

00573

4
2EJ



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

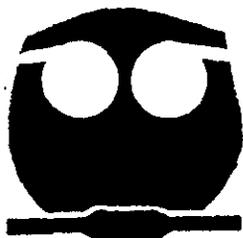
FACULTAD DE QUIMICA

REACTIVIDAD QUIMICA DE TOQUINOLIDA B,
UNA FTALIDA DIMERICA AISLADA DE
LIGUSTICUM PORTERI

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS QUIMICAS
(QUIMICA ORGANICA)

P R E S E N T A
Q. LILIANA HERNANDEZ VAZQUEZ



MEXICO, D.F.

1999

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

272861



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO

Presidente:	Dr. Angel Guzmán Sánchez
Vocal:	Dr. Mariano Martínez Vázquez
Secretario:	M. en C. José Manuel Méndez Stivalet
Primer suplente	Dr. Federico del Río Portilla
Segundo suplente	M. en C. Jorge Cárdenas Pérez

ESTA TESIS FUE DESARROLLADA EN EL INSTITUTO DE QUÍMICA DE LA
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

SUSTENTANTE: LILIANA HERNÁNDEZ VÁZQUEZ

ASESOR: DR. GUILLERMO DELGADO LAMAS

Parte de este proyecto de investigación se realizó mediante el financiamiento otorgado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología a través del proyecto 4794-N9406.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Guillermo Delgado Lamas por la asesoría brindada en la elaboración de este trabajo y por el apoyo que siempre me ha brindado.

Al personal técnico académico del Instituto de Química por la realización de los espectros en especial a: la M. en C. María Isabel Chávez, a la M. en C. Beatriz Quiroz por la obtención de los espectros de resonancia magnética nuclear, a la Q. Rocío Patiño, por la obtención de los espectros de infrarojo, al I. Q. Luis Velasco y al M. en C. Javier Pérez Flores .

A la M. en C. María Luisa Garduño.

A mis amigos Aníbal Julián, Bernice Guerrero, Claudia Canché, Elisa Sánchez, Emma Berruecos, Erika Vázquez, Julia Cassani, Patricia Conde, Raquel Arellano, Ricardo Figueroa, Socorro Olivares, Vanessa Cázares y Marcela Gamboa.

Contenido

1. Introducción.	1
2. Antecedentes.	4
3. Justificación.	12
4. Objetivo.	12
5. Resultados y Análisis.	13
6. Sección Experimental.	36
7. Resumen y Conclusiones.	54
8. Bibliografía.	57
9. Espectros.	60
10. Anexos.	90
Anexo I Resumen de estructuras.	90
Anexo II Espectros adicionales.	96

Índice de Espectros

Espectro 1. RMN ¹ H (200 MHz, CDCl ₃) de <i>rel</i> -(7'a <i>S</i>)-7',7'a-dihidro-toquinólida B (29).	60
Espectro 2. IR (CHCl ₃) de <i>rel</i> -(7'a <i>S</i>) 7',7'a-dihidrotoquinólida B (29).	61
Espectro 3. IR (CHCl ₃) de 30.	62
Espectro 4. RMN ¹³ C (75 MHz, CDCl ₃) de 30.	63
Espectro 5. RMN ¹ H (300 MHz, CDCl ₃) de 30.	64
Espectro 6A. Experimento COSY (300 MHz, CDCl ₃) de 30.	65
Espectro 6B. Experimento COSY (300 MHz, CDCl ₃) de 30.	66
Espectro 7. RMN ¹ H (300 MHz, CDCl ₃) de 34.	67
Espectro 8A. Experimento HMBC (CDCl ₃) de 34.	68
Espectro 8B. Experimento HMBC (CDCl ₃) de 34.	69
Espectro 9. IR (CHCl ₃) del ceto-ácido de toquinólida B (35).	70
Espectro 10. RMN ¹³ C (50 MHz, CDCl ₃) de ceto-ácido de toquinólida B (35).	71

Espectro 11. RMN ¹ H (300 MHz, CDCl ₃) de ceto-ácido de 5,6-deshidro-toquinólida B. (37).	72
Espectro 12. RMN ¹ H (300 MHz, CDCl ₃) de la pirazolina 39.	73
Espectro 13. Experimento COSY (300 MHz, CDCl ₃) de 39.	74
Espectro 14. RMN ¹ H (300 MHz, CDCl ₃) del ceto-éster metílico de toquinólida B (38).	75
Espectro 15. RMN ¹³ C (75 MHz, CDCl ₃) del ceto-éster metílico de toquinólida B (38).	76
Espectro 16. IR (CHCl ₃) de la mezcla de productos obtenidos de reducción de 35 con NaBH ₄ en isopropanol.	77
Espectro 17. RMN ¹ H (500 MHz, CDCl ₃) de la mezcla de productos obtenidos de reducción de 35 con NaBH ₄ en isopropanol.	78
Espectro 18. RMN ¹ H (500 MHz, CDCl ₃) de (3' R, 7'a S)-3',8',7', 7'a-tetrahidro-toquinólida B (41).	79
Espectro 19. RMN ¹ H (200 MHz, CDCl ₃) de (3' S, 7'a S)-3',8',7',7'a-tetrahidro-toquinólida B (42).	80
Espectro 20. IR (CHCl ₃) de c.	81
Espectro 21. IR (CHCl ₃) de d'.	82
Espectro 22. RMN ¹ H (200 MHz, CDCl ₃) de c.	83
Espectro 23. RMN ¹ H (200 MHz, CDCl ₃) de d'.	84
Espectro 24. RMN ¹ H (300 MHz, CDCl ₃) de dihidrotoquinólida B (40).	85
Espectro 25. RMN ¹³ C (75 MHz, CDCl ₃) de dihidrotoquinólida B (40).	86
Espectro 26. RMN ¹ H (300 MHz, CDCl ₃) de la mezcla de productos de la reducción en etanol-isopropanol / CeCl ₃ con NaBH ₄ de 35.	87
Espectro 27. RMN ¹³ C (75 MHz, CDCl ₃) de 45.	88
Espectro 28. IR (CDCl ₃) de 45.	89
Espectro 29. IR (CDCl ₃) de 34.	96
Espectro 30. RMN ¹³ C (75 MHz, CDCl ₃) de 34.	97
Espectro 31. RMN ¹ H (200 MHz, CDCl ₃) de 35.	98
Espectro 32. IR (CDCl ₃) de 39.	99
Espectro 33. RMN ¹³ C (75 MHz, CDCl ₃) de 39.	100

Espectro 34. IR (CDCl ₃) de 38 .	101
Espectro 35. IR (CDCl ₃) de 41 .	102
Espectro 36. RMN ¹³ C (125 MHz, CDCl ₃) de 41 .	103
Espectro 37. IR (CDCl ₃) de 43 .	104
Espectro 38. RMN ¹ H (300 MHz, CDCl ₃) de 43 .	105
Espectro 39. RMN ¹³ C (75 MHz, CDCl ₃) de 43 .	106
Espectro 40. RMN ¹ H (300 MHz, CDCl ₃) de 45 .	107

Índice de Figuras

Figura 1. Orientación molecular de Z-ligustílida (1) en la reacción de cicloadición [$\pi 4s + \pi 2s$].	5
Figura 2. Fragmentos estructurales propuestos.	16
Figura 3. Datos espectroscópicos de 30 y 34 .	19
Figura 4. Datos espectroscópicos selectos del ceto-ácido de toquinólida B (35), el ceto-éster de toquinólida B (38), el ceto-ácido de angeólida (12) y el ceto-éster de angeólida (13).	25
Figura 5. Sección del espectro de RMN ¹ H de la mezcla de productos de reducción de 35 con NaBH ₄ en isopropanol.	28
Figura 6. Análisis por CCF de la mezcla de reacción M y los productos de reacción aislados por CCP.	30
Figura 7. Espectros de IR (CHCl ₃ , 20 y 21) en paralelo de c y d' .	32
Figura 8. Espectros de RMN ¹ H (CDCl ₃ , 22 y 23) de c y d' .	32

Índice de Esquemas

Esquema 1. Obtención de toquinólida B (3) y diligustílida (4) por medio de la reacción de cicloadición [$\pi 4s + \pi 2s$] (Diels-Alder).	5
---	---

Esquema 2. Reacción retro Diels-Alder de angeólida (10).	6
Esquema 3. Reacciones de angeólida (10).	7
Esquema 4. Reaccion de hidrogenación catalítica de riligustílida (5).	8
Esquema 5. Reducción catalítica de diligustílida (4).	8
Esquema 6. Reacciones de condensación intramoleculares de diligustílida (4).	9
Esquema 7. Lactonización estereoselectiva de hidroxí-ácido de diligustílida (25).	10
Esquema 8. Reacción de reducción de diligustílida (4) con NaBH ₄ en THF.	13
Esquema 9. Reacción de Reducción de toquinólida B (3) con NaBH ₄ en THF.	14
Obtención de rel-(7'aS) 7',7'a-dihidro-toquinólida B (29).	
Esquema 10. Posibles rutas de reacción en medio básico de toquinólida B (3).	17
Esquema 11. Representación espacial de 30.	18
Esquema 12. Metilación de 30.	19
Esquema 13. Hidrólisis de toquinólida B (3) para obtener el ceto-ácido de toquinólida B (35).	20
Esquema 14. Reacción de metilación de ceto-ácido de toquinólida B (35) con diazometano.	23
Esquema 15. Adición 1,3 de diazometano al ceto-éster metilado de toquinólida B (38).	24
Esquema 16. Secuencia de reacciones para la obtención del hidroxí-ácido de toquinólida B (40).	27
Esquema 17. Obtención de los epímeros C-3 del tetrahidroderivado de toquinólida B (41 y 42).	29
Esquema 18. Reacción de reducción de cetoácido de toquinólido B (35) en etanol	33
Esquema 19. Reducción de 39.	34
Esquema 20. Obtención de 45.	34

Índice de Tablas.

Tabla 1. Resultados de las bioevaluaciones de 1 , 3 y 4 .	4
Tabla 2. Condiciones de reacción para angeólida (10) y toquinólida B (3).	22
Tabla 3. Condiciones de reacción para la hidrólisis de toquinólida B (3).	22
Tabla 4. Datos selectos de RMN ¹³ C de 35 , 38 , 12 y 13 .	26
Tabla 5. Fraccionamiento del extracto acetónico de <i>L. porteri</i> .	37

Abreviaturas.

AcOEt	Acetato de etilo
CC	Cromatografía en columna
CCF	Cromatografía en capa fina
CCPR	Cromatografía en columna a presión reducida
CCP	Cromatografía en placa preparativa
COSY	Correlated spectroscopy homonuclear
d	Doblete
da	Doblete ancho
DEPT	Distortion enhanced polarization transfer
dt	Doblete tripleteado
EM	Espectrometría de masas
IR	Espectroscopía de infrarrojo
HMBC	Heteronuclear multiple bond coherence
HMQC	Heteronuclear multiple quantum coherence
ip	Intraperitoneal
J	Constante de acoplamiento

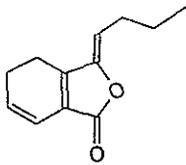
m	Multiplete
μl	Microlitros
MeOH	Metanol
nr	No realizado
Pf	Punto de fusión
PM	Peso molecular
q	Cuarteto
RMN	Resonancia magnética nuclear
s	Singulete
t	Triplete
THF	Tetrahidrofurano
UV	Ultravioleta

1. INTRODUCCION

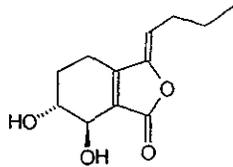
Las ftálicas son un grupo de acetogeninas naturales que pueden ser consideradas químicamente como lactonas derivadas del ácido ftálico. Se encuentran distribuidas principalmente en las plantas pertenecientes a las tribus *Ammiae* y *Peucedaneae* de la familia Umbelliferae (subfamilia Apioideae del reino vegetal).¹ Estos metabolitos han sido aislados como mezclas racémicas y pueden ser clasificados de acuerdo a su estructura molecular en monómeros y dímeros. Su aislamiento,² determinación estructural,³ reactividad química,⁴ y acción farmacológica⁵ han sido objeto de diversos estudios.

Algunas especies comprendidas en las tribus *Ammiae* y *Peucedaneae* son utilizadas en diferentes partes del mundo con fines medicinales. En particular en México, *Ligusticum porteri* es una especie vegetal de olor penetrante, altamente apreciada por los tarahumaras, e investigaciones etnomédicas informan que se emplea tradicionalmente para la preparación de un té que se prescribe en el tratamiento de dolores de cabeza y fiebre, asimismo en la preparación de ungüentos y cataplasmas que se aplican en las articulaciones para aliviar dolores asociados al reumatismo.⁶ El estudio químico de la raíz de esta especie, realizado en nuestro laboratorio, ha permitido establecer que sus principales constituyentes son: ftálicas monoméricas (*Z*-ligustilida (1)⁷ y 6,7-*trans*-ligustidiol (2, senquiunólido I)⁸); ftálicas diméricas (toquinólida B (3)⁸, diligustilida (4)^{7,8} y riligustilida (5)⁷), ácido ferúlico (6),^{7,8} isovainillina (7)⁷ monoterpenos⁹ y recientemente se ha descrito la presencia de β -D-glucopiranosido de β -sitosterilo (8)⁸ y acil glucosil esteroides (9a + 9b).⁸

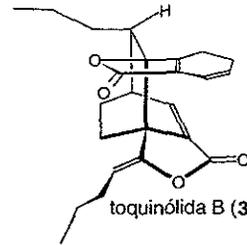
El olor característico y penetrante de las raíces de *Ligusticum porteri* se debe precisamente a la presencia de monoterpenos, ftálicas monoméricas y diméricas.⁹



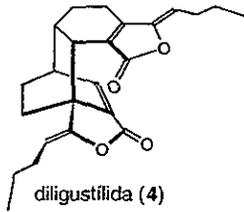
Z-ligustilida (1)



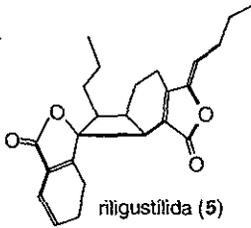
6,7-trans-ligustidiol (2)



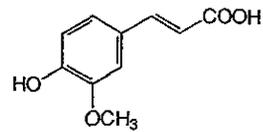
toquinólida B (3)



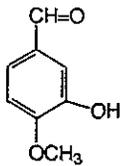
diligustilida (4)



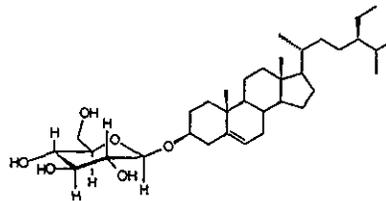
riligustilida (5)



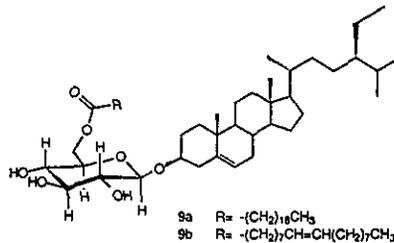
ácido ferúlico (6)



isovainillina (7)



β -D-glucopiranosido de β -sitosterilo (8)



Metabolitos Principales Aislados de *Ligusticum porteri*

Existen informes en la literatura en los cuales se menciona que las ftálicas presentan diversos tipos de actividades biológicas, tales como relajantes de músculo liso, y se emplean para el tratamiento de la artereosclerosis.⁵

Recientemente se llevaron a cabo estudios de reactividad química y bioevaluación preliminar de algunas ftálicas, lo que permitió determinar que estas sustancias son sedantes y también relajantes de músculo liso.^{10b} La sustancia que presentó mayor actividad fue precisamente la ftálica dimérica toquinólida B (3), sobre la cual versa la presente investigación.

2. ANTECEDENTES

Toquinólida B (**3**) es una ftálica dimérica que fue aislada por primera ocasión de *Angelica acutiloba*¹¹ y posteriormente de *Ligusticum chuangxiong*¹² y *Ligusticum porteri*.⁸

Referente a su actividad biológica, esta sustancia incrementa en 70 % el efecto sedante del pentobarbital sódico, provoca relajación del 32.4 % en íleon aislado de cobayo en concentración de 0.05 mg /ml.^{10b} En la tabla 1, se presentan los resultados de bioevaluación de Z-ligustílida (**1**), toquinólida B (**3**) y diligustílida (**4**).

Tabla 1. Resultados de las bioevaluaciones de **1**, **3** y **4**.^{10b}

Bioensayo	1	3	4
Efecto sedante 50 mg/Kg (250 µl,ip) ^a	46.3	70.8	24.6
Relajante de músculo liso 0.05 mg/ml ^b	41.5	32.4	nr

a: ratón macho adulto b: íleo de cobayo macho adulto nr: ensayo no realizado

La estructura de **3** puede considerarse como un cicloaducto derivado de una reacción de cicloadición [$\pi 4s+\pi 2s$] (Diels-Alder) de dos unidades de Z-ligustílida (**1**), en la que el dieno conjugado de una molécula reacciona con la ligadura doble C(3)-C(8) de otra, como se ilustra en la figura 1.

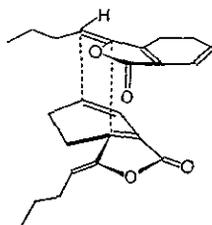
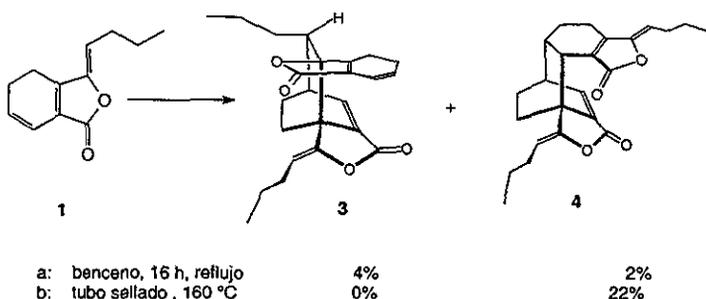


Figura 1. Orientación molecular de Z-ligustilida (1) en la reacción de cicloadición $[\pi 4s+\pi 2s]$.

En 1997 Wakamatsu y colaboradores informaron la obtención de toquinólida B (3) y diligustilida (4), al someter Z-ligustilida (1) en las condiciones mostradas en el esquema 1.¹³

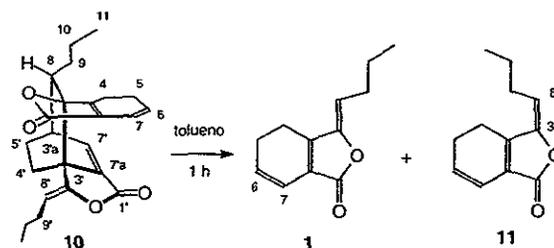


Esquema 1. Obtención de toquinólida B (3) y diligustilida (4) por medio de la reacción de cicloadición $[\pi 4s+\pi 2s]$ (Diels-Alder).

Por otro lado en nuestro laboratorio se llevó a cabo, el tratamiento de esta misma materia prima en tubo cerrado a 160 °C, generándose 4 en un 22 %.¹⁴

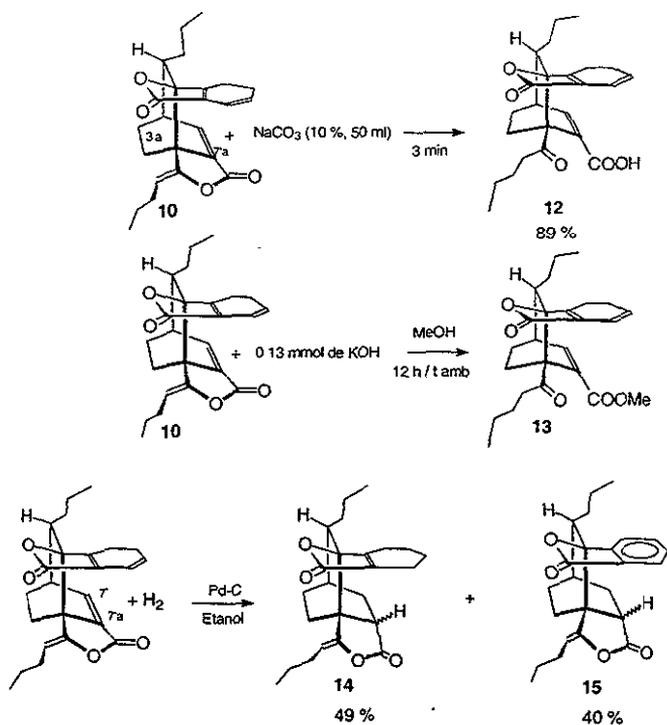
A continuación se presentará la reactividad informada para las ftálicas diméricas 10, 5 y 4. Höfle y colaboradores informaron una serie de reacciones realizadas en angeólida (10), las cuales fueron llevadas a cabo para corroborar la estructura. Angeólida (10) es una ftálica dimérica aislada de *Angelica glauca*, cuya estructura

puede ser considerada como producto de una reacción de cicloadición $[\pi 4s+\pi 2s]$ del dieno de una molécula de *Z*-ligustilida (**1**) con la doble ligadura C(3)-C(8) de una molécula de *E*-ligustilida (**11**). Höfle informó que la termólisis de angeólida (**10**) en tolueno genera una molécula de *Z*-ligustilida (**1**) y otra de *E*-ligustilida (**11**) por medio de una reacción retro Diels-Alder, como se ilustra en el esquema 2.^{4b}



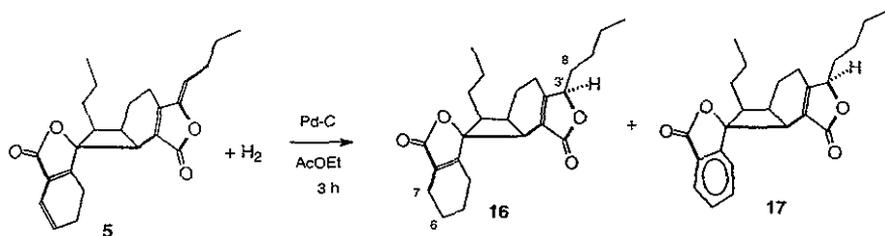
Esquema 2. Reacción retro Diels-Alder de angeólida (**10**).

Adicionalmente, el tratamiento de (**10**) con Na_2CO_3 bajo las condiciones de reacción descritas en el esquema 3, permite el aislamiento del ceto-ácido correspondiente **12**, que es el producto de la apertura de la lactona fusionada al biciclo (C(3'a) y C(7'a)). Cuando **10** reacciona con metanol en medio básico, se obtiene el ceto-éster metílico **13** (esquema 3).^{4b} Al someter a **10** a hidrogenación catalítica se obtiene **14**, que es el derivado de hidrogenación de las ligaduras dobles C(6)-C(7) y C(7')-C(7'a), y **15** que es el producto de reducción del enlace doble C(7')-C(7'a) aromatzado (esquema 3).



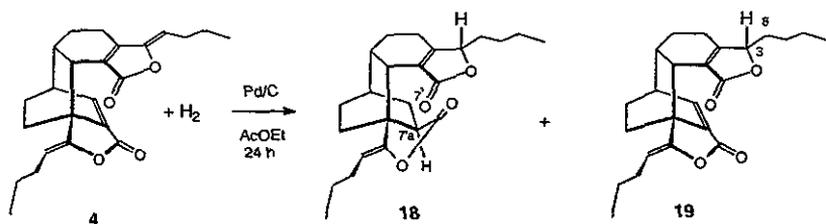
Esquema 3. Reacciones de angeólida (10)^{4b}

Por otro lado, riiigustílida (5), es otra ftálica aislada de *Ligusticum porteri*. Esta puede ser considerada como producto de la cicloadición [$\pi 2s + \pi 2s$] de la ligadura doble C(3)-C(8) de una unidad de *Z*-ligustílida (1) con la ligadura doble C(6)-C(7) de otra. Se informó que la hidrogenación catalítica de 5 produce el producto de saturación de las olefinas C(6)-C(7) y C(3')-C(8') (16), y el producto de aromatización 17 (esquema 4).^{7b}



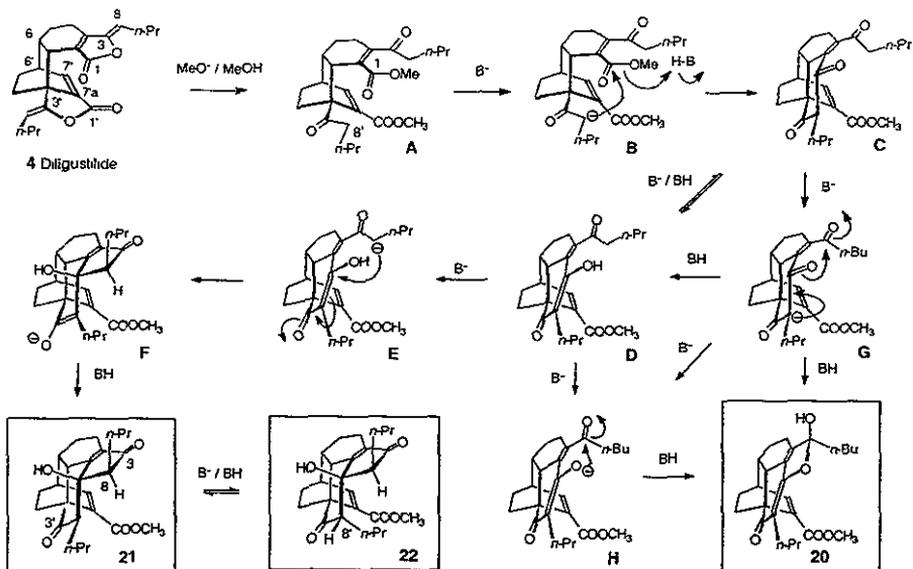
Esquema 4. Reacción de hidrogenación catalítica de diligustilida (5).

La diligustilida (4) ha sido sometida a diversas reacciones como son la hidrogenación catalítica, la cual genera el compuesto 18 derivado de la reducción de los enlaces dobles C(7')-C(7'a) y C(3)-C(8) y 19 donde sólo la olefina C(3)-C(8) es reducida (esquema 5).^{7b}



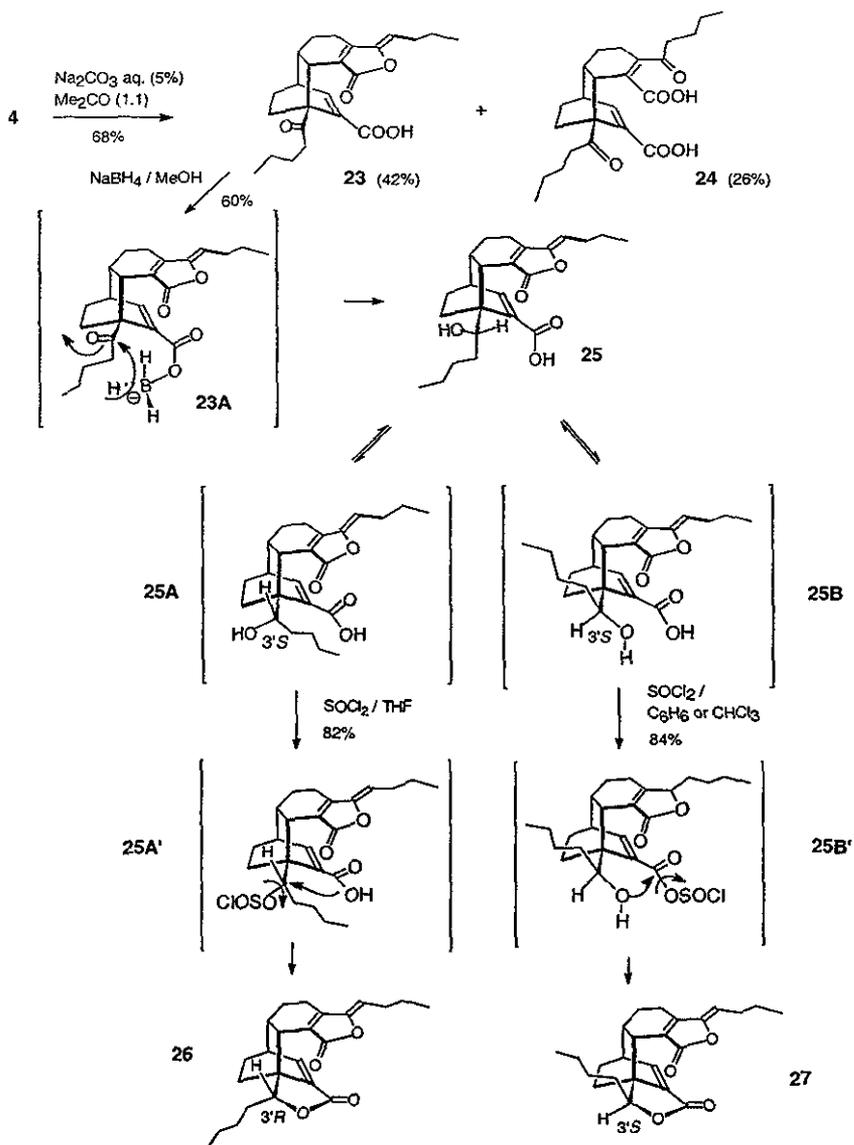
Esquema 5. Reducción catalítica de diligustilida (4)^{7b}

Por otro lado, el tratamiento en medio alcalino de diligustilida (4), permitió la obtención de compuestos policíclicos (20 a 22) derivados de condensaciones aldólicas intramoleculares. La secuencia mecanística se muestra en el esquema 6. Estas reacciones permiten la formación de nuevas uniones carbono-carbono intra-moleculares, a través de la formación del intermediario B. El cual lleva a cabo una adición al grupo carbonilo del éster metílico para generar C; este sufre la desprotonación del carbono C(8') generándose G, que produce 20 por medio de una reacción de *O*-acilación sobre C-3 o los epímeros en C-8' (21 y 22), por medio de una *C*-alquilación sobre C-1, a través de los intermediarios D-F.¹⁵



Esquema 6. Reacciones de condensaciones intramoleculares de diiligustilida (4).¹⁵

Adicionalmente, se informó la lactonización estereo-selectiva del hidroxi-ácido de diiligustilida (**25**) dependiente del disolvente. El compuesto **25** es obtenido por apertura en medio básico de **4** para dar **23**, el cual es reducido posteriormente de manera estereoselectiva (**23A**) con NaBH_4 en metanol. La lactonización de **25** en dos diferentes disolventes permite la obtención diferenciada de **26** y **27**. En el esquema 7 se muestra la formación de **27** a través del anhídrido mixto (intermediario **25B'**), el cual sufre el ataque nucleofílico por parte del hidroxilo por medio de un mecanismo de adición eliminación. Para la formación **26** se considera como intermediario al éster **25A'**, el cual sufre el ataque del hidroxilo del ácido y mediante un mecanismo de sustitución nucleofílica, se obtiene **26**.



Esquema 7. Lactonización estereoselectiva de hidroxi-ácido de diligustílida (25).¹⁴

A partir de las reacciones descritas, puede comprenderse la reactividad singular de las ftálicas diméricas. Generalmente existe competencia entre las numerosas

posibilidades de reacción, lo cual genera varios productos. El manejo experimental de las variables involucradas para generar en forma exclusiva un sólo producto aún no está definido, por lo que es deseable la realización de mayor experimentación y análisis sobre la reactividad de estos compuestos.

3. JUSTIFICACIÓN

Debido a que toquinólida B (**3**) es el compuesto que presenta la mayor actividad en potenciar el efecto sedante de pentobarbital sódico según se ilustra en la tabla 1, y dada la reactividad característica de las ftálidas diméricas, se consideró pertinente la realización de estudios referentes a la reactividad química de **3**. Estos estudios permitirán la obtención de derivados de **3** que eventualmente serán bioevaluados, para establecer la relación entre la estructura molecular y la actividad biológica.

4. OBJETIVO

Generar conocimiento sobre la reactividad química de toquinólida B (**3**) por medio del análisis de los resultados referentes a las reacciones de hidrólisis, reducción, adición y condensación intramolecular, en particular, sobre la *situ*-, *regio*- y *estereo*-diferenciación de estas reacciones.

5. RESULTADOS Y ANÁLISIS.

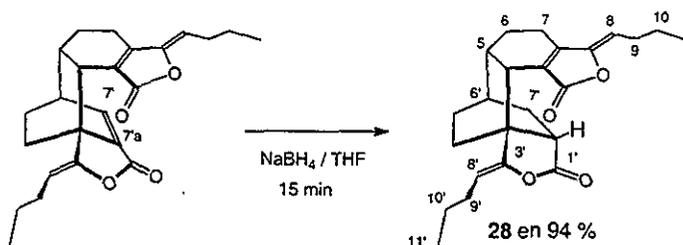
La toquinólida B (**3**) se aisló a partir del extracto acetónico de la raíz de la planta *Ligusticum porteri*. Adicionalmente, se aislaron *Z*-ligustilida (**1**), diligustilida (**4**), y ácido ferúlico (**5**). Estos compuestos se identificaron por comparación directa con muestras auténticas aisladas anteriormente por nuestro grupo de trabajo.^{7,8}

A continuación se describirán las reacciones realizadas sobre las ftálicas diméricas. Inicialmente se presentan las reacciones llevadas a cabo sobre toquinólida B (**3**) que incluyen la reducción química, condensación intramolecular e hidrólisis básica. Posteriormente se describirán los resultados obtenidos de las reacciones efectuadas sobre el ceto-ácido de toquinólida B (**35**) y la pirazolina (**39**) que son derivados de **3**.

5.1. Reacciones de toquinólida B (**3**).

5.1.1 Reducción de toquinólida B con NaBH₄ en THF. Obtención del *rel*-(7'a *S*)-7',7'a-dihidro-toquinólida B (**29**).

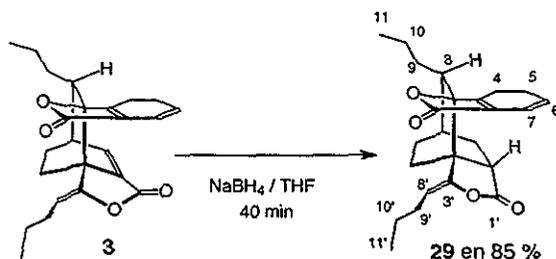
Previamente en nuestro grupo de investigación se llevó a cabo la reacción de reducción de diligustilida (**4**) con NaBH₄ en THF, obteniéndose la *rel*-(7'a *S*)-7',7'a-dihidro-diligustilida (**28**). De acuerdo a la reacción descrita en el esquema 8. Estos resultados permitieron establecer que el enlace doble C(7')-C(7'a) es más reactivo a nucleófilos que C(3')-C(8').



Esquema 8. Reacción de reducción de diligustilida (**4**) con NaBH₄ en THF.

Al aplicar las condiciones descritas para diligustilida (**4**) a toquinólida B (**3**), se obtuvo en

85 % de rendimiento, un solo producto de reacción de menor polaridad que la materia prima que corresponde a **29** (esquema 9). Este producto presenta por espectrometría de masas el ion molecular en m/z 382, que indica la pérdida de un grado de insaturación por adición de hidrógeno. En su espectro de RMN¹H (espectro 1) desaparece la señal correspondiente al hidrógeno vinílico H-7', lo que indica que la ligadura doble C7'-C7'a fué reducida. Además se localizan las señales asignables a los hidrógenos H-7 en δ 6.17 (d, $J= 9.2$ Hz), H-6 en δ 5.97 (dt, $J= 9.2, 4.5$) del dieno, la señal del hidrógeno H-8' en δ 4.69 (dd, $J= 7.2, 1.3$) y un triplete en δ 2.86 (H-7'a, $J= 10.9$) correspondiente al protón α al carbonilo. El espectro de IR (espectro 2) de este compuesto presenta las señales características del carbonilo de la lactona enólica (1792 cm^{-1}), carbonilo de la lactona α,β insaturada (1750 cm^{-1}) y éster de enol (1708 cm^{-1}). Es importante mencionar que esta reacción genera un nuevo centro quiral en C-7'a, el cual fué propuesto con estereoquímica relativa *S*, por la equilibración que procede en las condiciones de reacción.



Esquema 9. Reacción de Reducción de toquinólida B (**3**) con NaBH₄ en THF. Obtención del *rel*- (7'a*S*) 7',7'a-dihidro-toquinólida B (**29**).

5.1.2 Condensaciones Intramoleculares de toquinólida B (**3**). Obtención de **30**.

Con el fin de investigar la reactividad de **3** en reacciones de condensación intramoleculares, se procedió a hacer reaccionar a toquinólida B (**3**) con NaOH en THF/metanol, bajo las condiciones descritas en la sección experimental, permitiendo el aislamiento de un sólido (47.5% de rendimiento). El espectro de masas para este

compuesto presenta el ion molecular m/z 398, correspondiente a la adición de una molécula de agua con respecto a la materia prima. El análisis de los espectros de IR (espectro 3) y RMN¹³C (espectro 4) indican la presencia de ácido carboxílico (IR 3400-2870 y 1684 cm^{-1} y δ_c 167.36), γ -lactona (IR 1753 cm^{-1} y δ_c 168.87) y un carbonilo de cetona (IR 1709 cm^{-1} y δ_c 212.86). El espectro de RMN ¹³C (espectro 4) presenta 24 carbonos: 3 carbonos de carbonilo, 5 carbonos de metino (δ 154.23, 137.19, 57.23, 42.00 y 35.75), nueve de metileno y dos de metilos. Es notable la desaparición de las señales que se asignaron a los carbonos de los metinos, C8', C6 y C7, con respecto a la materia prima, lo que indica que precisamente estos son los carbonos involucrados en la reacción. El espectro de RMN¹H (espectro 5) confirma la desaparición de las señales que se asignaron a los hidrógenos H-8', H-6 y H-7 y la generación de una señal triplete en δ 6.91 que integra para un hidrógeno ($J= 3.5$) correspondiente a un metino de ligadura doble trisustituida. El desplazamiento químico de este triplete indica que se debe encontrar unido a un grupo electroattractor, probablemente el carbonilo de la lactona (fragmento A). La señal doblete δ 7.76 ($J= 7.2$), correspondiente a H-7', correlaciona en el espectro COSY (espectro 6A), con un singulete ancho en δ 2.92 que permite asignarlo como H-6,' y generar el fragmento B. En δ_H 2.63 se observa una señal compleja de metino; su desplazamiento indica que se encuentra α a un grupo electroattractor (como carbonilo o enlace doble), y se encuentra acoplado a señales múltiples a campo alto δ 1.5-1.3 y δ 1.10-0.97 (fragmentos C y C', espectro 6B). El resumen de los datos y fragmentos generados de este análisis se describen en la figura 2.

La elucidación estructural de este producto se deducirá considerando (a) los fragmentos ilustrados en la figura 2 y (b) las posibilidades de reacción de la materia prima, como se describe en los siguientes párrafos.

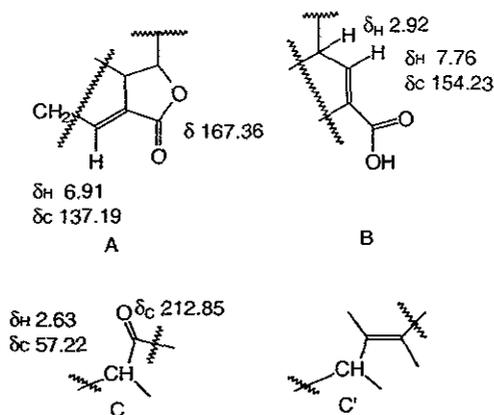
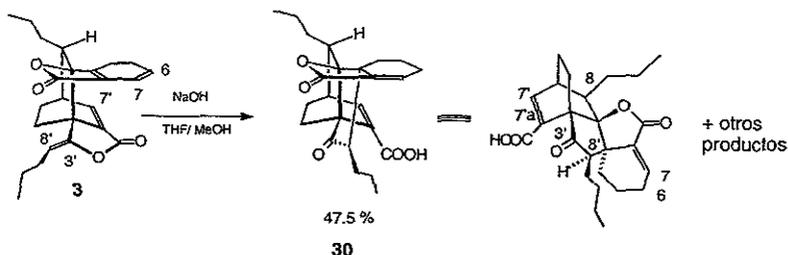


Figura 2. Fragmentos estructurales propuestos

De acuerdo a la información descrita en el esquema 3 para diligustilida (4),¹⁴ es posible proponer la apertura de la lactona fusionada al bicyclo mediante la adición del ión hidróxido, formándose el carbanión correspondiente intermediario **A** (esquema 10). Este intermediario se encuentra en equilibrio tautomérico con el enolato (intermediario **B**). Considerando la presencia de los centros electrofílicos en la estructura, es posible proponer dos rutas de reacción para cada entidad nucleofílica (carbanión y enolato), que son la alquilación y la acilación. El análisis antes descrito genera cuatro posibles productos de reacción **30-33**, cuya formación se ilustra en el esquema 10 y se describe a continuación. La reacción de tipo Michael del carbanión **A** generaría el producto **30** mediante la ruta a (*C*-alquilación), mientras que la reacción con el carbonilo lactónico (ruta b) formaría el producto **31** mediante una *C*-acilación. Complementariamente, la reacción del enolato (intermediario **B**) mediante la ruta c produciría el éter de enol **32** (*O*-alquilación). La reacción anterior está en competencia con la adición al carbonilo lactónico (ruta d, *O*-acilación), la cual formaría la lactona **33**. El análisis de los datos espectroscópicos resumidos en la figura 2, para el producto de reacción está de acuerdo con la estructura **30**, obtenida de la ruta de *C*-alquilación (ruta a). En efecto, esta estructura es congruente con la presencia de los tres carbonos carbonílicos, los 9 metinos

Una mejor representación gráfica de **30**, puede ser obtenida por medio de una rotación de 120° de la molécula, en el sentido de las manecillas del reloj en el eje perpendicular al plano del papel (esquema 11). Adicionalmente se observó la presencia de productos de menor abundancia que no pudieron ser aislados y caracterizados debido a su baja proporción en la mezcla.

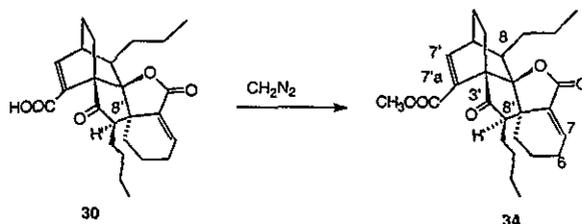


Esquema 11. Representación espacial de **30**.

Para lograr mayor homogeneidad cromatográfica y comprobar químicamente la presencia del ácido, se llevó a cabo la metilación del compuesto **30**.

5.1.2.1 Metilación de **30**.

El compuesto **30** fue metilado con diazometano en éter (esquema 12) según la técnica descrita en la sección experimental, obteniéndose un aceite, el cual fue identificado, por el análisis de los datos de RMN¹H, como el éster correspondiente **34**. La presencia del metoxilo se confirmó por la observación de un singulete en δ 3.74 (espectro 7).



Esquema 12. Metilación de **30**.

La estructura **34** fue confirmada mediante el análisis del espectro HMBC (espectro 8A y 8B), ya que se observó la correlación del hidrógeno H-8' en δ 2.64 con C-3' (δ_C 212.91) y con C-3a (δ_C 50.89). En la figura 3 se describen sucintamente los datos espectroscópicos de **30** y **34**.

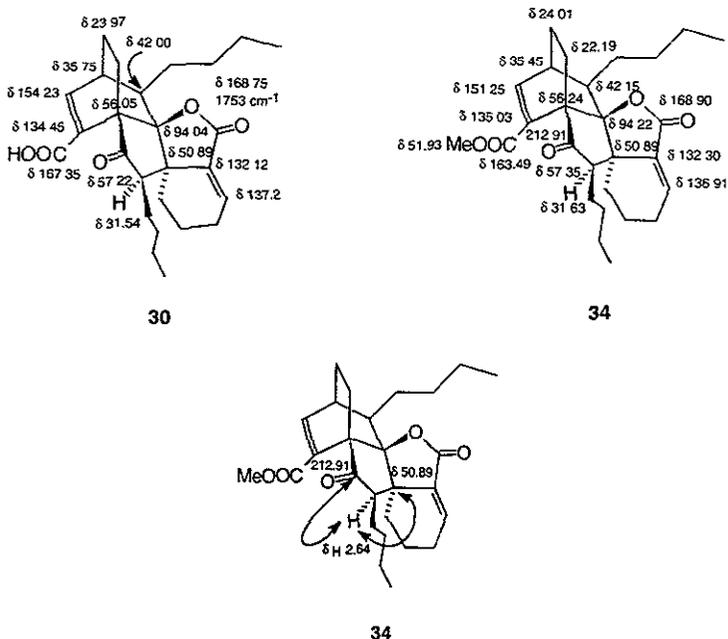
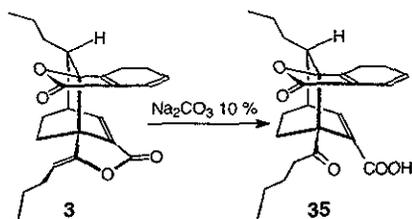


Figura 3. Datos espectroscópicos selectos de **30** y **34** y correlaciones a larga distancia (HMBC) de **34**.

5.1.3 Hidrólisis básica de toquinólida B (3). Obtención del ceto-ácido de toquinólida B (35).

Previamente en nuestro grupo de investigación se llevó a cabo la hidrólisis alcalina de toquinólida B (**3**), utilizándola como compuesto modelo para establecer la reactividad química de las lactonas, y generar analogías con diligustíflida (**4**). Esta reacción se describe en el esquema 13.



Esquema 13. Hidrólisis de toquinólida B (**3**) para obtener el ceto-ácido de toquinólida B (**35**).

Para llevar a cabo la hidrólisis de **3** se utilizaron inicialmente las condiciones informadas por Höfle para angeólida (**10**),^{4b} que es el epímero en C-8 de toquinólida B (**3**), las cuales son descritas en la tabla 2. Al aplicar estas condiciones a **3**, no se observó modificación de la materia prima, después de amplios periodos de tiempo (24 h), debido a la poca solubilidad de **3** en la mezcla de reacción, por lo que se decidió utilizar acetona como codisolvente. Las condiciones de reacción se describen en la tabla 2.^{10b} El tratamiento descrito permitió el aislamiento de un sólido el cual fué identificado como el ceto-ácido de toquinólida B (**35**).

En este trabajo se decidió utilizar las condiciones descritas para **3**, en la referencia 10b, pero no se observó homogeneidad de la mezcla de reacción, por lo que se adicionaron 10 ml más de acetona. A los 20 min de reacción no hay consumo total de la materia prima, de acuerdo al análisis por CCF, y se decidió continuar la reacción por 1 h 10 min más sin lograr el consumo total de la materia prima. Las condiciones de reacción (experimento 1) se encuentran descritas en la tabla 3. El método antes descrito disminuyen en 13 % el rendimiento de **35** con respecto a la referencia 10 b.

Es importante mencionar que las variables de reacción a modificar son la concentración de la base y el tiempo de reacción. Precisamente, analizando las proporciones de base se observó que había un exceso de ésta (35 veces más), por lo que se disminuyó en concentración. Se utilizaron las condiciones mostradas en el experimento 2 (tabla 3), obteniéndose 54 % de rendimiento, lo que corresponde a 7 % de incremento sobre el experimento 1. Al parecer, la disminución de la concentración de base incrementa el rendimiento.

Posteriormente, se decidió evaluar el efecto del tiempo de reacción bajo las condiciones de reacción 2, 3 y 4 (tabla 3) mostrándose que hay disminución del rendimiento por incremento en el tiempo de reacción. Para el tiempo de reacción en que se logra consumo total de la materia prima, analizando los productos de reacción por CCF, se decidió hacer un análisis del aumento en la concentración de la base. Al realizar los experimentos 5 y 6 no se observa claramente el efecto de la concentración de la base en el rendimiento. Aunque estos ensayos tienen que ser realizados a menores periodos de reacción (15, 30, 60 min), se puede observar que la disminución de la concentración de la base favorece el rendimiento de la reacción a tiempos de reacción amplios (1.5 h y 6 h).

En todos los experimentos realizados (1 a 6 tabla 3), se obtiene un solo producto de reacción, el cual no se presenta como una mancha homogénea por cromatografía en capa fina (eluyente: hexano-acetato de etilo 7:3) y es necesario la adición de ácido acético en la mezcla de elución. El producto de reacción es sensible al aire, por lo que debe ser almacenado bajo atmósfera de nitrógeno y a bajas temperaturas. Presenta en el espectro de IR (espectro 9) una banda ancha de 3400 cm^{-1} a 2450 cm^{-1} que confirma la presencia del hidroxilo del ácido carboxílico; se observa la desaparición de la banda correspondiente a la lactona fusionada al biciclo (1774 cm^{-1}) presente en toquinólida B (3); permanece la banda del carbonilo de la γ -lactona- α,β -insaturada en 1747 cm^{-1} , y se observan señales en 1706 y 1689 cm^{-1} asignables a los carbonilos de la cetona y del ácido generados, respectivamente. En su espectro de RMN¹³C (espectro 10) obtenido con desacoplamiento de hidrógeno se observan las señales de cetona (δ 208.25), ácido (δ 169.89) y lactona (δ 170.74). Estos datos permiten deducir que este producto de reacción es, en efecto, el ceto-ácido de toquinólida B (35).

Cuando se lleva a cabo la reacción de hidrólisis básica partiendo de 4,5-deshidro-toquinólida B (36, anexo 1), bajo las condiciones de reacción utilizadas para 3, se obtiene el ceto-ácido de 4,5-deshidro-toquinólida B (37, anexo 1), el cual fue identificado por el análisis de su espectro de RMN¹H (espectro 11).

Con el fin de lograr homogeneidad cromatográfica y comprobar químicamente la presencia de ácido se procedió a metilar el ceto-ácido de toquinólida B (35), con

diazometano en éter.

Tabla 2. Condiciones de reacción para angeólida (10)^{4b} y toquinólida B (3).^{10b}

Sustrato	Acetona	Na ₂ CO ₃ (M)	Tiempo de reacción (min)	% Rendimiento	% Recuperación
Angeólida (10)	No	0.9433	3	89	No cuantificado
Toquinólida B (3)	10 ml	0.4717	20	60	20

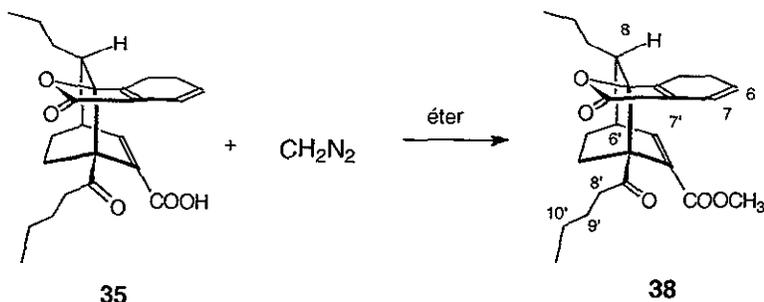
Tabla 3. Condiciones de reacción para la hidrólisis de toquinólida B (3).

No. de Experimento	Toquinólida B (3) (M)	Na ₂ CO ₃ (M)	Tiempo de reacción (h)	% de Rendimiento de 35	% de Recuperación de toquinolida B (3)
1	8.77 X10 ⁻³	0.314	1.5	47	No cuantificado
2	6.92 X10 ⁻²	0.323	1.5	54	28
3	5.79X10 ⁻²	0.314	3.0	47	6
4	5.97X10 ⁻²	0.314	6.0	46	Consumo total
5	5.91X10 ⁻²	0.63	6.0	44	10
6	5.93X10 ⁻²	1.26	6.0	47	7

5.2 Reacciones del ceto-ácido de toquinólida B (35).

5.2.1 Reacción del ceto-ácido de toquinólida B (35) con diazometano.

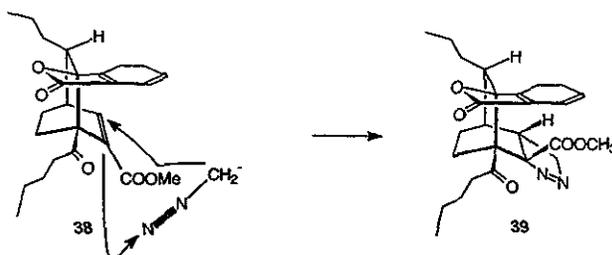
Se llevó a cabo la metilación de ceto-ácido de toquinólida B (35) de acuerdo a la reacción descrita en la esquema 14, para obtener el ceto-éster de toquinólida B (38).



Esquema 14. Reacción de metilación de ceto-ácido de toquinólida B (35) con diazometano.

El ceto-ácido de toquinólida B (35) fue tratado con una solución de diazometano en éter por aproximadamente 50 min (las condiciones de reacción se describen en la sección experimental), obteniéndose un compuesto que presenta un ion molecular de m/z 454, diferente al esperado para 38 (m/z 412). Se observa también una pérdida de 28 unidades de masa lo cual es congruente con eliminación de una molécula de nitrógeno. El análisis del espectro de RMN¹H (espectro 12) permitió identificar al singulete del metoxilo en δ 3.67. Adicionalmente, se observa un doble de doble en δ 6.24 ($J=2.1, 9.6$) acoplado a un multiplete δ 5.94 correspondientes a los protones vinílicos H-7 y H-6. Asimismo, no se observa el hidrógeno H-7' del ácido α,β -insaturado, lo que indica que esta ligadura doble se modificó. Adicionalmente se localizan dos señales dobles de dobles acopladas en δ 4.91 ($J= 4.5, 18.9$) y δ 4.71 ($J= 9, 18.9$) que integran cada una para un hidrógeno metilénico geminal a un grupo desprotector, muy probablemente N=N; se encuentran acopladas a un doblete en δ 2.81 ($J= 8.2$, espectro 13) que integra para un hidrógeno. Los datos antes mencionados generan el fragmento CH-CH₂-N₂. Por lo tanto, además de la

metilación del ácido, se llevó a cabo la adición al enlace doble del ácido α,β -insaturado, generándose un nuevo anillo de cinco miembros. La fórmula mínima $C_{26}H_{34}N_2O_5$ de este producto es congruente con el ion molecular encontrado (m/z 454). La información descrita en la literatura, señala que las ligaduras dobles activadas al ser tratadas con diazoalcanos generan pirazolininas, en las cuales la funcionalidad $N=N$; se localiza α al grupo desprotector ($COOCH_3$).¹⁶ El análisis del espectro COSY (espectro 13) de este compuesto permite concluir que el compuesto obtenido es la Δ^1 -pirazolinina. Debido a que la adición de diazoalcanos, de acuerdo a los datos descritos en la literatura, se efectúa por un mecanismo de adición 1,3-dipolar concertado, se generaría la pirazolinina *cis*. Se propone que la adición de diazometano se efectúa por el lado con menor impedimento estérico, generando como producto de reacción el compuesto **39**. En el esquema 15 se describe la adición de diazometano al ceto-éster de toquinólida B (**38**), para generar **39**.



Esquema 15. Adición 1,3-de diazometano a ceto-ácido metilado de toquinólida B (**38**).

Para llevar a cabo la obtención de **38** se trató **35** con diazometano en éter, gota a gota, obteniéndose un compuesto que presenta por espectrometría de masas un ion molecular de 412 ($C_{25}H_{32}O_5$). El espectro de RMN^1H (espectro 14) presenta un singulete δ 3.69 del metoxilo, un doblete en δ 7.26 ($J= 6.9$) correspondiente a H-7' del ceto-éster α, β -insaturado, un doblete ancho δ 6.10 ($J= 9.3$ Hz) acoplado con un doblete tripleteado en δ 5.86 ($J= 4.2, 9.3$) correspondientes a H-7 y H-6 del dieno, el protón H-6' en δ 2.83 (m). En el espectro de $RMN^{13}C$ (espectro 15) se observan las señales características de los carbonos carbonílicos de cetona (δ 208.62), éster (δ 166.72), y lactona (δ 170.70); la señal

de metoxilo en δ 51.99 y las señales de los metinos de los carbonos C-7' (δ 146.44), C-6 (δ 128.47), y C-7 (δ 116.54). Estos datos son congruentes con la estructura del ceto-éster de toquinólida B (**38**). Cuando se intenta se consuma el total de la materia prima, al dejar un mayor tiempo de reacción, se obtienen mezclas de la pirazolina (**39**) y del ceto-éster (**38**).

En la figura 4 se presentan datos selectos de IR y RMN¹³C para el ceto-ácido de toquinólida B (**35**) y el ceto-éster de toquinólida B (**38**) y los informados en la referencia 4b para el ceto-ácido de angeólida (**12**) y el ceto-éster de angeólida (**13**).

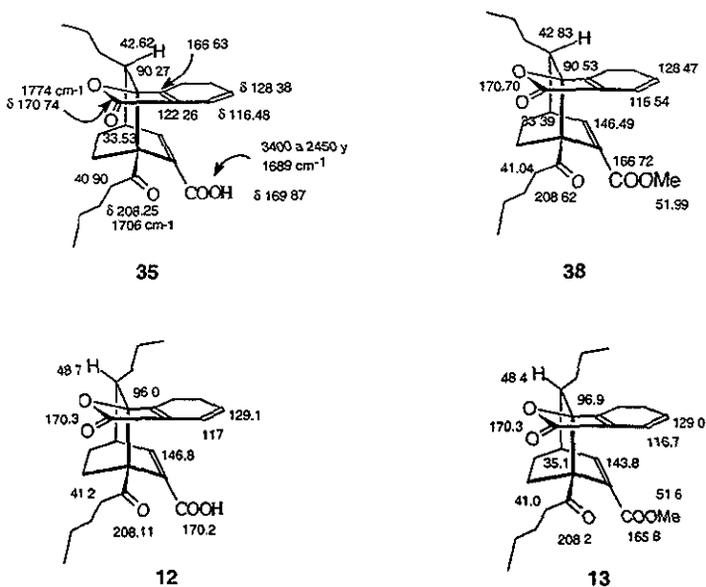


Figura 4. Datos selectos del ceto-ácido de toquinólida B (**35**), el ceto-éster de toquinólida B (**38**), el ceto-ácido de angeólida (**12**)^{4a} y el ceto-éster de angeólida (**13**)^{4a}.

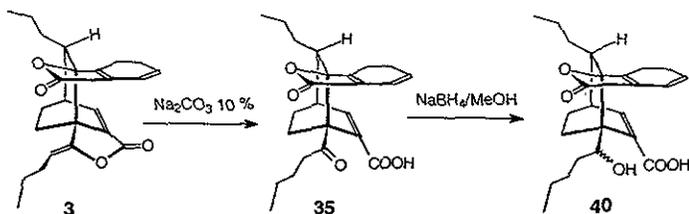
Tabla 4. Datos de RMN¹³C en ppm de **35**, **38**, **12** y **13**

C	35	12	38	13
1	170.74	170.3	170.70	170.6
3	90.28	96.0	90.53	95.9
3a	166.63	164.5	165.72	164.4
4		25.3		25.1
5		23.3		22.3
6	128.37	129.1	128.47	129.0
7	116.48	116.7	116.54	116.7
7a	122.26	124.8	122.30	124.4
8	42.69	48.7	42.83	48.4
9		35.3		35.1
10		25.3		24.9
11	13.9	13.9	13.7	13.7
1'	169.89	170.2	166.72	165.8
3'	208.25	208.4	208.62	208.2
3'a	58.53	59.8	58.99	59.9
4'		22.0		21.5
5'		21.7		21.8
6'	33.52	35.6	33.39	35.1
7'	149.56	146.8	146.44	143.6
7'a	136.02	135.8	136.90	136.2
8'	40.90	41.2	41.04	41.0
9'		28.0		27.8
10'		22.6		23.0
11'		13.9	13.9	13.7

5.2.2 Reducción de ceto-ácido de toquinólida B (**35**).

Considerando la información previamente descrita para diligustilida (**4**), correspondiente a las reacciones de lactonización estereoselectiva del hidroxí-ácido **25** (esquema 7),¹⁴ se procedió a efectuar la reducción del ceto-ácido **35** para la obtención de **40**, mediante la secuencia descrita en el esquema 16. El compuesto **40** será sometido eventualmente a

condiciones de lactonización estereoselectiva.



Esquema 16. Secuencia de reacciones para la obtención del hidroxi-ácido de toquinólida B (40).

5.2.2.1 Reducción de cetoácido de toquinólida B (35) con NaBH_4 en isopropanol. Obtención de los epímeros del 3',8',7',7'a-tetrahidro toquinólido B (41 y 42).

Previamente en nuestro grupo de investigación se informó la reacción de reducción de ceto-ácido de toquinólida B (35) por medio de las condiciones descritas en el esquema 16, obteniéndose un compuesto de menor polaridad que la materia prima al que se le asignó la estructura 40.^{10b}

Al someter a las condiciones descritas anteriormente (NaBH_4 /metanol) al ceto-ácido de toquinólida B (35), no se observa modificación alguna de la materia prima, aún después de amplios periodos de reacción (24 h), lo cual implica que la técnica descrita en la referencia 10b omite algún dato experimental. Se decidió emplear, por consiguiente, NaBH_4 en isopropanol. El tratamiento de 35 bajo las condiciones descritas en la sección experimental, permitió el aislamiento de un sólido en un 33 % de rendimiento. El espectro de IR del producto (CHCl_3 , espectro 16) presenta absorciones atribuibles a metilos y metilenos (2960 y 2876 cm^{-1}), en 1749 cm^{-1} de lactona α,β -insaturada, y no se observan las bandas de absorción características de oxhidrilo y ácido carboxílico. El análisis del espectro de RMN^1H (espectro 17) permite deducir que se trata de una mezcla de al menos tres productos. Se determinó la presencia del compuesto asignado como el hidroxi-ácido de toquinólida B (40) en la referencia 10 b como constituyente de esta mezcla por la identificación de un doble de doble en δ 4.34 correspondiente al hidrógeno H-3' y del protón H-7' (δ 7.49).^{10b} Adicionalmente se observan dos dobles de dobles en δ

4.06 y δ 3.99, asignables a los protones geminales a oxígeno (figura 5).

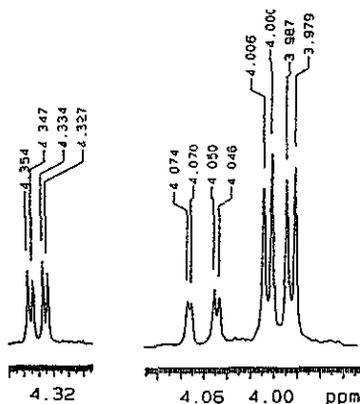
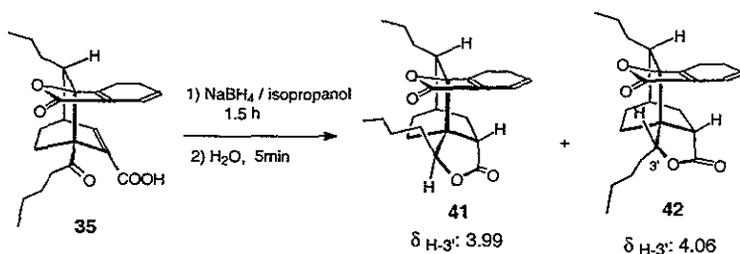


Figura 5. Sección del espectro de RMN¹H de la mezcla de productos de reducción de **35** con NaBH₄ en isopropanol.

Para determinar la estructura de los otros constituyentes de la mezcla de reacción, esta fue separada por CCF de acuerdo al método descrito en la parte experimental, permitiendo el aislamiento de dos productos de reacción. En el espectro de RMN¹H (espectro 18) del producto de menor polaridad (el más abundante), se observan dos dobletes tripleteados acoplados en δ 6.22 ($J= 9.5, 1.5$), y en δ 6.02 ($J= 9.5, 3.5$) correspondientes a los protones H-7 y H-6 del dieno homoanular, y un doble de doble δ 3.99 ($J= 9.5, 3.5, H-3'$) del hidrógeno geminal al oxígeno de lactona (IR 1751 cm⁻¹). En el espectro de RMN¹H (espectro 19) del producto de mayor polaridad se observan señales características del dieno en δ 6.26 dt ($J=9.6, 1.72$ H-7) acoplado con otro dt en 6.02 ($J= 9.52, 4.24, H-6$) y el hidrógeno H-3' como un doblete en δ 4.06 ($J= 11.8$). La ausencia de la señal característica del protón olefínico presente en la materia prima H-7', en ambos productos, indica que se llevó a cabo la reducción de la ligadura doble C(7')-C(7'a). La integración de estos datos espectroscópicos permiten concluir que este par de compuestos son los epímeros en C(3') del tetrahydroderivado de toquinólida B, **41** y **42**. En el esquema 17 se ilustran los productos de esta reacción. La asignación propuesta de los

centros quirales C(3') y C(7'a) se basó en que la adición de hidruro y posterior equilibración en las condiciones de reacción permiten la obtención del compuesto de mayor estabilidad, es decir, aquel que contenga a la lactona en disposición *cis*, y que el efecto de desprotección paramagnética ejercido por el carbonilo C(1) sobre H-3' en el epímero **42** llevaría esta señal a campo mas bajo (δ 4.06) que la señal correspondiente H-3' del epímero **41** (δ 3.99).



Esquema 17. Obtención de los epímeros C-3 del tetrahidroderivado de toquinólida B (**41** y **42**).

5.2.2.2 Reacción de reducción de 35 en etanol. Obtención del 3',8'-dihidrotoquinólida B (43).

Debido a que la reducción de ceto-ácido de toquinólida B (35) con NaBH₄ en isopropanol, no condujo a la obtención de el compuesto asignado como 40 en rendimientos aceptables para su separación CCF, se decidió realizar otra reacción de reducción para evitar la reacción de reducción 1,4 y la lactonización *in situ*, por lo que se utilizó etanol como disolvente.

Al tratar el ceto-ácido de toquinólida B (35) con NaBH₄ en etanol, se observa por medio del análisis por CCF la aparición de cuatro productos de reacción, tres de menor polaridad (a, b y c) que la materia prima, y otro de mayor polaridad (d, figura 6A). El análisis comparativo de esta mezcla por CCF con los compuestos 41 y 42, permite identificar su presencia como a y b (figura 6B). Para lograr la identificación de todos los productos, esta mezcla fue sometida a purificación por CCF. Al purificar los productos de reacción dividiendo cuatro zonas de la placa cromatográfica (1: a y b, 2: c, 3: 35, y 4: d, 6C) se observa que el compuesto originalmente de mayor polaridad (d), al ser extraído de la sílice y reanalizado por CCF se transforma a uno de menor polaridad (d'), que coincide en R_f con el compuesto aún no identificado por CCF (c, figura 6C).

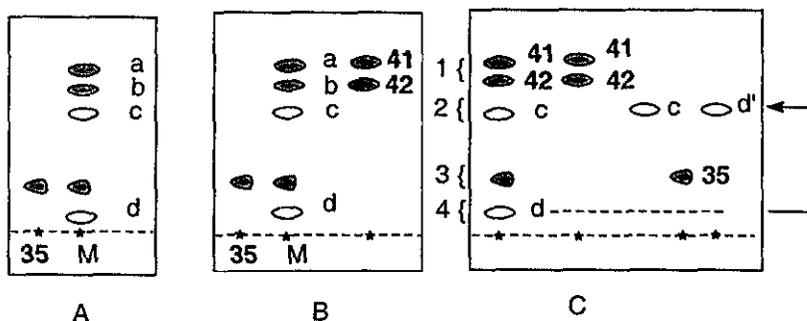


Figura 6. Análisis por CCF de la mezcla de reacción (M) y los productos de reacción aislados por CCP.

Para determinar la identidad de c igual a d' (originalmente d) fueron enviados

juntos a IR (figura 7), obteniéndose espectros muy semejantes (20 y 21): absorciones en 3400 cm^{-1} que no pueden ser atribuidas a las vibraciones O-H de ácido, ya que son pequeñas y angostas. En ambos espectros de IR (**c** y **d'**) son manifiestas las absorciones de metilos y metilenos ($2961, 2875\text{ cm}^{-1}$) y el carbonilo de lactona (1749 cm^{-1}). Sin embargo, se observan ligeras diferencias en los espectros de IR (figura 7) que no permiten llegar a una conclusión definitiva, por lo que se corrieron los espectros de RMN^1H para ambos compuestos (figura 8). El espectro de RMN^1H (espectro 21) para el compuesto **c**, presenta un doblete en $\delta 7.50$ (1H, $J= 6.84$, H-7'), cuatro multipletes: en $\delta 6.24\text{-}6.16$ (1H, H-7), en $\delta 5.98\text{-}5.89$ (1H, H-6) en $\delta 4.34$ (1H, H-3') y $\delta 3.05$ (1H, H-6'); y para el segundo compuesto (**d'**, espectro 23) presenta un doblete en $\delta 7.49$ (1H, $J= 6.84$, H-7'), un dd en $\delta 6.18$ (1H, $J= 9.48, 5.96$, H-7), un dt $\delta 5.96$ (1 H, $J= 9.5, 3.32$, H6) del dieno, una señal múltiple en $\delta 4.34$ (1H, H-3'), y por último, otro multiplete de $\delta 3.04\text{-}3.08$ (1H, H-6'). La comparación de estos datos permitió establecer que estos compuestos son sustancias idénticas, por lo que las diferencias en los espectros de IR y RMN^1H son atribuidas a los diferentes grados de pureza de las muestras. Por lo tanto se concluyó que el compuesto obtenido es el dihidroderivado de toquinólida B (**43**), es decir el producto de reducción 1,2 lactonizado del ceto ácido de toquinólida B (**30**). Esto sugiere que muy probablemente, el producto de mayor polaridad observado por CCF es el compuesto hidroxí-ácido de toquinólida B (**40**), que en las condiciones de aislamiento, *se lactoniza* (**d** \rightarrow **d'** = **c**). En el esquema 18 se ilustran los productos de esta reacción. La estereoquímica en C-3' de **43** se asignó, basándose en el desplazamiento a campo bajo de H-3', que se encuentra desprotegido por el carbonilo C(1). Es importante mencionar que el compuesto identificado como dihidro-toquinólida B (**43**) en la presente investigación, presenta las mismas señales de RMN^1H y RMN^{13}C que para el compuesto asignado como **40** (estereoquímica indefinida en C(3'), espectros 24 y 25) tomados de la referencia 10b, lo que implica que la asignación estructural para este compuesto no fue adecuada.¹⁸

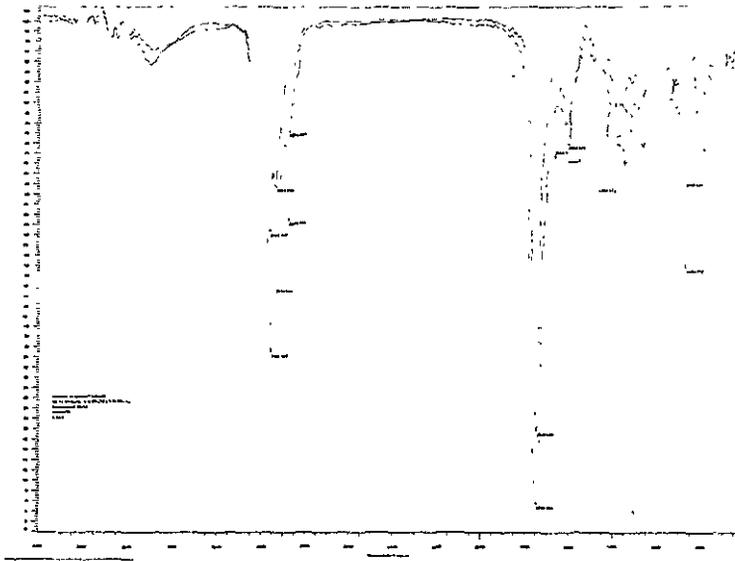


Figura 7. Espectro 20 y 21 de c y d'.

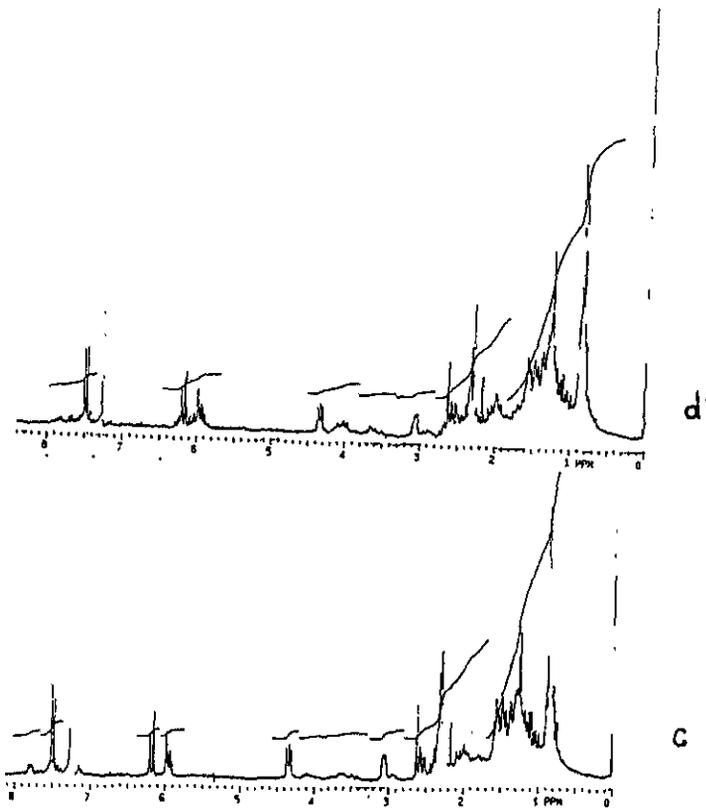
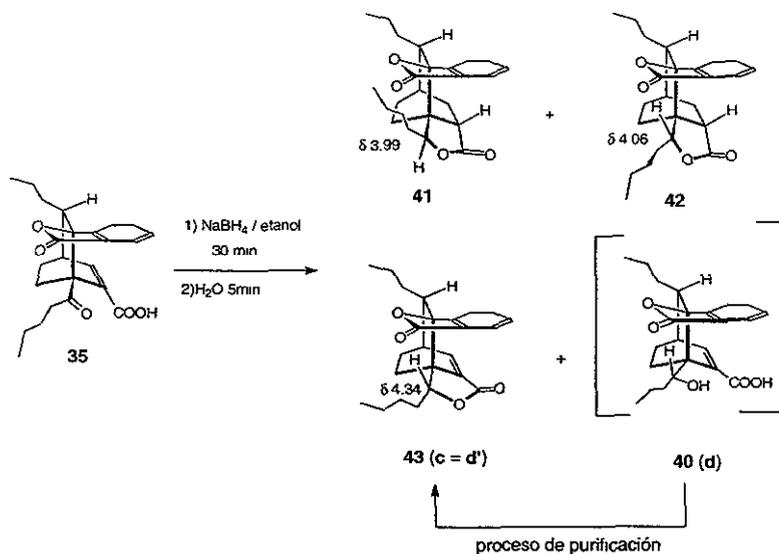


Figura 8. Espectro 22 y 23 de c y d'.



Esquema 18. Reacción de reducción de cetoácido de toquinólido B (35) en etanol.

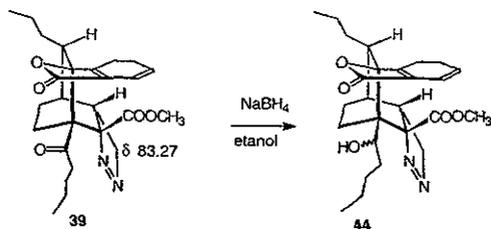
5.2.2.3 Reacción de reducción de ceto-ácido de toquinólida B (30) con NaBH_4 en etanol-isopropanol y $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$

Para evitar la reducción 1,4 (por tanto la formación de los subproductos 41 y 42), se ensayó la reacción de reducción en etanol, con $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, bajo las condiciones descritas en la parte experimental, obteniéndose una muestra que tiene R_f prácticamente igual a 43 en un 32 % de rendimiento. El espectro de RMN^1H (espectro 26) de esta sustancia indica que se trata de una mezcla constituida principalmente por 3',8'-dihidrotoquinólida B (43) y por 3',8',7',7'a-tetrahidrotoquinólida (41). Esta mezcla fué separada por CCF bajo las condiciones descritas en la sección experimental, obteniéndose 15 % de rendimiento de 43.

5.3 Intento de reducción de 39

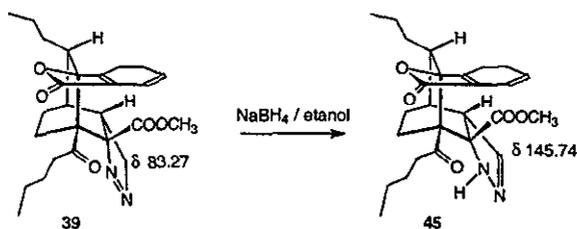
Se procedió a realizar la reducción de 39 con NaBH_4 en metanol bajo las condiciones de reacción descritas en la sección experimental, para tratar de

obtener 44. (esquema 19).



Esquema 19. Reducción de 39

De esta reacción se obtiene un aceite que presenta por RMN¹³C (espectro 27) la señal correspondiente a carbonilo de cetona (δ 209.20), lo que indica que no se obtiene 44. Sin embargo sí hay modificación de la materia prima. El análisis del espectro de RMN¹³C indica la presencia de los carbonilos de lactona (δ 172.44) y éster (δ 170.35), seis metinos: δ 145.74, δ 128.39 (C6), δ 117.32 (C7), δ 57.01, 44.46, 28.45, nueve metilenos y tres metilos. Es notable la aparición de una señal más de metino vinílico (δ 145.74) y la desaparición de la señal de metileno (δ 83.27 C7'b) con respecto a la materia prima, lo que indica que estos son los carbonos que se han modificado. Los datos informados en la literatura que indican que las Δ^1 -pirazolininas tienden a isomerizarse a las Δ^2 -pirazolininas y que estas últimas pueden ser obtenidas a partir de las primeras por tratamiento con NaOH en etanol, permiten proponer para este compuesto la estructura 45 (esquema 20).¹⁶ Los datos de IR (espectro 28) para este compuesto están de acuerdo con la estructura asignada.



Esquema 20. Obtención de Δ^2 -pirazolina 45.

Materiales y equipos

La cromatografía en capa fina se llevó a cabo en cromatofolios Alugram SiG/UV₂₅₄, Macherey-Nagel y se empleó como revelador una lámpara de UV Spectroline Modelo ENF-240C-20 a 365 y 254 nm y una solución de sulfato cérico amónico al 1 % en ácido sulfúrico 2N.

Se empleó sílica gel Merck malla 70-230 y 60 GF para las columnas cromatográficas.

Los espectros de RMN se obtuvieron con un espectrómetro Varian XR-300 y un instrumento Varian Unity Plus 500 para ciertos experimentos, usando CDCl₃ como disolvente y como referencia interna tetrametilsilano (TMS).

Los espectros de IR se obtuvieron en un espectrófotómetro Perkin-Elmer 283-B.

Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Fischer-Johns y no están corregidos.

Los espectros de UV se obtuvieron en un espectrómetro marca Shimadzu, modelo UV 160U.

Los espectros de espectroscopía de masas se obtuvieron en un espectrómetro marca JOEL, modelo JMS-Ax505 HA, a 70 e V y una corriente de ionización de 100 μ Amperes

6. Sección experimental

6.1 Aislamiento de los constituyentes químicos de *Ligusticum porteri*

Se procedió a la obtención de toquinólida B (3), a partir del extracto acetónico de las raíces de *Ligusticum porteri*, el cual se obtuvo, como se muestra en el diagrama 1.

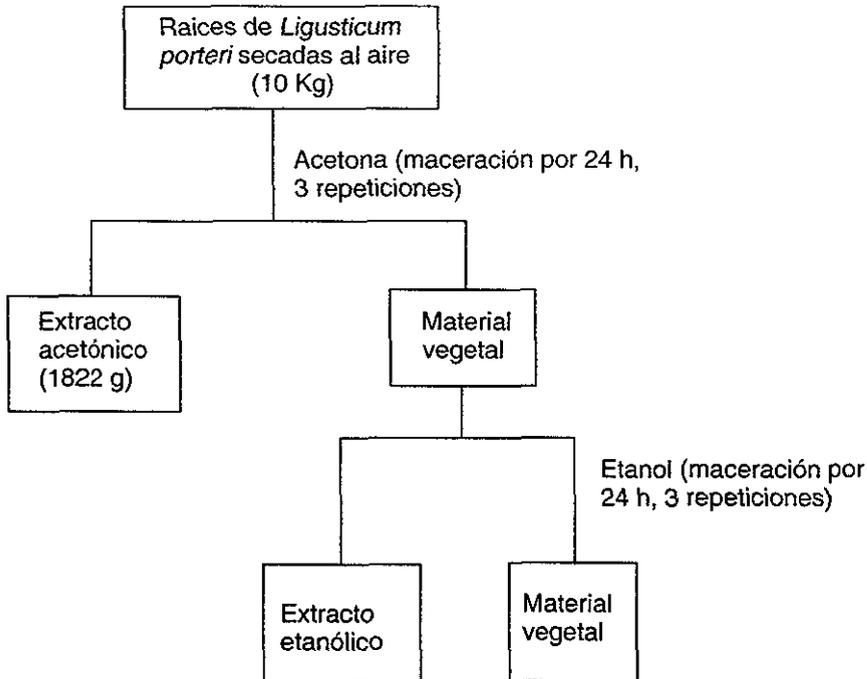


Diagrama 1. Obtención de extractos de raíces de *Ligusticum porteri*

El extracto acetónico (1066 g) fue adsorbido en sílica gel 70-230 en proporción 1:1 y fue resuelto en mezclas menos complejas utilizando dos columnas cromatográficas de 10 cm de diámetro, empleando como soporte 806 g de sílice de placa fina. Se eluyeron ambas columnas con mezclas de hexano-acetato de etilo con incremento de polaridad, obteniéndose fracciones de aproximadamente 1600 ml. De esta elución fueron

colectadas 89 fracciones, que se reunieron de acuerdo a su análisis por cromatografía en capa fina, como se muestra en la tabla 5.

Tabla 5. Fraccionamiento del extracto acetónico de *L. porteri*

Fracciones	Metabolito aislado	% de rendimiento
1-11	Z-igustílida (1)	2.6
12-21	toquinólida B (3)	0.4
22-36	diligustílida (4)	0.5
53-60	ácido ferúlico (6)	no cuantificado

De las fracciones 1-11 se aisló Z-ligustilida (**1**) la cual fué identificada por comparación directa con una muestra auténtica.^{10a} Se presentan a continuación los datos físicos y espectroscópicos para este compuesto.

Aceite amarillo.

Rf: 0.34 (hexano-acetato de etilo 9:1).

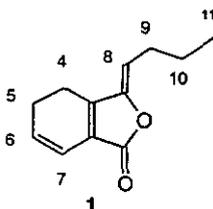
PM: 190.24 (C₂₄H₁₄O₂).

UV (metanol) $\lambda_{\text{máx}}$ nm (ϵ): 205 (11150), 272 (7887), 321 (6582).

IR $\nu_{\text{máx}}$ cm⁻¹(CHCl₃): 2963, 2935, 2873, 1755, 1668.

RMN¹H (CDCl₃, 500 MHz) δ , (integración, multiplicidad, constantes de acoplamiento, asignación): 6.29 (1H, td, J= 4.5, 9.5, H-7); 6.01 (1H, dt, J= 4.5, 10 Hz, H-6); 5.22 (1H, t, J = 8.0 Hz, H-8); 2.60 (1H, dt, J = 10.0, 1.0 Hz, H-4); 2.39 (2H, q, J = 7.5 Hz, H-9); 1.51 (2H, q, J= 7.5 Hz, H-10); 0.96 (3H, t, J = 7.5 Hz, H-11).

RMN¹³C (125 MHz, CDCl₃) δ , (tipo de carbono, asignación): 167.61 (C=O, C-1); 148.64 (C, C-3); 147.04 (C, C-3a); 129.86 (CH, C-6); 117.18 (CH, C-7); 124.06 (C, C-7a); 112.81 (CH, C-8); 28.12 (CH₂, C-9); 22.42 (CH₂, C-5); 22.42 (CH₂, C-10); 18.53 (CH₂, C-4); 13.74 (CH₃, C-11).



De las fracciones 12 a 21 fueron aislados 4 g de toquinólida B (**3**) por medio del empleo de diversas técnicas cromatográficas y por cristalización. Esta fué identificada por comparación directa de una muestra original previamente aislada en nuestro grupo de investigación.⁸ Los datos físicos y espectroscópicos de toquinólida B (**3**) se describen a continuación.

Sólido.

Rf: 0.5 (hexano-acetato de etilo 4:1).

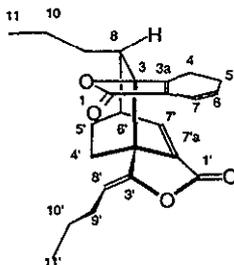
PM: 380 (C₂₄H₃₂O₄).

UV (metanol) $\lambda_{\text{máx}}$ nm (ϵ): 280 (6100).

IR $\nu_{\text{máx}}$ cm⁻¹(CHCl₃): 2962, 2935, 1755, 1705 y 1662.

RMN¹H (300 MHz, CDCl₃) δ , (integración, multiplicidad, constantes de acoplamiento, asignación): 7.52 (1H, d, J= 6.0 Hz, H-7'); 6.17 (1H, dt, J= 2.1, 9.3 Hz H-7); 5.92 (1H, dt, J= 3.9, 9.3 Hz, H-6); 4.65 (1H, dd, J= 8.7, 6.6 Hz, H-8'); 3.11 (1H, m, H-6'); 2.50 (1H, dd, J= 9.5, 8.5 Hz, H-4'), 2.4-2.1 (3 H, m, H-5', H-5), 2.1-1.9 (4H, m, H-4'), 1.69 (1H, m, H-8); 1.4-1.2 (8H, m, H-5', H-9, H-10, H-10'); 0.88 (3 H, t, J= 7.2 Hz, H-11'); 0.81 (3H, t, J= 7.2 Hz, H-11).

RMN¹³C (50 MHz, CDCl₃) δ , (tipo de carbono, asignación): 170.30 (C=O, C-1); 164.09 (C, C-1'); 161.66 (C, C-3a); 148.41 (C, C-3'); 144.84 (CH, C-7'); 132.83 (C, C-7'a); 129.26 (CH, C-6); 125.44 (C, C-7a); 116.49 (CH₂, C-7); 107.31 (CH, C-8'); 89.53 (C, C-3), 49.99 (C, C-3'a), 42.59 (CH, C-8), 36.60 (CH, C-6'), 28.48 (CH₂, C-4'), 26.91 (CH₂, C-9'), 22.52 (CH₂, C-5), 22.41 (CH₂, C-10'), 20.99 (CH₂, C-4), 16.89 (CH₂, C-5'), 14.03 (CH₃, C-11) 13.41 (CH₃, C-11').



3

De las fracciones 22 a 36 se aisló diligustilida (4) por medio del empleo de diversas técnicas cromatográficas y de cristalización. Esta fué identificada por comparación directa de una muestra original previamente aislada en nuestro grupo de investigación.^{8, 10b} Los datos físicos y espectroscópicos de diligustilida (3) se describen a continuación.

Sólido.

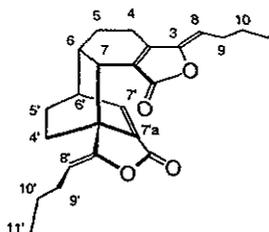
Pf: 123-125 °C.

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

IR ν_{\max} cm^{-1} (CHCl_3): 2962, 2872, 1790, 1710, 1661, 1631.

RMN^1H (300 MHz, CDCl_3) δ , (integración, multiplicidad, constantes de acoplamiento, asignación): 7.35 (1H, d, $J=6.6$), 5.07 (1H, t, $J=8.1$), 5.00 (1H, t, $J=7.5$), 3.23 (1H, d, $J=8.7$), 2.99 (1H, ddd, $J=6.5, 2.5, 2.5$), 0.92 (3H, t, $J=7.5$).

RMN^{13}C (50 MHz, CDCl_3) δ , (tipo de carbono, asignación) 168.12 (C=O, C-1), 164.63 (C, C-1'), 154.88 (C, C-3a), 150.37 (C, C-3'), 147.80 (CH, C-3), 142.09 (CH, C-7'), 133.80 (C, C-7'a), 126.27 (C, C-7a), 111.81 (CH, C-8), 108.99 (C, C-3), 43.90 (CH, C-6'), 34.80 (CH, C-7'), 32.23 (CH_2 , C-8), 27.87 (CH_2 , C-9'), 26.16 (CH_2 , C-9), 22.45 (CH_2 , C-10'), 20.86 (CH_2 , C-5), 20.56 (CH_2 , C-5'), 19.96 (CH_2 , C-4), 19.50 (CH_2 , C-4'), 14.05 (CH_3 , C-11) 13.77 (CH_3 , C-11').



4

6.2. Reacciones de toquinólida B (3).

6.2.1 Reducción de toquinólida B (3) con NaBH_4 en THF. Obtención de *rel*-(7'a S)-7',7'a -dihidro-toquinólida B (29).

A una solución de NaBH_4 (8 mg) en THF (5 ml, grado HPLC), se le adicionó una solución de 3 (20 mg, 0.052 mmol) en THF (10 ml) gota a gota, con agitación a temperatura ambiente por una hora siguiendo el avance de reacción por medio del análisis por CCF (3 veces, hexano-acetato de etilo 9:1). Se observó la aparición de un producto de menor polaridad que 3. Cuando hubo consumo total de la materia prima se adicionó agua (10 ml) y se extrajo con acetato de etilo (5 x 20 ml). Los extractos orgánicos reunidos se lavaron con salmuera, se secaron con Na_2SO_4 anhidro, y se les eliminó el disolvente al vacío. El residuo orgánico fue aplicado a un cromatofolio (eluyendo 3 veces, hexano-acetato de etilo 9:1), la mancha principal correspondiente al producto de reacción se separó y extrajo con acetona (5 veces), obteniéndose 29 (17

mg, 0.044 mmol, 85%) los datos físicos y espectroscópicos de **29** describen a continuación.

Sólido blanco.

Pf: 83 -85 °C.

Rf: 0.45 (hexano-acetato de etilo 7:3).

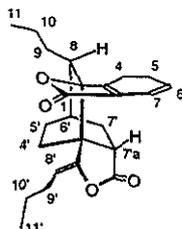
PM: 382.49 (C₂₄H₃₀O₄).

EM (IE, 70 eV) *m/z* (int. rel): 382 [M⁺] (47), 354 (20), 337 (97), 243 (20), 191 (100), 163 (28).

UV (etanol) λ_{máx} nm (ε): 284 (4308), 205 (14838).

IRν_{máx} (CHCl₃, espectro 2): 2960, 2934, 2871 (metilos y metilenos), 1792 (C=O, lactona enólica), 1750 (C=O, lactona α,β-insaturada), 1708 (éter de enol) cm.⁻¹

RMN¹H (200 MHz, CDCl₃, espectro 1) δ, (integración, multiplicidad, constantes de acoplamiento, asignación): 6.21 (1H, d, J= 9.4, H-7); 5.98 (1H, dt, J= 7.1,4.5, H-6); 4.7 (1H, dd, J= 7.2, 8.5, H-8''); 2.85 (1H, t, J= 10.9, H-7'a); 0.86 (3H, t, J= 7.0, H-11); 0.81(3H, t, J= 7.3, H-11').



29

6.2.2 Condensación intramolecular de toquinólida B (**3**) en medio básico.

Obtención de **30**.

A toquinólida B (**3**) (60.2 mg, 0.158 mmol) colocada en un matraz bola de dos bocas, al cual se le adaptó un refrigerante en posición de reflujo con un tapón septum, se le adicionó THF (6 ml, grado HPLC, mediante una aguja). El sistema fué purgado con nitrógeno (3 min) y se le adicionó NaOH (1 perla, ca. 0.1 g) y MeOH anhidro (0.5 ml).¹⁹ La mezcla heterogénea se calentó a reflujo (atmósfera inerte con empleo de un globo con nitrógeno). A los primeros minutos (10-12) de calentamiento la mezcla toma una coloración rojo sangre que permanece a lo largo de la reacción. El avance de reacción

no fue posible monitorearlo por CCF, debido a que el residuo permanece en el punto de aplicación; el calentamiento se suspendió a las 2 horas. Se eliminó el exceso de disolvente al vacío (hasta 3 ml aproximadamente) y se diluyó con CH_2Cl_2 (20 ml), se lavó con HCl (al 10 %, 20 ml) y con salmuera, se secó con Na_2SO_4 , y se evaporó. El análisis del crudo de reacción indica la presencia de al menos dos productos de reacción más polares que la materia prima: el de mayor polaridad y más abundante no se presenta como una mancha homogénea, y mediante la adición de dos gotas de ácido acético a la mezcla de elución (hexano-acetato de etilo 4:1), se logra homogeneidad. Se corrió una placa comparativa entre la mezcla de reacción y el cetoácido de toquinólida B (**35**), observándose que el producto de mayor polaridad es ligeramente más polar que **35**, esta mezcla de reacción fue aplicada a una CC (2 cm diámetro, 20 cm de altura, hexano-acetato de etilo 9:1). En las primeras fracciones eluyen muy pequeñas cantidades de compuesto y las mezclas son complejas, observándose la presencia de un producto menos polar que **3**, la complejidad de la muestra y poca abundancia no permitió su aislamiento y purificación. En las fracciones 35-45 (45 mg, 0.113 mmol) se obtiene el producto de mayor polaridad y más abundante **30** (30 mg, 0.075 mmol, 47.5 %), después de purificar por CCF (hexano-acetato de etilo 7:3). Los datos físicos y espectroscópicos de **30** se describen a continuación.

Sólido transparente.

Pf: 170-172 °C.

Rf: 0.15 (hexano-acetato de etilo 4:1 + 2 gotas de ácido acético).

PM: 398.49 ($\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{O}_5$).

EM (IE, 70 eV) m/z (int. rel): 398 [M^+] (20), 380 (15), 356 (100), 338 (65), 271 (15), 149 (15), 190 (50), 91(5).

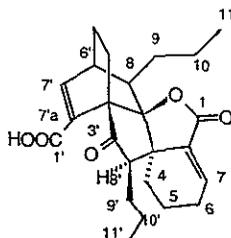
UV (etanol) $\lambda_{\text{máx}}$ nm (ϵ): 210 (25550).

IR $\nu_{\text{máx}}$ cm^{-1} (CHCl_3 , espectro 3): 3400-2870 (COOH), 2961 y 2873 (metilos y metilenos), 1753 (C=O, lactona), 1709 (C=O, cetona), 1684 (C=O, ácido)

RMN¹H (300 MHz, CDCl_3 , espectro 5) δ , (integración, multiplicidad, constantes de acoplamiento, asignación): 7.76 (1H, d, $J= 7.2$ Hz, H-7'); 6.91 (1H, t, $J= 3.45$ Hz, H-7);

2.92 (1H, s, H-6'); 2.63 (1H, m, H-8'); 2.41-2.21 (2H, m, H-6); 1.89-1.81 (1H, m, H-8); 1.5-1.3 (1H, m, H-9'); 1.64-1.5 (1 H, m, H-9'); 0.88 (6H, J= 7.2, H-11 y H-11').

RMN¹³C (75 MHz, CDCl₃, espectro 4): δ , (tipo de carbono, asignación): 212.85 (C=O de cetona C-3'); 168.87 (C=O de ácido, C-1); 167.36 (C=O de lactona, C-1'); 154.23 (CH, C-7'); 137.19 (CH, C-7); 134.45 (C, C-7'a); 132.12 (C, C-7a); 94.04 (C-O, C-3); 57.23 (CH, C-8'); 56.05 (C, C-3'a); 50.89 (C, C-3a); 42.00 (CH, C-8); 35.75 (CH, C-6'); 32.56 (CH₂); 31.54 (CH₂, C-9'); 28.93 (CH₂, C-10); 24.71 (CH₂, C-6); 23.97 (CH₂, C-5); 22.01 (CH₂); 20.78 (CH₂); 17.79 (CH₂); 16.16 (CH₂); 14.10 (CH₃, C-11 y C-11').



30

6.2.2.1 Metilación de 30 con diazometano.

Una solución de NaOH (1.25 g) en agua (2 ml) y metanol (6.5ml) se colocó en un aparato para generar diazometano, se calentó a 55 °C y se adicionó una solución de diazald (5.2 g) en éter (30 ml).²⁰ A una solución de **30** (20 mg, 0.050 mmol) en éter-metanol (1:1, 5ml) se le adicionó la solución etérea de diazometano en un periodo de 20 min (15 ml), se evaporó el disolvente y el producto de reacción se purificó por CCF (hexano-acetato de etilo 4:1), obteniéndose **34** (14 mg, 0.035 mmol, 70 %). Los datos espectroscópicos de **34** se describen a continuación.

Aceite amarillo.

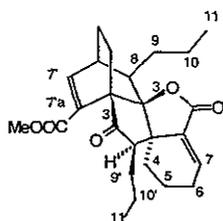
Rf: 0.4 (hexano-acetato de etilo 75 :25).

PM: 412 (C₂₅H₃₂O₅).

IR $\nu_{\text{máx}}$ cm⁻¹ (CHCl₃, espectro 29): 2958, 2873 (metilos y metilenos), 1755 (C=O, lactona), 1712, 1681, 1614.

RMN¹H (300 MHz, CDCl₃, espectro 7) δ (integración, multiplicidad, constantes de acoplamiento, asignación): 7.59 (1H, d, J= 6.9, H-7'); 6.90 (1H, t, J= 3.6 H-7); 2.90-2.87 (1H, m, H-6'); 2.64 (1H, m, H-8'); 2.19-2.12 (1H, m, H-5'); 1.88-1.70 (1H, m, H-8); 1.5-1.38 (1H, m, H-9' o H-5'); 1.1-0.7 (1H, m, H-9').

RMN¹³C (CDCl₃, 75 MHz, espectro 30) δ , (tipo de carbono, asignación): 212.91 (C=O, C-3'), 168.90 (C=O, C-1), 163.49 (C=O, C-1'), 151.25 (CH, C-7'), 136.91 (CH, C-7), 135.03 (C, C-7'a), 132.30 (C, C-7a), 94.22 (C-O, C-3), 57.35 (CH, C-8'), 56.24 (C, C-3'a), 51.93 (CH₃COO-), 50.89 (C, C-3a), 42.15 (CH, C-8), 35.45 (CH, C-6'), 32.49 (CH₂), 31.63 (CH₂, C-9'), 28.93 (CH₂, C-10), 24.71 (CH₂, C-6), 24.00 (CH₂, C-5), 22.19 (CH₂), 20.78 (CH₂), 17.79 (CH₂), 16.19 (CH₂), 14.22 (CH₃), 14.10 (CH₃).



34

6.2.3 Hidrólisis básica de toquinólida B (3). Obtención de ceto-ácido de toquinólida B (35).

Experimento 1

A una solución de toquinólida B (3, 100 mg, 0.26 mmol) en acetona (10 ml) se adicionó Na₂CO₃ (al 10 %, 10 ml, 9.43 mmoles). La mezcla se calentó a reflujo (baño de agua). Después de unos minutos no se observa la disolución total, así que se adicionó acetona (10 ml). Se siguió el curso de la reacción por el medio de análisis por CC. Después de 1.5 h, se suspendió la reacción (aunque no se había consumido la materia prima). Se adicionó HCl (al 10 % gota a gota, hasta pH 5) y se extrajo con acetato de etilo (3 X 25 ml). Los extractos orgánicos se lavaron con una solución saturada de NaCl, se secaron con sulfato de sodio anhidro y se evaporó el disolvente, obteniéndose el crudo de reacción (100 mg) el cual fue purificado por CCPR (gradiente de elución iniciando con hexano-acetato 9:1). Las primeras fracciones contienen a 3 y productos

no identificados. Las siguientes contienen a **35** (50 mg, 0.126 mmol, 47 %), que es sensible al aire y debe ser guardado en nitrógeno y en refrigeración.

Experimento 2

A una solución de **3** (500 mg, 1.31 mmoles) en acetona (12.5 ml), se adicionó Na_2CO_3 (al 10 %, 6.5 ml, 6.13 mmol) y se calentó. Después de 1.5 h se siguieron los mismos pasos que en el experimento 1, obteniéndose el crudo de reacción (450 mg) que fue purificado por CCPR (hexano-acetato de etilo 85:15), obteniéndose **35** (282 mg, 0.710 mmol, 54 %) y **3** (146 mg, 0.368 mmol, 28 %).

Influencia del Tiempo de Reacción en el Rendimiento

Experimentos 3 y 4.

A dos soluciones de toquinólida B (**3**, 220 mg, 0.579 mmol y 210 mg, 0.553 mmol) en acetona se les adicionó Na_2CO_3 (al 10 %, 3 ml), se calentó a reflujo por 3 y 6 horas respectivamente, y se analizaron por CCF. Se siguió el procedimiento descrito en el experimento 1. El crudo de reacción se purificó por CCPR, obteniéndose **35** (110 mg, 0.276 mmol, 47 % para 3 h y 100 mg, 46 % para 6 h) y **3** (13 mg de 0.034 mmol, 6 % para 3 h).

Influencia de la concentración de base en el rendimiento.

Experimento 5 y 6.

A dos soluciones de toquinólida B (**3**, 202 mg, 0.531 mmol y 203 mg, 0.534 mmol) en acetona (6 ml para cada una). Se les adicionó Na_2CO_3 (al 20 y 40 %, 3 ml respectivamente). Las mezclas se calentaron a reflujo por 6 horas (por separado en un baño de agua). Se siguió el procedimiento descrito en el experimento 1, obteniéndose **3** (20 mg, 0.052 mmol, 9.9 % para 20 % de base y 15 mg, 0.039 mmol, 7 % para 40 % de base) y **35** (94 mg, 0.236 mmol, 44 % para el 20 % de base y 105 mg, 0.256 mmol, 47 % para 40 % de base). Los datos físicos y espectroscópicos de **35** se describen a continuación.

Sólido cristalino .

Pf:185-187 °C

PM: 398.04 (C₂₄H₃₀O₅).

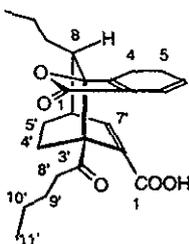
Rf: 0.39 (hexano-acetato de etilo 7:3 y 2 gotas de ácido acético).

EM (IE, 70 eV) *m/z* (int. rel): 398 [M⁺], 191 (50), 190 (100), 148 (65), 120 (6), 105 (10), 77 (8).

IR (CHCl₃, Espectro 9) $\nu_{\text{máx}}$ cm⁻¹: 3400-2450 (HO de ácido), 1747 (γ -lactona α,β insaturada), 1706 (C=O cetona),1689 (C=O ácido).

RMN¹H (200 MHz, CDCl₃, Espectro 31) δ (integración, multiplicidad, constantes de acoplamiento, asignación): 7.49 (1H, s, H-7'), 6.12 (1H, dt, J= 1.78 Hz, H-7), 5.86 (1H, dt, J= 3.98 Hz, H-6), 2.86-2.82 (1H, m, H-6'), 2.70-2.00 (2H, m, H-8'), 1.80-1.00 (1H, m, H-8), 0.87 (3H, t, J= 7.2, H-11' ó H-11), 0.86 (3H, t, J= 7.1, H-11 ó H-11').

RMN¹³C (50 MHz, CDCl₃, Espectro 10): δ , (tipo de carbono, asignación): 208.25 (C=O cetona, C-3'), 170.74 (C=O lactona, C-1), 169.89 (C=O ácido, C-1'), 166.63 (C, C-3a), 149.56 (CH ,C-7'), 136.02 (C, C-7'a), 128.37 (CH, C-6), 122.26 (C, C-7a), 116.48 (CH, C-7), 90.28 (C, C-3), 58.53 (C, C-3'a), 42.69 (CH, C-8), 40.90 (CH₂, C-8'), 33.52 (CH, C-6'), 27.58 (CH₂, C-9'), 25.23 (CH₂), 22.63 (CH₂, C-5 ó C10'), 21.95 (CH₂), 20.72 (CH₂), 18.21 (CH₂), 14.05 (CH₃, C11),13.69 (CH₃, C11').



35

6.3 Reacciones de ceto-ácido de toquinólida B (35).

6.3.1 Reacciones del ceto-ácido de toquinólida B (35) con diazometano.

Obtención del ceto-éster de toquinólida B (38) y la pirazolina (39).

A una solución de ceto-ácido de toquinólida B (**35**, 60 mg, 0.150 mmol) en metanol-éter etílico (1:1, 4 ml), se adicionó una disolución de diazometano en éter (20 ml, obtenida según 6.2.2.1)²⁰ a temperatura ambiente durante 50 min. Se evaporó el disolvente y se analizó por CCF, observándose la formación de un solo producto de reacción, cromatográficamente homogéneo de menor polaridad que la materia prima, que revela amarillo por tratamiento con sulfato cérico. Se purificó el crudo de la reacción por CCF (hexano-acetato de etilo 4:1) y fue extraído con acetona, obteniéndose **39** (35 mg, 0.077 mmol). Es importante mencionar que se observa que en el punto de aplicación de la cromatoplaque, la presencia de subproductos de gran polaridad. Los datos físicos y espectroscópicos de **39** se presentan a continuación.

Sólido cristalino.

Pf: 100-103 ° C.

Rf: 0.52 (hexano-acetato de etilo 7:3).

PM: 454.56 (C₂₆H₃₄N₂O₅).

EM (IE) *m/z* (int. rel): 455 [M⁺], 454 [M⁺], 236 (40), 204 (100), 179 (40), 161 (10), 148 (20), 119 (10).

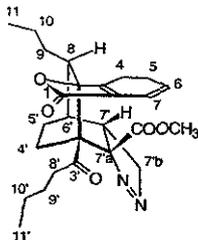
UV (etanol) λ_{máx} nm (ε): 207 (11529), 289 (4294).

IR (CHCl₃, espectro 32): 2960, 2934, 2873, 1746, 1710.

RMN¹H (300 MHz, CDCl₃, espectro 12) δ (integración, multiplicidad, constantes de acoplamiento, asignación): 6.24 (1H, dd, J= 9.6, 2.1 Hz, H-7); 5.94 (1H, m, H-6); 4.90 (1H, dd, J= 18.9, 2.7, H-7'b); 4.71 (1H, dd, J= 18.9, 9.0, H-7'b); 3.67 (3H, s, CH₃C=O); 3.15 (1H, ddd, J= 6.3, 8.4, 18.4, H-8'); 2.81 (1H, da, J= 8.7, H-7'); 2.51-2.34 (1H, m, H-8'); 1.81-1.78 (2H, m, H-6' y H-8); 1.40-1.24 (1H, m); 1.02-0.92 (1H, m); 0.89 (3H, t, J= 7.2, H-11); 0.85 (3H, t, J = 7.5, H-11').

RMN¹³C (75 MHz, , CDCl₃, espectro 32): δ, (tipo de carbono, asignación) 207.78 (C=O, C-3'), 170.47 (C=O, C-1); 168.44 (C=O, C-1'); 165.33 (C, C-3a); 127.75 (CH, C-6); 123.78 (C, C-7a); 117.51 (CH, C-7); 102.00 (C, C-7'a); 89.86 (C-O, C-3); 83.27 (CH₂, C7'b); 58.48 (C, C3'a); 53.25 (CH₃, CH₃C=O); 46.12 (CH, H-8); 40.52 (CH₂, H-8');

38.40 (CH, C-7'); 30.37 (CH, C-6'), 26.50 (CH₂), 25.60 (CH₂), 23.11 (CH₂), 22.50 (CH₂), 22.07 (CH₂), 21.03 (CH₂,C), 20.84 (CH₂), 13.92 (CH₃,C-11), 13.15 (CH₃, C-11').



39

A una solución de ceto-ácido de toquinólida B (**35**, 60 mg, 0.150 mmol) se le adicionó una disolución etérea de diazometano (15 ml gota a gota), a temperatura ambiente durante 20 min; se evaporó el disolvente aún sin haberse consumido totalmente la materia prima y se procedió a purificar el crudo de reacción mediante CCF, eluyendo con hexano-acetato de etilo 4:1, obteniéndose 45 mg de **38** y **35** (no cuantificado). Los datos espectroscópicos y físicos de **38** se describen a continuación.

Aceite.

Rf: 0.38 (hexano-acetato 75:25)

PM: 412.52 (C₂₅H₃₂O₅).

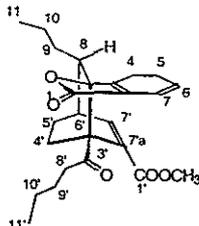
EM (IE) *m/z* (int. rel): 413 [M⁺], (5), 412 [M⁺] (10), 222 (47), 190 (100), 189 (15), 165 (35), 148 (55), 120 (40), 105 (15).

IR (CHCl₃, espectro 34) $\nu_{\text{máx}}$ cm⁻¹: 2960, 2938, 2874 (metilos y metilenos), 1747 (C=O, γ -lactona), 1719 (C=O).

RMN¹H (300 MHz, CDCl₃, espectro 14) δ (integración, multiplicidad, constantes de acoplamiento, asignación): 7.26 (1H, d, J=6.9, H-7'); 6.10 (1H, d, J= 9.3 H-7); 5.86 (1H, dt, J= 3.6, 7.2, H-6); 3.69 (3H, s, CH₃C=O); 2.83-2.82 (1H, m, H-6'); 2.69-2.38 (CH₂, H-8'); 1.71-1.60 (1H, m, H-8); 1.55-1.19 (1H, m, H-9'); 1.15 (1.01 (1H, m, H-9')); 0.87 (6H, t, J= 7.0 Hz, H-11 y H-11').

RMN¹³C (75 MHz, CDCl₃, espectro 15) δ , (tipo de carbono, asignación): 208.62 (C=O, C-3'); 170.70 (C=O, C-1); 166.72 (C=O, C-1'); 165.72 (C, C-3a); 146.44 (CH,C-7');

136.90 (C, C-7'a); 128.47 (CH, C-6); 122.30 (C, C-7a); 116.54 (CH, C-7); 90.53 (C-O, C-3); 58.99 (C,C-3'a); 51.99 (CH₃, C-3); 42.83 (CH, C-8); 41.04 (CH₂, C-8'); 33.39 (CH, C-6'); 27.75 (CH₂, C-9); 25.31 (CH₂); 22.7 (CH₂, C-5); 22.17 (CH₂); 20.74 (CH₂); 18.40 (CH₂); 14.06 (CH₃, C11); 13.94 (CH₃, C-11').



38

6.3.2 Reducción de ceto-ácido de toquinólida B (35).

6.3.2.1 Reacción de reducción de 35 en isopropanol. Obtención de los epímeros 41 y 42.

A una solución de **35** (180 mg, 0.451 mmol) en isopropanol (5 ml), se le adicionó NaBH₄ (20 mg, 0.540 mmol) en isopropanol (2 ml). Después de algunos minutos el análisis por CCF revela la formación de un producto de menor polaridad que la materia prima y la mezcla toma una coloración amarilla. Después de 1.5 h, se adicionó agua (5 ml) y se agitó por 5 minutos. Se extrajo con acetato de etilo (5 X 20 ml). Las fases orgánicas se lavaron con una solución de NaCl saturada, se secaron con sulfato de sodio anhidro y fueron evaporadas al vacío, obteniéndose el crudo de reacción (160 mg), que fue purificado por CCPR (3 cm diámetro y 5 cm de altura, hexano-acetato de etilo 9:1). Este procedimiento permitió el aislamiento de la mezcla de **41** y **42** (50 mg, 0.1306 mmol). Esta mezcla fue sometida a re-purificación en CCF (eluyendo 3 veces, hexano, acetato de etilo, acetona 90:5:5) obteniéndose **41** (compuesto menos polar, 20 mg, 0.050 mmol, 10 %) y **42** (compuesto más polar, 10 mg, 0.026 mmol, 5 %) y **35** (no cuantificado).

41: Aceite amarillo.

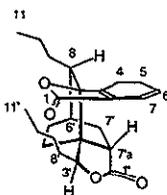
PM: 384.52 (C₂₄H₃₄O₄).

EM (IE, 70 eV) *m/z* (int. rel): 384 [M⁺] (10), 191 (100), 161 (7), 148 (10), 105 (8).

IR (CHCl₃, espectro 35) $\nu_{\text{máx}}$ cm⁻¹: 2961, 2936, 2876, (metilos y metilenos), 1751 (C=O).

RMN¹H (500 MHz, CDCl₃, espectro 18): δ (integración, multiplicidad, constantes de acoplamiento, asignación): 6.21 (1H, dt, J= 9.5, 1.5 Hz, H-7); 6.02 (1H, dt, J= 9.5, 3.5 Hz, H-6); 3.99 (1H, dd, J= 3.5, 9.5 Hz, H-3'); 2.68 (1H, dd, J= 11.0, 10.0 Hz, H-8); 2.47-2.48 (1H, m); 2.166 (1H, m); 1.95-1.98 (1H, m); 1.70-1.73 (2H, m, H-7'a); 1.65-1.61 (1H, m); 1.41-1.36 (1H, m); 1.32-1.22 (3H, m); 1.36-1.40 (1H, m); 1.19-1.14 (1H, m); 1.1-1.0 (1H, m).

RMN¹³C (125 MHz, CDCl₃, espectro 36): 177.15 (C=O, 1); 170.16 (C=O, 1'); 162.78 (C=C-COO, C-3a); 129.97 (CH, C-6); 125.73 (C=C-COO, C-7a); 116.90 (CH, C-7); 90.02 (C, C-3), 89.92 (CH, C-3'), 48.19 (C, C-3'a), 47.30 (CH, C-7'a), 44.87 (CH,C-8); 29.39 (CH₂); 28.64 (CH₂); 28.04 (CH₂); 27.78 (CH, C-6'); 27.08 (CH₂); 26.76 (CH₂); 22.95 (CH₂); 22.36 (CH₂); 22.17 (CH₂); 21.08 (CH₂); 18.60 (CH₂); 14.04 (CH₃, C11); 13.03 (CH₃, C11').



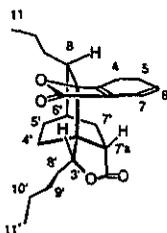
41

42: Sólido blanco.

Pf: 135-140 ° C.

PM: 384.52 (C₂₄H₃₄O₄).

RMN¹H (200 MHz, CDCl₃, espectro 19): δ (integración, multiplicidad, constantes de acoplamiento, asignación) 6.26 (1 H, dt, J= 9.6, 1.72, H-7), 6.02 (1 H, dt, J= 9.52, 4.24, H-6), 4.06 (1 H, d, J= 11.8, H-3'), 0.82 (6 H, t, J= 7.0 Hz, H-11 y H-11').



42

6.3.2.2 Reducción de Ceto-ácido de toquinólida B (35) con NaBH₄ en etanol. Obtención del dihidroderivado de toquinólida B (43).

A una solución del ceto-ácido de toquinólida B (35, 50 mg, 0.126 mmol) en etanol (4 ml) se le añadió NaBH₄ (5 mg). La mezcla se agitó a temperatura ambiente por 30 min, el avance de reacción se monitoreó por CCF (3 veces, hexano-acetato de etilo 9:1 más dos gotas de ácido acético), observándose la aparición de cuatro productos: tres de menor polaridad (a-c) que la materia prima y uno de mayor polaridad (d, figura 6A) sin consumo total de la materia prima después de 40 minutos. La cromatoplaqa comparativa de esta mezcla con 41 y 42, permite deducir que son a y b (figura 6B). Se adicionó agua (5 ml) y se extrajo con acetato de etilo (3 x 20 ml). Los extractos orgánicos se lavaron con solución saturada de NaCl, se secaron con Na₂SO₄, y se evaporaron al vacío, obteniéndose el crudo de reacción (40 mg), el cual fue purificado por CCF (eluida 4 veces, hexano-acetato de etilo 9:1 con 2 gotas de ácido acético). Se separaron cuatro zonas: zona 1: a y b (41 y 42), 2: c (43), 3: 35 sin reaccionar y 4: d, figura 6C), y extrajeron con acetona. El análisis por CCF de los compuestos puros permite observar que d, se transforma en un compuesto de menor polaridad semejante a c (43). En conclusión se obtuvo una mezcla de 41 y 42 (8 mg, 0.020 mmol, 15 %), 43 (17 mg, 0.044 mmol, 30 %) y 35 (8 mg, 0.020 mmol, 15 %). La identidad de 41 fue corroborada por RMN¹H, ya que fue posible aislarlo en una corrida, pero 42 no fue aislado y solo se determinó su presencia por análisis de CCF.

6.3.2.3 Reducción de Ceto-ácido de toquinólida B (35) con NaBH₄ en etanol y CeCl₃·7H₂O.

Una solución de 35 (100 mg, 2.251 mmol) y CeCl₃ (150 mg) en etanol (8 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 10 minutos, al cabo de los cuales se le adicionó NaBH₄ (10 mg, 0.270 mmol). La reacción se agitó a temperatura ambiente y se siguió por CCF por 16 horas, observándose que no hay modificación de la materia prima. Se añadió más NaBH₄ (5 mg, 0.135 mmol) y se continuó la agitación a temperatura ambiente por dos horas más. El análisis por CCF revela que no hay modificación de la materia prima,

se adicionó isopropanol (3 ml) y NaBH_4 (10 mg, 0.270 mmol). A las 19 h de reacción se observa un producto de menor polaridad por CCF por lo que se adicionó agua y se siguió el procedimiento anteriormente descrito en 6.3.2.2, para generar el crudo de reacción el cual se purificó por CCPR, obteniéndose una mezcla de **43** y **41** (30 mg). Esta mezcla fue resuelta en sus componentes por medio de CCF (hexano-acetona 88:12, eluyendo en tres ocasiones), obteniéndose **43** (16 mg, 0.041 mmol, 16 %). Los datos físicos y espectroscópicos se presentan a continuación.

Sólido.

Pf: 135-142 ° C.

Rf: 0.45 (85:15 hexano-acetato de etilo).

PM: 382.49 ($\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{O}_4$)

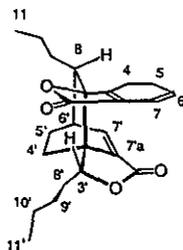
EM (IE) m/z (int. rel): 382 [M^+] (5), 193 (100), 161 (20), 148 (50), 137 (5).

UV (etanol) $\lambda_{\text{máx}}$ nm (ϵ): 205 (4030).

IR (espectro 37, CHCl_3) $\nu_{\text{máx}}$ cm^{-1} 2962, 2934, 2875 (metilos y metilenos), 1749 (C=O).

RMN¹H (300 MHz, CDCl_3 , espectro 38): δ (integración, multiplicidad, constantes de acoplamiento, asignación): 7.49 (1H, d, J 6.0, H-7'), 6.18 (1H, dt, J 9.0, H-7), 5.92-5.98 (1H, m, H-6), 4.36-4.31 (1H, m, H-3'), 3.04-3.03 (1H, m, H-6').

RMN¹³C (75 MHz, CDCl_3 , espectro 39): 170.15 (C=O, C-1), 167.09 (C=O, C-1'), 162.65 (C, C3a), 144.78 (CH, C-7') 135.21 (C, C-7'a), 129.46 (CH, C-6), 116.45 (CH, C-7), 89.56 (C-O, C-3), 89.039 (CH, C-3'), 49.93 (CH, C-3'a), 44.98 (CH, C-8), 35.20 (CH, C-6'), 29.57 (CH_2 , C-9), 29.28 (CH_2), 28.72 (CH_2), 27.25 (CH_2), 22.59 (CH_2), 22.24 (CH_2) 21.36 (CH_2), 20.99 (CH_2), 17.38 (CH_2), 14.02 (CH_3 , C-11), 13.60 (CH_3 , C-11').



43

6.4 Reducción de 39 con NaBH₄ en etanol

A una solución de NaBH₄ (5 mg, 0.135 mmol) en etanol (2 ml), se le adicionó una solución de **39** (30 mg, 0.066 mmol) en etanol (8 ml) gota a gota. Se siguió la reacción por CCF, se suspendió la reacción a las tres horas sin haber consumo total de la materia prima. Se adicionó agua (10 ml), se extrajo con CH₂Cl₂ (4 x 25 ml). Los extractos orgánicos se reunieron, se lavaron con salmuera, se secaron con NaSO₄ anhidro y se evaporaron al vacío. El crudo de reacción (20 mg) fue purificado por CCF (eluyendo 4 veces, hexano-acetato 4:1), obteniéndose **45** (14 mg, 0.031 mmol, 47 %)

Aceite.

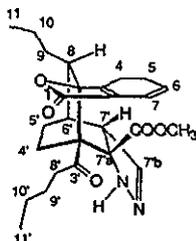
Rf: 0.3 (hexano-acetona 8.2).

PM: 454.56 (C₂₆H₃₄N₂O₅).

IR $\nu_{\text{máx}}$ cm⁻¹ (espectro, CHCl₃, espectro 28) 3377, 2960, 2935, 2875, 1747, 1712.

RMN¹H (300 MHz, espectro 40, CDCl₃) δ (integración, multiplicidad, constantes de acoplamiento, asignación): 6.66 (1H, sa, H-7'b); 6.19 (1H, m, H-7); 5.93 (1H, m, H-6); 3.9 (1H, sa, R-NH); 3.72 (3H, s, CH₃OCOR); 0.87 (6H, t, H-11 y H-11').

RMN¹³C (75MHz, CDCl₃, espectro 27): 209.20 (C=O, C-3'); 172.44 (C=O, C-1); 170.26 (C=O, C-1'); 164.63 (C, C-3a); 145.74 (CH); 128.39 (CH, C-7); 124.83 (C,C-7'a); 117.33 (CH, C-6); 91.55 (C, C-3); 70.23 (C); 60.82 (C); 57.01 (C); 53.23 (CH₃); 49.26 (C); 44.46 (CH); 41.17 (CH₂); 29.70 (C); 28.44 (CH); 26.01 (CH₂); 25.36 (CH₂); 23.15 (CH₂); 22.78 (CH₂); 22.66 (CH₂); 22.07 (CH₂); 20.87 (CH₂); 17.52 (CH₂); 13.98 (CH₃).



45

7. RESUMEN Y CONCLUSIONES

Se llevaron a cabo reacciones para la modificación estructural de toquinólida B (**3**), un metabolito secundario bioactivo aislado de *Ligusticum porteri*. El análisis de los resultados obtenidos permitió evidenciar la reactividad particular de las ftáldas diméricas. Algunas observaciones relevantes se enlistan a continuación.

- ◇ Las reacciones de adición nucleofílica efectuadas en toquinólida B (**3**, esquema 21) y el ceto-ácido de toquinólida B (**35**, esquema 22), para la obtención de **29** y **39**, en conjunto con la información previamente descrita para diligustílida (**4**, esquema 8), permiten concluir que la ligadura doble C(7)-C(7'a) es más reactiva a nucleófilos en comparación con la olefina C(3a)-C(7a), y que esta reacción procede de manera estéreo-selectiva.
- ◇ El tratamiento en medio alcalino de **3** que genera **30**, en conjunto con la información descrita para diligustílida (**4**), pone de manifiesto la generalidad de las reacciones intramoleculares de las ftáldas diméricas. Es importante hacer notar que para toquinólida B (**3**), esta reacción es *situ*-, *regio*- y *estéreo*- diferenciada.
- ◇ La hidrólisis en medio básico de toquinólida B (**3**), generó **35** como único producto lo cual pone de manifiesto la mayor labilidad de la lactona fusionada al biciclo (C(7'a)-C(3'a)), en contraste a la reactividad presentada para diligustílida (**4**, esquema 7), la cual produce **23** y **24** (esquema 7). La diferencia observada puede ser atribuida a que la hidrólisis de **3** genera un ceto-ácido y un hidroxí-ácido el cual puede lactonizarse fácilmente, mientras que **4** permite la formación de ceto-ácidos (**23** y **24**).
- ◇ Se encontraron las condiciones de reacción necesarias para la obtención de **43**, **41** y **42** a partir de **3**, por medio del empleo de reacciones consecutivas.
- ◇ Se hizo el hallazgo experimental de la lactonización del hidroxí-ácido de toquinólida B (**40**) durante el proceso de purificación cromatográfica para generar **43**, contrario a lo observado para el hidroxí-ácido de diligustílida (**25**, esquema 7), el cual no sufre lactonización en el proceso de aislamiento.
- ◇ Se encontró que el compuesto **39** no sufre reducción 1,2 por tratamiento con NaBH₄ en

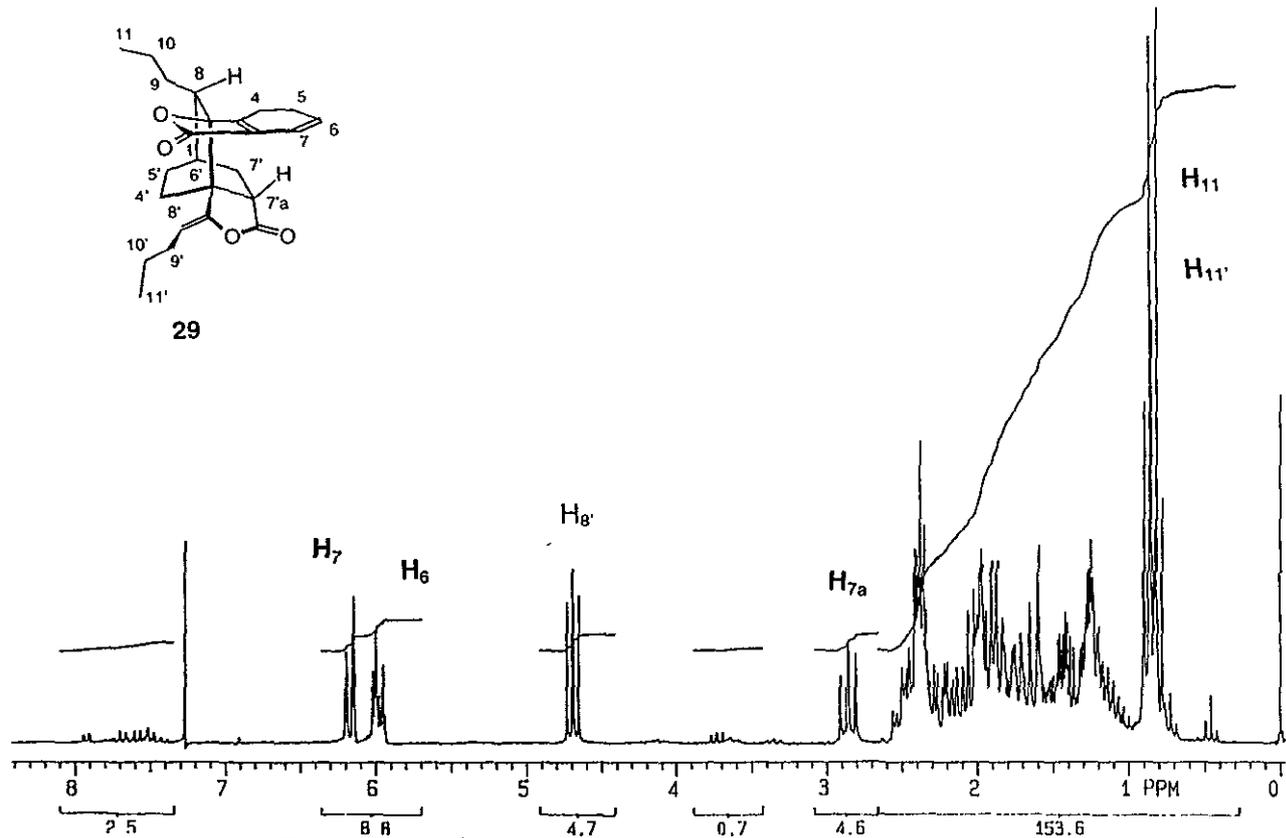
En conclusión, se obtuvieron diez derivados de toquinólida B (**3** esquemas 22 y 23), algunos de estos no esperados (**3** → **30**, **35** → **41** + **42**, **39** → **45**), y cuya formación fué racionalizada en función de las estructuras de las materias primas y los productos. Los resultados obtenidos ponen de manifiesto el comportamiento químico singular de las ftálidas diméricas.

8. Bibliografía.

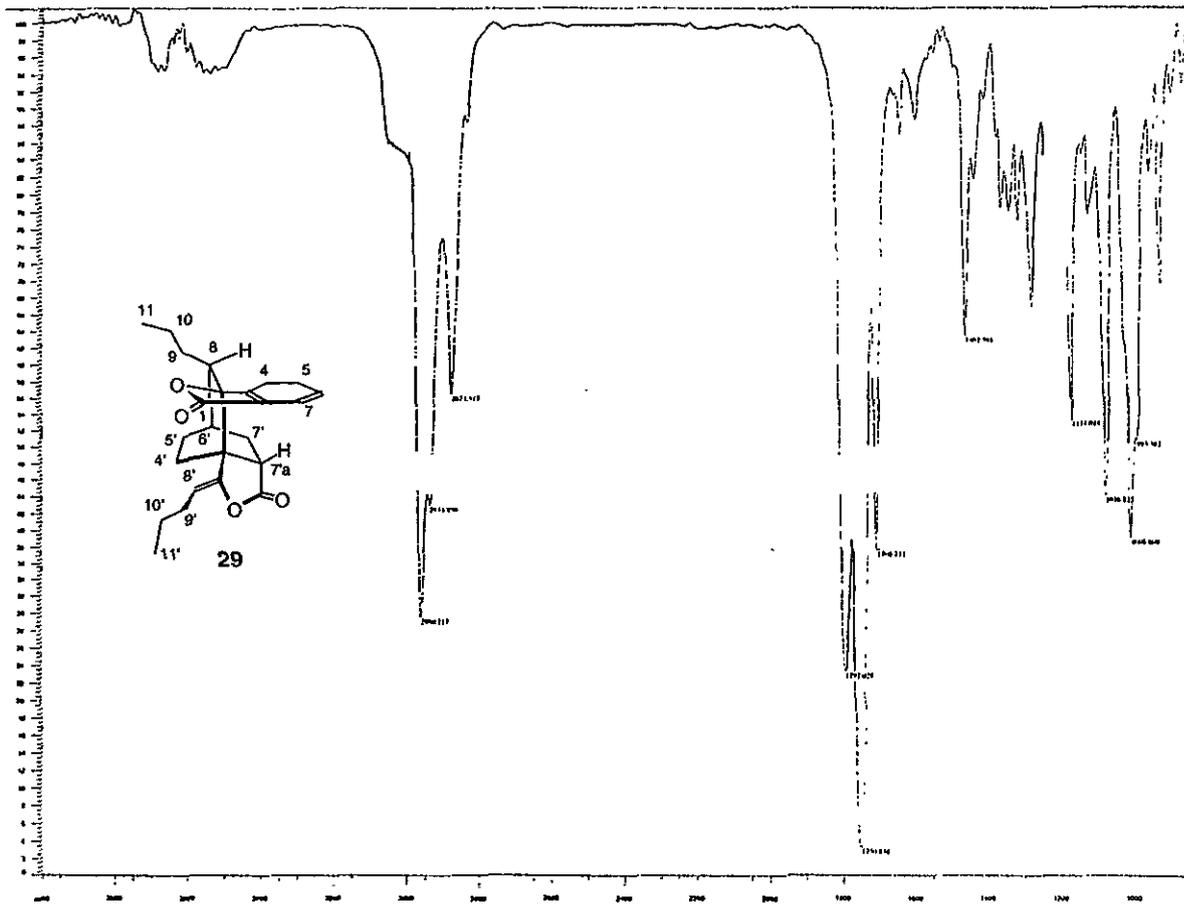
- 1) Gijbels, M. J. M.; Scheffer, J.J.C.; Svendsen, A. B. Phthalides in Umbelliferae. *Rivista Italiana E.P.P.O.S.* **1979**, *61*, 335-341.
- 2) a) Gijbels, M. J. M.; Scheffer, J. J. C.; Svendsen, A. B. Analysis of phthalides from Umbelliferae by combined liquid-solid and gas-liquid. *Chromatography* **1982**, *14*, 352-354 b) Lin, L. Z.; He, X.G.; Lian, L. Z.; King, W.; Elliot, J. Liquid chromatographic-electrospray mass spectrometric study of the phthalide of *Angelica sinensis* and chemical changes of *Z*-ligustilide. *J. Chromatogr.* **1998**, *810*, 71-79 c) Gillespie, S. G.; Duszynski, J. N. Phthalides and monoterpenes of the hexane extracts of the roots of *L. porteri*, *L. filicium*, and *L. tenuifolium*. *Planta. Med.* **1998**, *68*, 382.
- 3) a) Kaouadji, M.; De Pachtere, F.; Pouget, C.; Chulia, A. Three additional phthalide derivatives. An epoxy monomer and two dimers, from *Ligusticum wallichii* Rhizomes *J. Nat. Prod.* **1986**, *49*, 872-877.
- 4) a) Beck, J.; Stermitz, F. Addition of methyl thioglycolate and benzylamine to *Z*-Ligustilide a bioactive unsaturated lactone constituent of several herbal medicines. An improved synthesis of *Z*-ligustilide *J. Nat. Prod.* **1995**, *58*, 1047-1055. b) Banerjee, S.; Gupta, B.; Sheldrick, W.; Höfle, G. Angeolide, a novel lactone from *Angelica glauca* *Liebigs Ann. Chem.* **1982**, 699-770.
- 5) a) Li, S.; Wang, Z.; Farg, X.; Li, Y. Synthesis of *Z*-ligustilide. *Synth. Commun* **1993**, *23*, 2909-2913 b) Ozak, Y.; Setsuko, S.; Masatoshi, H. Centrally acting muscle relaxant effect of phthalides (ligustilide, cnidiolide and senkyunolide obtained from *Cnidium officinale makino*) *Yakugaku Zasshi* **1989**, *109*, 402-406. (Chem. Abstr.111:90319y) c) Wun, Ko.; Sing, L.; Ching, Yeh.; Yao, W. Alkylphthalides isolated from *Ligusticum wallichii* franch and their in vitro inhibitory effect on rat uterine contraction induced by prostaglandin F_{2α} *T'ai-wan Y Hsueh Hui Tsa Chih.* **1977**, *76*, 669-667 (Chem. Abstr. 88: 130721p)
- 6) a) Bye, R. A. Medicinal Plants of the Sierra Madre, Comparative study of tarahumara

- and mexican market plants. *Econ. Bot.* **1986**, *40*, 103-124. b) Linares, E.; Bye, R. A. Jr. A study of four medicinal plants complexes of mexico and adjacent united states. *J. Ethnopharm.* **1987**, *19*, 153-183.
- 7) a) Reza-Garduño, R. G. Ftálidos de la Familia *Umbelliferae*. Tesis de Maestría, Universidad Nacional Autónoma de México, 1991 b) Delgado, G.; Reza-Garduño, R. G.; Toscano, R. B.; Linares, E. Secondary metabolites from the roots of *Ligusticum porteri*. X-Ray Structure of Z-6,6',7,3a'-diligustilide. *Heterocycles* **1998**, *27*, 1305-1312.
- 8) Hernández, L. Aislamiento y caracterización de los constituyentes químicos del extracto metanólico de la raíz de *Ligusticum porteri*. Tesis de Licenciatura, Universidad Nacional Autónoma de México, **1996**.
- 9) Delgado, G.; Reza-Garduño, R. G.; Rios, M.; Del Rio, F. Phtalides and monoterpenes of the hexane extract of the roots of *Ligusticum porteri*. *Planta Med.* **1992**, *58*, 570-571.
- 10) a) Figueroa, R. Derivatización química del Z-ligustilido, Un metabolito bioactivo de *Ligusticum porteri* para su evaluación biológica. Tesis de Licenciatura, Universidad Nacional Autónoma de México, **1997**. b) Rios, M. Y. Aproximaciones sintéticas y correlaciones químicas de cicloaductos naturales diméricos derivados del Z-ligustilido. Tesis Doctoral. Universidad Nacional Autónoma de México, **1996**.
- 11) Tsuchida, T.; Kobayashi, M.; Kaneko, K.; Mitsuhashi, H. Studies on the constituents of Umbelliferae plants. XVI. Isolation and structures of three new ligustilide derivatives from *Angelica acutiloba* *Chem. Pharm. Bull.* **1987**, *35*, 4460-4465.
- 12) Naito, T.; Katsuhara, T.; Nititsu, K.; Ikeya, Y.; Okada, M.; Mitsuhashi, H. Phthalide dimers from *Ligusticum Chuangxiong* Hort. *Heterocycles*, **1991**, *32*, 2433-2442.
- 13) Ogawa, Y.; Mori, Y.; Maruno, M.; Wakamatsu, T. Diels-Alder reaction of ligustilide giving levistolide A and tokinolide B. *Heterocycles* **1997**, *45*, 1869-1873.
- 14) Rios, M. Y.; Delgado, G.; Toscano, R. T. Chemical reactivity of phtalides. Relay synthesis of diligustilide, Rel-(3'R)-3'.8'-dihydrodiligustilide and wallichilide. *Tetrahedron* **1998**, *54*, 3355-3366.
- 15) Rios, M. Y.; Delgado, G.; Espinoza-Pérez, G. Base-Catalyzed intramolecular condensations of diligustilide. *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 6605-6608.

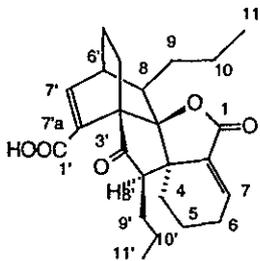
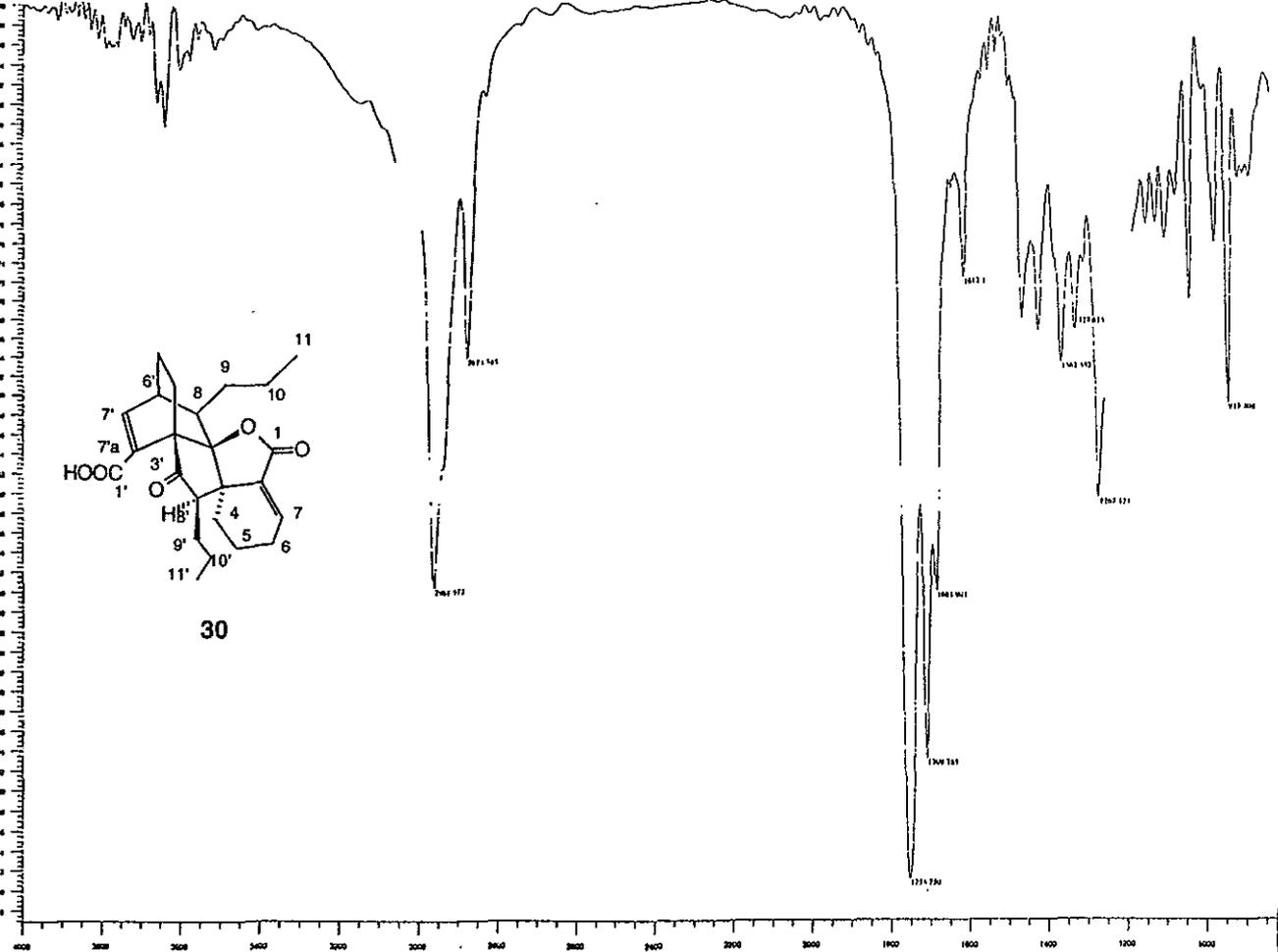
- 16) Weissberger, A. The chemistry of heterocyclic compounds. Pyrazoles, pyrazolines, pirazolidines, indazoles and condensed rings. Interscience Publisher **1967**, 177-271.
- 17) Trost, B. M. Comprehensive organic synthesis. Reduction. Pergamon Press **1991**, 8, 183-190.
- 18) La determinación estructural errónea de **43** en la referencia 10b (formula **40** de 10b) puede haberse originado por las siguientes razones.
- La muestra analizada por IR, no sea "del mismo lote " que la analizada por RMN¹H.
- La confusión puede generarse en el cambio de R_f de las muestras (lactonización *in situ* durante el contacto con sílice
- Integración incompleta de los datos físicos y espectroscópicos en la referencia 10b (faltó el análisis por espectrometría de masas)
- La presencia de impurezas minoritarias provocaran notables cambios en el aspecto físico de las sustancias , en este caso el producto es un sólido y en la referencia 9 b se informa como un aceite.
- 19) El material usado fué secado a 100 ° C en la estufa toda la noche.



Espectro 1. RMN¹H (200 MHz, CDCl₃) de *rel*-(7'aS) 7',7'a dihidro-toquinólida B (29).

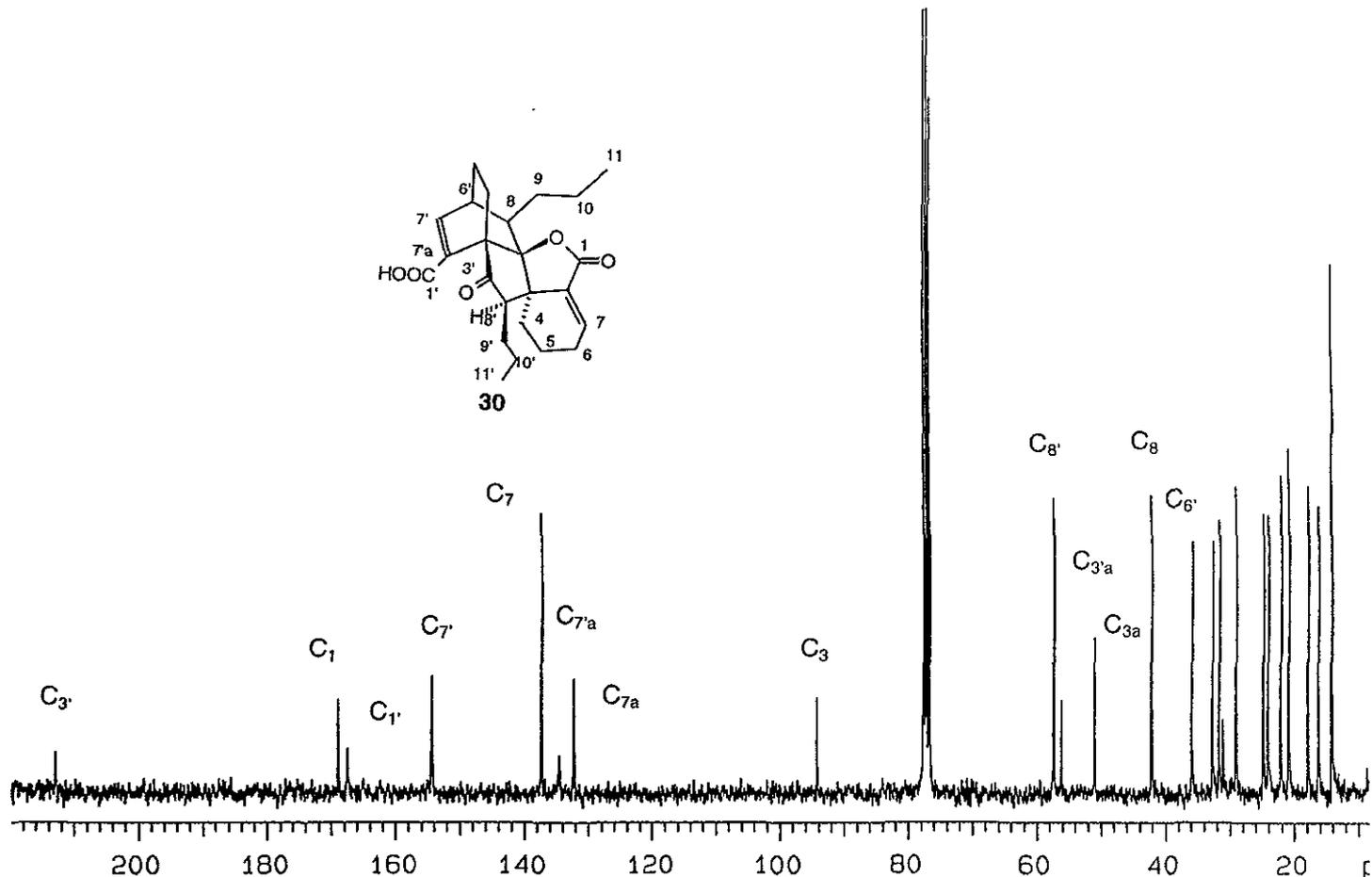
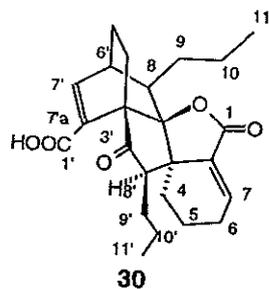


Espectro 2. IR (CHCl₃) de rel-(7'a S) 7',7'a dihidroquinólida B (29).

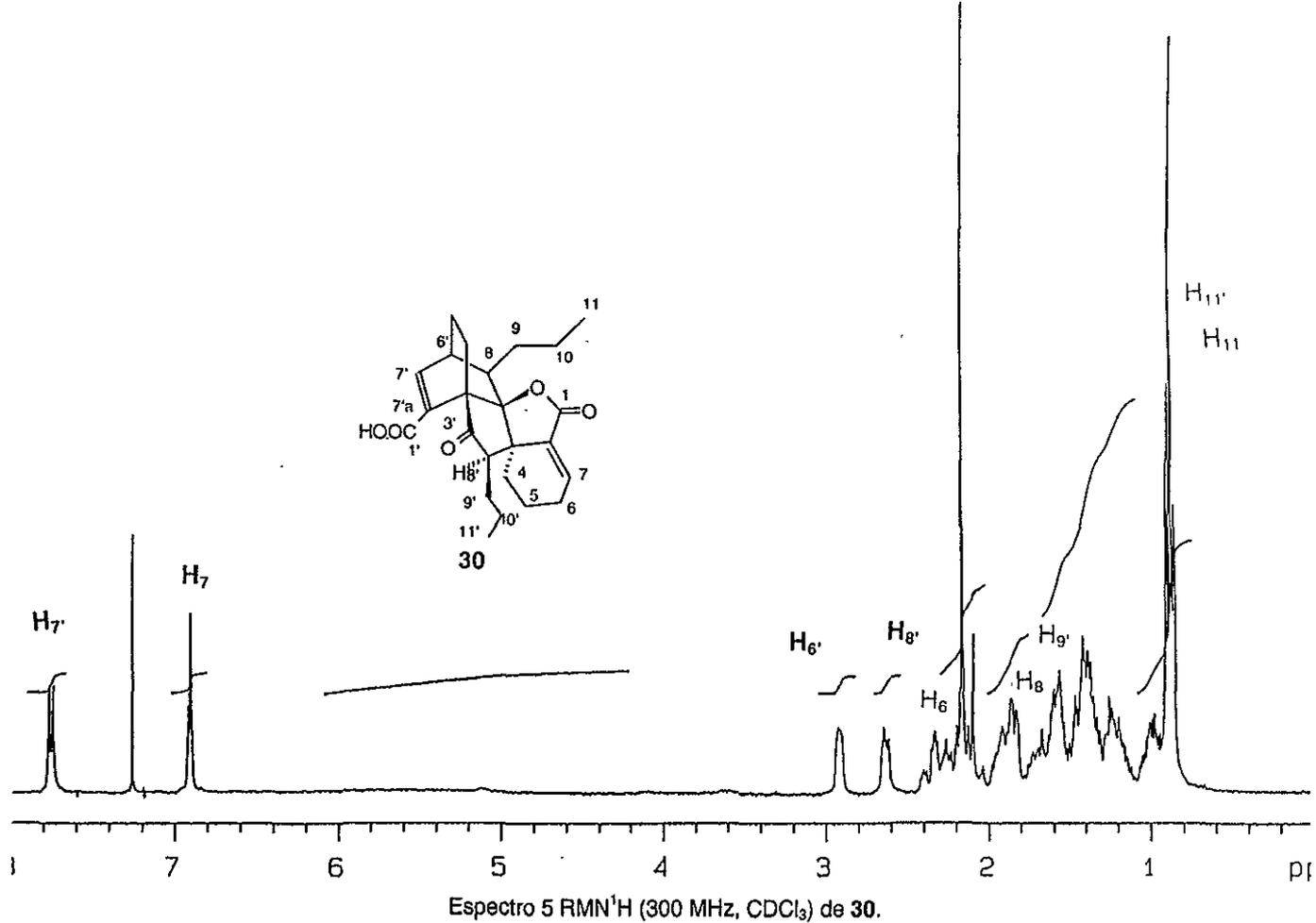


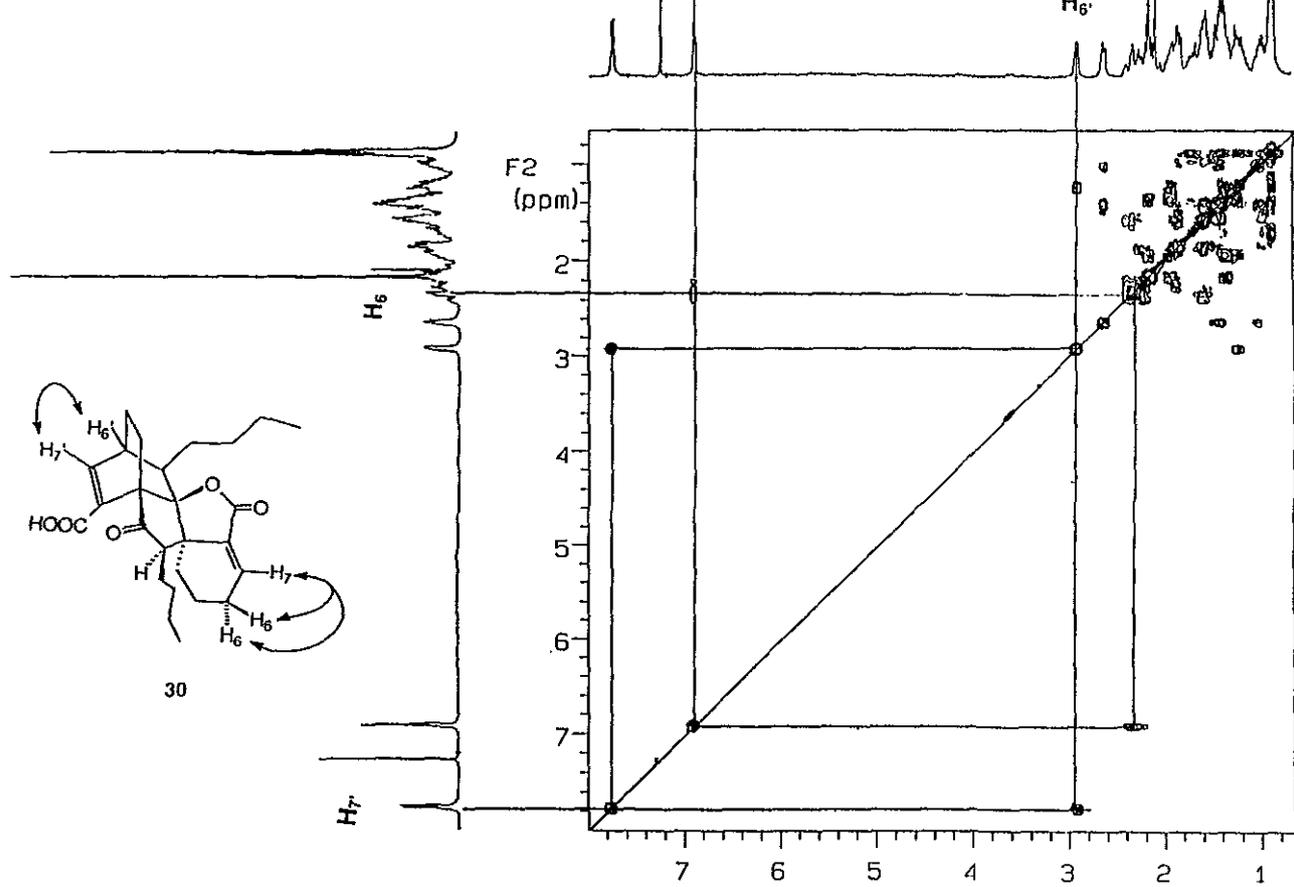
30

Espectro 3. IR (CHCl₃) de 30.

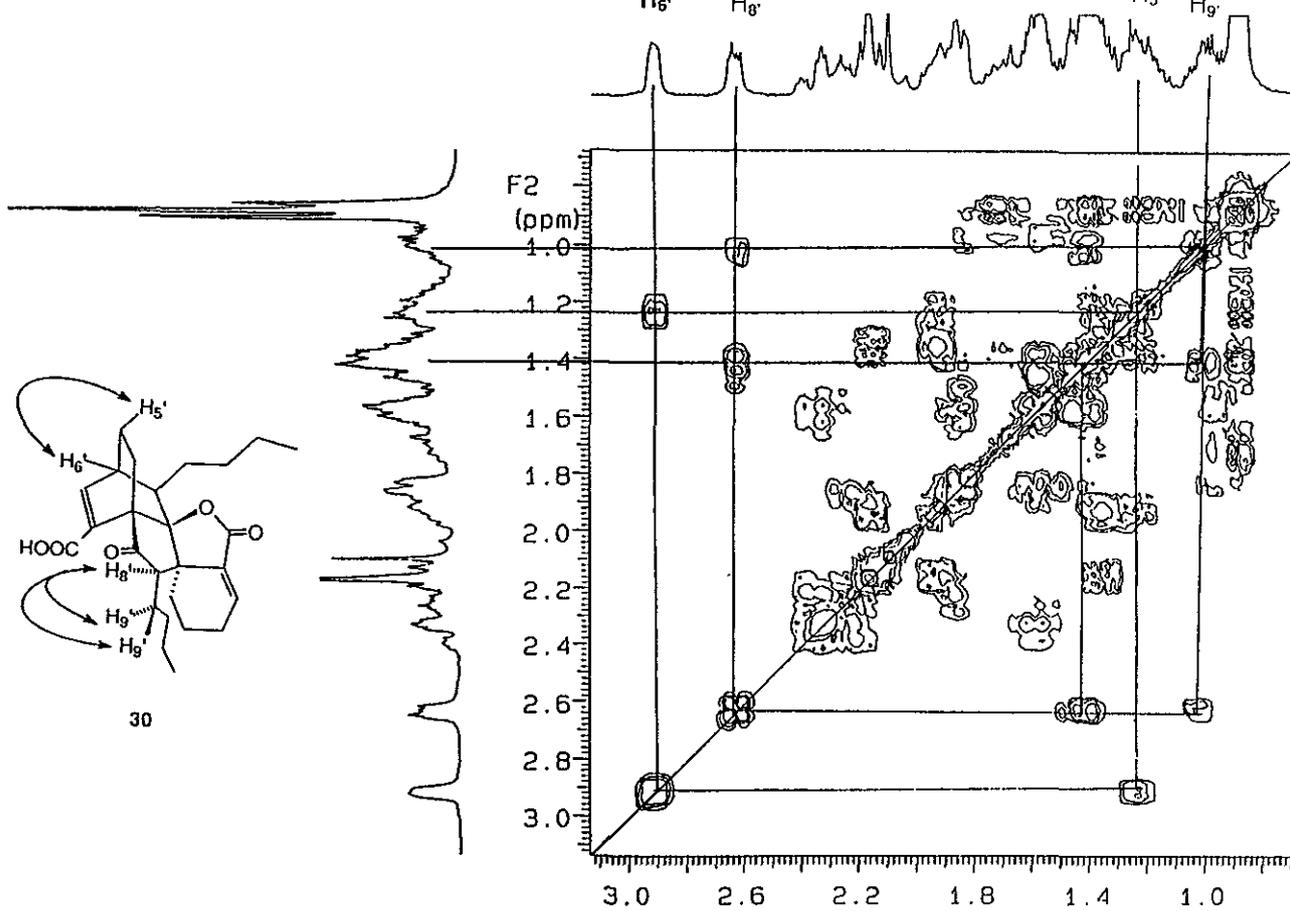


Espectro 4. RMN¹³C (75 MHz, CDCl₃) de 30.

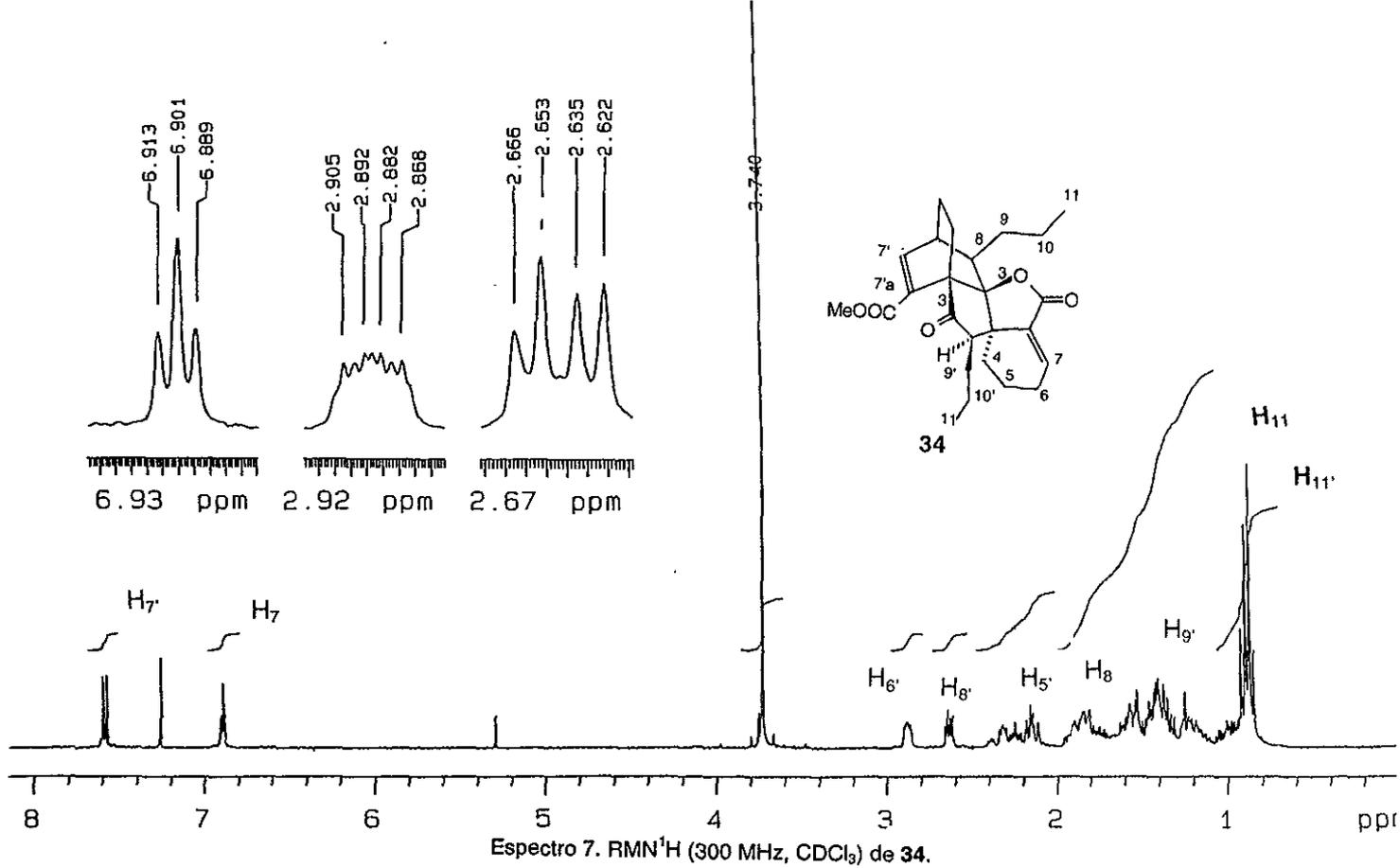


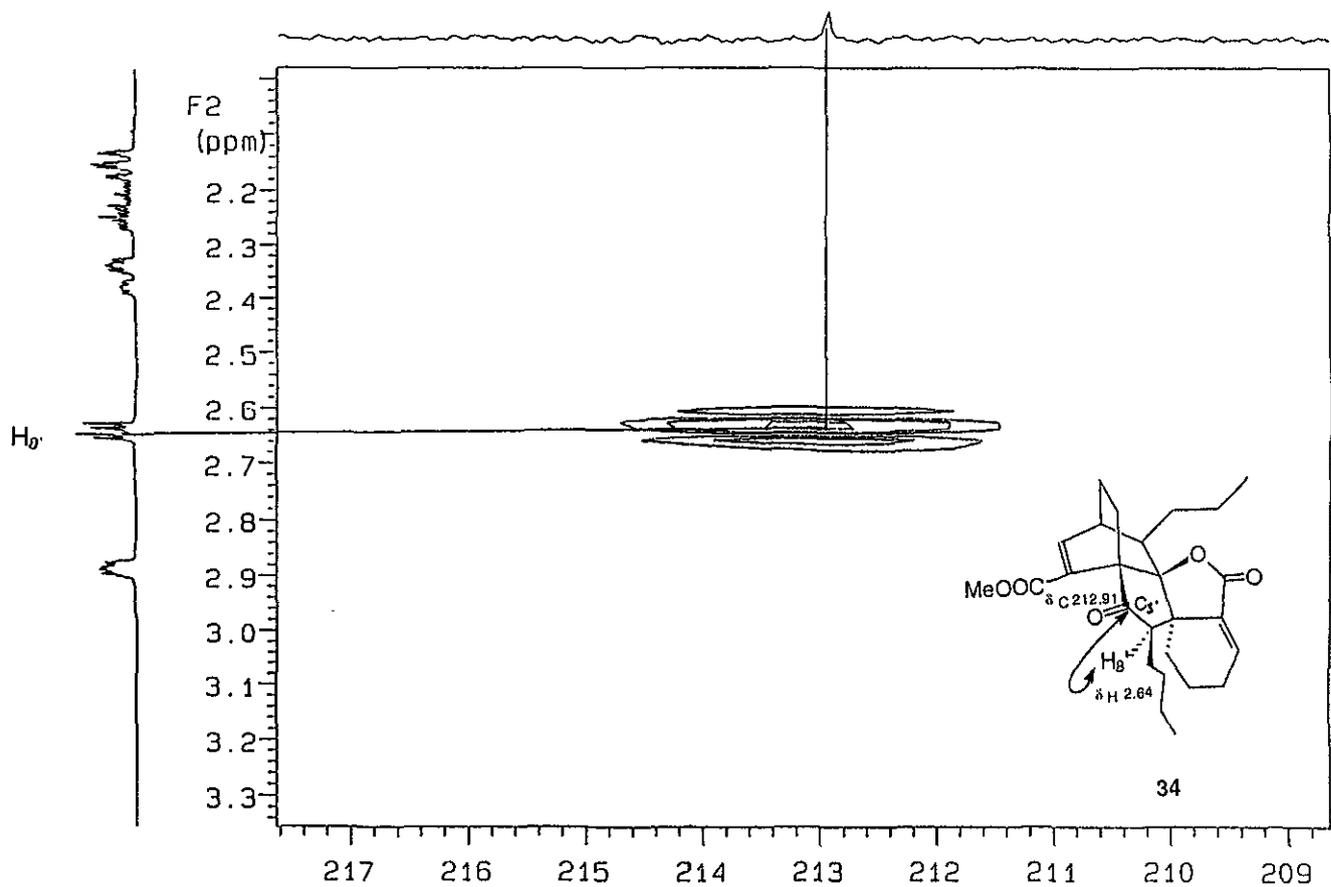


Espectro 6A. Experimento COSY ^1H - ^1H (300 MHz, CDCl_3) de 30.

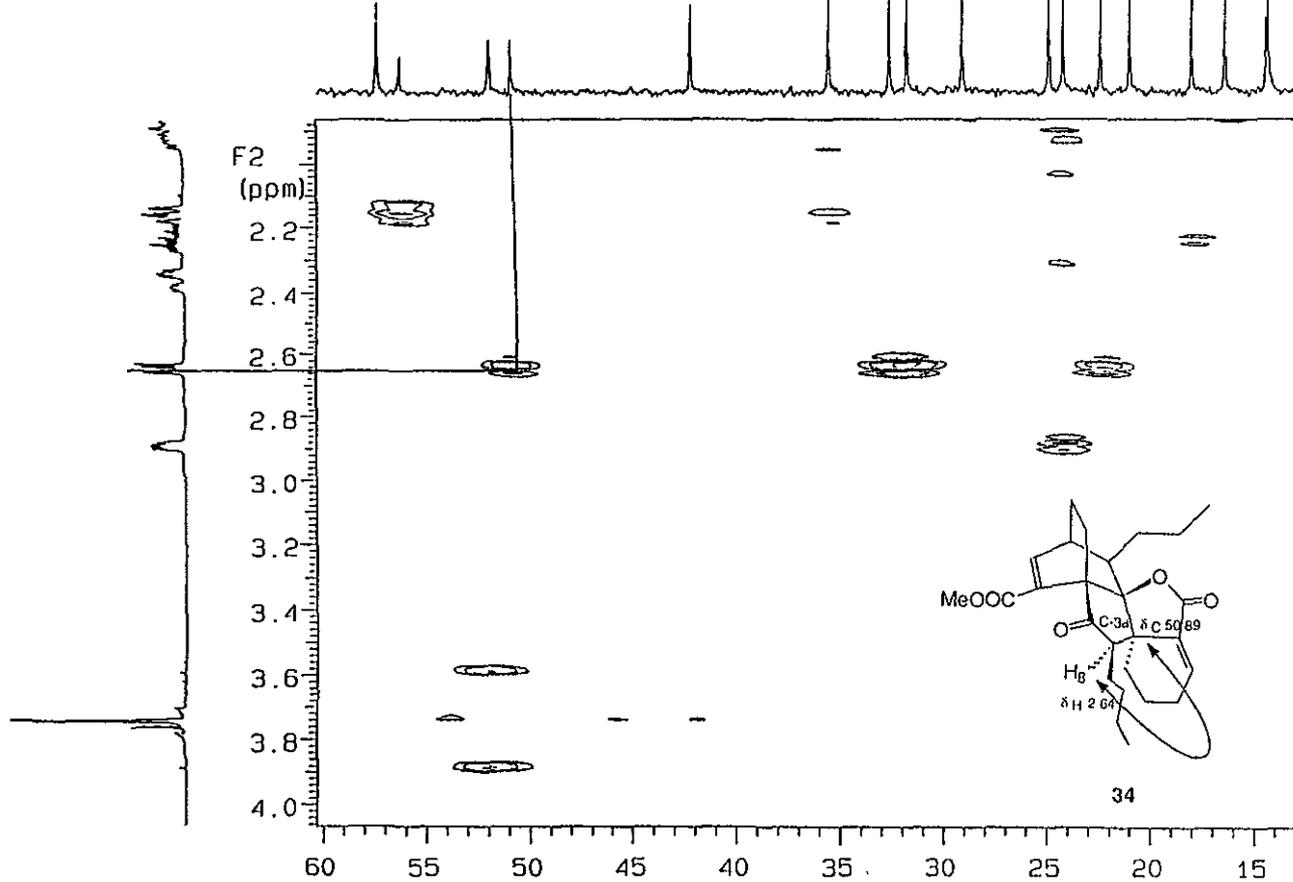


Espectro 6B. Experimento COSY ^1H - ^1H (300 MHz, CDCl_3) de 30.

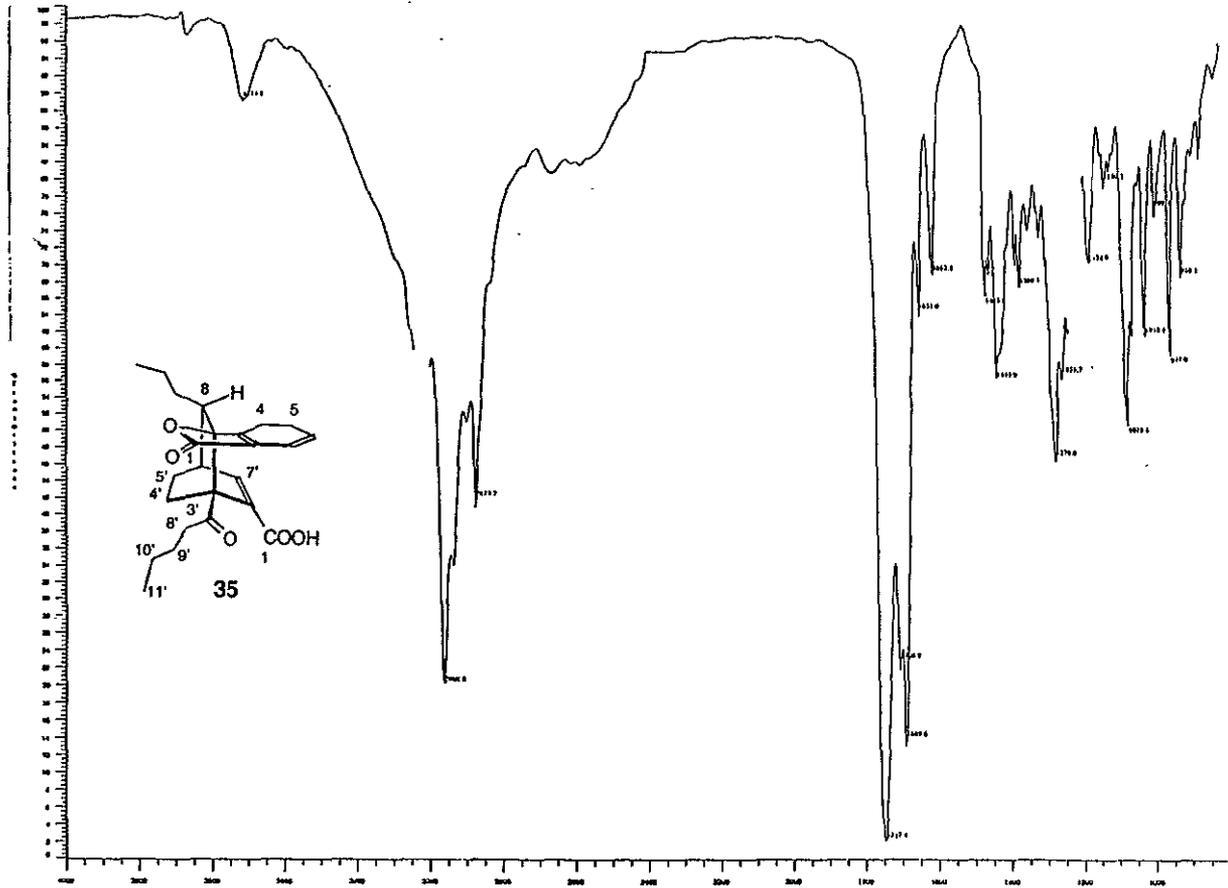




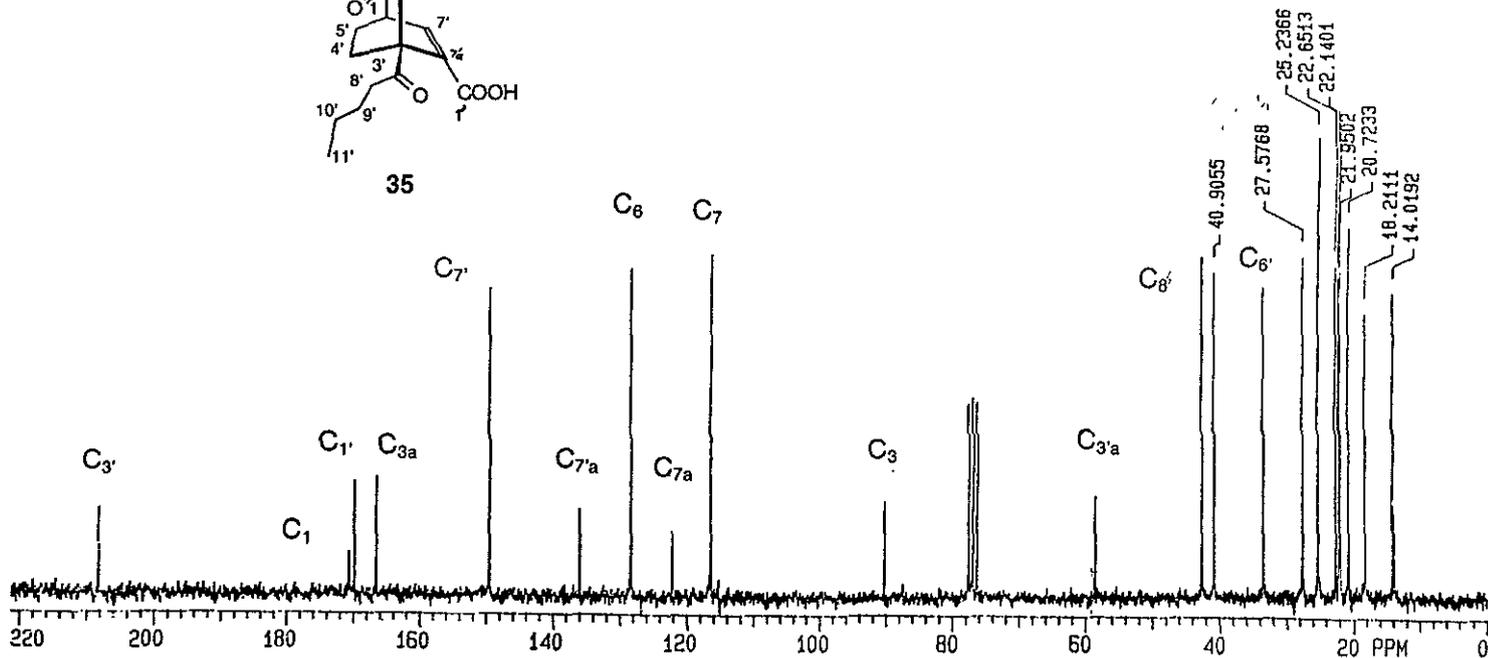
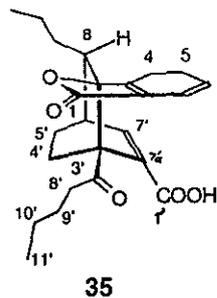
Espectro 8A. Experimento HMBC (CDCl_3) de **34**.



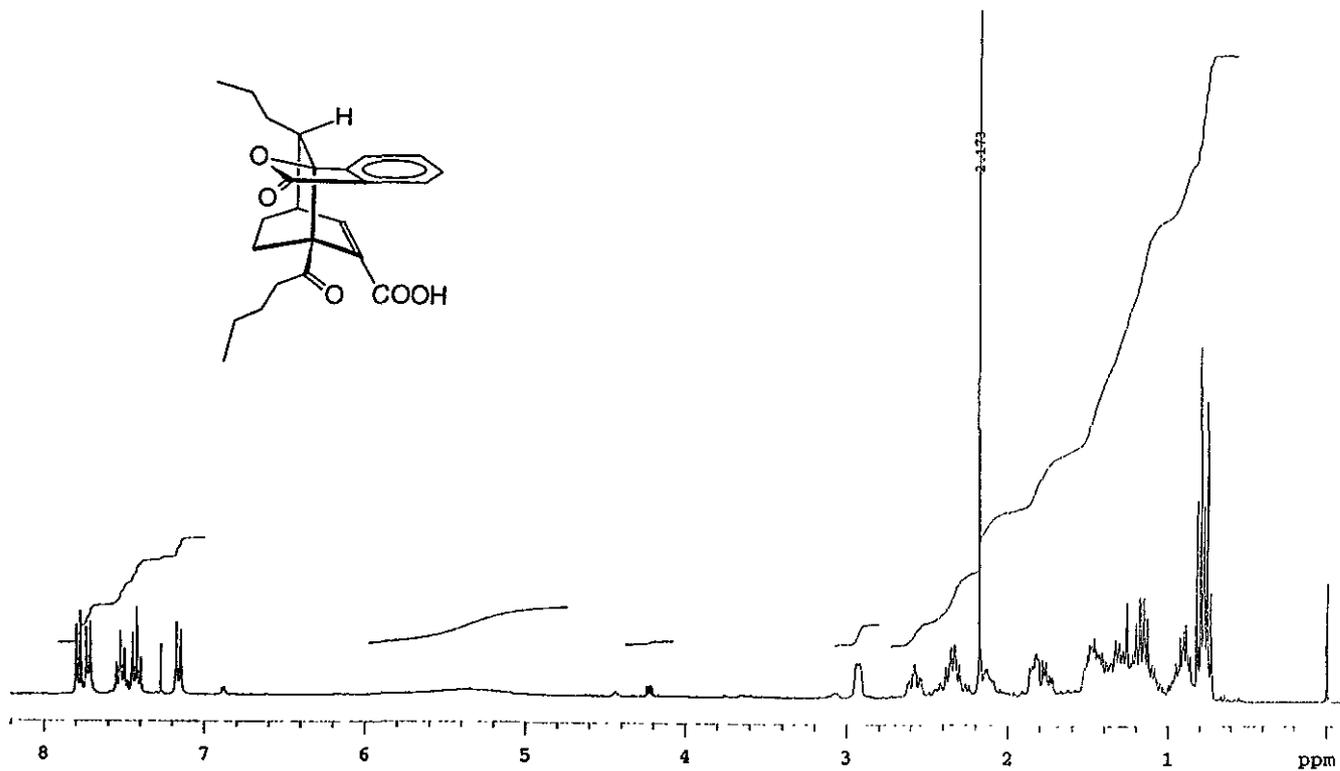
Espectro 8B. Experimento HMBC (CDCl₃) de 34.



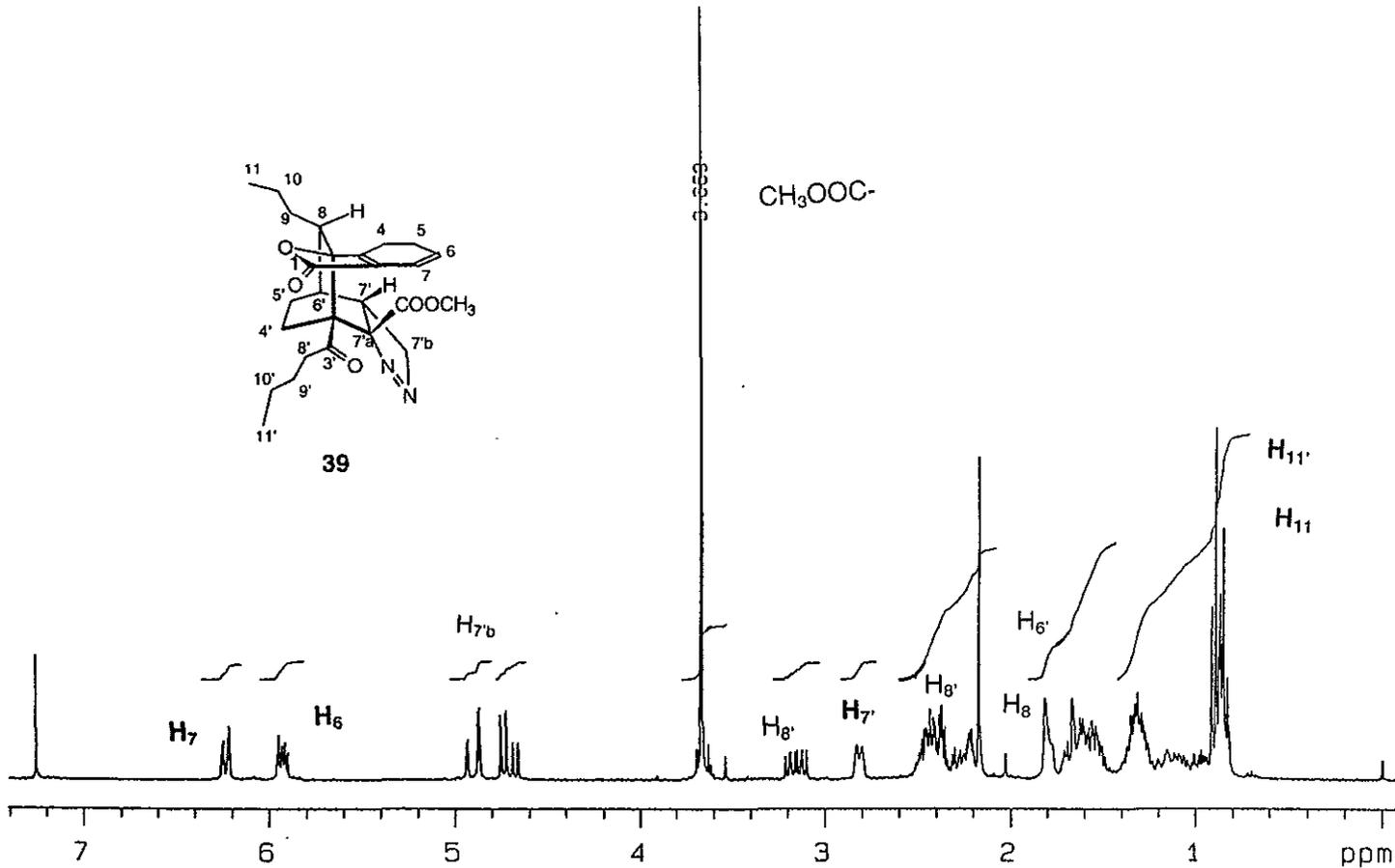
Espectro 9. IR (CHCl₃) del ceto-ácido de toquinólida B (35).



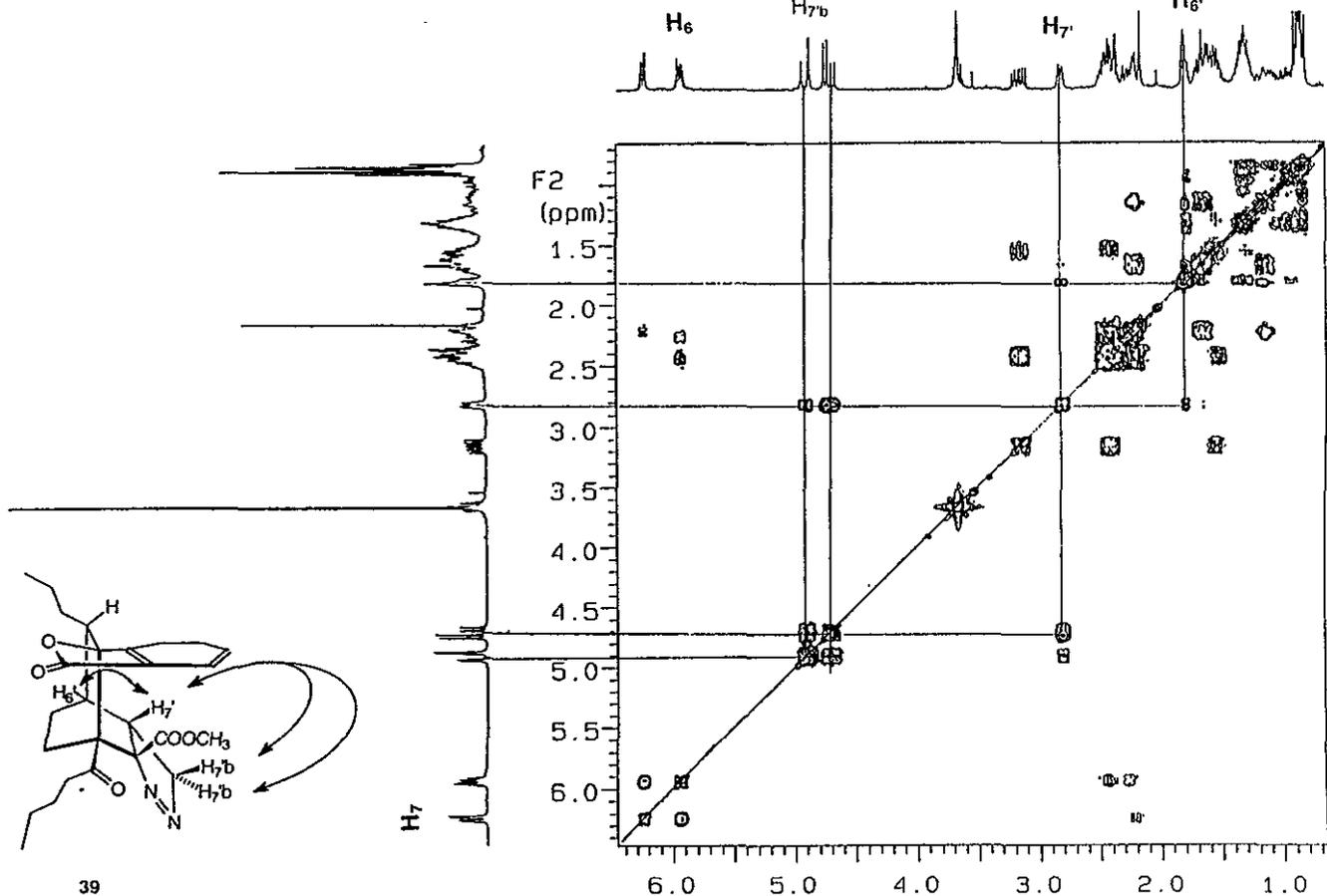
Espectro 10. RMN¹³C (50 MHz, CDCl₃) de ceto-ácido de toquinólida B (35).

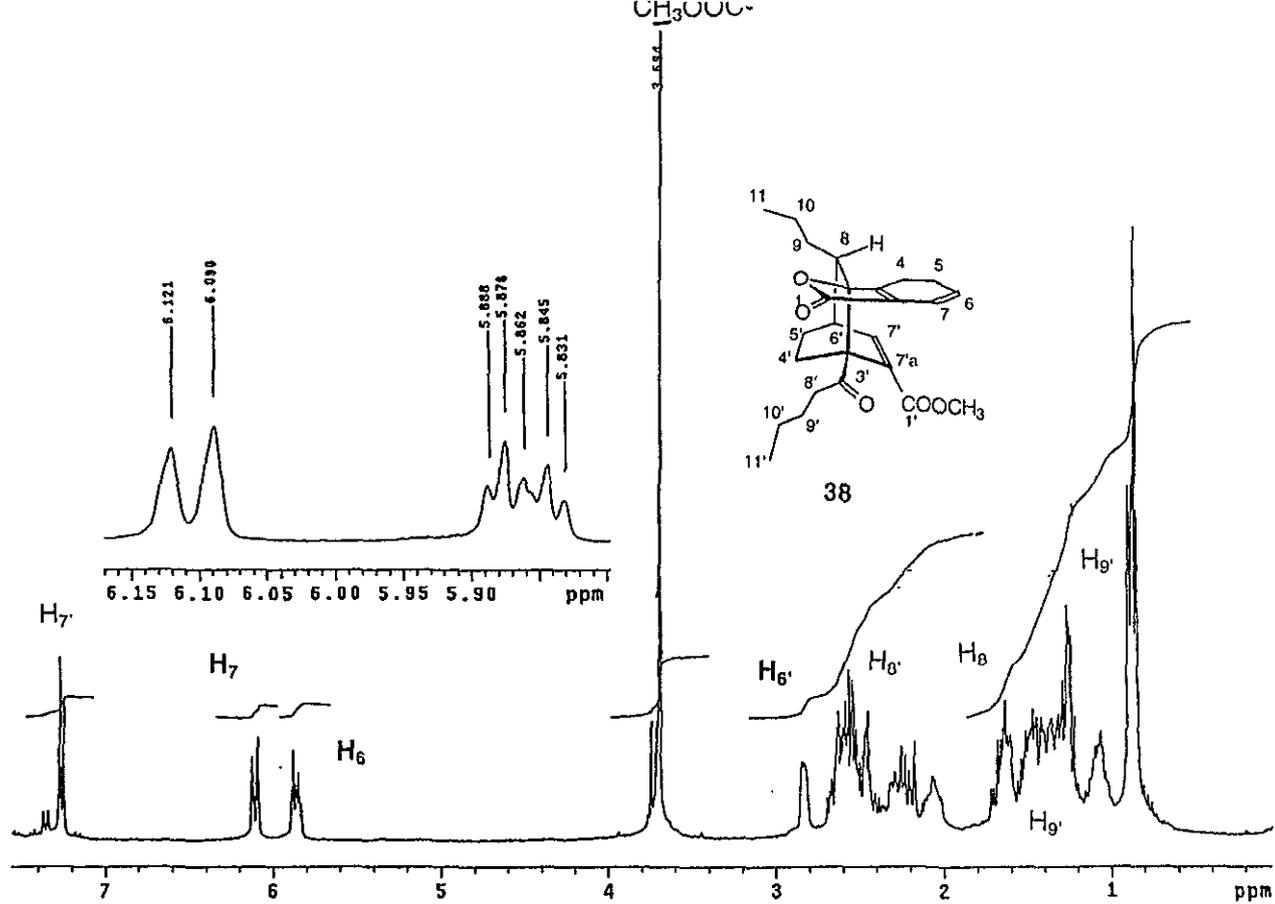


Espectro 11. RMN¹H (300 MHz, CDC₃) de ceto-ácido de 5,6-deshidro-toquinolida B (37).

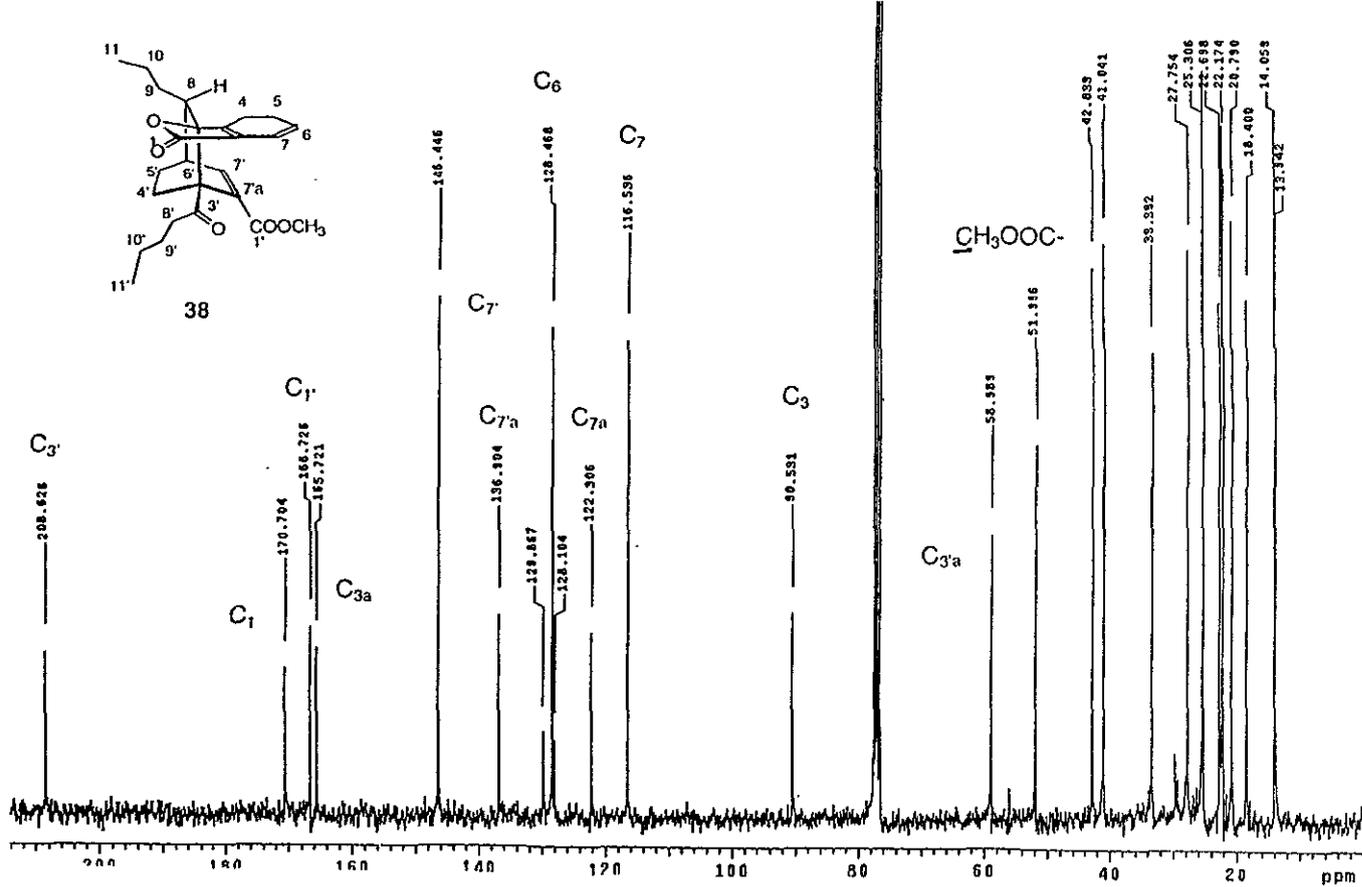


Espectro 12. RMN¹H (300 MHz, CDCl₃) de la pirazolina **39**.

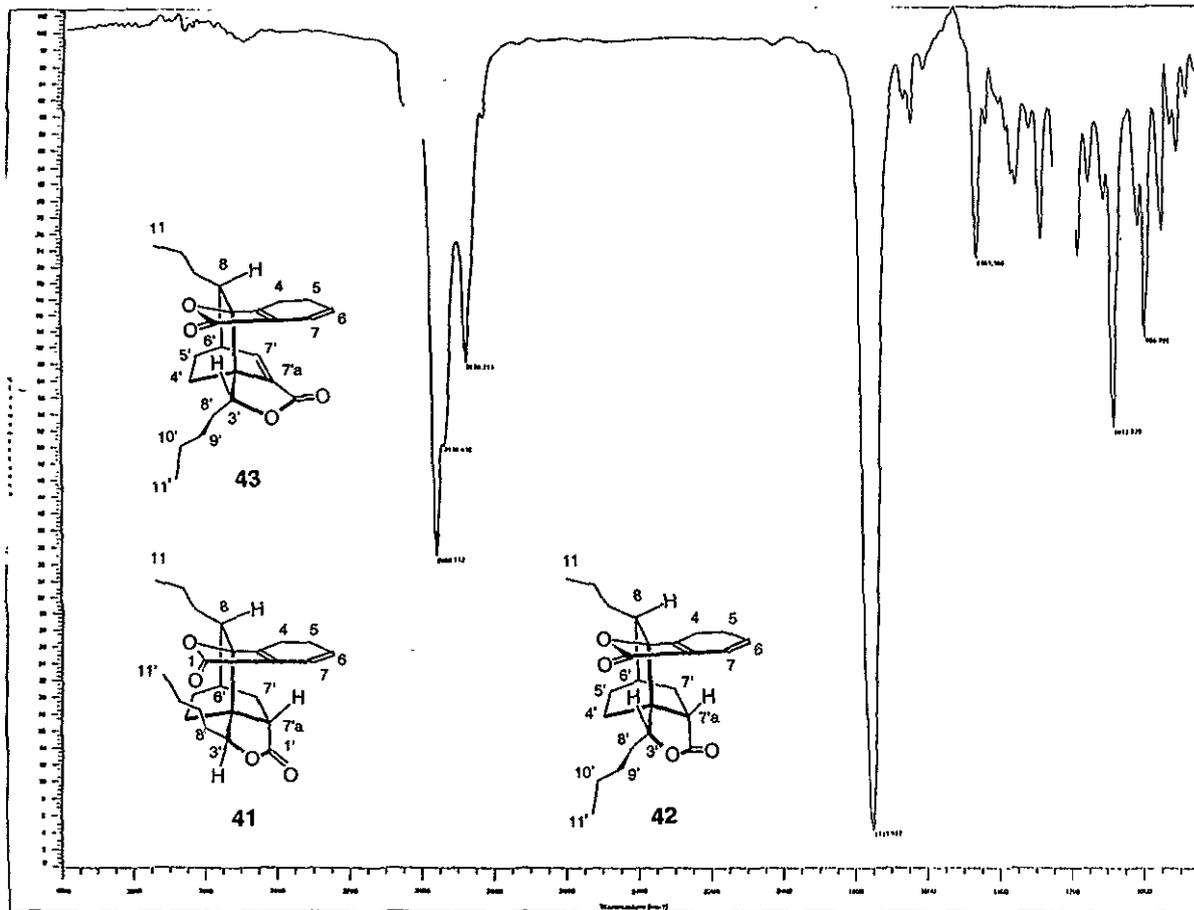




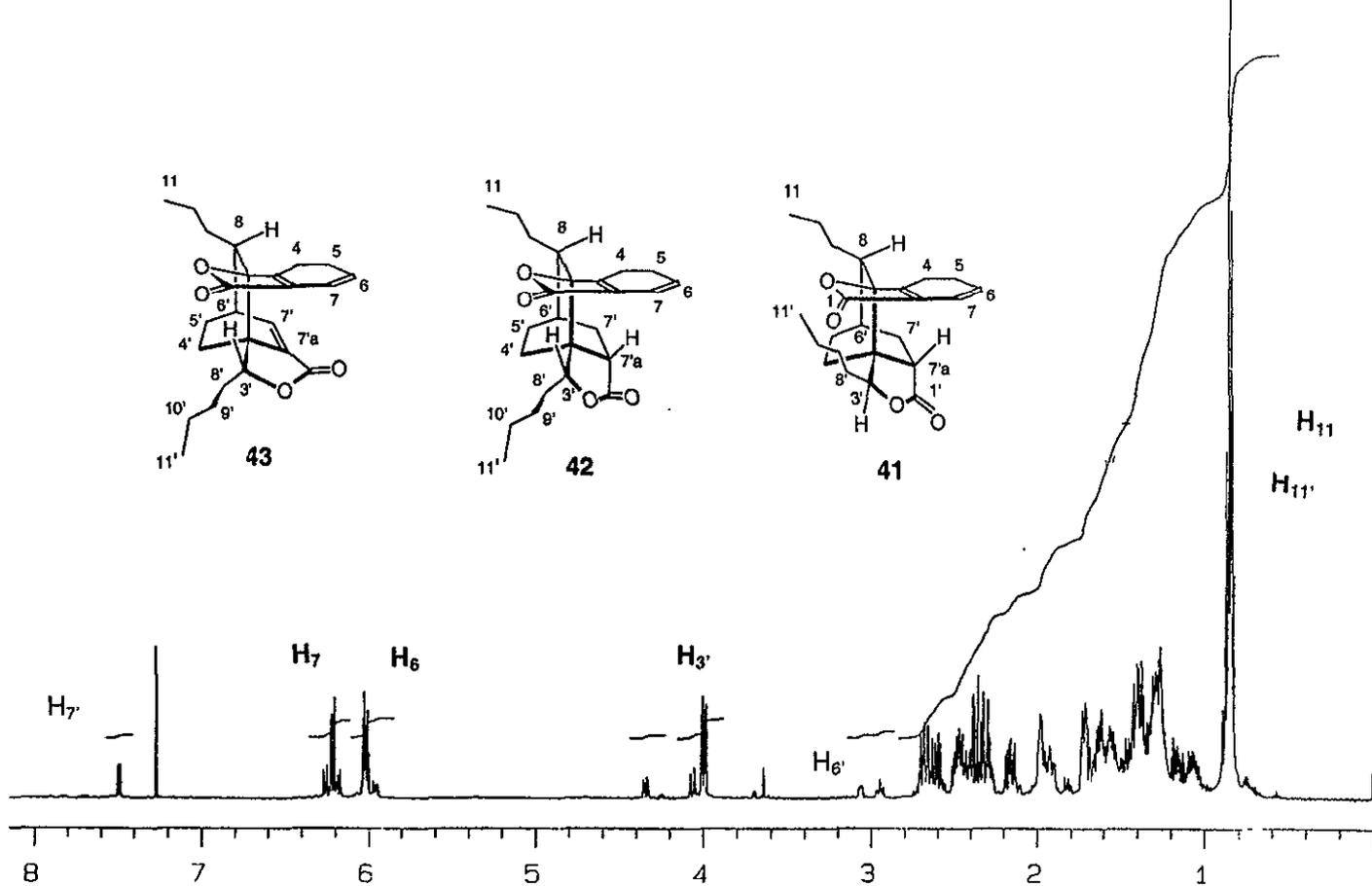
Espectro 14. RMN¹H (300 MHz, CDCl₃) del ceto-éster metílico de toquinólida B (38).



Spectro 15. RMN¹³C (75 MHz, CDCl₃) del ceto-ester metílico de toquinóida B (38).

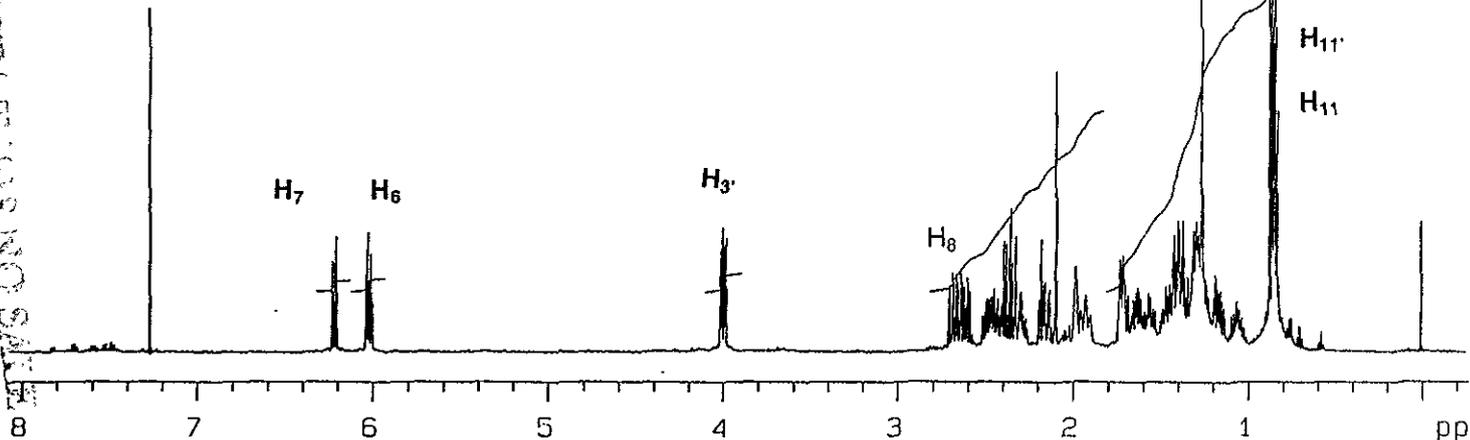
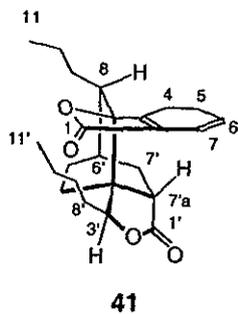


Espectro 16. IR (CHCl₃) de la mezcla de productos obtenidos de reducción de 35 con NaBH₄ en isopropanol.

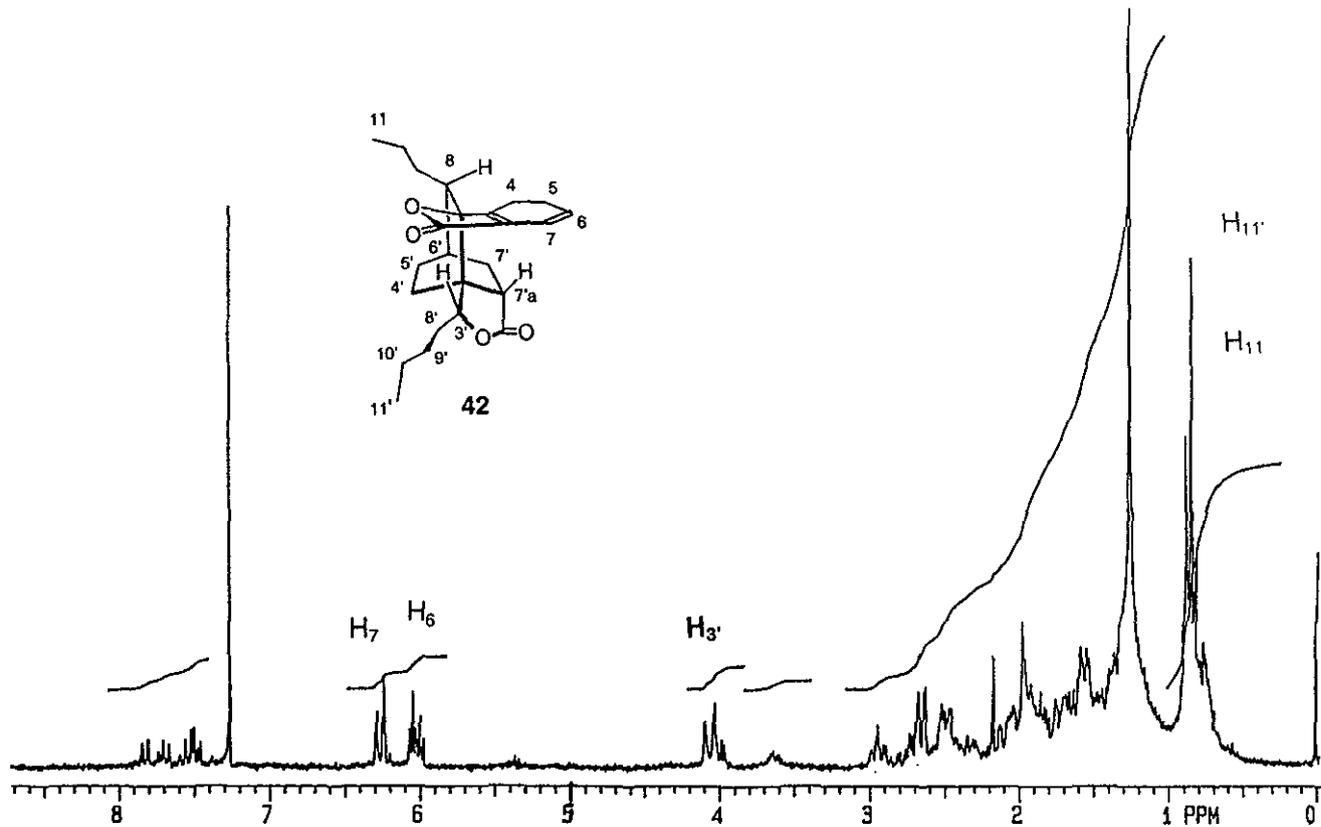


Espectro 17. RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de la mezcla de productos obtenidos de reducción de 35 con NaBH_4 en isopropanol.

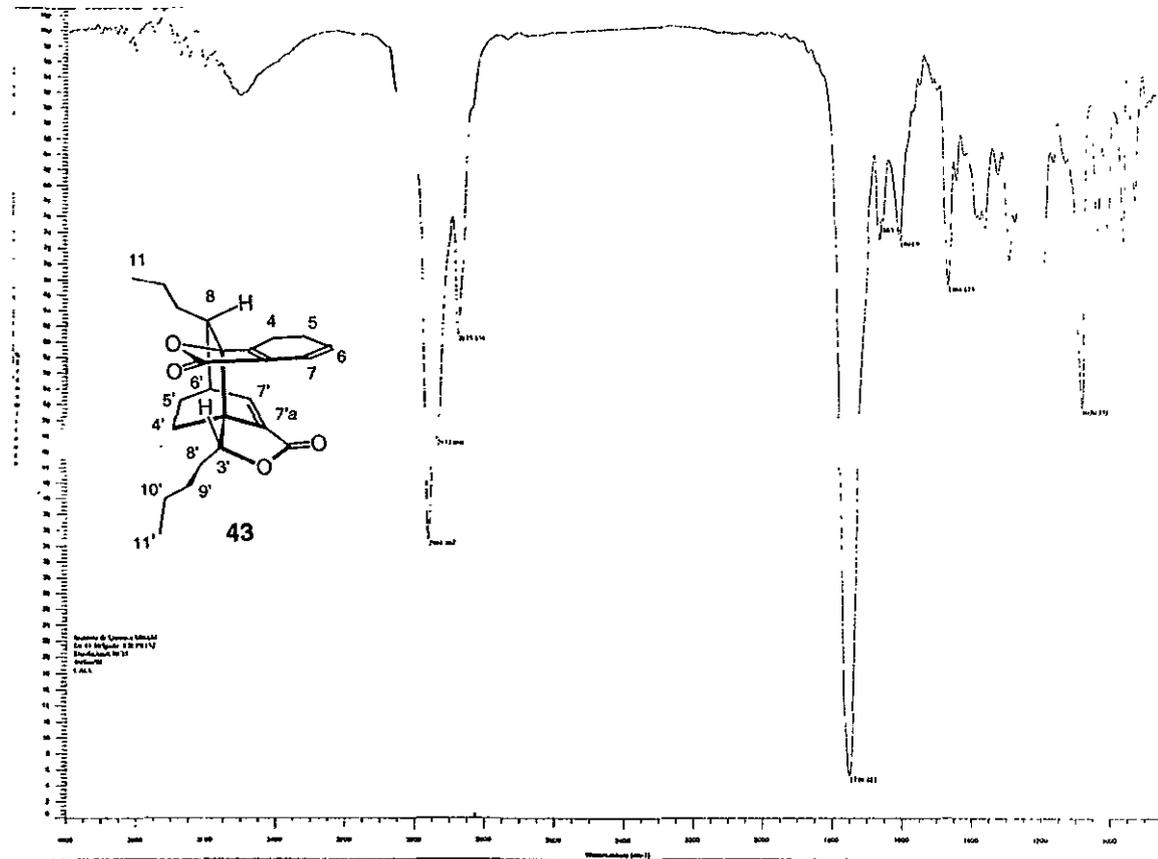
ESTATIMIS NO SAITE
PILA BIBLIOTECA



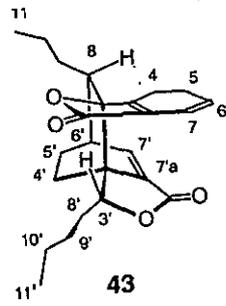
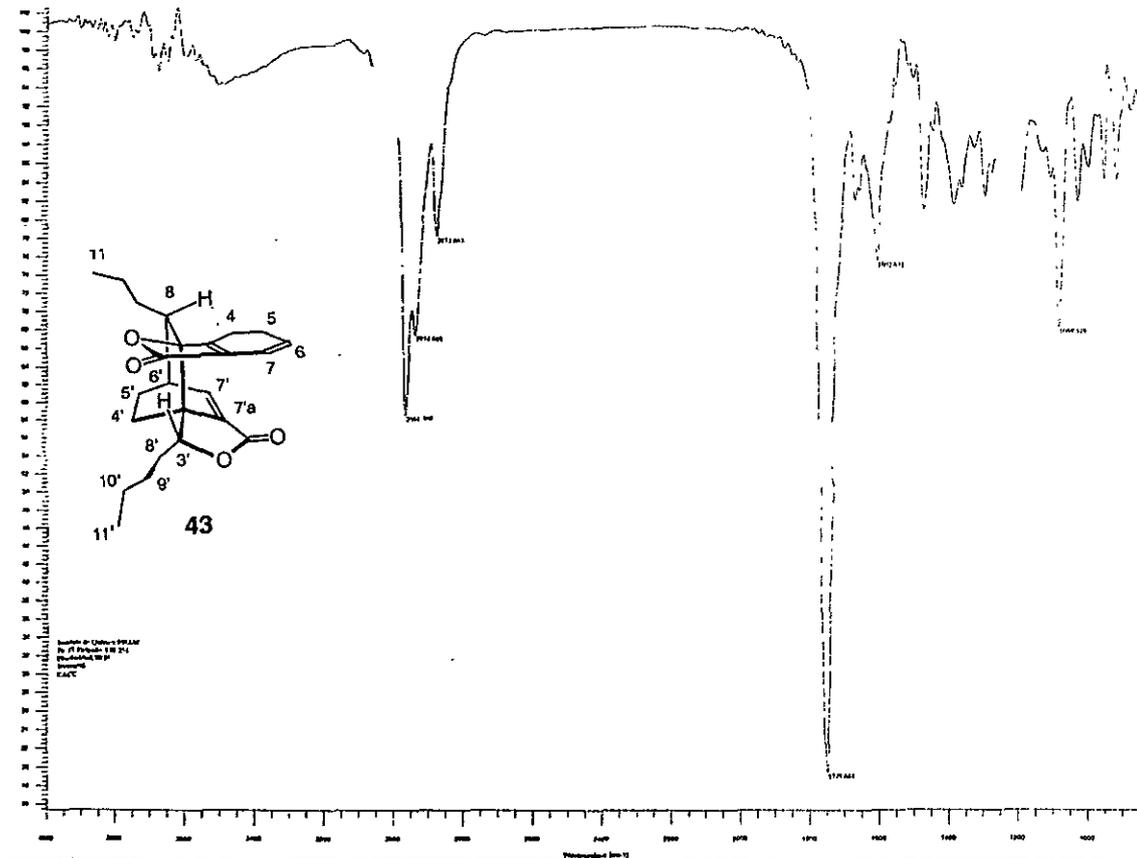
Espectro 18. RMN¹H (300 MHz, CDCl₃) del tetrahidroquinólido B (41).



Espectro 19. RMN¹H (200 MHz, CDCl₃) del tetrahidroquinólido B (42).

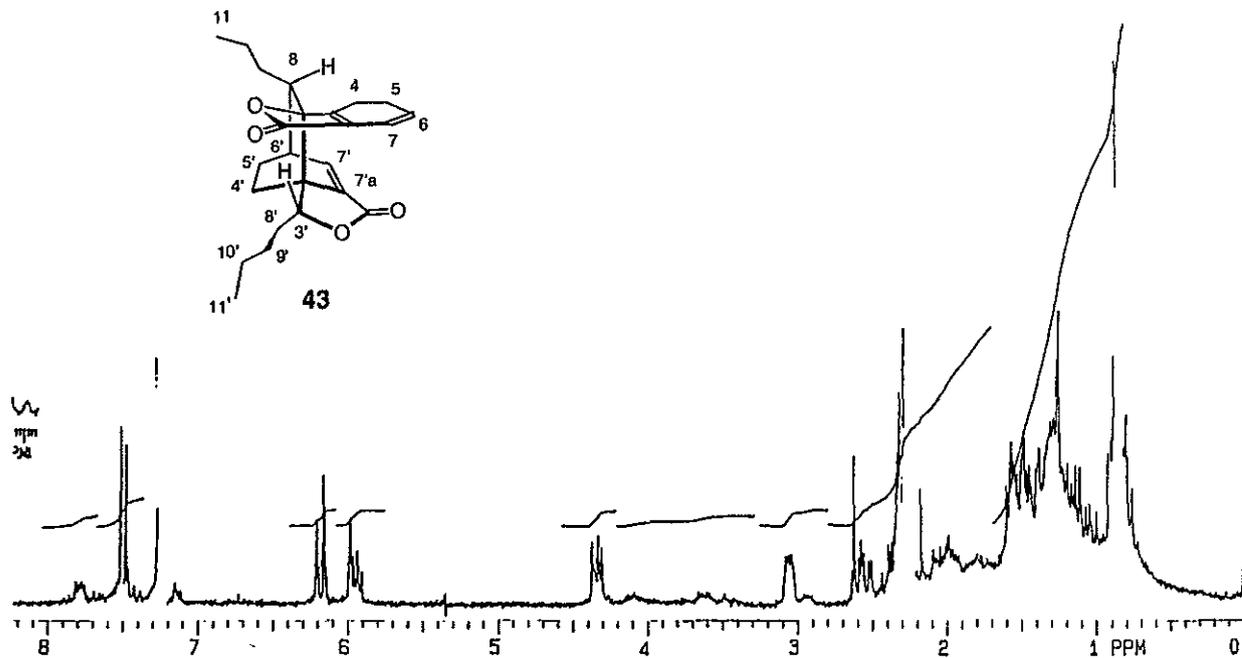


Espectro 20 IR (CDCl₃) de c.

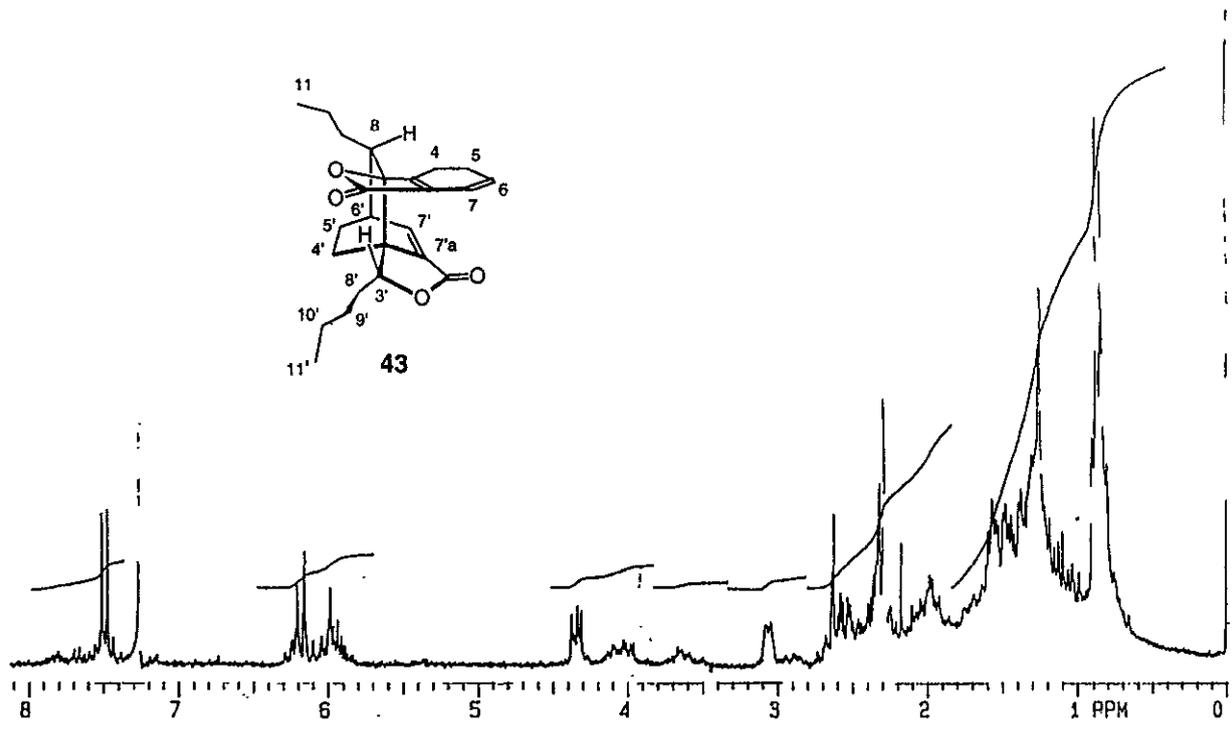


43
 11
 8
 H
 4
 5
 6
 7
 7a
 H
 8'
 3'
 O
 9'
 10'
 9
 11'

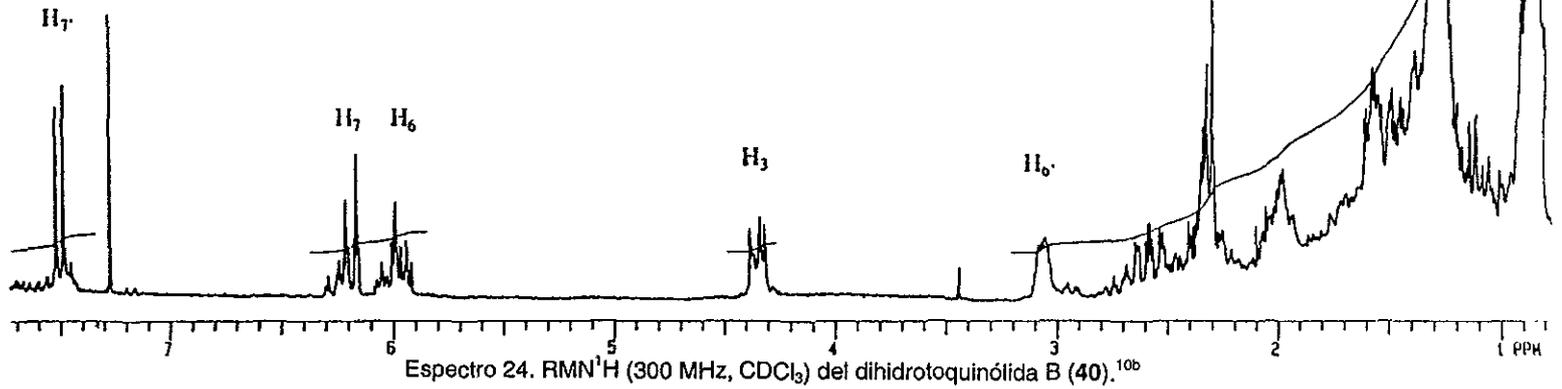
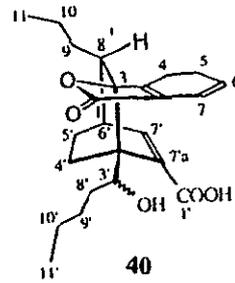
Espectro 21. IR (CDCl₃) de d.

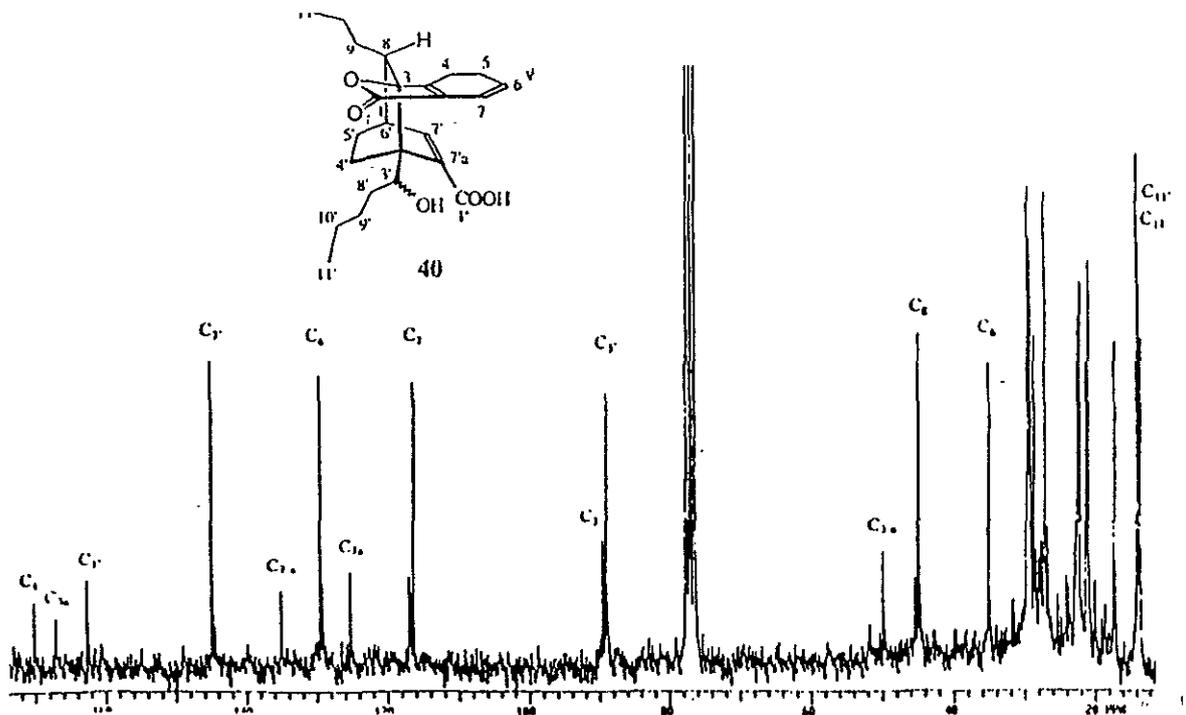


Espectro 22. RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) de c.

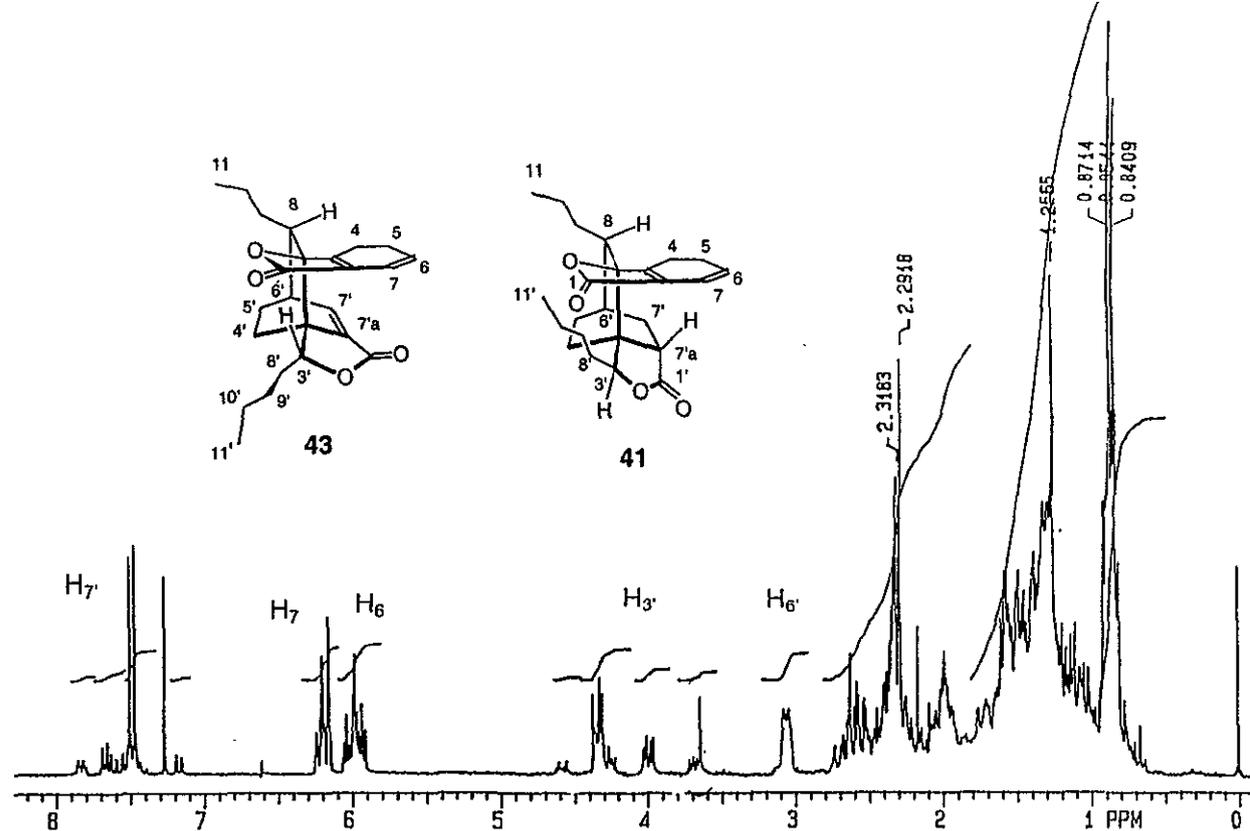


Espectro 23. RMN¹H (200 MHz, CDCl₃) de d'.



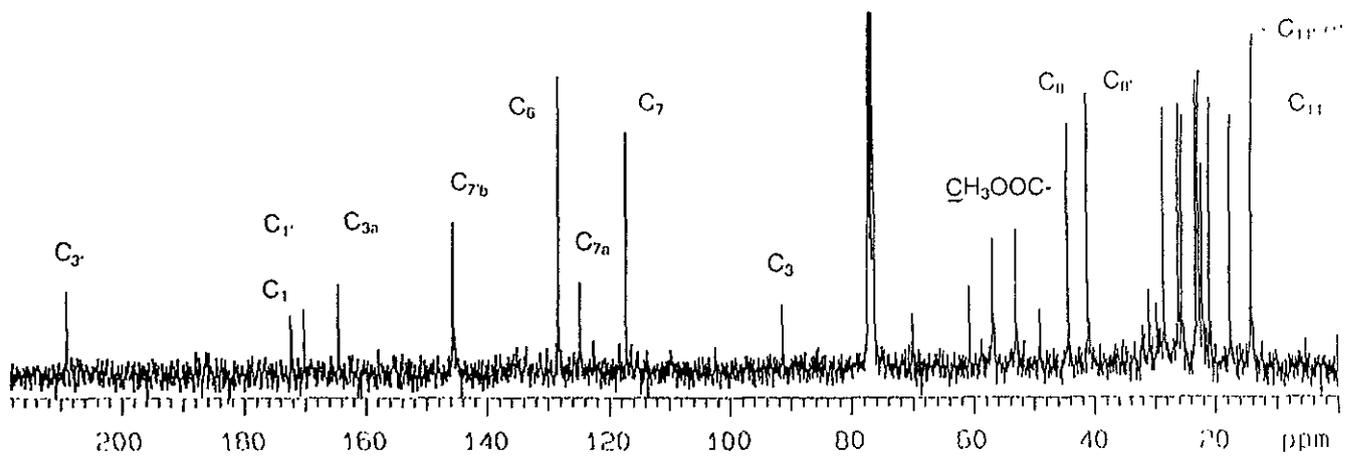
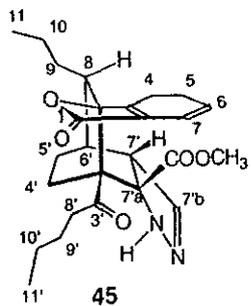


Espectro 25. RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) del dihidroquinólida B (40).^{10b}

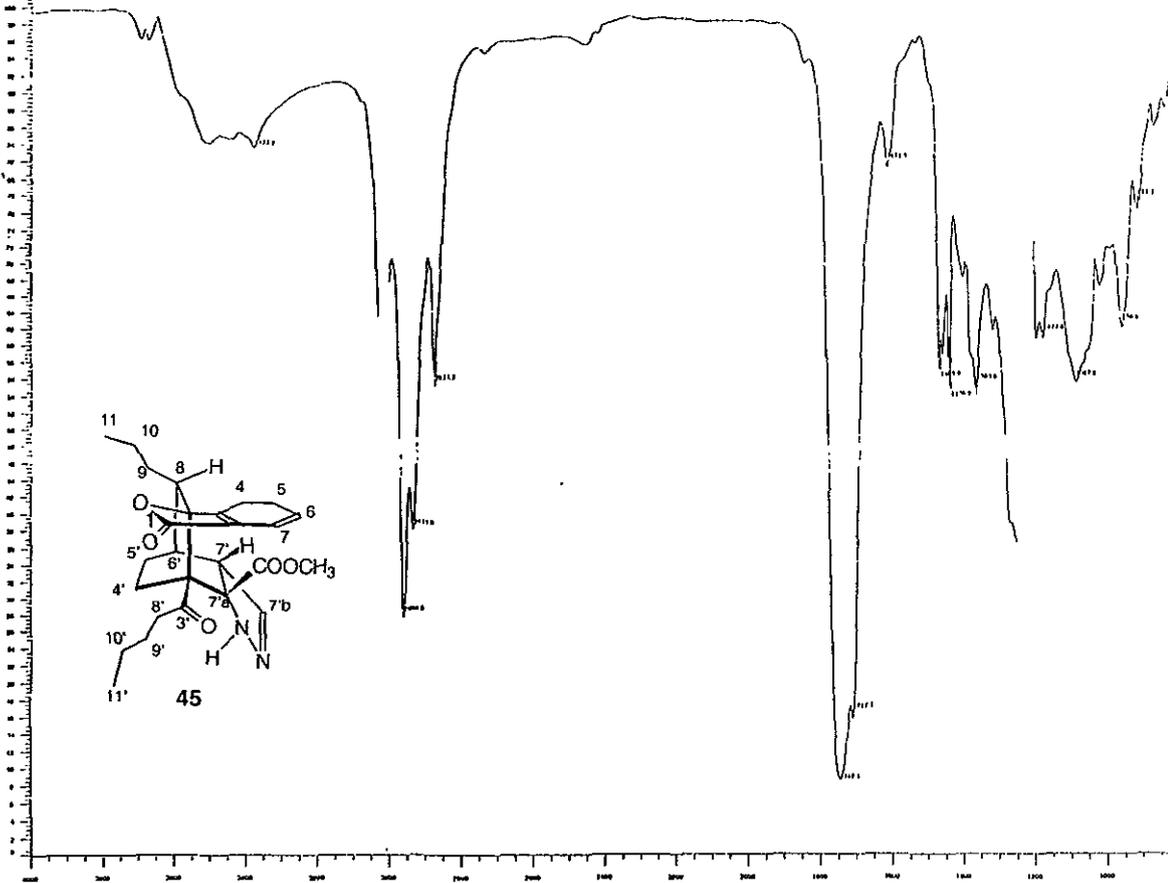


Espectro 26. RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) de la mezcla de productos de la reducción en etanol-isopropanol / CeCl_3 con NaBH_4

de 35.

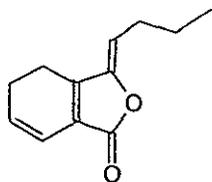


Espectro 27. RMN¹³C (75 MHz, CDCl₃) de 45.

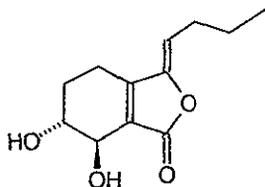


Espectro 28. IR (CDCl₃) de 45.

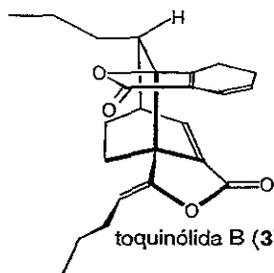
ANEXO I. LISTA DE ESTRUCTURAS



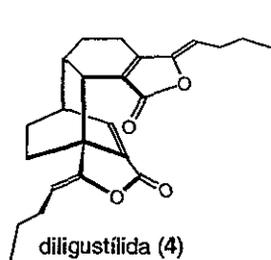
Z-ligustilida (1)



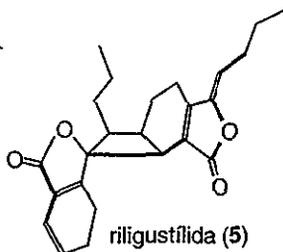
6,7-trans- ligustidiol (2)



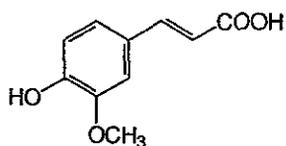
toquinólida B (3)



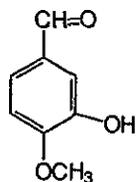
diligustilida (4)



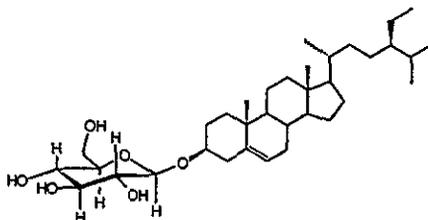
riligustilida (5)



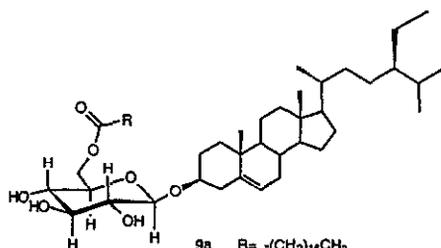
ácido ferúlico (6)



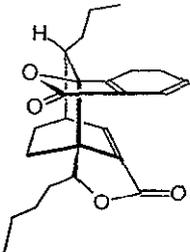
isovainillina (7)



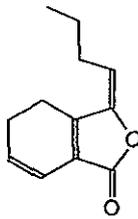
β-D-glucopiranosídeo de β-sitosterilo (8)



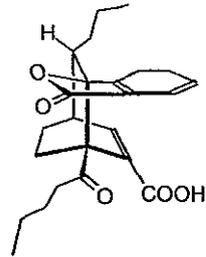
9a R= -(CH₂)₁₆CH₃
9b R= -(CH₂)₇CH=CH(CH₂)₇CH₃



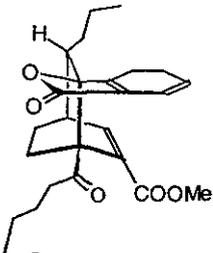
Angeólida (10)



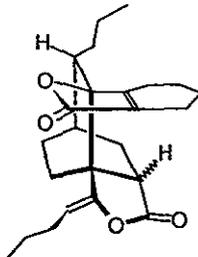
E-ligustilida (11)



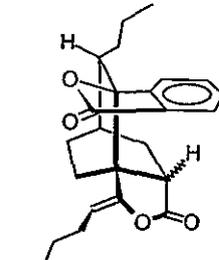
Ceto-ácido de angeólida (12)



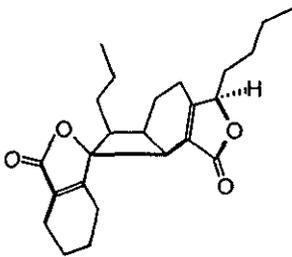
Ceto-éster de angeólida (13)



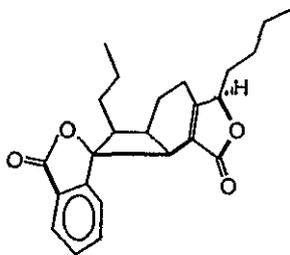
6,7,7'a-tetrahydro angeólida (14)



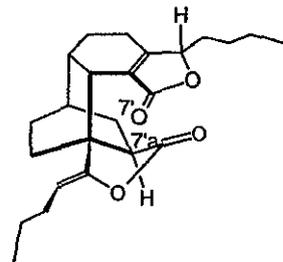
7',7'a dihidro-4,5 deshidro-angeólida (15)



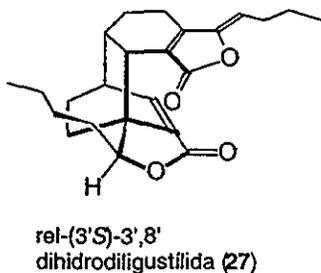
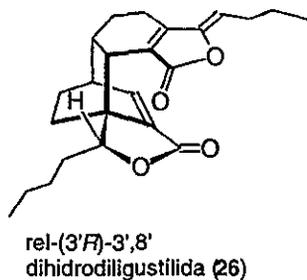
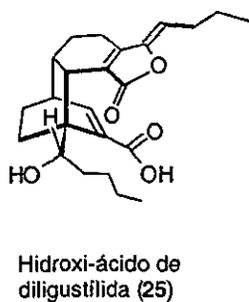
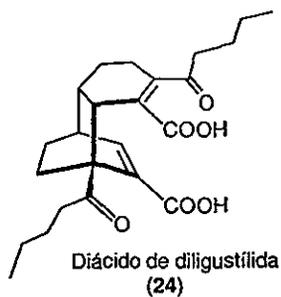
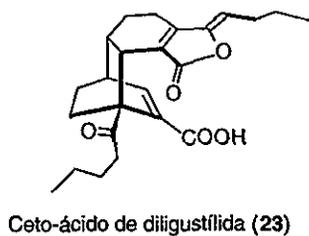
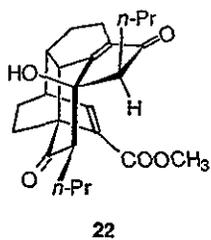
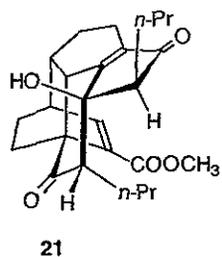
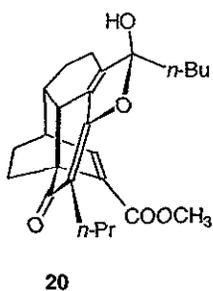
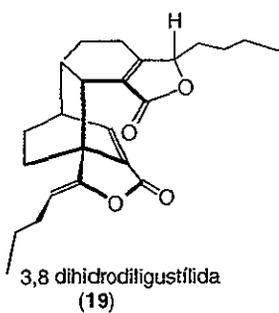
6,7,3',8' tetrahidroriligustilida (16)

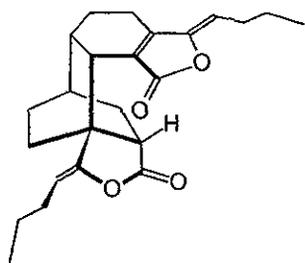


3',8' dihidro 5,6- deshidro riligustilida (17)

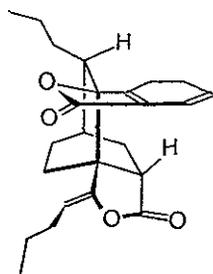


3,8,7',7'a tetrahidrodiligustilida (18)

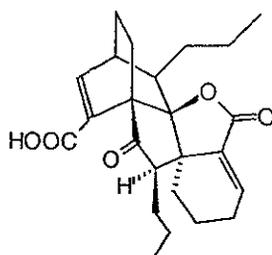




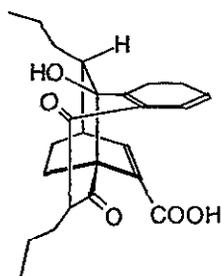
rel-(7' a S)-7',7'a dihidro-
diligustíflida (28)



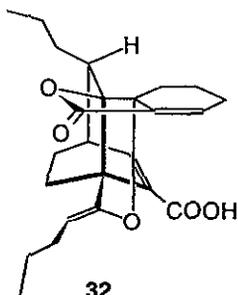
rel-(7'a S)-7',7'a dihidro-
toquinólida B (29)



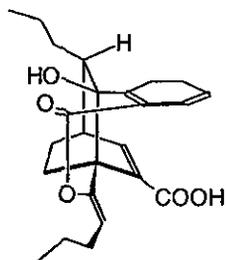
30



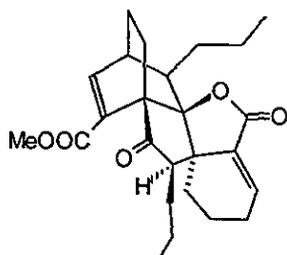
31



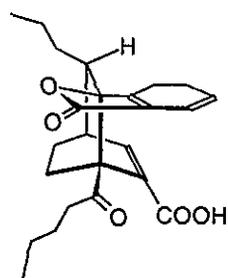
32



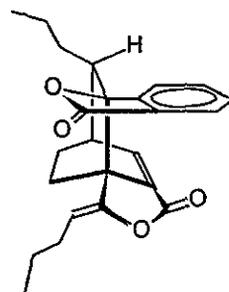
33



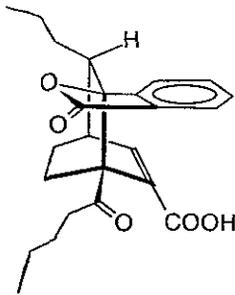
34



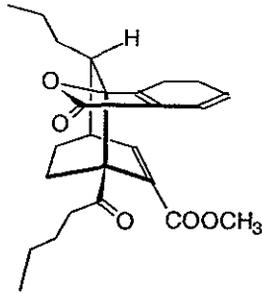
ceto-ácido de toquinólida B
35



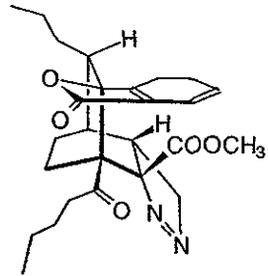
4,5-deshidro-
toquinólida B (36)



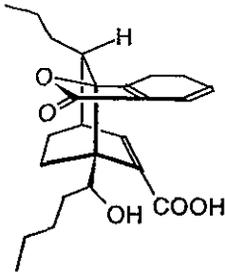
Ceto-ácido de 4,5 deshidro toquinólida B (37)



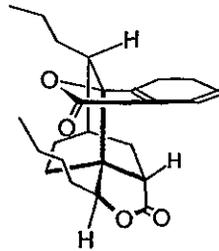
Ceto-ester de toquinólida B (38)



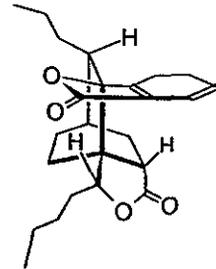
39



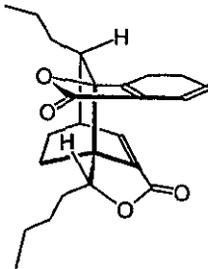
Hidroxi-ácido de toquinólida B (40)



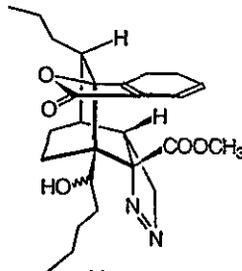
(3'S)-3',8' dihidro-toquinólida B (41)



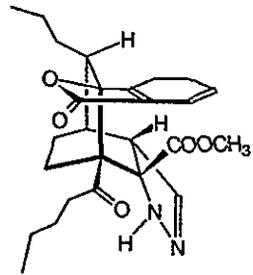
(3' R)-3',8' Dihidro-toquinólida B (42)



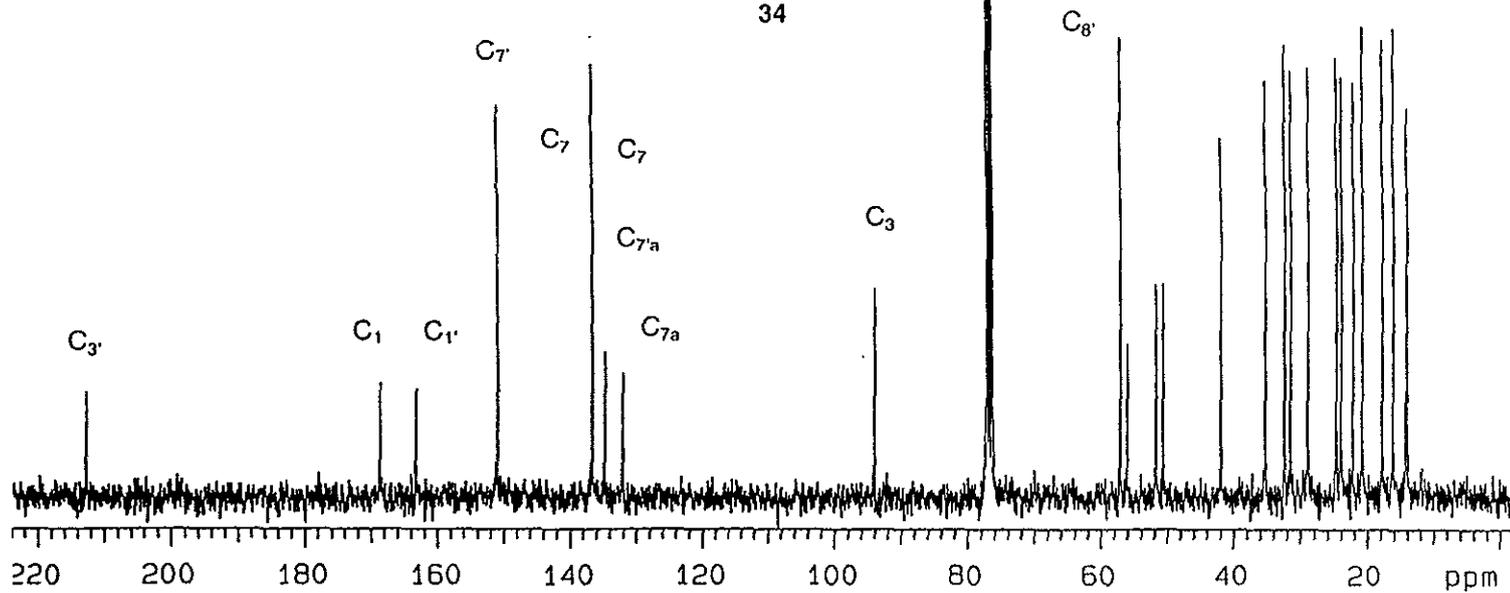
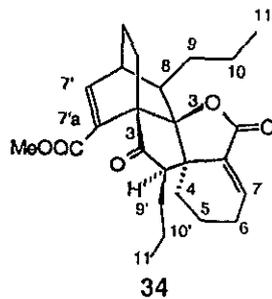
(3' R)-3',8' Dihidro-toquinólida B (43)



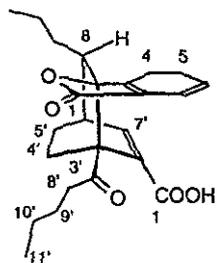
44



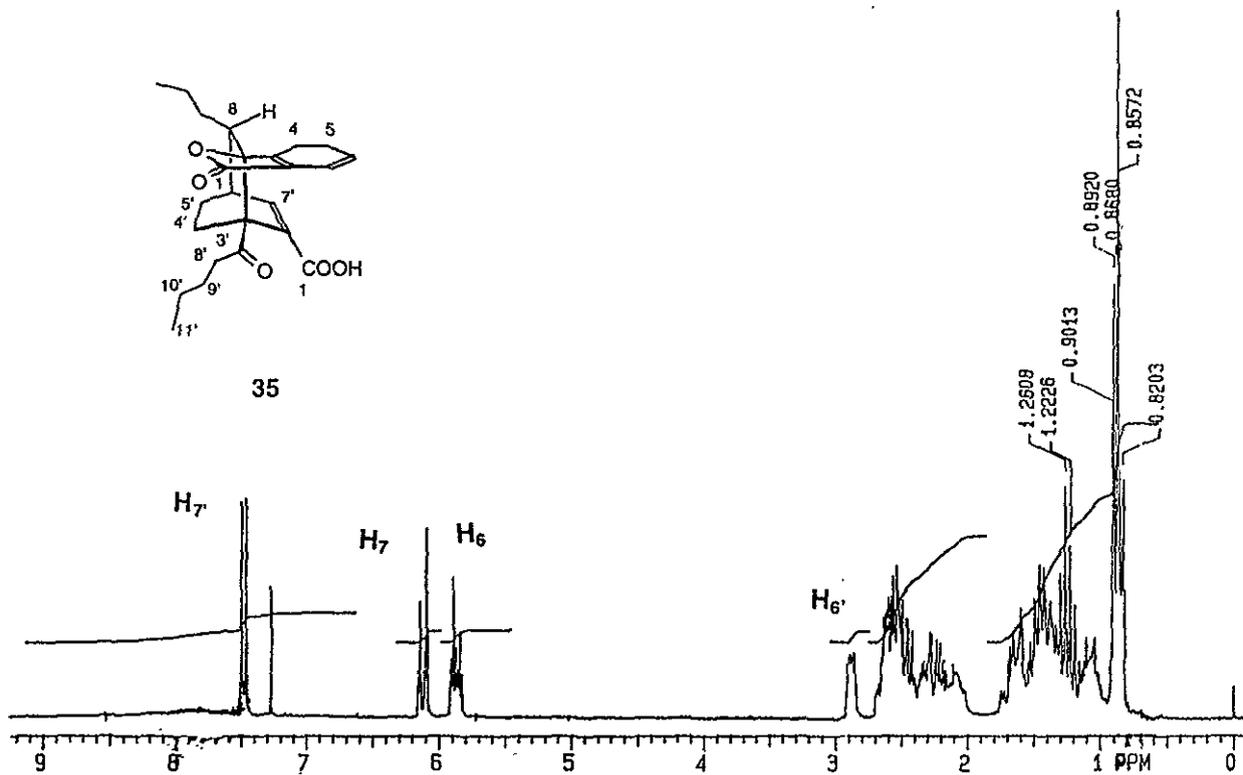
45



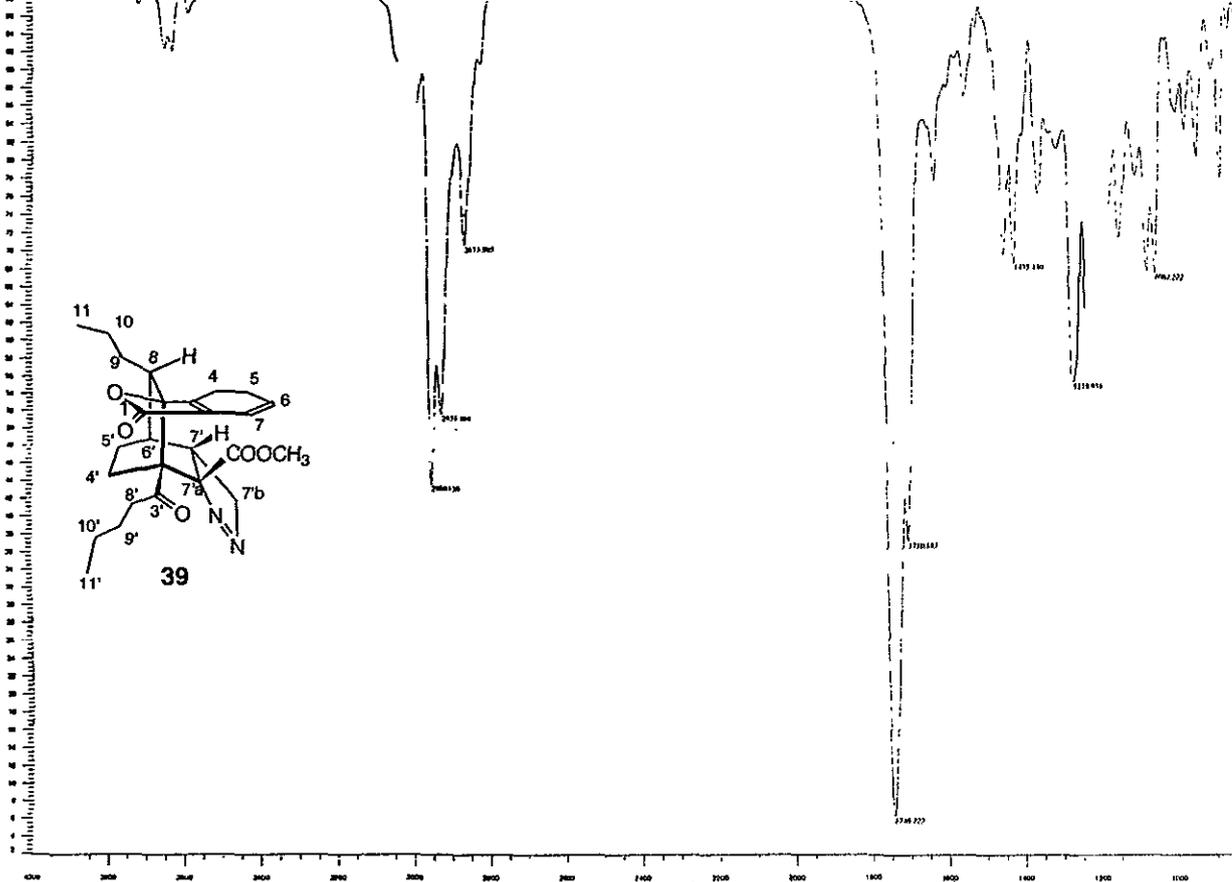
Espectro 30. RMN¹³C (75 MHz, CDCl₃) de 34.



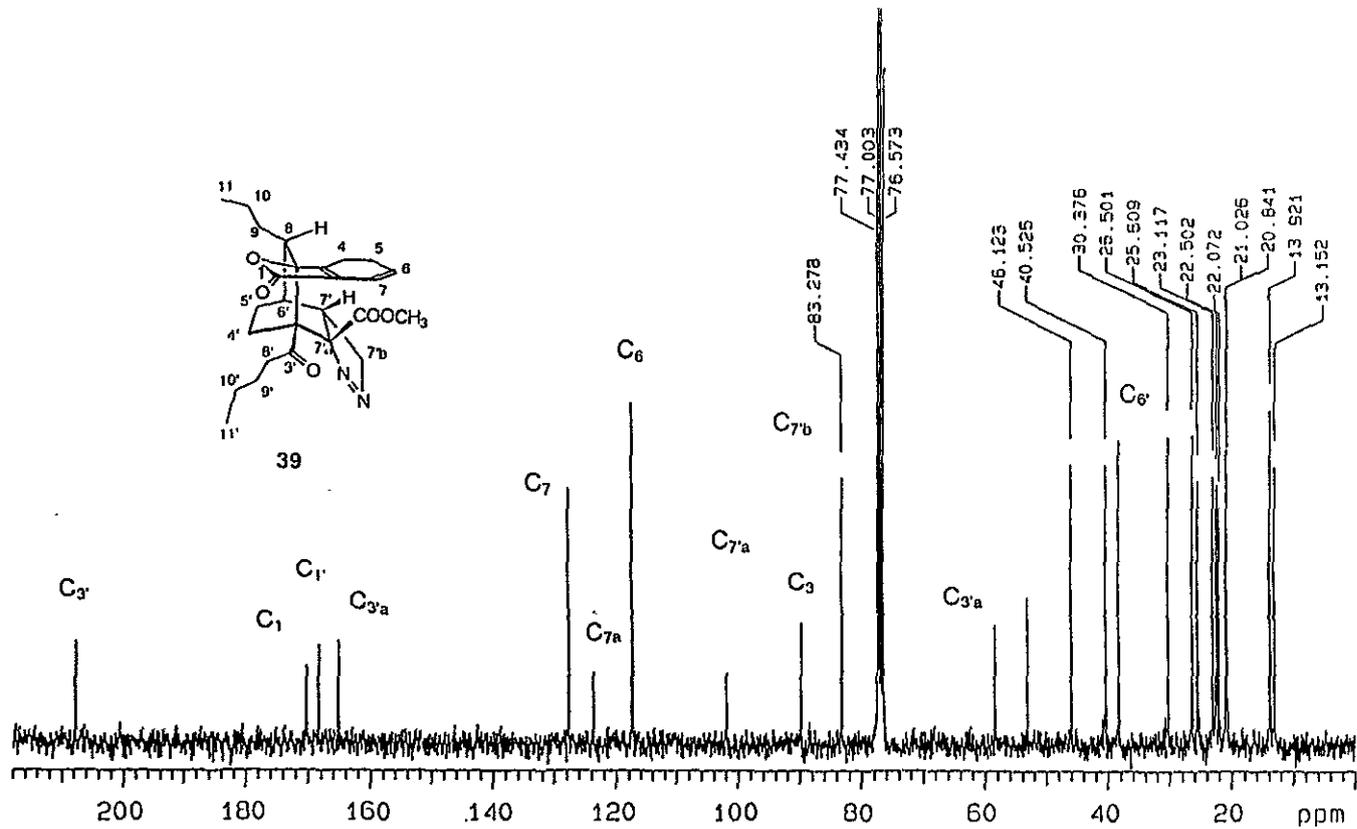
35



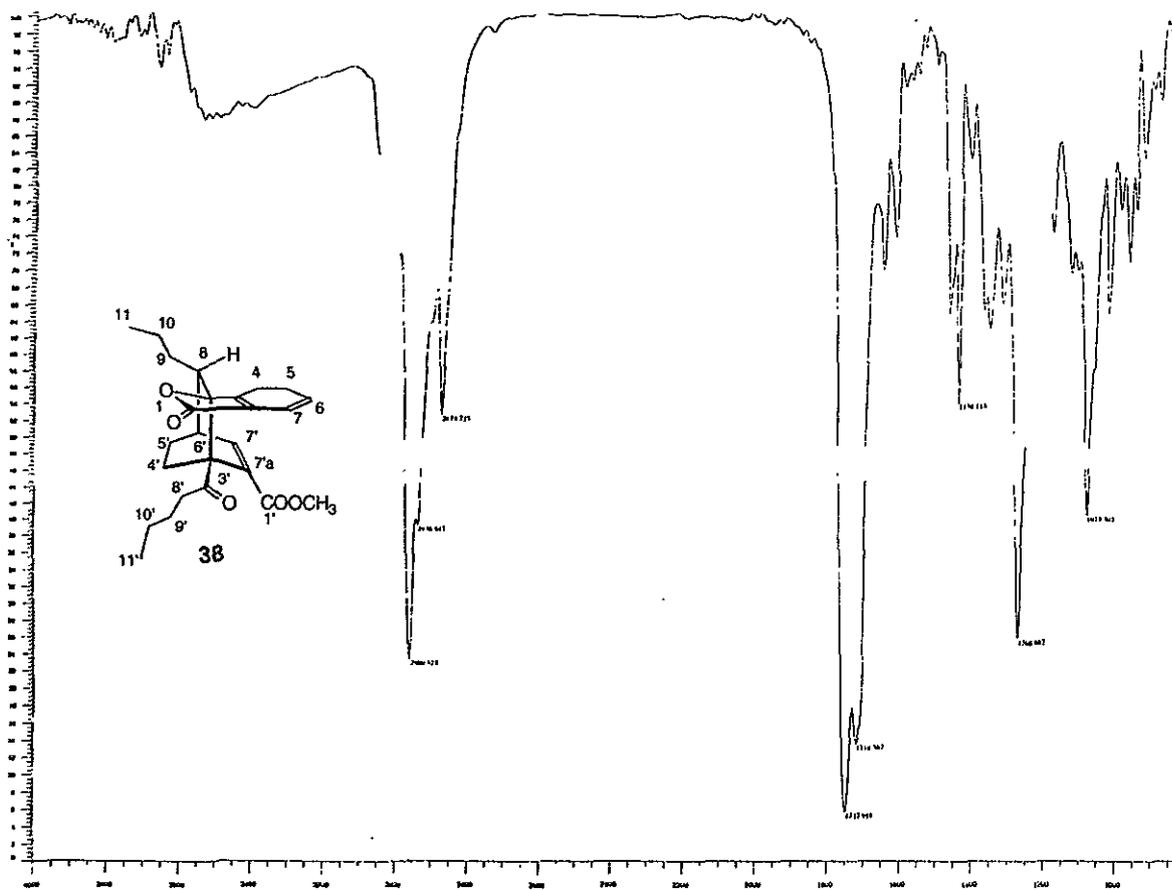
Espectro 31. RMN^1H (300 MHz, CDCl_3) de 35.



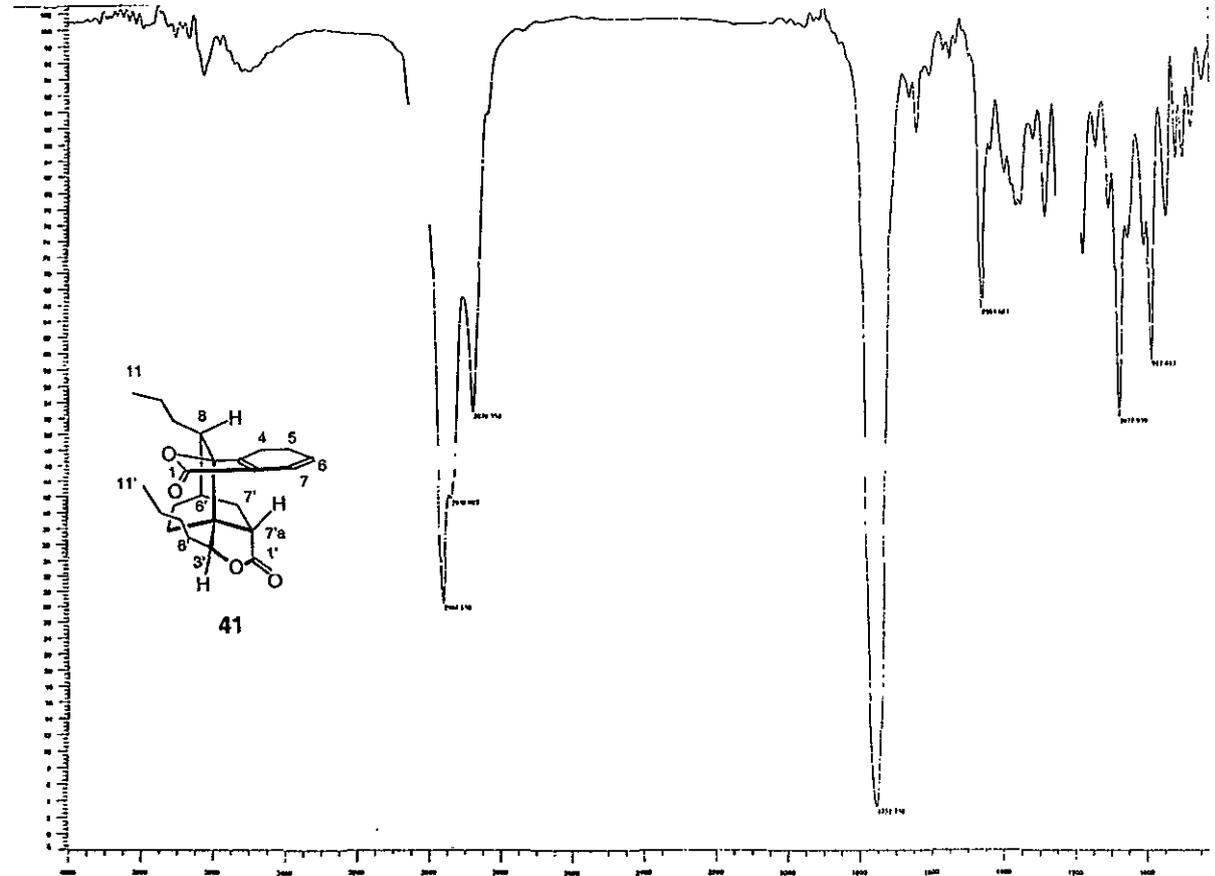
Espectro 32. IR (CDCl₃) de 39.



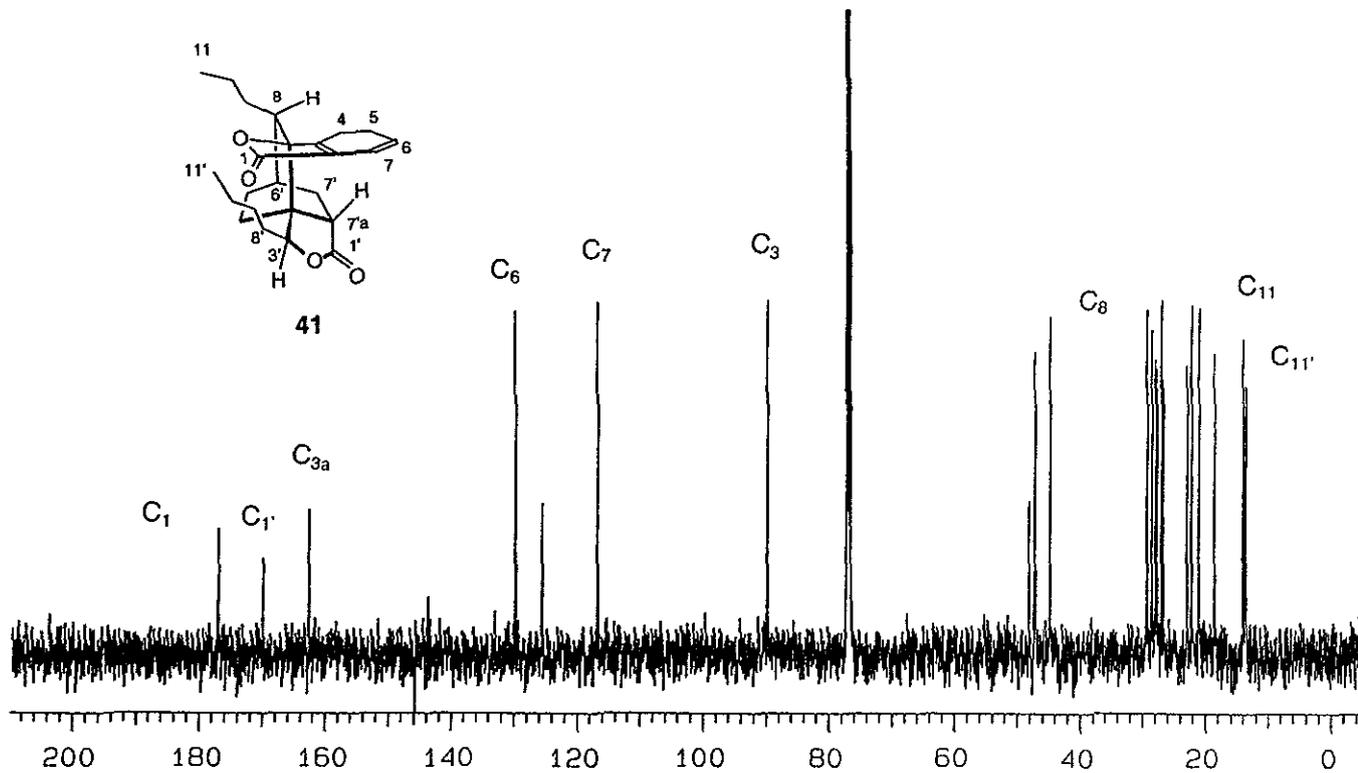
Espectro 33. RMN¹³C (75 MHz, CDCl₃) de 39.



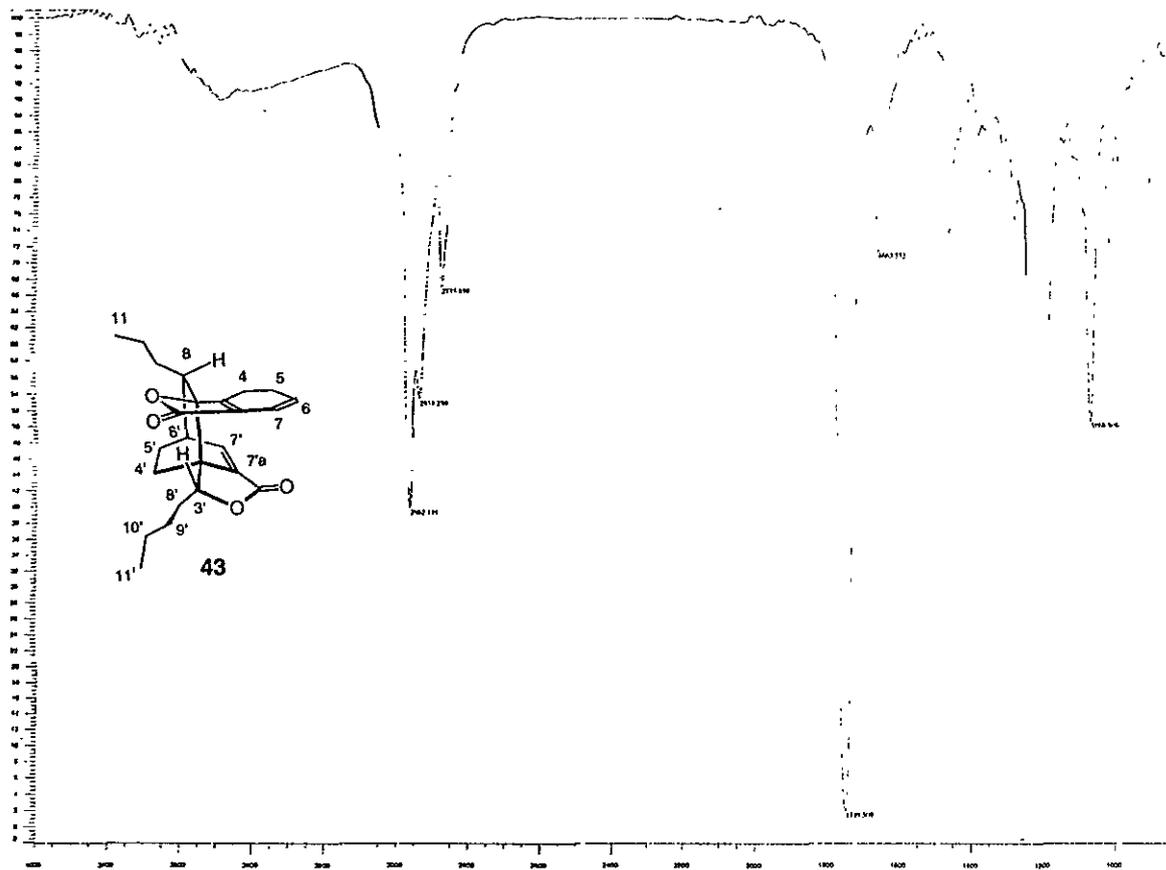
Espectro 34. IR (CDCl₃) de 38.



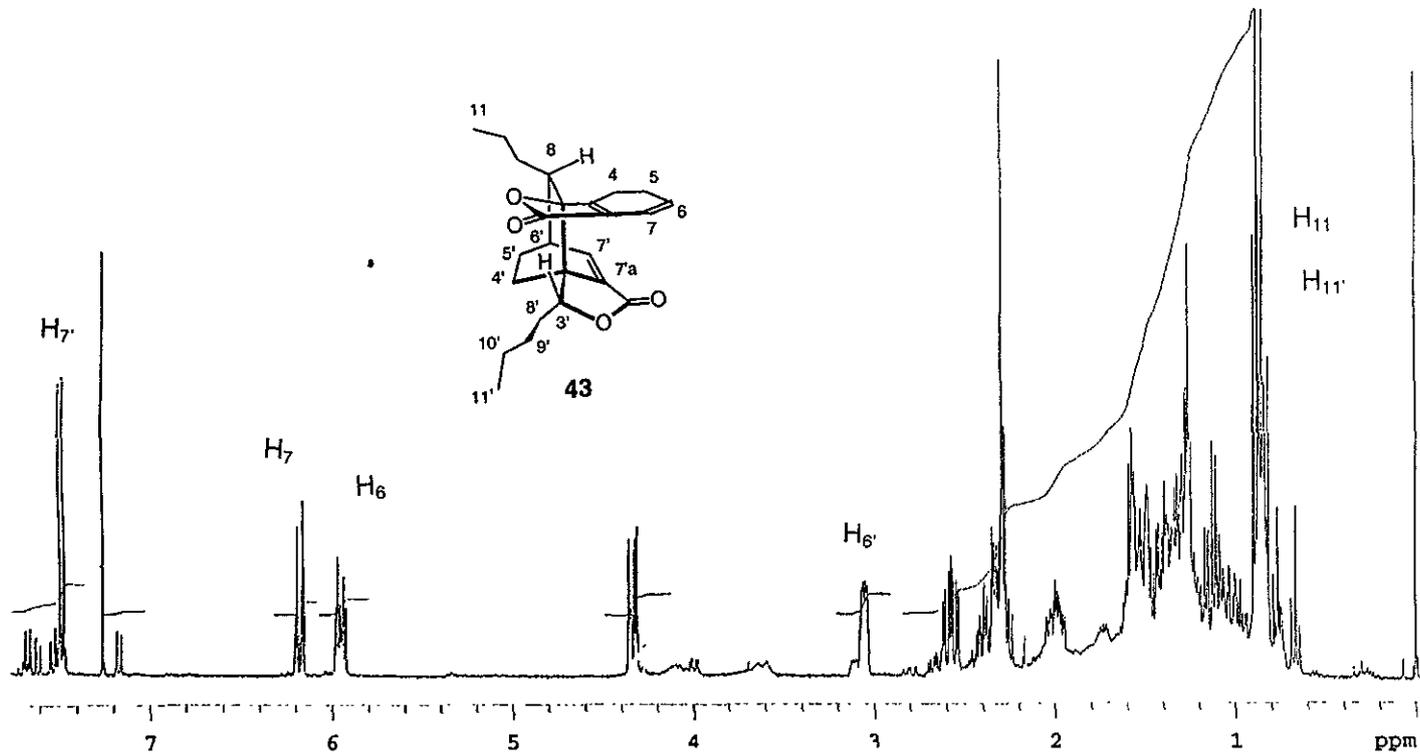
Espectro 35. IR (CDCl₃) de 41.



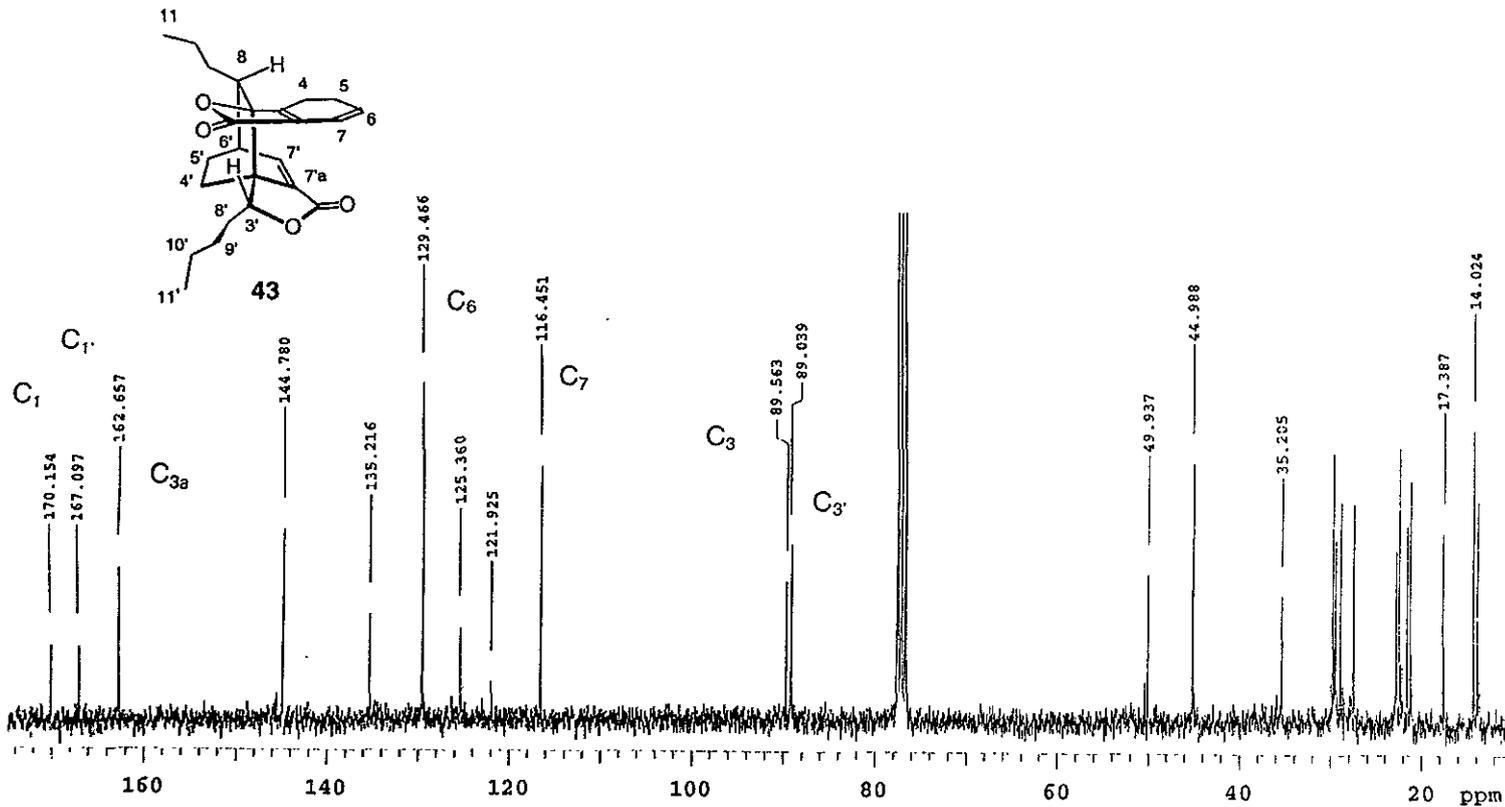
Espectro 36. RMN ^{13}C (CDCl_3) de 41.



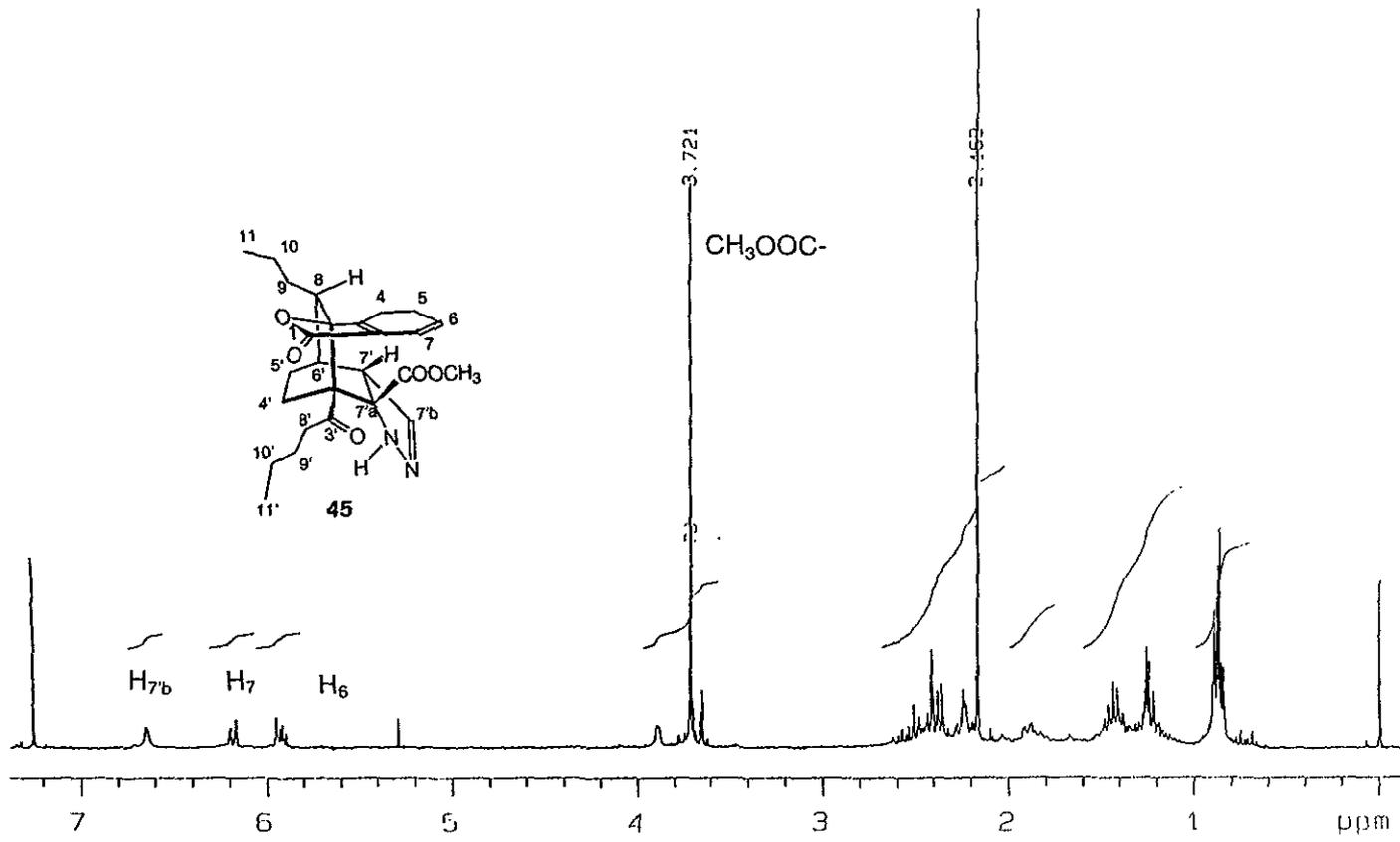
Espectro 37. IR (CDCl₃) de 43.



Espectro 38. RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) de 43.



Espectro 39. RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) de 43.



Espectro 40. RMN¹H (300 MHz, CDCl₃) de 45.