1.84 (1H, m, H-4'a), 1.82 (2H, m, H-9), 1.80 (1H, m,

H-5a), 1.70 (1H, m, H-10a), 1.51 (2H, m, H-9'), 1.43 (1H, m, H-5b), 1.25 (1H, m, H-10b), 1.25 (2H, m, H-10'), 1.24 (1H, m, H-4'b), 1.24 (1H, m, H-5'b), 0.98 (3H, t, J=7.0 Hz, H-11'), 0.97 (3H, t, J=7.0 Hz, H-11).

RMN¹³C (75 MHz, CDCl₃, espectro 34): 207.80 (s, C-3), 206.55 (s, C-3'), 169.32 (s, C-1'), 164.28 (s, C-7'a), 148.63 (d, C-7'), 138.43 (s, C-7a), 134.95 (s, C-3a), 81.75 (s, C-1), 59.21 (d, C-8), 54.24 (d, C-8'), 53.65 (s, C-3'a), 51.84 (c, OCH₃), 40.55 (d, C-7), 38.46 (d, C-6), 37.66 (d, C-6'), 29.87 (t, C-9'), 29.25 (t, C-5'), 26.46 (t, C-4'), 26.20 (t, C-9), 23.79 (t, C-5), 21.38 (t, C-10'), 20.66 (t, C-10), 17.59 (t, C-4), 14.50 (c, C-11'), 14.20 (c, C-11).

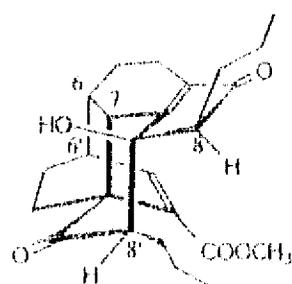
EM (IE, 70 eV): 412 [M⁺] (62), 380 [M⁺-CH₂OH] (15), 369 [M⁺-C₂H₅] (22), 337 (12), 222 [M⁺-190] (100), 221 (57), 190 (66), 161 (31), 148 (23), 105 (16), 91 (14), 77 (13), 55 (22).

b.1.2) Con MeONa en *i*-PrOH.

A una solución de diligustilido (**3**) (29.0 mg, 0.076 mmol) en 10 ml de *i*-PrOH se agregaron 0.2 ml de una solución de MeONa al 1 % en MeOH. La mezcla se sometió a reflujo durante 10 minutos, observándose mediante control por CCF la transformación de **3** en **49**. Se adicionaron 10 ml de agua, se neutralizó la mezcla de reacción con una solución acuosa de HCl al 10 % y se extrajo exhaustivamente con acetato de etilo. El producto **49** se purificó mediante cromatografía en placa preparativa, obteniéndose 26 mg (84 %) de rendimiento.

b.1.3) Con Na₂CO₃ en mezcla Me₂CO-H₂O-MeOH.

A la mezcla resultante entre la combinación de 508.2 mg (1.33 mmol) de diligustilido (**3**), 25 ml de acetona y 2 ml de metanol, se adicionaron 1.04 g (0.96 mmol) de Na₂CO₃ disueltos en 20 ml de agua. La mezcla total se sometió a reflujo durante 3 horas de acuerdo con el control por CCF, al cabo de las cuales, la materia prima fue transformada en cinco productos. La recuperación de los mismos se llevó a cabo mediante exhaustivas extracciones de la mezcla de reacción con acetato de etilo. La fase acuosa remanente de la extracción se aciduló a pH 4 con HCl al 10 % y se extrajo nuevamente con acetato de etilo. Ambos extractos orgánicos se reunieron, y la fase orgánica total se lavó con salmuera y con agua destilada, se secó con Na₂CO₃ y se concentró mediante destilación a presión reducida para obtener un residuo amarillo oscuro. La separación de los cinco compuestos se realizó mediante cromatografía en columna. Este procedimiento permitió el aislamiento de una mezcla de cristalina **49** y **50** (360 mg, 65 %, espectro 35) que no pudo ser resuelta en sus componentes, y que fue analizada mediante difracción de rayos X (figura 8), del epímero en C-8' de **49** (**51**, 20 mg, 4 %), así como de los productos de hidrólisis **41** (46 mg, 9 %) y **42** (55 mg, 10 %).



51

Aceite amarillo.

Rf = 0.4 (hexano - acetato de etilo 7:3)

IR (CHCl₃) ν_{max} : 3589, 2962, 2935, 2873, 1774, 1711, 1772, 1464, 1439, 1368, 1277, 1254, 1090 cm⁻¹.

RMN¹H (300 MHz, CDCl₃, espectro 36): 7.36 (1H, d, J=6.9 Hz, H-7'), 3.68 (3H, s, OCH₃), 2.94 (1H, m, H-6'), 2.83 (1H, dd, J=9.6, 2.7 Hz, H-7), 2.69 (1H, d, J=9.9 Hz, H-8'), 2.36 (2H, m, H-6, H-8), 2.22 (2H, m, H-9'), 2.01 (1H, m, H-4'), 1.87 (4H, m, H-9, H-5), 1.80 (1H, m, H-10'), 1.77 (1H, m, H-4'), 1.64 (1H, m, H-10), 1.51 (2H, m, H-5'), 1.27 (2H, m, H-10, H-10'), 1.00 (3H, t, J=7.2 Hz, H-11 ó H-11'), 0.88 (3H, t, J=7.2 Hz, H-11 ó H-11').

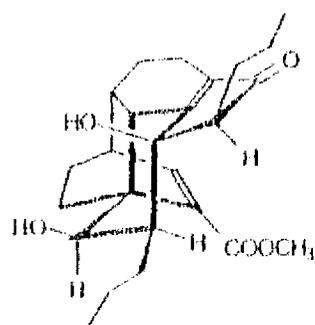
RMN¹³C (75 MHz, CDCl₃, espectro 37): 207 (s, C-3), 206 (s, C-3'), 167.21 (s, C-1), 164.28 (s, C-7'a), 148.61 (d, C-7'), 139.23 (s, C-7a), 135.12 (s, C-3a), 83.51 (s, C-1), 57.57 (d, C-8), 52.90 (s, C-3'a), 52.88 (d, C-8'), 51.90 (c, OCH₃), 40.99 (d, C-7), 39.00 (d, C-6), 37.65 (d, C-6'), 31.28 (t, C-9'), 29.68 (t, C-3'), 28.89 (t, C-4'), 26.73 (t, C-9), 23.98 (t, C-5), 21.13 (t, C-10'), 19.56 (t, C-10), 18.03 (t, C-4), 14.70 (c, C-11'), 14.13 (c, C-11).

EM (IE, 70 eV): 412 [M⁺] (0), 370 [M⁺-C₃H₆] (37), 369 [M⁺-C₃H₇] (50), 337 (34), 222 [M⁺-190] (89), 221 (100), 191 (41), 190 (84), 189 (24), 164 (15), 162 (18), 161 (38), 148 (40), 134 (10), 105 (15), 91 (12), 83 (14), 77 (13), 61 (14), 55 (23).

b.2). Reactividad química de 49.

b.2.1) Reducción con NaBH₄ en MeOH.

El compuesto 49 (100.5 mg, 0.24 mmol) disuelto en 10 ml de metanol se hizo reaccionar con NaBH₄ (36 mg) como en a.4.1 (reducción de desmetilwallichilido, página 94), lo que permitió obtener 88.6 mg (0.21 mmol, 87.7 %) de 52.



52

Aceite amarillo.

Rf = 0.6 (hexano - acetato de etilo 6:4).

IR (CHCl₃) ν_{max} : 3668, 3414, 2975, 2871, 1709, 1610, 1438, 1367, 1280, 1245, 962 cm⁻¹.

RMN¹H (300 MHz, CDCl₃): 7.32 (1H, d, J=7.0 Hz, H-7'), 4.40 (1H, sa, $W_{\text{int}} = 7.0$ Hz, H-3'), 3.67 (3H, s, OCH₃), 2.86 (1H, m, H-6'), 2.57 (1H, dd, J=9.5, 2.5 Hz, H-8), 2.46 (1H, dt, J=9.5, 3.5 Hz, H-7), 2.27 (1H, m, H-6), 2.15 (1H, m, H-4'), 1.97 (2H, dt, J=12.0, 2.0 Hz, H-9, H-5'), 1.87 (2H, ddd, J= Hz, H-8'), 1.78 (1H, dd, J=9.5, 4.5 Hz, H-5), 1.71 (1H, m, H-4'), 1.63 (1H, m, H-10'), 1.61 (1H, m, H-4), 1.47 (1H, m, H-9'), 1.44 (1H, m, H-10'), 1.41 (4H, m, H-10, H-9', H-5'), 1.32-1.17 (3H, m, H-4, H-5, H-9), 1.00 (3H, t, J= Hz, H-11), 0.95 (3H, t, J=7.0 Hz, H-11').

RMN¹³C (75 MHz, CDCl₃): 209.12 (s, C3), 164.14 (s, C-1'), 148.14 (d, C-7'), 140.76 (s, C-7a), 138.65 (s, C-3a), 135.63 (s, C-7'a), 85.87 (s, C-1), 83.52 (d, C-3'), 61.49 (d, C-8), 56.64 (d, C-8'), 53.82 (d, C-3'a), 51.75 (c, OCH₃), 39.08 (d, C-7), 38.58 (d, C-6), 37.62 (d, C-6'), 32.69 (t, C-9'), 29.07 (t, C-5'), 26.96 (t, C-5), 25.22 (t, C-9), 23.85 (t, C-10'), 21.50 (t, C-10), 20.80 (t, C-4), 20.03 (t, C-4'), 14.72 (c, C-11'), 14.42 (c, C-11).

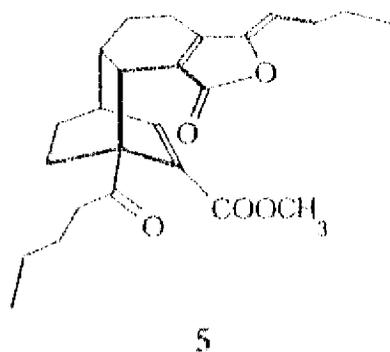
EM (IE, 70 eV): 414 [M⁺] (12), 396 [M⁺-H₂O] (11), 367 [M⁺-C₂H₅] (8), 353 (100), 222 [M⁺-190] (63), 192 (96), 191 (47), 190 (96), 189 (42), 165 (38), 162 (40), 161 (71), 148 (60), 107 (25), 105 (42), 91 (32), 79 (30), 77 (36), 55 (36).

C). Obtención y Reactividad Química de Wallichilido (5).

c.1) Obtención de wallichilido (5).

c.1.1) Por tratamiento de 41 con diazometano.

El desmetilwallichilido (41) (32.2 mg, 0.081 mmol) se trató a 0°C con una solución etérea de diazometano, obteniéndose cuantitativamente wallichilido (5). Su purificación se realizó mediante cromatografía en placa preparativa, utilizando hexano-acetato de etilo (4:1) como sistema de elución.



Accite amarillo.

Rf = 0.5 (hexano - acetato 7:3)

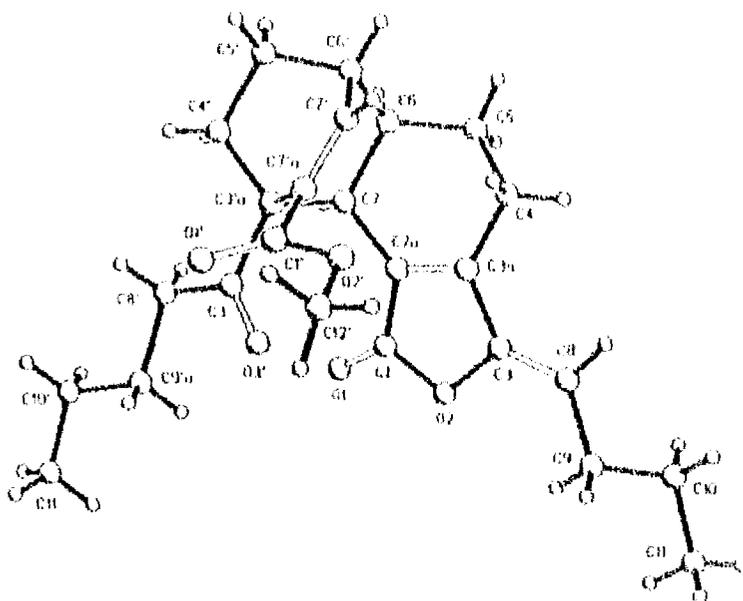
UV (MeOH) λ_{\max} nm (ϵ): 272 (4236), 203 (7882).

IR: 2958, 2900, 2873, 1757, 1723, 1632, 1454, 1435, 1367, 1275, 1171, 1090 cm^{-1} .

RMN¹H (300 MHz, CDCl₃, espectro 38): 6.69 (1H, d, J= 7.0 Hz, H-7'), 5.06 (1H, t, J=8.0 Hz, H-8), 3.60 (3H, s, OCH₃), 3.31 (1H, d, J=9.0 Hz, H-7), 3.05 (2H, ddd, J=18.0, 8.4, 6.3 Hz, H-8'), 2.58 (1H, dt, J=7.7 Hz, H-7'), 2.49 (1H, t, J=7.5 Hz, H-6), 2.30 (2H, dd, J=15.3, 7.5 Hz, H-9), 2.24 (2H, m, H-4), 1.90 (2H, m, H-5), 1.66 (2H, m, H-4'), 1.65 (2H, m, H-9'), 1.55 (2H, sa, $W_{1/2}$ =2.5 Hz, H-5'), 1.45 (2H, c, J=7.2 Hz, H-10), 1.36 (2H, c, J=7.0 Hz, H-10'), 0.93 (3H, t, J=7.2 Hz, H-11), 0.92 (3H, t, J=7.0 Hz, H-11').

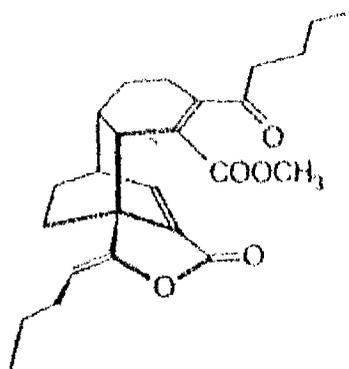
RMN¹³C (75 MHz, CDCl₃, espectro 39): 208.17 (s, C-3'), 169.26 (s, C-1'), 168.68 (s, C-1), 153.36 (c, C-3a), 148.55 (s, C-3), 138.73 (s, C-7'a), 137.31 (d, C-7'), 127.12 (s, C-7a), 110.87 (d, C-8), 57.05 (s, C-3'a), 51.41 (q, OCH₃), 39.33 (d, C-7), 38.26 (t, C-8'), 38.02 (d, C-6), 37.90 (d, C-6'), 29.36 (t, C-9'), 28.23 (t, C-5'), 27.86 (t, C-9), 27.77 (t, C-4'), 25.57 (t, C-5), 22.36 (t, C-10, C-10'), 18.78 (t, C-4), 17.74 (q, C-11'), 13.99 (q, C-11).

Rx:



c.1.2) Por metanólisis de diligustilido (3) con Li_2CO_3 , Na_2CO_3 , K_2CO_3 o Cs_2CO_3 .

Todas las reacciones se llevaron a cabo en una escala de 50 mg de diligustilido (3). En una reacción típica, a una solución de 3 en 7 ml de metanol mantenida en agitación, se adicionó una mezcla de 100 mg de la base (Li_2CO_3 , Na_2CO_3 , K_2CO_3 o Cs_2CO_3) en metanol. La reacción se mantuvo por 15 minutos a 0°C , a temperatura ambiente o a reflujo (ver tabla 2), al cabo de los cuales se filtró. El filtrado se diluyó con agua y se neutralizó con HCl al 10%. Esta mezcla se extrajo con acetato de etilo (20 ml, cuatro ocasiones). La fase orgánica se lavó con salmuera, se secó con Na_2CO_3 y se concentró a presión reducida. El crudo de reacción se analizó mediante RMN¹H, de acuerdo con la integración del área bajo la curva para la señal de a H-7' de cada componente, lo que permitió identificar una mezcla de los productos diligustilido (3), wallichilido (5) y sus derivados 53-56, en los rendimientos indicados en la tabla 2, página 64.



53

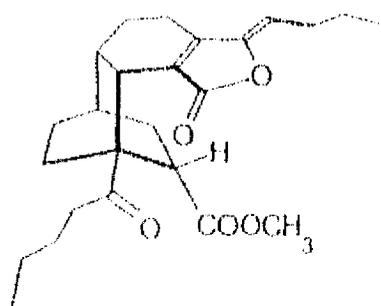
Aceite amarillo.

al 0.3 % de sodio metálico en metanol a cada uno de los sistemas. La reacción se dejó transcurrir por 15 minutos (control por CCF), al cabo de los cuales, se extrajeron 5 ml de cada mezcla, y se colocaron en matraces que contenían 5 ml de agua destilada. La solución resultante se extrajo con acetato de etilo (20 ml por tres ocasiones) y la fase orgánica se lavó, se secó y se concentró al vacío. Los 5 ml restantes de cada mezcla de reacción, se trataron con 1 ml de HCl al 10% y se sometieron durante 15 minutos más a las condiciones iniciales de trabajo. Al cabo de este tiempo, se aplicó el procedimiento de recuperación. La proporción de los componentes de cada mezcla se determinó mediante análisis del crudo de reacción por RMN¹H, de acuerdo con la integración del área bajo la curva para la señal debida a H-7' de cada componente. El análisis de estos espectros indican la presencia de 3, 5, y 53-57, en las proporciones especificadas en la tabla 3.

c.2. Reactividad de Wallichilido (5).

c.2.1) Reducción de wallichilido (5) en metanol.

A 11.2 mg (0.026 mmol) de 5 disueltos en 10 ml de metanol se adicionaron 11 mg (0.29 mmol) de NaBH₄. Al cabo de 15 minutos, el análisis por CCF indicó la presencia de un producto de igual polaridad que la materia prima pero que revelaba de color amarillo intenso. La recuperación del mismo se llevó a cabo como en a.4.1. El análisis espectroscópico de este compuesto permitió identificarlo como 58, que corresponde al producto de reducción 1,4 de 5.



58

Aceite amarillo.

Rf = 0.3 (hexano - acetato de etilo 7:3).

RMN¹H (300 MHz, CDCl₃, espectro 42): 5.07 (1H, t, J=7.8 Hz, H-8), 3.55 (3H, s, OCH₃), 3.40 (1H,d,J=9.0 Hz, H-7), 3.05 (2H, ddd, J=18.0, 8.4, 6.3 Hz, H-8'), 2.72 (1H, t, J=10.2 Hz, H-6'), 2.51-2.24 (5H, m, H-9, H-6, H-4), 1.90 (2H, m, H-5), 1.66-1.2 (10H, m, H-10', H-9', H-5', H-4', H-10), 0.94 (3H, y, J=7.2 Hz, H-11), 0.91 (3H, t, J=7.0 Hz, H-11').

c.2.2) Reducción de wallichilido (5) en THF con $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$.

El compuesto 5 (92.3 mg, 0.22 mmol) se disolvió en 45 ml de THF a 0°C. A esta solución se agregaron 270.0 mg (0.72 mmol, 3.0 eq.) de $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ disueltos en 7 ml de metanol. La mezcla total se mantuvo en agitación a 0°C durante 10 minutos, al cabo de los cuales se adicionaron lentamente 10.4 mg (0.27 mmol) de NaBH_4 , permitiendo que la reacción continuara durante 5 h (control por CCF), sin observar transformación de la materia prima. A fin de acelerarla, la mezcla fue calentada a temperatura ambiente durante 8 horas y aún después de subsecuentes adiciones de NaBH_4 (10.4 mg, 0.27 mmol) la materia prima continuó inalterada. Para la recuperación de la misma, se adicionaron 30 ml de agua, el THF de esta mezcla total se eliminó por destilación a presión reducida y la fase acuosa remanente se extrajo por tres ocasiones con 25 ml de acetato de etilo. La fase orgánica se lavó con salmuera, se secó con Na_2CO_3 , se evaporó a presión reducida y se examinó por RMN^1H . Esto indicó a 5 como único compuesto recuperado. Los mismos resultados fueron obtenidos usando *p*-dioxano en sustitución de THF.

c.2.4) Intento de reducción de wallichilido (23) con LiAlH_4 , $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ y AlCl_3 .

El material recuperado de la reacción anterior se disolvió en 50 ml de *p*-dioxano. A la disolución resultante se adicionaron 271.3 mg (0.73 mmol) de $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ en 10 ml de metanol y 50.6 mg (0.38 mmol) de AlCl_3 . La disolución total de los reactantes se logró mediante calentamiento de la solución, una vez lograda ésta, la mezcla se enfrió a temperatura ambiente y se adicionó 10.42 mg (0.29 mmol) de LiAlH_4 . Después de 7 horas de reflujo no se observó transformación de la materia prima.

D. Reacciones Adicionales.

d.1) Reducción de diligustilido (3) con NaBH_4 en MeOH.

A 34.7 mg (0.091 mmol) de diligustilido (3) disueltos en 10 ml de metanol se agregaron 4.9 mg (0.13 mmol) de NaBH_4 . La reacción permaneció a temperatura ambiente durante 40 minutos (control por CCF), observándose solo transformación parcial de la materia prima en dos productos, por lo cual, se realizó una segunda adición de 4.3 mg (0.11 mmol) de NaBH_4 . Después de 30 minutos se observó el consumo total de la materia prima. La reacción se concluyó mediante la adición de 20 ml de agua destilada. La recuperación de la mezcla de reacción se efectuó por extracción de la fase acuosa con acetato de etilo (20 ml por tres veces). El análisis mediante RMN^1H del residuo obtenido después de la eliminación del disolvente por destilación a presión reducida indica la presencia de 5 y 58 en una relación aproximada de 55:45 como productos de la reacción.

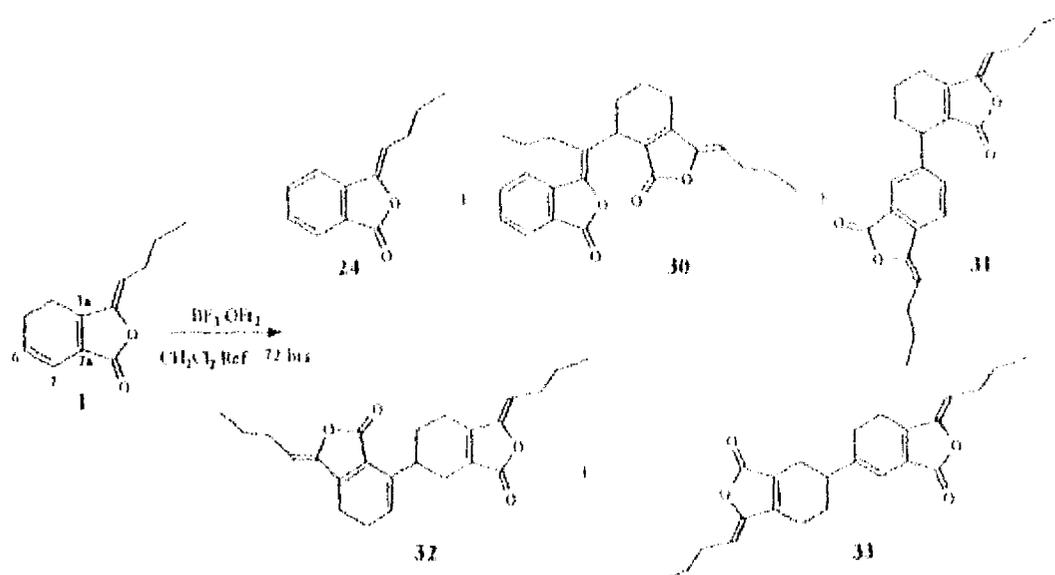
El estudio de la reactividad química de los ftálicos Z-ligustilido (1), diligustilido (5) y toquinólido B (8) permite concluir:

1). El Z-ligustilido (1) es un compuesto que se deshidrogena espontáneamente para generar el derivado aromático 24. Esta reacción disminuye significativamente si 1 se mantiene en ausencia de luz y oxígeno, y a bajas temperaturas.

2). El Z-ligustilido (1) no autodimeriza espontáneamente para obtener productos de cicloadición, por lo que los ftálicos diméricos aislados hasta ahora de fuentes naturales no deben ser considerados artefactos.

3). El sistema carbonílico $\alpha,\beta,\gamma,\delta$ -insaturado del Z-ligustilido (1) impide que el dieno C(3a)-C(7a)-C(7)-C(6) reaccione para generar cicloadductos [$\pi 4s + \pi 2s$] bajo catálisis con ácidos de Lewis, por lo que el doble enlace C(6)-C(7) se comporta como una olefina aislada, presentando reacciones de adición.

4). El Z-ligustilido (1) se autodimeriza bajo catalisis con ácidos de Lewis para generar los productos 30-33. De la mezcla de dímeros, 30 y 33 son los productos mayoritarios.

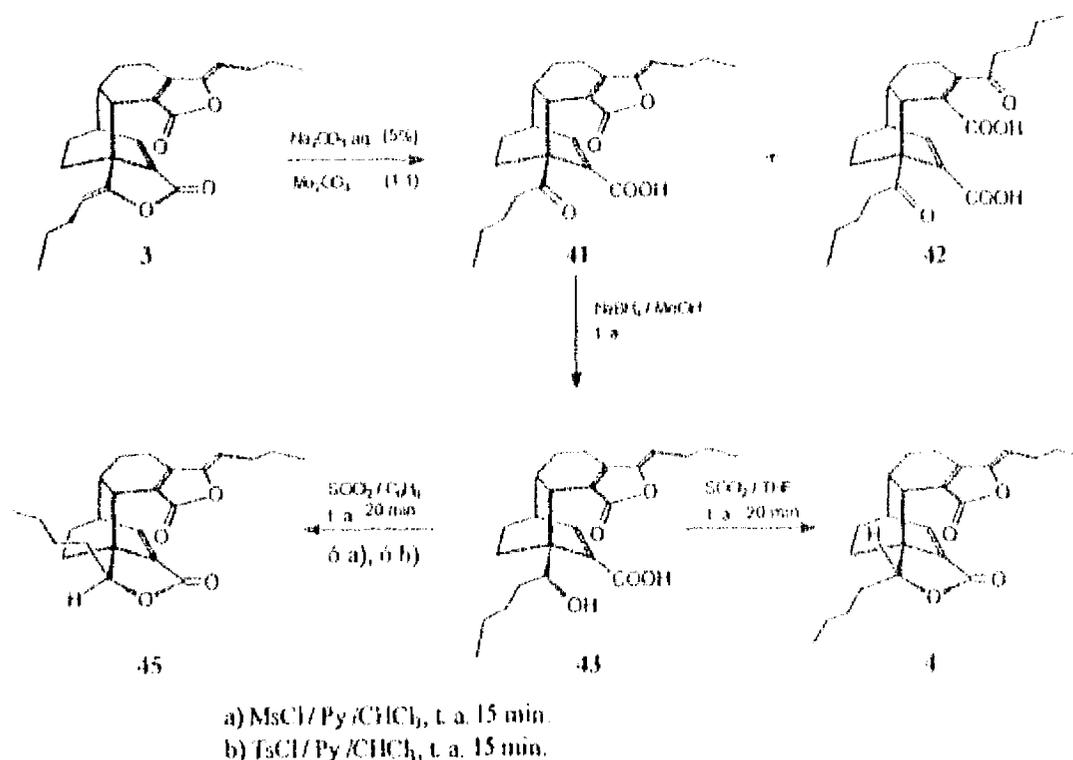


5). Los carbonos del doble enlace C(6)-C(7) de 1 contienen densidades electrónicas semejantes ya que no existe una notable *regio*-selectividad en las reacciones de adición que involucren esta olefina y que dan origen a los dímeros 30-33.

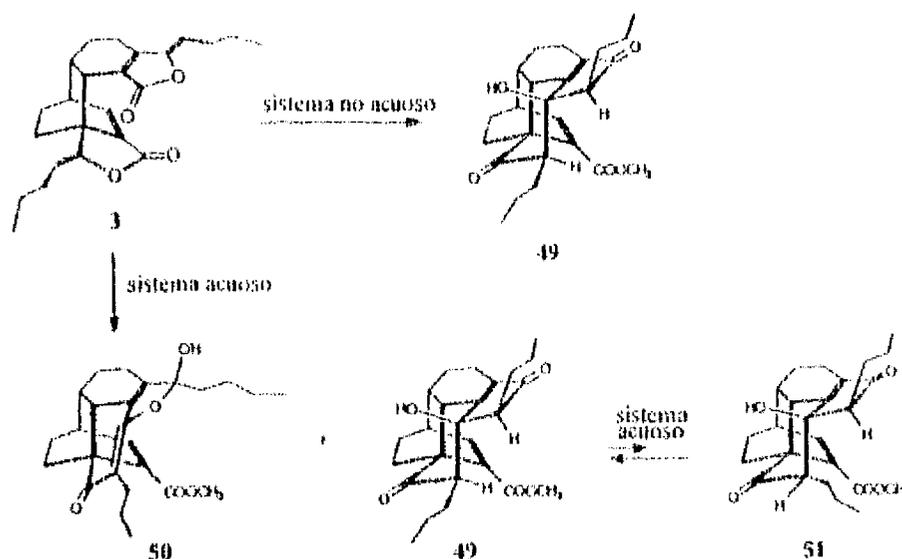
6). El toquinólido B (8) pudo ser utilizado como compuesto modelo para el establecimiento de las condiciones de hidrólisis y reducción del diligustilido (3).

7). El diligustilido (3) pudo ser transformado selectivamente a *rel*-(3'*R*)-3',8'-dihidroiligustilido (4) y *rel*-(3'*S*)-3',8'-dihidroiligustilido (45), mediante (a) hidrólisis

selectiva de la lactona fusionada al bicyclo para generar desmetilwallichilido (**41**), (b) reducción del grupo ceto de **41** para formar su dihidroderivado **43** y (c) lactonización. La estereoselección de esta última reacción es dependiente del disolvente: en diclorometano y benceno se obtiene *rel*-(3'*S*)-3',8'-dihydrodiligustilido (**45**), mientras que en THF se obtiene *rel*-(3'*R*)-3',8'-dihydrodiligustilido (**4**).

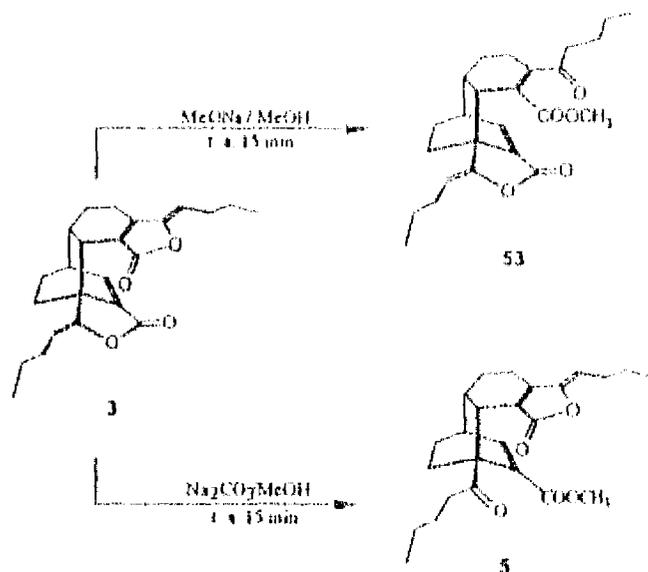


8). En condiciones alcalinas no acuosas, el diligustilido (**3**) presenta una serie de condensaciones aldólicas que dan origen al compuesto pentacíclico **49**, mientras que en condiciones básicas acuosas se obtiene una mezcla de los compuestos **49-51**. Esto indica que en sistemas no acuosos una reacción de C-alkilación procede preferentemente y que en sistemas acuosos existe competencia entre las reacciones de C-alkilación y O-alkilación. Adicionalmente, en sistemas básicos acuosos **49** se equilibra a **51**.

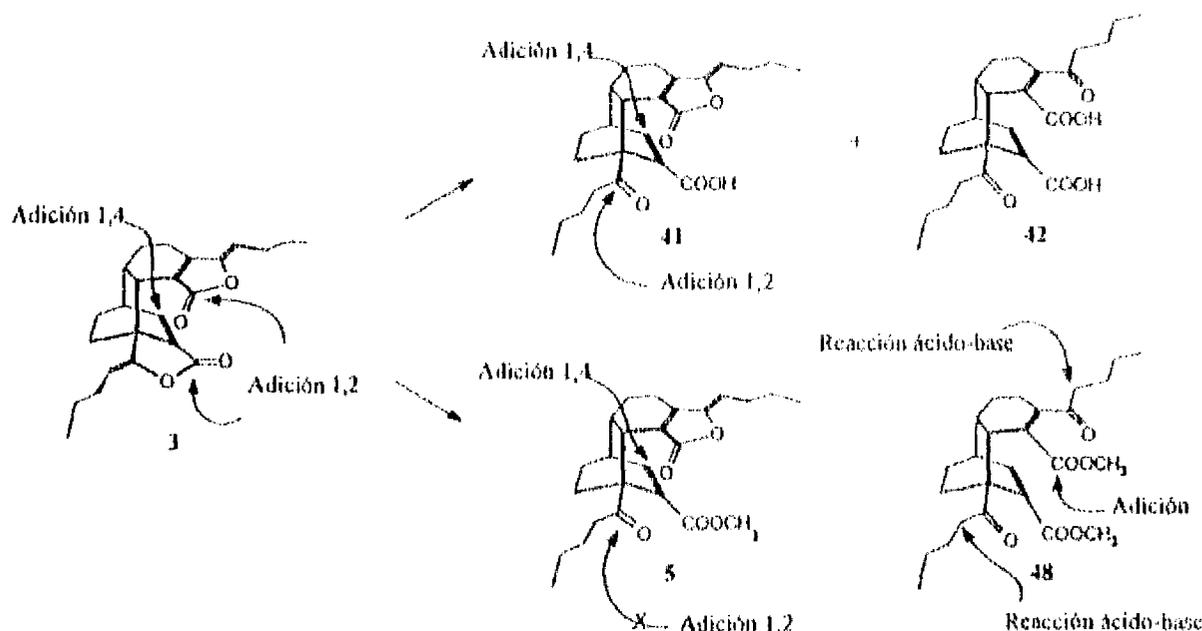


9). El wallichilido (**5**) puede sintetizarse selectivamente a partir de diligustilido (**3**) mediante metanólisis directa. Esta reacción es dependiente de la temperatura y de la base

utilizada. A altas temperaturas y con bases fuertes procede la apertura de la lactona $\alpha,\beta,\gamma,\delta$ -insaturada de **3**, mientras que a bajas temperaturas y con bases débiles se obtiene wallichilido (**5**), el producto de la apertura de la lactona fusionada al bicyclo.

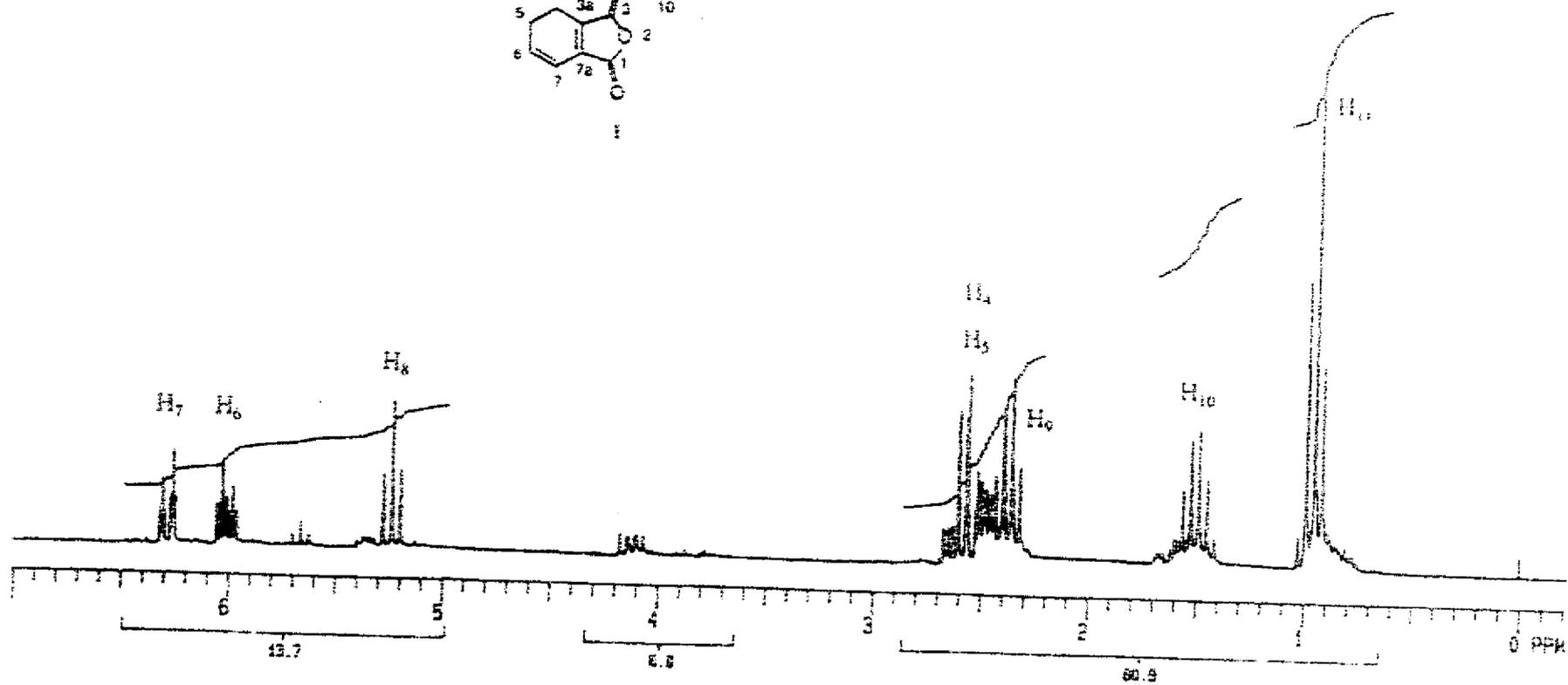
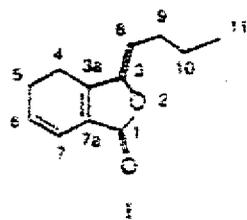


10). La reactividad química del diligustilido (**3**) se ilustra en el siguiente esquema. La apertura regioselectiva de la lactona fusionada al bicyclo permite generar **41** ó **5**. El compuesto **41** puede sufrir tanto reacciones de adición 1,2 como 1,4. Sin embargo, **5** solo presenta adiciones 1,4. Tanto **5** como **48** pueden llevar a cabo reacciones ácido-base para generar los compuestos **49-51**.



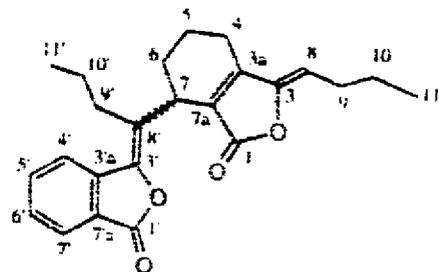
11). Los productos naturales y algunos derivados obtenidos han sido evaluados preliminarmente como sedantes, relajantes de músculo liso y agentes citotóxicos. Los resultados obtenidos indican que **8**, **40**, **41** y **42** potencializan el efecto sedante del pentobarbital sódico en un 70.8 %, 101 %, 66.0 % y 52.3 %, respectivamente, mientras que **1**, **8** y **59** provocan una relajación en ileon aislado de cobayo del 41.5%, 32.4% y 54.6 %, respectivamente a una concentración de 0.05 mg/ml. El compuesto **8** es citotóxico para las líneas celulares de colon KB y HCT-15.

ESPECTROS

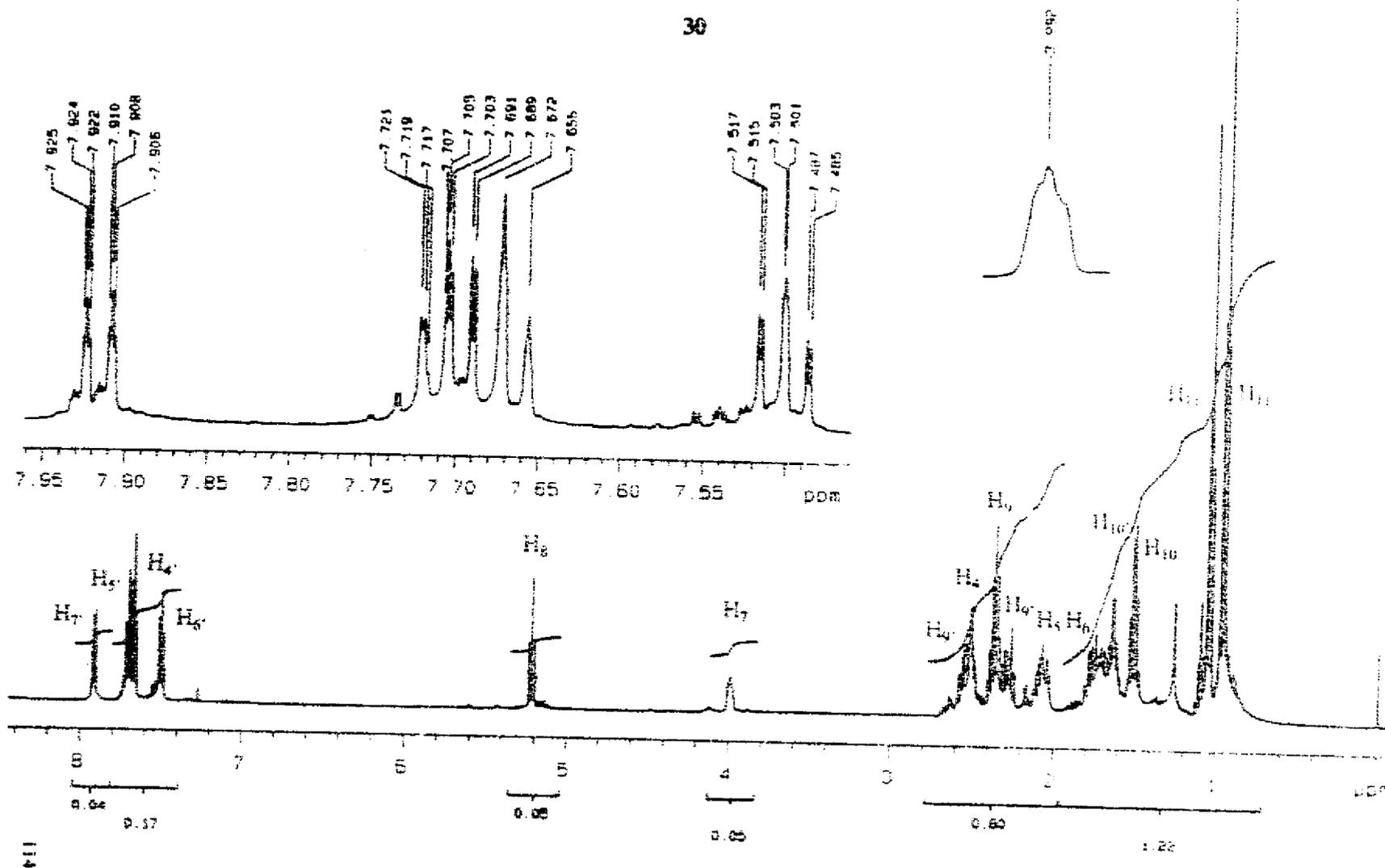


113

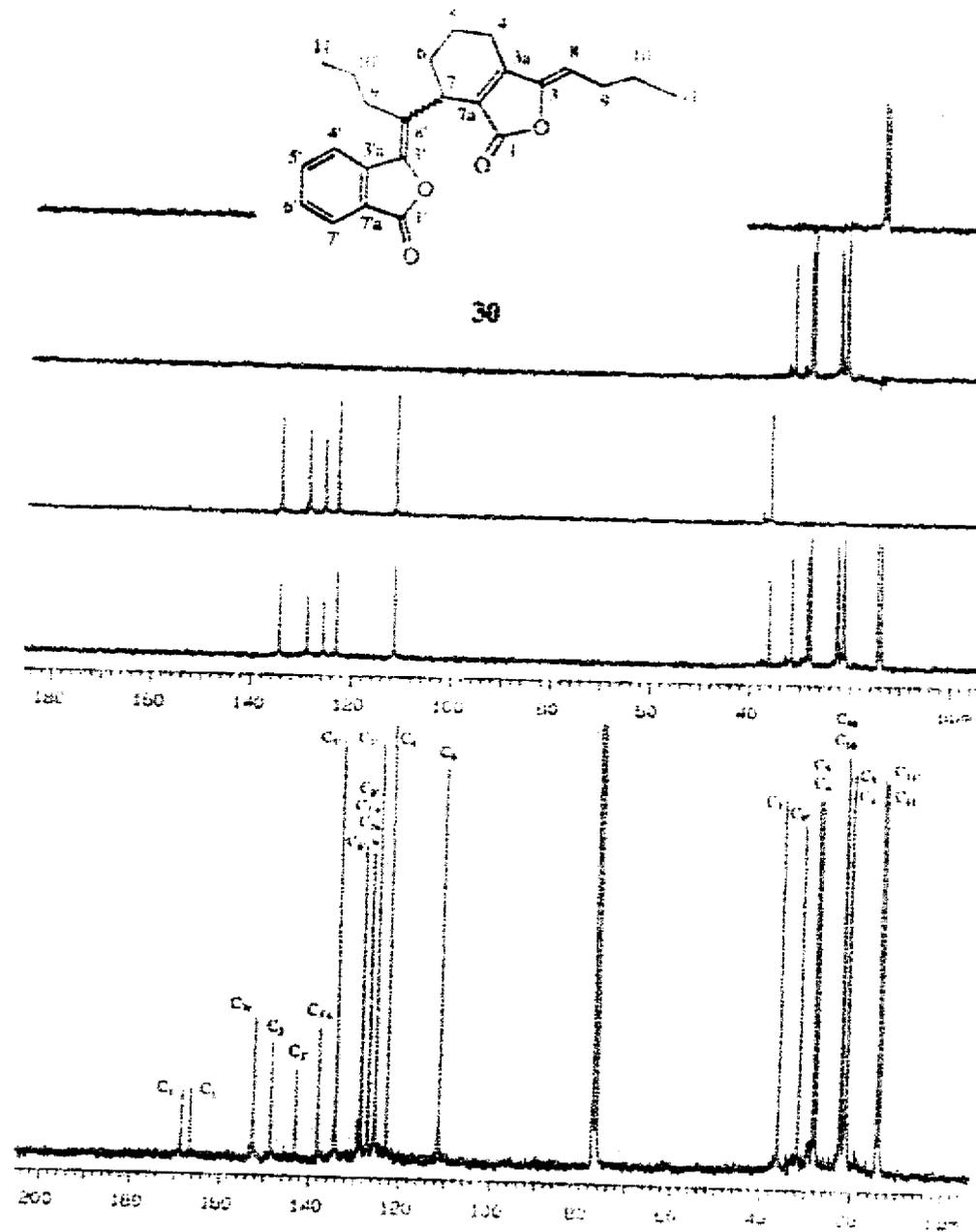
Espetro 1. RMN¹H de Z-ligustilido (1)



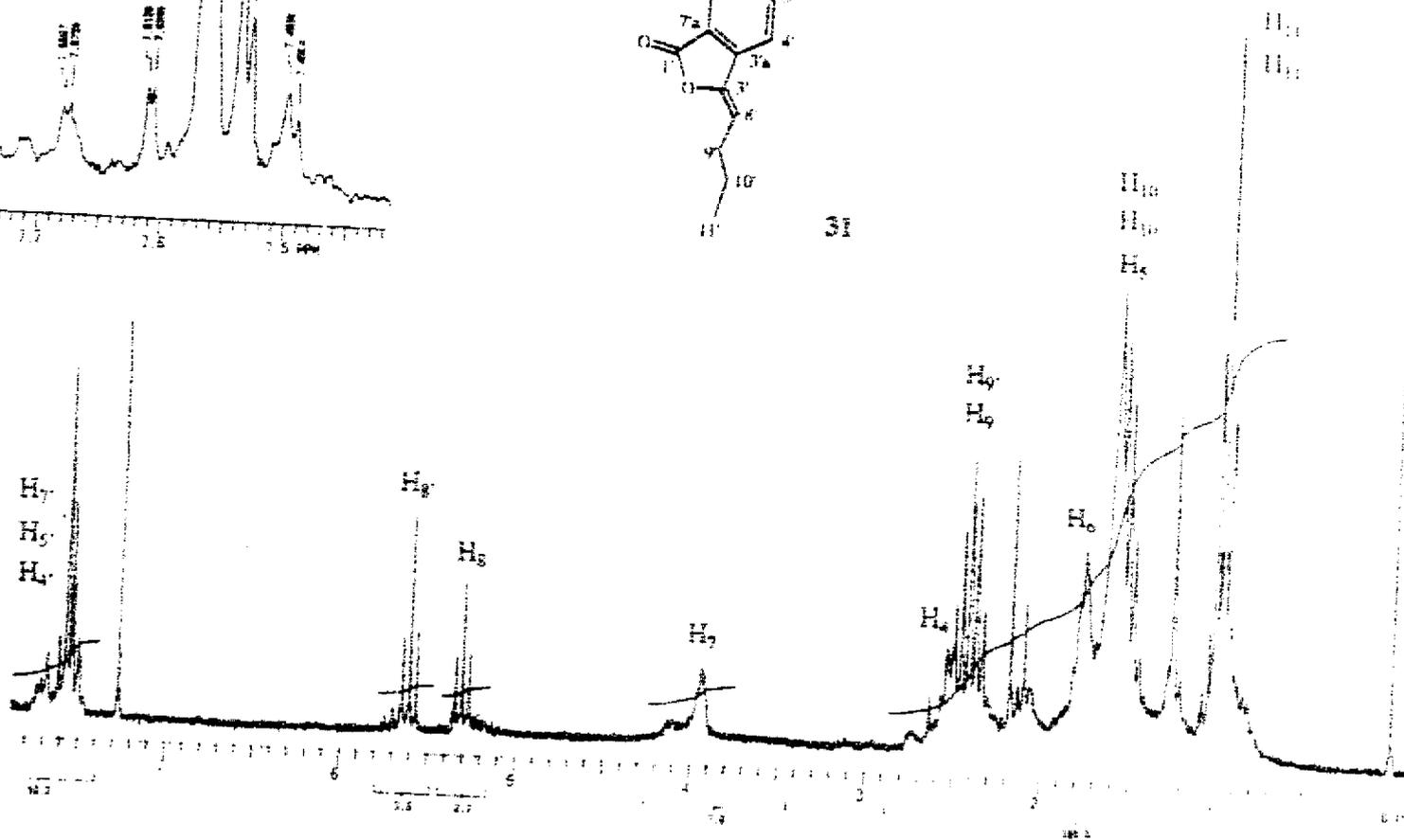
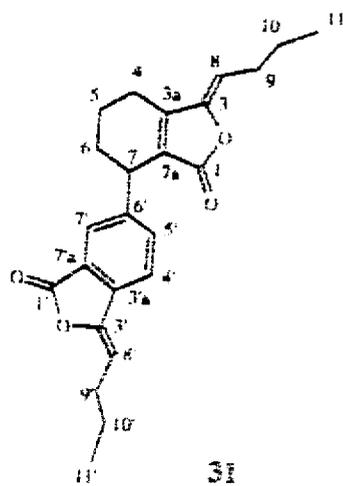
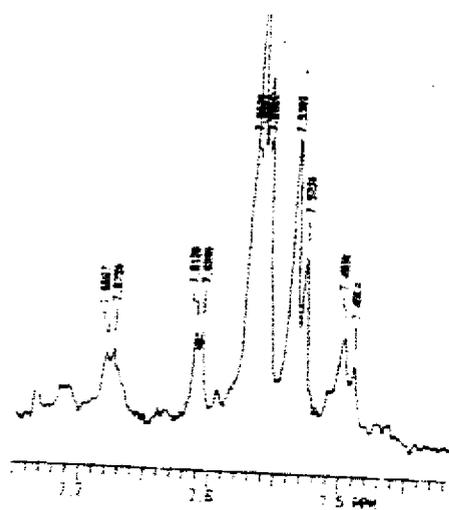
30



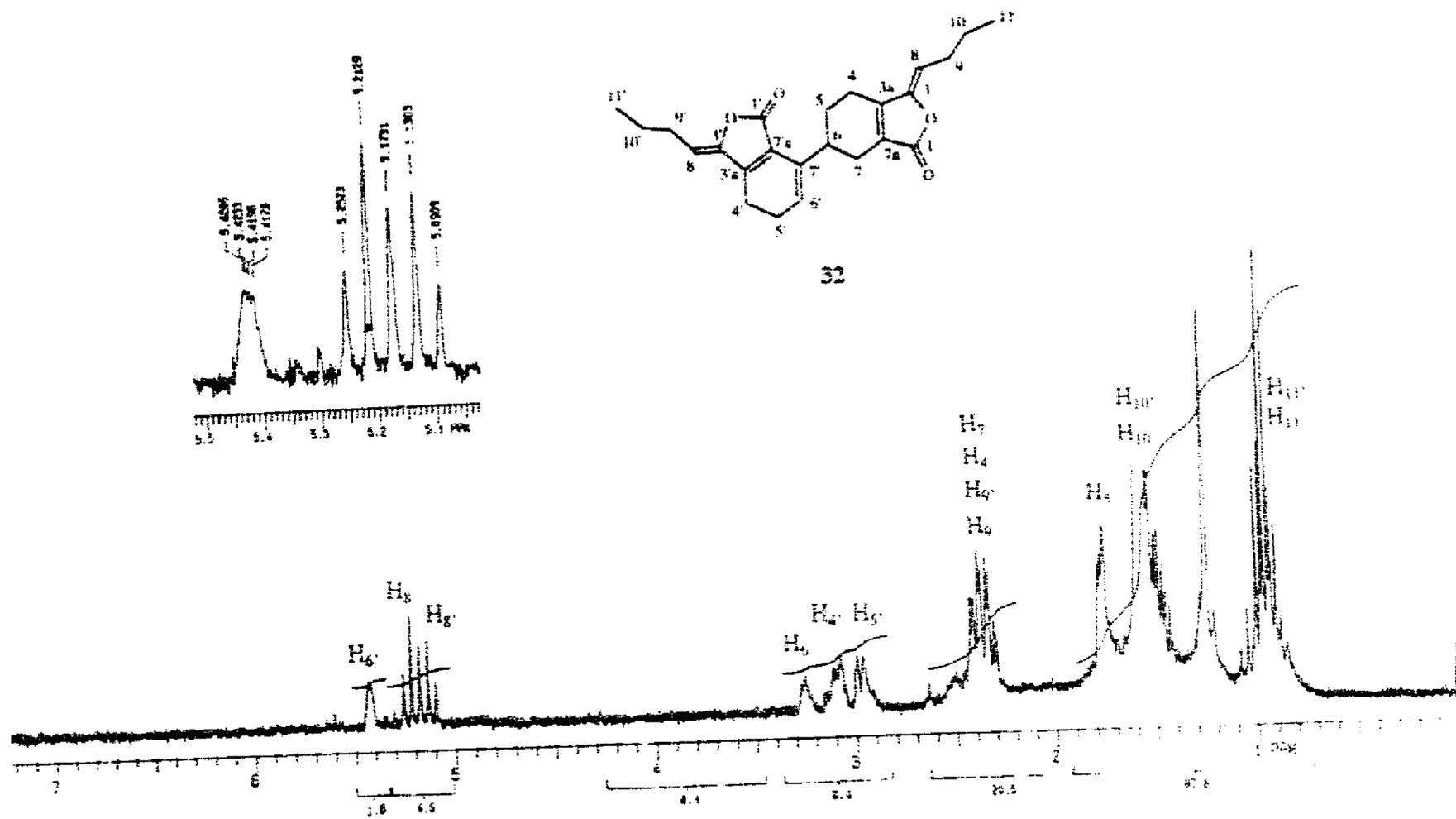
Espectro 2. RMN^1H del dimero 30



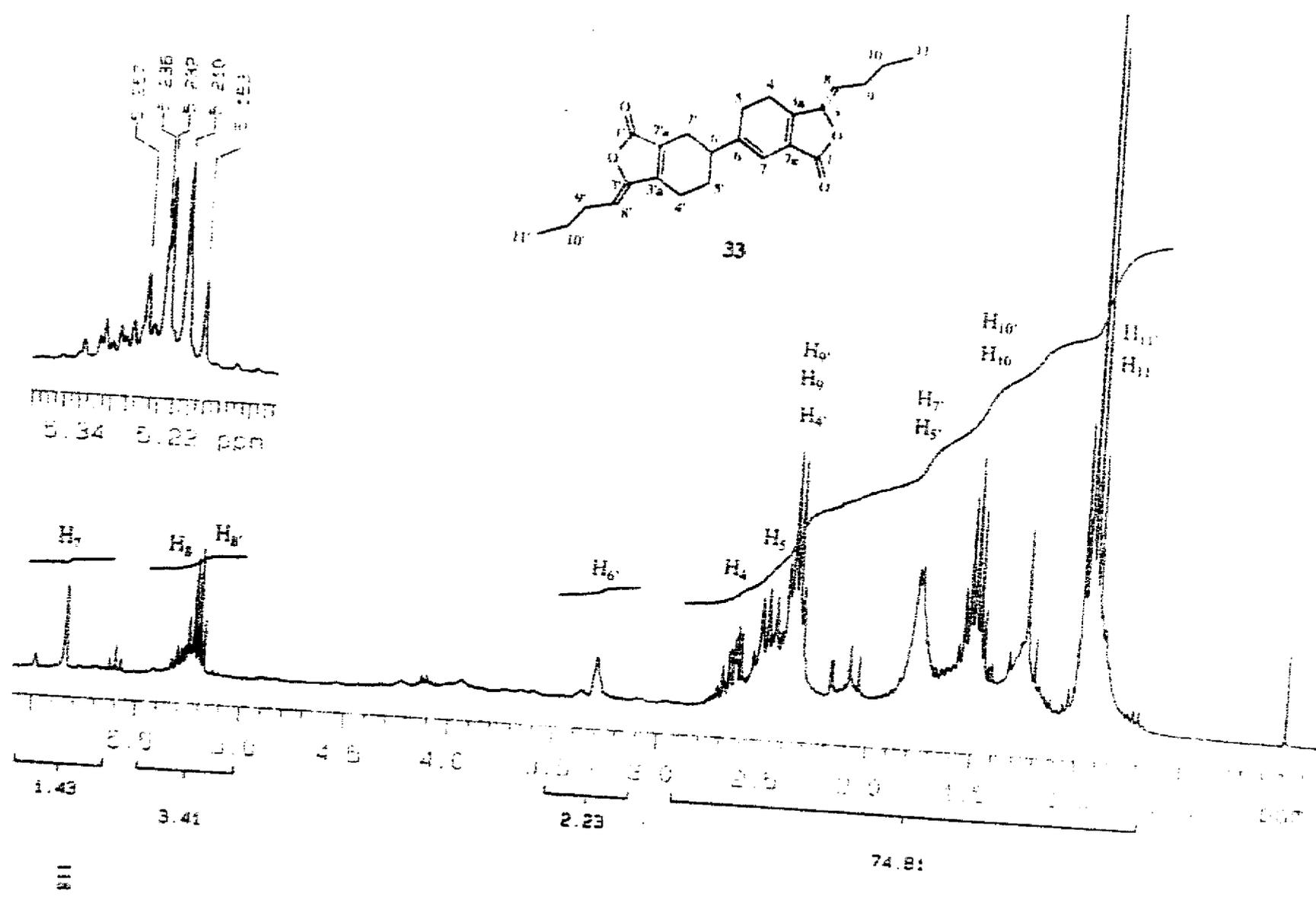
Espectro 3. RMN¹³C del dímero 30



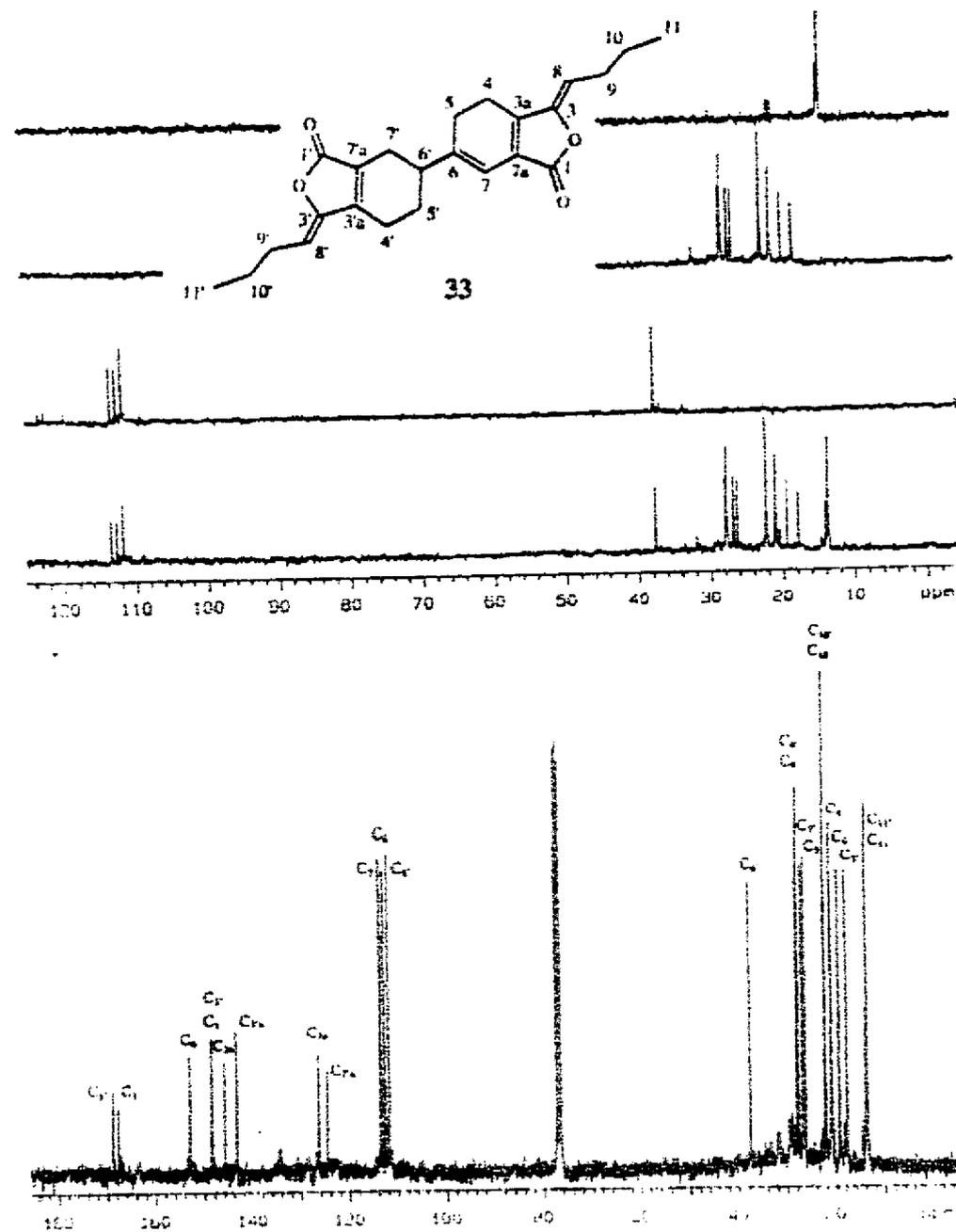
Espectro 4. RMN¹H del dímero 3I



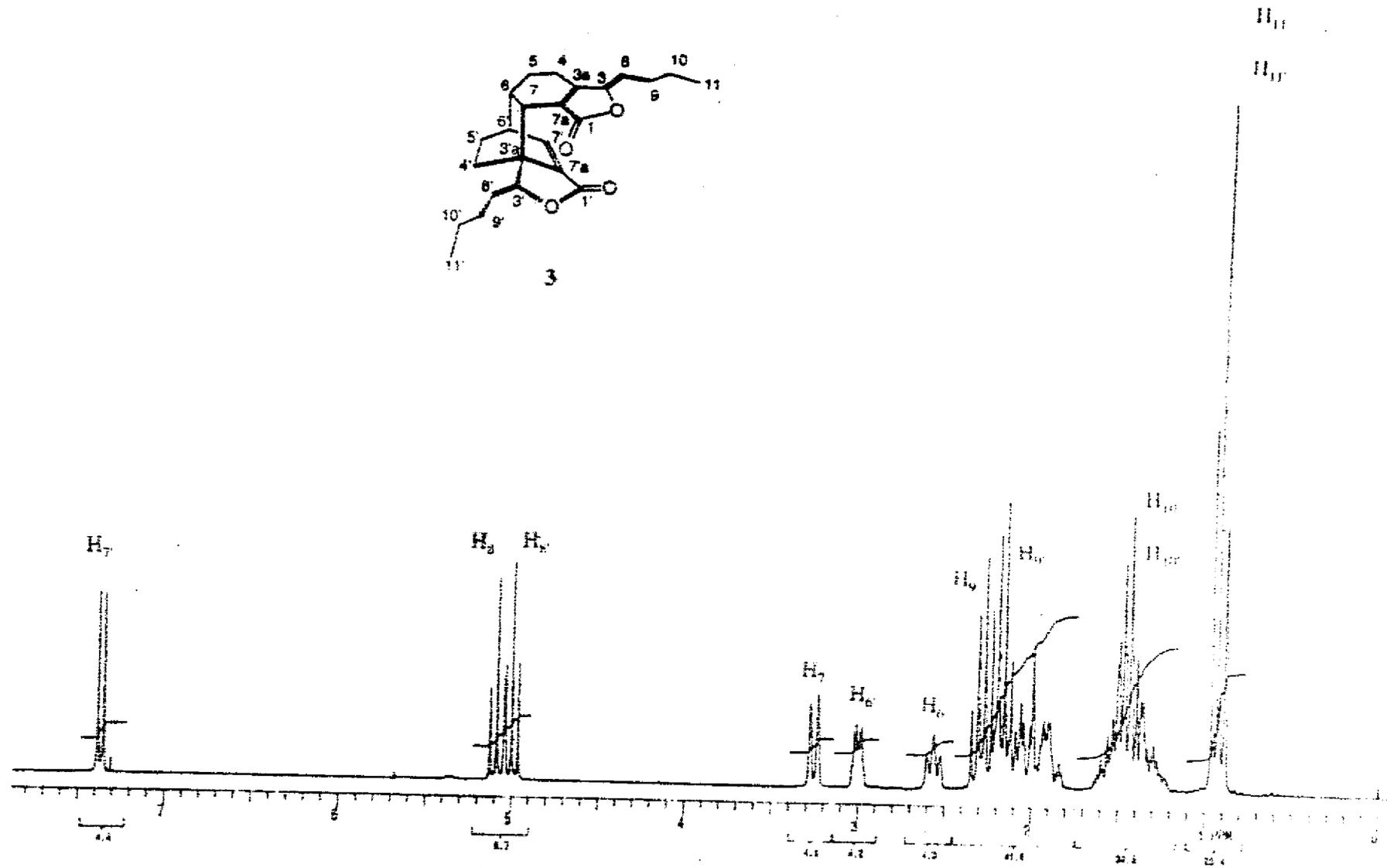
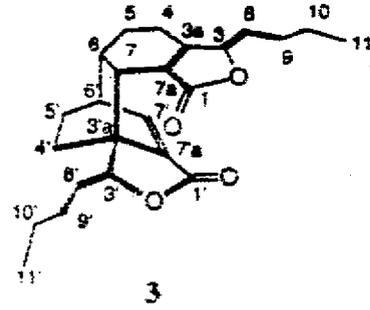
Espectro 5. RMN¹H del dímero 32



Espectro 6. RMN¹H del dimer 33

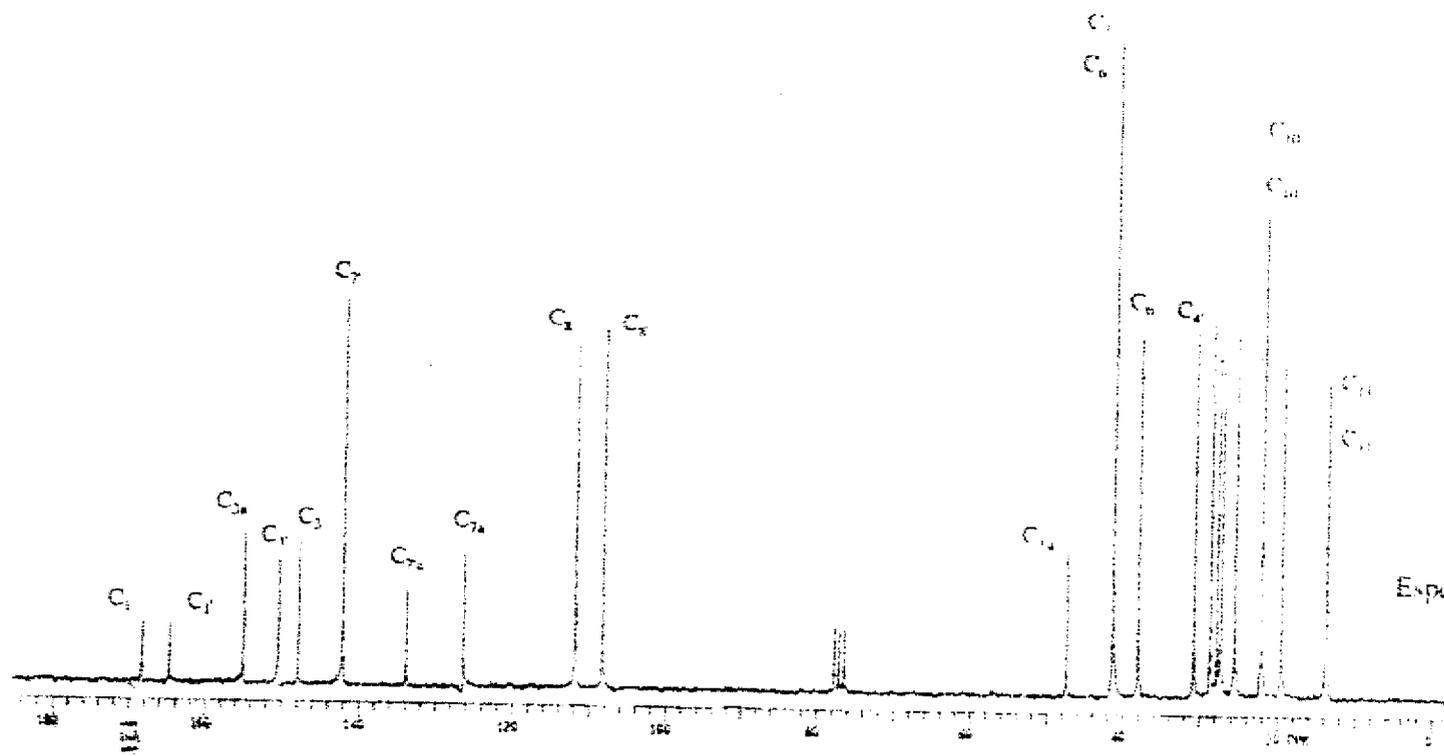
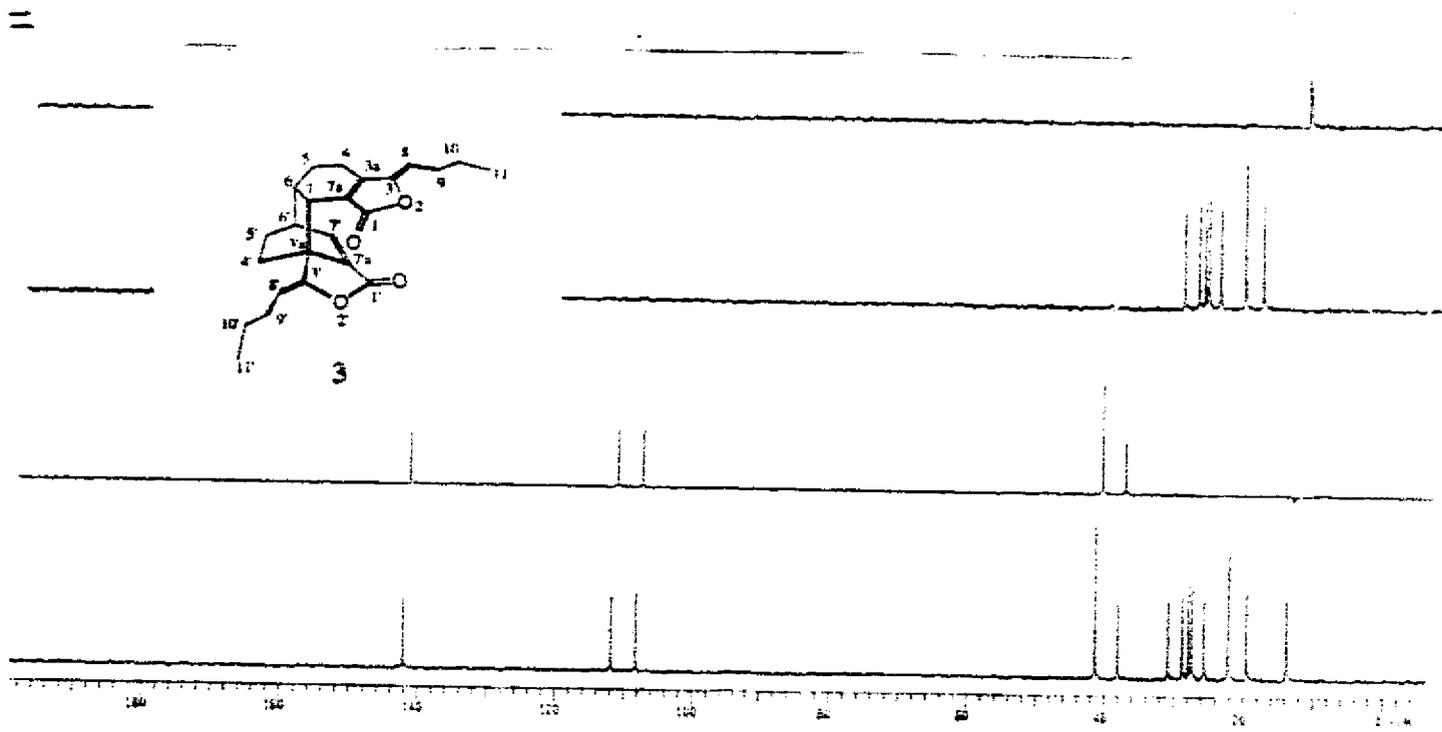


Espectro 7. RMN ^{13}C del dímero 33

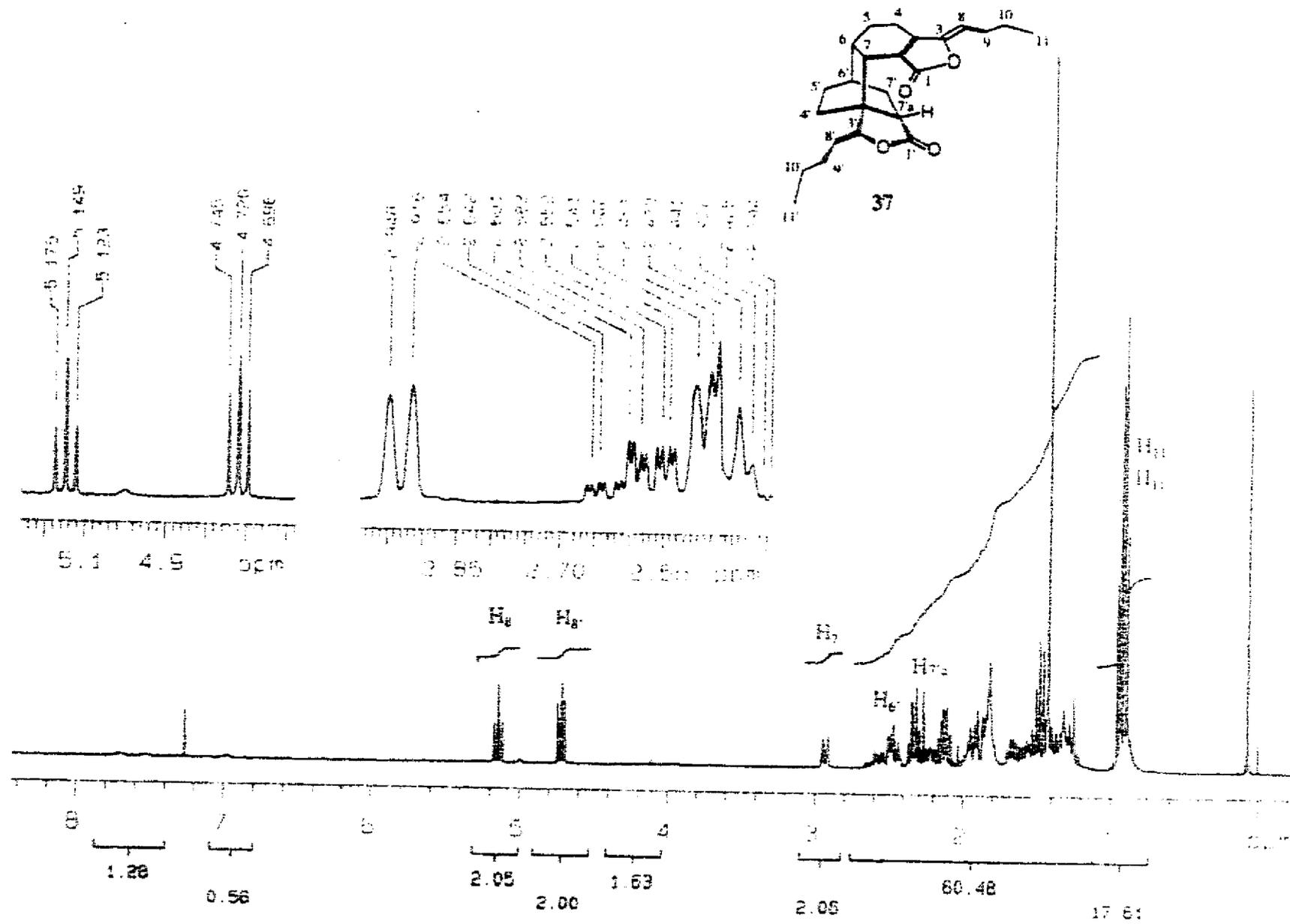


120

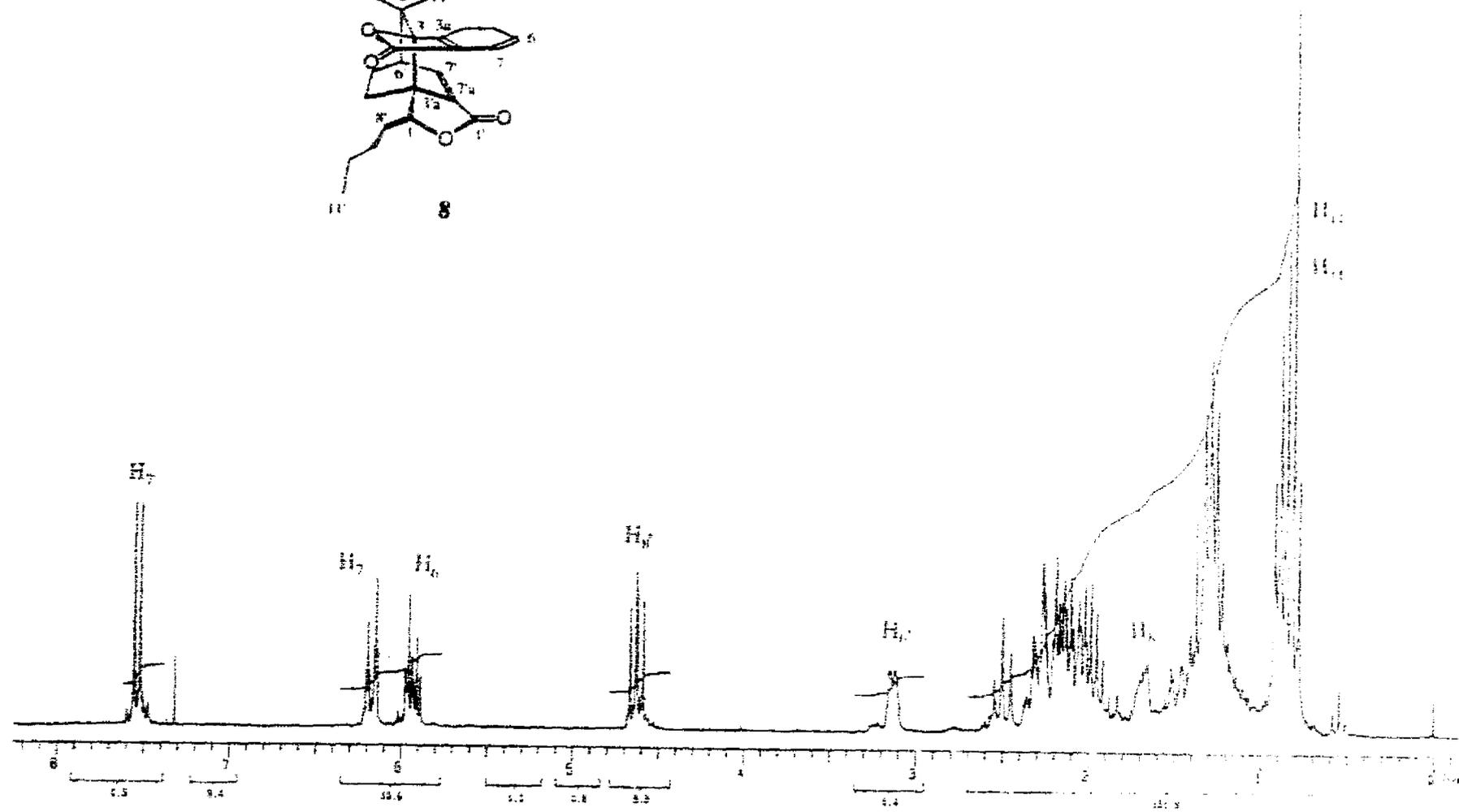
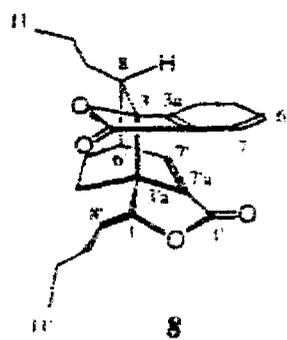
Espectro 8. RMN¹H de diligustilido (3)

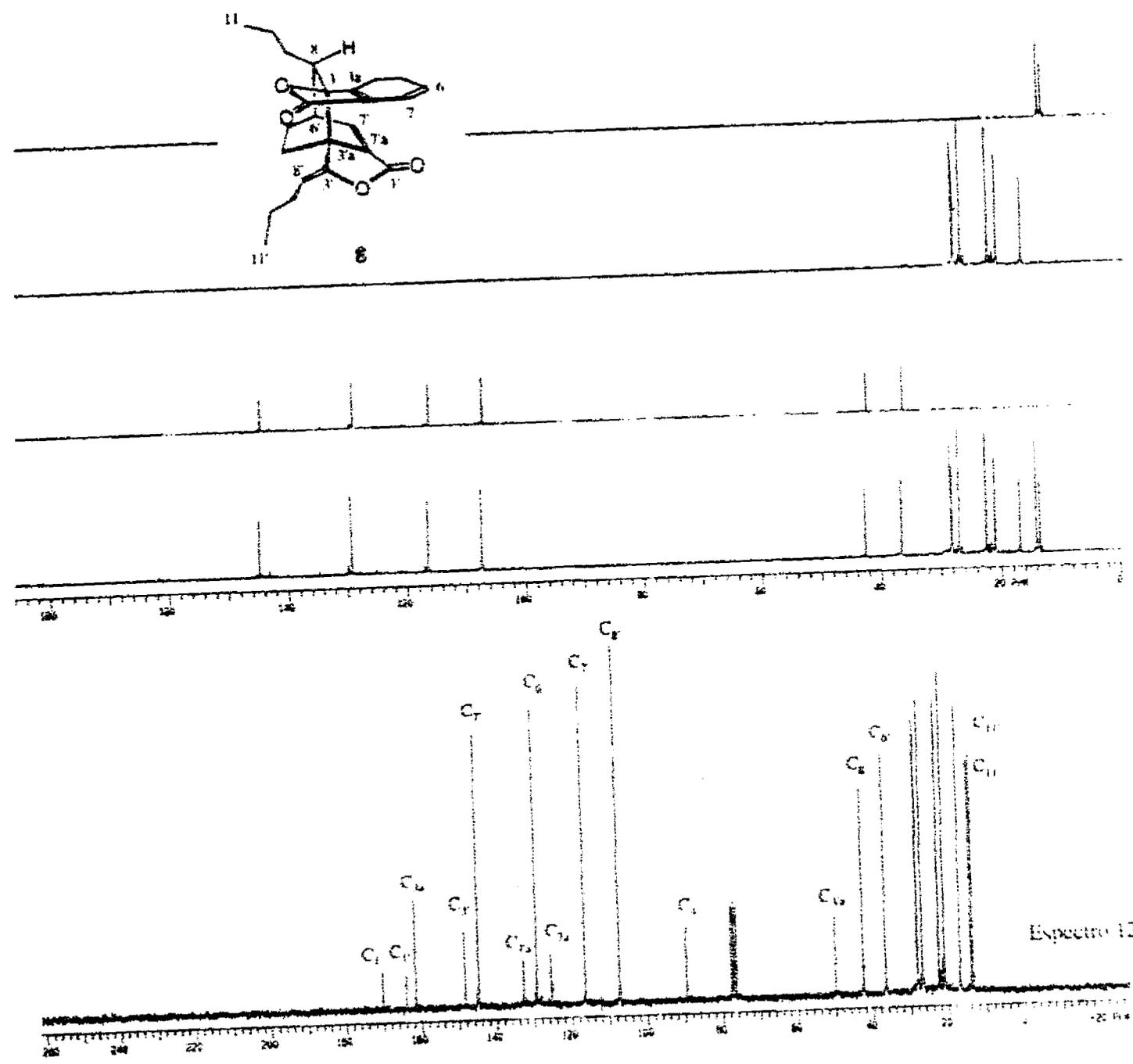


Espectro 9. RMN ^{13}C de diligustilido (3)

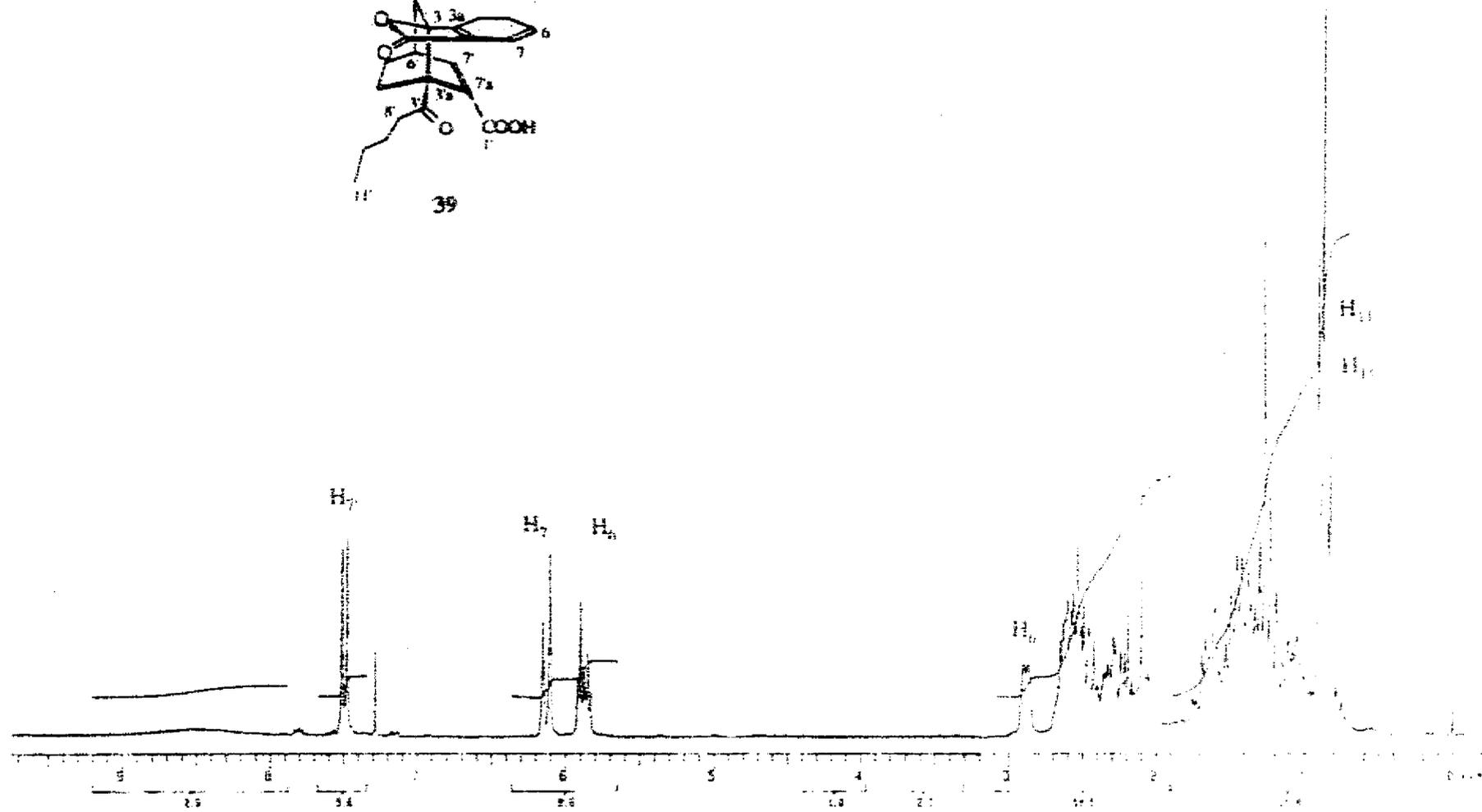
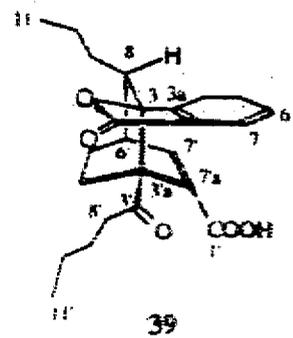


Espectro 10. RMN¹H de 37

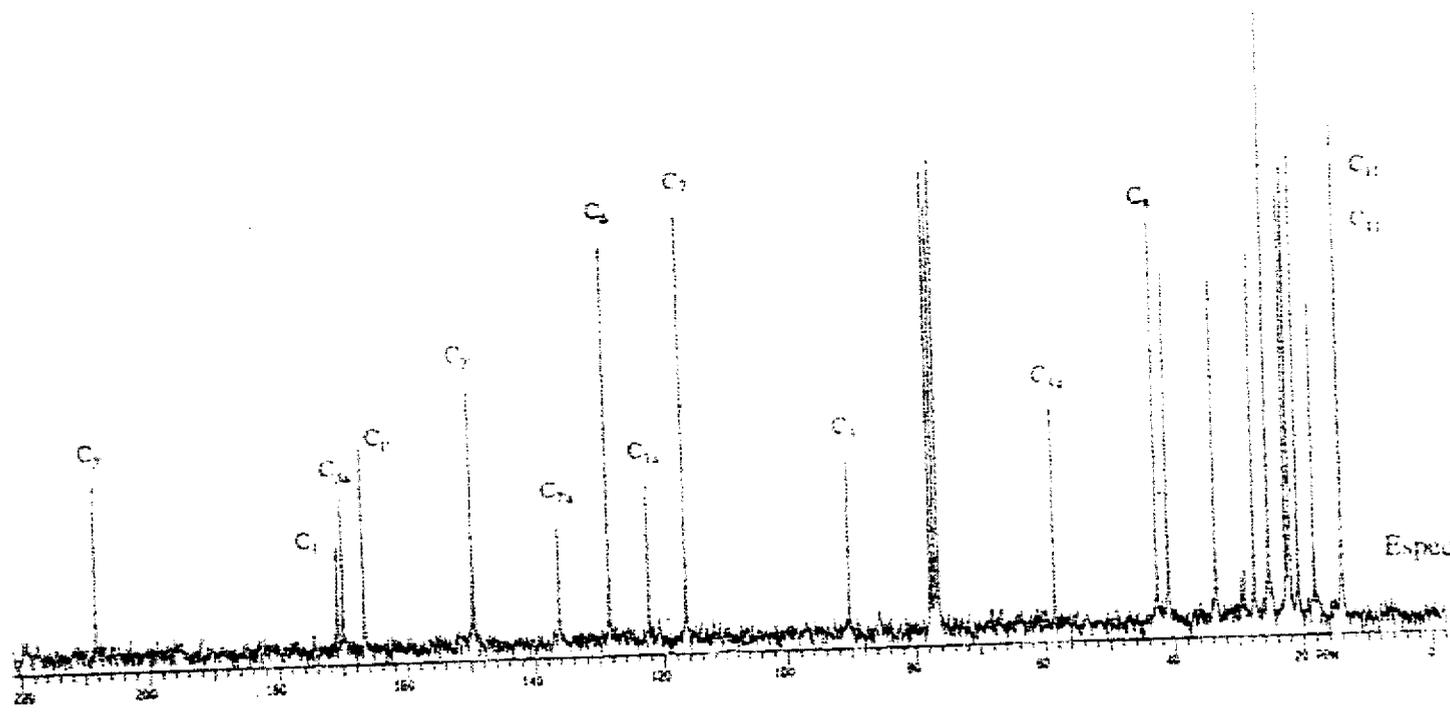
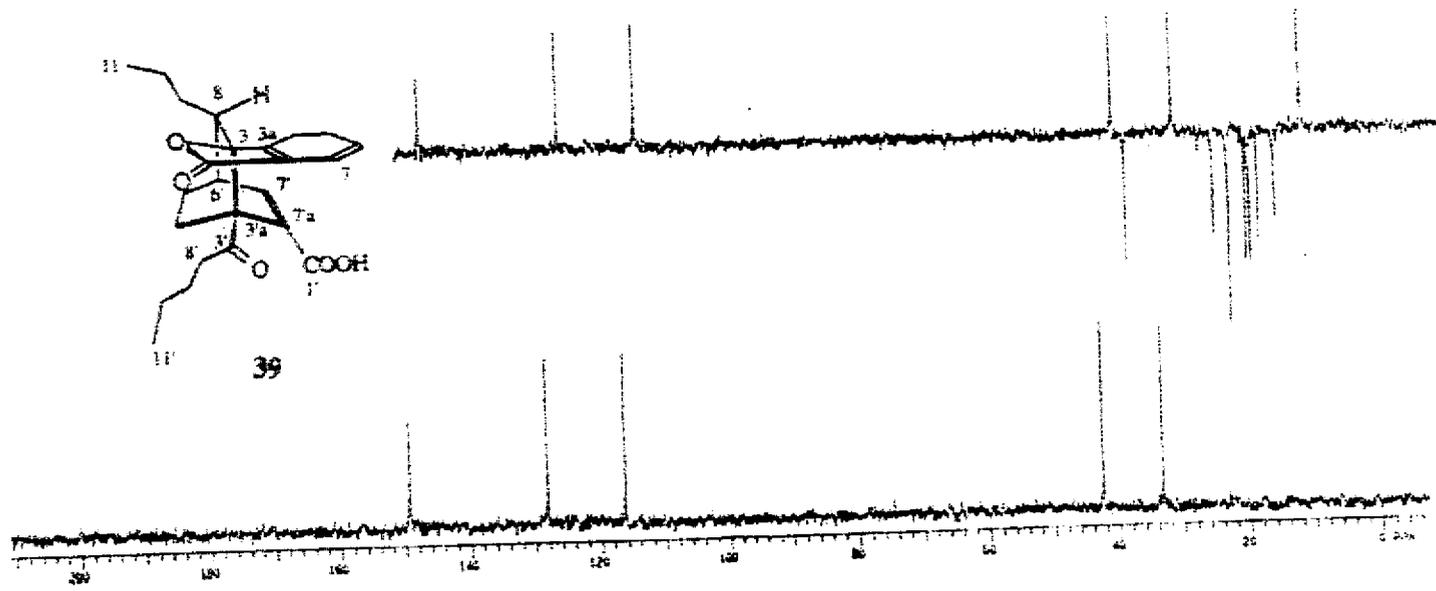




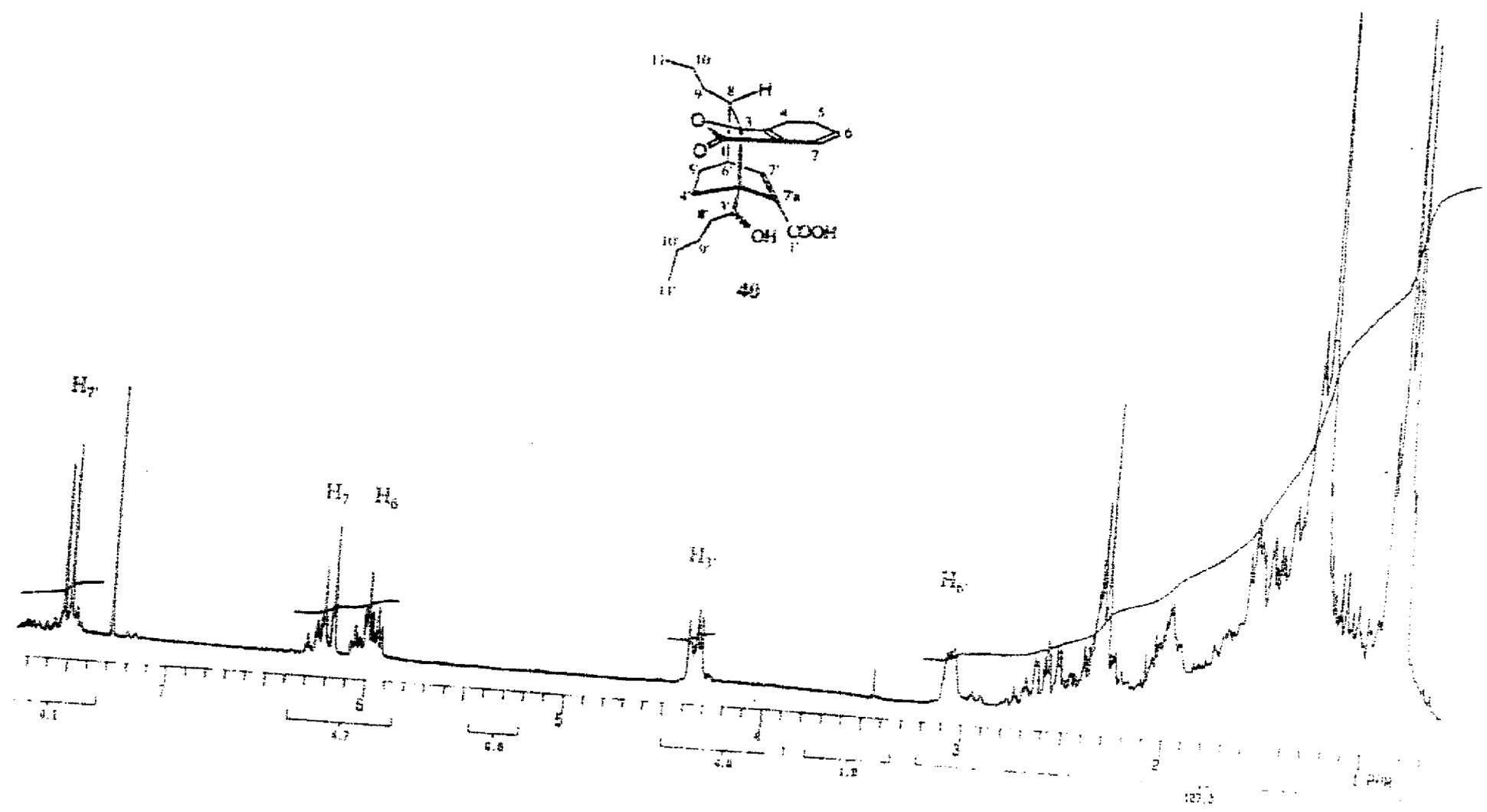
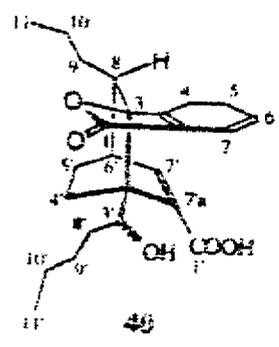
Espectro 12. RMN¹³C de Inquinólido B (8)



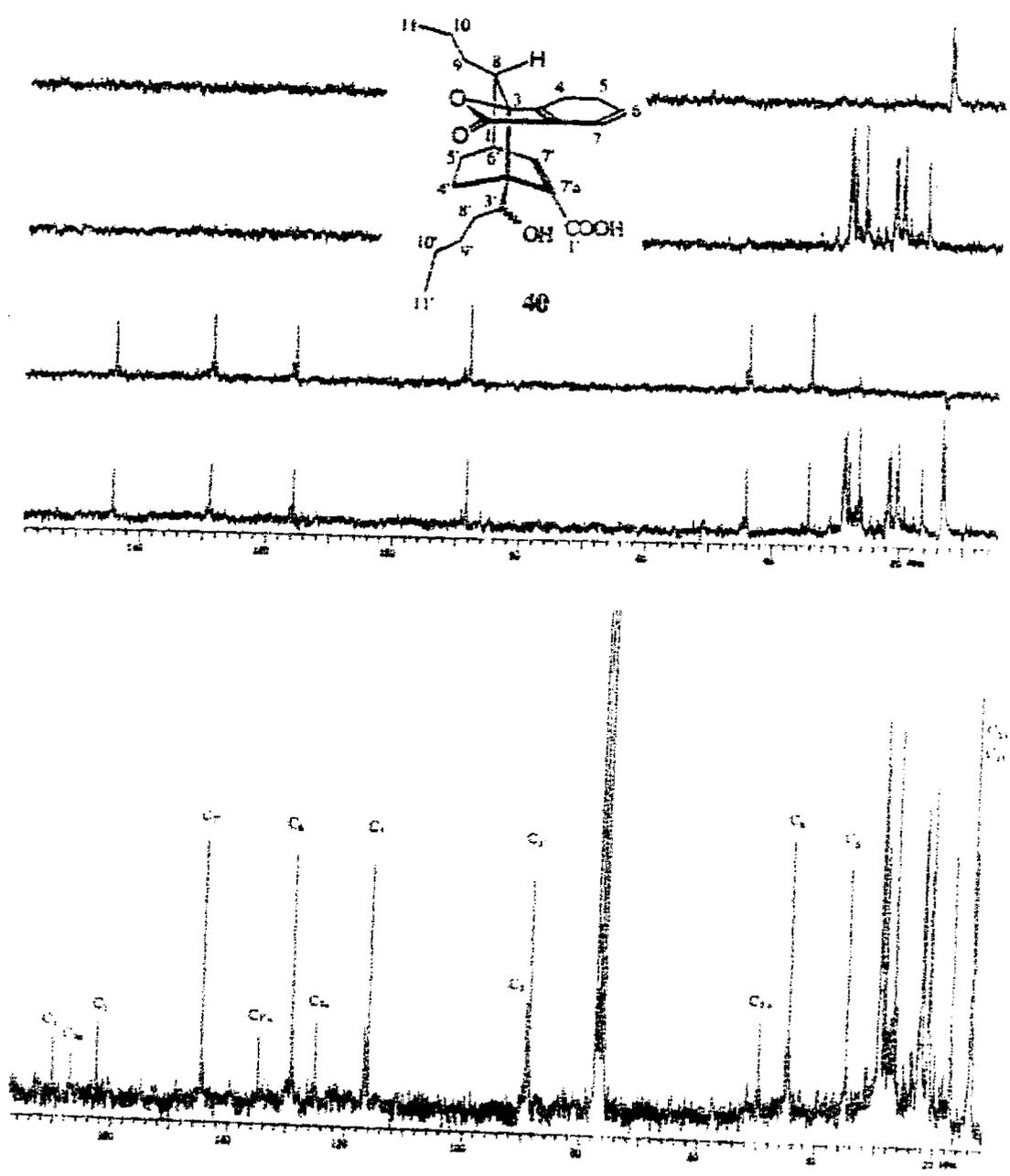
Espectro 13. RMN¹H de 39



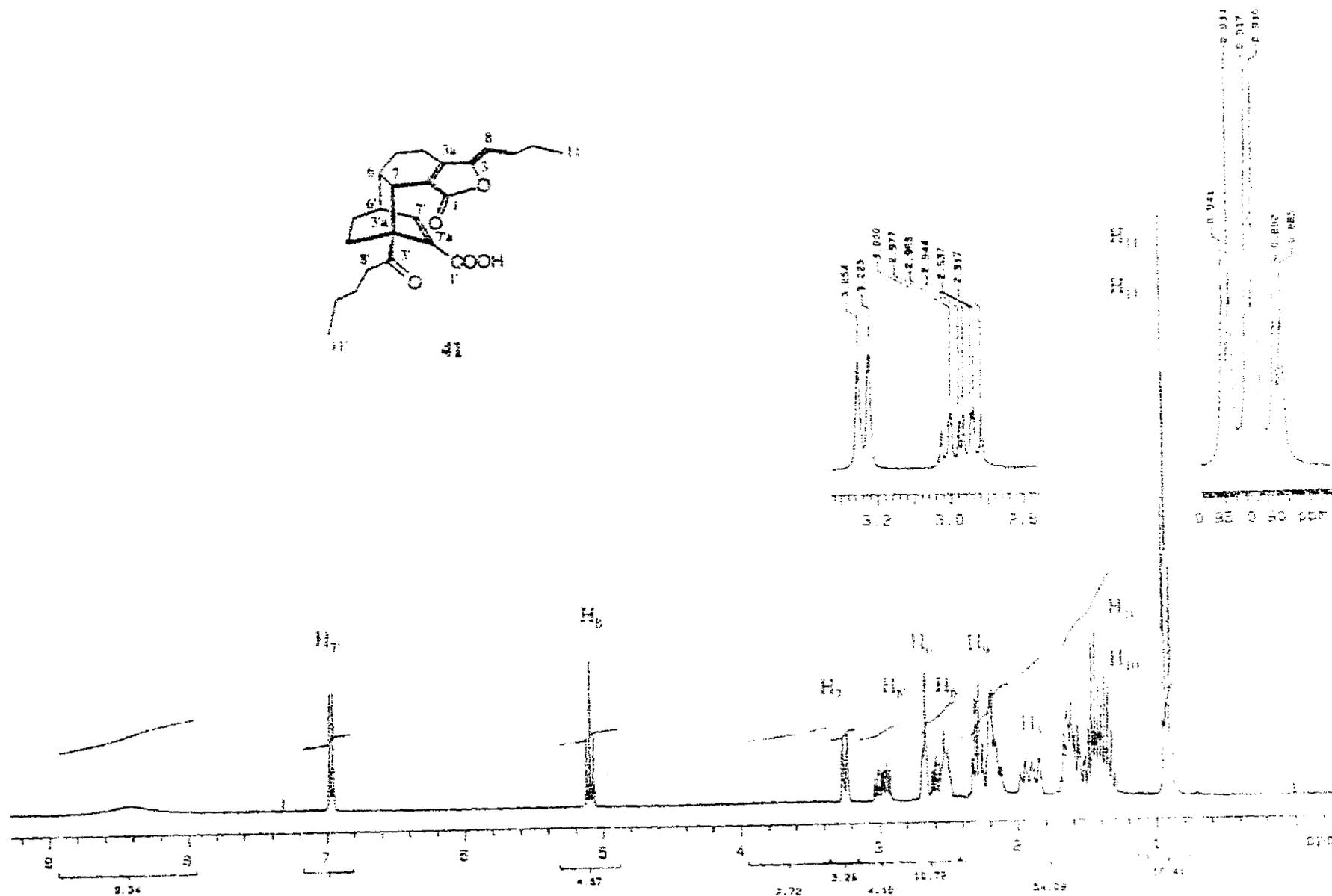
Espectro 14. RMN¹³C de 39



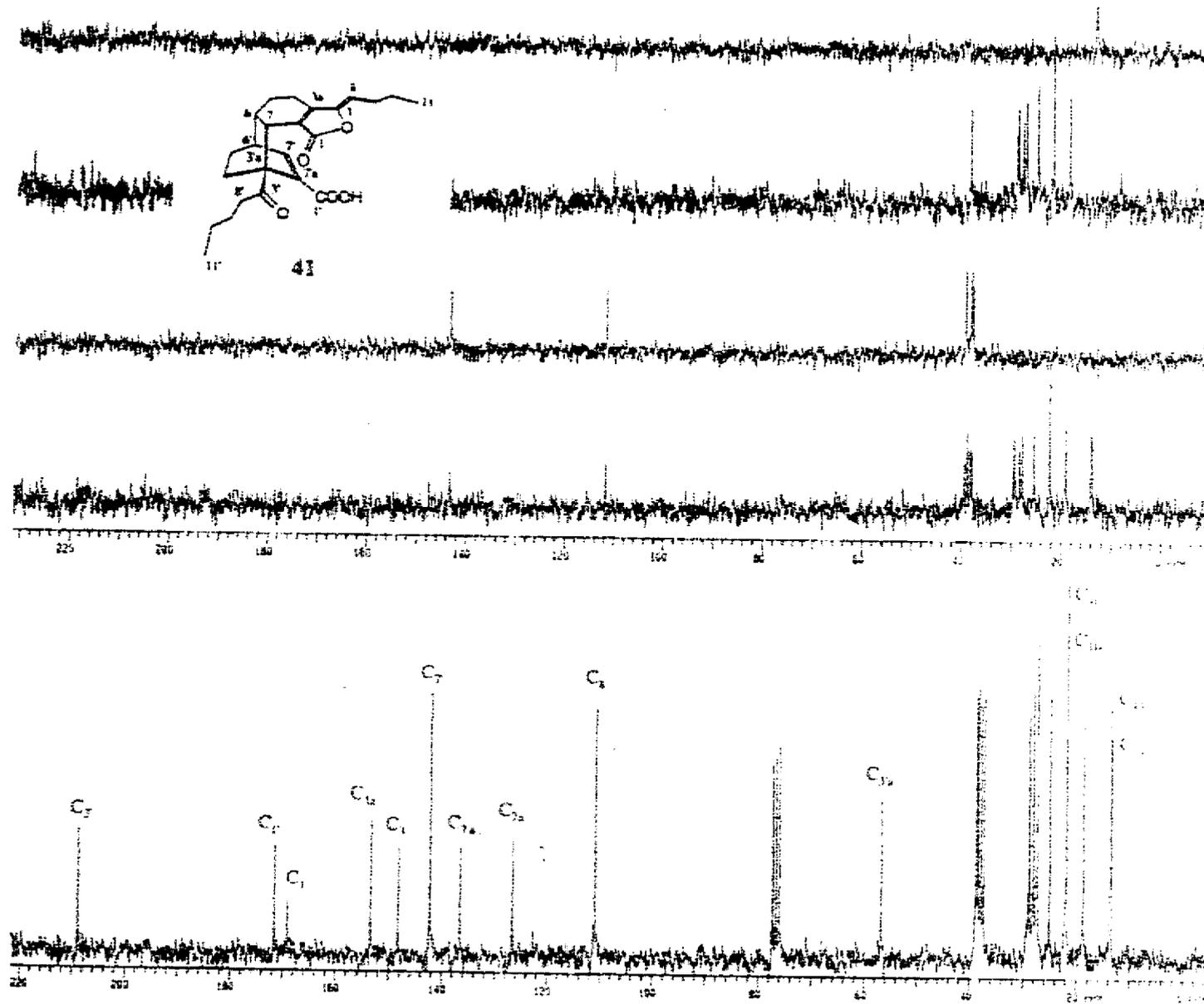
Espectro 15. RMN¹H de 40



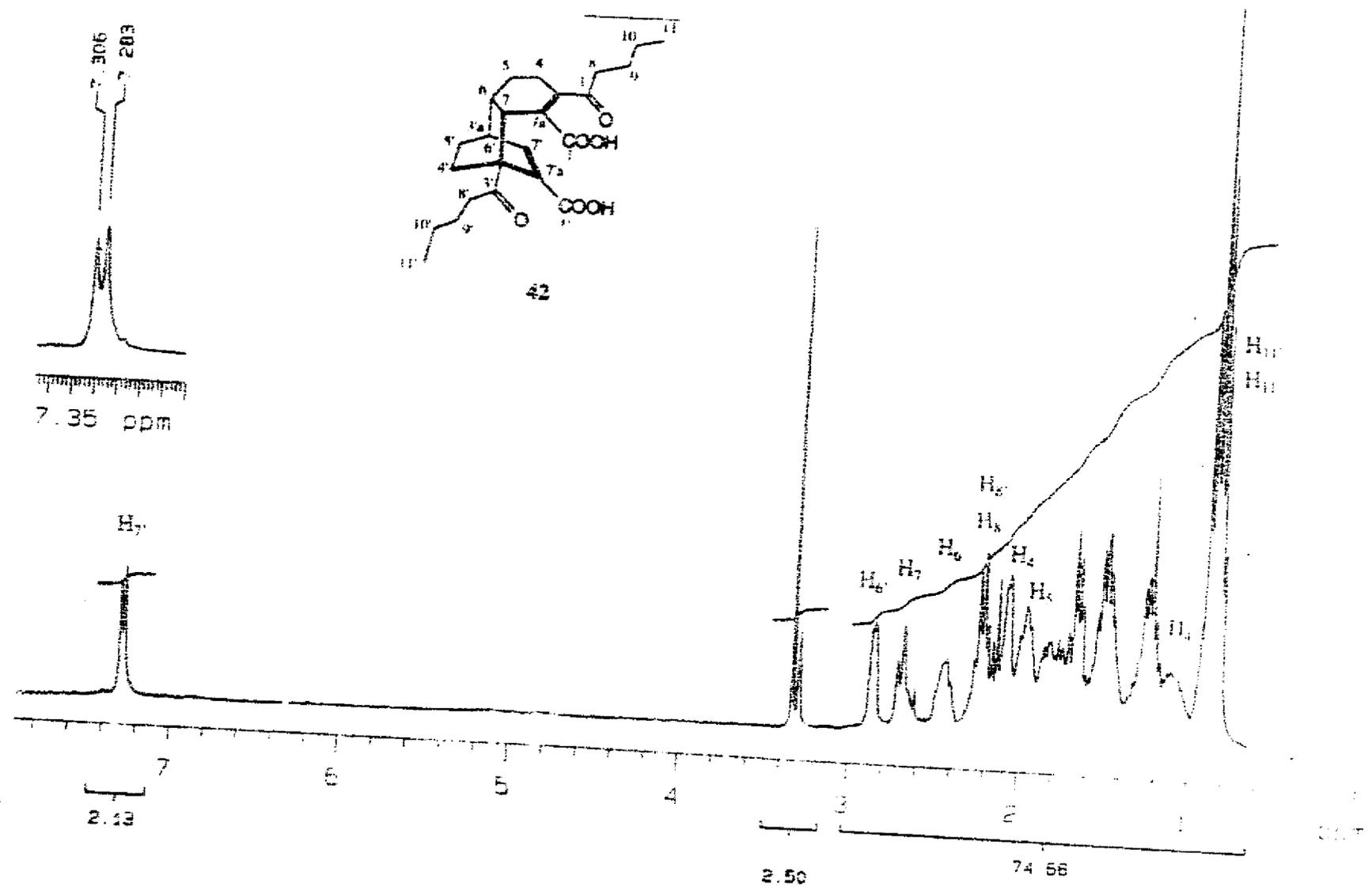
Espectro 16 RMN¹³C de 40



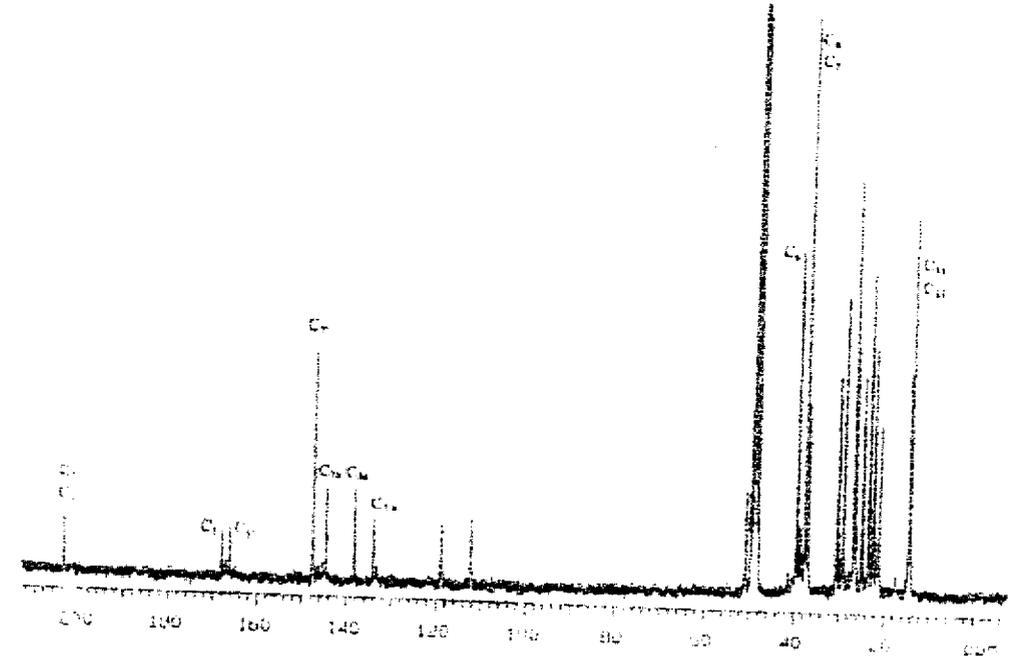
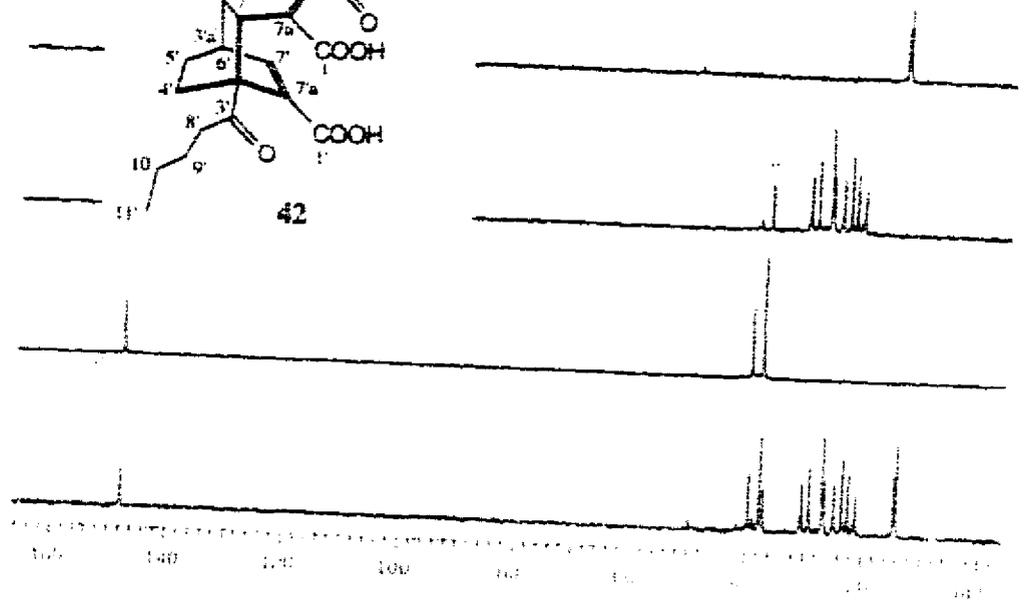
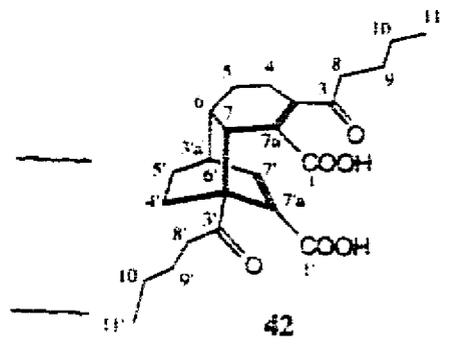
Espectro 17. RMN¹H (CDCl₃, 300 MHz) de desmetilwallichinidol (41)



Espectro 18. RMN ^{13}C de desmetilwallichilido (41)

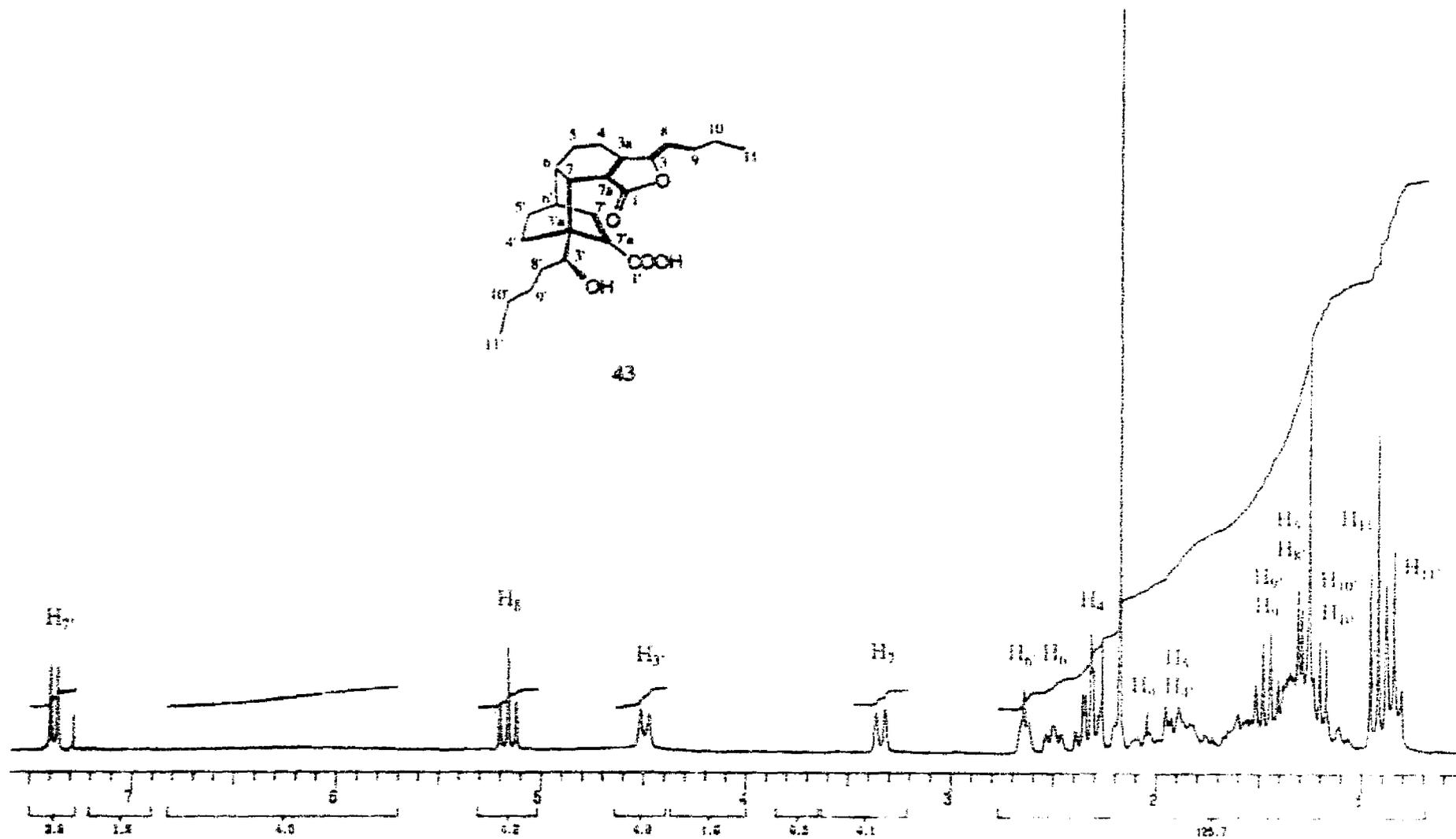
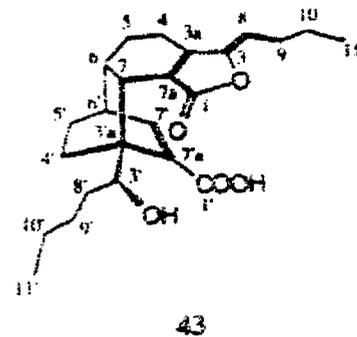


Espectro 19. RMN¹H del diácido 42

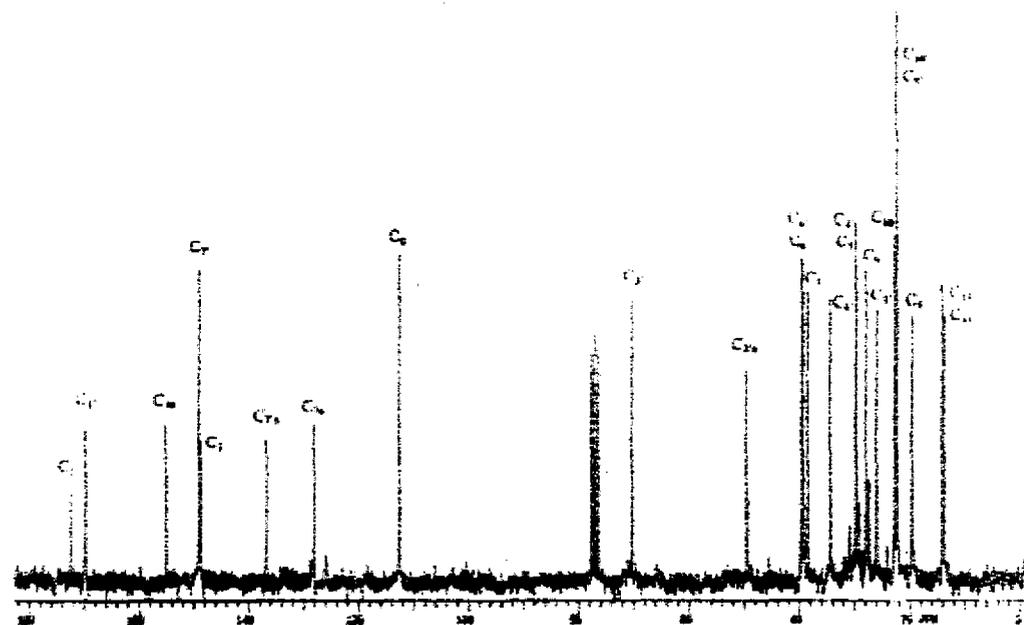
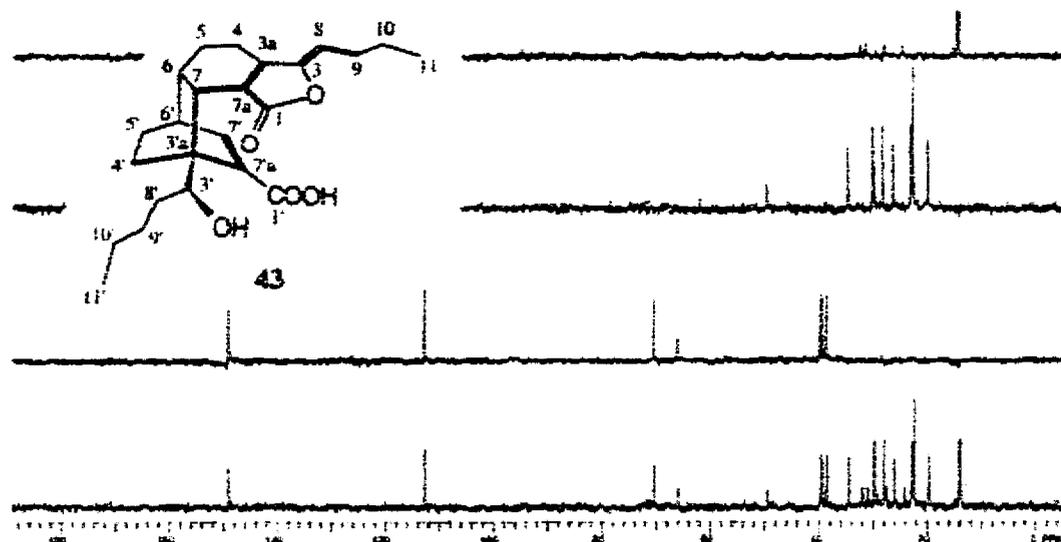


132

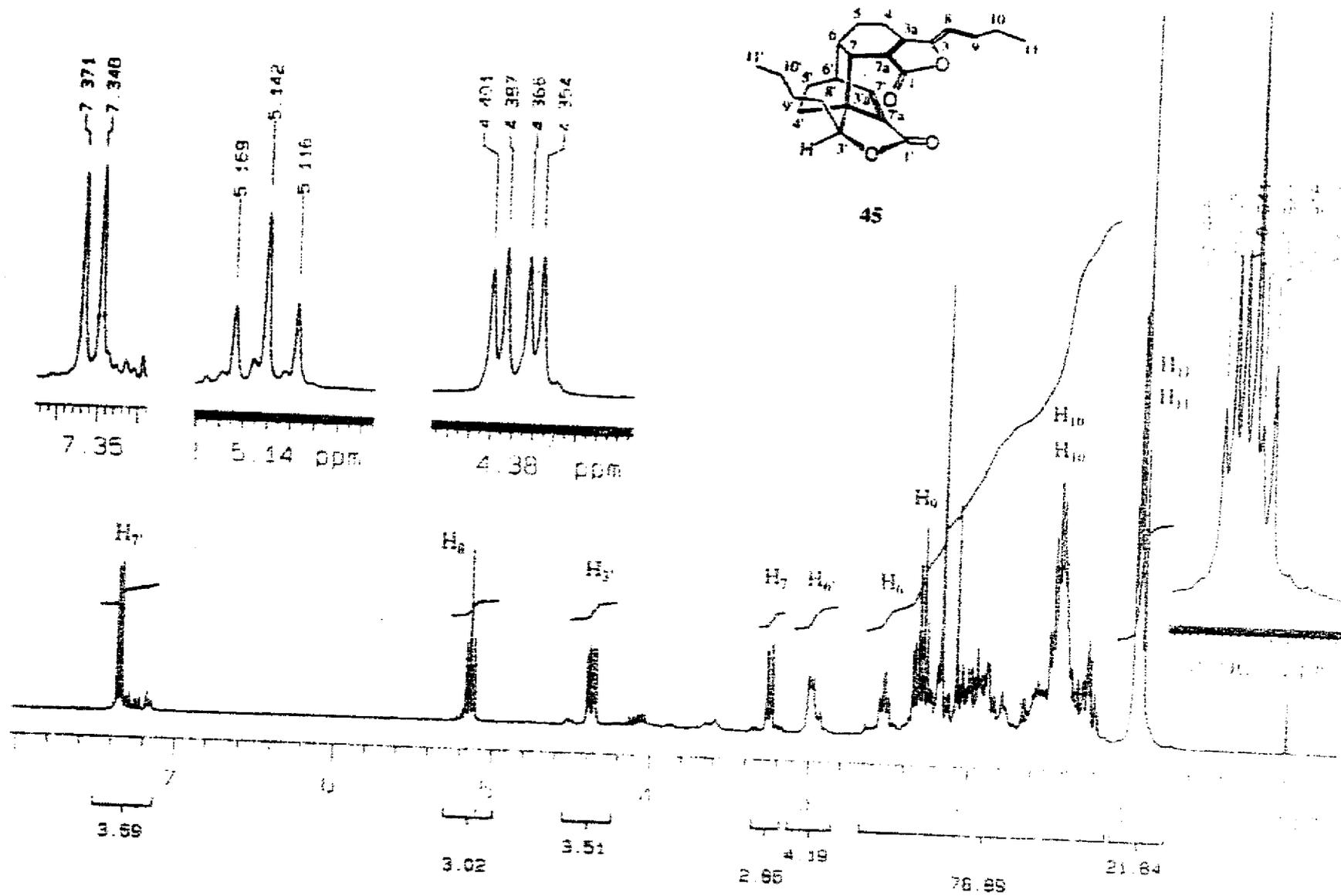
Espectro de RMN¹³C del ácido 42



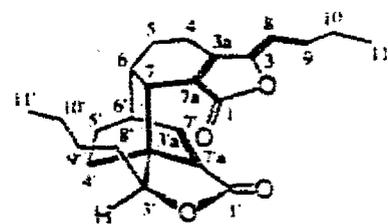
Espectro 21. RMN¹H del hidroxiaácido 43



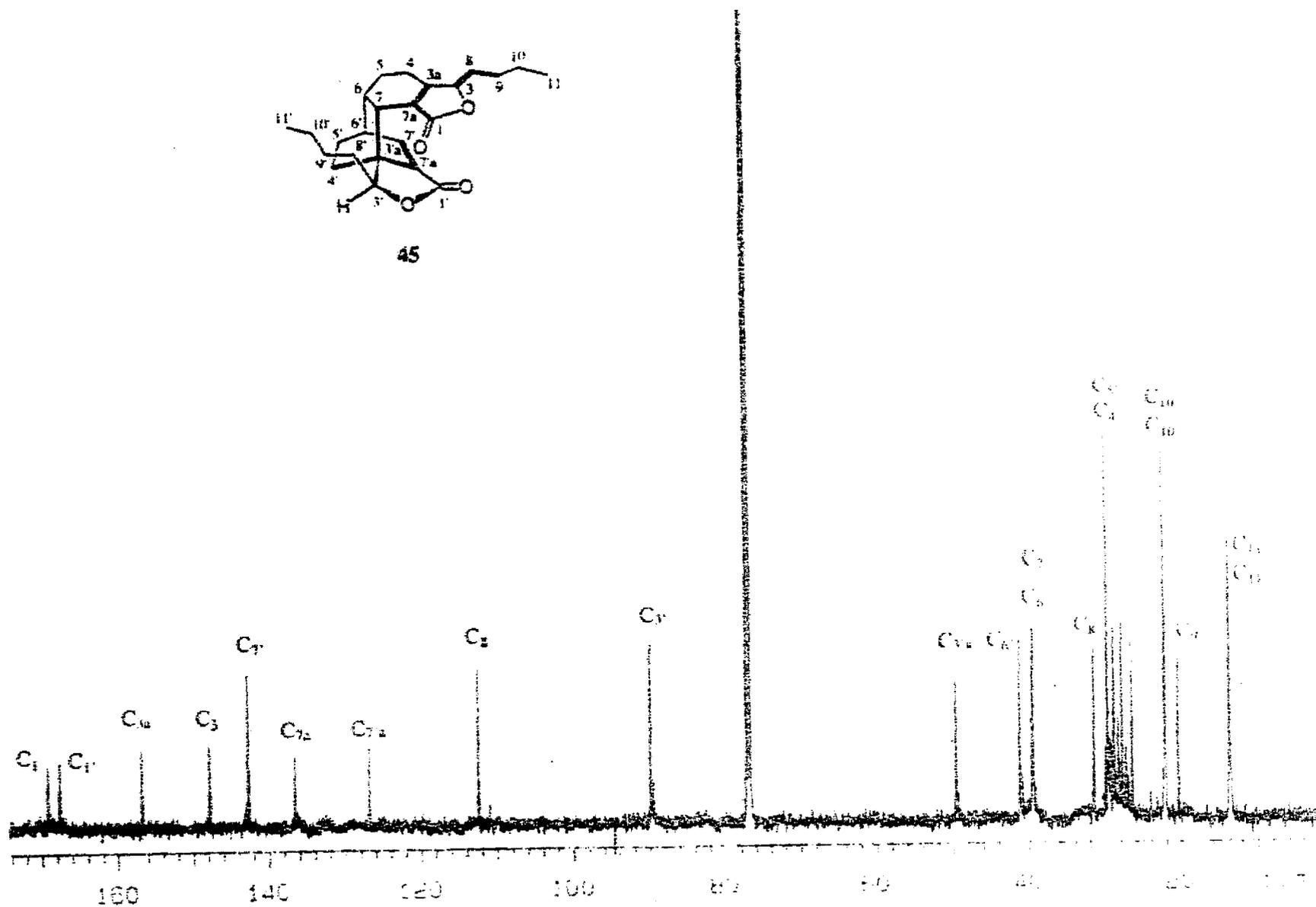
Espectro 22. RMN ^{13}C del hidroxiaácido 43



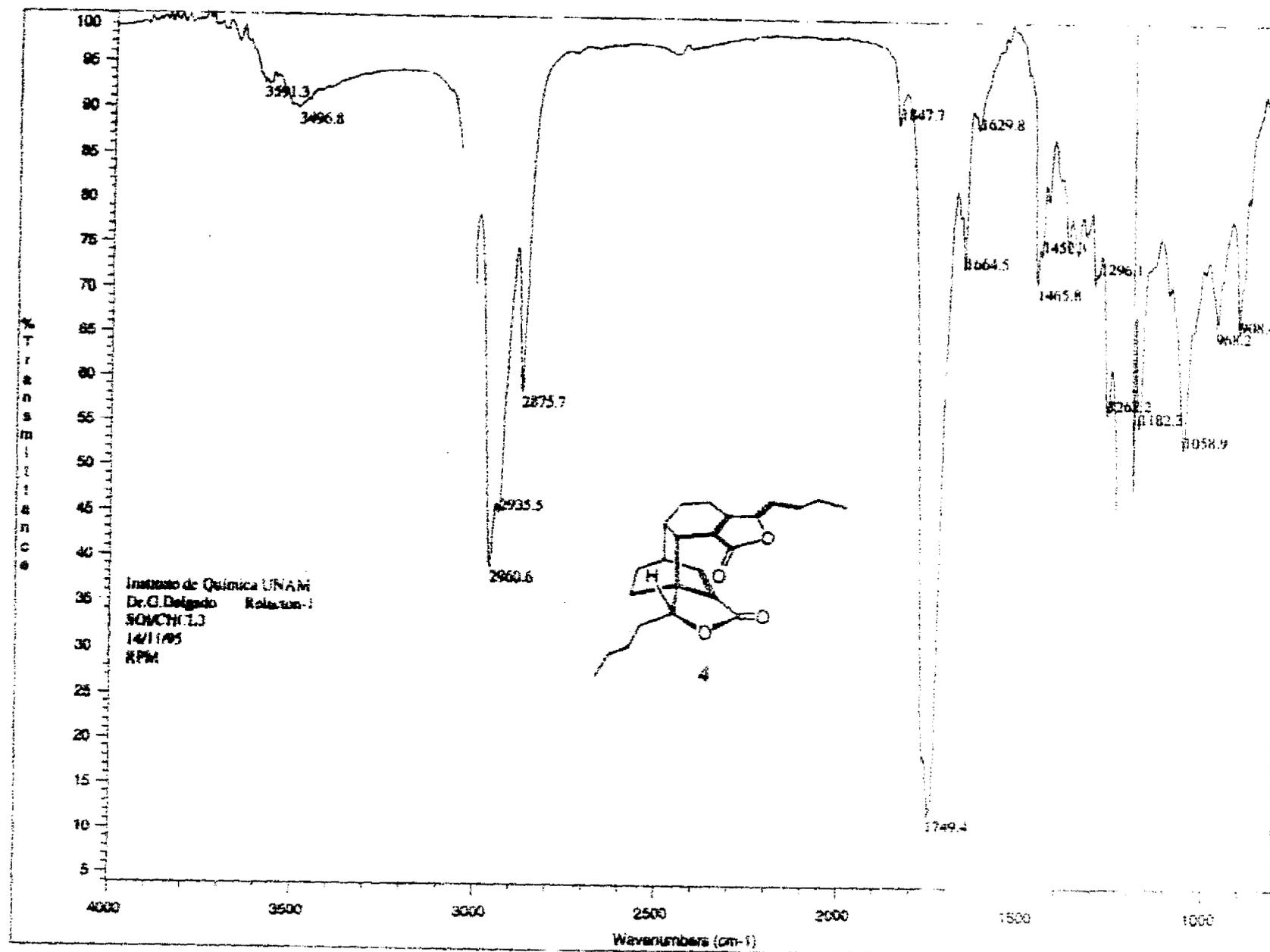
Espectro 23. RMN¹H de 3'(S)-3',8'-dihydrodilignostilbene (45)



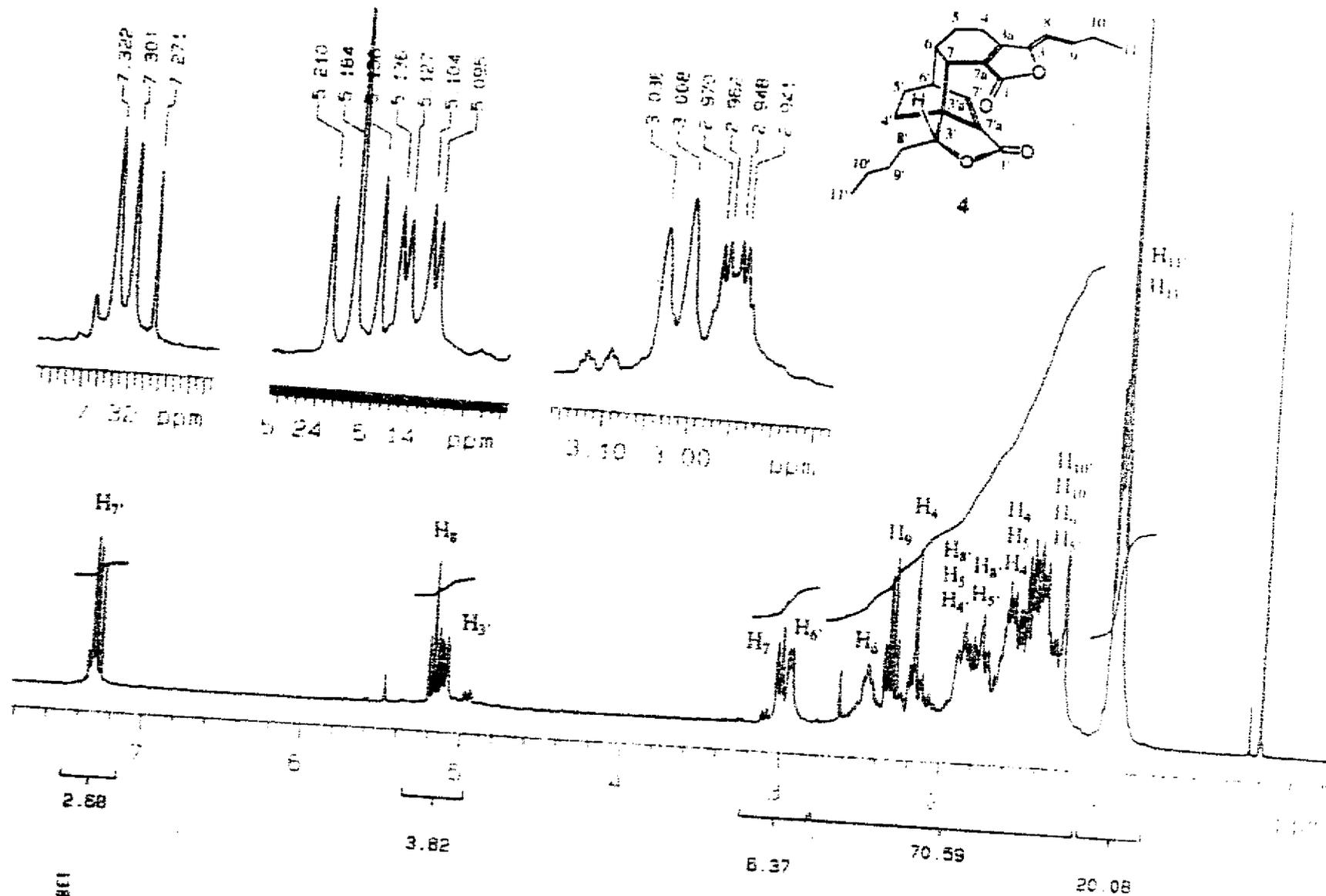
45



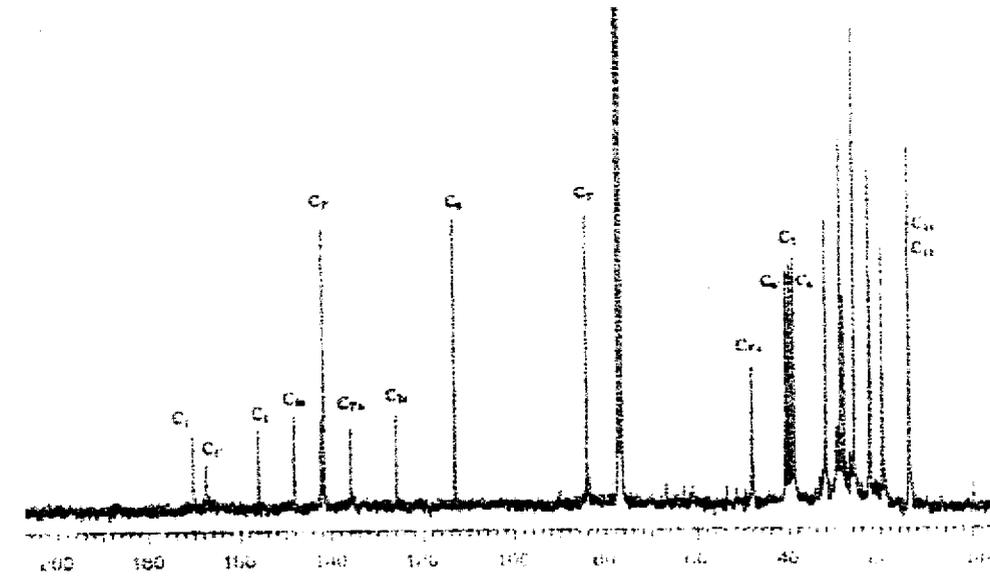
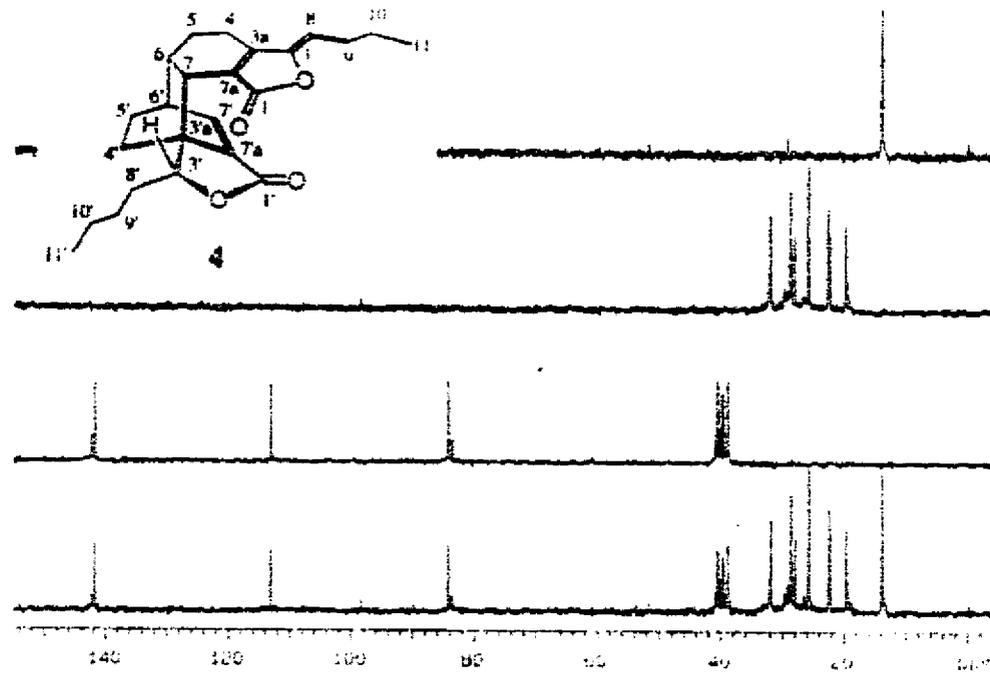
Espectro 24. RMN¹³C de 3'-(S)-3',8'-dihydrodiligustilido (45)



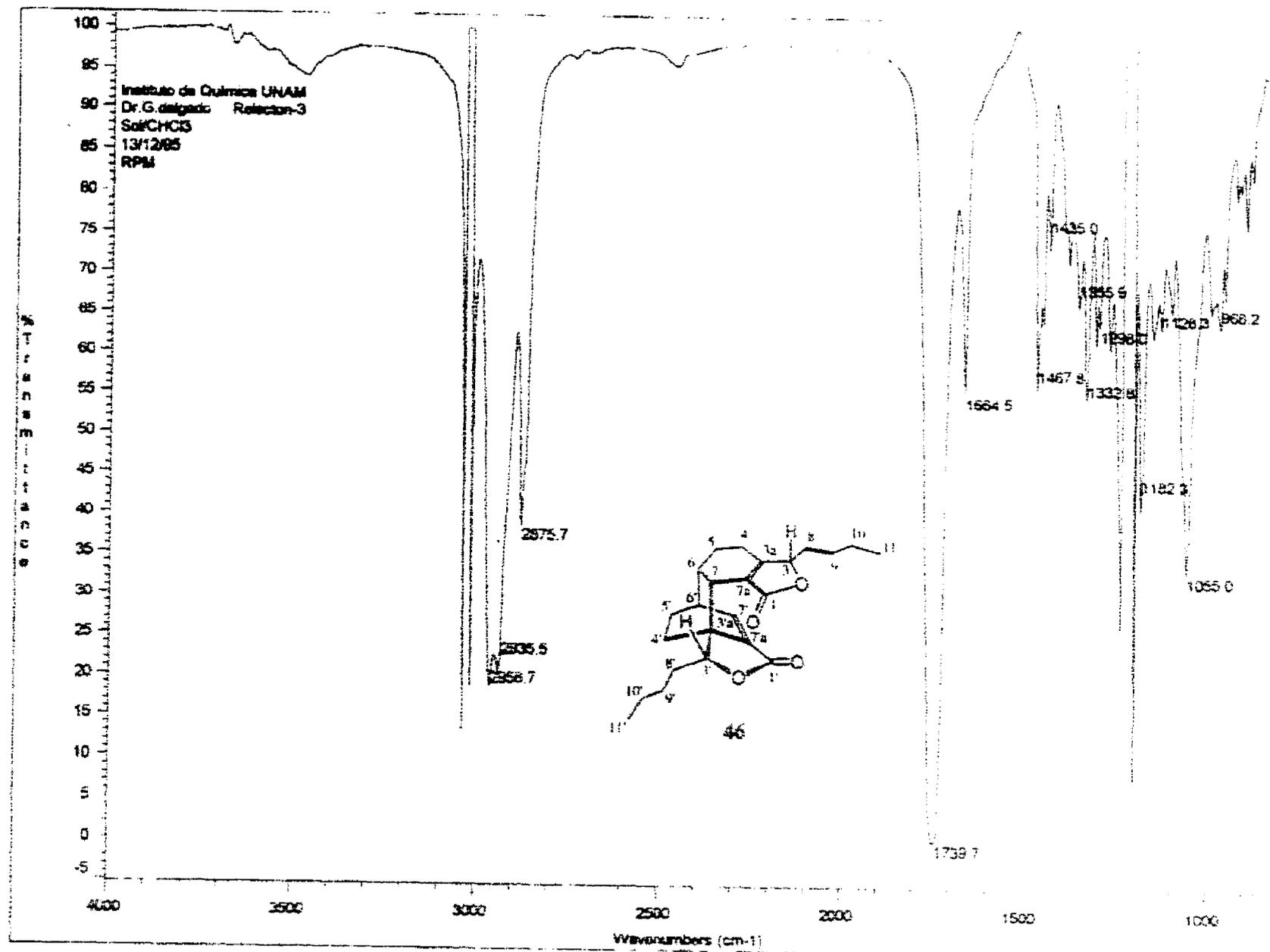
Espectro IR (CHCl₃) de 3'-(R)-3',8'-dihydrodilignustilide (4)



Espectro 26. RMN¹H de 3'(R)-3',8'-dihydrodiligustilido (4)

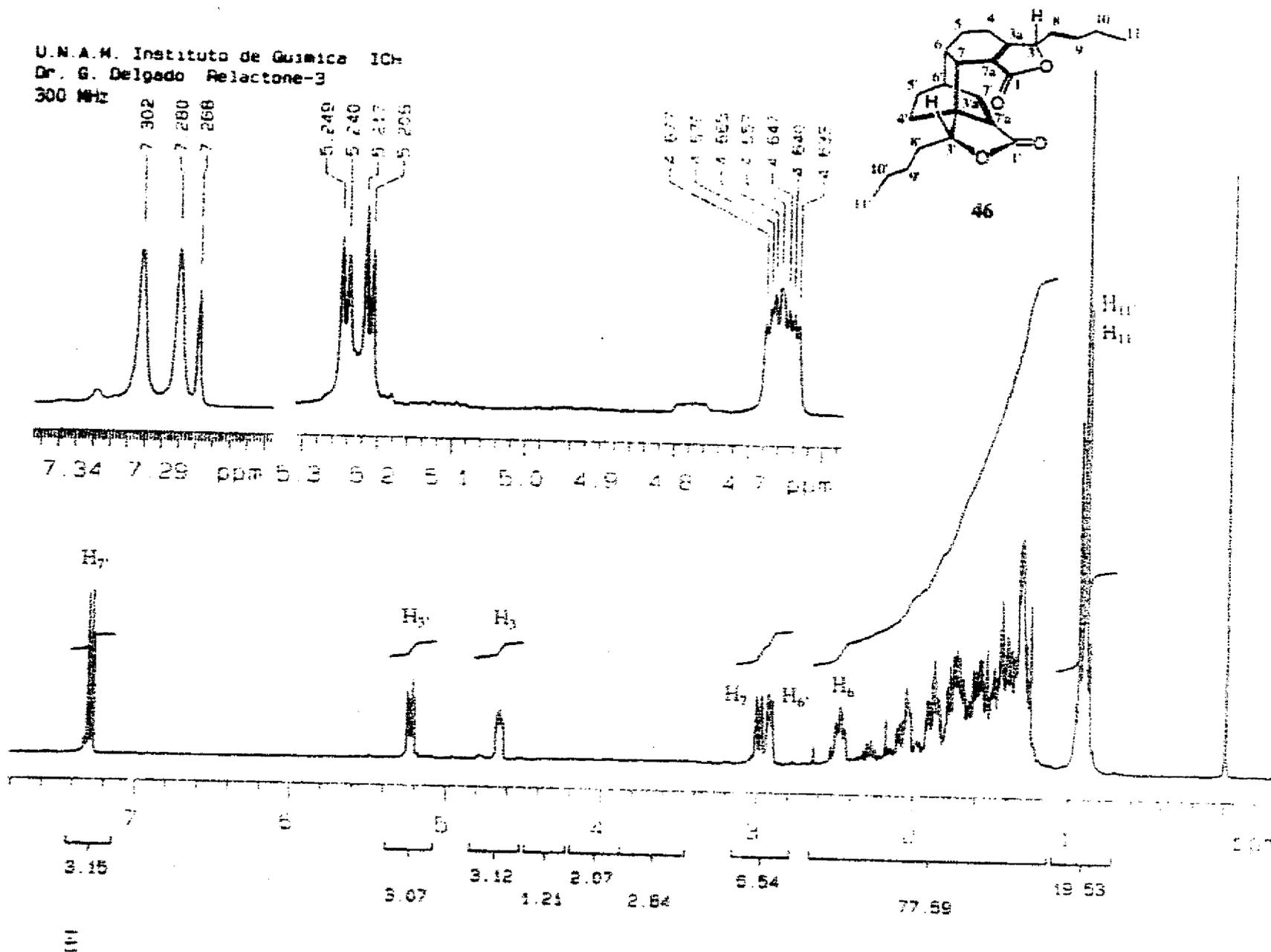


Espectro 27. RMN ^{13}C de 3-(R)-3',8'-dihydrodigustilido (4)

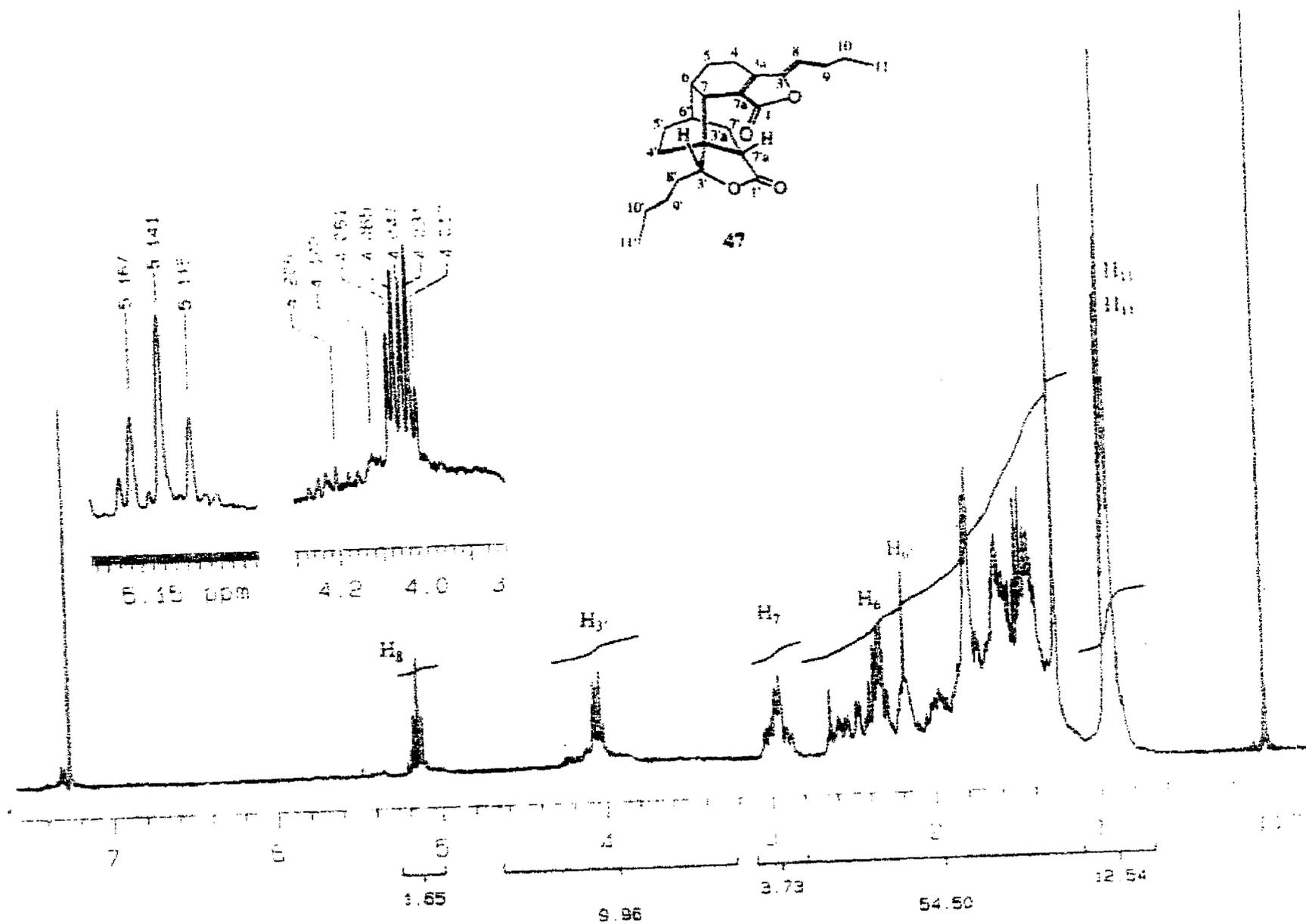


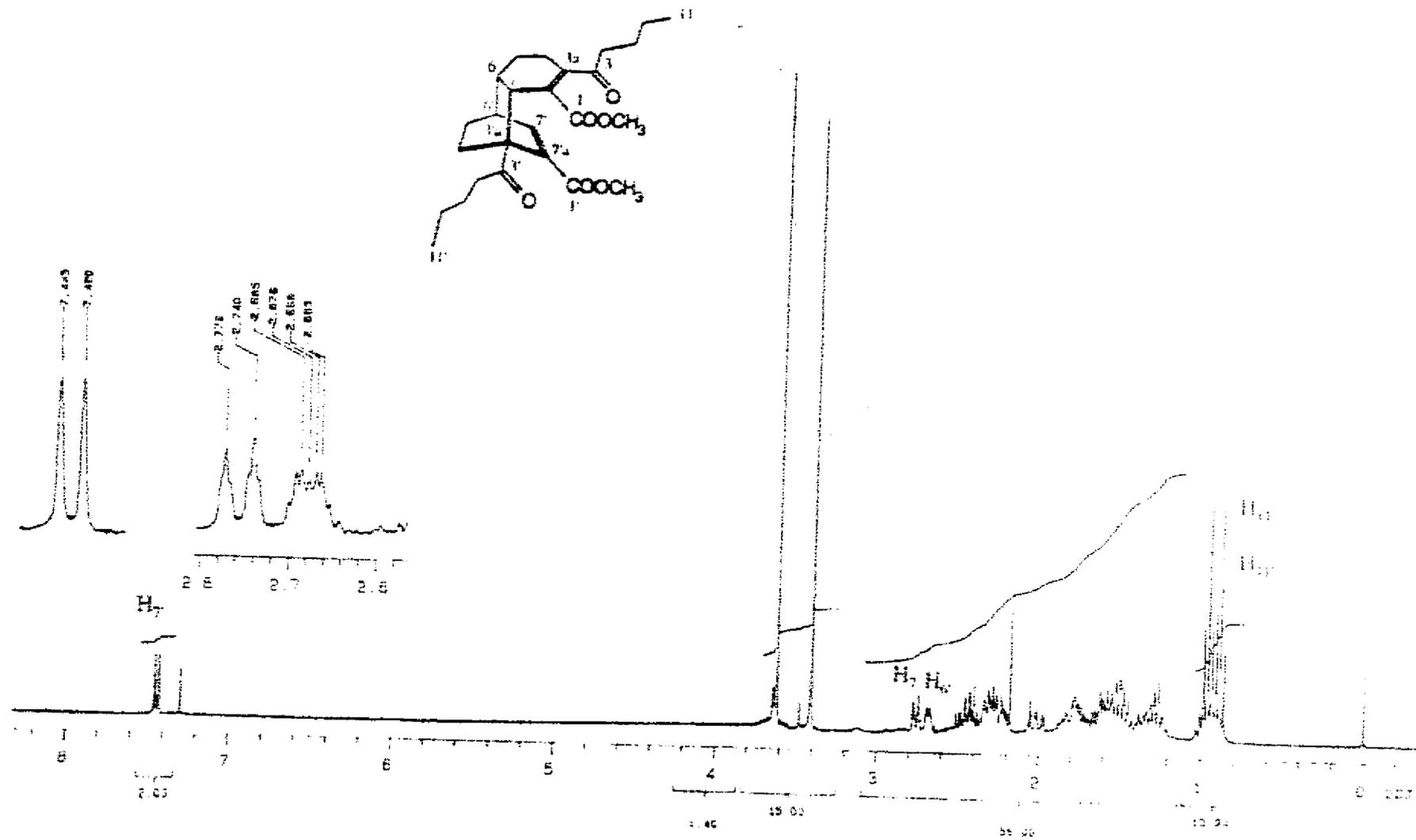
Espectro 28. IR de 46

U.N.A.M. Instituto de Quimica ICh
 Dr. G. Delgado Relactone-3
 300 MHz

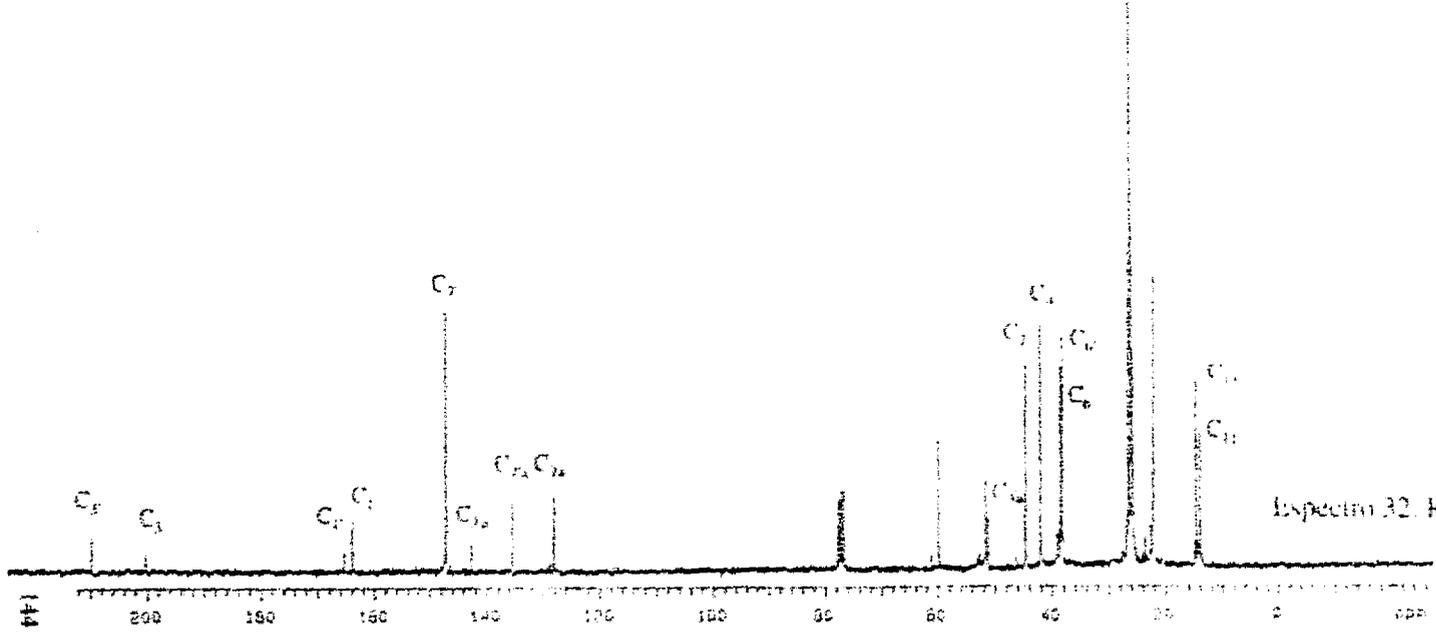
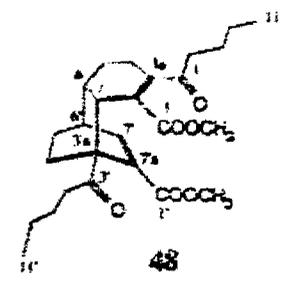
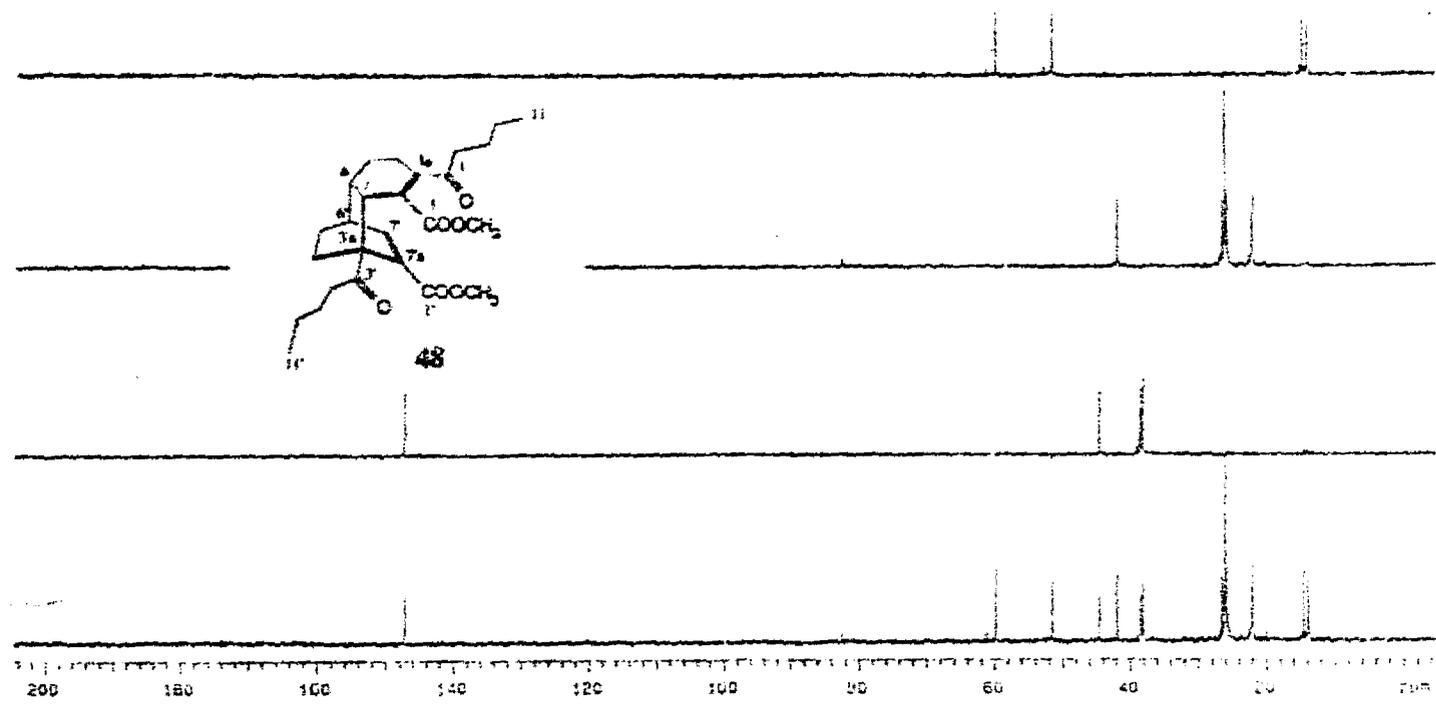


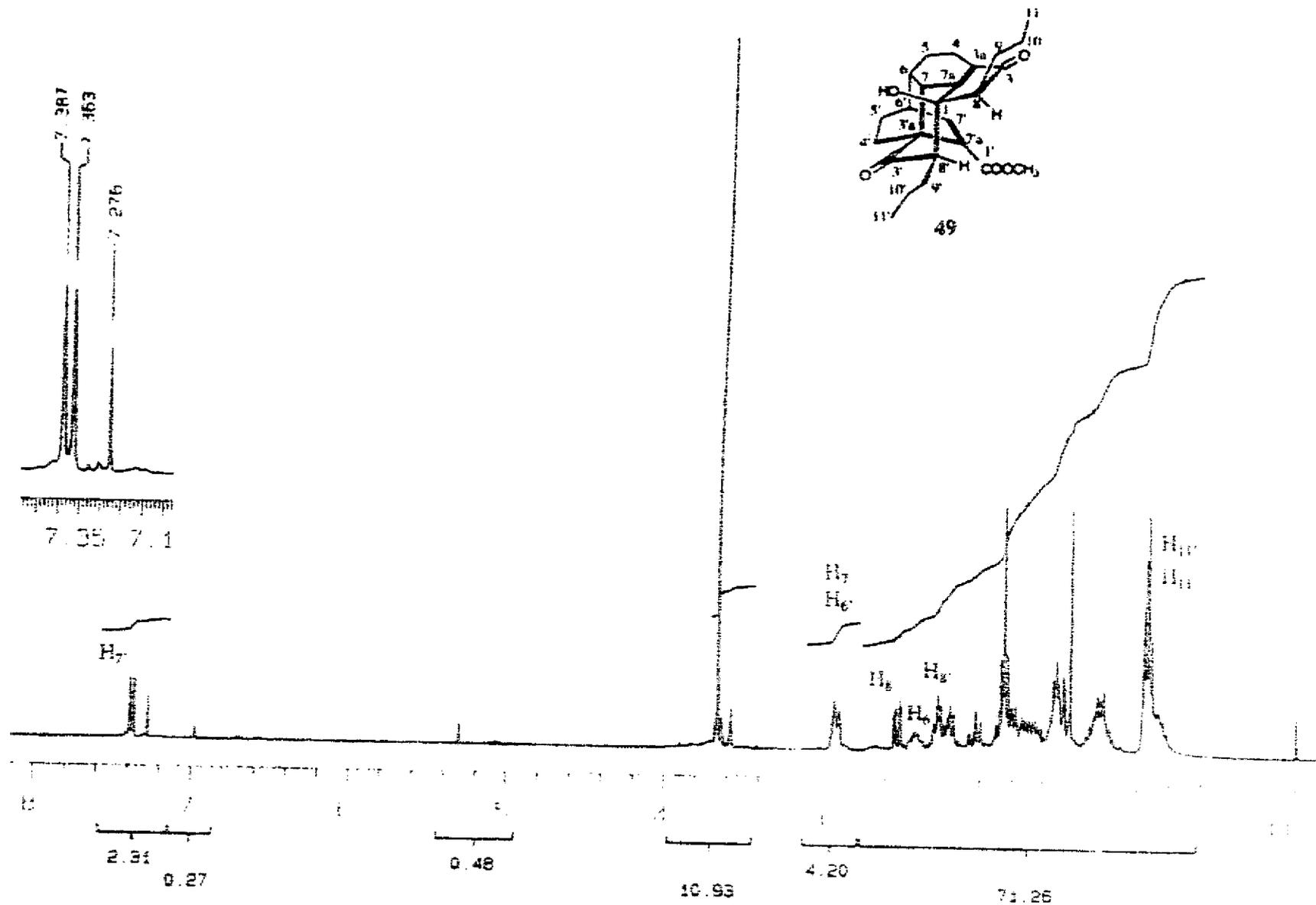
Espectro 29. RMN¹H de 46



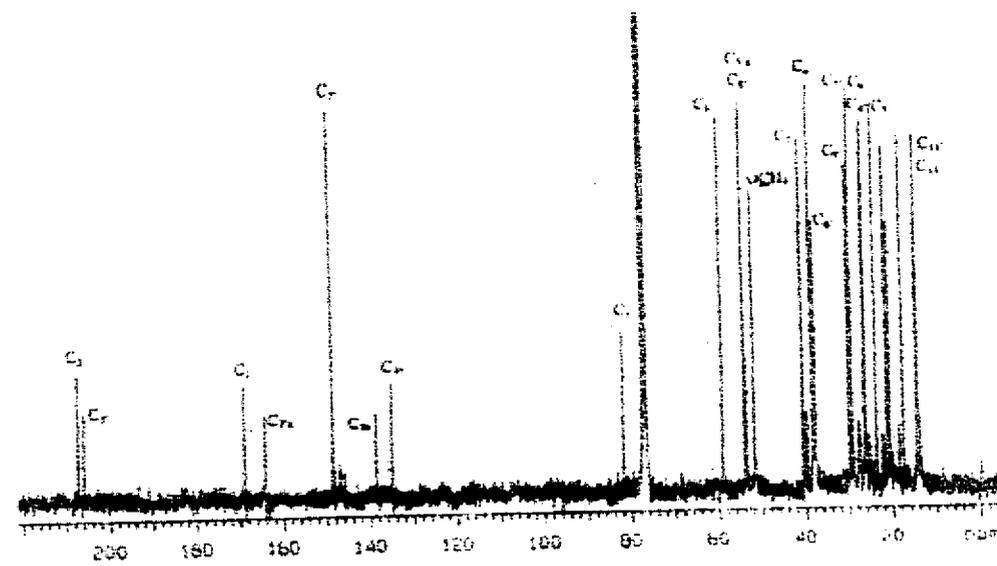
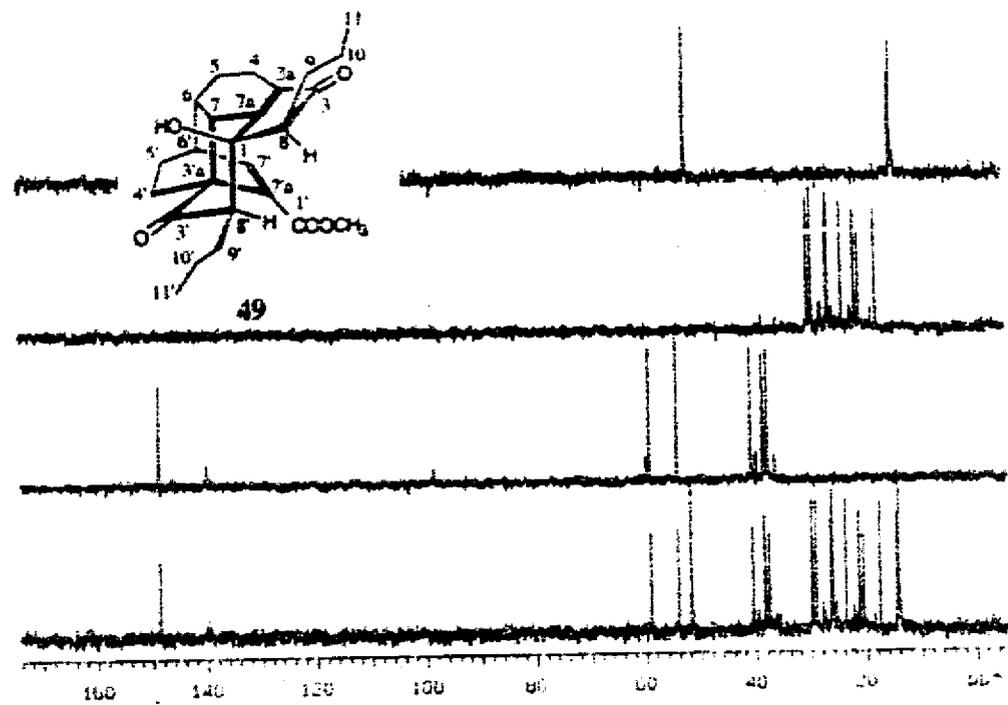


Espectro 31. RMN¹H del diéster 48

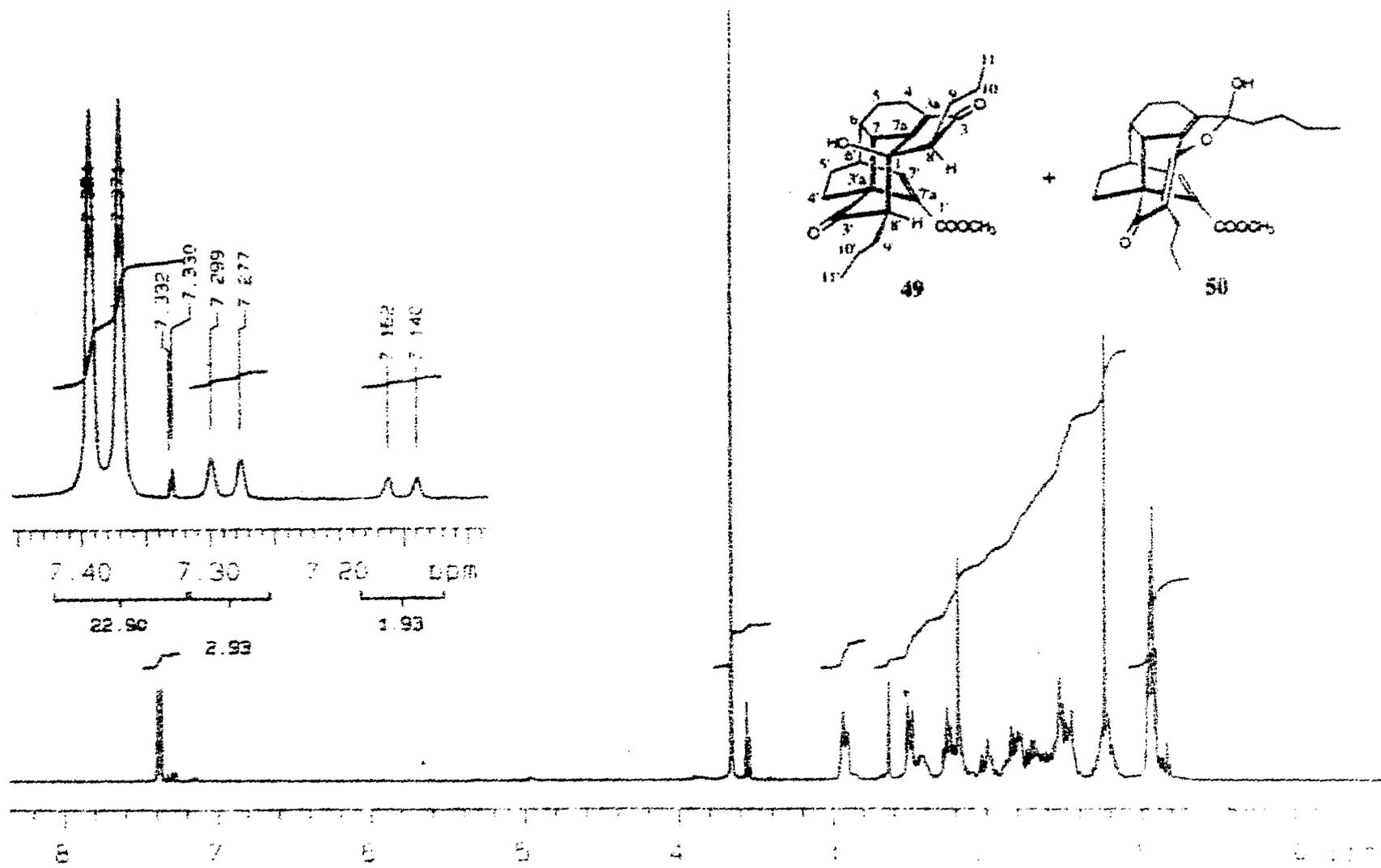




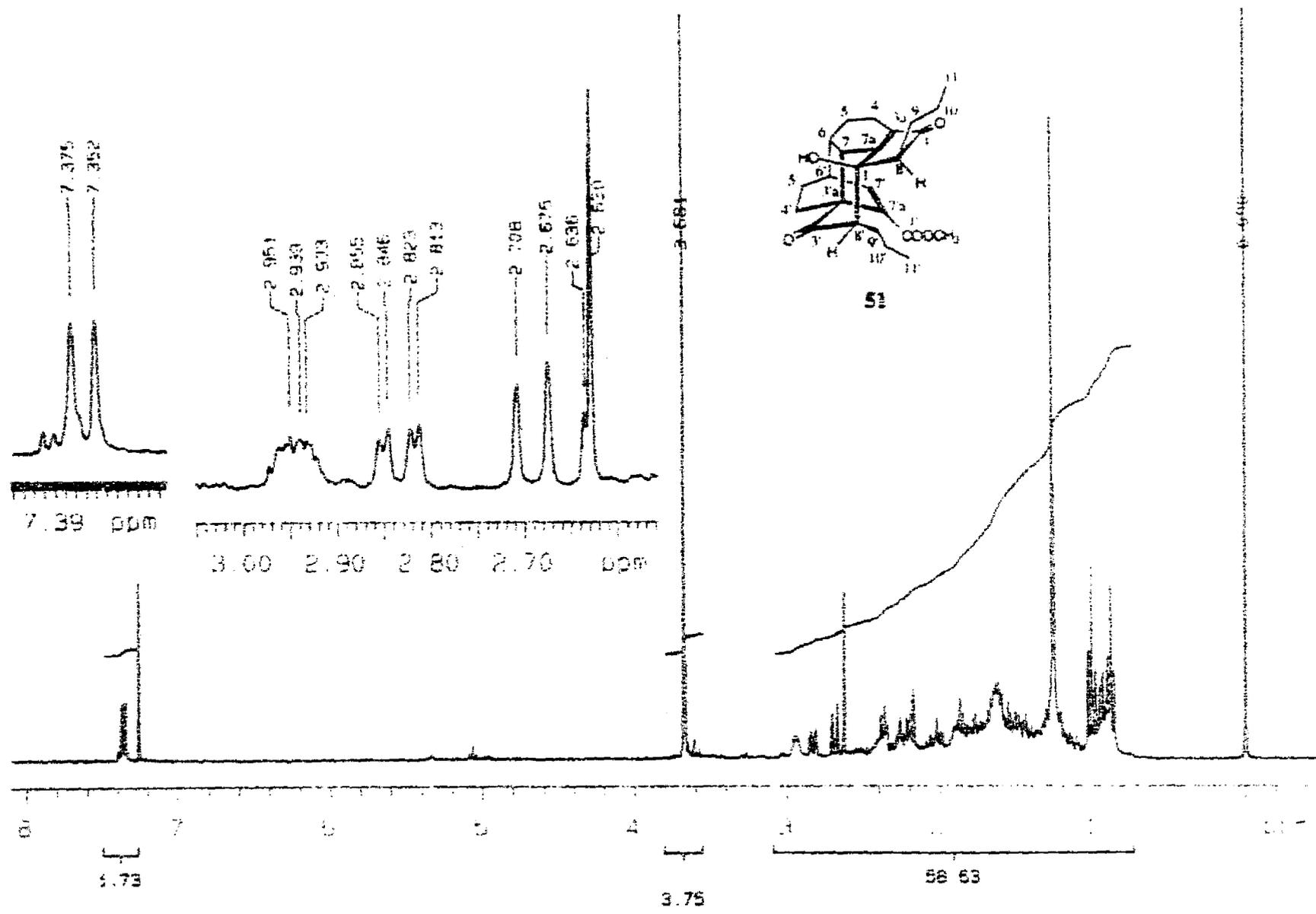
Espectro 33. RMN¹H de 49



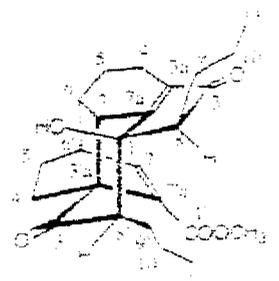
Espectro 34. RMN¹³C de 49



Espectro 35. RMN¹H de 49 + 50



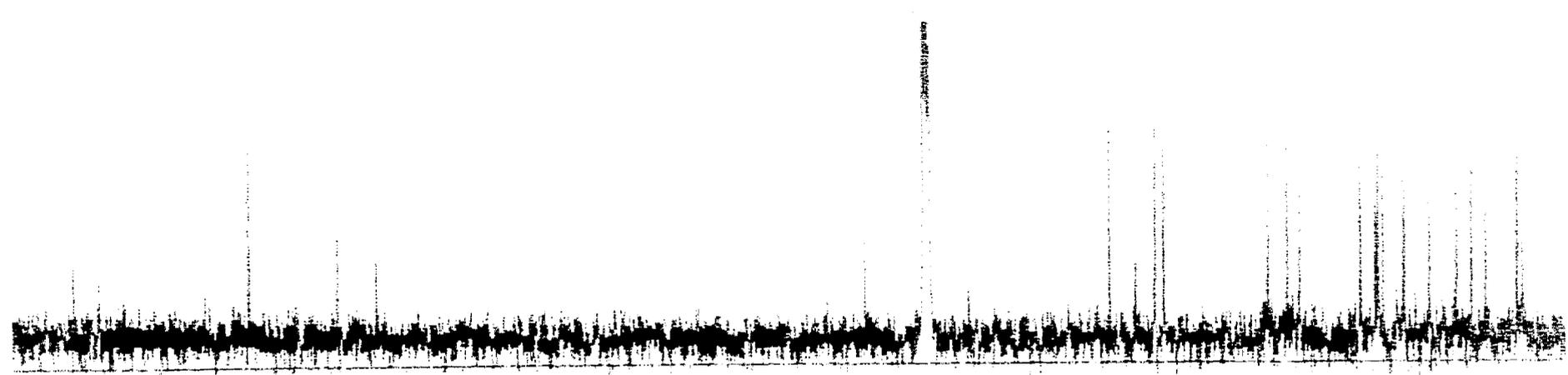
Espectro 36 RMN¹H de 51



51

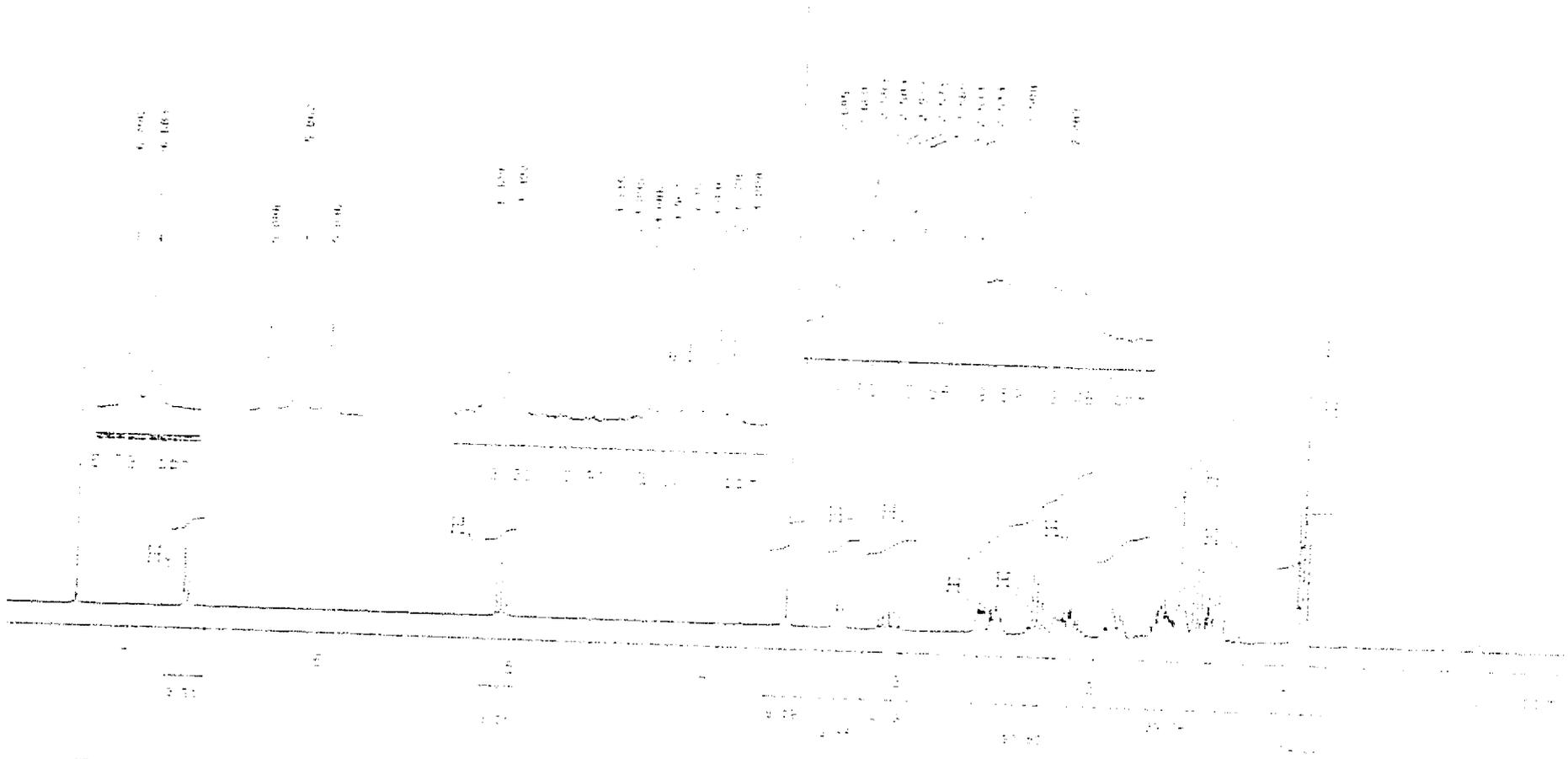
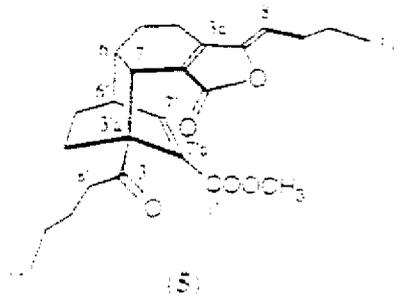


120 110 100 90 80 70 60 50 40 30 20 10 0



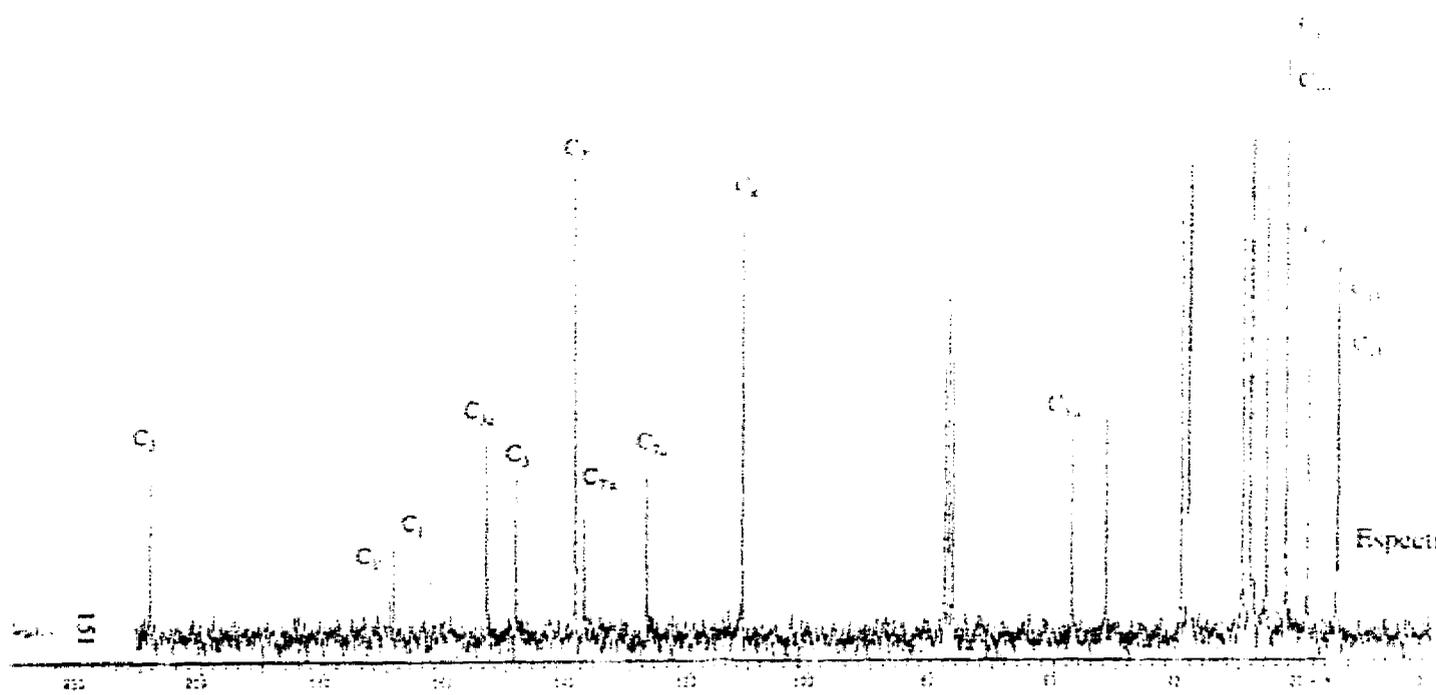
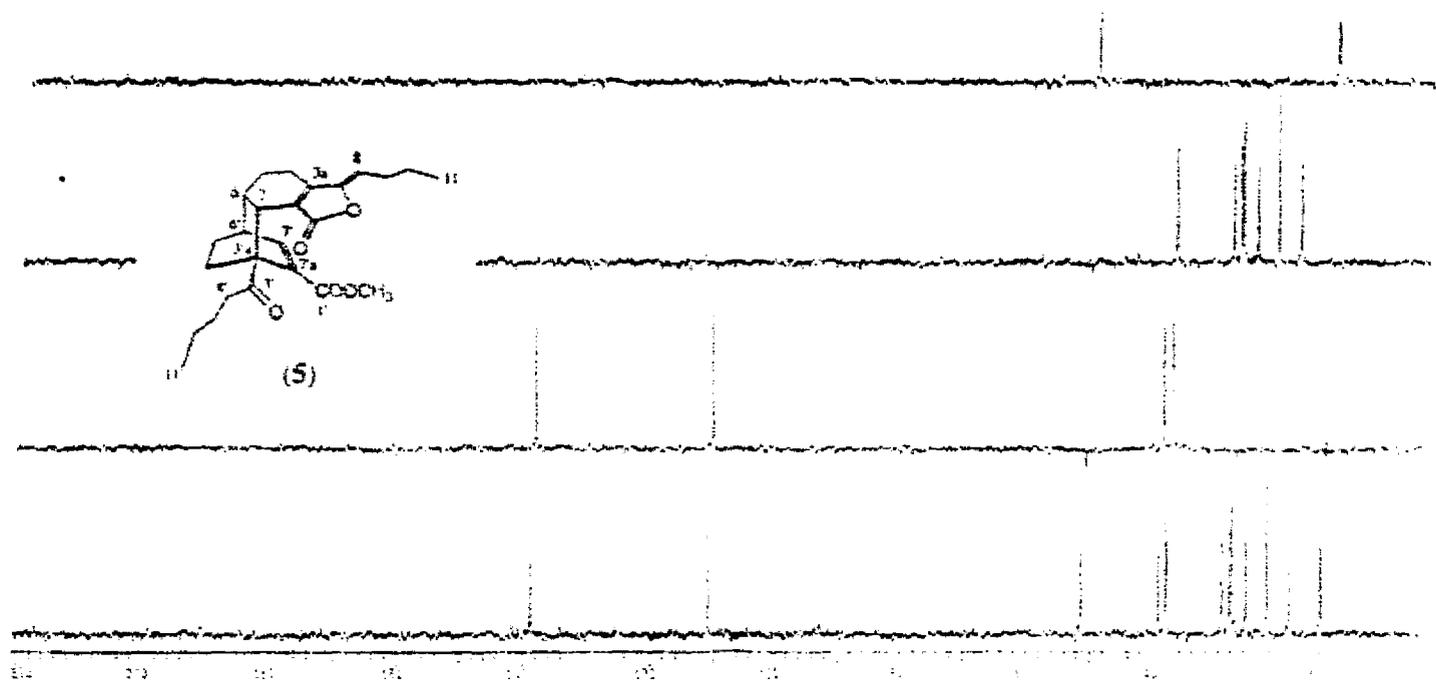
18

Espectro 37. RMN¹³C de 51

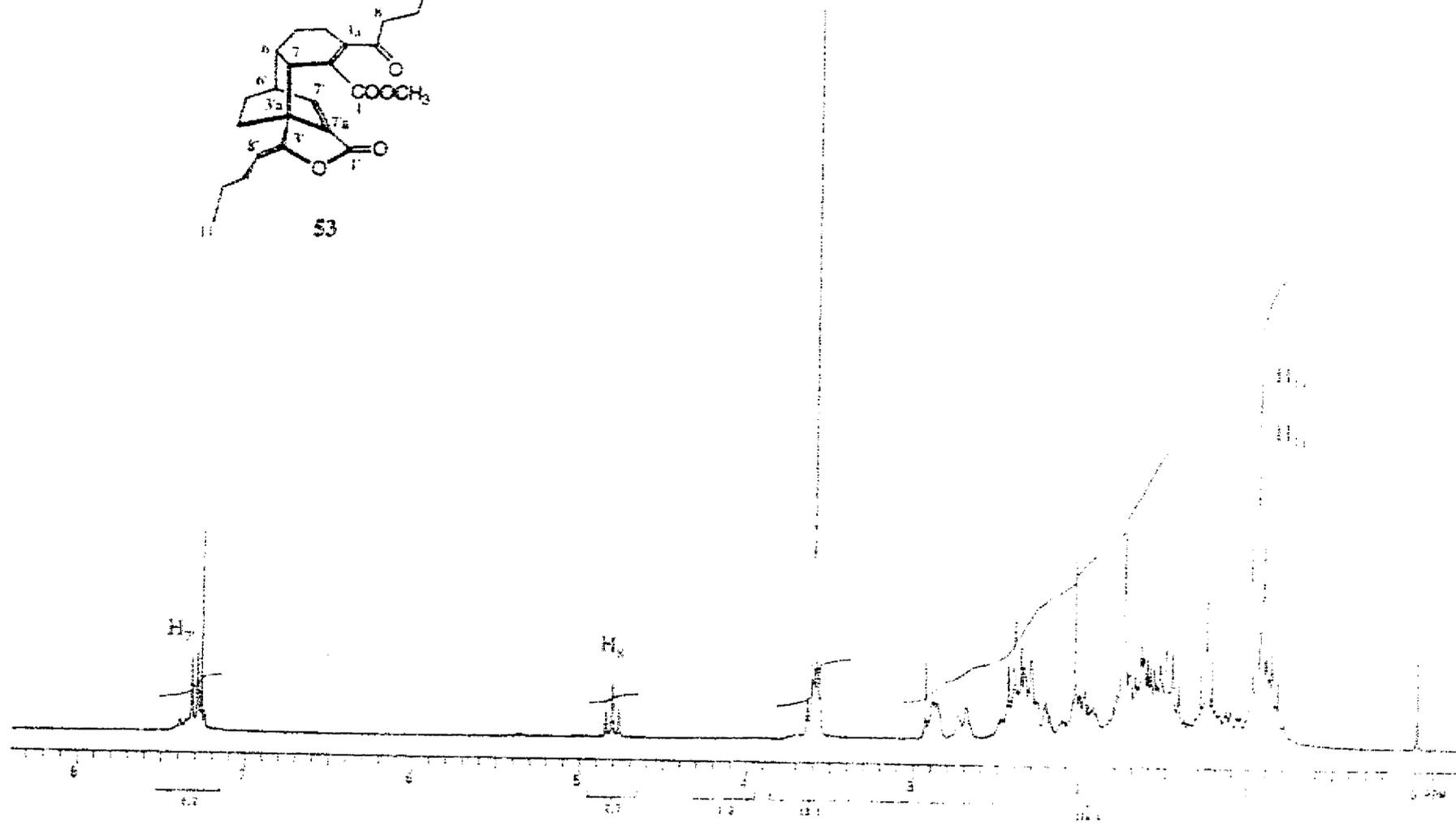
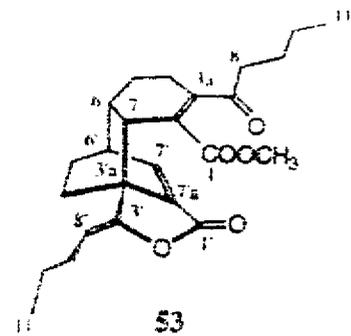


150

Espectro 38: RMN¹H de wallehinda (5).

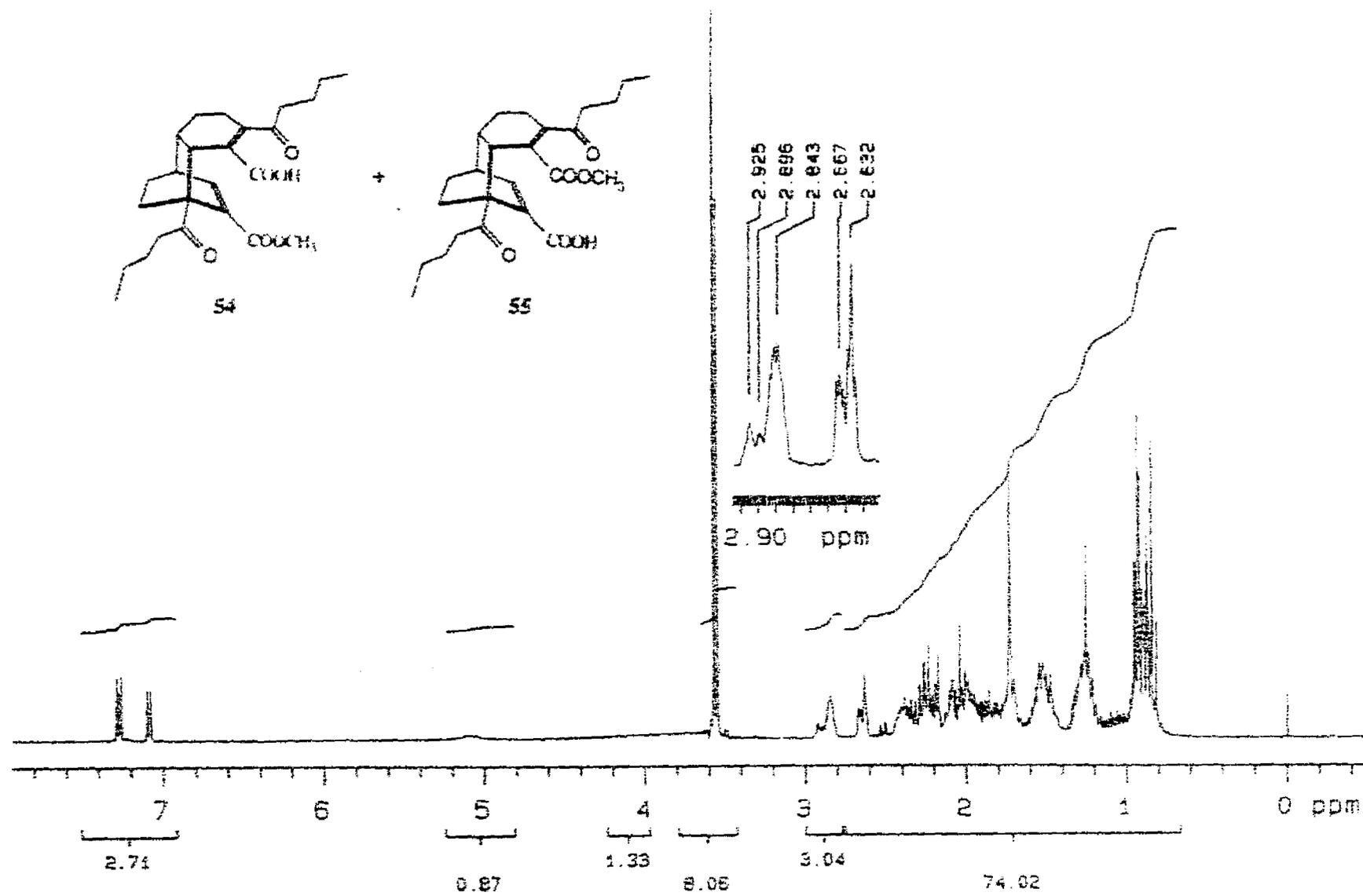


Espectro 39. RMN¹³C de wallichinidol (5)

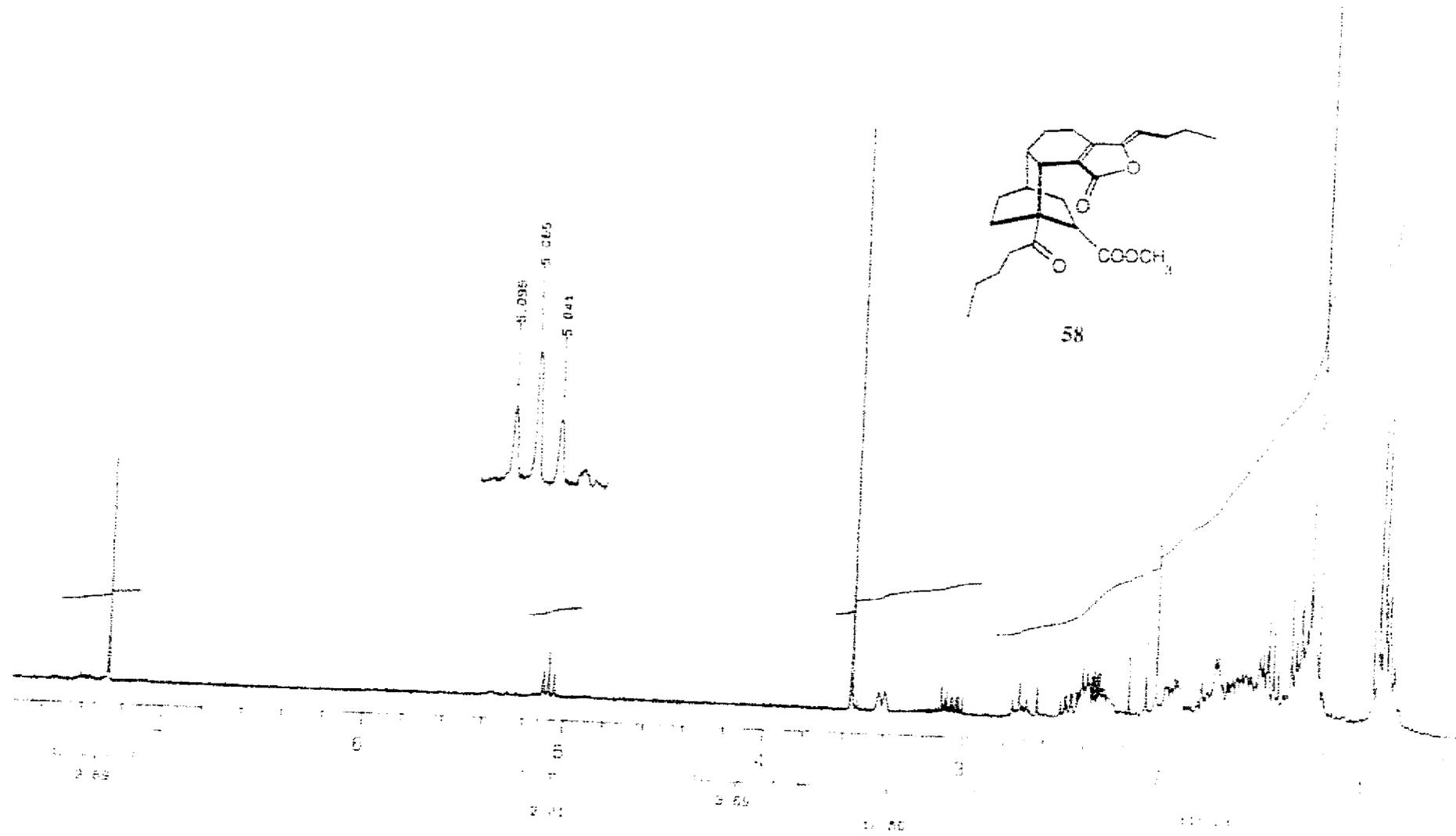


12

Espectro 40 RMN¹H de 53



Espectro 41. RMN¹H de la mezcla 54 + 55



Espectro 42. RMN¹H de 7,7'-dihidrowallichilido (58)

BIBLIOGRAPHY

1. Appelt, G. A.; Pharmacological Aspects of Selected Herbs Employed in Hispanic Folk Medicine in the San Luis Valley of Colorado, USA: I. *Ligusticum poteri* (Osha) and *Matricaria chamomilla* (Manzanilla). *J. Ethnopharmacol.* **13**, 51-55 (1985).
2. Bye, R. A.; Linares, E.; Ethnobotanical Notes from the Valley of San Luis, Colorado. *J. Ethnobiol.* **6**, 289-306 (1986).
3. Linares, E. and Bye, R. A.; A Study of four Medicinal Plants Complexes of Mexico and Adjacent United States. *J. Ethnopharmacol.* **19**, 153-198 (1987).
4. Bye, R. A.; Medicinal Plants of the Sierra Madre: Comparative Study of Tarahumara and Mexican Market Plants. *Economic Botany* **40**, 103-124 (1986).
5. Moore, M.; *Medicinal Plants of the Mountain West*: Museum of New Mexico Press: Santa Fe, pp. 119-121, 1979.
6. Harborne, J. B.; Gottlieb, O. R. and Magalhaes, M. T.; Occurrence of the Isoflavone Afromosin in Cabreuva Wood. *J. Org. Chem.* **28**, 881-882 (1963).
7. De Oliveira, A. B.; Iracema, M.; Madruga, L. M. and Gottlieb, O. R.; Isoflavonoids from *Myroxylon balsamum*. *Phytochemistry* **17**, 593-596 (1978).
8. Maranduba, A.; Oliveira, A. B. de; Oliveira, G. G. de; Reis, J. E. and Paul, G. O. R., Isoflavonoids from *Myroxylon peruiferum*. *Phytochemistry* **18**, 815-818 (1979).
9. Mitsuhashi, H.; Nagai, U.; Muramatsu, T. and Tashiro, H.; Studies on the Constituents of Umbelliferae Plants. II. Isolation of the Active Principles of *Ligusticum* Root. *Chem. & Pharm. Bull.* **8**, 243-245 (1960).
10. Mitsuhashi, H. and Nomura, M.; Studies on the Constituents of Umbelliferae Plants. XII. Biogenesis of 3-Butylphthalide. *Chem Pharm. Bull.* **14**, 777-778 (1966).
11. Gijbels, M. J. M.; Scheffer, J. J. C. and Svendsen B.; Phthalides in Umbelliferae. *Riv. Ital. E. P. P. O. S.* **61**, 335-341 (1979); *Chem. Abstr.* **92**:90817y.
12. Kaouadji M.; Puech-Baronnat, M. and Mariotte, A.-M.; (Z)-Ligustilidiol, Nouveau Phthalide Hydroxyle Isole de *Ligusticum wallichii* Franch. *Tetrahedron Lett.* **24**, 4675-4676 (1983).
13. Pushan, W.; Xuanliang, G.; Yixiong, W.; Fukuyama, Y.; Miura, Y. and Sugawara, M.; Phthalides from the Rhizome of *Ligusticum wallichii*. *Phytochemistry* **23**, 2033-2038 (1984).

14. Kaouadji, M.; De Pachtere, F.; Pouget, C.; Chulia, A. J. and Lavaitte, S.; Three Additional Derivatives, An Epoximonomer and Two Dimers, from *Ligusticum wallichii* Rhizomes. *J. Nat. Prod.* **49**, 872-877 (1986).
15. Delgado, G.; Reza-Garduño, R. G.; Toscano, R. A.; Bye, R. and Linares, E.; Secondary Metabolites from the Roots of *Ligusticum porteri* (Umbelliferae). X-Ray Structure of Z-6.6'-7.3'a-Diligustilide. *Heterocycles* **27**, 1305-1310 (1988).
16. Huang, Y. and Pu, F.; The Analysis of the Chemical Components of Essential Oils from Three *Ligusticum* Species. *Yaowu Fenxi Zazhi* **9**, 147-151 (1989); *Chem. Abstr.* **112:33325u**.
17. Naito, T.; Katsuhara, T.; Niitsu, K.; Ikeya, Y.; Okada, M. and Mitsuhashi, H.; Phthalide Dimers from *Ligusticum chuangxiong* Hort. *Heterocycles* **32**, 2433-2437 (1991).
18. Delgado, G.; Reza-Garduño, R. G.; Rios, M. Y. and Del Rio, F.; Phthalides and Monoterpenes of the Hexane Extract of the Roots of *Ligusticum porteri*. *Planta Med.* **58**, 570-571 (1992).
19. Naito, T.; Katsuhara, T.; Niitsu, K.; Ikeya, Y.; Okada, M. and Mitsuhashi, H.; Two Phthalides from *Ligusticum chuangxiong*. *Phytochemistry* **31**, 639-642 (1992).
20. Naito, T.; Niitsu, K.; Ikeya, Y.; Okada, M. and Mitsuhashi, H.; A Phthalide and 2-farnesyl-6-methyl benzoquinone from *Ligusticum chuangxiong*. *Phytochemistry* **31**, 1787-1789 (1992).
21. Li, Q.; Xiong, W.; Yi, Y. and Pan, J.; Chemical Components of Chaxiong (*Ligusticum sinense*). *Zhongcaoyao* **24**, 180-182 (1992); *Chem. Abstr.* **119:45263e**.
22. Mo, Ch.-W. and Shei, S.-J.; A Comparative study on Processed *Ligusticum* Rhizoma. *Chin. Pharm. J. (Taipei)* **46**, 155-164 (1994); *Chem. Abstr.* **121:286699y**.
23. Luo, Y.; Zhang, J.; Pan, J.; Yao, S.; Huang, H.; Zhu, Y.; Li, Q.; The Constituents of *Ligusticum Oliv. cv. Chaxiong*. *Zhongguo Yaoxue Zazhi* **29**, 714-716 (1994); *Chem. Abstr.* **122:209769q**.
24. Mitsuhashi, H. and Nagai, U.; Studies on the Constituents of Umbelliferae Plants-VII. Structure of Ligustilide. *Tetrahedron* **19**, 1277-1283 (1963).
25. Mitsuhashi, H. and Muramatsu, T.; Studies on the Constituents of Umbelliferae Plants. IX. Structure of Cnidilide and Neocnidilide. *Tetrahedron* **20**, 1971-1982 (1964).
26. Tatsuo, K. and Koiso, R.; *Angelica acutiloba* Kitagawa. En: Atlas of Medicinal Plants. Takeda Chemical Industries, Ltd., 1971, Osaka, Japan.

27. Gijbels, M. J. M.; Scheffer, J. J. C. and Svendsen A. B.; Analysis of Phthalides from Umbelliferae by Combined Liquid-Solid and Gas-Liquid Chromatography. *Chromatographia* **14**, 452-454 (1981).
28. Gijbels, M. J. M.; Scheffer, J. J. C. and Svendsen A. B.; Phthalides in the Essential Oil from Roots of *Levisticum officinale*. *Planta Med.* **44**, 207-211 (1982).
29. Banerjee, S. K.; Gupta, B. D.; Sheldrick, W. S. and Höfle, G.; Angeolide, a Novel Lactone from *Angelica glauca*. *Liebigs Ann. Chem.* 699-707 (1982).
30. Yiming, M.; Qiguang, W.; Huidi, Z.; Yaozu, Ch; Yuguo, F. and Fengshan, W.; Crystal and Molecular Structure of Riligustilide. *Lanzhou Daxue Xuebao, Ziran Kexueban* **19**, 76-83 (1983); *Chem. Abstr.* **100**:135781j.
31. Kaouadji, M.; Reutenauer, H.; Chulia, A. J. et Marsura, A.; (Z,Z) Diligustilide, Nouveau Dimere Isole de *Ligusticum wallichii* Franch. *Tetrahedron Lett.* **24**, 4677-4678 (1983).
32. Kaouadji, M.; Mariotte, A. and Reutenauer, H.; Phthalide Derivatives from *Meum athamanticum* Jacq. *Z. Naturforsch* **39C**, 872-876 (1984).
33. Cichy, M.; Wray, V. and Höfle, G.; Neue Inhaltsstoffe von *Levisticum officinale* Koch (Liebstöckel). *Liebigs Ann. Chem.*, 397-400 (1984).
34. Gijbels, M. J. M.; Fischer, F. C.; Scheffer, J. J. C. and Svendsen A. B.; Phthalides in Roots of *Apium graveolens*, *A. graveolens* var. *rapaceum*, *Bifora testiculata* and *Petroselinum crispum* var. *tuberosum*. *Fitoterapia* **56**, 17-23 (1985).
35. Kaouadji, M. and Pouget, C.; Additional Phthalides Derivatives from *Meum athamanticum*. *J. Nat. Prod.* **49**, 184-185 (1986).
36. Fischer, F. C. and Gijbels, M. J. M.; *cis*- and *trans*-Neocnidilide; ¹H- and ¹³C-NMR Data of Some Phthalides. *Planta Med.* **49**, 77-80 (1987).
37. Kobayashi, M.; Fujita, M. and Mitsuhashi, H.; Studies on the Constituents of Umbelliferae Plants. XV. Constituents of *Cnidium officinale*: Occurrence of Pregnenolone, Coniferylferulate and Hydroxyphthalides. *Chem. Pharm. Bull.* **35**, 1427-1433 (1987).
38. Tsuchida, T.; Kobayashi, M.; Kanenko, K. and Mitsuhashi, H. Studies on the Constituents of Umbelliferae Plants XVI. Isolation and Structures of Three New Ligustilide Derivatives from *Angelica acutiloba*. *Chem. Pharm. Bull.* **35**, 4460-4464 (1987).
39. MacLeod, G. and Ames, J. M.; Volatile Components of Celery and Celeriac. *Phytochemistry* **28**, 1817-1824 (1989).

40. Kim, H. S. and Chi, H. J.; Studies on Essentials Oils of Plants of *Angelica* Species in Korea (II). Essential Oils of the Root of *Angelica tenuissima*. *Saengyak Hakhoechi* **20**, 13-20 (1989); **Chem. Abstr.** **111:140298p**.
41. Noro, Y.; Hisata, Y.; Okuda, K.; Kawamura, T.; Ishikura, Y.; Sakai, E. and Tanaka, T.; *Shoyakugaku Zasshi* **43**, 83-86 (1989); **Chem. Abstr.** **111:120700**.
42. Segebrecht, S. and Schilder, H.; Ligustilide: Guiding Component for Preparations of *Levisticum roots*. *Planta Med.* **55**, 572-573 (1989).
43. Lee, S.; Yim, K.; Kim, M. J.; Yim, D. S.; Chu, H. J. and Kim H. S.; Phthalide Content of *Cnidium* Rhizome. *Saengyak Hakhoechi* **21**, 69-73 (1990); **Chem. Abstr.** **113:217923q**.
44. Hon, P.-M.; Lee, C.-M.; Tai, F. C.; Chui, K.-Y. and Wong, H. N. C.; A Ligustilide dimer from *Angelica sinensis*. *Phytochemistry* **29**, 1189-1191 (1990).
45. Takano, K.; Yasuda, Y.; Takahashi, N.; Hamano, T.; Soke, T. and Akiyama, K.; Analysis of Essential Oils in Various Species of *Angelica* Root by Capillary Gas Chromatography. *Kenkyu Nenpo - Tokyo - toritsu Eisen Kenkyusho* **41**, 62-69 (1990); **Chem. Abstr.** **114:171399p**.
46. Rao, G.; Yu, X. and Sun, H.; Chemical Constituents of "Lang-DU Dang-Chu" (*Angelica sp.*). *Yunnan Zhiwu Yanjiu* **13**, 85-95 (1991); **Chem. Abstr.** **115:78697v**.
47. Shimizu, M.; Matsuzawa, T.; Suzuki, S.; Yoshizaki, M. and Morita, N.; Evaluation of *Angelica Radix* (Touki) by the Inhibitory Effect on Platelet Aggregation. *Chem. Pharm. Bull.* **38**, 2046-2048 (1991).
48. Kanamori, H. and Sakamoto, Y.; Evaluation of *Angelicae Radix*. Y. Purification Method and Stability of ligustilide. *Hiroshima-ken Eisen Kenkyu Hokoku* **39**, 23-26 (1992); **Chem. Abstr.** **119:34294q**.
49. Gijbels, M. J. M.; Scheffer, J. J. C. and Svendsen, A. B.; Phthalides in the Essential Oil Roots of *Levisticum officinale*. *Planta Med.* **44**, 207-211 (1992).
50. Shin, S.-W. and Park, B.; The Production of Essential Oils by Tissue Culture of *Cnidium officinale*. *Yakuhak Hoechi* **38**, 179-183 (1994); **Chem. Abstr.** **122:235312e**.
51. Ozaki, Y.; Sekita, S. and Harada, M.; Centrally Acting Muscle Relaxant Effect of Phthalides (ligustilide, cnidilide and senkyunolide) Obtained from *Cnidium officinale* Makino. *Yakugaku Zasshi* **109**, 402-406 (1989); **Chem. Abstr.** **111:90319y**.

52. Kobayashi, M.; Kaneko, H.; Tsuchida, T. and Mihashi, H.; Isolation of Ligustilide Compounds as Central Nervous System Tranquilizers. *Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 01,254,671 [89,254,671]*; **Chem. Abstr. 112:223247t.**
53. Yorozu, H.; Effects of Butylphthalide *Odor. Fragrance J.* **19**, 321-334 (1991).
54. Nitz, S.; Spraul, M. H.; Drawert, F. and Spraul, M.; 3-Butyl-5,6-dihydro-4H-isobenzofuran-1-one Sensorial Active Phthalide in Parsley Roots. *J. Agric. Food Chem.* **40**, 3800-3800 (1992); **Chem. Abstr. 117:6574w.**
55. Ogawa, Y.; Chin, M.; Hosaka, K. and Kubota, K.; Phthalides as Prostaglandins $F_{2\alpha}$ Inhibitors and their Preparation. *Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 01,199,958 [89,199,958]*; **Chem. Abstr. 112:98368e.**
56. Kubota, K.; Ogawa, Y.; Hosaka, K. and Chin, M.; Preparation of 3-butylphthalide derivatives as Prostaglandin $F_{2\alpha}$ inhibitors. *Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 01,50,818 [89,50,818]*; **Chem. Abstr. 112:76923e.**
57. Ogawa, Y.; Chin, M.; Hosaka, K. and Kubota, K.; Preparation of Phthalide as Prostaglandins $F_{2\alpha}$ Inhibitors. *Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 04,77,480 [92,77,480]*; **Chem. Abstr. 117:69721n.**
58. Daunter, B.; Butylphthalide, Sedanolide, Sedenanolide, and Related Compounds as Therapeutic Agents for Treatment of Inflammation. *PCT Int. Appl. WO 95, 00, 157 (Cl. A61K35/78)*; **Chem. Abstr. 122:178384d.**
59. Kobayashi, S.; Mimura, Y.; Notoya, K.; Kimura, I. and Kimura, M.; Antiproliferative Effects of the Traditional Chinese Medicine Shimotsu-To, its Component *Cnidium* Rhizome and Derived Compounds on Primary Cultures of Mouse Aorta Smooth Muscle Cells. *Jpn. J. Pharmacol.* **60**, 397-401 (1992); **Chem. Abstr. 118:73298t.**
60. Kimura, M.; Kimura, Y.; Ogawa, Y.; Naito, T.; Hosaka, K. and Mihashi, H.; Preparation of Phthalide Derivatives as cell growth inhibitors. *Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 04,208,278 [92,208,278]*; **Chem. Abstr. 118:191531m.**
61. Kimura, M.; Harada, M.; Sekida, S. and Yuda, M.; Pharmaceuticals Containing Butylidenphthalide, Senkyunolide, or Ligustilide for Treatment of Arteriosclerosis. *Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 01,207,233 [89,207,233]*; **Chem. Abstr. 111:239574n.**
62. Ko, W.-Ch.; Chang, L.-D. and Wang, G.-Y.; Pharmacological Effects of Butylidenphthalide. *Phytother. Res.* **8**, 321-6 (1994); **Chem. Abstr. 121:292324p.**
63. Grech, J. N.; Li, Q.; Roufogalis, B. D. and Duke, C. C.; Novel Ca^{2+} -ATPase Inhibitors from the Dried Root Tubers of *Polygonum multiflorum*. *J. Nat. Prod.* **57**, 1682-1687 (1994).

64. Kubota, K.; Ogawa, Y.; Hosaka, K. and Chin, M.; Preparation of Phthalide Derivatives and Pharmaceutical Compositions for lowering viscosity of blood to increase blood. *Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 01,50,817* [89,50,817]; *Chem. Abstr.* 112:55576d.

65. Murahashi, M.; Harada, K.; Hirogami, K.; Novel Phthalide Derivative as NGF enhancer from *Apium graveolens*. *Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 04,334,378* [92, 334,378]; *Chem. Abstr.* 118:240924c.

66. Nakai, K.; Preparation of Phthalides as Mouth Preparations Containing Them for Prophylaxis of Periodontal diseases. *Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 04, 69,325* [92, 69,325]; *Chem. Abstr.* 118:240924c.

67. Kayima, T.; Ando, M.; Nishizawa, Y. and Hattori, M.; Preparation of 3-sustituted Phthalides and Hair Growth Preparations Containig Them. *Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 03,135,907* [91, 135,907]; *Chem. Abstr.* 115:286936z.

68. Namba, T.; Sekiya, K.; Kadota, S.; Hattori, M.; ooooo, K. and Koizumi, T.; Studies on the Baths with Crude Drug: the Effects of *Senkyu* Extracts as Skin Penetration Enhancer. *Yakugaku Zasshi* 112, 638-644 (1992); *Chem. Abstr.* 118:87496i.

69. Naito, T.; Iketani, Y.; Yanagisawa, T. ans Mihashi, H.; Isolation of Farnesylbenzoquinone and Biligustilide Derivatives from Japanese-Sino Medicine *Senkyu* as Inhibitors for peroxidation of Lipids. *Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 05, 51,346* [93, 51,346]; *Chem. Abstr.* 119:103313j.

70. a) Uemura, M.; Tokuyama, S. and Sakan, T.; Selective Nuclear Lithiation of Aromatic Compounds: Facile Synthesis of Methoxyphthalide Derivatives by Carboxylation of the Lithio-Compounds. *Chem. Lett.* 1195-1198 (1975). b) Beak, P. and Brown, R. A.; Ortho Metalations. Advange of the Amide Functions. *J. Org. Chem.* 44, 4463-4464 (1979). c) Hung, T. V.; Mooney, B. A.; Prager, R. H. and Tippett, J. M.; *Aust. J. Chem.* 34, 385 (1981). d) Beak, P. and Brown, R. A.; The Tertiary Amide as an Effective Director of Ortho Lithiation. *J. Org. Chem.* 47, 34-46 (1982). e). Beak, P.;Tse, A.; Hawkins, J.; Chen, C. and Mills, S.; A Comparison of Secondary and Tertiary Amides as Directors of Ortho and Adjacent benzylic Lithiation and of Asymmetric Induction in Ortho Lithiated Benzamides. *Tetrahedron* 39, 1983 (1983). f). Sibi, M. P.; Jalil Miah, M. A.; and Snieckus, V.; Ortho-Lithiated Benzamides. Magnesium Transmetalation and Synthesis of Phthalides and Isocoumarins Including Mellein and Kigelin. *J. Org. Chem.* 49, 737-742 (1984). g). Boulet, C. A. and Poulton, G. A.; Benz-fused Lactones I. Synthesis of 3-Methyl-1(3H)-isobenzofuranones [Phthalides]. *Heterocycles* 28, 405-410 (1989).

71. a) Snieckus, V.; Heterocycles via Ortho-Lithiated Benzamides. *Heterocycles* 14, 1649-1676 (1980). b) Beak, P. and Snieckus, V.; Directed Lithiation of Aromatic Tertiary Amides. An Evolving Synthetic Methodology for Polysubstituted Aromatics. *Acc. Chem. Res.* 15, 306-312 (1982).

72. Ogawa, Y.; Hosaka, K.; Chin, M. (C. Zhengxiong) and Mitsuhashi, H.; Synthesis of (Z)-3-butylidene-4-hydroxyphthalide. *Synth. Commun.* **22**, 315-321 (1992).

73. Ogawa, Y.; Hosaka, K.; Chin, M. (C. Zhengxiong) and Mitsuhashi, H.; Synthesis of (Z)-3-butylidene-6,7-hydroxyphthalide. *Heterocycles* **32**, 1737-1744 (1991).

74. a) Sinhababu, A. K. and Borchardt R. T.; General Method for the Synthesis of Phthalaldehydic Acids and Phthalides from *o*-Bromobenzaldehydes via Ortho-Lithiated Aminoalkoxides. *J. Org. Chem.* **48**, 2356-2360 (1983). b) Mills, R. J. and Snieckus V.; Silicon in Benzamide Directed Ortho Metalation Reactions. Carbo- and Bromo-desilylations and Synthesis of Naturally-occurring Anthraquinones. *Tetrahedron Lett.* **25**, 483-486 (1984). c) Mali, R. S. and Patil, S. R.; Synthesis of 3-butylidene-7-hydroxyphthalide. *Synth. Commun.* **20**, 167-173 (1990). d) Kobayashi, K.; Shimuzi, H.; Itoh, M. and Sugimoto, H.; An Efficient Synthesis of 5,7- Dihydroxy-4-methylisobenzofuran-1(3*H*)-one, a Metabolite of *Aspergillus flavus* and a Key Intermediate in the Synthesis of Mycophenolic Acid. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **63**, 2435-2437 (1990). e) Box, V. G. S. and Yiannikouros, G. P.; The Selective Benzylic Bromination of *o*-Xylenes. A Useful Synthesis of Phthalides. *Heterocycles* **31**, 1261-1270 (1990). f) Ogawa, Y.; Hosaka, K.; Chin, M. and Mitsuhashi, H.; Synthesis of (Z)-3-butylidene-4-hydroxyphthalide. *Synth. Commun.* **22**, 315-321 (1992). g) Crisp, G. T. and Meyer, A. G.; Palladium Catalyzed Carbonylative Intramolecular Coupling of Hydroxy Vinyl Triflates. Synthesis of Substituted α,β -Butenolides. *J. Org. Chem.* **57**, 6972-6975 (1992). h) Ciattini, P. G.; Mastropietro, G.; Morera, E. and Ortar, G.; A New Synthesis of 3-Ylidenephthalides via Palladium Catalyzed Cyclocarbonylation of 2-Triflyloxyacetophenones. *Tetrahedron Lett.* **34**, 3763-3766 (1993). i) Watanabe, M.; Ijichi, S.; Morimoto, H.; Nogami, K. and Furukawa, S.; Wittig-Horner Reaction of Dimethyl Phthalide-3-phosphonates with Aldehydes: Synthesis of 3-Ylidenephthalides and Characterization of their *E*- and *Z*-Isomers. *Heterocycles* **36**, 553-563 (1993). j) Ogawa, Y.; Marumo, M. and Wakamatsu, T.; Efficient Synthesis of Hydroxyphthalides. *Heterocycles* **39**, 47-50 (1994) k) Li, S.; Yan, F.; Wang, Z. and Li, Y.; A New and Convenient Synthesis of (Z)-3-(2-hydroxybutylidene) phthalide. *Indian J. Chem.* 1178-1179 (1994).

75. a) Alexakis, A.; Sedrani, R.; Narmant, J. F. and Mangeney, P.; Chiral Amino Templates 3. Diastereoselectivity of Organometallic Attack on Aldehydes Bearing a Chiral Imidazolidine Group. *Tetrahedron: Asymmetry* **1**, 283-286 (1990). b) Commercon, M.; Mangeney, P.; Tejero, T. and Alexakis, A.; Chiral Amino Templates 4. Chiral Aryl Metallic Reagents: Reactions with Aldehydes. *Tetrahedron Asymmetry* **1**, 287-290 (1990). c) Takahashi, H.; Tsubuki, T. and Higashiyama, K.; Highly Diastereoselective Reaction of Chiral *o*-[2-(1,3-Oxazolidinyl)]-benzaldehydes with Alkylmetallic Reagents: Synthesis of Chiral 3-Substituted Phthalides. *Chem. Pharm. Bull.* **39**, 3136-3139 (1991). d) Watanabe, M.; Hashimoto, N.; Araki, S. and Butsugan, Y.; A Facile Synthesis of Optically Active 3-Ethyl- and 3-*n*-Butylphthalides via Catalytic Enantioselective Addition of Dialkylzinc Reagents to *o*-Phthalaldehyde. *J. Org. Chem.* **57**, 742-744 (1992). e) Mali, R. S. and Japtap, P. G.; Stereospecific Synthesis of (Z)-3-alkylidenephthalides. *J. Chem. Res., Synop.*, 184-185 (1993).

76. McClure, C. K. and Jung, K.-Y.; Pentacovalent Oxaphosphorane Chemistry in Organic Synthesis. 2. Total Synthesis of (+)-*trans* and (+)-*cis*-Neocnidilides. *J. Org. Chem.* **56**, 2326-2332 (1991).
77. Li, S.; Wang, Z.; Fang, X. and Li, Y.; Total Synthesis of 6,7-dihydroligustilide. *Synth. Commun.* **23**, 2909 (1993).
78. Kobayashi, M.; Fujita, M. and Mitsuhashi, H.; Components of *Cnidium officinale* Makino: Occurrence of Pregnenolone, Coniferyl Ferulate, and Hydroxyphthalides. *Chem. Pharm. Bull.* **32**, 3770-3773 (1984).
79. Kobayashi, M. and Mitsuhashi, H.; Studies on the Constituents of Umbelliferae Plants. XVII. Structures of Three New Ligustilide Derivatives from *Ligusticum wallichii*. *Chem. Pharm. Bull.* **35**, 4789-4792 (1987).
80. Beck, J. J. and Sternitz, 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.* **58**, 1047-1055 (1996).
81. Höfle, G.; Comunicación personal.
82. Pearson, A. J.; Metallo-organic Chemistry, Chapter 7. John Wiley & Sons, New York, USA, 1985.
83. Graham, Ch. R.; Scholes, G. and Brookhart, M.; Selective Trapping of Dienes by Benzylideneacetoneiron Tricarbonyl. Synthetic and Mechanistic Studies of the Reactions of 1,3,5-Cyclooctatriene and its Derivatives with Benzylideneacetoneiron Tricarbonyl. *J. Am. Chem. Soc.* **99**, 1180-1188 (1977).
84. Alcock, N. W.; Richards, Ch. J. and Thomas, S. E.; Preparation of Tricarbonyl(*n*4-Vinylketene)iron(0) Complexes from Tricarbonyl(*n*4-vinyl ketone)iron(0) Complexes and Their Subsequent Conversion to Tricarbonyl(*n*4-vinylketenimine)iron(0) Complexes. *Organometallics* **10**, 231-238 (1991).
85. Carruthers, W.; Some Modern Methods of Organic Synthesis. Third Ed. Chap. 3. The Diels-Alder and Related Reactions. Cambridge University Press. Cambridge, 1986.
86. Marchand, A. P. and Lehr, R. E.; Periclic Reactions Vol. 1. Organic Chemistry. A Series of Monographs Vol 35-Y. A. T. Blomquist and Harry H. Wasserman Eds., Academic Press, New York, USA, 1977.
87. Houk, K. N. and Strozier, R. W.; On Lewis Acid Catalysis of Diels-Alder Reactions. *J. Am. Chem. Soc.* **95**, 4094-4096 (1973).

88. Alston, P. V. and Ottenbrite, R. M.; Secondary Orbital Interactions Determining Regioselectivity in the Lewis Acid Catalyzed Diels-Alder Reaction. II. *J. Org. Chem.* **40**, 1111-1116 (1975).
89. Trong Anh, N. et Seyden-Penne, J.; Une Etude Perturbationnelle du Role des Catalyseurs Dans les Reactions de Diels-Alder. *Tetrahedron* **29**, 3259-3265 (1973).
90. Devine, P. N. and Oh T.; Lewis Acid Catalyzed Diels-Alder Reactions of 3-Methyl-1-(triisopropylsilyloxy)-1,3-cyclohexadiene: Factors Influencing the Stereoselectivity. *J. Org. Chem.* **56**, 1955-1958 (1991).
91. Birney D. M. and Houk, K. N.; Transition Structures of the Lewis Acid Catalyzed Diels-Alder Reaction of Butadiene with Acrolein. The Origins of Selectivity. *J. Am. Chem. Soc.* **112**, 4127-4133 (1990).
92. Yates, P. and Eaton, P.; Acceleration of the Diels-Alder Reaction by Aluminium Chloride. *J. Am. Chem. Soc.* **82**, 4436-4437 (1960).
93. Hashimoto, Y.; Saigo, K.; Machida, S. and Hasegawa, M.; The Diels-Alder Reaction of a 2,2-Dimethoxyethyl Ester Via a Cationic Intermediate. *Tetrahedron Lett.* **31**, 5625-5628 (1990).
94. Alonso, I.; Cid, M. B.; Carretero, J. C.; Garcia-Ruano, J. L. and Hoyos, M. A.; Synthesis and Diels-Alder Reactions of Homochiral 2-Sulfinylmaleates with Cyclopentadiene. *Tetrahedron Asym.* **2**, 1193-1207 (1991).
95. Haaksma, A. A.; Jansen, B. J. M. and de Groot, A.; Lewis Acid Catalyzed Diels-Alder Reactions of S-(+)-Carvone with Silyloxy Dienes. Total Synthesis of (+)- α -Cyperone. *Tetrahedron* **48**, 3121-3130 (1992).
96. Grieco, P. A.; Nunes, J. J. and Gaul, M. D. J.; Dramatic Rate Acceleration of Diels-Alder Reactions in 5M Lithium Perchlorate-Diethyl Ether. The Cantharidin Problem Reexamination. *J. Am. Chem. Soc.* **112**, 4595-4596 (1990).
97. Grieco, P. A.; Handy, S. T. and Beck, J. P.; Acid Catalyzed Intramolecular Diels-Alder Reactions in Lithium Perchlorate-Diethyl Ether: Enhanced Reaction Rates and Diastereoselectivity. *Tetrahedron Lett.* **35**, 2663-2666 (1994).
98. Forman, M. A. and Dailey, W. P.; The Lithium Perchlorate-Diethyl Ether Rate Acceleration of the Diels-Alder Reaction: Lewis Acid Catalysis by Lithium ion. *J. Am. Chem. Soc.* **113**, 2761-2762 (1991).
99. Pretsch, E.; Clerk, T.; Seibz, J. and Simon, W.; Tablas para la Elucidación Estructural de Compuestos Orgánicos por Métodos Espectroscópicos. Alhambra, Madrid, España, 1980.

100. Smith, D. A. and Houk, K. N.; LiBF_4 : A Mild Lewis Acid for Intramolecular Diels-Alder Reactions. *Tetrahedron Lett.* **32**, 1549-1552 (1991).
101. Desimoni, G.; Faita, G.; Righetti, P. P. and Toma, L.; Solvent Effect as the Result of Frontier Molecular Orbital Interaction. V. Diels-Alder with Heterodienophiles: A Unified Approach to the Solvent Effect of the Diels-Alder Reaction. *Tetrahedron* **46**, 7951-7970 (1990).
102. Cativiela, C.; García, J. Y., Mayoral, J. A. and Salvatella, L.; On the Role of Hexafluoroisopropanol in Diels-Alder reactions of acid-sensitive reagents. *Can. J. Chem.* **72**, 308-311 (1994).
103. Brown, H. C. and Subba R.; Selective Reductions with Diborane, an Acid-Type Reducing Agent. *J. Org. Chem.* **22**, 1135-1136 (1957).
104. Brown, H. C. and Subba R.; A Convenient Non-catalytic Conversion of Olefinic Derivatives into Saturated Compounds Through Hydroboration and Protonolysis. *J. Am. Chem. Soc.* **81**, 4108-4109 (1959).
105. House, H. O.; Modern Synthetic Reactions, 000 De., Chapter 2. W. A. Benjamin, Inc., California, USA, 1972.
106. Pearson, R. G.; Hard and Soft Acids and Bases. Dowden Hutchinson & Ross, Inc., New York, USA, 1973.
107. Juaristi, E. Introduction to Stereochemistry and Conformational Analysis. John Wiley & Sons. Inc., New York, 1991.
108. Croasmun, W. R. and Carlson, R. M. K.; Two-Dimensional NMR Spectroscopy. Applications for Chemists and Biochemists, 2nd Ed., VCH Publishers, New York, USA, 1994.
109. Luche, J.-L.; Rodriguez Hahn, L. and Crabbé, P.; Reduction of Natural Enones in the Presence of Cerium Trichloride. *J. Chem. Soc., Chem. Comm.* 601-602 (1978).