



HAL
open science

Transformations de terpénoïdes : 1. Réarrangements moléculai res et réactions d'oxydation de dérivés du longipinène, 2. Hémissynthèse de labdanes diterpénoïdes

Pablo Armando Chacón Morales

► **To cite this version:**

Pablo Armando Chacón Morales. Transformations de terpénoïdes : 1. Réarrangements moléculai res et réactions d'oxydation de dérivés du longipinène, 2. Hémissynthèse de labdanes diterpénoïdes. Chimie organique. Université de Bordeaux; Universidad de los Andes (Mérida, Venezuela; 1785-..), 2017. Français. NNT : 2017BORD0903 . tel-01827244

HAL Id: tel-01827244

<https://theses.hal.science/tel-01827244>

Submitted on 2 Jul 2018

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

THÈSE EN COTUTELLE PRÉSENTÉE
POUR OBTENIR LE GRADE DE
DOCTEUR DE
L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX
ET DE L'UNIVERSIDAD DE LOS ANDES

ÉCOLE DOCTORALE DES SCIENCES CHIMIQUES
POSTGRADO INTERDISCIPLINARIO EN QUIMICA APLICADA
SPÉCIALITÉ : CHIMIE ORGANIQUE

Par Pablo Armando CHACÓN MORALES

TRANSFORMATIONS DE TERPÉNOÏDES :
1. RÉARRANGEMENTS MOLÉCULAIRES ET RÉACTIONS
D'OXYDATION DE DÉRIVÉS DU LONGIPINÈNE
2. HÉMISYNTHÈSE DE LABDANES DITERPÉNOÏDES

Sous la direction du Pr. Laurent POUYSEGU
et du Pr. Juan Manuel AMARO-LUIS

Soutenue le 21 décembre 2017

Membres du jury:

Mme LACAÏLLE-DUBOIS, Marie-Aleth
M. CHARRIS, Jaime
M. POUYSEGU, Laurent
M. AMARO-LUIS, Juan-Manuel

Professeur, Univ. Bourgogne Franche-Comté
Professeur, Univ. Central de Venezuela
Professeur, Univ. Bordeaux
Professeur, Univ. de Los Andes

Rapporteur
Rapporteur, Président
Co-directeur
Co-directeur

Titre : Transformations de terpénoïdes: 1. Réarrangements moléculaires et réactions d'oxydation de dérivés du longipinène, 2. Hémisynthèse de labdanes diterpénoïdes

Résumé : Des transformations chimiques ont été réalisées sur des terpénoïdes isolés à partir de plantes de la famille *Asteraceae* de la flore des Andes Vénézuéliennes. Le sesquiterpène $7\beta,9\alpha$ -longipin-dihydroxy-2-én-1-one a été isolé à partir de *Stevia lucida* Lagasca. L'étude de la réactivité de ce composé a conduit à la synthèse de deux produits issus de réactions d'oxydation et à six produits qui résultent de réarrangements moléculaires. Parmi ces six produits de réarrangement, deux nouveaux composés, le merida-2,7-diène-1,9-dione et le 1-oxo-2-én-uladan-7(9)-olide, ont été caractérisés ; ces terpènes originaux, dont les squelettes carbonés sont sans précédent, ont été nommés Meridane et Uladane. Deux diterpènes, le labdan- $8\alpha,15$ -diol et l'austroepatol, ont été isolés à partir, respectivement, d'*Oxylobus glanduliferus* et d'*Austroepatorium inulaefolium*. Ces composés ont été modifiés chimiquement par acylation avec des acides carboxyliques aromatiques diversement substitués. Les dix-sept esters aromatiques ainsi synthétisés ont ensuite été évalués pour leur activité antibactérienne.

Mots clés : terpènes, longipinène, labdanes, réactions d'oxydation.

Title: Terpenoid Transformations: 1. Molecular rearrangements and oxidation reactions of longipinene derivatives, 2. Hemisynthesis of labdane diterpenoids

Abstract: Chemical transformations were performed on terpenoids isolated from plants of the *Asteraceae* family belonging to the flora of the Venezuelan Andes. From *Stevia lucida* Lagasca was obtained the sesquiterpene $7\beta,9\alpha$ -dihydroxy-longipin-2-en-1-one. The study of the reactivity of this compound led to the synthesis of two products resulting from oxidation reactions, and six products resulting from molecular rearrangements. Among these six rearrangement products, two new compounds, merida-2,7-dien-1,9-dione and 1-oxo-2-en-uladan-7(9)-olida, were characterized; these terpenes, whose carbone skeletons are unprecedented, were named Meridane and Uladane. From *Oxylobus glanduliferus* and *Austroepatorium inulaefolium*, respectively, were isolated two diterpenes, labdan- $8\alpha,15$ -diol and austroepatol. These compounds were chemically derivatized by acylation with diversely substituted aromatic carboxylic acids. The seventeen aromatic esters thus synthesized were then evaluated for their antibacterial activity.

Keywords: terpenes, longipinene, labdanes, oxidation reactions.

Institut des Sciences Moléculaires – Université de Bordeaux

ISM (CNRS-UMR 5255), Bât. A12, 351 cours de la Libération, 33405 Talence Cedex

CONTENIDO

	Página
1. Acta..... i
2. Resumen en Francés.....5
3. Introducción General.....16
4. Referencias Bibliográficas.....20
5. Capítulo 1	
Reagrupamientos moleculares y oxidaciones en derivados del Longipineno.....	..21
6. Introducción.....	..22
7. Hipótesis.....	..43
8. Objetivos.....	..43
9. Resultados y Discusión.....	..44
10. 7 β ,9 α -dihidroxi-longipin-2-en-1-ona [1].....	..46
11. Modificaciones sobre el anillo cicloheptánico.....	..57
12. Modificaciones sobre el anillo ciclohexánico.....	..86
13. Reagrupamientos Moleculares.....	.141
14. Revisión de la Estructura del Meridano.....	.195
15. Revisión del mecanismo propuesto para la formación del <i>seco</i> -Moreliano.....	.196
16. Parte Experimental.....	.197

	Leyenda	Página
17.	Espectros de Masas de los compuestos del Capítulo 1.	.212
18.	Conclusiones.....	.220
19.	Referencias Bibliográficas.....	.221
20.	Capítulo 2	
	Hemisíntesis de Diterpenos de la serie del Labdano..	.228
21.	Introducción.....	.229
22.	Hipótesis.....	.244
23.	Objetivos.....	.244
24.	Resultados y Discusión.....	.244
25.	Labdan-8 α ,15-diol [1]246
26.	Ésteres del labdan-8 α ,15-diol [1]257
27.	Austroeupatol [16]300
28.	Ésteres del Austroeupatol [16]309
29.	Actividad bactericida de los ésteres obtenidos a partir de [1] y [16]319
30.	Parte Experimental.....	.322
31.	Espectros de RMN de algunos intermedios de síntesis	.338
32.	Espectros de Masas de los compuestos del Capítulo 2	.347
33.	Conclusiones.....	.358
34.	Referencias Bibliográficas.....	.359

Résumé

Des terpénoïdes isolés à partir de plantes de la famille Asteraceae de la flore des Andes Vénézuéliennes ont été soumis à diverses transformations chimiques. Les résultats sont présentés dans deux chapitres distincts. Le chapitre 1 décrit les réactions réalisées à partir du 7 β ,9 α -longipin-dihydroxy-2-én-1-one, sesquiterpène isolé de *Stevia lucida* Lagasca. Le chapitre 2 concerne l'estérification de deux diterpènes, le labdan-8 α ,15-diol et l'austroepatol, isolés respectivement d'*Oxylobus glanduliferus* et d'*Austroepatorium inulaefolium*. Tous les composés ont été soigneusement caractérisés par spectroscopie RMN 1D et 2D, IR et spectrométrie de masse (MS).

Chapitre 1

Les dérivés de longipinène sont des sesquiterpénoïdes tricycliques contenant un cycle à quatre chaîons. La présence de ce cyclobutane couplée à la fonctionnalisation élevée des longipinènes du genre *Stevia* font de ces composés d'excellents substrats pour des réactions de réarrangement moléculaire. Ces composés sont aussi les métabolites secondaires les plus représentatifs du genre *Stevia*.

Les feuilles et les tiges non écrasées de *Stevia lucida* Lag. (Asteraceae) (environ 7,0 kg) ont été extraites avec du dichlorométhane à température ambiante pendant 10 min. L'extrait brut (environ 900 g) s'est révélé contenir des mélanges complexes de diesters de 7 β ,9 α -dihydroxylongipinène. Afin de réduire le nombre de constituants de ces mélanges, l'extrait brut de dichlorométhane a été hydrolysé avec du KOH / MeOH concentré porté au reflux pendant 30 min (schéma 1). Après achèvement de l'hydrolyse, un solide blanc (environ 14 g) a été récupéré et purifié par recristallisation avec du dichlorométhane. Le produit cristallin a été identifié comme étant le (4*R*, 5*S*, 7*R*, 9*R*, 10*R*, 11*R*)-7,9-dihydroxylongipin-2-én-1-one [1].



Stevia lucida Lagasca

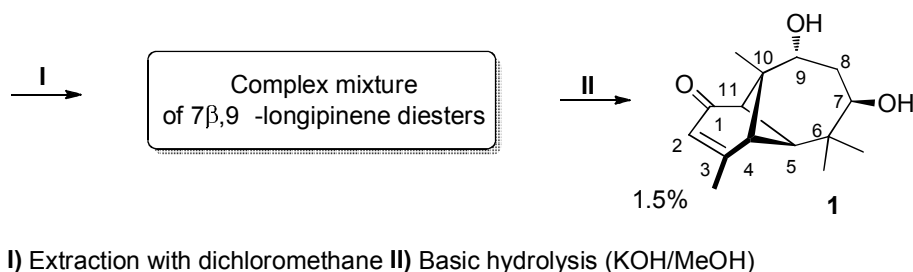


Schéma 1

Le spectre RMN ^1H du composé **[1]** présente quatre singulets dont chaque intégration correspond à trois protons. Deux d'entre eux, dont les déplacements chimiques sont très similaires (δ_{H} 1,16 et 1,18), ont été attribués au groupe *gem*-diméthyle [$> \text{C}(\text{CH}_3)_2$ (H-13 et H-14)] et ont été caractérisés dans le spectre HMBC à travers des corrélations C-13 \leftrightarrow H-14 \leftrightarrow C-6 \leftrightarrow H-13 \leftrightarrow C-14. Le singulet à δ_{H} 1,33 a été assigné à un groupe méthyle angulaire [$> \text{C}-\text{CH}_3$ (H-15)] celui à δ_{H} 1,95 a été attribué à un méthyle allylique [$=\text{C}-\text{CH}_3$ (H-12)] en raison de la présence d'une corrélation COSY $^1\text{H}-^1\text{H}$ correspondant à un couplage longue distance avec un signal légèrement élargi [δ_{H} 5,96 ; apparemment un quadruplet étroit, $J_{2,12} = 1,6 \text{ Hz}$, = CH (H-2)]. L'analyse de ces dernières données a révélé la présence d'une double liaison trisubstituée et les déplacements chimiques RMN ^{13}C de ses carbones [δ_{C} 123,0, = CH (C-2); 171,7, =C< (C-3)] a indiqué qu'elle est conjuguée à une cétone [δ_{C} 204,0, = C=C= O (C-1)]. Cette cétone α,β -insaturée correspond à la cyclohexénone présente dans la structure 1 (schéma 2). Le spectre COSY $^1\text{H}-^1\text{H}$ a également révélé le système de spins AMX d'un cycle cyclobutane [δ_{H} 3,62, d, $J_{4,11} = 6,8 \text{ Hz}$, (H-11) \leftrightarrow 2,66, d, $J_{4,11} = 6,8 \text{ Hz}$, (H-4) \leftrightarrow 2,43, s, (H-5)] dont les signaux sont caractéristiques de la structure des sesquiterpènes de la série longipinane. Enfin, les protons vicinaux aux groupes hydroxy sur le cycle cycloheptane ont été observés sous la forme de deux doublets de doublets [δ_{H} 4,54, dd, $J_{7,8} = 11,6$ et $2,0 \text{ Hz}$, > CH-OH (H-7); 4,01, dd, $J_{6,9} = 3,8$ et $2,9 \text{ Hz}$, > CH-OH (H-9)] dus à leurs couplages respectifs avec les protons diastéréotopiques du méthylène en C-8 [multiplets à δ_{H} 2,64 et 2,39; > CH₂ (H-8a et H-8 β)].

Le traitement du composé **[1]** avec le réactif de Collins (schéma 2) a conduit à la dicétone **[4]** (pf: 132-134 °C; HR-El-MS: m/z : 248,1427 [M^+]) dont la formation a été confirmée par la disparition du triplet H-9 dans le spectre RMN ^1H et la détection d'un nouveau signal de cétone en RMN ^{13}C [δ_{C} 210,8 > C= O, (C-9)], tandis que les autres signaux RMN n'ont pas été modifiés de manière significative. De toute évidence, la sélectivité remarquable de cette réaction est due à l'effet stérique du groupe *gem*-diméthyle sur la position C-7.

Le traitement du composé **[1]** avec le réactif de Jones (schéma 2) a généré la tricétone **[5]** dont la formation a été confirmée par la disparition des signaux des protons d'oxyméthine (H-7 et H-9) dans le spectre RMN ^1H et la détection de deux nouveaux signaux carbonyle cétonique [δ_{C} 203,1; > C= O (C-7) et 202,4, > C= O (C-9)] dans le spectre RMN ^{13}C . Il est important de noter que les protons diastéréotopiques du méthylène C-8 situé entre les deux carbonyles ont été fortement déblindés [δ_{H} 3,85, d, $J_{8,8} = 11,0 \text{ Hz}$, (H-8) \leftrightarrow 4,30, d, $J_{8,8} = 11,0 \text{ Hz}$, (H-8')].

La dicétone **[4]** et l'acide *p*-toluènesulfonique ont été dissous dans du benzène et chauffés au reflux pendant 1 h en utilisant un appareil de Dean-Stark (schéma 2). L'élimination du solvant sous pression réduite a ensuite fourni un mélange des composés **[6]**, **[18]** et **[19]** qui ont été purifiés par chromatographie préparative sur couche mince sur gel de silice, en éluant avec du dichlorométhane.

En comparant les spectres RMN des composés **[4]** et **[6]** (pf: 103-109 ° C; HR-EI-MS: m/z : 230.1317 [M^+]; rendement 30%), on constate qu'un processus de déshydratation s'est produit ; ceci a été mis en évidence par la disparition des signaux H-7 et H-8 dans le spectre RMN 1H de **[4]** et la détection d'un nouveau système oléfinique conjugué, correspondant à une cyclohepténone α,β -insaturée [δ_H 6.16, dd, $J_{7,8} = 11,9$ Hz et $J_{5,7} = 2,0$ Hz, = CH, (H-7); 5,95, d, $J_{7,8} = 11,9$ Hz, = CH, (H-8); δ_C 150,6, = CH, (C-7); 126,0, = CH, (C-8) et 201,8, C= C-C= O, (C-9)] ; les autres signaux restants dans les spectres RMN de **[4]** ne montrent aucun changement significatif.

Le composé **[18]** (pf: 93-97 °C; HR-EI-MS: m/z : 230,1311 [M^+]; rendement 15%), d'après son analyse RMN, contient un nouveau système oléfinique non conjugué, également situé entre C-7 et C-8 [δ_H : 5,53, dd, $J_{7,8} = 9,1$ Hz et $J_{5,7} = 1,3$ Hz, = CH, (H-7); 5,42, d, $J_{7,8} = 9,1$ Hz, = CH, (H-8); δ_C 139,5, = CH, (C-7); 129,7, = CH, (C-8)]. De même, les signaux de la $\Delta^{2,3}$ -cyclohexen-1-one sont conservés sans modifications significatives et un signal attribuable à une seconde cétone [δ_C 202,2, C= O, (C-9)] est observé dans le spectre RMN ^{13}C . Cependant, la différence majeure par rapport aux spectres RMN 1H des composés **[4]** et **[6]** consiste en la disparition des signaux longipinane caractéristiques du cycle cyclobutane et en la détection d'un nouveau système de spins AMX [δ_H 3.28, d, $J_{4,11} = 2.5$ (> CH, H-4); 2,39, s, (> CH, H-5); 2,89, m, (> CH, H-11)]. D'après les valeurs des constantes de couplage observées dans ce système ($J_{4,5}$ et $J_{5,11} < 1,0$ Hz), les angles dièdres impliquant H-4 / H-5 et H-5 / H-11 devraient être proches de 90 °, chacun de ces hydrogènes devant être attaché aux carbones de la tête de pont. La formule moléculaire, $C_{15}H_{18}O_2$, a été déterminée par des données spectrales RMN et par spectrométrie de masse HR-EI-MS. Elle correspond à sept insaturations. Avec deux cétones et deux doubles liaisons, le composé **[18]** a nécessairement une structure tricyclique. Une étude détaillée des spectres RMN 2D a permis d'établir les connectivités de carbone complètes dans la structure **[18]**. Cette structure présente un nouveau squelette carbocyclique qui a été nommé meridane; par conséquent, le composé **[18]** est un dérivé de meridane appelé merida-2,7-dien-1,9-dione **[18]** (schéma 2).

Le composé **[19]** (pf: 182-183 °C, rendement 16%) possède également une structure tricyclique, conforme à la formule moléculaire $C_{15}H_{20}O_3$ qui a été établie par HR-EI-MS (m/z : 248.1404 [M^+]) et RMN 1D. L'analyse comparative des spectres RMN 1D de **[19]** avec à ceux de son précurseur **[4]** a montré trois changements significatifs: **1)** La disparition des signaux du système de spins AMX attribué au cyclobutane, **2)** La détection d'un nouveau méthylène [multiplets à δ_H 2,83 et 2,12, > CH₂, (H-4 et H-40); δ_C 31.2, > CH₂, (C-4)] situé dans une position allylique à la double liaison $\Delta^{2,3}$ [couplage à longue portée COSY 1H - 1H : corrélations H-4↔ H-2↔ H-40 et HMBC: H-40↔ C-2↔ H-4↔ C-3↔ H-4↔ C-12], **3)** Le déplacement à haut champ du signal du carbonyle

C-9 [δ_C 179.6, -O-C=O, (C-9)] indiquant que le céto-groupe se transforme en ester. Une étude détaillée des spectres RMN 2D (y compris des couplages observés dans les expériences NOESY) a permis d'établir la structure **[19]** qui possède un nouveau squelette carbocyclique, appelé uladane; par conséquent, la structure **[19]** correspond à une lactone d'uladane appelée 1-oxouladan-2-én-7 (9)-olide **[19]** (schéma 2).

Le produit **[5]** et l'acide *p*-toluènesulfonique ont été dissous dans benzène et porté aureflux pendant 1 h en utilisant un montage de Dean-Stark (schéma 2). Après élimination du solvant sous pression réduite, un mélange de composés a été obtenu puis purifié par chromatographie préparative sur couche mince (gel de silice), en éluant au dichlorométhane. La formule moléculaire du composé **[20]** a été déterminée par RMN 1D et spectrométrie de masse (MS) comme étant $C_{15}H_{18}O_3$, ce qui correspond à sept insaturations parmi lesquelles figurent une cétone [δ_C 211,4, >C=O (C-7)], un ester [δ_C 162.6, -O-C=O (C-1)] et deux doubles liaisons [δ_C 118,8, =CH (C-2); 5,92, =CH, dq, $J_{2,12} = 2,0, 1,4$ Hz (H-2); 158,5, =C< (C-3); 144,6, =C< (C-10); 124,9, =CH (C-11); 5.59, =CH, dq, $J_{5,11,15} = 3,0, 1,7$ Hz (H-11)]; ce composé a donc nécessairement une structure tricyclique. D'après les données RMN, les deux liens sont trisubstitués, et chacun d'eux contient un groupe méthyle [δ 20,8, -CH₃ (C-12); 1,91, t, $J_{2,12} = 1,2$ Hz (H-12); 12,2, -CH₃ (C-15); 1,66, d, $J_{11,15} = 1,7$ Hz (H-15)]. De plus, les déplacements chimiques révèlent qu'une double liaison est conjuguée à un groupe carbonyle. L'analyse comparative des spectres RMN 1D du composé **[20]** avec ceux de son précurseur **[5]** ont montré cinq changements significatifs: **1)** La détection d'un nouveau système oléfinique trisubstitué porteur d'un groupe méthyle (corrélations HMBC: C-10 ↔ H-15 ↔ C-11), **2)** La disparition des signaux caractéristiques du cyclobutane du longipinane [couplage "cis" de type W (H-4 ↔ H-11)], **3)** Le signal carbonyle de la cétone du système $\Delta^{2,3}$ -cyclohexen-1-one (C-1) présente un nouveau déplacement chimique correspondant à une fonction ester (corrélations HMBC: C-3 ↔ H-12 ↔ C-2 / H-2 ↔ C-1), **4)** Le signal RMN ¹³C du carbonyle cétonique C-9 a disparu et un signal correspondant à un carbone tertiaire oxygéné est détecté, ce qui indique qu'il appartient à un groupe ester [δ_C 87.3, >C-O (C-9)], **5)** Le signal carbonyle cétonique C-7 a été déblindé et les protons du méthylène situés en α de la cétone ont été blindé [δ_H 2,87, d, $J_{8,8} = 17,1$ Hz (H-8) ↔ δ_H 2,79, d, $J_{8,8} = 17,1$ Hz (H-8')]. Cela a corroboré le fait que la cétone (C-9) a disparu (corrélations HMBC: C-7 ↔ H-8 / H-8' ↔ C-9 / H-8 / H-8' ↔ C-10). Enfin, les signaux d'un groupe *gem*-diméthyle ont été conservés sans modification significative. Le pic détecté dans l'analyse HR-EIMS (*m/z* 246.1262) suggère que le composé **[20]** est un isomère de son précurseur **[5]**. Cela a renforcé l'hypothèse selon laquelle **[20]** résulte d'un réarrangement moléculaire de **[5]**. Après une analyse approfondies de toutes ces informations, et plus particulièrement sur la base des spectres RMN 2D, il a été établi que le composé **[20]** est le (4*R*, 5*S*, 9*S*)-1,11-*sec*o-oxomorélien-2,10-dièn-9,1-olide **[20]** (schéma 2).

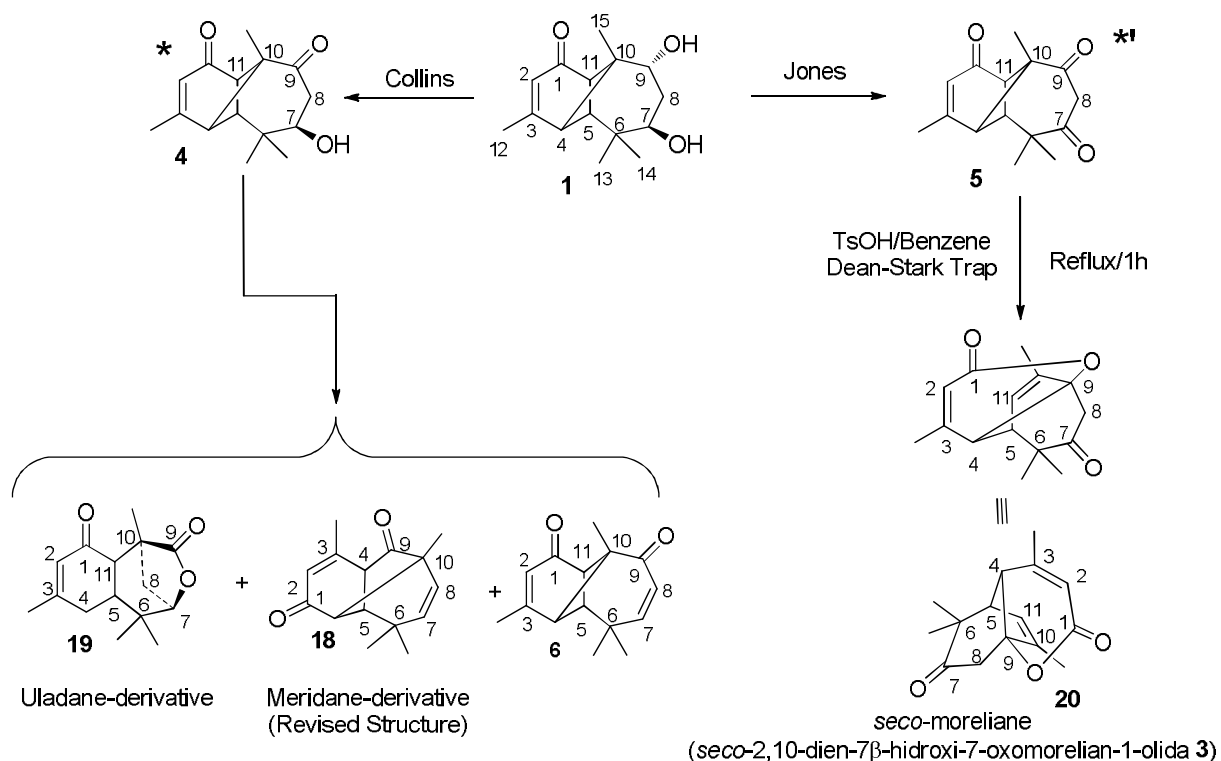


Schéma 2

En plus de ces réarrangements moléculaires, la synthèse de dérivés de Moreliane ([16] et [17]) et Pingilonane [21] a été réalisée en suivant des méthodes décrites dans la littérature. Ces composés sont deux autres dérivés de Longipinane (schéma 3).

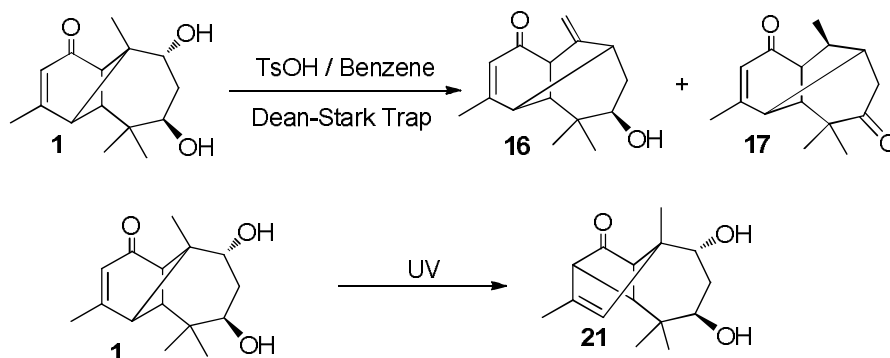


Schéma 3

(*) CHACÓN-MORALES P. A. and AMARO-LUIS J.M. 2016. Meridane and uladane, two unprecedented sesquiterpene skeletons obtained by Wagner–Meerwein rearrangements of Longipinane derivatives. *Tetrahedron Lett.*, **57**, 2713–2716.

(*¹) CHACÓN MORALES P. A., AMARO-LUIS J. M. AND. KUTATELADZE A. G. 2017. Structure Determination and Mechanism of Formation of a seco-Moreliane Derivative Supported by Computational Analysis. *J Nat. Prod.*, **80**, 1210-1214.

Dans l'étude suivante, les réactions réalisées sur la cyclohexenone du longipinène ont principalement porté sur l'obtention de dérivés diosphénoliques. Les diosphénols sont des α -dicétones dans lesquelles l'un des carbonyles se présente sous sa forme énol. En raison de l'oxydation sélective de la double liaison d'une cyclohexénone par traitement au permanganate, la réaction a été effectuée en utilisant le diol **[1]** comme substrat (schéma 4). Afin d'élargir la diversité des diosphénols obtenus, le triol **[10]** a été traité avec le réactif de Jones (schéma 4). Un point fondamental pour la caractérisation des diosphénols synthétisés était la disparition du proton oléfinique H-2.

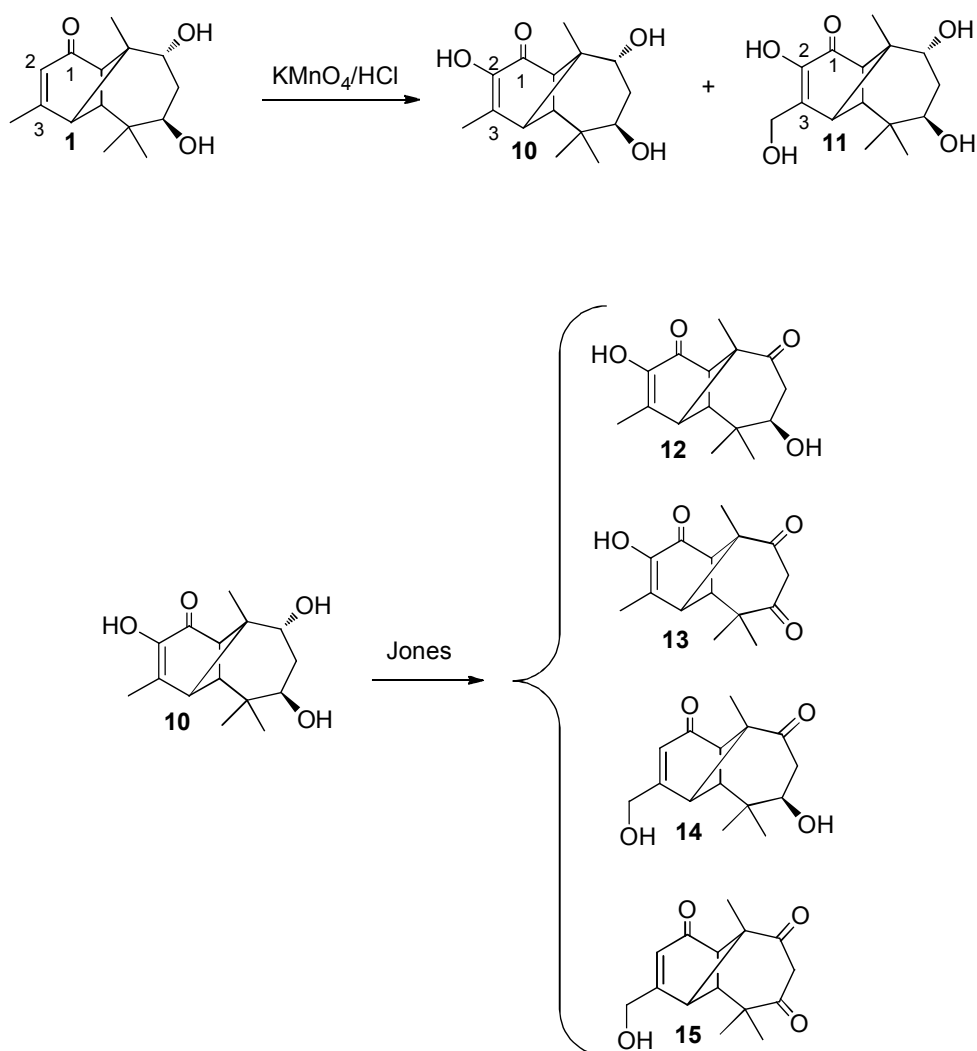


Schéma 4

Chapitre 2

De nombreuses plantes des Andes Vénézuéliennes biosynthétisent des diterpènes de type labdane; ces travaux de recherche se sont concentrés sur les espèces *Oxylobus glanduliferus* A. Gray et *Austro eupatorium inulaefolium* qui sont, respectivement, une source importante de labdan-8 α ,15-diol **[1]** et d'austroepatol **[16]** (schema 5). L'objectif était de synthétiser une série de dérivés de labdane et d'évaluer l'activité bactéricide de ces composés.

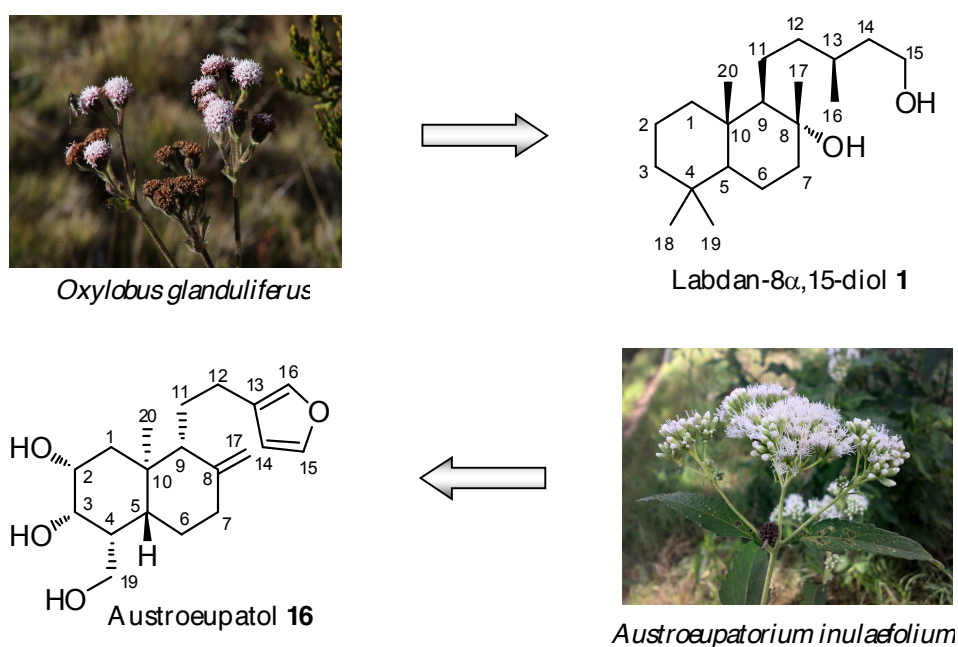


Schéma 5

Le composé **[1]** a été isolé sous la forme d'un solide cristallin blanc dont l'analyse RMN ^1H et ^{13}C permet d'établir la formule moléculaire $\text{C}_{20}\text{H}_{38}\text{O}_2$ correspondant à deux insaturations. Les données IR et RMN ^{13}C ont indiqué que le composé **[1]** ne comporte pas de double liaison ni de groupe carbonyle et doit donc être bicyclique. Le spectre RMN ^1H montre un doublet et trois singulets qui sont attribués, respectivement, à un groupe secondaire et à quatre groupes méthyle tertiaires. Les corrélations attendues entre les signaux du groupe méthyle en RMN ^1H et les pics DEPT-135 / ^{13}C observés dans le spectre HMQC ont permis l'attribution des signaux RMN ^1H et ^{13}C de tous les groupes méthyle [δ 0,85, d, $J \cong 6,3$ Hz, (H -16); 20,0 (C-16); 0,85, s (H-18); 33,5 (C-18); 0,78, s (H-19); 21,6 (C-19); 0,78, s (H-20); 15,5 (C-20); 1,12, s (-O-C-CH $_3$, H-17) 24,0 (-O-C-CH $_3$, C-17)]. Dans le DEPT 135, on détecte trois signaux correspondant à des carbone trivalent de type méthine [δ_{C} 56.2 (C-5), 62.5

(C-9) et 30.6 (C-13)]. Dans la phase négative du DEPT-135, on observe neuf signaux correspondant à des méthylènes [δ_c 39,8 (C-1), 18,5 (C-2), 42,1 (C-3), 20,6 (C-6), 44,4 (C-7), 23,1 (C-11), 41,1 (C-12), 39,8 (C-14) et 60,8 (-CH₂-OH, C-15)]. Le spectre RMN ¹³C comporte aussi trois carbones quaternaires qui ne sont pas détectés dans le DEPT [δ_c 33,3 (C-4), 74,6 (>C-OH; C-8) et 39,2 (C-10)]. Ces données permettent d'établir que le composé étudié est peut-être un diterpène de type labdane ou de type halimane, car le nombre de motifs méthyle, méthylène, méthine et de carbone quaternaire correspond des squelettes de ce type (Devon et Scott, 1972). Les corrélations observées dans le spectre HMBC ont permis d'établir la présence dans la molécule d'un groupe *gem*-diméthyle [H-18 ↔ C-4 ↔ H-19 (A)], d'un méthyle angulaire [H-20 ↔ C-10 (B)], d'un méthyle vicinal à un groupe hydroxyle [H-17 ↔ C-8 (C)], d'un méthyle secondaire [H-16 ↔ C-13 (D)] et d'un groupe hydroxyle primaire [H-13 ↔ C-15 ↔ H-14 (E)]. La position de ce dernier groupe était également confirmée par le spectre COSY ¹H-¹H. La connectivité entre les fragments A, B, C, D et E a été établie par leurs corrélations HMBC avec les méthanes et les méthylènes, comme cela est indiqué dans la figure 1.

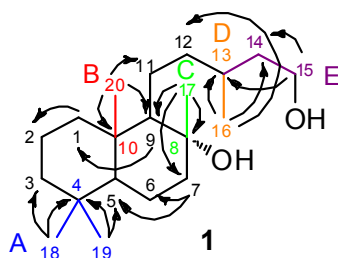


Figure 1

Le composé **[1]** a ensuite été estérifié en utilisant une variété d'acides aromatiques. La structure de chaque ester obtenu a été identifiée sur la base de l'analyse spectroscopique, y compris la RMN bidimensionnelle. Les signaux du noyau diterpène estérifié sont pratiquement inchangés (à l'exception du méthylène C-15, dont les signaux sont significativement déblindés); pour cette raison, l'analyse spectrale a été axée sur les régions aromatiques des spectres RMN ¹H et ¹³C. Les spectres HMBC, en particulier les corrélations entre H-15 (protons oxyméthylène de diol **[1]**) et C-1 (carbonyle) de chaque ester, ont été très importants pour confirmer la formation des produits désirés. Le schéma 6 décrit la réaction générale d'estérification et les différents dérivés obtenus par couplage entre le 13(*S*)-labdan-8 α ,15-diol **[1]** et les acides aromatiques substitués. Il faut souligner que le groupe hydroxyle en C-8, correspondant à l'alcool tertiaire, n'a jamais été estérifié.

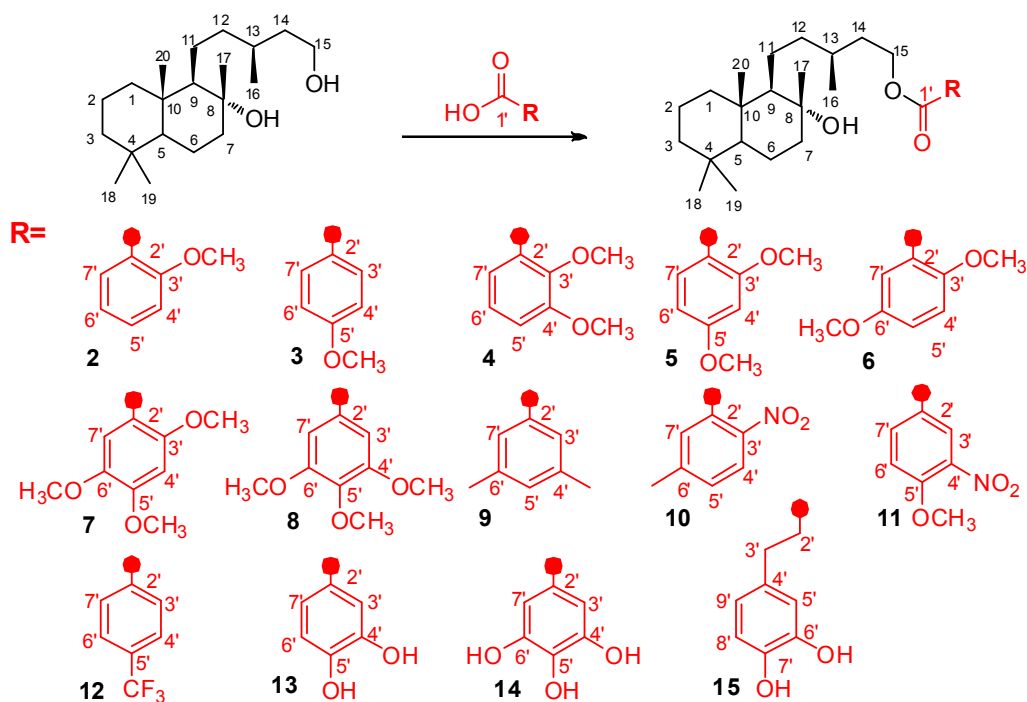


Schéma 6

L'austroepatol **[16]** cristallisé prend la forme d'un prisme incolore [pf: 116-118 ° C; $[\alpha]_D$: -78,9 (c = 0,99, MeOH)]. Son spectre IR a montré des bandes typiques de groupes hydroxyle [ν_{\max} : 3368 (OH); 1100-1250 cm^{-1} (CO)] et d'oléfines [ν_{\max} : 3082 cm^{-1} (= CH), 1642 cm^{-1} (C=C)]. Les données obtenues à partir de l'analyse des spectres RMN ^1H et RMN ^{13}C ont permis de déterminer le nombre d'hydrogène et de carbone présents dans la molécule, le degré d'insaturation, ainsi que le type de substitution de chaque carbone, ce qui a permis d'établir la formule moléculaire $\text{C}_{19}\text{H}_{28}\text{O}_4$. Le composé **[16]** a donc six insaturations, dont trois correspondent à des doubles liaisons carbone-carbone (C=C). Six signaux de carbones sp^2 d'oléfines sont détectés dans le spectre RMN ^{13}C ; deux d'entre eux sont attribuées à une oléfine exocyclique [146,8 (C-8) et 108,1 ppm (C-17)] et un autre appartient à un cycle furanique [125,2 (C-13), 110,9 (C-14), 142,6 (C-15) et 138,6 ppm (C-16)]. Par conséquent, les trois insaturations restantes correspondent à la présence de cycles, ce qui indique qu'il s'agit d'un composé tricyclique. Sur la carte COSY ^1H - ^1H du composé **[16]**, on peut observer un système AB pour les protons oléfiniques [4.91, s (H-17) et 4.65, s (H-17')] et le système AMX appartenant à un noyau furane monosubstitué [6.23, d, J= 0.7 Hz (H-14), 7.32, t, J= 1,5 Hz (H-15) et 7.17, s (H-16)] (Figure 4). Les protons vicinaux des groupes hydroxyle [δ_{H} : 4,91, d, J= 2,4 Hz (H-2) et 3,77, dd, J= 5,3 et 3,3 Hz (H-3)] présentent des corrélations dans la carte COSY

^1H - ^1H (H-2 \leftrightarrow H-3). L'hydrogène assigné comme étant H-2 est en corrélation avec les protons du méthylène (H-2 \leftrightarrow H-1), ce qui suggère que le méthine C-2 est vicinal pour un groupe méthylène [δ 42.4 ($>$ CH₂, C-1); δH : 2.11 ($>$ CH₂, H-1) et 1.18 ($>$ CH₂, H-1)]. Les protons d'oxyméthylène [δH : 4,46; t, J = 10,2 Hz (H-19) et 3,60; d, J = 8,8 Hz (H-19)] sont intercorrélés avec H-3 (H-19 \leftrightarrow H-4 \leftrightarrow H-3) par un signal d'un proton méthine [δ 2,10; m (H-4); 46,6 (C-4)] (Figure 4). En outre, comme il n'y a plus de carbone sp^3 oxygéné, on conclut que les motifs oxygénés correspondent aux groupes hydroxyle.

Une analyse HMBC des groupes méthyle [δ 0,76; s (-CH₃, H-20); 15,7 (-CH₃, C-20)] a montré des corrélations avec un carbone quaternaire [δ 37,5 ($>$ C $<$; C-10)], deux carbones méthine [δ 1.51, m ($>$ CH, H-5); 47,4 ($>$ CH, C-5) et 1,54, m, ($>$ CH, H-9); 55,6 ($>$ CH, C-9)] et un méthylène [δC 42,4 (C-1)]. Les protons oléfiniques sont corrélés avec le carbone quaternaire (C-10) et un méthine (C-9). On peut également apprécier que le cycle furanique est lié à un méthylène [δ 2,54; m; ($>$ CH₂, H-12); 2,20; m; ($>$ CH₂, H-12); 23,3 ($>$ CH₂; C-12);] (Figure 4). On associe les autres méthylènes [29.1 (C-6); 38,0 (C-7) et 23,3 ppm (C-11)] sur la structure partielle représentée dans le schéma 7, la décaline hexa-substituée correspondant à un naphthalate de furane de la série labdane.

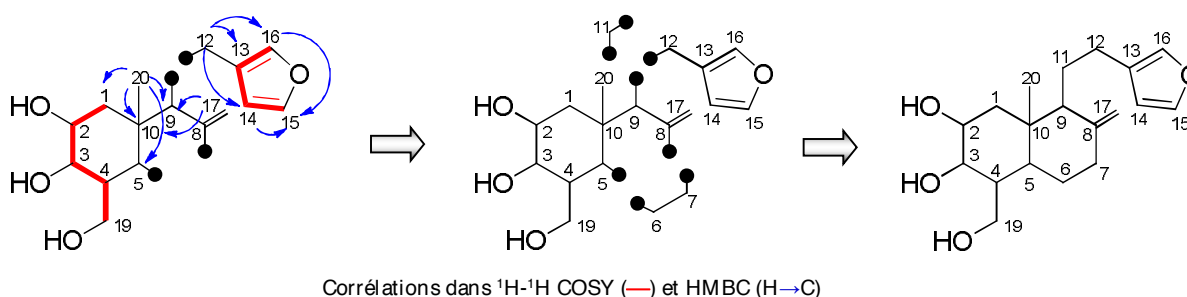


Schéma 7

L'austroéupatol **[16]** a été estérifié avec de l'acide 3,4-dihydroxybenzène [également appelé acide protocatéchuique ou **APC** (schéma 8)]. Pour prévenir la réaction des hydroxyles phénoliques avec cet acide, une protection préalable de ces hydroxyles a été réalisée avant d'effectuer le couplage avec l'austroéupatol **[16]**. Une fois confirmée la formation des esters par spectroscopie RMN, les fonctions phénoliques ont été déprotégées comme indiqué dans la section expérimentale. Parmi les trois groupes hydroxyle du composé **[16]**, les rendements chimiques indiquent que le plus réactif correspond à l'alcool primaire en C-19. Ainsi, l'ester **[17]** est le composé formé avec un rendement supérieur; c'est aussi, sans aucun doute, le premier composé généré dans la réaction.

Cependant, bien que la formation de l'ester **[17]** soit favorisée cinétiquement, il n'est pas possible de contrôler la sélectivité de l'estérification du triol **[16]** par la stoechiométrie de la réaction, puisqu'elle a été réalisée dans des conditions équimolaires et peu de temps après le début de la réaction, une tache intense correspondant à la formation de **[17]** a été détecté par TLC simultanément avec deux autres taches faibles. L'une correspond au diester résultant du couplage du groupe hydroxyle en C-3 du composé **[17]** (diester **[18]**, c'est le second produit en rendement) et l'autre correspond au monoester formé par le couplage entre le groupe acide et hydroxyle en C-3 du composé **[16]** (composé **[19]**, obtenu avec un rendement inférieur). Toutes les structures ont été confirmées par l'analyse des spectres RMN 2D.

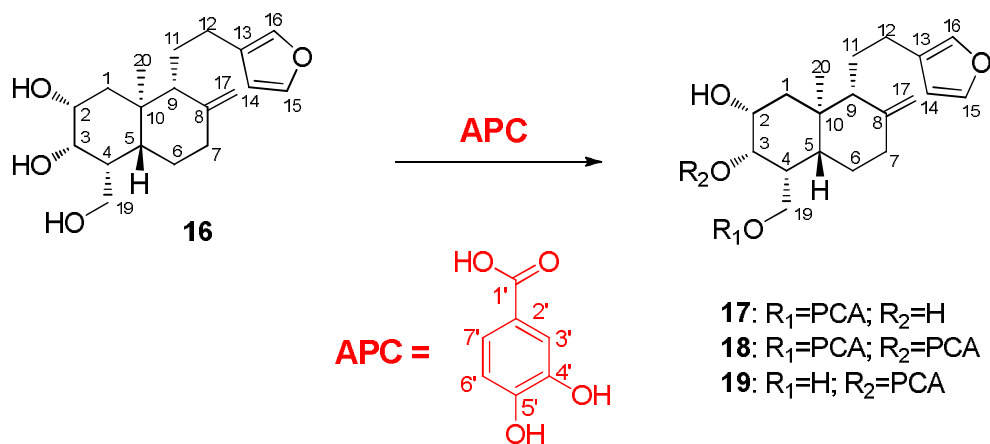


Schéma 8

Les dix-sept esters aromatiques ainsi synthétisés ont ensuite été évalués pour leur activité antibactérienne. L'activité antibactérienne de ces dérivés diterpéniques a été évaluée sur quatre souches bactériennes [deux Gram positif (+) et deux Gram-négatives (-)]: *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*. Les résultats indiquent que seul le composé **[17]** possède une Concentration Bactéricide Minimales (CBM) de 300 µg/mL contre *S. aureus* et a inhibé la croissance de la souche avec une Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) comprise entre 16 et 8 µg/mL. Les composés **[14]**, **[16]** et **[18]** ont quant à eux montré des CMI supérieures à 300 µg/mL (comprises entre 600 et 300 µg/mL).

INTRODUCCIÓN GENERAL

Los animales, incluidos los humanos y la mayoría de los microorganismos dependen de las plantas como fuente de alimentación. Por esta razón, es lógico pensar que la evolución de las plantas ha dependido de las estrategias de defensa frente a animales herbívoros y organismos patógenos. Las plantas también deben competir con otras plantas por la luz del sol, agua y nutrientes. Debido a que no pueden desplazarse para evitar el peligro, han desarrollado otros mecanismos de defensa: la capacidad de regenerar partes dañadas, la protección mecánica (es decir, espinas, clavos, pelos urticantes, etc.); corteza gruesa en las raíces y tallos, látex o resinas que disuaden a insectos masticadores y la producción de metabolitos secundarios.

Los **metabolitos secundarios**, también conocidos como productos naturales (Marcano & Hasegawa, 2002; Dewick, 2002; Gutiérrez & Estevez, 2009), son todos aquellos compuestos biosintetizados por las plantas cuyo rol está ligado a su supervivencia, a pesar de que en la mayoría de los casos no tienen utilidad aparente para el ser que los biosintetiza.

Existe un tercer grupo de metabolitos conocido como **fitoalexinas**; éstas son sustancias producidas por las plantas como mecanismo de defensa natural para combatir infecciones. Las fitoalexinas son sustancias tóxicas para las bacterias y hongos. Normalmente las plantas no las acumulan, sino que las producen en el momento de ser afectadas.

Los productos naturales se clasifican de acuerdo a sus estructuras y en función de su ruta biosintética. A grandes rasgos se pueden dividir en cuatro grupos:

Compuestos alifáticos (ácidos grasos, poliacetilenos, eicosanoides, entre otros), su biogénesis ocurre por la ruta del acetato, en la cual intervienen dos enzimas: acetil-CoA y malonil-CoA.

Compuestos aromáticos (flavonoides, lignanos, cumarinas, xantonas, etc.), se originan por dos vías: la ruta del acetato-malonato y la del ácido shikímico.

Alcaloides (isoquinolínicos, indólicos, terpenoidales, etc.), los alcaloides propiamente dichos se originan a partir de los aminoácidos. Los aminoácidos encontrados con más frecuencia en la biosíntesis de alcaloides son: ornitina, lisina, ácido nicotínico, fenilalanina, tirosina y triptófano.

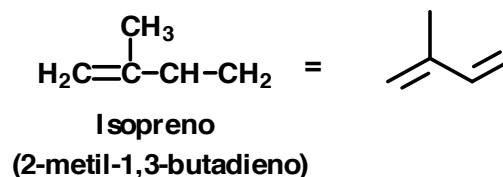
Terpenos (monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos, etc.), la bioformación de los terpenos sigue la ruta del ácido mevalónico. La teoría que soporta como se biosintetizan estos metabolitos se explicará en detalle a continuación.

Los terpenos representan, entre los productos naturales, una de las clases de metabolitos secundarios más amplia en lo que a número de componentes se refiere, la más variada en diversidad estructural y funcional, y una de las más interesantes desde el punto de vista biológico y farmacológico (Degenhardt & Gershenzon, 2003).

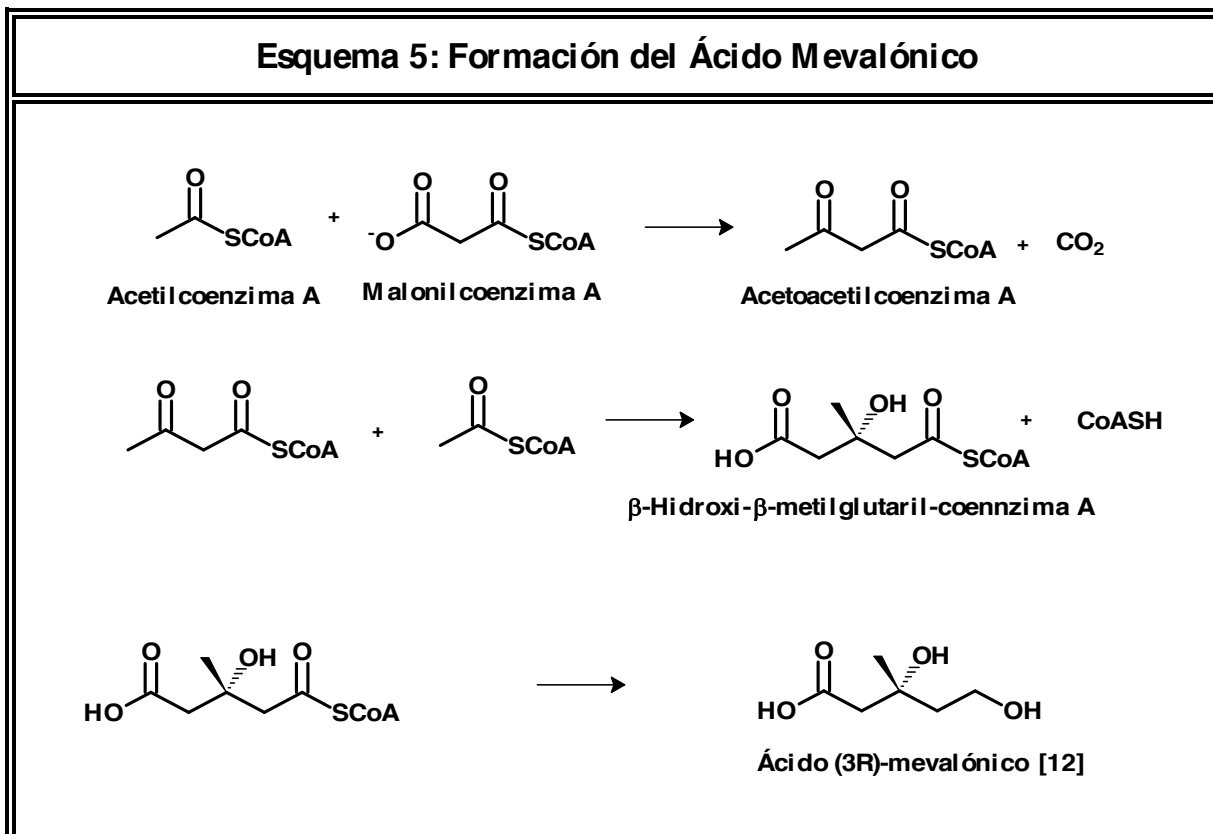
La característica estructural que distingue a los terpenos de otros productos naturales, es que los mismos están constituidos de unidades de cinco átomos de carbono conocidas como unidad de isopreno; de ahí que también se les conozca como compuestos isoprenoides.

De manera general, obedecen a lo que se conoce como “Regla del Isopreno”, esto es:

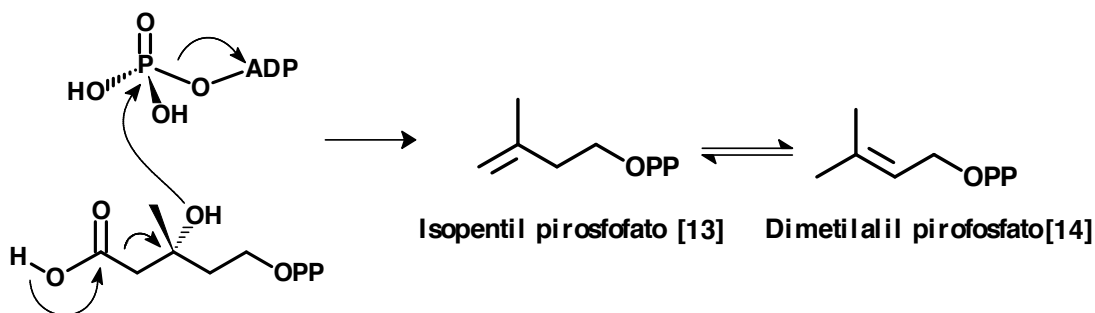
“La secuencia de átomos de carbono que conforman un terpeno es tal, que en su estructura pueden localizarse varias unidades consecutivas de isopreno” (Ruzicka, 1959).



El precursor en la biogénesis de los terpenos es el ácido mevalónico [12], el cual se origina a partir de la condensación de tres moléculas de ácido acético (bajo la forma de acetilcoenzima A) para generar en primer lugar un β-hidroxi-metilglutaril-derivado; luego éste, mediante una reducción del tioéster evoluciona hasta el ácido mevalónico (Qureshi & Porter, 1981). (Esquema 5).

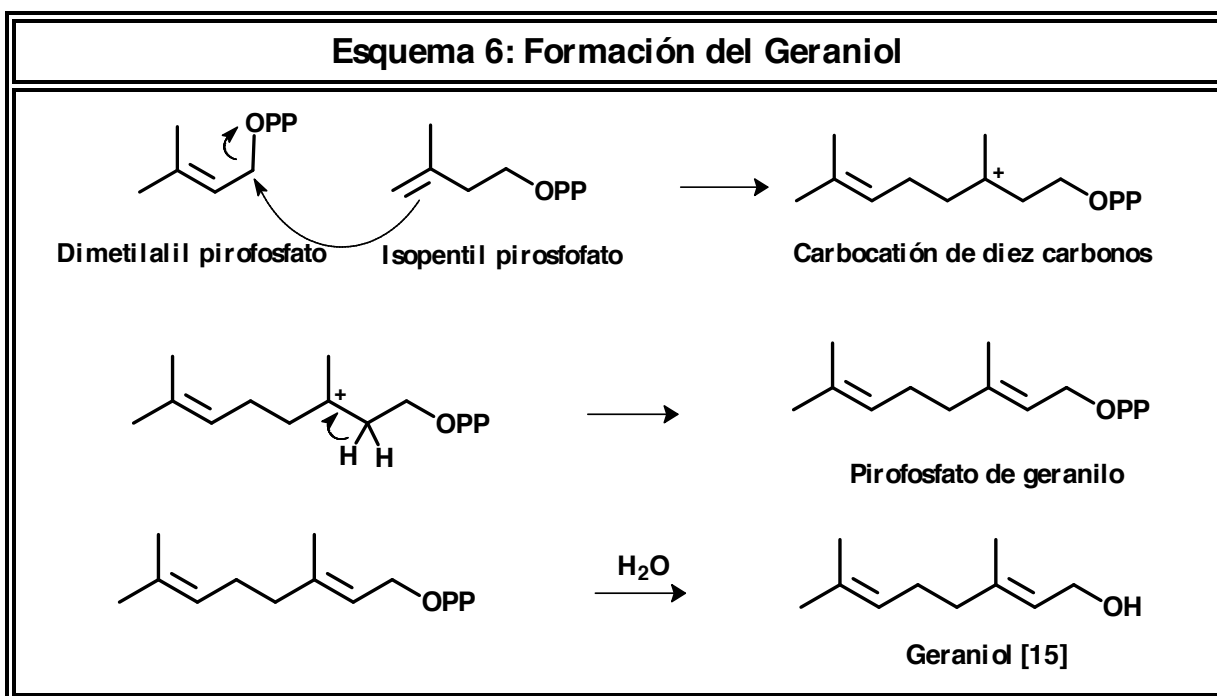


En una etapa posterior, el ácido mevalónico a través de una deshidratación y descarboxilación simultánea, se transforma en el pirofosfato de 3-metil-3-butenilo ó pirofosfato de isopentilo [13]; esta especie a su vez se encuentra en equilibrio con el pirofosfato de dimetilalilo [14].

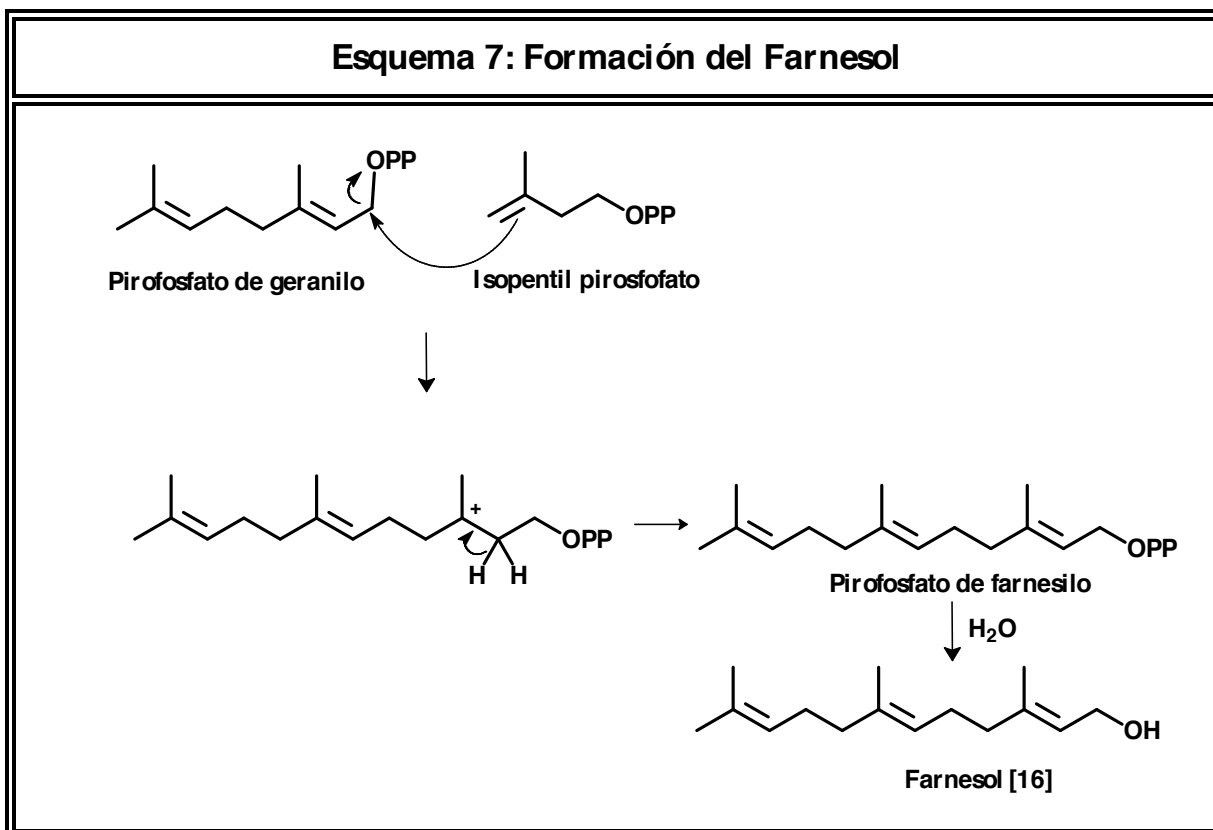


Nota: El grupo pirofosfato se representa mediante el símbolo –OPP.

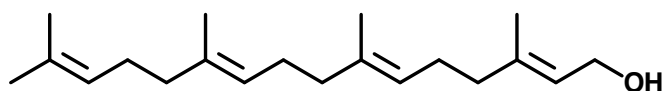
Las propiedades químicas de los pirofosfatos isopentilo y dimetilalilo son complementarias, de tal forma que les permiten reaccionar entre sí para formar un enlace carbono-carbono, que conecta las dos unidades de isopreno. Usando los electrones π de su doble enlace, el pirofosfato de isopentilo actúa como un nucleófilo y desplaza al grupo OPP del pirofosfato de dimetilalilo (Esquema 6). El carbocatión terciario formado en este paso puede evolucionar según cualquiera de las rutas disponibles para carbocationes, y en este caso pierde un protón para generar un doble enlace. El producto de reacción es el pirofosfato de geranilo, cuya hidrólisis conduce directamente al monoterpeno Geraniol [15].



El pirofosfato de geranilo es un éster alílico y, al igual que el pirofosfato de dimetilalilo, puede actuar como agente alquilante frente a una molécula de pirofosfato de isopentenilo (Esquema 7). De esta manera se genera un carbocatión de quince átomos de carbono que, por desprotonación, origina el pirofosfato de farnesilo; la posterior hidrólisis del grupo éster del pirofosfato de farnesilo produce el alcohol sesquiterpénico correspondiente, conocido como Farnesol [16].



La repetición del proceso descrito anteriormente produce, a partir del pirofosfato de farnesilo, el diterpeno geranilgeraniol [17], el cual es el precursor de los diterpenos cíclicos.



Geranilgeraniol [17]

Los terpenos, según el número de unidades isoprenoides, se clasifican en monoterpenos (10 átomos de carbono), sesquiterpenos (15), diterpenos (20), sesterpenos (25), triterpenos (30), carotenos (40) y politerpenos (> 40).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. DEGENHARDT J. and GERSHENZON J., 2003. Terpenoids. **En**, THOMAS B., MURPHY D. and MURRAY B. (Eds.) “**Encyclopaedia of Applied Plant Sciences**”, pag. 500-504. Academic Press. London (Reino Unido).
2. Dewick P. M., 2002. **Medicinal Natural Products A Biosynthetic Approach**. John Wiley & Sons Ltd, England.
3. GUTIÉRREZ RAVELO A. AND ESTÉVEZ BRAUN A., 2009. Relevancia de los Productos Naturales en el Descubrimiento de Nuevos Fármacos en el s. XXI. **Rev.R.Acad.Cienc.Exact.Fís.Nat. (Esp)**, **103**, 409-419.
4. MARCANO D. AND HASEGAWA M., 2002. **Fitoquímica**. Universidad Central de Venezuela, Caracas.
5. QURESHI N. and PORTER J. W., 1981. Conversion of Acety-Coenzyme A to Isopentyl Pyrophosphate, **En**, PORTER J. W. and SPURGEON S. L. (Eds.) “**Biosynthesis of Isoprenoid Compounds**”, pág. 47-97. John Wiley. New York (USA).
6. RUZICKA L., 1959. History of the Isoprene Rule. **Proc .Chem. Soc.**, 341-360.

Capítulo 1

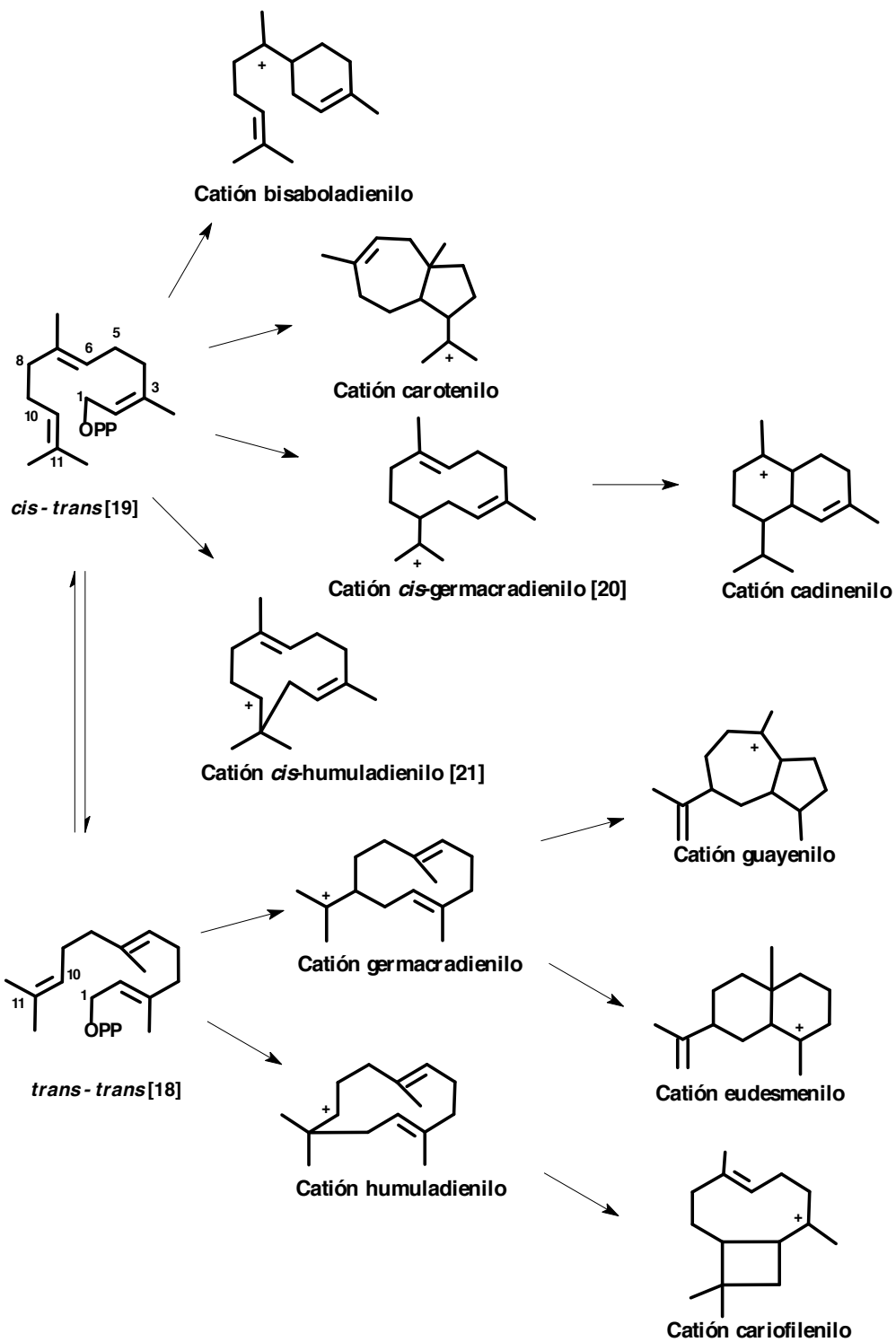
Reagrupamientos moleculares y oxidaciones en derivados del Longipineno

INTRODUCCIÓN

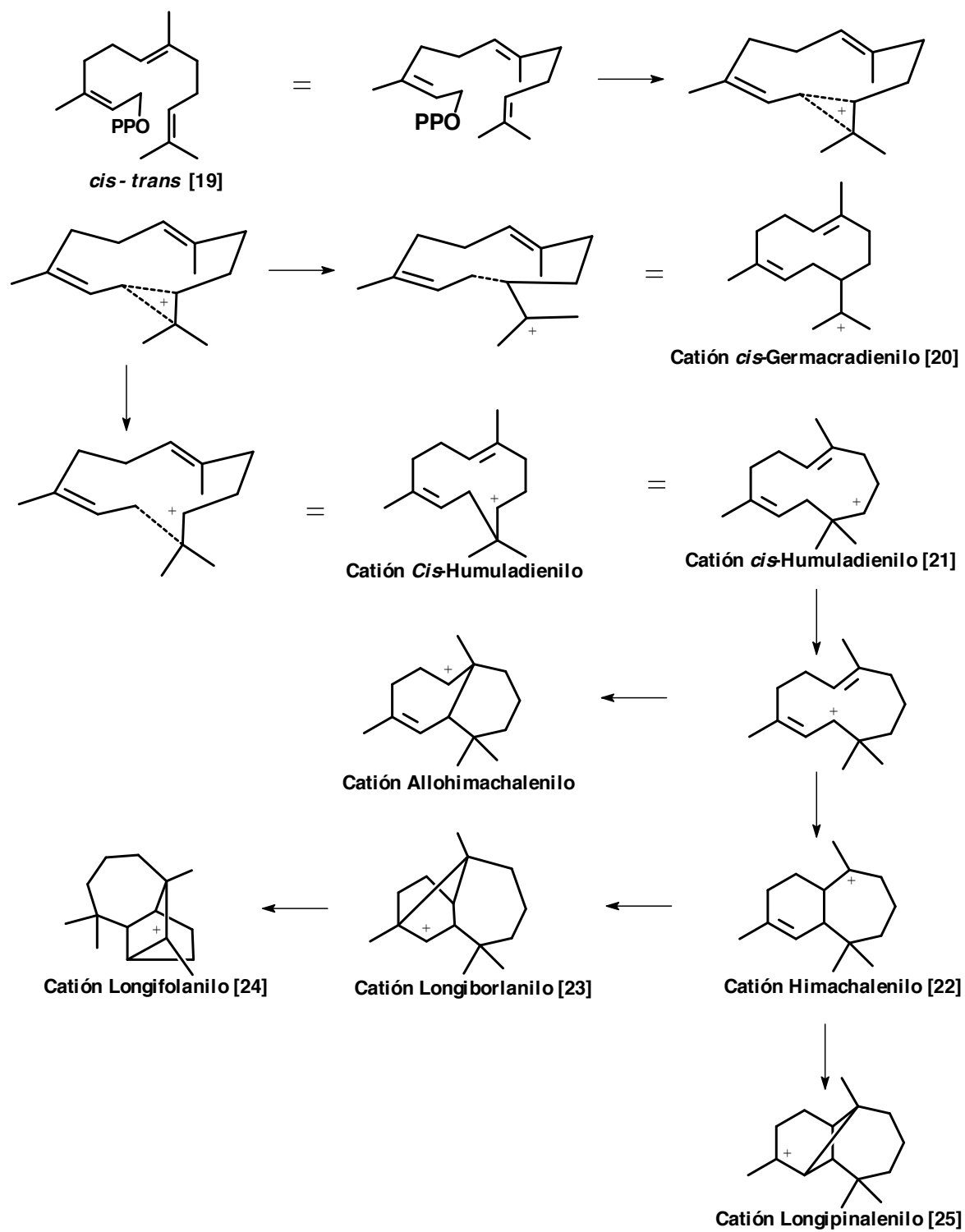
Los sesquiterpenos, como se mencionó anteriormente, son terpenos que se componen de quince átomos de carbono, los cuales se pueden acomodar de muchas formas generando una gran diversidad estructural. A continuación, se presenta una breve reseña sobre los sesquiterpenos tricíclicos de la serie del longipinano.

La teoría biogenética sustenta que la biosíntesis de los sesquiterpenos cíclicos parte del 1-pirofosfato de *trans-trans* farnesol [18] ó del 1-pirofosfato de *cis-trans* farnesol [19], los cuales experimentan ciclaciones para generar diferentes esqueletos sesquiterpénicos. La ionización del *trans-trans* pirofosfato de farnesilo [18], ó el *cis-trans* pirofosfato de farnesilo [19] (ambas especies se encuentran en equilibrio) por pérdida del grupo pirofosfato en el carbono C-1, promueve la formación de carbocationes (estos pueden experimentar gran variedad de reagrupamientos) que dan origen a los compuestos cíclicos (Esquema 8). Aunque está bien establecido que estas ciclaciones transcurren mediante procesos enzimáticos (Cane, 1990), es posible esquematizar la biogénesis de los sesquiterpenos tricíclicos de las series del longipinano, longifolano y longibornano utilizando como núcleo de partida el catión *cis*-humulilo, el cual se origina por la pérdida del grupo pirofosfato dando lugar a la formación de un carbocatión no clásico; soportado por el metileno que sufrió la pérdida del éster fosfórico, y los electrones π del doble enlace terminal (Esquema 9). Dependiendo de los carbonos entre los cuales se forme el nuevo enlace σ , se producirá el catión *cis*-germacradienilo [20] o el *cis*-humuladienilo [21]. La migración intramolecular de un hidruro del catión *cis*-humuladienilo [21] reubica la carga positiva sobre el metileno que inicialmente era la “cola” (metileno enlazado al grupo pirofosfato) del *cis-trans* pirofosfato de farnesilo [19] (Esquema 9). Otra ciclación intramolecular origina el catión precursor del himachalano (estructura [22]), el cual está conformado por dos anillos (de seis y siete miembros) fusionados entre sí. El doble enlace endocíclico del catión himachalenilo [22] puede migrar de dos formas diferentes: la primera da lugar a la formación de un carbocatión secundario correspondiente a la estructura longibornanilo [23] (precursor de los longibornanos), el cual posee tres anillos de cinco, seis y siete miembros fusionados entre sí. En un paso posterior, el longibornanilo [23] puede reagruparse nuevamente por medio de una migración [1,2] para formar un carbocatión terciario correspondiente al longifolanilo [24] (precursor del longifoleno). La segunda migración origina el carbocatión terciario del catión longipinanilo [25], el cual posee un esqueleto tricíclico conformado por anillos de cuatro, seis y siete carbonos (precursor de los longipinanos). Los reordenamientos que sufren los intermediarios catiónicos son de tipo Wagner-Meerwein.

Esquema 8: Formación de los sesquiterpenos cíclicos



Esquema 9: Formación de los Longifolanos, Longibornanos y Longipinanos



Los sesquiterpenos de la serie del longipinano constituyen un reducido grupo de metabolitos secundarios, cuya distribución se encuentra restringida a unos cuantos géneros de plantas superiores, incluidos en las familias Pinaceae (*Pinus*), Lamiaceae (*Lavandula*) y Asteraceae (*Artemisia*, *Critonia*, *Chrysanthemum*, *Polypteris* y *Stevia*) y tres géneros de la clase Hepática (*Marsupella*, *Plagiochasma* y *Scapania*).

Los longipinanos son los metabolitos secundarios más abundantes y representativos en el género *Stevia* (Hernandez *et al.*, 1998). Casi el 90 % de los longipinanos naturales descritos hasta el presente son biosintetizados por especies del referido género (Buckingham, 2000). Por esta razón, en la mayoría de las investigaciones relacionadas con estos compuestos, se han utilizado plantas de este género como fuente de sustrato de partida. Las características estructurales más resaltantes de estos sesquiterpenos son la presencia de un anillo ciclobutánico, cetonas y/o dobles enlaces ubicados en el anillo ciclohexánico y la frecuente funcionalización con grupos hidroxilos y ésteres de los carbonos C-7 y C-9 (Figura 1). La mayoría de ellos poseen grupos ésteres como acetato (Ac) [26], metilbutirato (Mebu) [27] angelato (Ang) [28] o tigliato (Tigl) [29] (Guerra-Ramírez *et al.*, 1998).

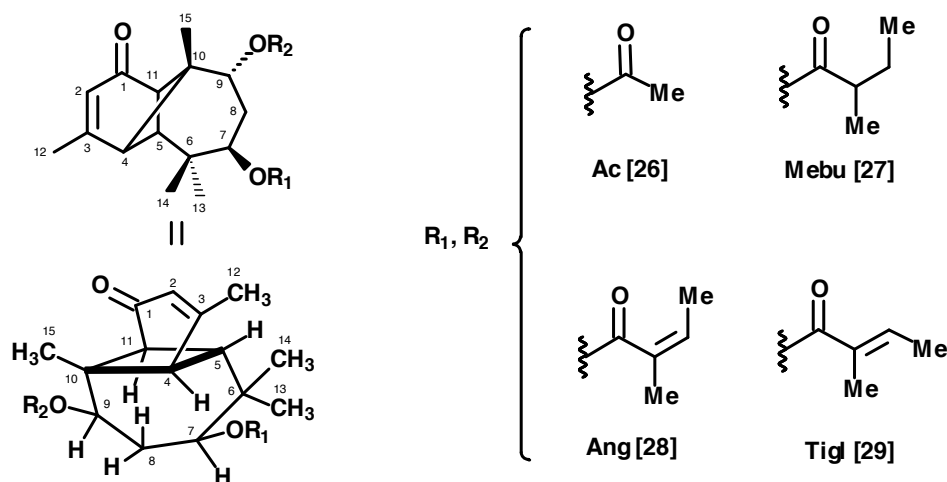
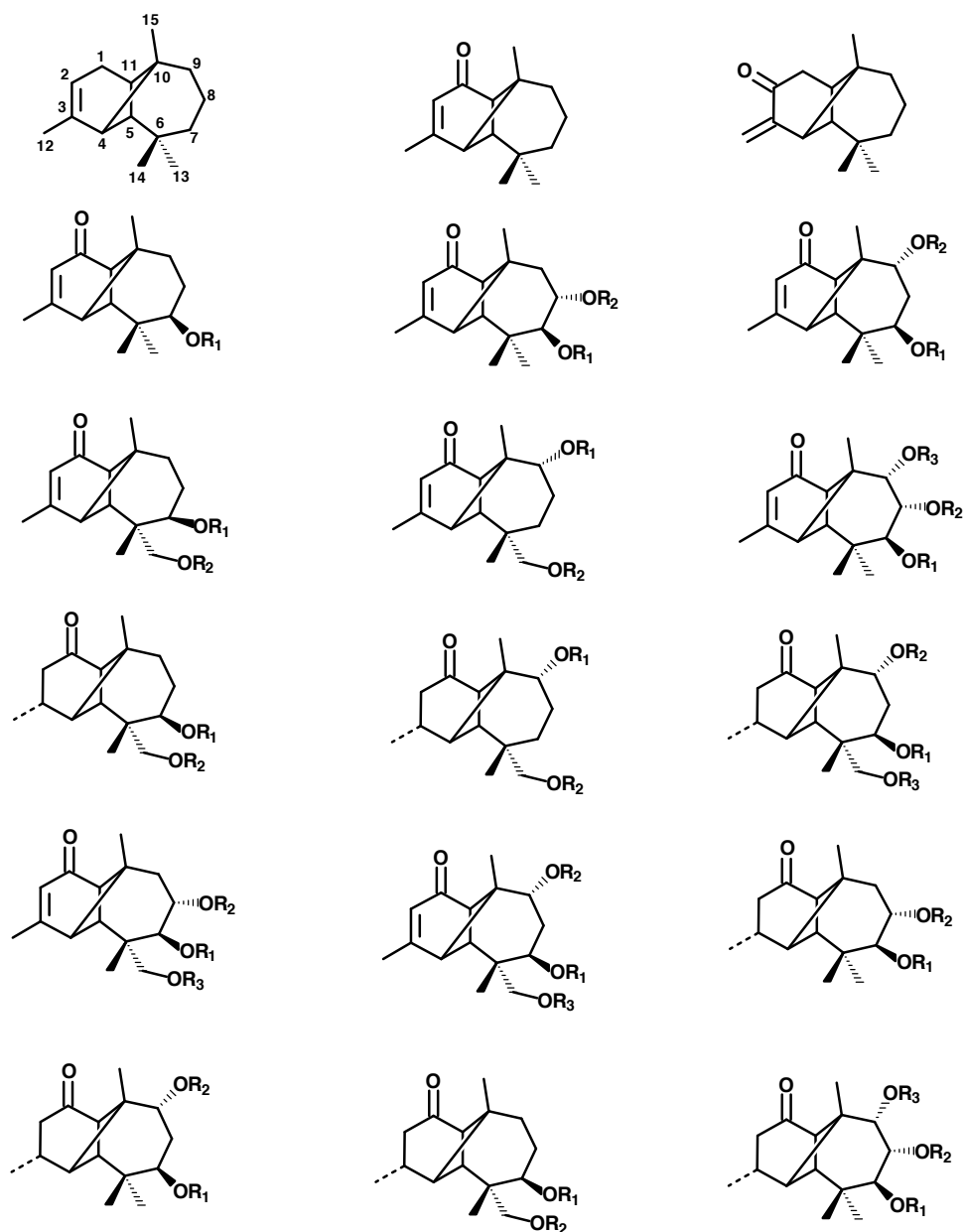


Figura 1

Hasta el presente, del género *Stevia*, se han aislado 61 compuestos, 43 longipininos (compuestos que poseen al menos un doble carbono-carbono) y 18 longipinanos, que pueden ser clasificados en 18 tipos básicos, de acuerdo a su grado de oxigenación y a la posición de sus grupos funcionales (Cerdá-García-Rojas & Pereda-Miranda, 2002). (Cuadro II).

Los longipinanos de *Stevia*, al poseer un anillo ciclobutánico y estar altamente funcionalizados, son moléculas interesantes para estudiar conversiones de grupos funcionales y reordenamientos moleculares (Roman *et al.*, 1991). Algunos de ellos pudieran también tener importancia como esencias, en la industria de perfumes (Cerde-García-Rojas *et al.*, 2004).

Cuadro II: Estructuras de Algunos Longipinenos Aislados del Género *Stevia*



Nota: Los grupos R₁, R₂ y R₃ pueden ser cualquiera de los ésteres anteriormente descritos (Ang, Tigl, Mebu, Ac).

TRANSFORMACIONES EN LONGIPINANOS

Como se menciona anteriormente, las características estructurales más resaltantes de estos sesquiterpenos son la presencia de un anillo ciclobutánico, cetonas y/o dobles enlaces ubicados en el anillo ciclohexánico y la frecuente funcionalización de los carbonos C-7 y C-9 (Figura 3). Dada la tensión anular conferida por el anillo ciclobutánico, estos compuestos han resultado ser muy buenos sustratos para estudios de reactividad química, y en particular para ensayar reacciones de reagrupamiento molecular bajo diferentes condiciones experimentales, con resultados realmente sorprendentes en lo que respecta a la generación de nuevos esqueletos sesquiterpénicos (Joseph-Nathan & Cerda-García-Rojas, 1994).

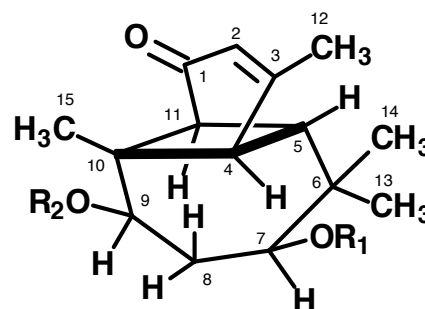


Figura 3

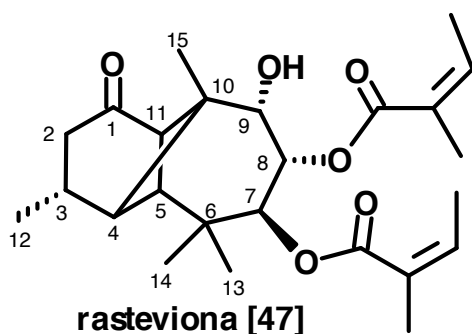


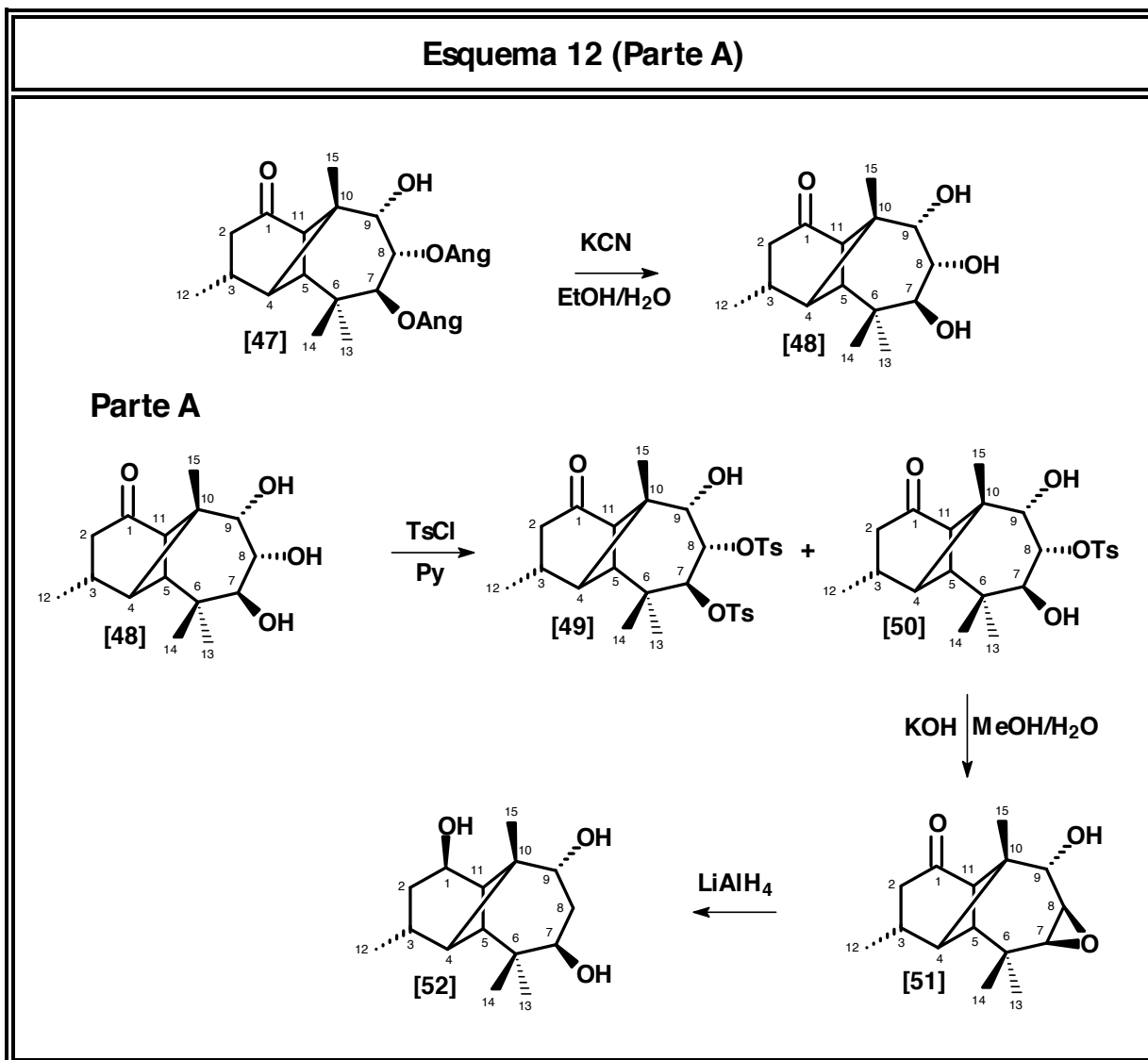
Figura 4

En 1985, Luisa U. Román y colaboradores publicaron un estudio que tenía por finalidad la determinación de la estereoquímica de varios derivados naturales de longipinanos (Román *et al.*, 1985). Su investigación tomó como punto de partida la rasteviona [47] (Figura 4), un longipinano de la *Stevia serrata* cuya estructura habían establecido previamente (Román *et al.*, 1981). Efectuaron la hidrólisis del mismo empleando cianuro de potasio (KCN) en una mezcla etanol / agua para obtener la correspondiente triolona [48]

(Esquema 12 (Parte A)). Una vez obtenido el producto [48], se realizaron a partir de este, dos secuencias de reacciones (Partes A y B, Esquema 12) para establecer la orientación de los alcoholes ubicados en C-7 y C-9.

En la primera secuencia de reacciones (Esquema 12, Parte A), el compuesto [48] se hace reaccionar con cloruro de *p*-toluensulfonilo para obtener la mezcla de mono y diésteres sulfónicos [49] y [50]. El monoéster [50], experimenta una reacción intramolecular que inicia por la sustracción del protón hidroxílico de C-7 y el posterior ataque del par de electrones del alcoholóido sobre la cara β de C-8 promoviendo la salida del grupo *p*-toluensulfonato dando origen al epóxido [51].

Finalmente el tratamiento de [51] con hidruro de aluminio y litio produce la reducción selectiva de la cetona C-1 (solo se obtiene el grupo –OH orientado en β) y la apertura del anillo epoxídico debido al ataque de un hidruro en la cara α de C-8 formando el triol [52].



La multiplicidad y los desplazamientos de los protones metínicos oxigenados del anillo cicloheptánico del producto [52] son: δ_{H} : 3.93, *dd*, 1-H, $J_{7,8} = 11$ Hz, $J_{7,8'} = 2,5$ Hz para H-7 y δ_{H} : 3.87, *t*, 1-H, $J_{8,9} = 4$ Hz para H-9 (Figura 4-1)*. El protón H-9, debe su multiplicidad (triplete) y constante de acoplamiento a que los ángulos diedros H-9 ^C-9 ^C-8 ^H-8 y H-9 ^C-9 ^C-8 ^H-8' que forma con respecto a los protones metilénicos de C-8 son iguales. Esto solo es posible si el grupo hidroxilo de C-9 está ubicado en posición α .

* El segmento de espectro representado en la fig. 4-1 es tomado del RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz) de la 7 β -angeloiloxi-9 α -acetiloxilongipin-2-en-1-ona.

La multiplicidad y las constantes de acoplamiento observadas para el protón H-7 del compuesto **[52]** (Fig. 4-1) exigen que uno de los ángulos diedros H-7 \wedge C-7 \wedge C-8 \wedge H-8 tenga un valor cercano a 90° y para ello H-7 debe situarse en α y el hidroxilo en β .

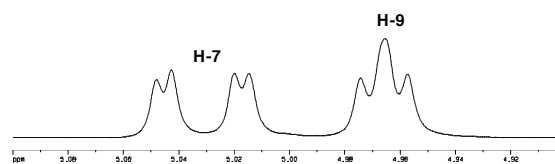
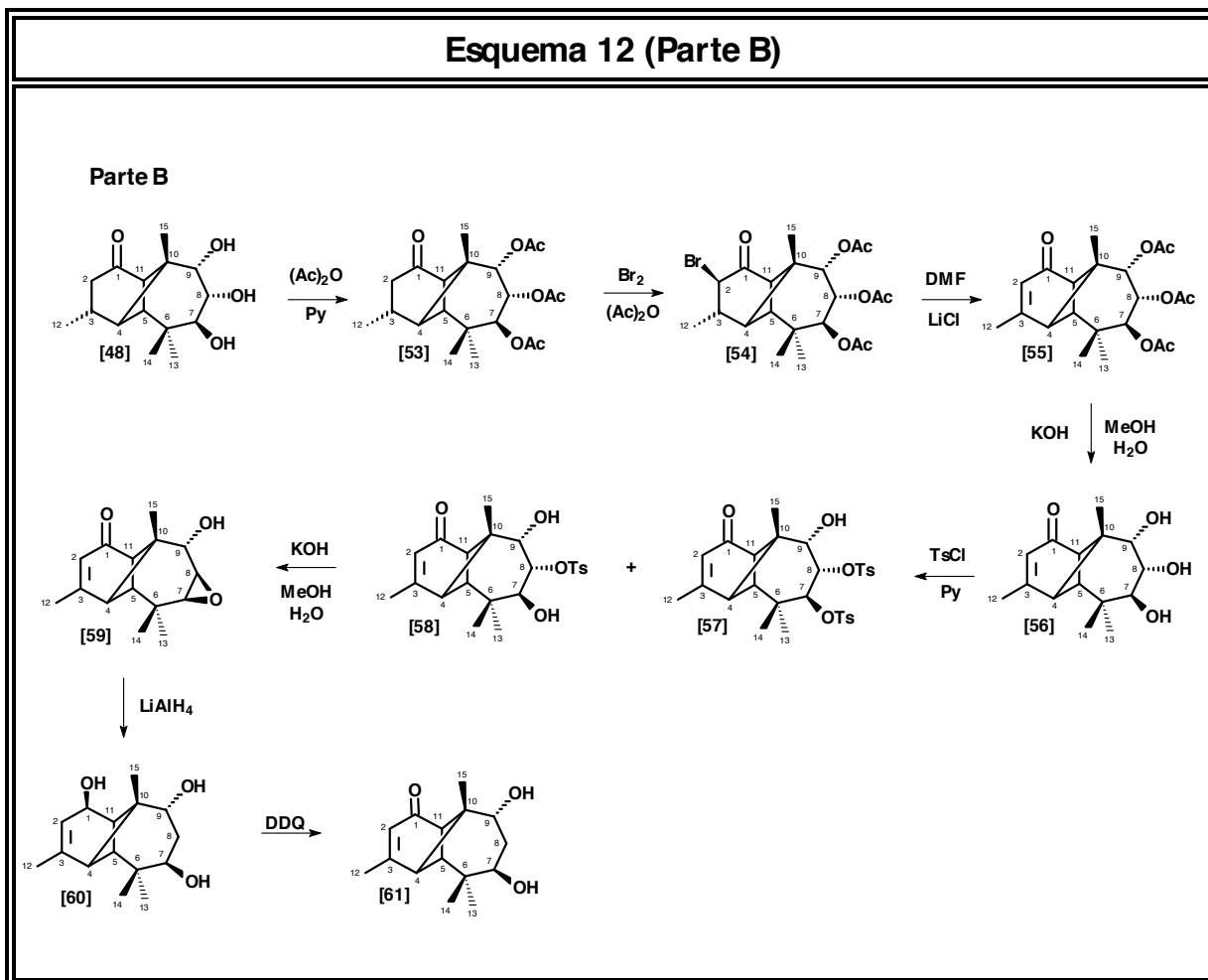


Figura 4-1

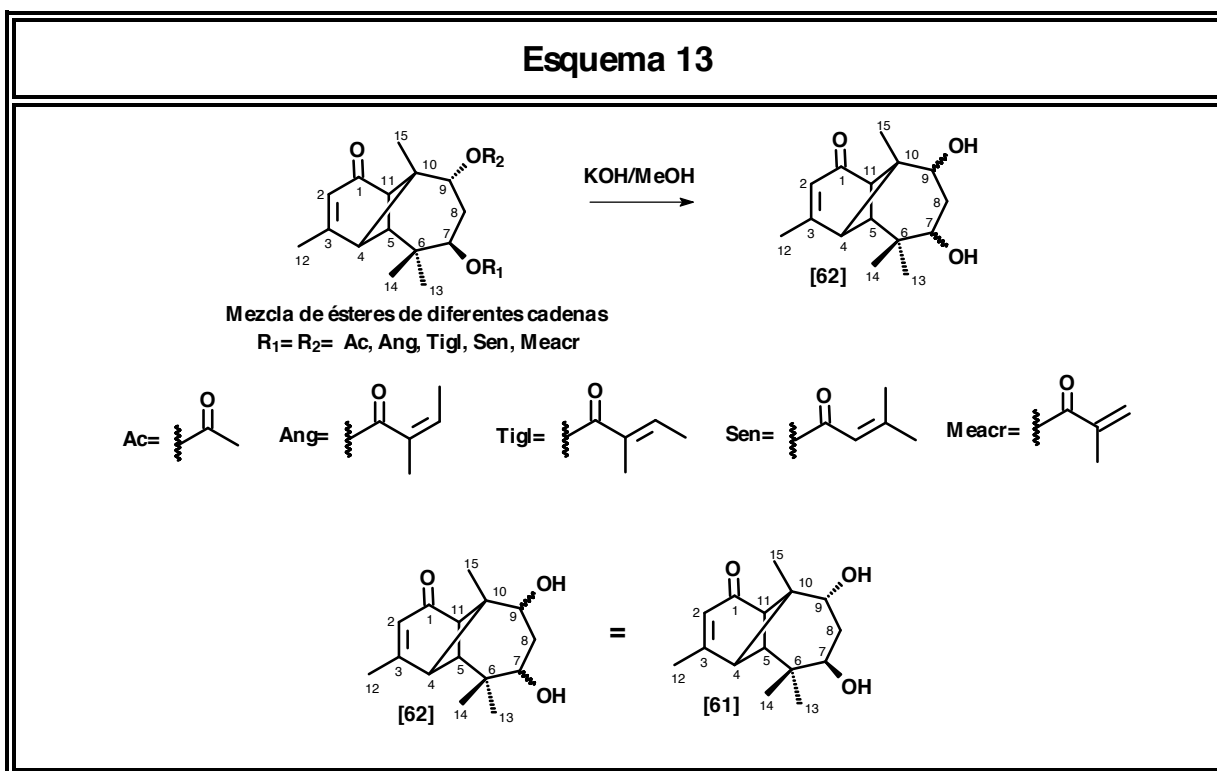
En la segunda secuencia de reacciones la triolona **[48]** se acetila empleando anhídrido acético y piridina para generar **[53]** (Esquema 12 Parte B). En el carbono C-2 del compuesto **[53]** se introduce un átomo de bromo en orientación β (compuesto **[54]**) para generar el doble enlace entre los carbonos C-2 y C-3 de la ciclohexenona **[55]**. En el siguiente paso se remueven los grupos acetatos del producto **[55]** mediante hidrólisis básica formando el triol **[56]**, que posteriormente es tratado con cloruro de *p*-toluensulfonilo para obtener la mezcla de mono y diésteres sulfónicos **[57]** y **[58]**.



El producto **[58]** es sometido a medio básico dando lugar a la formación del epóxido **[59]** (el mecanismo es igual al mencionado para la formación del epóxido **[51]**). El compuesto **[59]** se hace reaccionar con hidruro de aluminio y litio produce la reducción selectiva de la cetona C-1 y la apertura del anillo epóxidico para formar el triol **[60]** que finalmente es tratado con 2,3-dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona (DDQ) para obtener la ciclohexanona **[61]** (Esquema 12 Parte B).

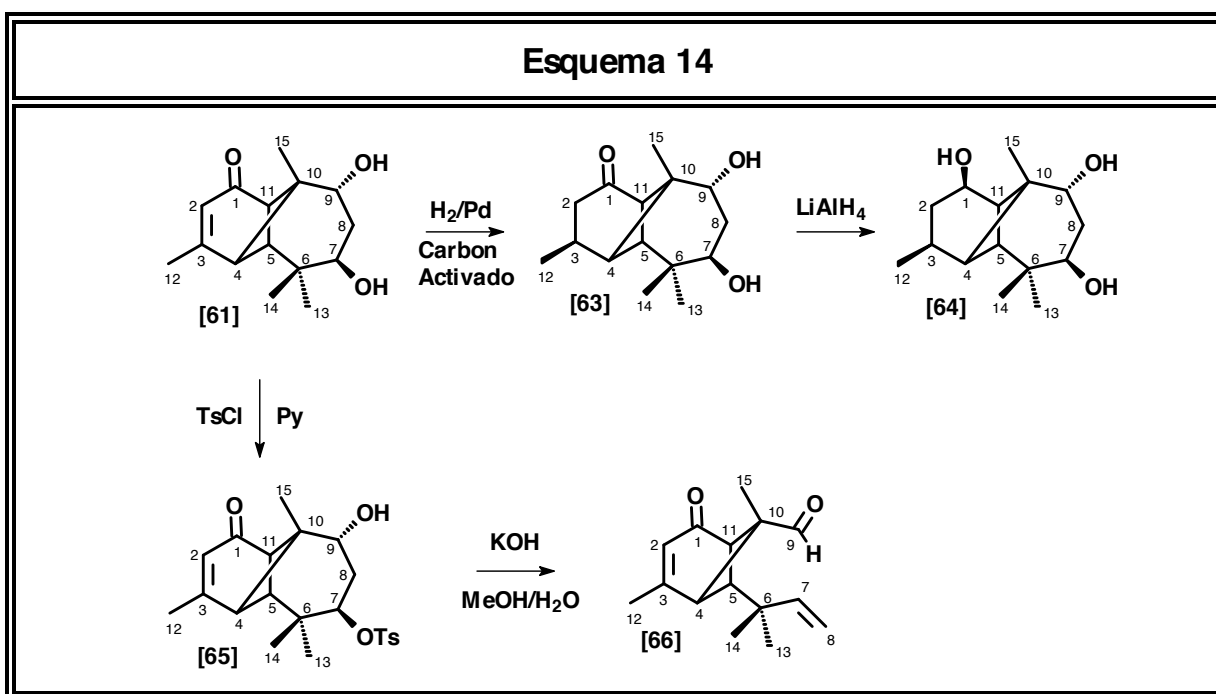
La multiplicidad, constante de acoplamiento y desplazamiento químico de los protones H-7 y H-9 de los compuestos **[52]**, **[60]** y **[61]** resultaron ser iguales, esto permitió corroborar la disposición *cisoid* (7β , 9α -diol) de los grupos hidroxilos ubicados en C-7 y C-9.

La ultima parte de la investigación consistió en realizar la hidrólisis básica de una mezcla de ésteres longipinénicos naturales aislados de las raíces de *Stevia salicifolia* (Esquema 13), con la finalidad de determinar la orientación de los grupos -OH en estado natural.



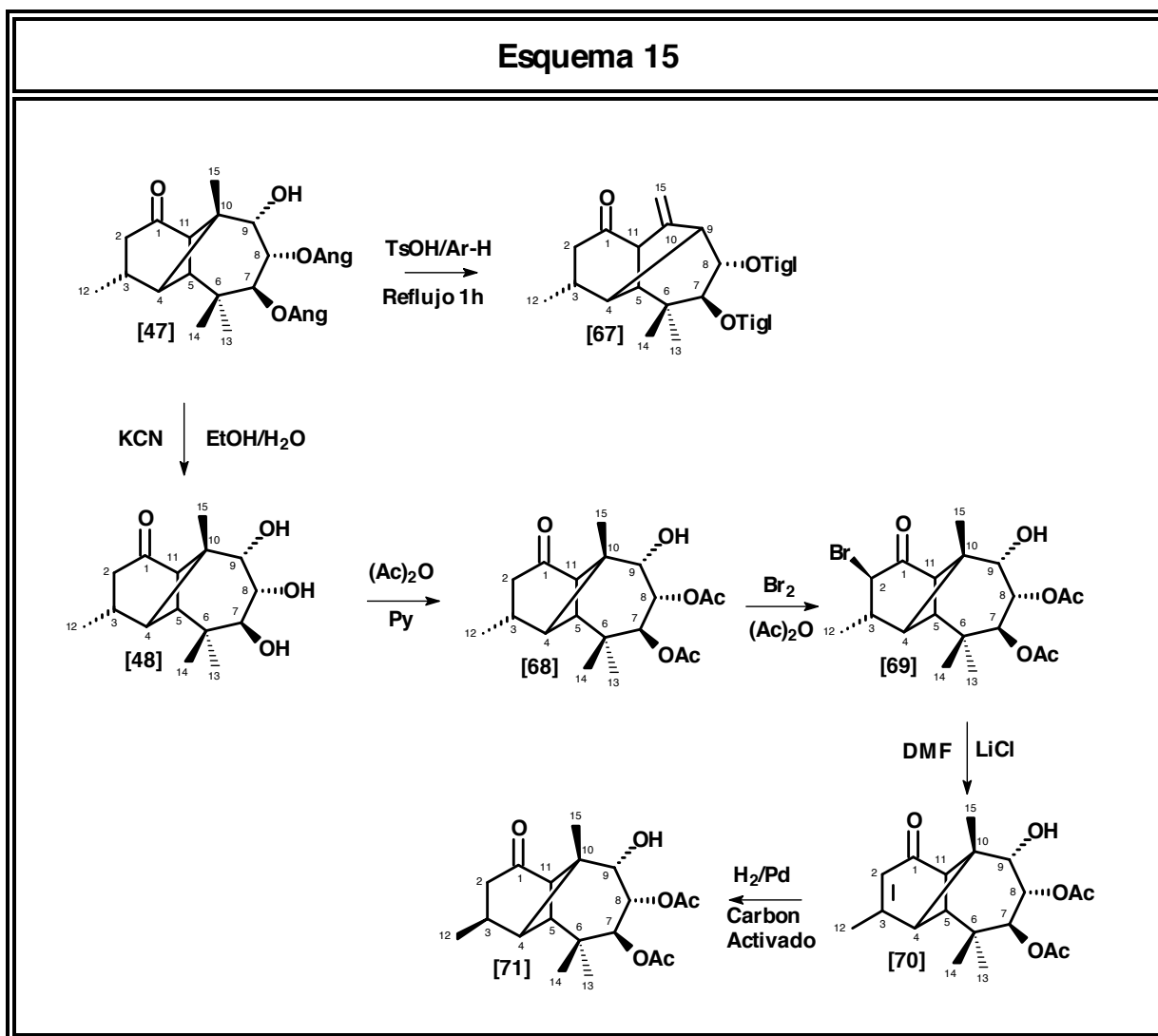
El compuesto **[62]** presento punto de fusión (183-184°C) y espectros de Resonancia Magnética Nuclear (RMN-¹H y RMN-¹³C) e Infrarrojo idénticos a los del compuesto **[61]**. De esta manera se estableció que la mezcla de ésteres longipinénicos naturales tiene un grupo hidróxilo en C-7 orientado en β y otro hidróxilo en C-9 orientado en α .

El doble enlace entre C-2 y C-3 del compuesto **[61]** fue hidrogenado originando el producto **[63]** el cual posee configuración *S* en C-3. Luego este producto es reducido para generar el triol **[64]** (Esquema 14). Otra reacción efectuada sobre **[61]** consistió en tosilar la molécula para obtener el éster sulfónico **[65]** que al ser sometido condiciones básicas da lugar a la formación del *sec*-longipineno **[66]**. Para que se forme **[66]**, la base debe sustraer el protón hidroxílico de **[65]**, el par de electrones que conformaba el enlace hidrógeno/oxígeno pasa a formar el enlace π del aldehído. De manera concertada, a la vez que se forma el doble enlace aldehídico, se rompe el enlace C-9/C-8 originando un nuevo enlace entre C-7/C-8 y promoviendo la salida del grupo *p*-toluensulfonato (Esquema 14).



En 1991, Luisa U. Román y colaboradores determinaron que el tratamiento de la rasteviona **[47]** con ácido *p*-toluensulfónico en benceno y reflujo proporcionaba un producto de reagrupamiento tipo Wagner-Meerwein (Esquema 15).

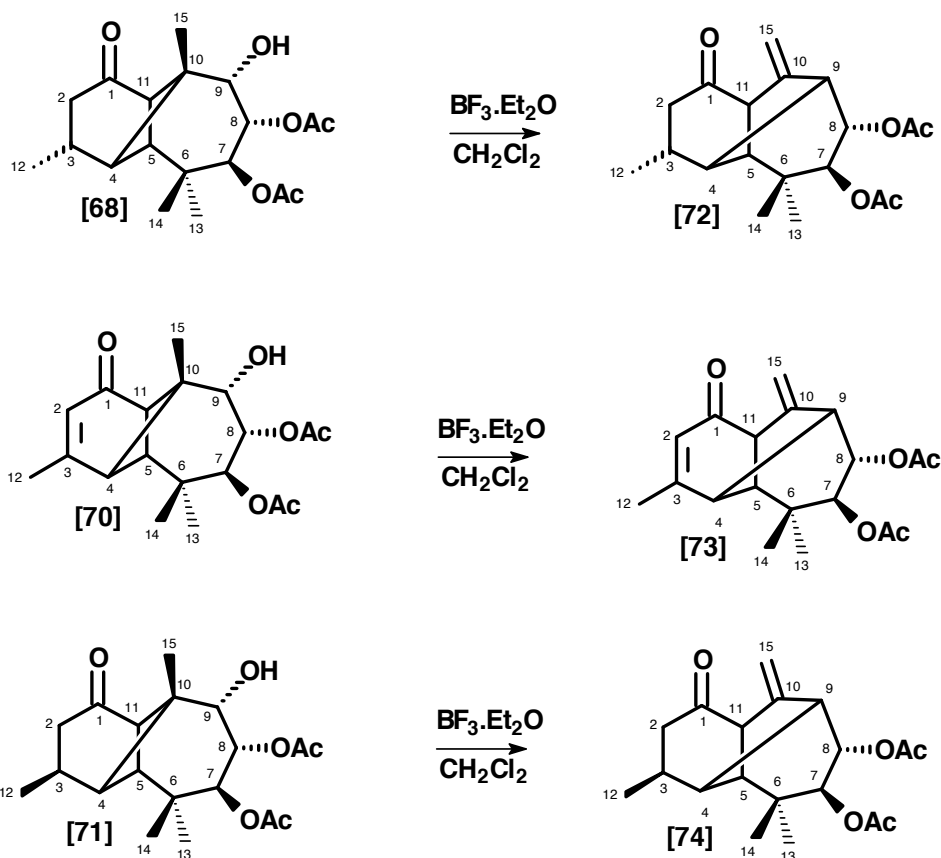
Para que ocurra la formación del compuesto **[67]** en primer lugar debe protonarse el grupo hidróxilo ubicado en C-9 de la rasteviona **[47]**, luego ocurre una migración 1,2 en la cual se rompe el enlace C-4/C-10 y se forma el enlace C-4/C-9, es decir; el anillo original de cuatro miembros de **[47]** se expande a un anillo pentacíclico y el metilo C-15 pierde un protón para formar la olefina entre los carbonos C-10/C-15. Finalmente, los grupos angelato se isomerizan a grupos tigilato los cuales son termodinámicamente más estables (Joseph-Nathan, 1994). El nuevo esqueleto sesquiterpénico obtenido se conoce como moreliano **[67]** (Esquema 15).



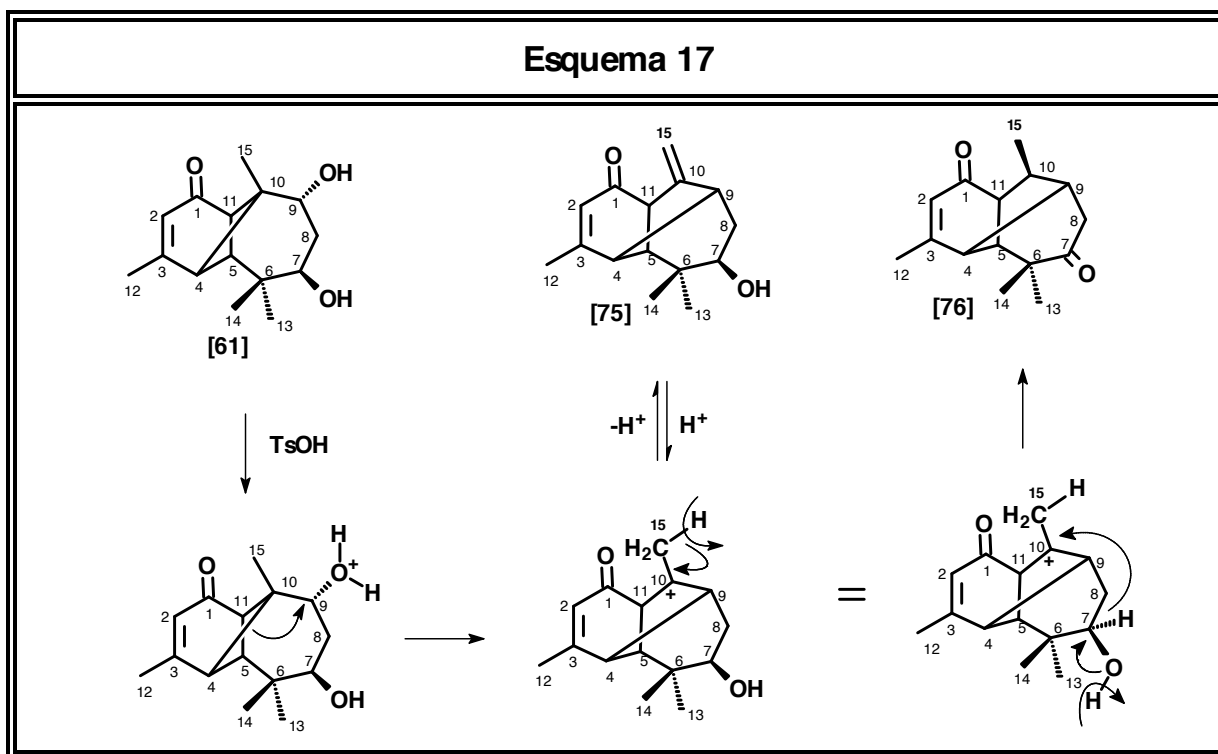
Con la finalidad de estudiar como afectaba la densidad electrónica y la estereoquímica de C-3 en la reacción de reagrupamiento se prepararon los derivados **[68]**, **[70]** y **[71]** empleando procedimientos análogos a los aplicados por Román y colaboradores en 1985. La mejor comparación entre los resultados se obtuvo utilizando trifluoruro de boro eterato como catalizador de la reacción (Esquema 16). Los productos **[72]** y **[73]** se obtuvieron en buen rendimiento pero **[74]** se obtuvo como parte de una mezcla compleja en bajo rendimiento.

Basándose en la comparación de los rendimientos de las reacciones representadas en el esquema 16, los investigadores concluyeron que la estereoquímica de C-3 en los derivados longipinénicos no afecta la reacción de reagrupamiento. Sin embargo, la densidad electrónica conferida por el doble enlace C-2/C-3 es crítica durante el curso de la reacción (Román, 1991).

Esquema 16



En un estudio posterior sobre generación de esqueletos del moreliano, se empleó como sustrato de partida la $7\alpha,9\beta$ -dihidroxi-longipin-2-en-1-ona [61] (Román *et al.*, 1992). La ciclohexenona [61] fue tratada con ácido *p*-toluensulfónico en reflujo con benceno obteniendo los productos [75] y [76] (Esquema 17). El compuesto [75] se produce por medio de un mecanismo igual al mencionado en la formación de [67] (Esquema 15). La dicetona [76] se genera a partir del mismo carbocatión que origina a [75], el grupo hidroxilo ubicado en C-7 se desprotona para formar una cetona, esto hace que se produzca la migración de un hidruro de C-7 a C-10 (Esquema 17).

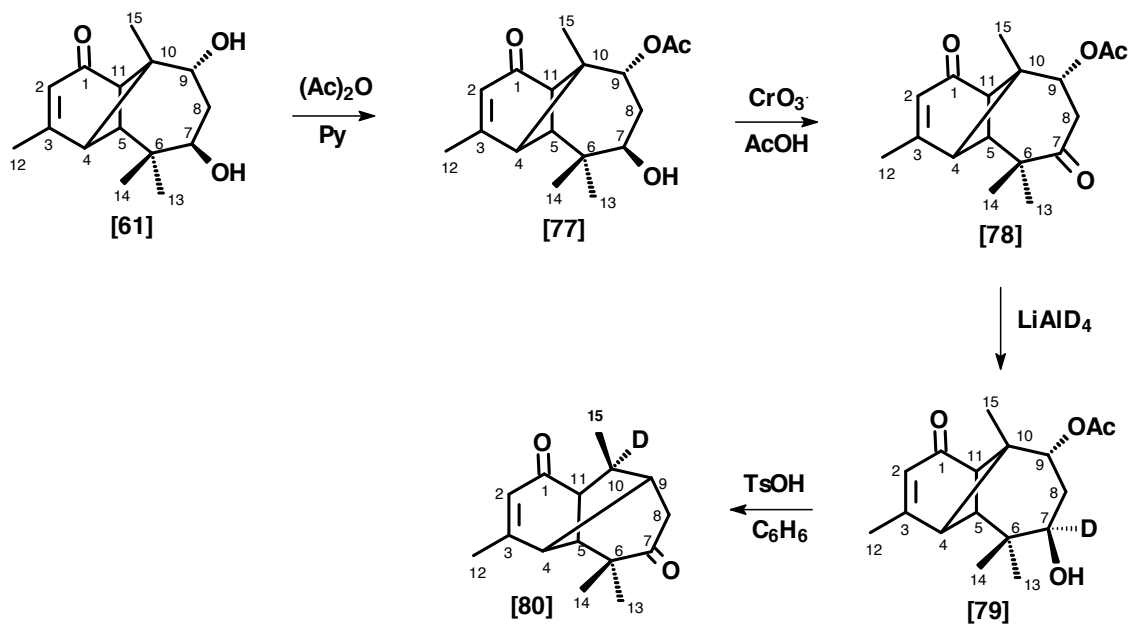


Fue posible constatar que la formación de **[75]** es reversible debido a que cuando el tiempo de reacción se incrementa de 2 a 6 horas solamente se obtiene el producto **[76]**. Adicionalmente, una muestra pura del compuesto **[75]** fue tratada con ácido *p*-toluensulfónico obteniéndose la dicetona **[76]** como único producto.

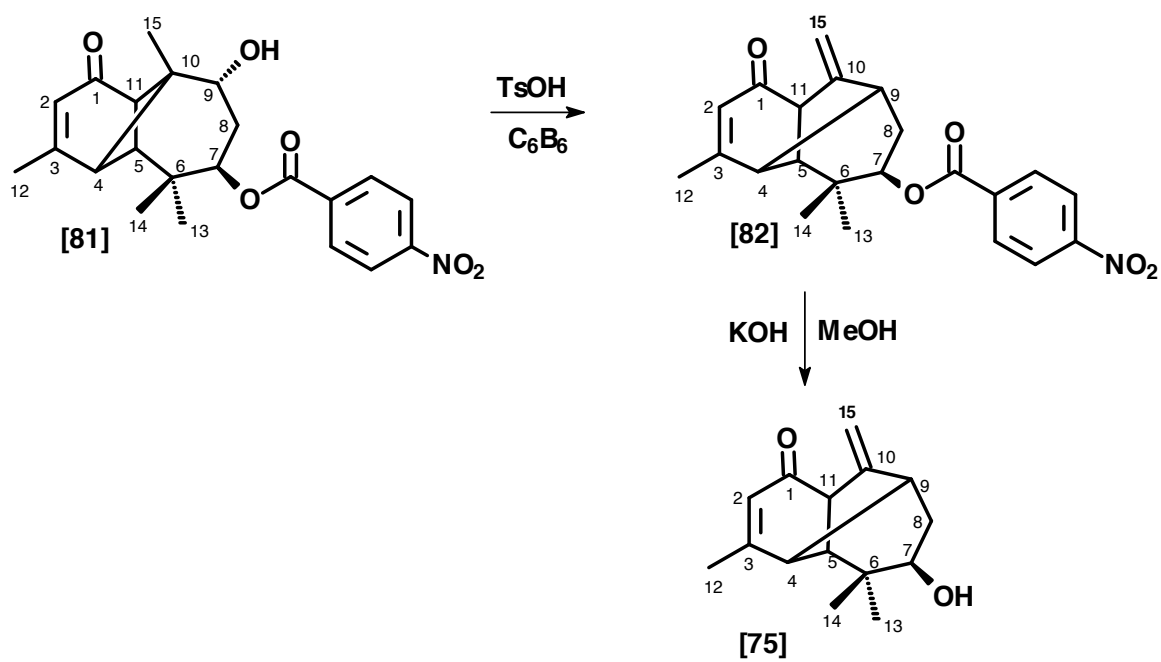
La migración de hidruro fue comprobada por medio de marcaje isotópico (Esquema 10), para ello se obtuvo el monoacetato **[77]** a partir del diol **[61]**. El compuesto **[77]** fue oxidado empleado trióxido de cromo en ácido acético (CrO_3/AcOH) para generar la dicetona **[78]** que finalmente fue reducida con deuteruro de aluminio y litio (LiAlD_4) dando como resultado el deuterodiol **[79]**. Al someter al producto **[79]** a condiciones de reacción idénticas a las indicadas en el esquema 17 durante un periodo de 9 horas, todo el compuesto se transforma en la deuterodicetona **[80]** (Esquema 18).

Con la finalidad de comprobar la importancia del grupo hidroxilo en C-7 para ocurra la migración de hidruro, los autores llevaron a cabo la preparación del éster **[81]** para hacerlo reaccionar bajo las condiciones del reordenamiento mencionado anteriormente obteniendo como único producto el dieno **[82]** (Esquema 19). Al realizar la hidrólisis básica del compuesto **[81]** para remover el grupo *p*-nitrobenzoato se obtiene nuevamente el producto **[75]**. Así pues, quedó establecido que es fundamental la presencia de un grupo $-\text{OH}$ en C-7 para que ocurra la migración transanular que origina la dicetona **[76]**.

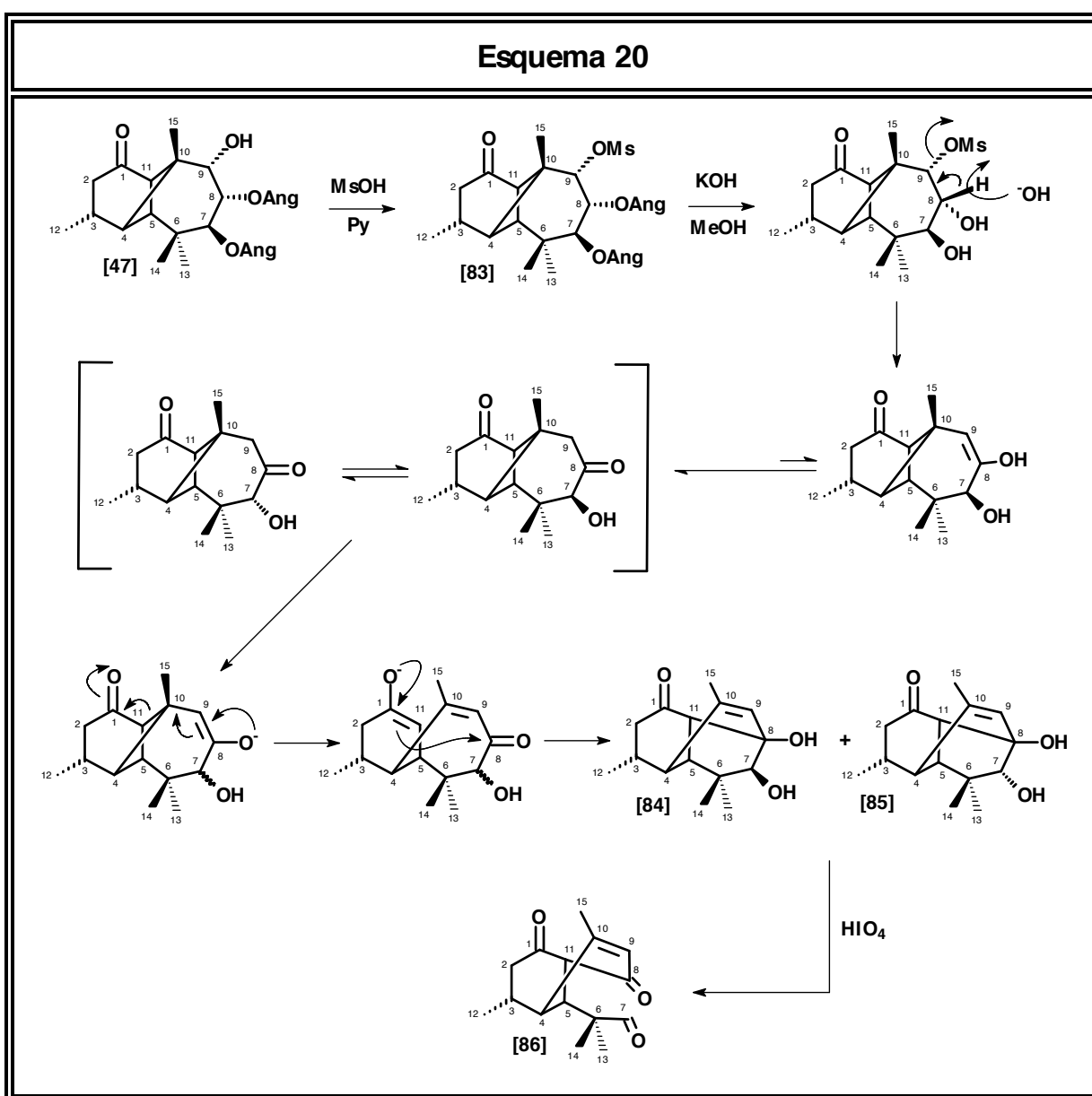
Esquema 18



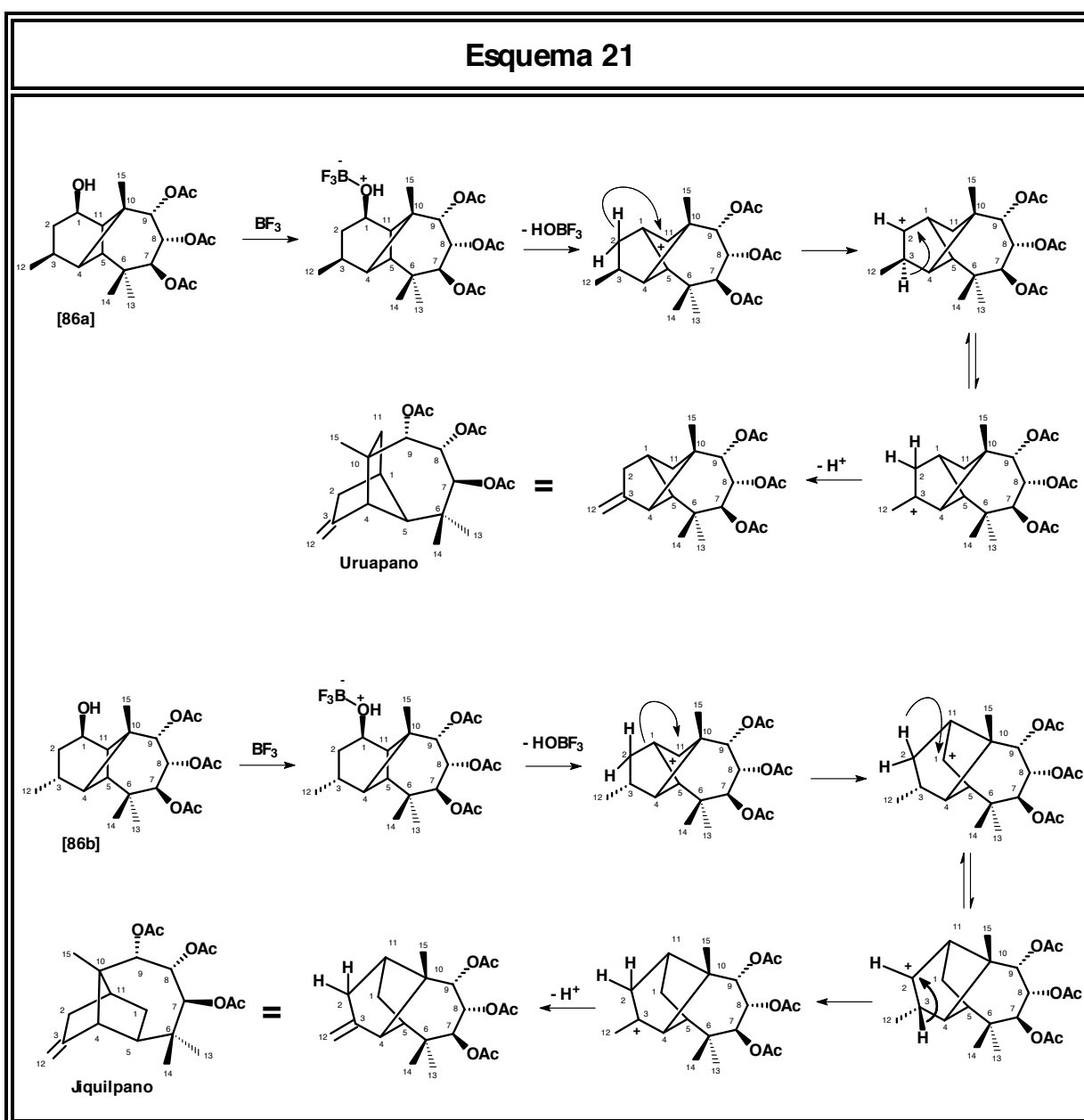
Esquema 19



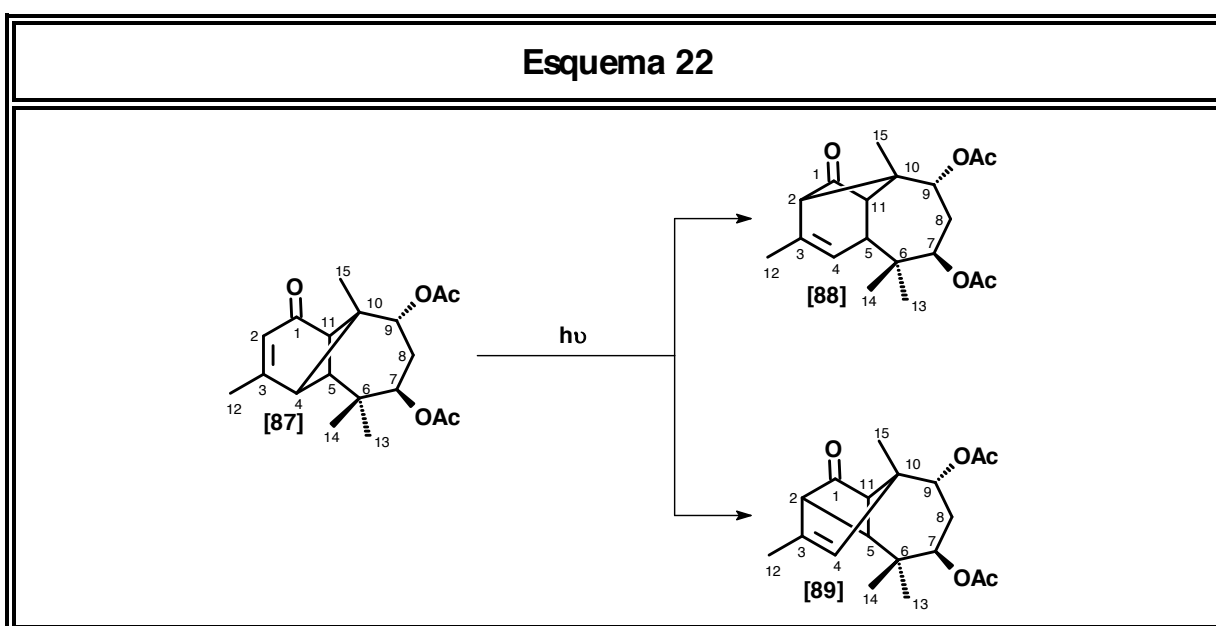
En 1995 se sintetizó un nuevo esqueleto sesquiterpénico a partir del mesilato de rasteviona **[83]** (Román *et al*, 1995). La rasteviona **[47]** obtenida de las raíces de la *Stevia serrata* fue tratada con cloruro de metilsulfonilo en piridina para generar el correspondiente éster sulfónico **[83]** (Esquema 20). Éste compuesto se sometió a reflujo en metanol durante 30 minutos con hidróxido de potasio obteniendo la mezcla de epímeros **[84]** y **[85]** (Esquema 20). El nuevo esqueleto se origina por una migración 1,3 (se rompe el enlace entre C-11/C-10 y se forma el enlace C-11/C-8) y fue nombrado como arteagano. En una reacción posterior obtienen el derivado **[86]** de tipo seco-arteagano tratando la mezcla epimérica con ácido periódico a 0°C durante 90 minutos (Esquema 20).



En 2002 se sintetizaron dos nuevos esqueletos sesquiterpénicos a partir del derivado triacetilado **[86a]** (Román *et al*, 2002) (Esquema 21). Al tratar el compuesto **[86a]** con BF_3 , los electrones n del grupo hidroxilo se coordinan con el ácido de Lewis, esto promueve la migración del enlace C-5/C-11 a el carbono δ^+ C-1. Así pues, se origina un reagrupamiento de carbocationes que termina con la pérdida de un protón para originar los nuevos esqueletos. La configuración de C-3 en el producto de partida es el factor que determina cual de los esqueletos va a formarse. Si C-3 posee configuración "S" se formara un derivado del uruapano. Cuando C-3 es "R" se forma el compuesto cuyo núcleo corresponde al jiquilpano (Esquema 21).

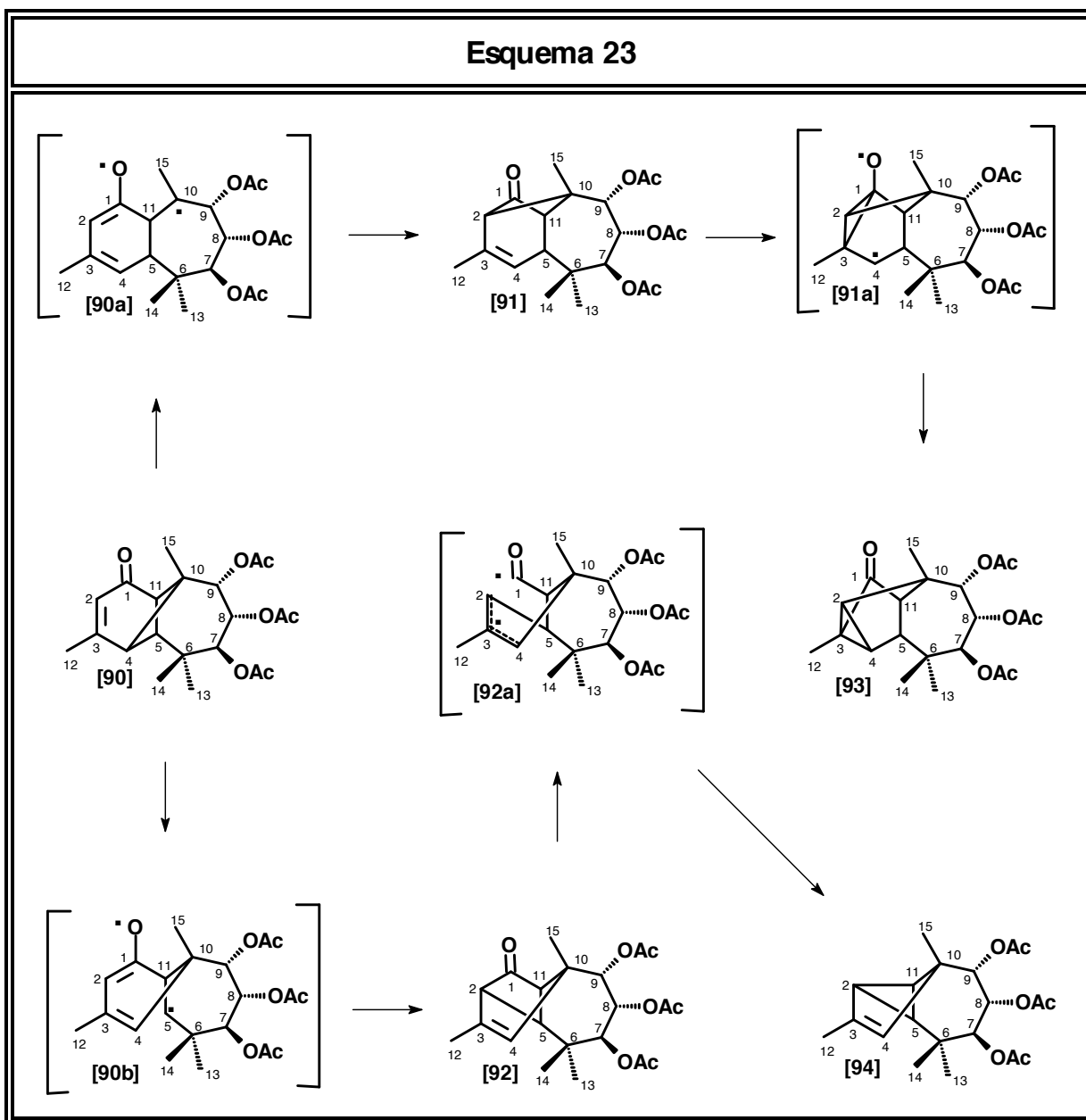


En los longipinanos, además de los reagrupamientos obtenidos por vía húmeda también se han generado nuevos esqueletos por medio de reacciones fotoquímicas. Los longipinenos que presentan dobles enlaces en C-2, son sustratos adecuados para efectuar migraciones [1,3] bajo luz UV, ya que son sistemas de cuatro electrones (4n), dos electrones aportados por uno de los enlaces σ del anillo ciclobutánico y dos por el doble enlace C-2/C-3. Así pues, Joseph-Nathan y colaboradores mediante irradiación con luz UV de la 7 β ,9 α -diacetoxilongipin-2-en-1-ona **[87]** obtuvo dos esqueletos sesquiterpénicos: el compuesto **[88]** que es un derivado de la vulgarona A y el nuevo esqueleto **[89]** el cual fue nombrado como pingilonano (Joseph-Nathan *et al.*, 1996) (Esquema 22).



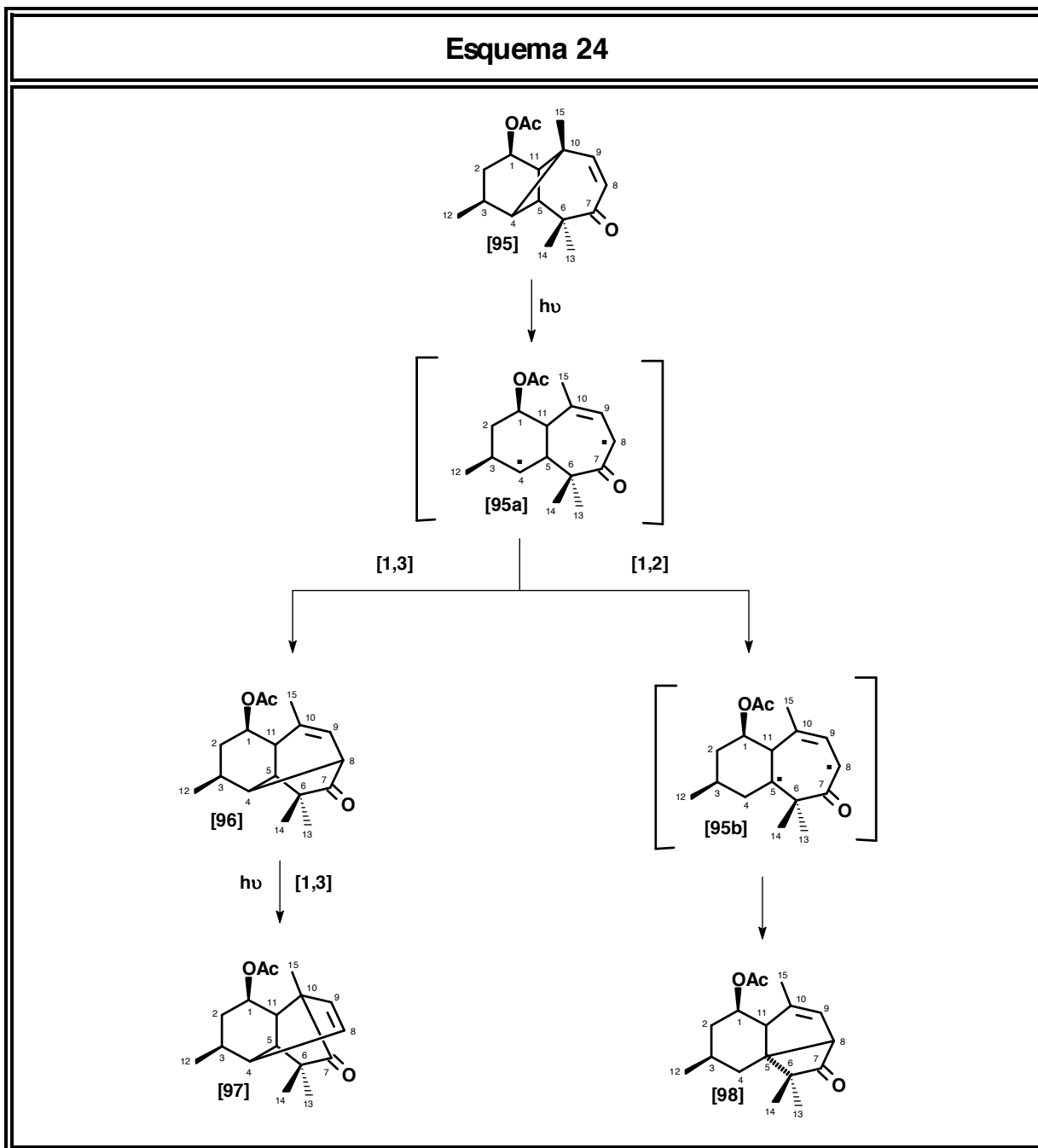
La investigación mencionada anteriormente fue ampliada por Melendez-Rodríguez y colaboradores (Melendez *et al.*, 2002a) con un estudio mecanístico y el aislamiento de dos productos minoritarios (**[93]** y **[94]**) que se originan en la misma reacción fotoquímica (Esquema 23). Para desarrollar los experimentos irradiaron con luz UV la 7 β ,8 α ,9 α -triacetoxilongipin-2-en-1-ona **[90]** (Esquema 23). De manera de justificar la formación de los compuestos **[93]** y **[94]** los autores proponen un mecanismo vía radicales libres. En dicho planteamiento el triacetato **[90]** puede reaccionar de dos formas: originar el intermediario de reacción **[90a]**, el cual finalmente evoluciona al derivado de la vulgarona A **[91]**, o producir el intermediario de reacción **[90b]** que luego se convierte en el derivado del pingilonano **[92]**. A partir del compuesto **[91]** se genera el intermediario **[91a]** que produce el nuevo esqueleto sesquiterpénico **[93]** el cual fue nombrado como isolongiciclanona.

A su vez, la cetona [92] produce el intermedio de reacción [92a] que se descarboxila para formar un sistema de anillos que corresponde al 1-nor pingiloneno (Esquema 23).



En otra publicación, Meléndez-Rodríguez y colaboradores reportan la síntesis fotoquímica de otros nuevos esqueletos sesquiterpénicos (Meléndez *et al.*, 2002b). En esta ocasión emplearon como sustrato de partida la 1 β -acetoxilongipin-8-en-7-ona [95]. Al tratar este compuesto con luz UV se produce el intermediario [95a] que puede evolucionar de dos formas distintas según se indica en el esquema 23.

Si ocurre una migración [1,3] en el intermediario radicalario **[95a]** se obtiene el derivado **[96]** cuyo esqueleto fue nombrado quirogano. Este producto puede seguir reaccionando para formar el compuesto **[97]**. Al esqueleto de esta estructura se le dio el nombre de prenopsano (Esquema 24). El intermediario **[95a]** puede experimentar una migración [1,2] para formar el radical **[95b]** el cual genera un derivado de otro nuevo esqueleto sesquiterpénico nombrado patzcuarano **[98]**.



La Fig. 5 representa todos los esqueletos carbonados (nuevos para la ciencia) que han sido obtenidos a partir del longipinano. Así pues, el pingilonano (Joseph-Nathan *et al.*, 1996), quirogano, prenopsano y patzcuarano (Meléndez *et al.*, 2002a; Meléndez *et al.*, 2002b) se han sintetizado por vía fotoquímica, mientras que el moreliano (Román *et al.*, 1991), arteagano (Román *et al.*, 1995), uruapano y jiquilpano (Román *et al.*, 2002) fueron obtenidos por vía húmeda. Los esqueletos **meridano** y **uladano** (Chacón & Amaro, 2016) fueron obtenidos en el presente proyecto de Tesis Doctoral y serán descritos en forma minuciosa más adelante.

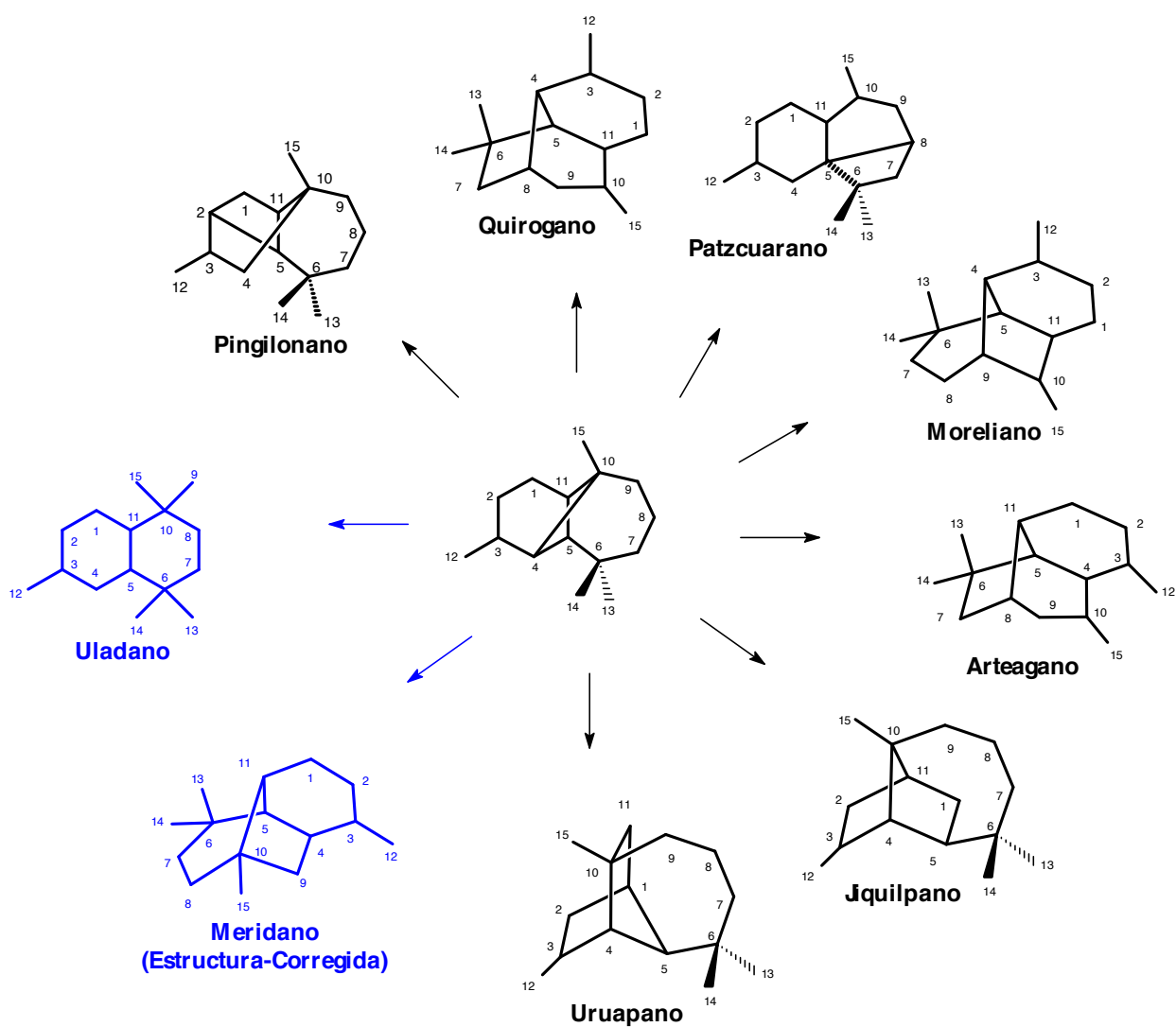
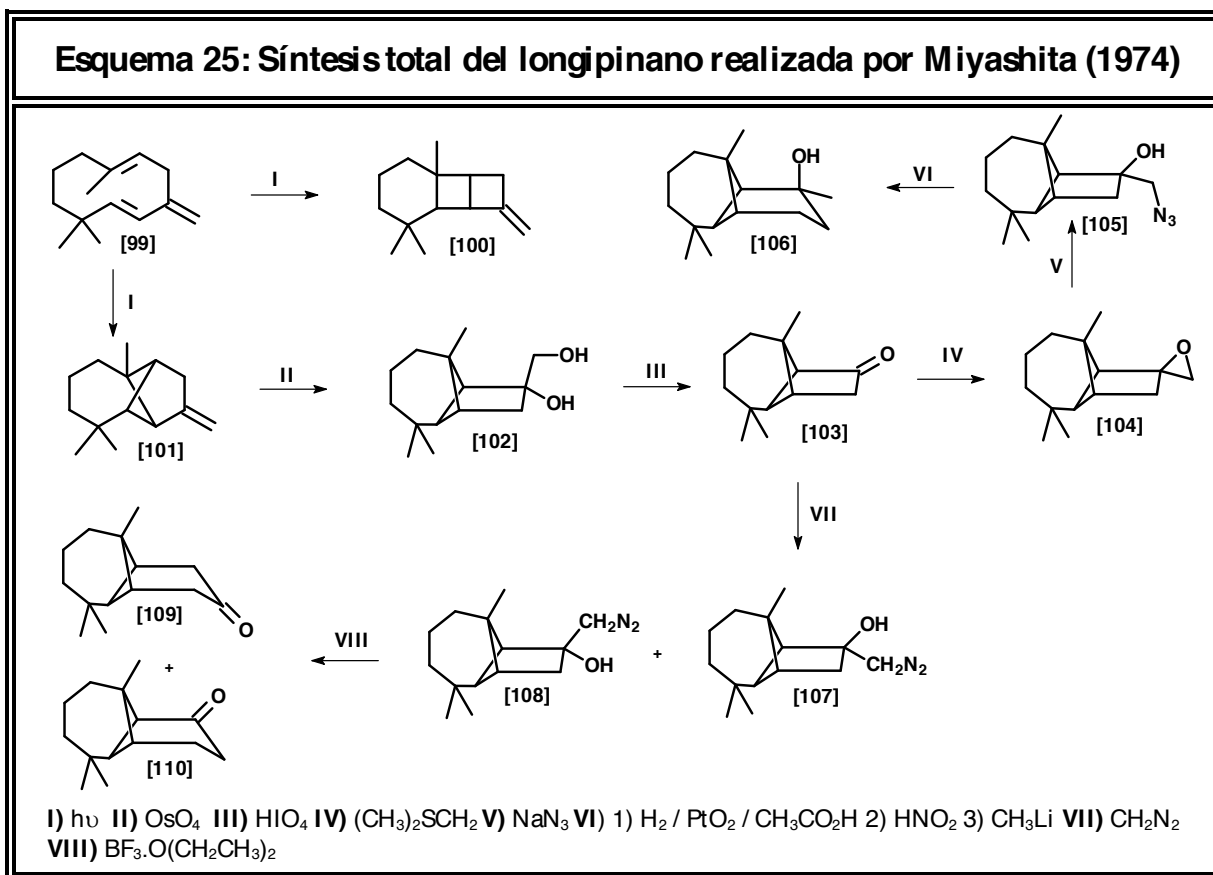


Figura 5

SÍNTESIS DEL LONGIPINANO

En 1974 Miyashita realizó la primera síntesis del longipinano (Miyashita & Yoshikoshi, 1974). El paso clave de esta síntesis es la fotociclación intramolecular del compuesto [99]. Esta reacción fotoquímica conduce a la formación de dos productos: el compuesto tricíclico [100] que posee dos anillos ciclobutánicos y uno ciclohexánico y el compuesto [101] que está conformado por tres anillos de cuatro, cinco y siete carbonos. El sustrato [101] constituye el núcleo base para la construcción del longipinano. Sobre este compuesto se efectuó una oxidación con tetraóxido de Osmio para generar el diol [102] que posteriormente es oxidado para formar la ciclopentanona [103]. Sobre [103] se incorpora un metileno originando el epóxido [104]. El anillo epoxídico de la estructura [104] se abre en presencia de azida de sodio para luego realizar la expansión anular (análoga a la expansión anular de Tiffeneau-Demjanov) y finalmente incorporar sobre la molécula el metilo geminal al grupo hidroxilo de la estructura [106]. Al deshidratar esta estructura se obtienen los longipinenos α y β . El tratamiento del producto [110] con metil litio conduce a la formación de la estructura [106] (Esquema 25).



Como se ha reseñado anteriormente, los longipinenos del género *Stevia* han resultado ser un sustrato de partida prolífico, en lo que se refiere a generar nuevos esqueletos carbonados. En Venezuela, las especies del género *Stevia* se distribuyen en los Andes y en la cordillera de la costa, siendo desconocidas en los llanos y en la región guayanesa. En el último censo (Badillo, 1994), se describen nueve especies de *Stevia* para nuestro país, y una de ellas, la *S. lucida* Lagasca se destaca por su característica especial de excretar exudados resinosos ricos en agliconas flavonoides (Amaro & Hung, 1985), diterpenos de los tipos labdano y kaurano (Amaro & Hung, 1988; Amaro-Luis, 1993) y sobre todo sesquiterpenos de la serie del longipinano (Amaro *et al.*, 1988; Guerra-Ramírez *et al.*, 1998; Hernández *et al.*, 1998). Como parte de la línea de investigación centrada en el estudio fitoquímico de la Flora Andina Venezolana, que últimamente se ha venido desarrollando en el Laboratorio de Productos Naturales de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Los Andes (Abad-Reyes *et al.*, 2006; Alvarado *et al.*, 2013; Amaro-Luis, 1997a, 1997b; Amaro-Luis & DELGADO-MÉNDEZ P. 1993, 1997; Amaro-Luis J. M. & Adrián-Romero, 1997; Amaro-Luis *et al.*, 1997, 2002, 2006, 2008a; 2008b; Chacón P.A. & Amaro-Luis, 2008; Chacón-Morales P. A. *et al.*, 2013; Galarraga *et al.*, 2010; 2011; 2014; Mondolis *et al.*, 2013; Ramírez-González *et al.*, 2013), en este capítulo de la Tesis Doctoral se plantea el llevar a cabo el aislamiento y la caracterización de derivados sesquiterpénicos de la serie del longipinano de las partes aéreas de la *S. lucida* con la finalidad de diseñar y ejecutar reacciones químicas que permitan obtener nuevos derivados del longipineno y fundamentalmente nuevos esqueletos carbonados.

HIPÓTESIS:

Dado que se conoce que la *Stevia lucida* Lagasca biosintetiza metabolitos secundarios, tales como derivados del longipinano, lactonas sesquiterpénicas, diterpenos y flavonoides, cabría esperar que sus partes aéreas, por su característica especial de excretar exudados resinosos, sean capaces de producir derivados del longipineno, los cuales pudieran tener interés químico o farmacológico. En congruencia con la hipótesis planteada se proponen los siguientes objetivos:

OBJETIVO GENERAL

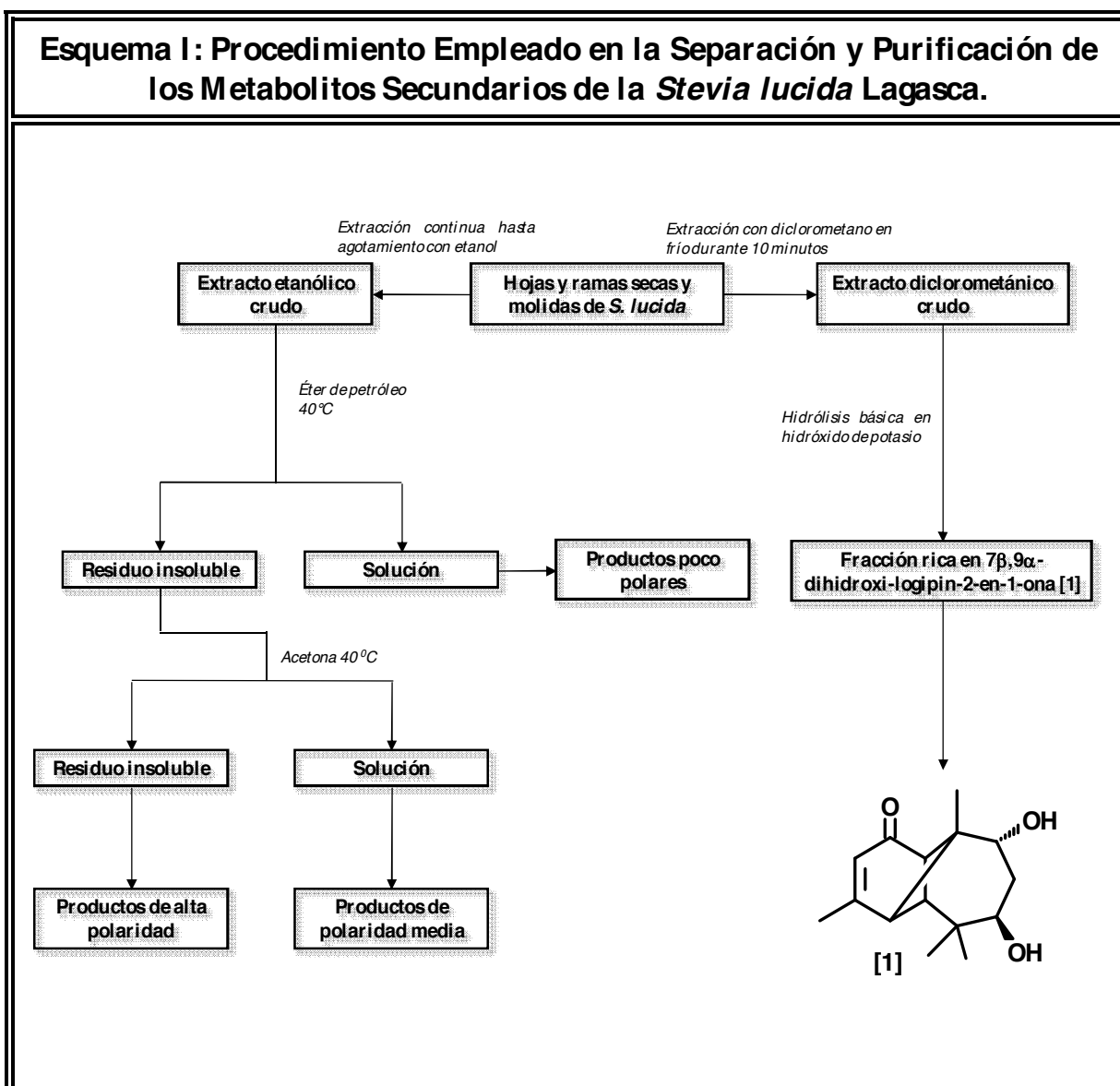
Aislar e identificar los metabolitos secundarios mayoritarios, extraíbles con solventes de mediana polaridad, que pudieran estar presentes en las partes aéreas de la *Stevia lucida* Lagasca.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Realizar reacciones químicas a los derivados de longipinano que se aislen, a fin de explorar su reactividad y estudiar las modificaciones estructurales que conduzcan a nuevos derivados y fundamentalmente nuevos esqueletos carbonados.
2. Determinar mediante técnicas espectroscópicas [IR, UV, EM y RMN (1D, 2D)] las estructuras de los compuestos obtenidos.
3. Proponer mecanismos de reacción que justifiquen la formación de los compuestos obtenidos.

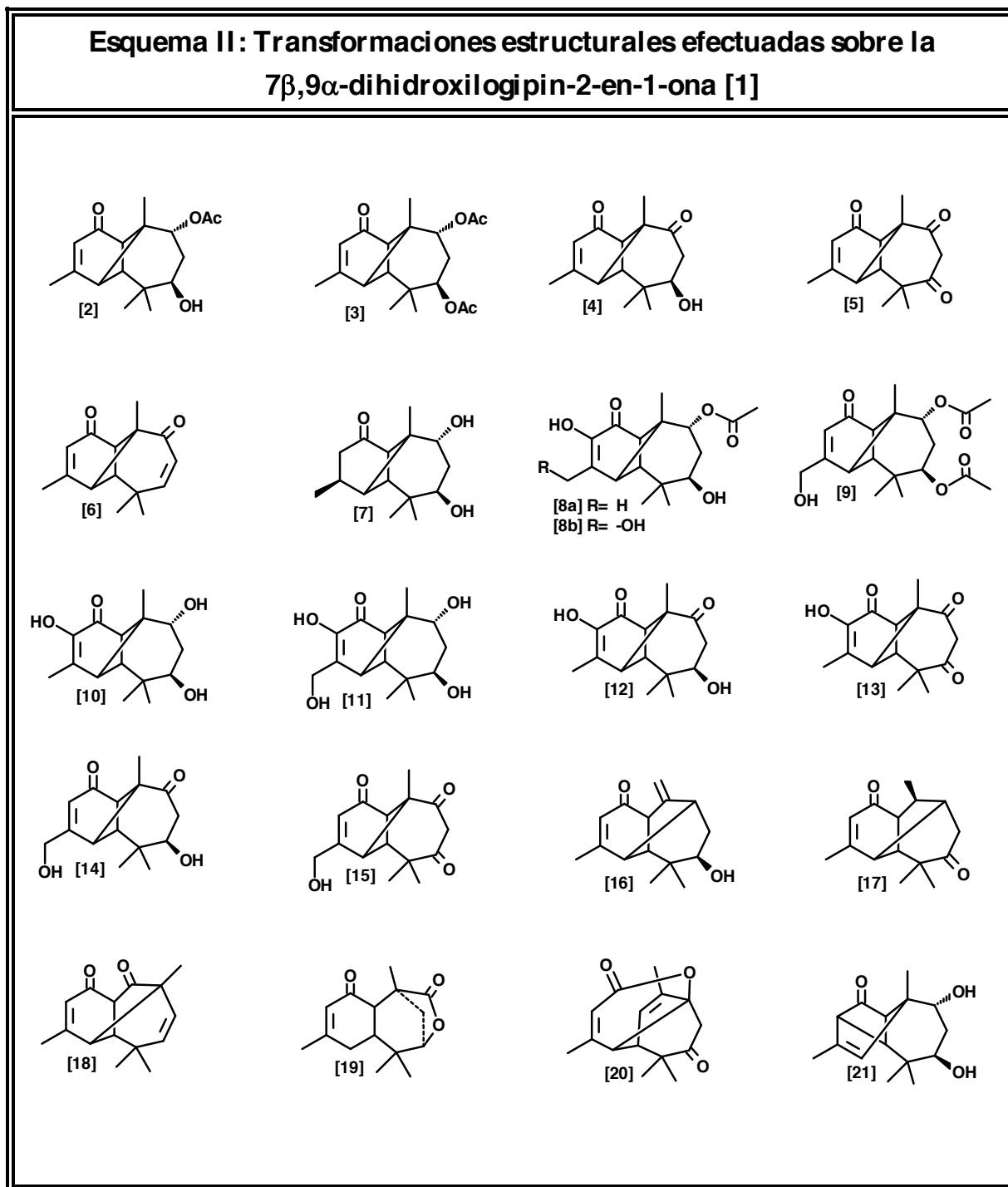
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las partes aéreas de la *Stevia lucida* Lagasca, una vez secas y molidas, se dividieron en dos partes una fue extraída hasta agotamiento con etanol en un sohxlet (Vogel, 1974) y la otra con diclorometano en frío. El residuo recuperado después de concentrar el solvente en un rotavapor fue extraído en etapas sucesivas con éter de petróleo y acetona a 40 °C (Esquema I). Los extractos obtenidos, al concentrar estas soluciones al vacío, fueron sometidos a diferentes procesos de percolado, fraccionamiento y separación utilizando técnicas cromatográfica convencionales (Coll & Bowden, 1986; Henke, 1995; Mikes, 1979; Simpson, 1976; Sjövall *et al.*, 1968; Snyder & Kirkland, 1974; Stahl, 1969).

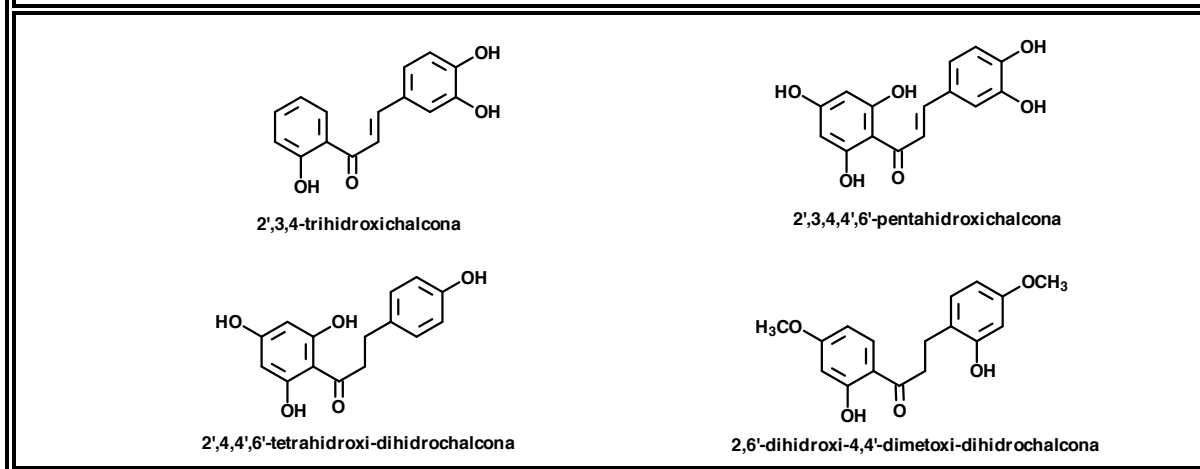


El trabajo de investigación se subdividió en dos partes: el análisis del extracto acetónico del cual se lograron separar e identificar cuatro productos (Esquema III) y el desarrollo de diversas reacciones químicas orientadas a la obtención de nuevas estructuras a partir de la $7\beta,9\alpha$ -dihidroxiogipin-2-en-1-ona [1] (Esquema II).

Esquema II : Transformaciones estructurales efectuadas sobre la $7\beta,9\alpha$ -dihidroxiogipin-2-en-1-ona [1]

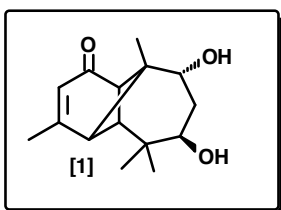


Esquema III: Metabolitos Secundarios Aislados e Identificados del Extracto en acetona de las Hojas de la *Stevia lucida* Lagasca.



A continuación se describen en detalle, las transformaciones estructurales efectuadas sobre el diol [1].

7 β ,9 α -dihidroxi longipin-2-en-1-ona [1]



La fracción cruda procedente del extracto en diclorometano (CH_2Cl_2) de las hojas de *Stevia lucida* Lagasca rica en diésteres de 7 β ,9 α -dihidroxi longipin-2-en-1-ona*, se sometió a hidrólisis básica empleando hidróxido de potasio (KOH) en metanol (CH_3OH) con la finalidad de obtener el correspondiente 7 β ,9 α -diol [1]. El curso de la reacción fue monitoreado mediante cromatografía de capa fina. El sustrato había reaccionado en su totalidad luego de media hora de calentamiento. La mezcla de reacción vertida sobre agua, extraída con CH_2Cl_2 , y lavada sucesivamente con HCl (10 %) y agua. La capa orgánica fue decantada y secada sobre MgSO_4 anhidro y concentrada al vacío. El extracto obtenido fue cromatografiado sobre gel de sílice dando como resultado un sólido blanco [P. F.: 174-175 °C (CH_2Cl_2); $[\alpha]_{\text{D}} = + 42^\circ$ (c, 0,33 CH_3OH)]. El análisis de su espectro IR (Fig. 1A; Tabla 1A) muestra una banda intensa y ancha característica de grupos hidroxilos [$\nu_{\text{max.}}$: 3528-3332 cm^{-1} (-OH)], absorciones características de dobles enlaces [$\nu_{\text{max.}}$: 1617 cm^{-1} (C=C) y $\nu_{\text{max.}}$: 893 cm^{-1} (=C-H)] [$\nu_{\text{max.}}$: 1612 cm^{-1} (C=C) y $\nu_{\text{max.}}$: 951 y 844 cm^{-1} (=C-H)] y de una ciclohexenona α,β -insaturada [$\nu_{\text{max.}}$: 1.669 cm^{-1} (C=O)]. Este último grupo fue también detectado en el espectro UV (Fig. 1I), en el cual se aprecian absorciones a $\lambda_{\text{max.}}$: 253 nm.

(*) La fracción cruda contenía cantidades notables de 7,9-diésteres (diangelato, ditigliato, disenecioato, angelato-tigliato, angelato-senecioato, etc.) difícilmente separable por métodos cromatográficos convencionales.

Figura 1A: Espectro Infrarrojo (KBr)
de la 7 β ,9 α -dihidroxi-longipin-2-en-1-ona [1]

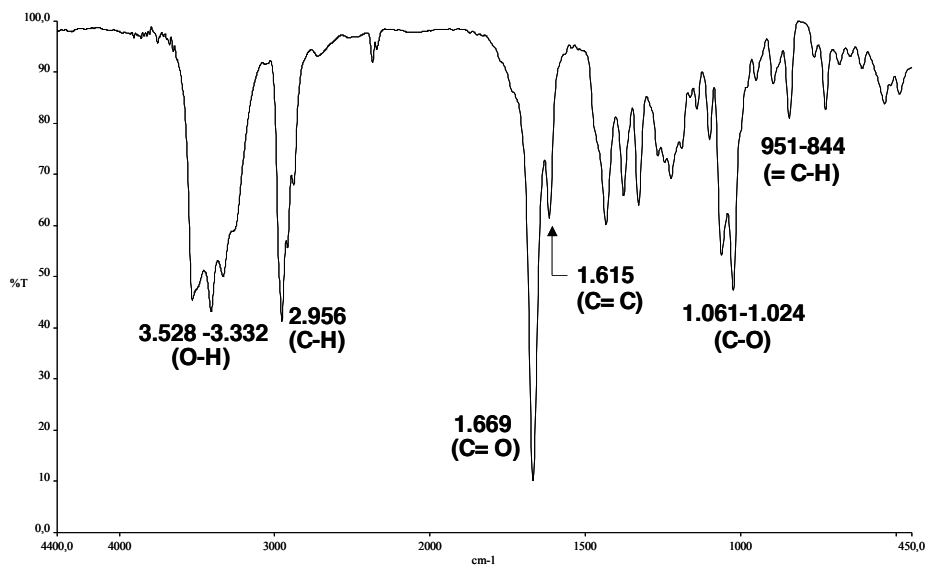
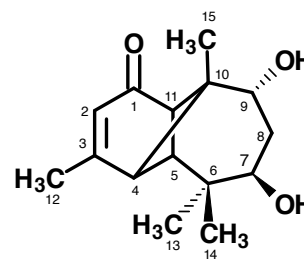
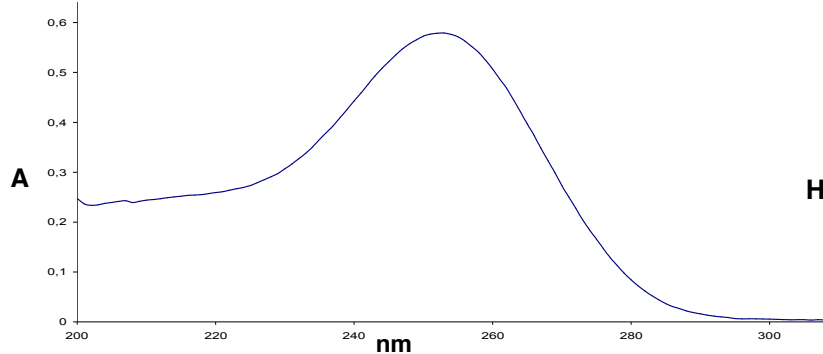


Tabla 1A: Bandas de Absorción Significativas en el Espectro Infrarrojo (KBr)
de la 7 β ,9 α -dihidroxi-longipin-2-en-1-ona [1]

$\nu_{\text{máx.}} \text{ (cm}^{-1}\text{)}$	3528-3332	2956	1669	1615	1061 y 1024	951 y 844
Asignación	O-H	C-H	C=O	C=C	C-O	=C-H

Figura 1I: Espectro Ultravioleta (MeOH)
de la 7 β ,9 α -dihidroxi-longipin-2-en-1-ona [1]



Los datos obtenidos del análisis de sus espectros de RMN- ^1H (Fig. 1B; Tabla 1B) y de RMN- ^{13}C (BB y DEPT) (Fig. 1C; Tabla 1C), permitieron determinar el número de hidrógenos y de carbonos presentes en la molécula, y también, el grado de hibridación y tipo de sustitución de cada carbono, con lo cual fue posible establecer la fórmula molecular $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{O}_3$. La ausencia en el EM (Fig. 1H; Tabla 1H) de un ión molecular a m/z : 250 y la detección en el mismo de picos a m/z : 232 [$\text{M}^+ - \text{H}_2\text{O}$] y m/z : 214 [$\text{M}^+ - 2\text{H}_2\text{O}$], correspondientes a fragmentos generados del ion molecular, por pérdidas sucesivas de una y dos moléculas de agua* es congruente con la fórmula molecular determinada a partir de los datos de RMN. Dicha fórmula exige cinco (5) grados de insaturación, uno de los cuales corresponden a un doble enlace $\text{C}=\text{C}$, en un todo de acuerdo con los datos de IR y con la detección, en su espectro de RMN- ^{13}C de dos señales propias de carbonos sp^2 olefínicos [δ_{C} : 123,0 (=CH) y δ_{C} : 171,7 (=C<)], otra insaturación corresponde a un grupo carbonilo, en conformidad con los datos de IR y de RMN- ^{13}C [δ_{C} : 204,0 (>C=CH-C=O)]. En consecuencia, las tres insaturaciones restantes corresponden a anillos, con lo cual el compuesto es tricíclico.

En el espectro de RMN- ^{13}C se observan dos picos asignables a carbonos sp^3 unidos a oxígenos a δ_{C} : 69,1 (-CH-O, C-7) y δ_{C} : 73,3 (>CH-O; C-9); de acuerdo con el DEPT, estos picos corresponden a carbonos oximetínicos.

La presencia en la región comprendida entre 2,4 y 3,7 ppm del espectro de RMN- ^1H (Fig. 1B; Tabla 1B) de un sistema AMX, asignable a tres hidrógenos cabeza de puente [δ_{H} : 3,62 y δ_{H} : 2,66, d ($J \cong 6,7$ Hz) (H-11 y H-4) y δ_{H} : 2,43, s (H-5)], el cual puede detectarse con más claridad en el espectro $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY (Fig. 1D y Fig. 1D-1) hace suponer que el compuesto en estudio es un sesquiterpeno tricíclico de la serie del longipinano. Es bien sabido que este sistema de espines, frecuente en anillos ciclobutánicos tensionados, en el cual son notables los acoplamientos “*cis*” 1,4 (H-4 \leftrightarrow H-11) y prácticamente indetectables los acoplamientos “*trans*” 1,3 (H-4 \leftrightarrow H-5 y H-5 \leftrightarrow H-11), es un rasgo de carácter diagnóstico para esqueletos sesquiterpénicos de las series del copaano, ylangano y longipinano (Faure *et al.*, 1986; Tamayo-Castillo *et al.*, 1989).

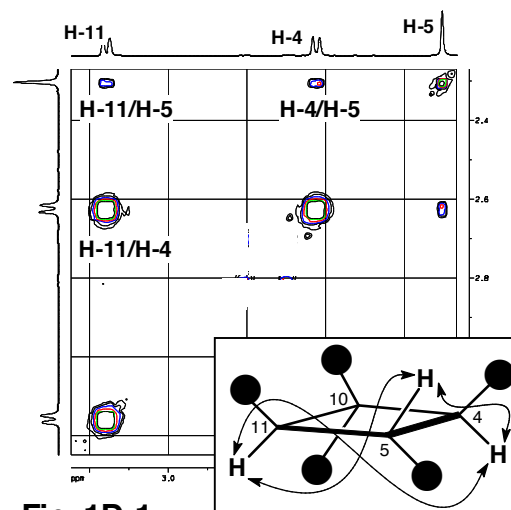


Fig. 1D-1

(*) Este modo de fragmentación es común en alcoholes (Budzikiewicz *et al.*, 1967).

Figura 1B: Espectro de RMN-¹H (C₅D₅N, 400 MHz), de la 7β,9α-dihidroxi longipin-2-en-1-ona [1]

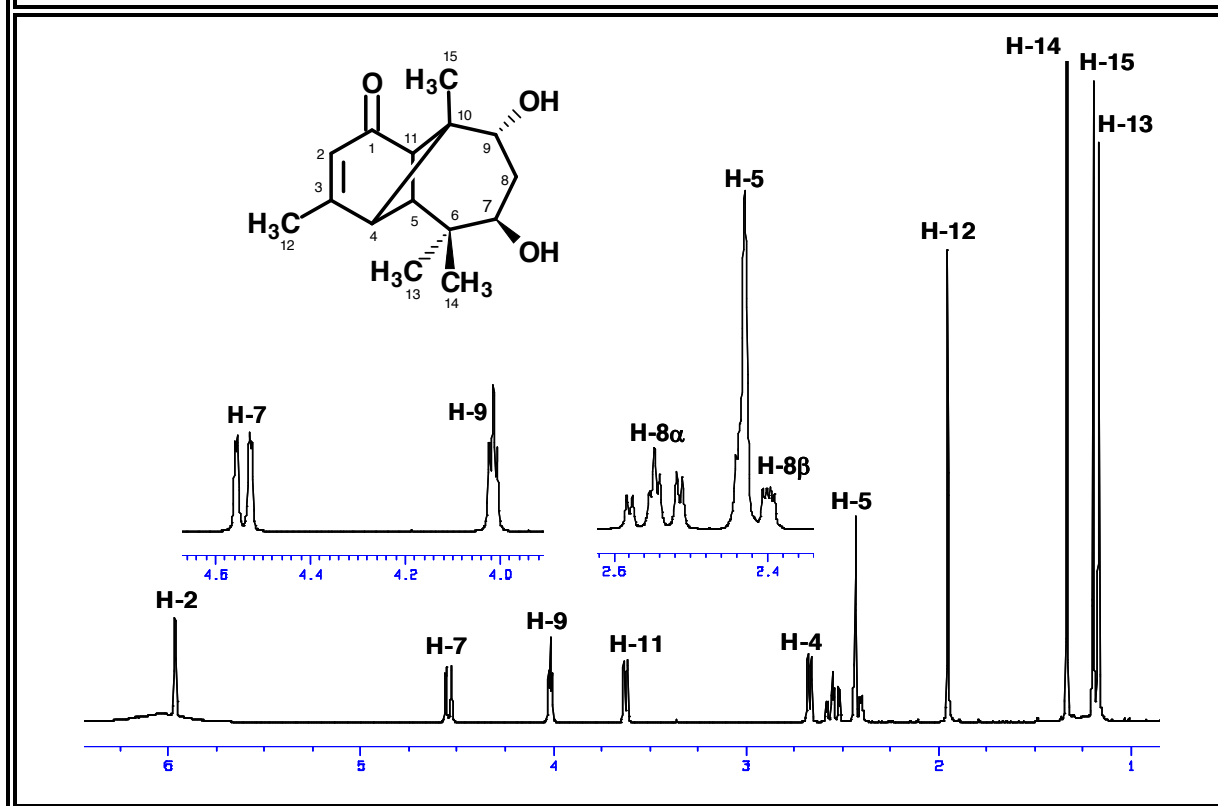


Tabla 1B: Desplazamientos Químicos (δ) en el Espectro de RMN-¹H (C₅D₅N, 400 MHz), de 7β,9α-dihidroxi longipin-2-en-1-ona [1]

H	H-2	H-4	H-5	H-7	H-8 α	H-8 β	H-9
δ (ppm)	5,96	2,66	2,43	4,54	2,64	2,39	4,01
m	<i>c</i>	<i>d</i>	<i>s</i>	<i>dd</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>dd</i>
J(Hz)	1,6	6,8	-	11,6 y 2,0	-	-	3,8 y 2,9
H	H-11	H-12	H-13	H-14	H-15	OH	Valores de δ , relativos al TMS como referencia interna
δ (ppm)	3,62	1,95	1,16	1,18	1,33	5,60-6,40	
m	<i>d</i>	<i>d</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>sa</i>	
J(Hz)	6,8	1,6	-	-	1,6	-	

Figura 1C: Espectro de RMN-¹³C (C₅D₅N, 100 MHz), de la 7β,9α-dihidroxi-longipin-2-en-1-ona [1]

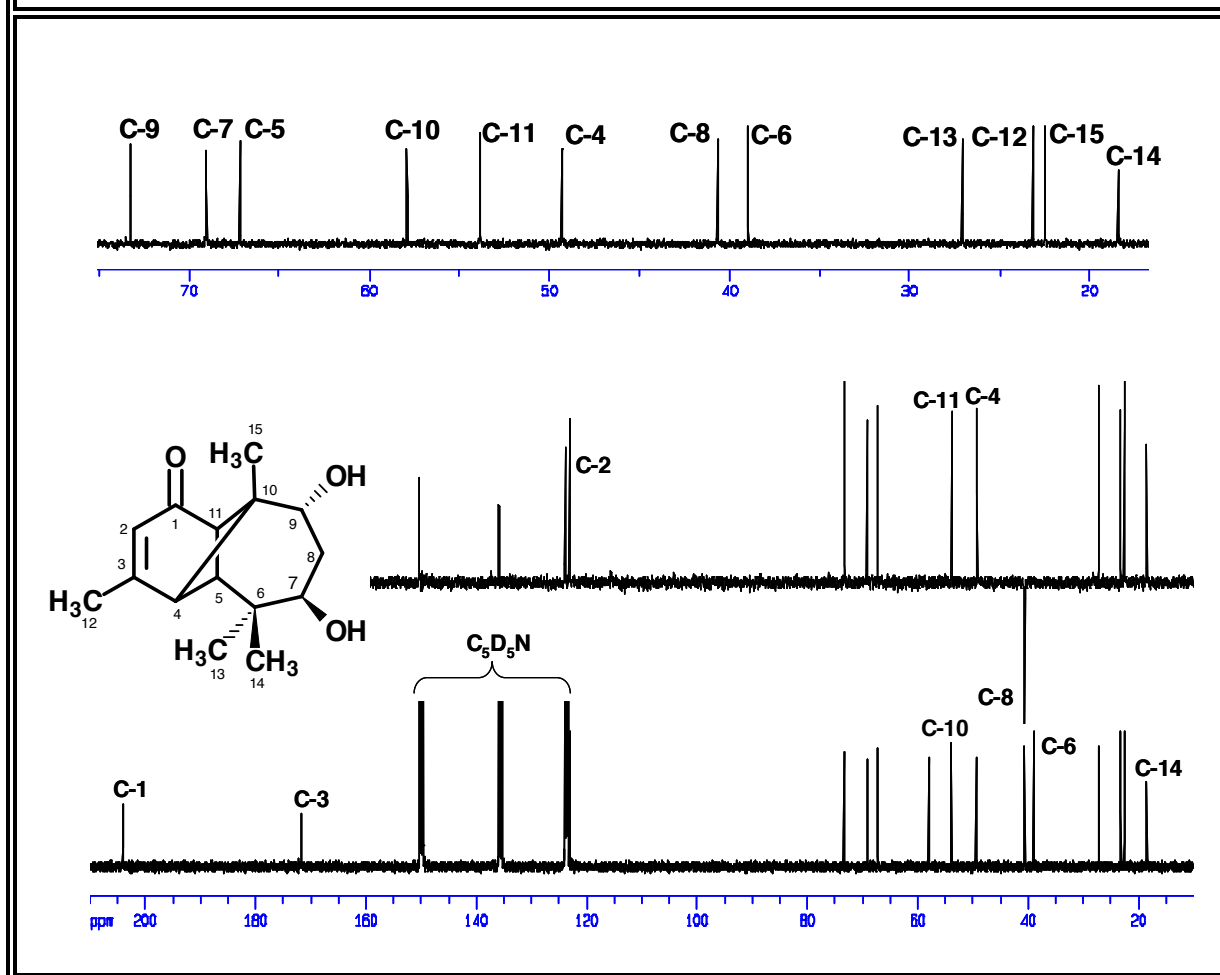
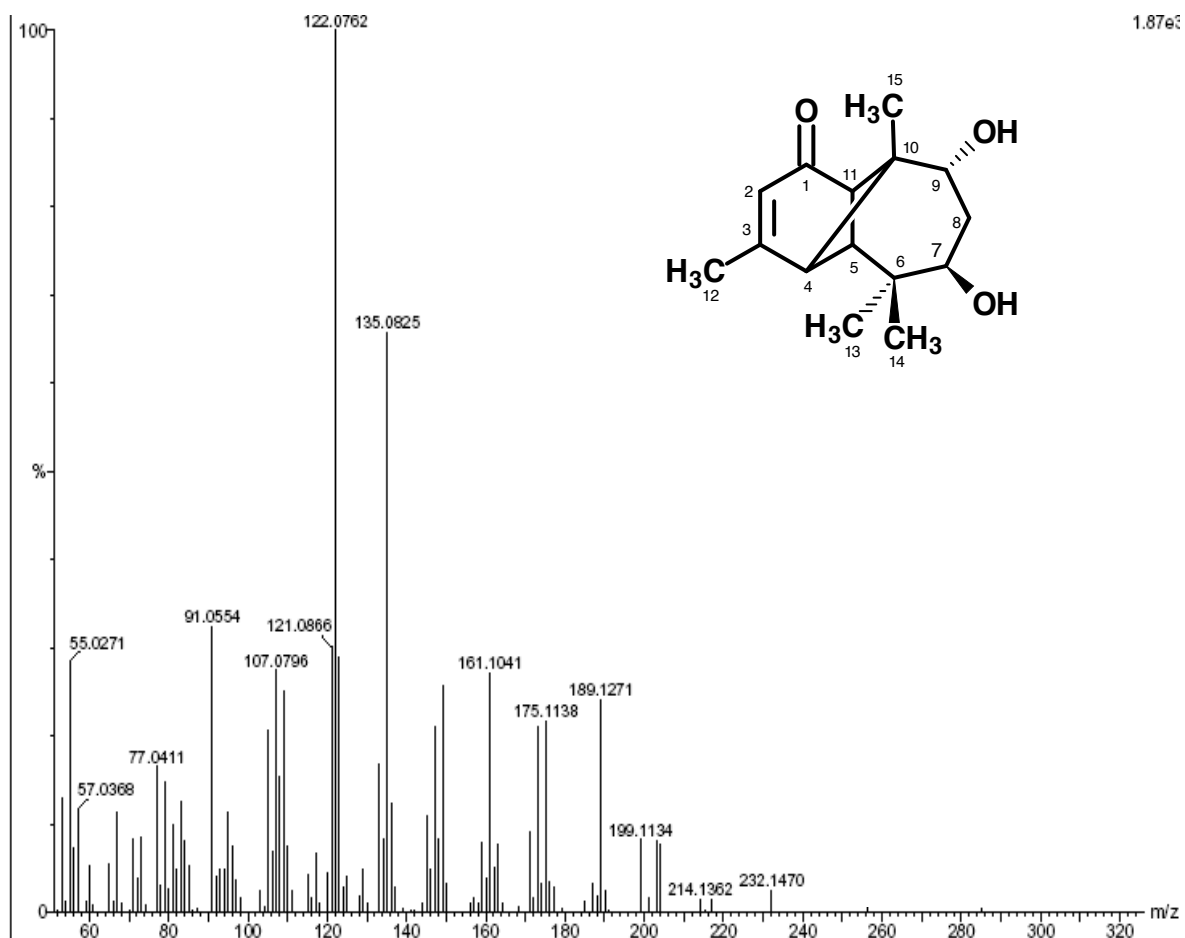


Tabla 1C: Desplazamientos Químicos (δ) en el Espectro de RMN-¹³C (C₅D₅N, 100 MHz), de la 7β,9α-dihidroxi-longipin-2-en-1-ona [1]

C	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	C-7	C-8
δ	204,0	123,0	171,7	49,3	62,7	39,0	69,1	40,6
Tipo	>C=O	=CH	=C<	>CH	>CH	>C<	-CH-O-	-CH ₂
C	C-9	C-10	C-11	C-12	C-13	C-14	C-15	Valores de δ , relativos al TMS como referencia interna
δ	73,3	57,9	53,8	23,2	27,1	18,4	22,5	
Tipo	-CH-O-	>C<	>CH	-CH ₃	-CH ₃	-CH ₃	-CH ₃	

**Figura 1H: Espectro de Masas (70 eV)
de la 7 β ,9 α -dihidroxi-longipin-2-en-1-ona [1]**



**Tabla 1H: Fragmentos (m/z) más Notables en el Espectro de Masas (70 eV)
de la 7 β ,9 α -dihidroxi-longipin-2-en-1-ona [1]**

<i>m/z</i>	232	214	203	199	189	175	173	161
Abund. Relat.	2,5	1,4	8,0	8,2	24,1	21,7	21,1	27,2
<i>m/z</i>	149	147	135	122	109	107	91	55
Abund. Relat.	25,8	21,1	65,7	100,0	25,1	27,5	32,4	28,2

La hipótesis de un esqueleto del longipinano se vio firmemente sustentada, al detectar en los espectros de RMN- ^1H y de RMN- ^{13}C (Fig. 1C; Tabla 1C) las señales características de cuatro metilos terciarios, las cuales pudieron ser inequívocamente asignadas a través de sus respectivas correlaciones en el espectro HMQC (Fig. 1E) [δ_{H} : 1,16, s, (H-13) \leftrightarrow δ_{C} : 27,1 (C-13); δ_{H} : 1,18, s, (H-14) \leftrightarrow δ_{C} : 18,4 (C-14); δ_{H} : 1,33, s, (H-15) \leftrightarrow δ_{C} : 22,5 (C-15) y δ_{H} : 1,95, *d* ($J \cong 1,2$ Hz) (H-12) \leftrightarrow δ_{C} : 23,2 (C-12)].

La posición y multiplicidad de la señal en el RMN- ^1H de este último metilo, indica que el mismo se encuentra situado sobre un doble enlace trisustituido, puesto que sus hidrógenos se acoplan alílicamente a sólo un protón olefínico [δ_{H} : 5,96, *c* ($J \cong 1,2$ Hz) (H-2)]; éste, por su desplazamiento químico, debe estar ubicado sobre un carbono α - a un carbonilo cetónico (Shoolery & Rogers, 1958). De esta manera quedaría caracterizado un sistema 1-oxo-3-alkil-3-metil-2-eno, que en concordancia con la posición en el IR de la absorción del carbonilo cetónico (ν_{max} : 1669 cm^{-1}) (Bellamy, 1975) y la presencia en el espectro UV de una banda a λ_{max} : 253 nm ($n \rightarrow \pi^*$), debería corresponder a una ciclohexenona α,β -insaturada (subestructura [A]) (Scott, 1969). Este sistema fue confirmado a través del espectro HMBC (Fig. 1F), en el cual se observa la secuencia de correlaciones: C-1 \leftrightarrow H-12 \leftrightarrow C-3 \leftrightarrow H-4 \leftrightarrow C-2 \leftrightarrow H-12 \leftrightarrow C-4 \leftrightarrow H-2 \leftrightarrow C-11 \leftrightarrow H-5 \leftrightarrow C-4 \leftrightarrow H-11 \leftrightarrow C-1 \leftrightarrow H-5 \leftrightarrow C-3 (Fig. 1F-1). Al tomar en cuenta los cruces de C-11 y C-4 con H-15, y los de C-10 con H-5, H-11 y H-15, es evidente que el metilo C-15 se sitúa sobre el carbono C-10 (δ_{C} : 55,7), el cual a su vez se une a C-4 (δ_{C} : 49,3) y C-11 (δ_{C} : 53,8). Estos tres últimos carbonos conforman con C-5 (δ_{C} : 62,7) el anillo ciclobutánico que se une a través de este último carbono al C-6 (δ_{C} : 39,0), el cual, a su vez, soporta, según indica la secuencia H-13 \leftrightarrow C-5 \leftrightarrow H-14 \leftrightarrow C-6 \leftrightarrow H-13 \leftrightarrow C-14 \leftrightarrow H-5 \leftrightarrow C-13 \leftrightarrow H-14 (Fig. 1F-1), a los otros dos metilos terciarios en disposición geminal (subestructura [B]).

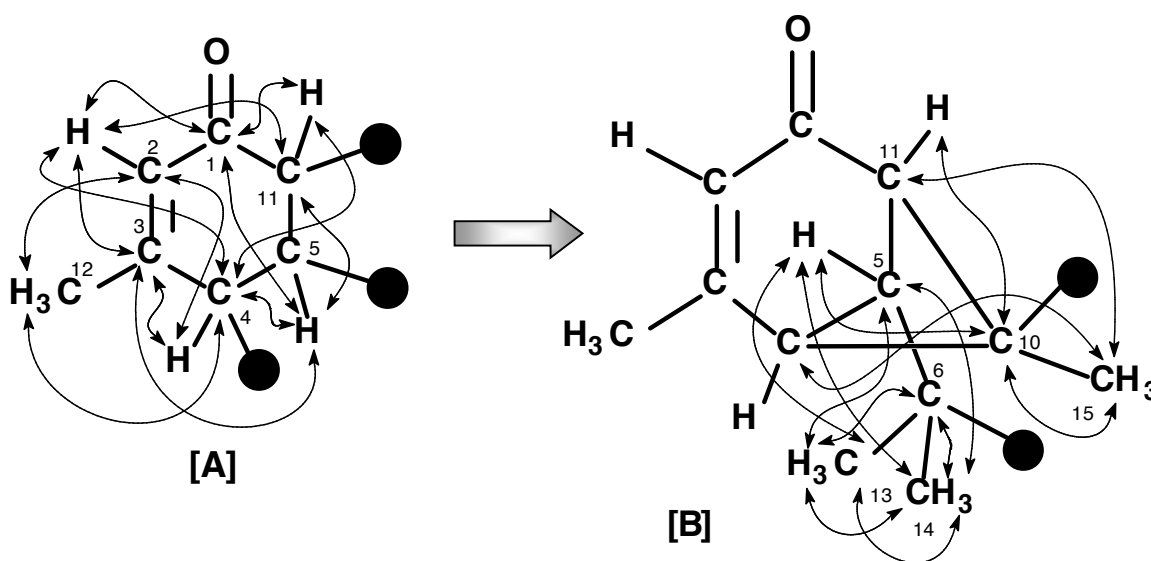


Figura 1F-1: Correlaciones HMBC en [1]

Una vez establecida la subestructura **[B]**, en la cual se involucran doce (12) carbonos, es obvio que para completar un esqueleto de longipinano faltaría sólo incorporar tres (3) carbonos, los cuales deberían conformar una cadena entre C-6 y C-10, que cerraría el anillo de siete miembros que exige dicho esqueleto. Al analizar los espectros de RMN se deduce que dos de estos carbonos son metinos que poseen grupos hidroxilos [δ_{H} : 4,54, *dd*, $J \cong 11,6$ y $2,0$ Hz (H-7) \leftrightarrow δ_{C} : 69,1 (C-7) y δ_{H} : 4,98, *t*, $J \cong 3,4$ Hz (H-9) \leftrightarrow δ_{C} : 73,3 (C-9)], mientras que el tercero es un metileno [δ_{H} : 2,64 y 2,39, *m*, (H-8 α y H-8 β) \leftrightarrow δ_{C} : 40,6 (C-8)], el cual, en concordancia con la posición y multiplicidad de su señal de RMN- ^1H , debería situarse entre los dos metinos.

La multiplicidad y las constantes de acoplamiento observadas para el protón H-7 del compuesto **[1]** (Fig. 1B-1) exigen que uno de los ángulos diedros H-7 \wedge C-7 \wedge C-8 \wedge H-8 tenga un valor cercano a 90° y para ello H-7 debe situarse en α y el hidroxilo en β .

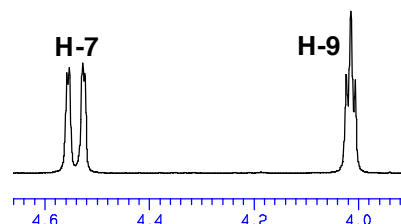


Figura 1B-1

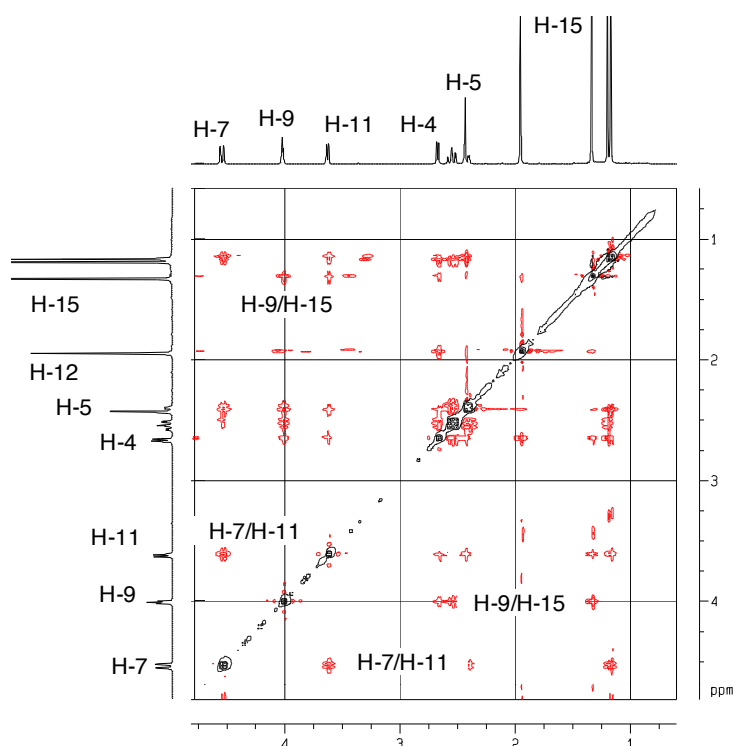
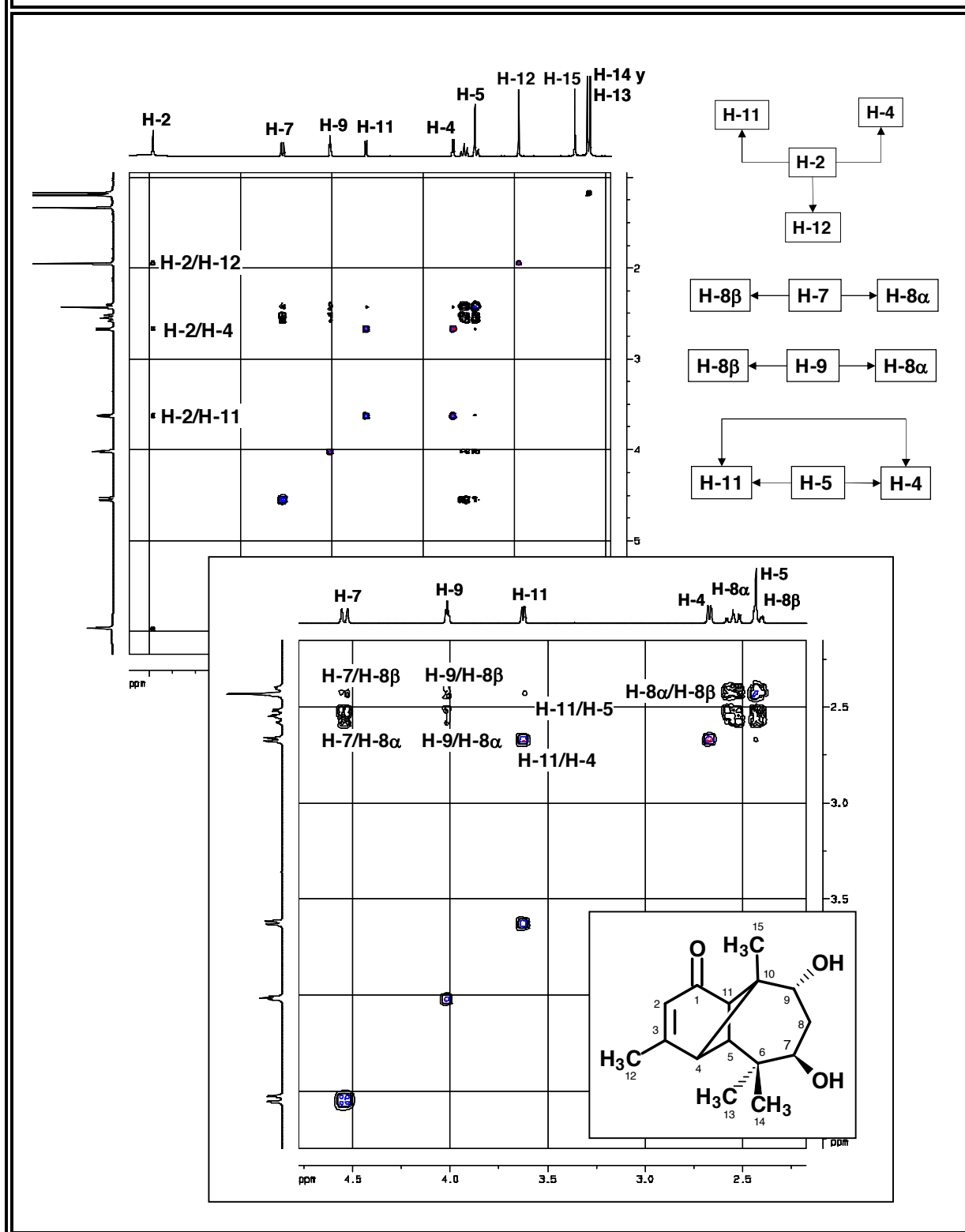


Figura 1G

La disposición espacial de los grupos hidroxilo fue además confirmada en el espectro NOESY (Fig. 1G) en el cual se observan las correlaciones H-7 \leftrightarrow H-11 y H-9 \leftrightarrow H-15, indicativas de que el protón H-7 posee orientación α , mientras que el protón H-9 la posee β . Con ello, fue posible concluir que la estructura del producto en estudio se corresponde con la **7 β ,9 α -dihidroxi longipin-2-en-1-ona [1]**.

El diol **[1]**, en razón de su alta funcionalización, sumado a la presencia del anillo ciclobutánico es una molécula interesante para estudiar conversiones de grupos funcionales y en particular para ensayar reacciones de reagrupamiento molecular bajo diferentes condiciones experimentales; estudios preliminares han generado resultados realmente sorprendentes, en lo que respecta a la generación de nuevos esqueletos sesquiterpénicos (Joseph-Nathan & Cerda-García-Rojas, 1994).

**Figura 1D: Espectro $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$)
de la $7\beta, 9\alpha$ -dihidroxi longipin-2-en-1-ona [1]**



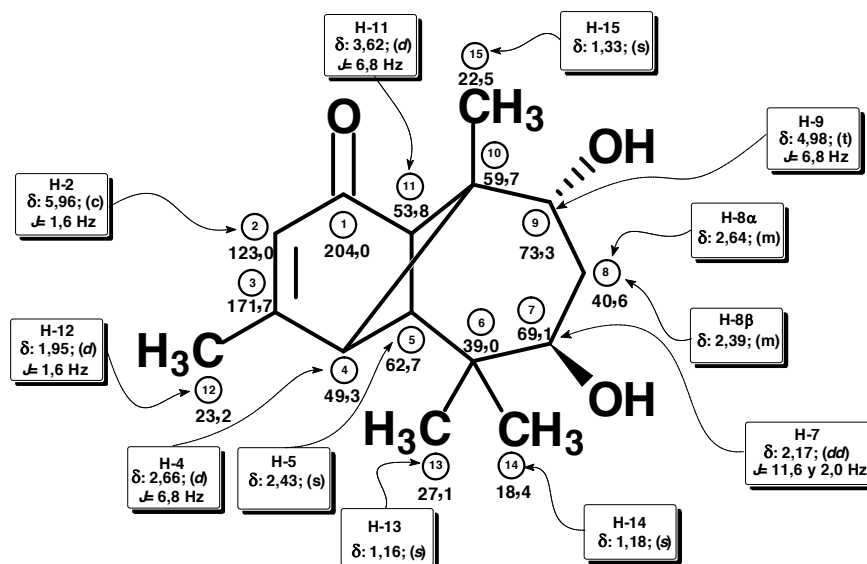


Figura 1E: Espectro HMQC (C_5D_5N)
de la 7 β ,9 α -dihidroxi longipin-2-en-1-ona [1]

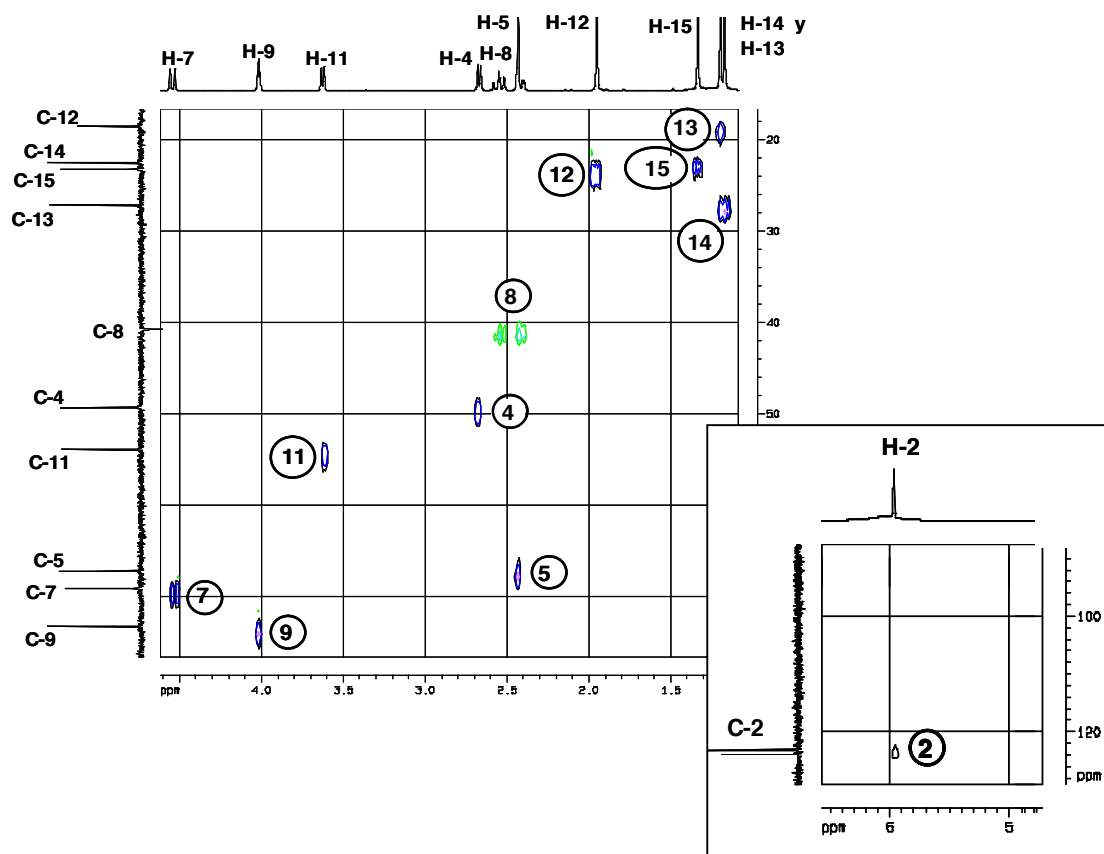
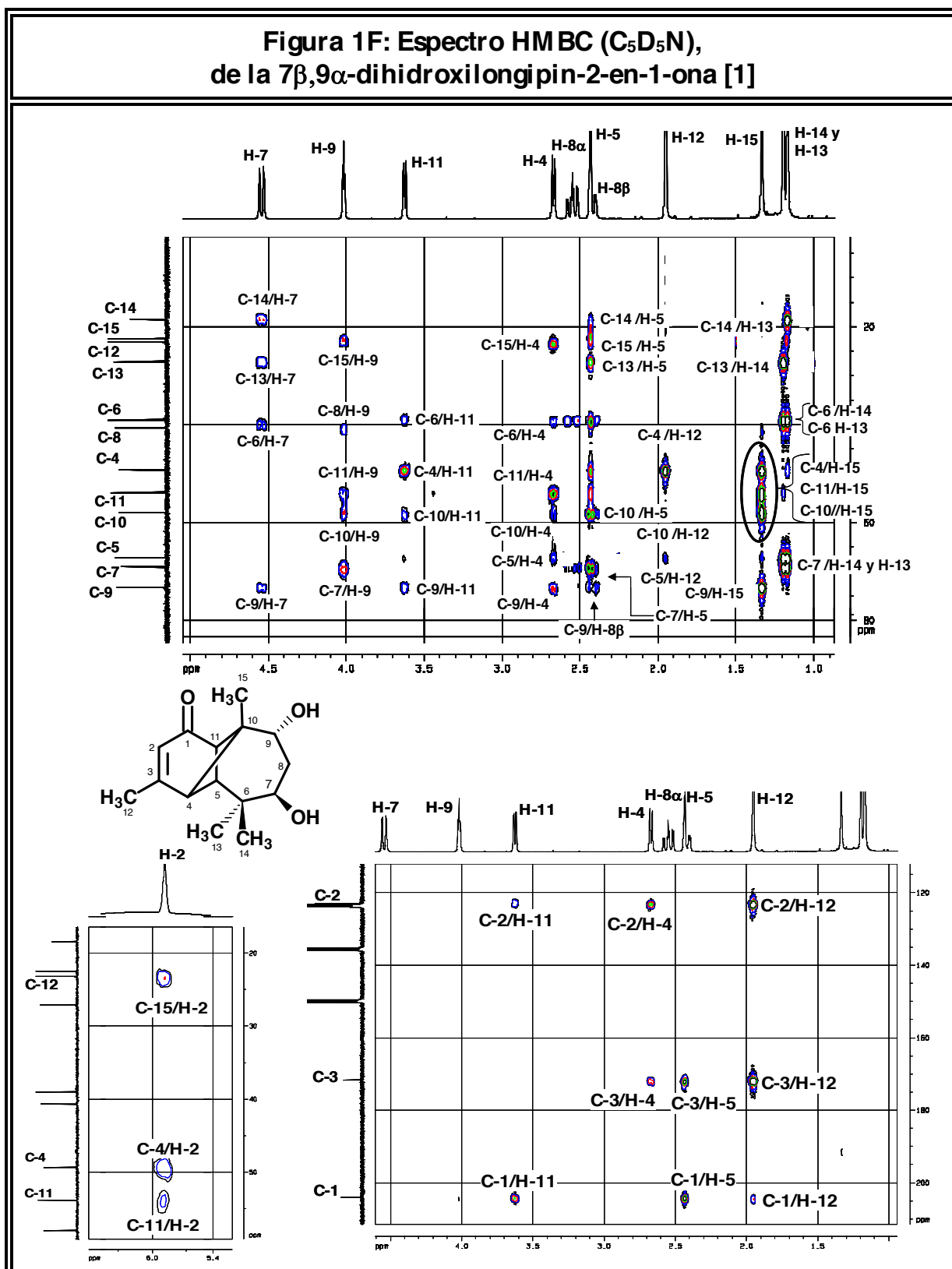


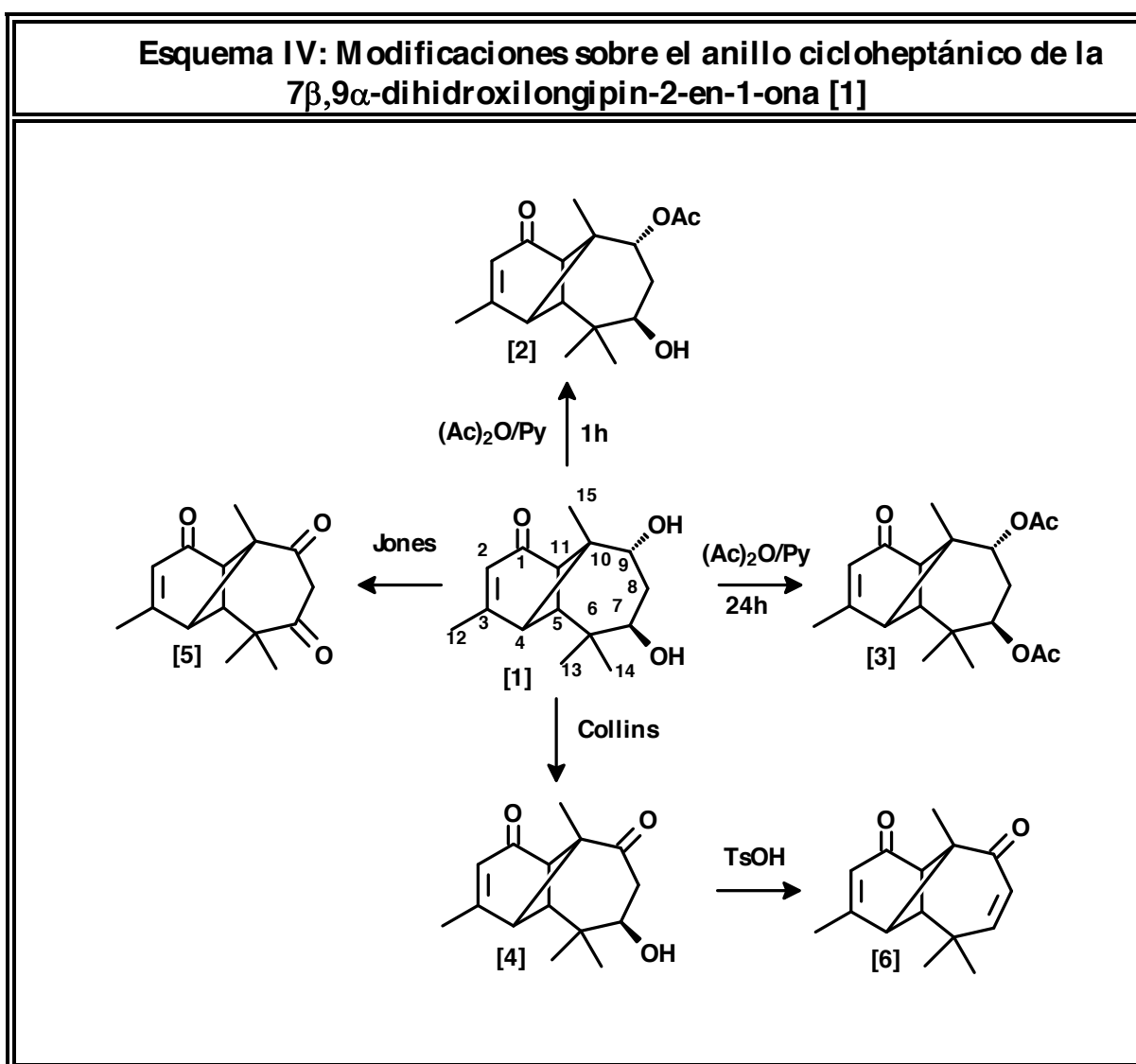
Figura 1F: Espectro HMBC (C_5D_5N),
de la $7\beta,9\alpha$ -dihidroxi longipin-2-en-1-ona [1]



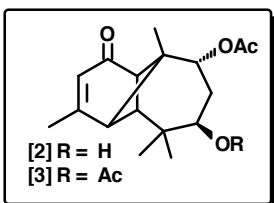
Las transformaciones efectuadas en la molécula [1] se presentaran de la siguiente forma:

Modificaciones sobre el anillo cicloheptánico

Los carbonos oximetínicos C-7 y C-9 del compuesto [1] son los sitios reactivos del anillo cicloheptánico. A fin de explorar la reactividad de los mismos se llevaron a cabo reacciones de esterificación y oxidación (Esquema IV). Esto permitió establecer en forma cualitativa cual de los grupos hidroxilo es más reactivo.



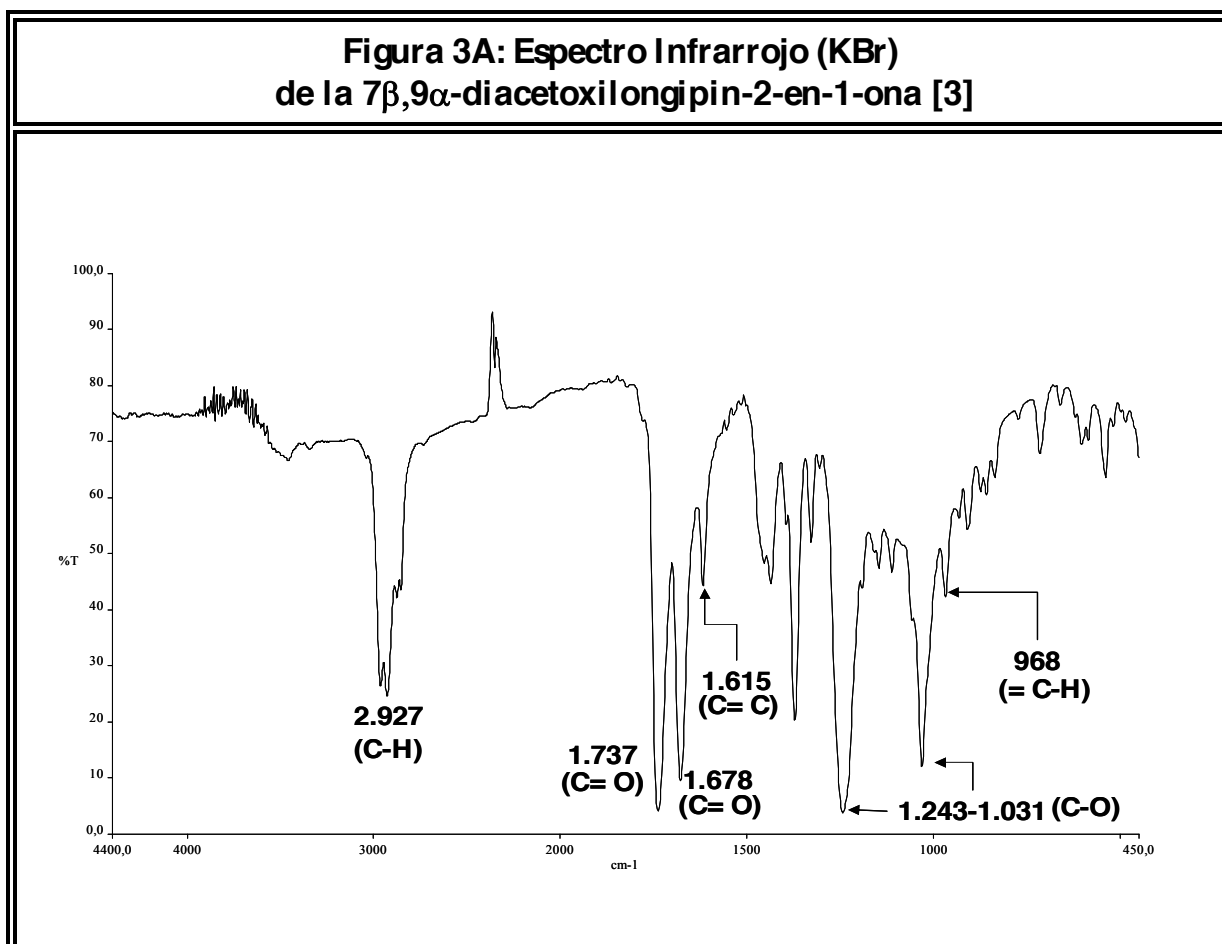
**7 β -hidroxi-9 α -acetoxilongipin-2-en-1-ona [2] y
7 β ,9 α -diacetoxilongipin-2-en-1-ona [3]**



El diol [1], fue tratado con anhídrido acético en piridina. Luego de transcurrir una hora fue extraída una alícuota de la mezcla de reacción a fin de monitorear el desarrollo de la misma (Compuesto [2]). La evolución del resto de la mezcla fue seguida por cromatografía de capa fina hasta observar la aparición de un producto final de R_f mayor al sustrato de partida [1] y al derivado monoacetilado [2]. Los productos mono y diacetilados fueron caracterizados al contrastar sus datos espectrales con los del diol [1], observándose como cambios más notables los siguientes:

1. La desaparición en el espectro IR (Fig. 3A; Tabla 3A) de absorciones propias de hidroxilos y la aparición de una nueva banda, muy intensa, ($\nu_{\max.}$: 1737 cm^{-1}), asignable a los carbonilos de los grupos acetato.
2. La presencia en el espectro de RMN- ^1H (Fig. 3B; Tabla 3B) de dos nuevos singuletes a δ_{H} : 2,03 (H-2') y δ_{H} : 2,15 (H-2'') atribuibles a los metilos de los dos acetatos, y el desplazamiento hacia campos más bajos de las señales de los hidrógenos geminales a estos dos grupos acetatos [δ_{H} : 4,95 (H-7) y δ_{H} : 4,93 (H-9); ambas superpuestas conformando un multiplete complejo. En el espectro $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY (Fig. 3D) se aprecia el cruce de este multiplete con la señal de H-8 (δ_{H} : 2,09, *dd*, $J \cong 11,2$ y 2,0 Hz).
3. La aparición en el espectro de RMN- ^{13}C (Fig. 3C; Tabla 3C) de cuatro nuevas señales características de grupos acetilos [δ_{C} : 170,4, dos $-\text{O}-\text{C}=\text{O}$ (C-1' y C-1''); δ_{C} : 170,4, $-\text{CH}_3$, (C-2') y δ_{C} : 170,4, $-\text{CH}_3$, (C-2'')]. Estos dos últimos picos se cruzan en el espectro HSQC (Fig. 3E) con los nuevos singuletes observados en el RMN- ^1H a δ_{H} : 2,03 (H-2') y δ_{H} : 2,15 (H-2''). A su vez, cada uno de estos singuletes se correlacionan a través del espectro HMBC (Fig. 3F), con los picos asignados a los respectivos carbonilos de cada acetilo.
4. El producto monoacetilado [2] presenta en su espectro IR (Fig. 2A; Tabla 2A) una absorción característica del carbonilo correspondiente al grupo acetato ($\nu_{\max.}$: 1738 cm^{-1}). Sin embargo; en el espectro se conserva la banda de hidroxilo ($\nu_{\max.}$: 3456 cm^{-1}) con lo cual se puede corroborar que solo ha sido esterificado uno de los alcoholes (la presencia de una sola mancha homogénea sobre TLC indica que se trata de un producto puro y no de la mezcla de monoacetatos).

5. El espectro de RMN-¹H de **[2]** (Fig. 2B; Tabla 2B) exhibe dos cambios significativos con respecto al espectro del producto de partida **[1]**: el desplazamiento a campo bajo de la señal atribuida al protón oximetínico H-9 (δ_{H} : 5,05, $\Delta\delta$: -1.04 ppm respecto a H-9 en **[1]**, δ_{H} : 4,01) (este desapantallamiento se debe al incremento del efecto inductivo que ejerce el oxígeno ubicado en C-9 luego de ser esterificado) y la aparición de nuevo singulete correspondiente a los protones del metilo del grupo acetilo [δ_{H} : 2,09, s, (H-2')].



**Tabla 3A: Bandas de Absorción Significativas en el Espectro Infrarrojo (KBr)
de la 7 β ,9 α -diacetoxilongipin-2-en-1-ona [3]**

$\nu_{\text{máx.}} (\text{cm}^{-1})$	2927	1737	1678	1617	1243 y 1031	968
Asignación	C-H	C=O	C=O	C=C	C-O	=C-H

Figura 3B: Espectro de RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), de la 7 β ,9 α -diacetoxilongipin-2-en-1-ona [3]

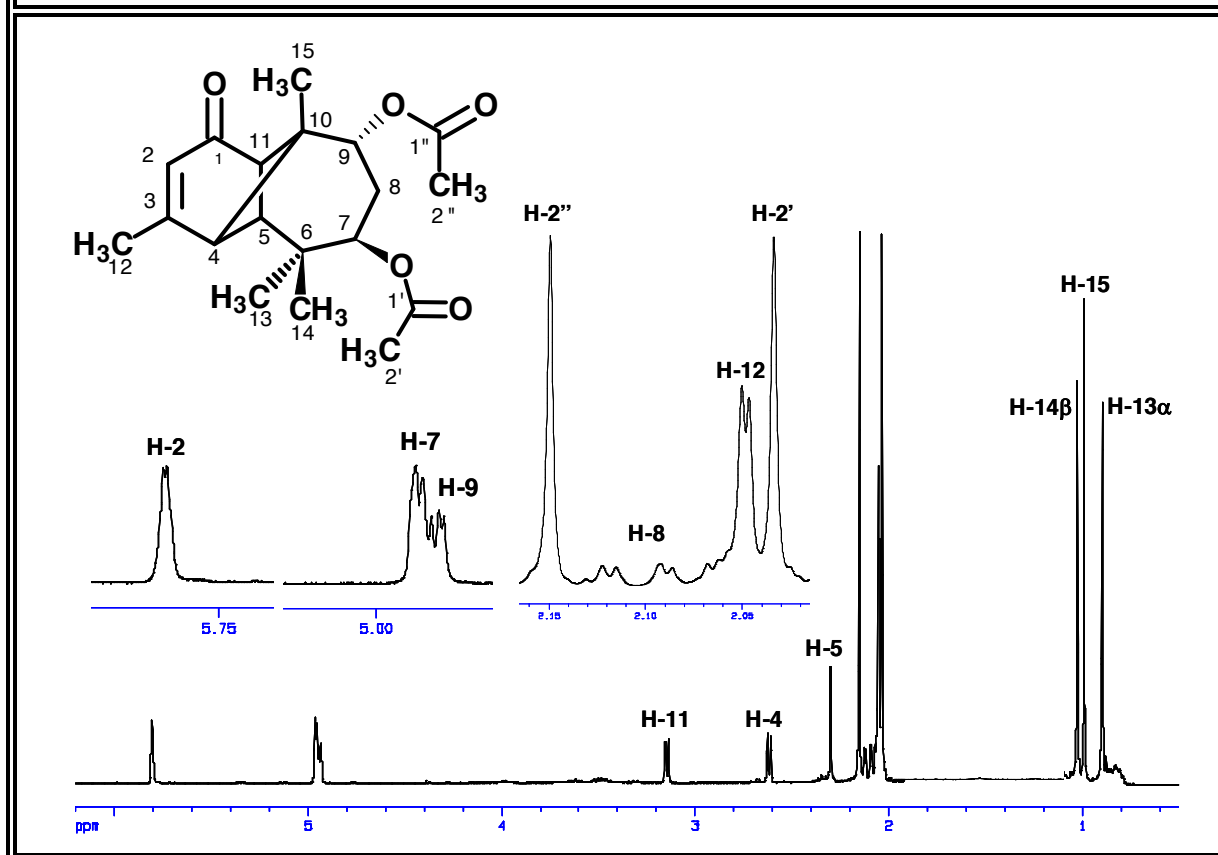


Tabla 3B: Desplazamientos Químicos (δ) en el Espectro de RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), de la 7 β ,9 α -diacetoxilongipin-2-en-1-ona [3]

H	H-2	H-4	H-5	H-7	H-8	H-9	H-11	
δ (ppm)	5,80	2,61	2,29	4,95	2,09	4,93	3,14	
m	<i>c</i>	<i>d</i>	<i>s</i>	<i>m</i>	<i>dd</i>	<i>m</i>	<i>d</i>	
<i>J</i> (Hz)	1,2	6,8	-	-	11,2 y 2,0	-	6,8	
H	H-12	H-13	H-14	H-15	H-2'	H-2''		Valores de δ , relativos al TMS como referencia interna
δ (ppm)	2,04	0,89	1,02	0,98	2,03	2,15		
m	<i>d</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>s</i>		
<i>J</i> (Hz)	1,2	-	-	-	-	-		

Figura 3C: Espectro de RMN-¹³C (CDCl₃, 100 MHz), de la 7β,9α-diacetoxilongipin-2-en-1-ona [3]

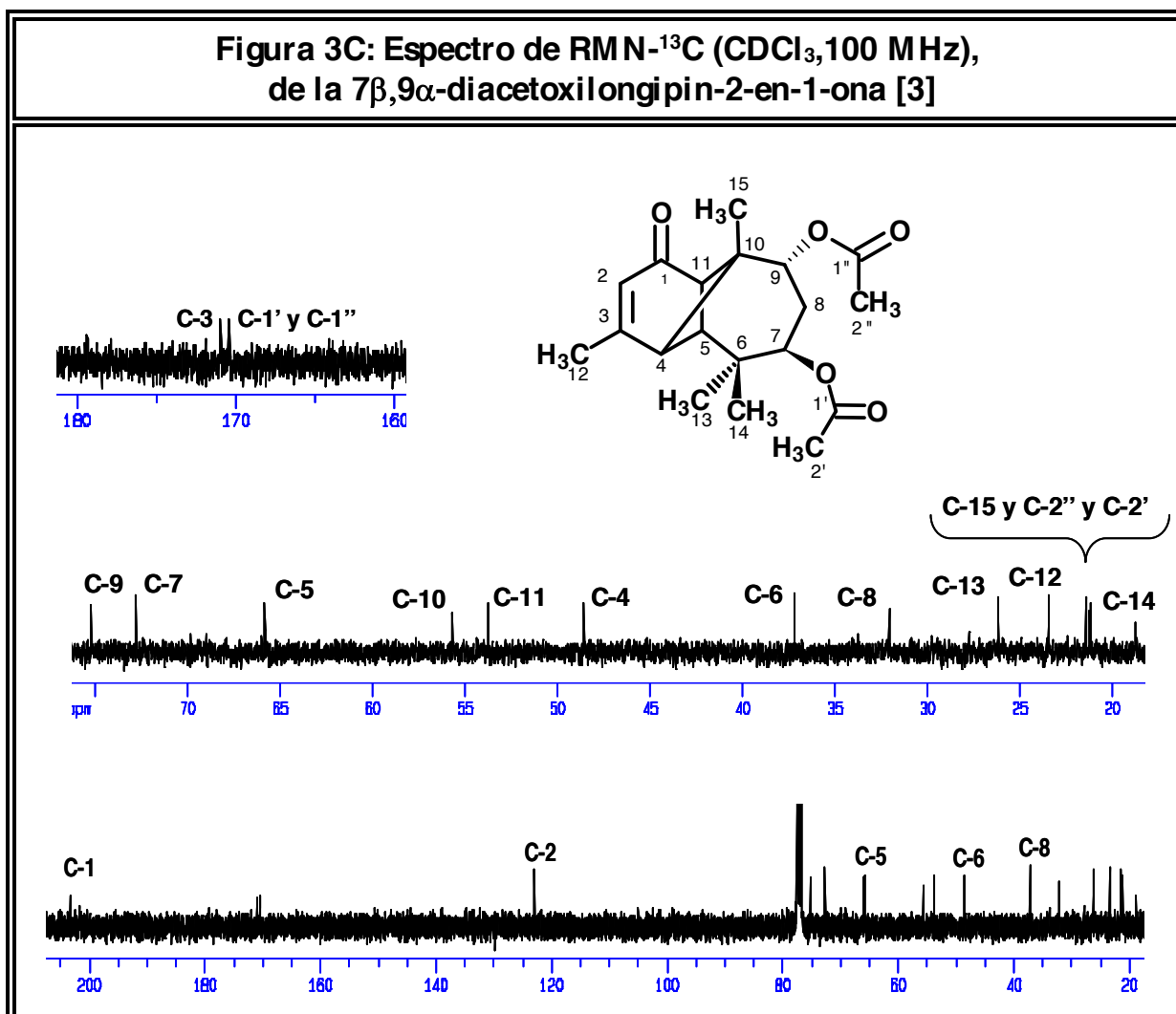
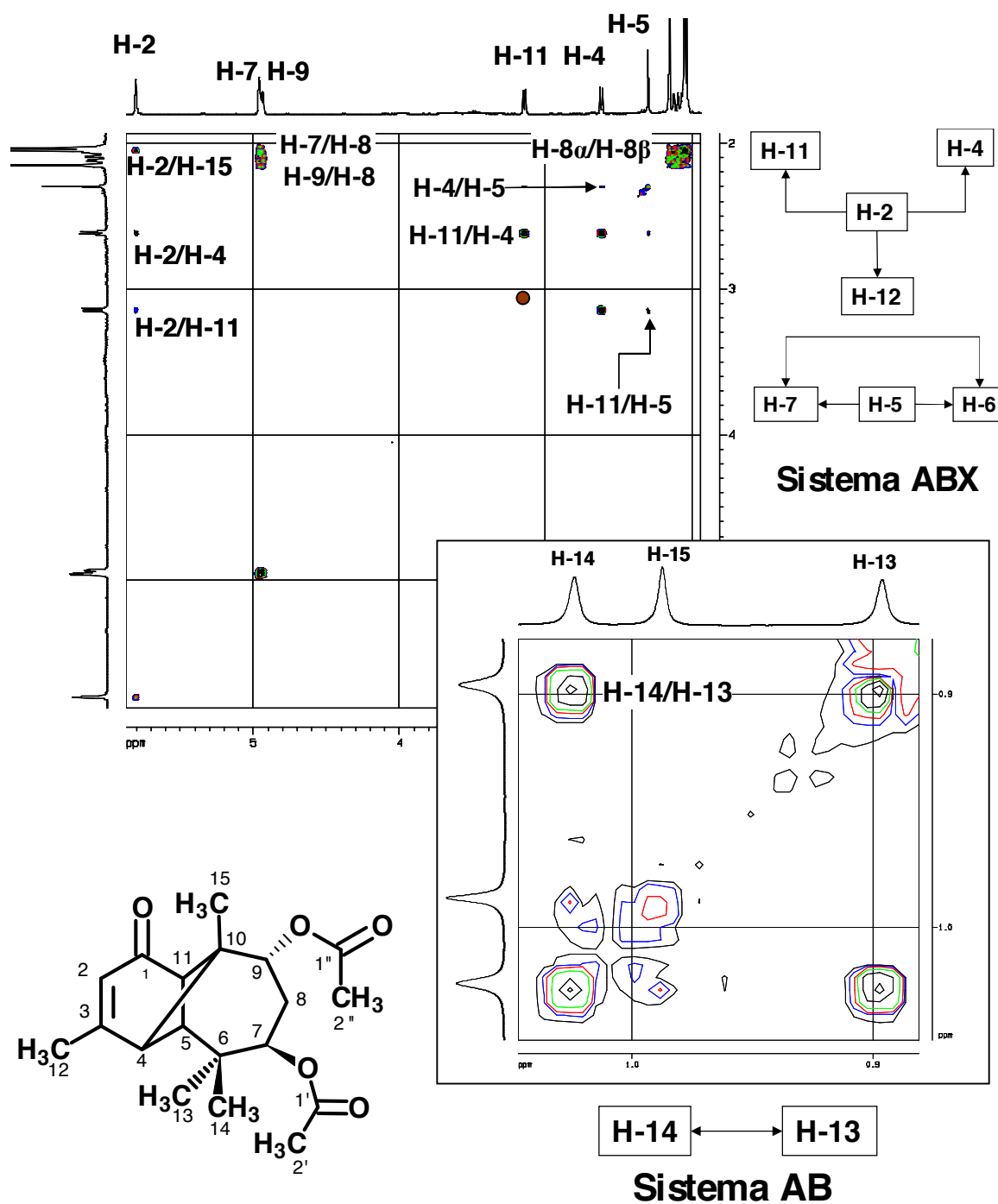


Tabla 3C: Desplazamientos Químicos (δ) en el Espectro de RMN-¹³C (CDCl₃, 100 MHz), de la 7β,9α-diacetoxilongipin-2-en-1-ona [3]

C	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	C-7	C-8	C-9	C-10
δ	203,2	122,9	171,0	48,6	65,9	37,2	72,8	32,2	75,2	55,7
Tipo	>C=O	=CH	=C<	>CH	>CH	>C<	-CH-O-	-CH ₂	-CH-O	>C<
C	C-11	C-12	C-13	C-14	C-15	C-1'	C-2'	C-1''	C-2''	Valores de δ , relativos al TMS como referenci a interna
δ	53,8	23,5	26,2	18,8	21,4	170,4	21,2	170,4	21,3	
Tipo	>CH	-CH ₃	-CH ₃	-CH ₃	-CH ₃	O-C=O	-CH ₃	O-C=O	-CH ₃	

Figura 3D: Espectro $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY (CDCl_3)
de la $7\beta, 9\alpha$ -diacetoxilongipin-2-en-1-ona [3]



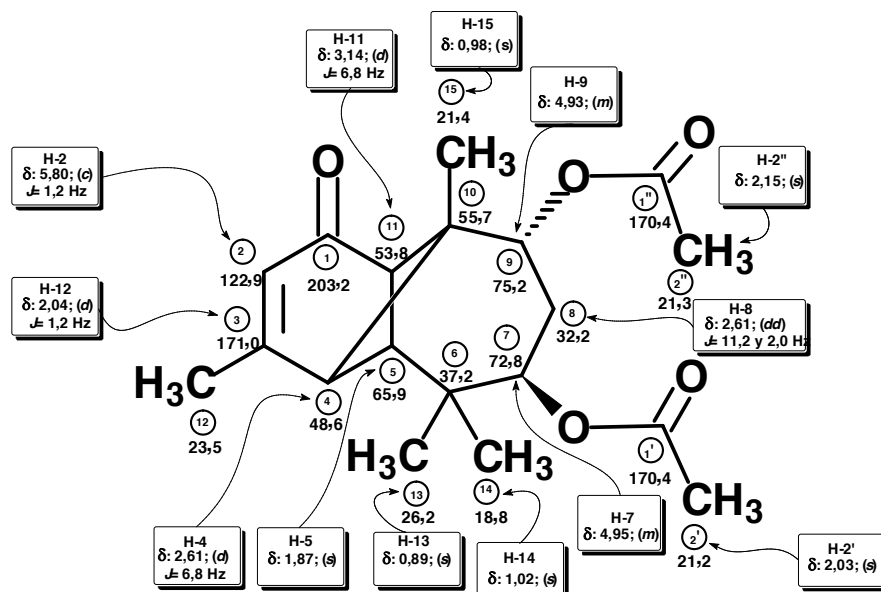


Figura 3E: Espectro HSQC (CDCl₃) de la 7β,9α-diacetoxilongipin-2-en-1-ona [3]

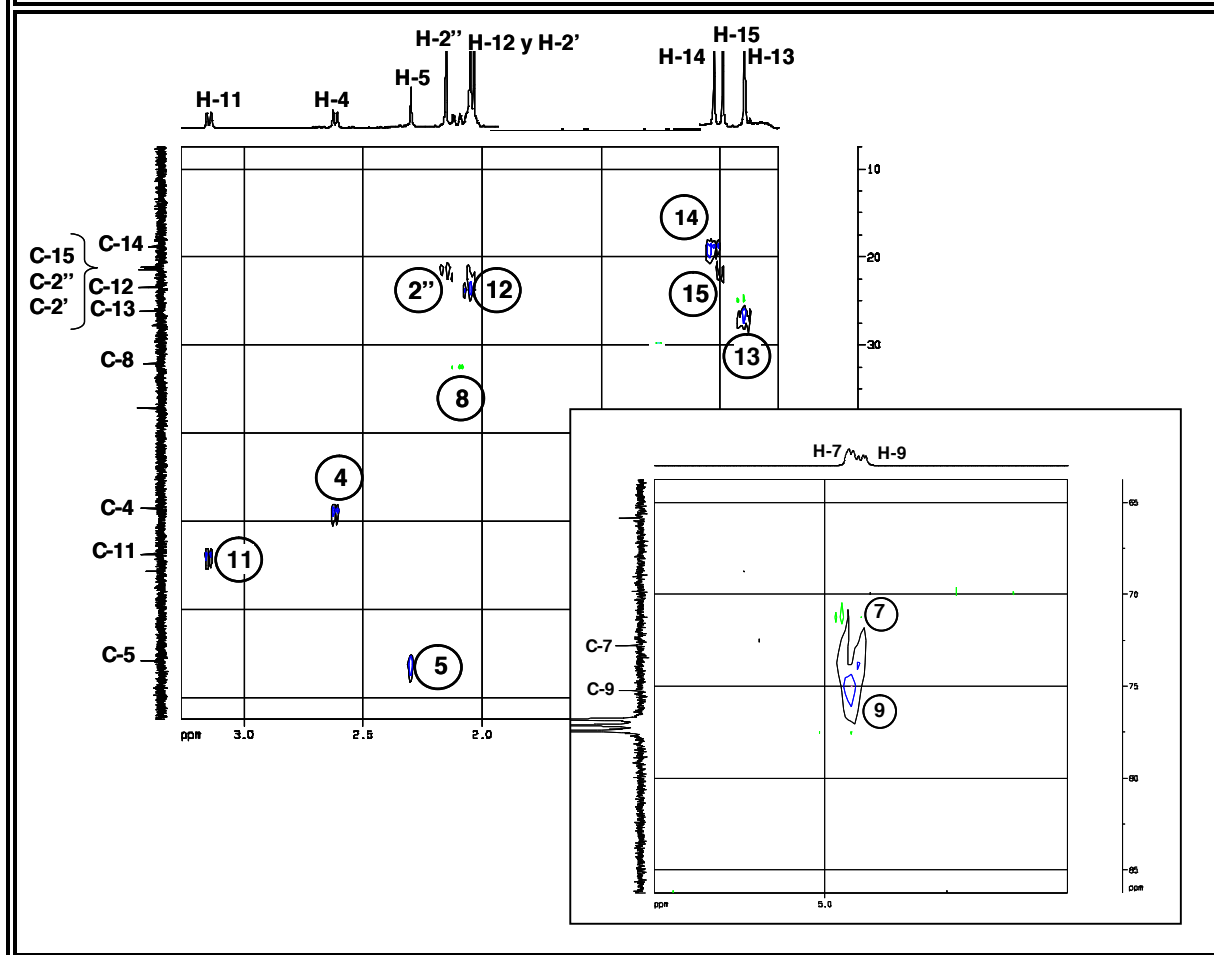
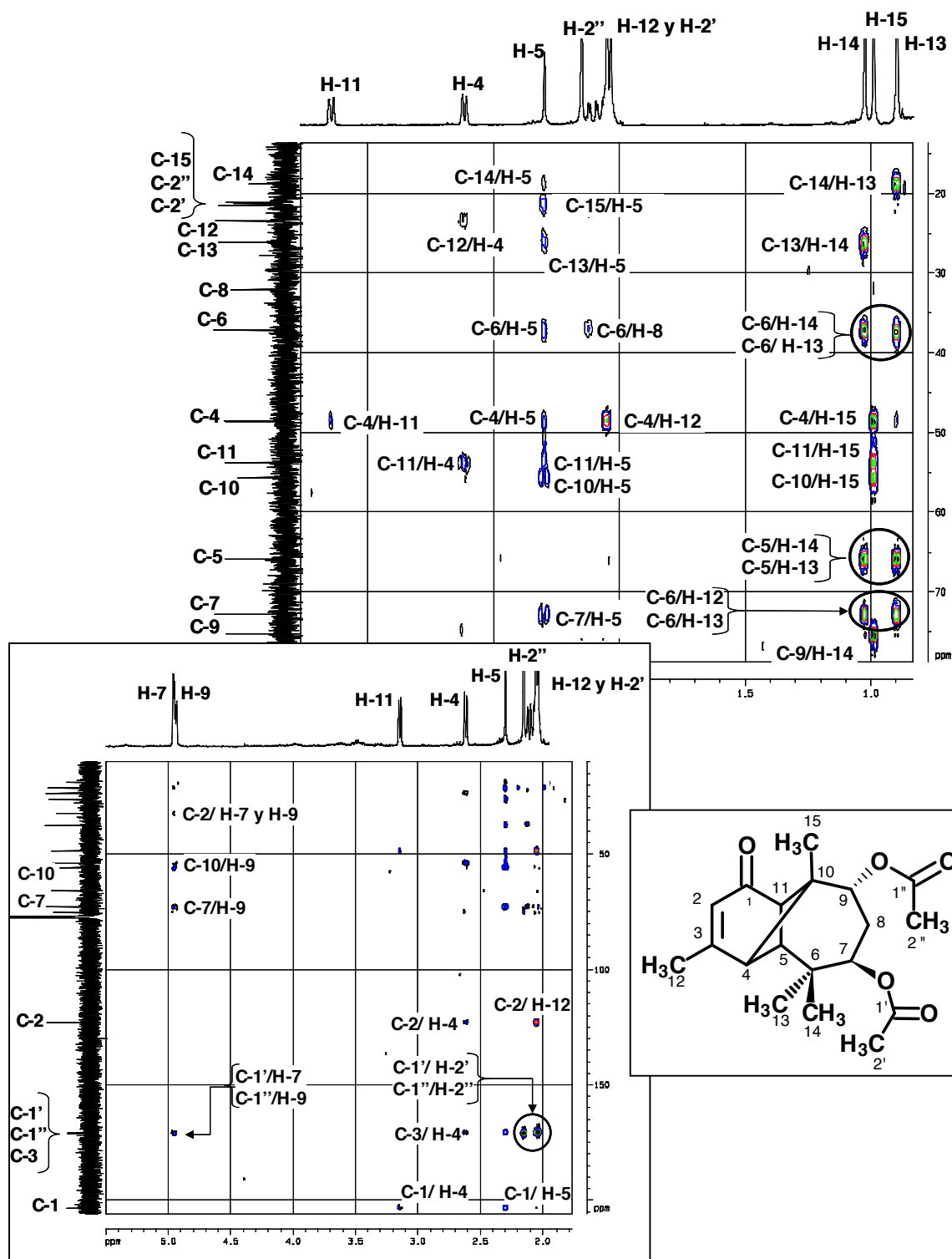
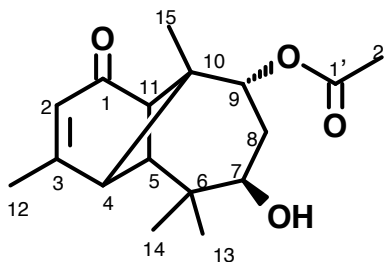
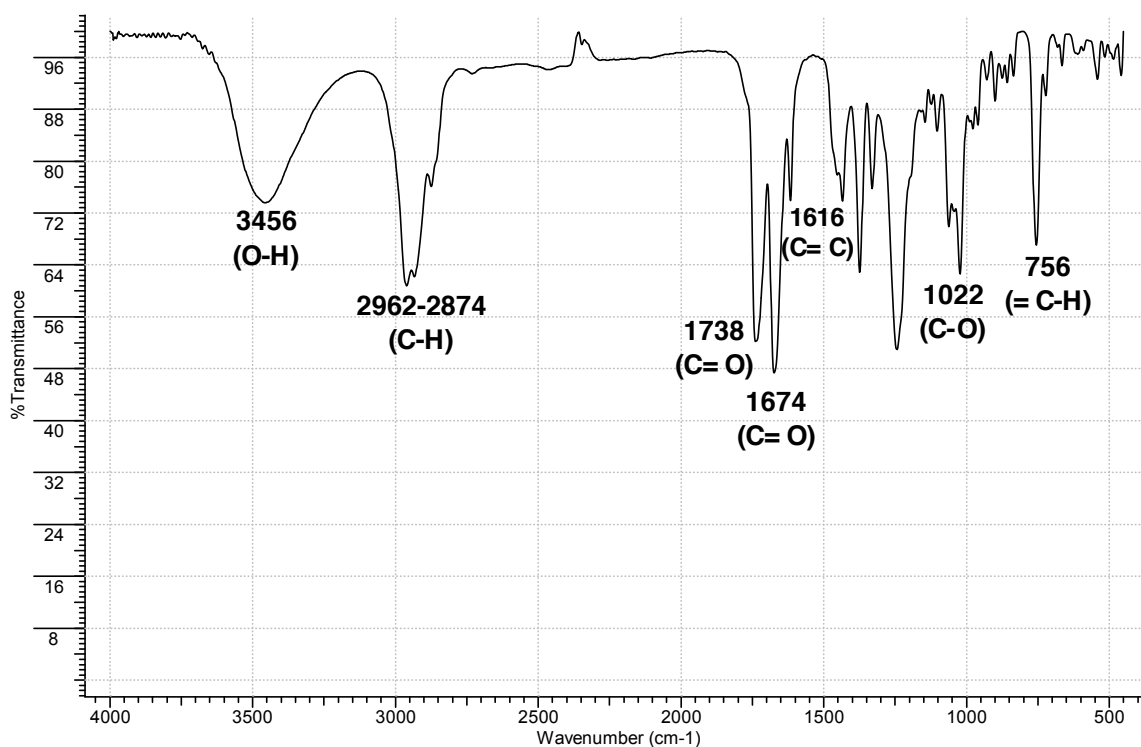


Figura 3F: Espectro HMBC (CDCl₃)
de la 7β,9α-diacetoxilongipin-2-en-1-ona [3]



**Figura 2A: Espectro Infrarrojo (KBr)
de la 7 β -hidroxi-9 α -acetoxilongipin-2-en-1-ona [2]**



**Tabla 2A: Bandas de Absorción Significativas en el Espectro Infrarrojo (KBr)
de la 7 β -hidroxi-9 α -acetoxilongipin-2-en-1-ona [2]**

$\nu_{\text{máx.}} (\text{cm}^{-1})$	3456	2962	1737	1678	1617	1022	756
Asignación	O-H	C-H	C=O	C=O	C=C	C-O	=C-H

Figura 2B: Espectro de RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), de la 7β-hidroxi-9α-acetoxilongipin-2-en-1-ona [2]

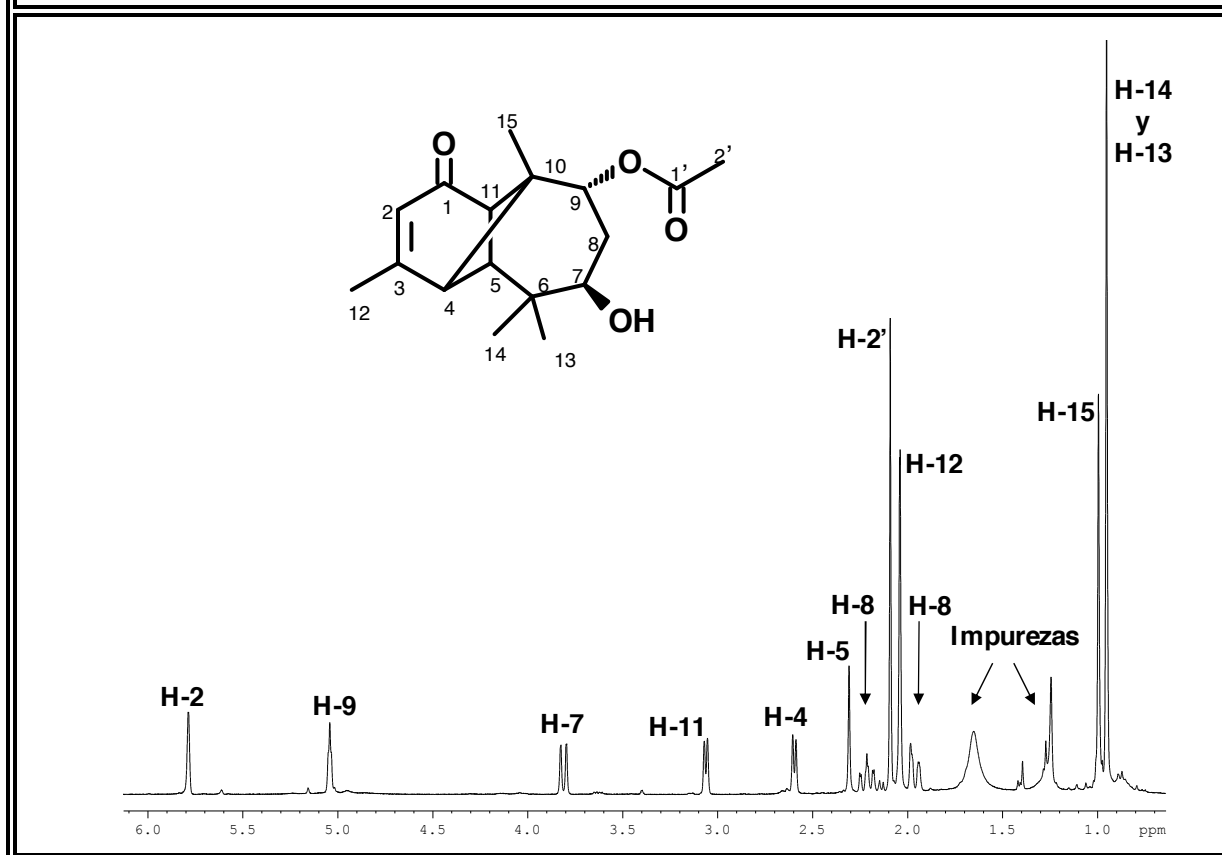
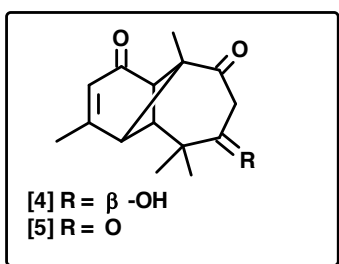


Tabla 2B: Desplazamientos Químicos (δ) en el Espectro de RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), de la 7β-hidroxi-9α-acetoxilongipin-2-en-1-ona [2]

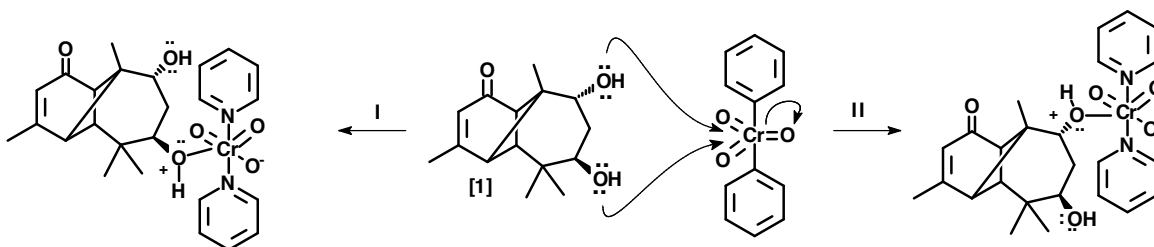
H	H-2	H-4	H-5	H-7	H-8	H-9
δ (ppm)	5,79	2,60	2,31	4,95	2,20-1,95	5,04
m	<i>c</i>	<i>d</i>	<i>s</i>	<i>d</i>	<i>m</i>	<i>m</i>
J(Hz)	1,2	6,7	-	11	-	-
H	H-11	H-12	H-13	H-14	H-15	H-2'
δ (ppm)	3,06	2,04	0,95	0,99	0,99	2,09
m	<i>d</i>	<i>d</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>s</i>
J(Hz)	6,7	1,2	-	-	-	-

7 β -hidroxilongipin-2-eno-1,9-diona [4] y Longipin-2-eno-1,7,9-triona [5]



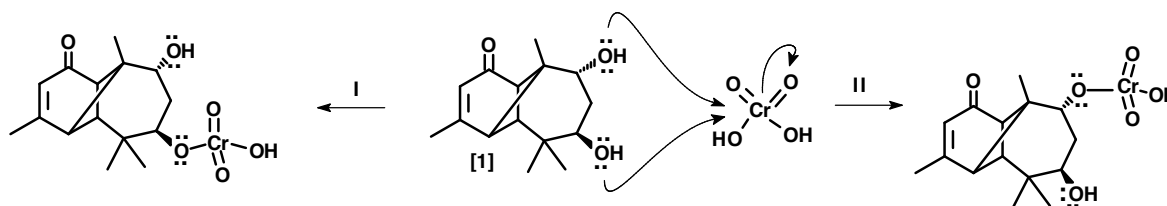
Al tratar el diol [1] con el reactivo de Collins [$\text{CrO}_3(\text{piridina})_2$], a 0°C durante media hora (Collins *et al.*, 1968), se oxida selectivamente el hidroxilo en C-9, generándose con buen rendimiento la dicetona [4]. En cambio, cuando se utiliza el reactivo de Jones ($\text{CrO}_3/\text{H}_2\text{SO}_4$), también a 0°C (Hudlicky, 1990), se oxidan ambos grupos hidroxilos obteniéndose la tricetona [5] (Fig.4-5). La oxidación selectiva del hidroxilo en C-9 con el reactivo de Collins es perfectamente explicable, a la base del impedimento estérico que sobre C-7 ocasiona el grupo *gem*-dimetilo situado en C-6. La voluminosa estructura del complejo bipiridina-trióxido de cromo, (Holum, 1961), dificulta su acercamiento al hidroxilo en C-7 (Fig.4-5). Esto es congruente con los resultados obtenidos en la esterificación del diol [1], en los cuales se observa que el hidroxilo ubicado sobre el carbono C-9 reacciona mucho más rápidamente que el hidroxilo de C-7.

Oxidación con Reactivo de Collins



La formación del estado de transición I está menos favorecida por el impedimento que ocasiona el grupo *gem*-dimetilo

Oxidación con Reactivo de Jones



El reactivo de Jones es un agente oxidante más fuerte y menos voluminoso que el reactivo de Collins. Por esta razón puede oxidar fácilmente ambos hidroxilos

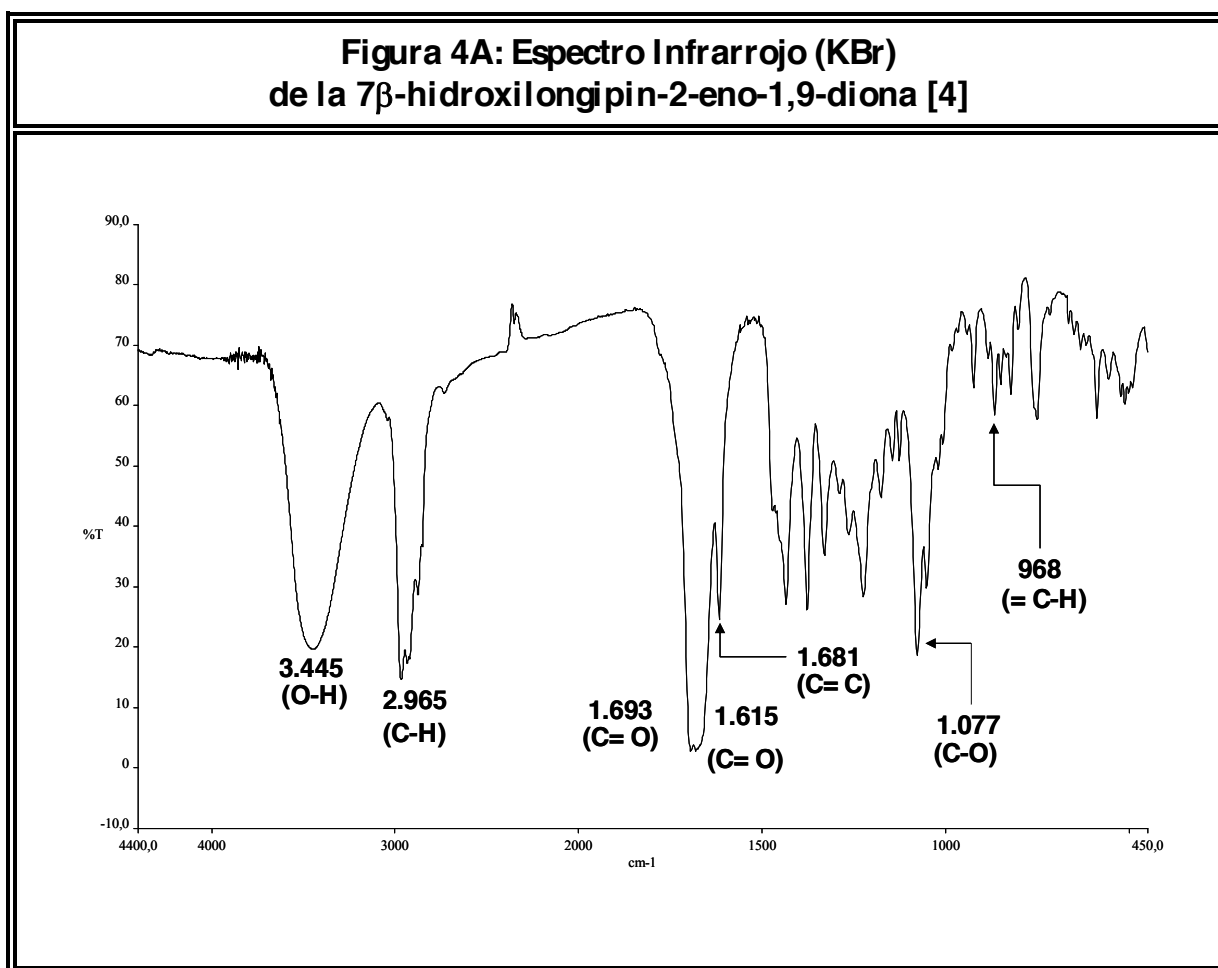
Figura 4-5

En este punto, es posible afirmar que el grupo hidroxilo más reactivo del diol **[1]**, es el que se encuentra ubicado sobre C-9. La disposición espacial de este grupo -OH (orientado en la cara α de la molécula), sumado a su reactividad y la ubicación a un "1" enlace de distancia del carbono cuaternario C-11 (el cual es uno de los que conforman el anillo ciclobutánico) es clave para efectuar reacciones de reagrupamiento, esto se discutirá detalladamente más adelante.

Las cetonas **[4]** y **[5]**, fueron caracterizadas al contrastar sus datos espectrales con los del diol **[1]** de partida. A continuación se describen brevemente los cambios más significativos observados en los espectros de **[4]** y **[5]**.

1. En el espectro IR de **[4]** (Fig. 4A; Tabla 4A) se siguen observando bandas características de alcoholes [$\nu_{\text{max.}}$: 3445 (O-H) y 1077 (C-O) cm^{-1}], mientras que en el IR de **[5]** (Fig. 5A; Tabla 5A), éstas están ausentes. En ambos espectros se aprecian nuevas absorciones que caracterizan, en los dos casos a nuevos carbonilos cetónicos [$\nu_{\text{max.}}$: 1693, en el IR de **[4]** (Fig. 4A; Tabla 4A) y $\nu_{\text{max.}}$: 1718, en el IR de **[5]** (Fig. 5A; Tabla 5A)].
2. El espectro de RMN- ^1H de **[4]** (Fig. 4B; Tabla 4B), exhibe como cambios más significativos, la desaparición del triplete correspondiente a H-9, la resolución de la señal atribuible a H-7 [δ_{H} : 3,82, *dd*, $J \cong 7,6$ y 1,3 Hz] y la simplificación y diferenciación de las señales asignadas a H-8, las cuales resuenan como dobletes de doblete [δ_{H} : 2,85, *dd*, $J \cong 12,8$ y 1,3 Hz (H-8 α) y δ_{H} : 3,25, *dd*, $J \cong 12,8$ y 7,6 Hz (H-8 β)]. En el caso de la tricetona **[5]**, no se observan en su espectro RMN- ^1H (Fig. 5B; Tabla 5B) señales típicas de hidrógenos geminales a hidroxilos y lo que es más notable, las señales de H-8 se desplazan a campos más bajos, conformando un típico sistema AB [δ_{H} : 3,85 y 4,30 *d*, $J \cong 11,2$ (H-8 α y H-8 β)]; el desplazamiento de estos dobletes es congruente con el esperado para los hidrógenos del metileno ácido de una 1,3-dicetona (Jackmann & Sternhell, 1969).
3. Los cambios más destacados en el espectro de RMN- ^{13}C de la dicetona **[4]** (Fig. 4C; Tabla 4C) son el desplazamiento a campo bajo de la señal de C-9 (δ_{C} : 210,8, C=O) y el desapantallamiento de los picos de los carbonos α [δ_{C} : 46,3 (C-8), $\Delta\delta$: 5,7 y δ_{C} : 64,5 (C-10), $\Delta\delta$: 6,6] y β [δ_{C} : 74,3 (C-7), $\Delta\delta$: 5,2 y δ_{C} : 56,4 (C-11), $\Delta\delta$: 2,6] respecto al nuevo carbonilo. En el espectro de RMN- ^{13}C de la tricetona **[5]** (Fig. 5C; Tabla 5C), se detecta un desapantallamiento mucho más pronunciado en la señal del metileno C-8 [δ_{C} : 57,9 (C-8), $\Delta\delta$: 17,3] (dado que el mismo se sitúa ahora entre dos carbonilos cetónicos) y por supuesto el corrimiento a la región de los carbonilos de las señales de C-7 (δ_{C} : 203,1) y C-9 (δ_{C} : 202,4).

4. Los espectros bidimensionales de **[4]**: $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY (Fig. 4D) y HMQC (Fig. 4E) permitieron asignar de manera inequívoca las señales de todos los hidrógenos y los carbonos que conforman la molécula. De igual manera, en el caso de la tricetona **[5]** la asignación exacta de todas las señales fue posible a través de los espectros $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY (Fig. 5D), HSQC (Fig. 5E) y sobre todo del HMBC (Fig. 5F), en el cual los cruces de los picos de los carbonilo cetónicos permitieron su identificación precisa.



**Tabla 4A: Bandas de Absorción Significativas en el Espectro Infrarrojo (KBr)
de la 7 β -hidroxilongipin-2-eno-1,9-diona [4]**

$\nu_{\text{máx.}} (\text{cm}^{-1})$	3445	2965	1693	1681	1615	1077	866
Asignación	O-H	C-H	C=O	C=O	C=C	C-O	=C-H

Figura 4B: Espectro de RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), de la 7β-hidroxi-longipin-2-eno-1,9-diona [4]

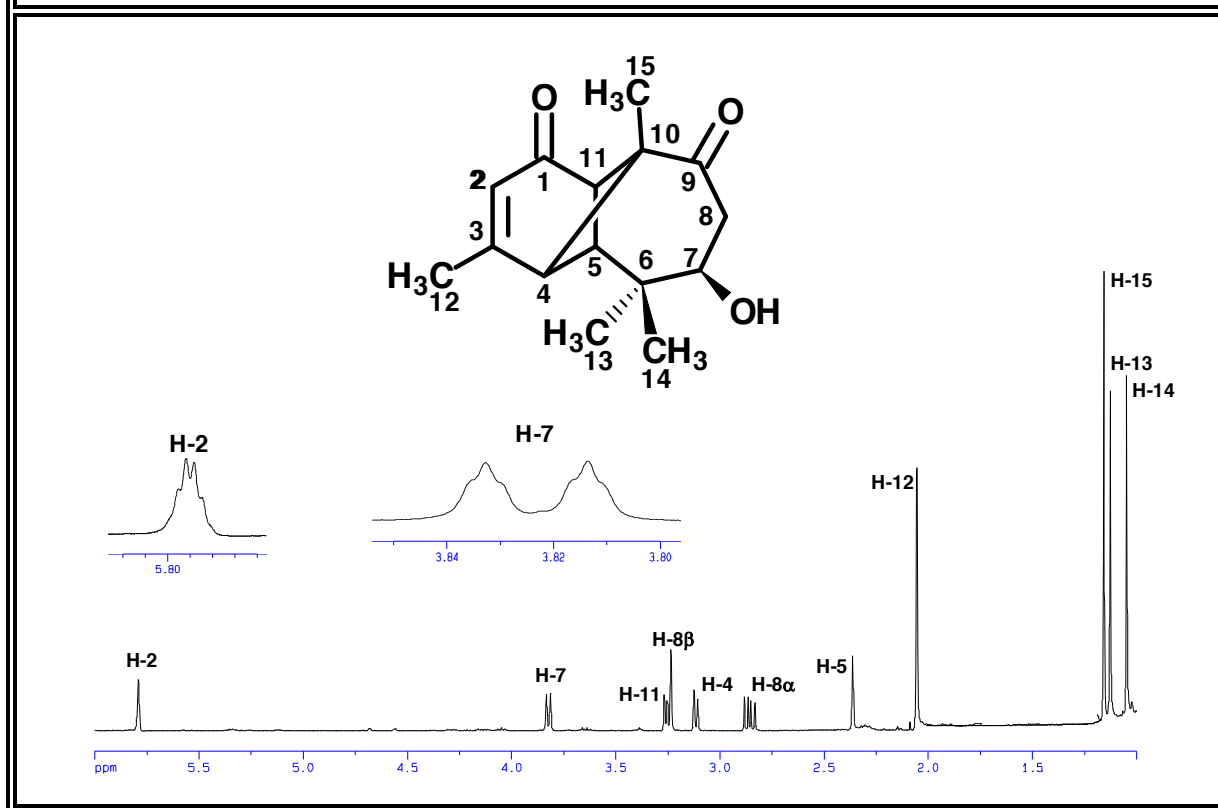


Tabla 4B: Desplazamientos Químicos (δ) en el Espectro de RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), de la 7β-hidroxi-longipin-2-eno-1,9-diona [4]

H	H-2	H-4	H-5	H-7	H-8 _α	H-8 _β
δ (ppm)	5,79	3,11	2,38	3,82	2,85	3,25
m	<i>c</i>	<i>d</i>	<i>s</i>	<i>dd</i>	<i>dd</i>	<i>dd</i>
J(Hz)	1,6	6,8	-	7,6 y 1,3	12,8 y 1,3	12,8 y 7,6
H	H-11	H-12	H-13	H-14	H-15	Valores de δ, relativos al TMS como referencia interna
δ (ppm)	3,24	2,05	1,13	1,04	1,16	
m	<i>d</i>	<i>d</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	
J(Hz)	6,8	1,6	-	-	-	

Figura 4C: Espectro de RMN-¹³C (CDCl₃, 100 MHz), de la 7β-hidroxi-longipin-2-eno-1,9-diona [4]

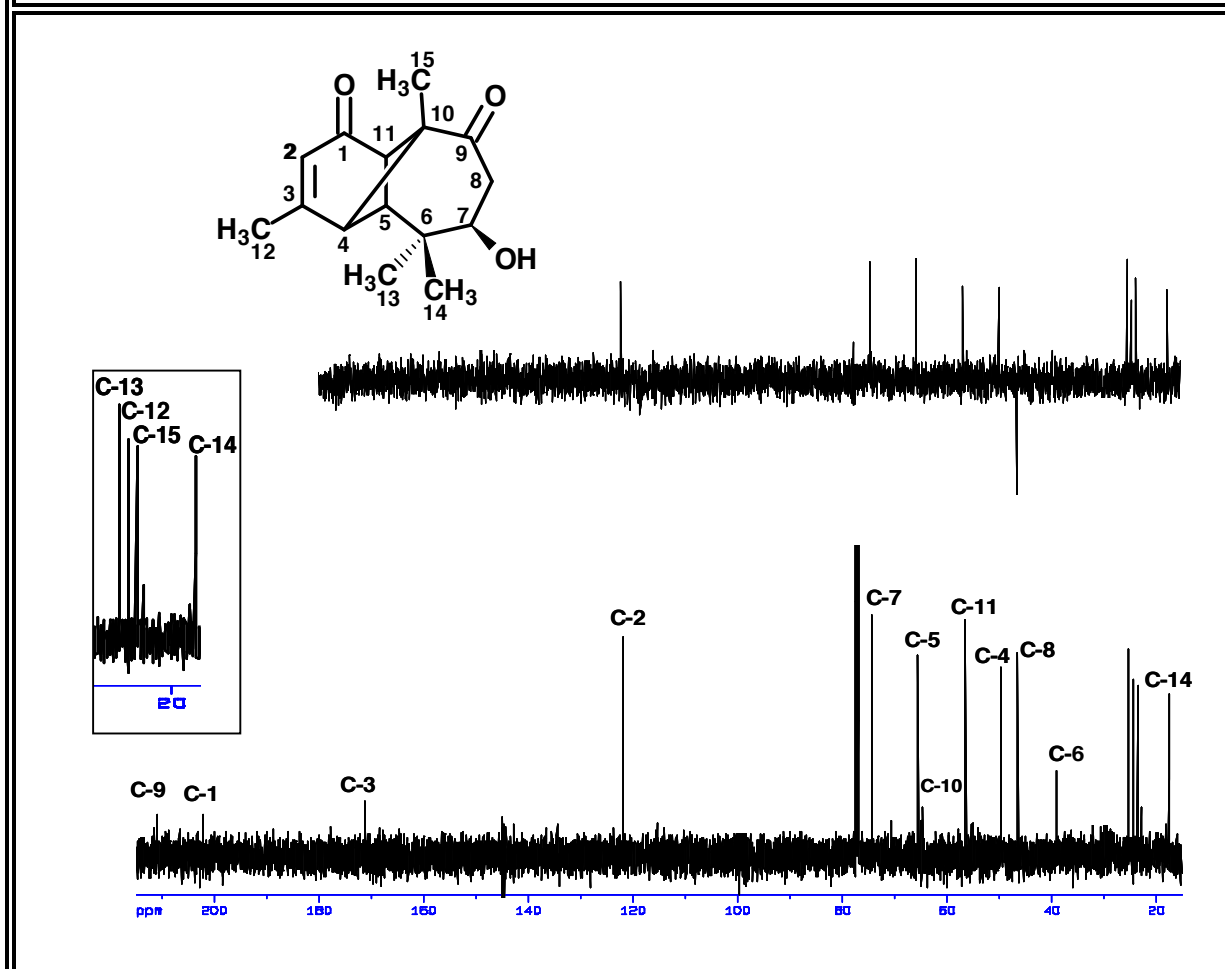
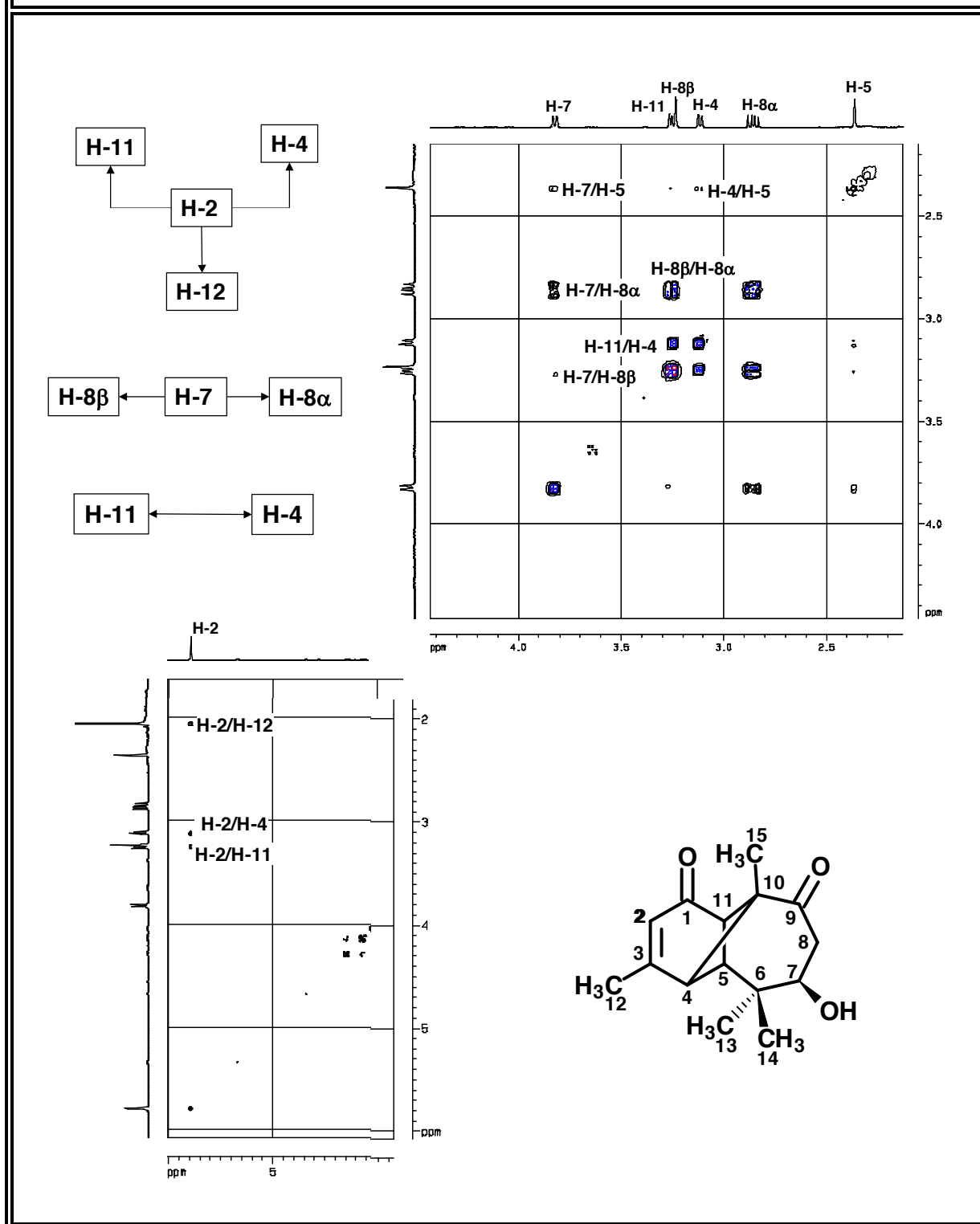


Tabla 4C: Desplazamientos Químicos (δ) en el Espectro de RMN-¹³C (CDCl₃, 100 MHz), de la 7β-hidroxi-longipin-2-eno-1,9-diona [4]

C	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	C-7	C-8
δ	202,1	121,9	171,9	49,7	65,4	38,9	74,3	46,3
Tipo	>C=O	=CH	=C<	>CH	>CH	>C<	-CH-O-	-CH ₂
C	C-9	C-10	C-11	C-12	C-13	C-14	C-15	Valores de δ , relativos al TMS como referencia interna
δ	210,8	64,5	56,4	24,3	25,2	17,4	23,3	
Tipo	>C=O	>C<	>CH	-CH ₃	-CH ₃	-CH ₃	-CH ₃	

Figura 4D: Espectro $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY (CDCl_3)
de la 7 β -hidroxilongipin-2-eno-1,9-diona [4]



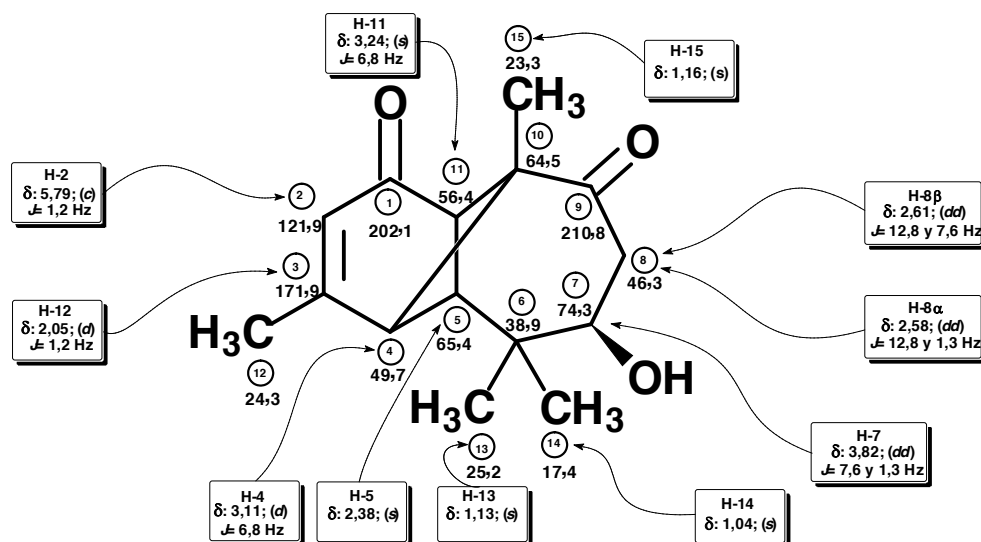
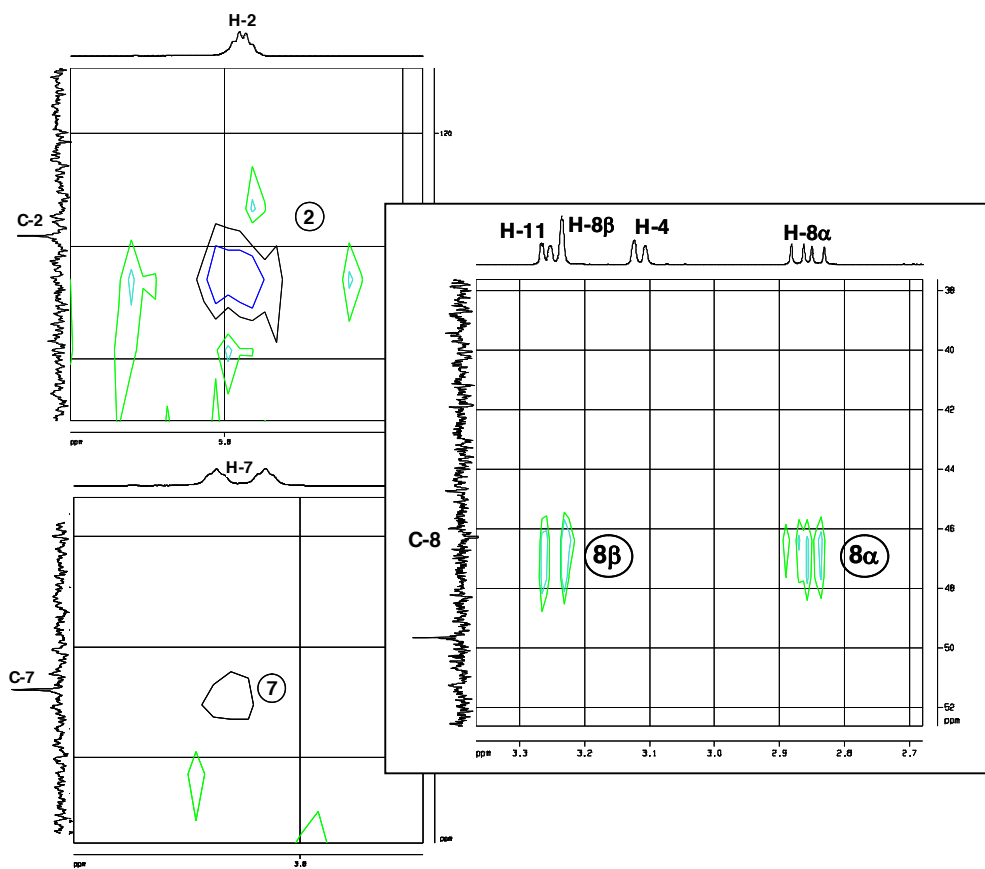
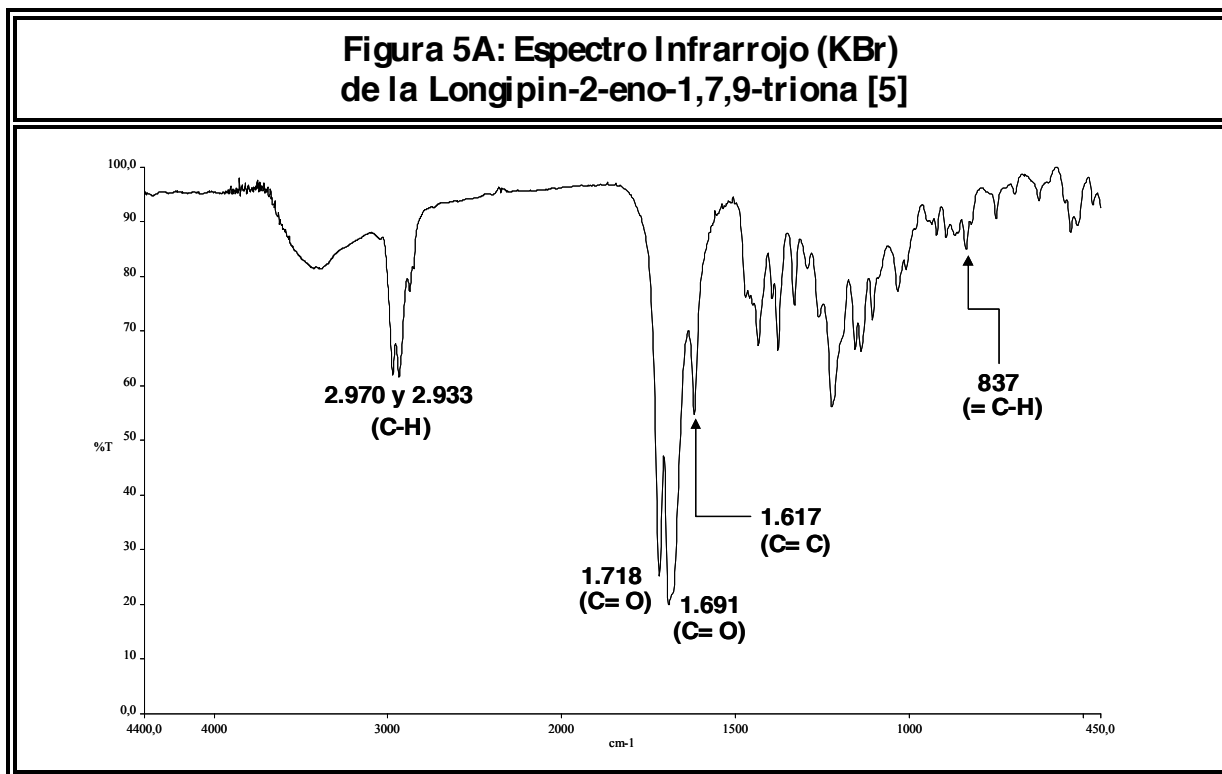


Figura 4E: Espectro HMQC (CDCl_3) de la 7β-hidroxi-longipin-2-eno-1,9-diona [4]





**Tabla 5A: Bandas de Absorción Significativas en el Espectro Infrarrojo (KBr)
de la Longipin-2-eno-1,7,9-triona [5]**

$\nu_{\text{máx.}} \text{ (cm}^{-1}\text{)}$	2970 y 2933	1718	1691	1617	837
Asignación	C-H	C=O	C=O	C=C	=C-H

La presencia de una absorción de hidroxilo en el espectro IR (Fig. 5A) posiblemente se deba a los tautómeros **[5a]** y **[5b]** que se forman por el equilibrio ceto / enólico a partir de la tricetona **[5]** (Fig. 5-ab).

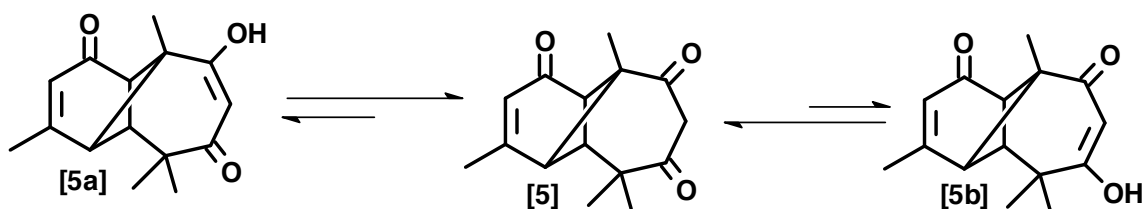


Figura 5-ab

Figura 5B: Espectro de RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), de la Longipin-2-eno-1,7,9-triona [5]

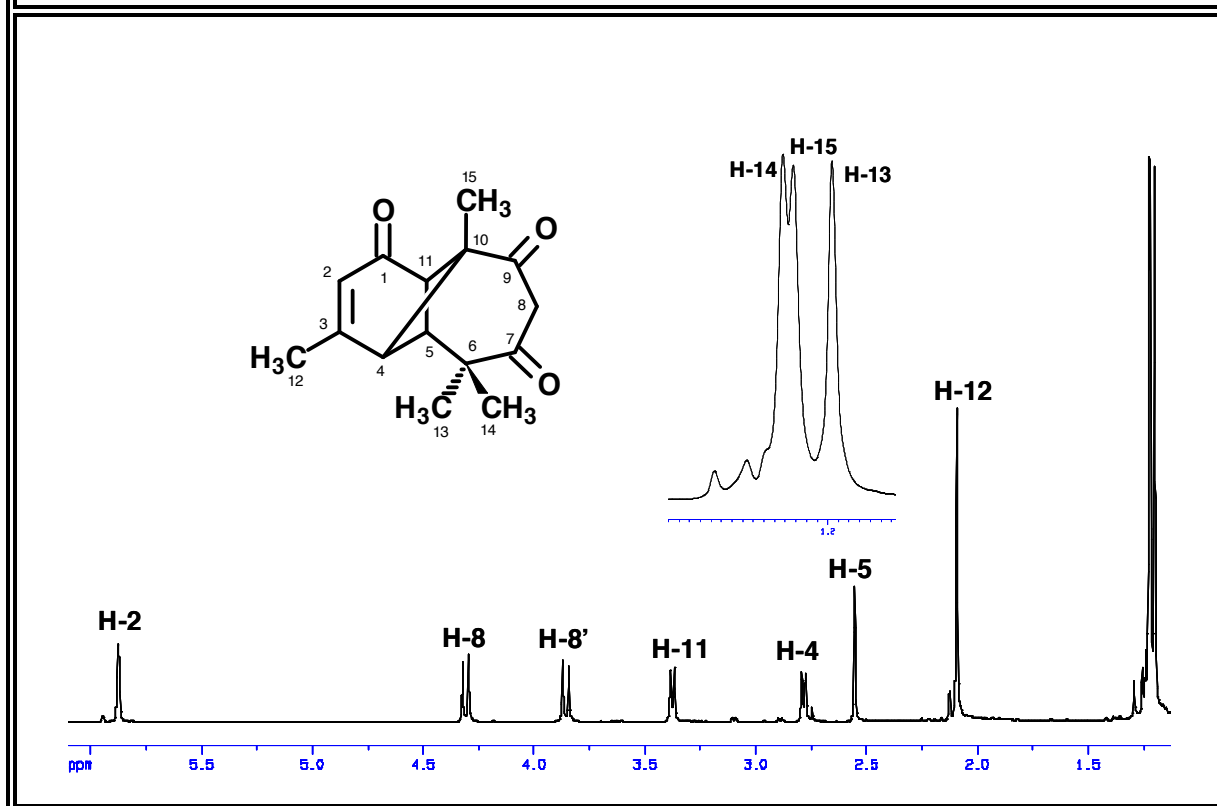


Tabla 5B: Desplazamientos Químicos (δ) en el Espectro de RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), de la Longipin-2-eno-1,7,9-triona [5]

H	H-2	H-4	H-5	H-8 α	H-8 β
δ (ppm)	5,87	2,78	2,55	3,85	4,30
m	<i>s</i>	<i>d</i>	<i>s</i>	<i>d</i>	<i>d</i>
<i>J</i> (Hz)	-	6,8	-	11,0	11,0
H	H-11	H-12	H-13	H-14	H-15
δ (ppm)	3,37	2,09	1,18	1,22	1,21
m	<i>d</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>s</i>
<i>J</i> (Hz)	6,8	-	-	-	-

Figura 5C: Espectro de RMN-¹³C (CDCl₃, 100 MHz), de la Longipin-2-eno-1,7,9-triona [5]

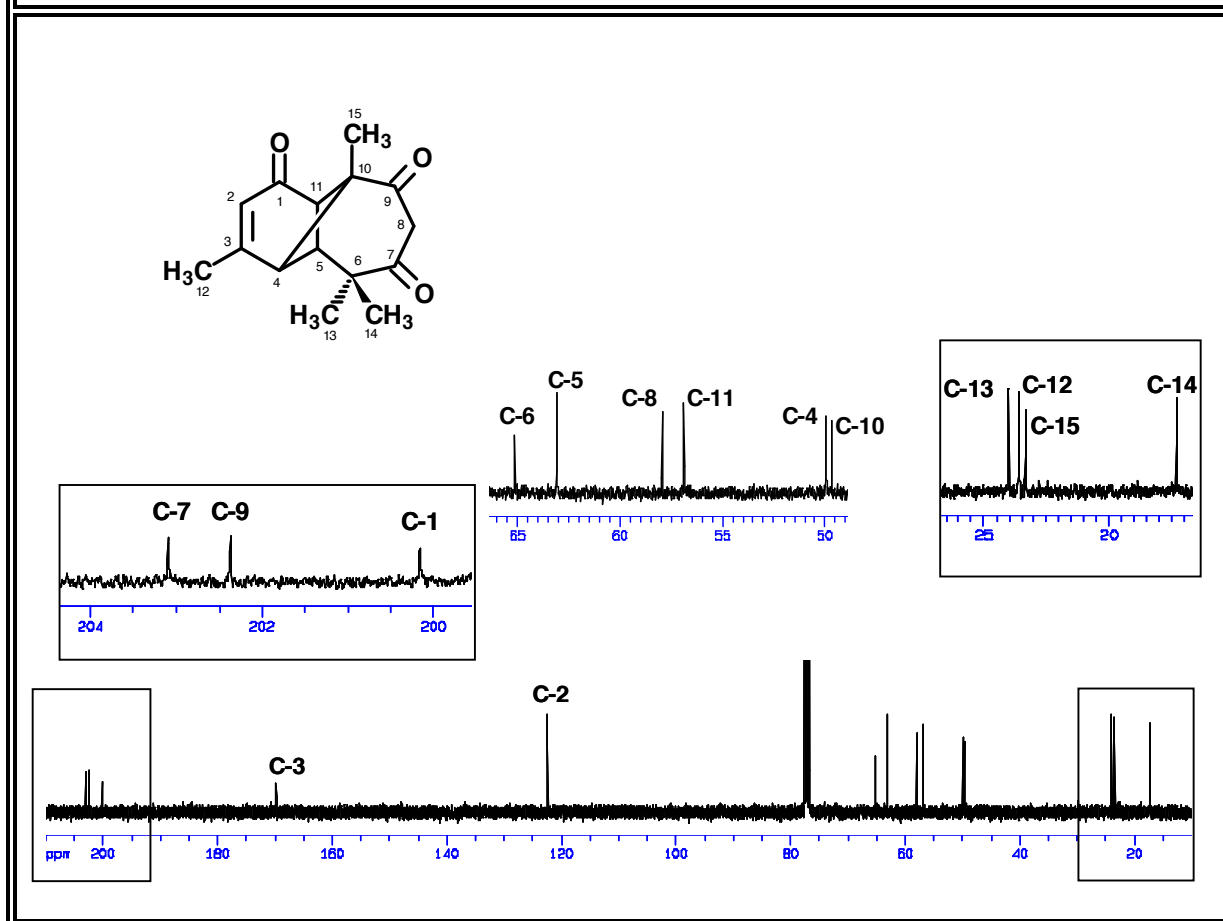
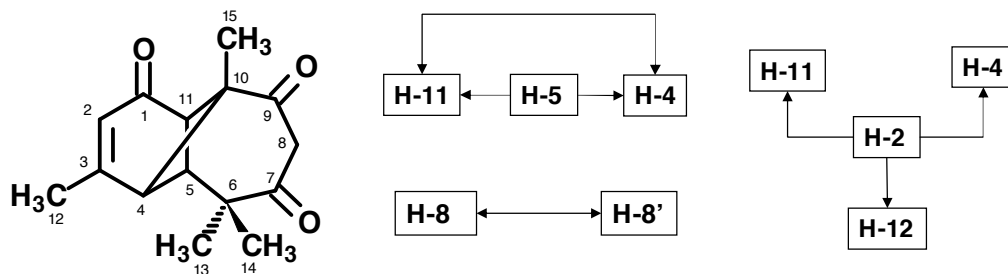
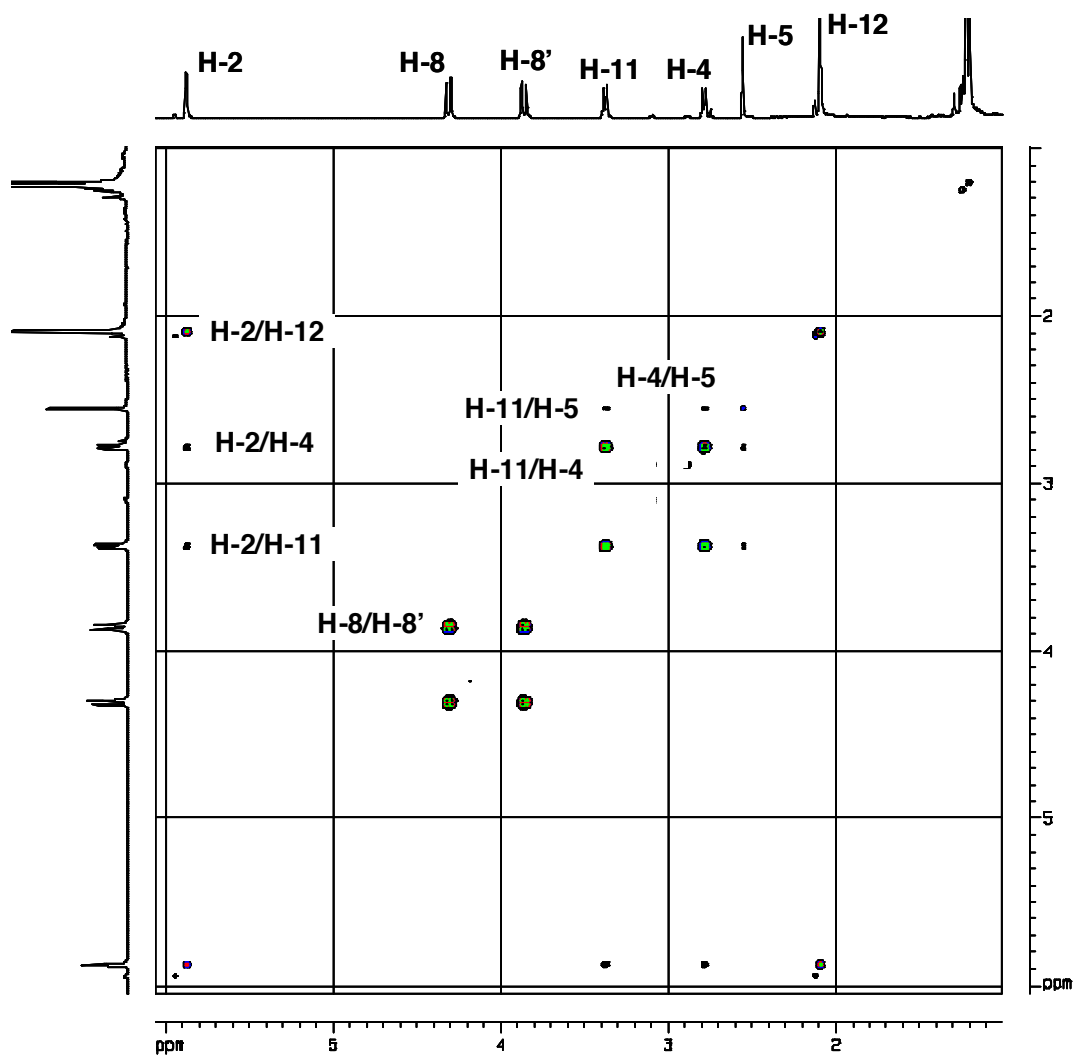


Tabla 5C: Desplazamientos Químicos (δ) en el Espectro de RMN-¹³C (CDCl₃, 100 MHz), de la Longipin-2-eno-1,7,9-triona [5]

C	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	C-7	C-8
δ	200,2	122,5	169,8	50,0	63,1	49,6	203,1	57,9
Tipo	> C=O	=CH	=C<	>CH	>CH	>C<	>C=O	-CH ₂
C	C-9	C-10	C-11	C-12	C-13	C-14	C-15	Valores de δ , relativos al TMS como referencia interna
δ	202,4	65,1	56,9	24,0	23,3	23,6	17,3	
Tipo	>C=O	>C<	>CH	-CH ₃	-CH ₃	-CH ₃	-CH ₃	

Figura 5D: Espectro $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY (CDCl_3)
de la Longipin-2-eno-1,7,9-triona [5]



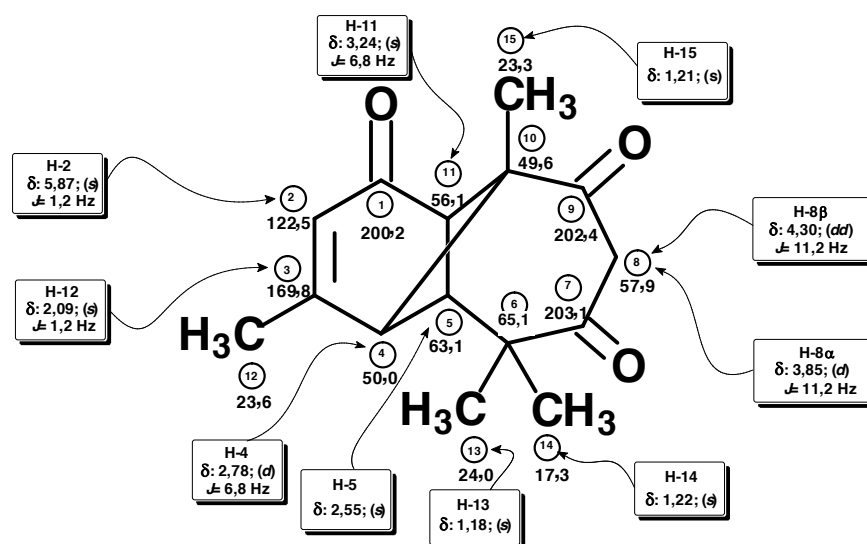


Figura 5E: Espectro HSQC (CDCl_3) de la Longipin-2-eno-1,7,9-triona [5]

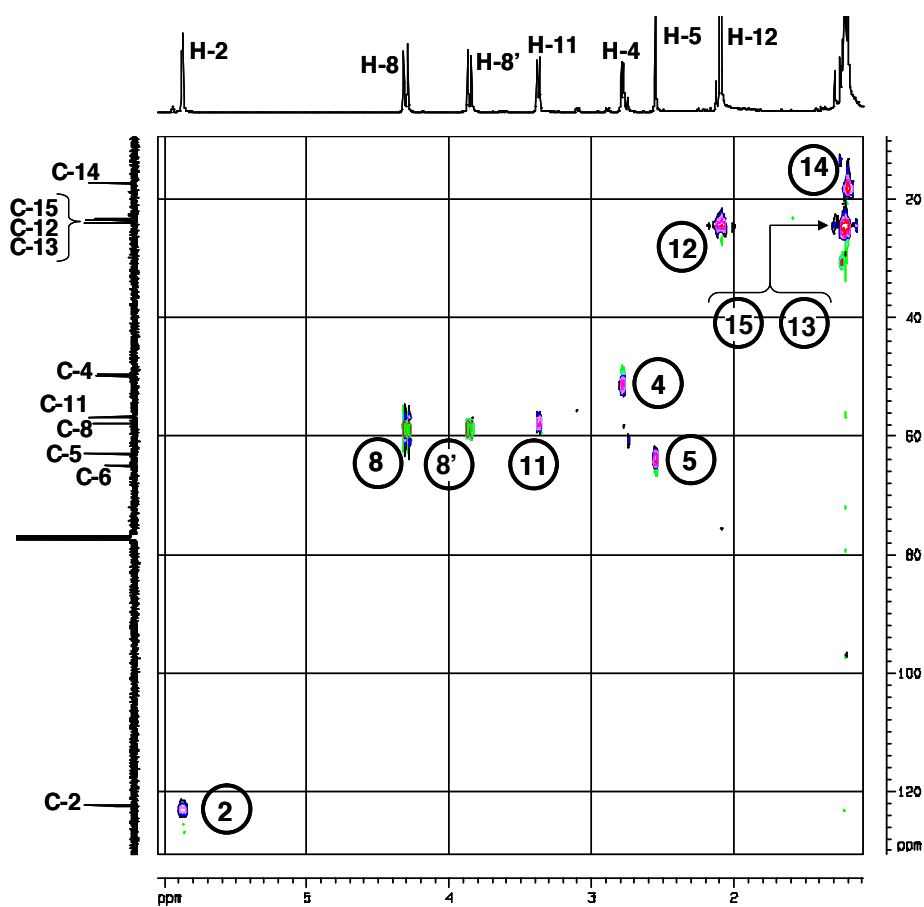
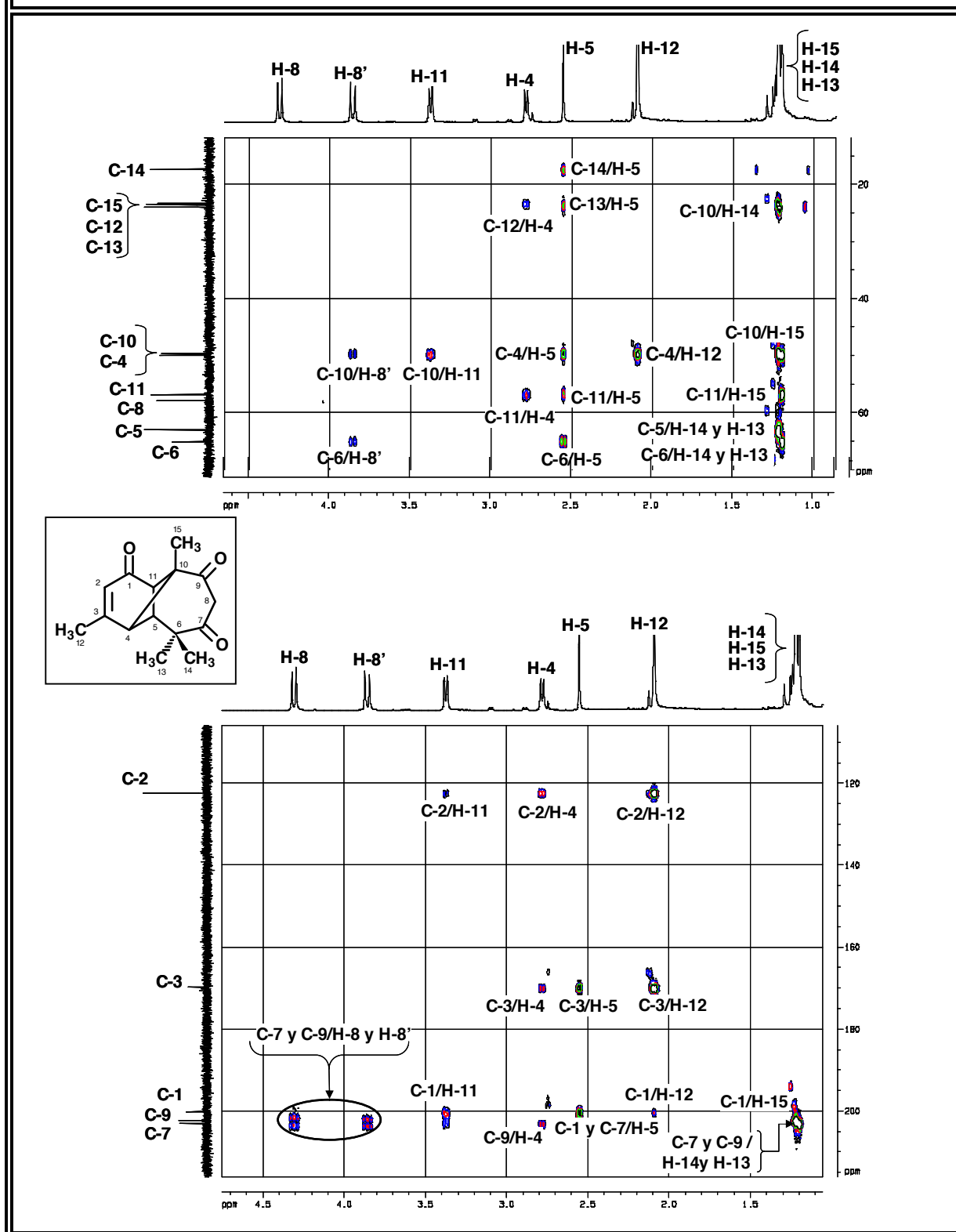
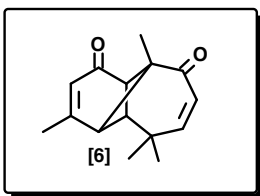


Figura 5F: Espectro HMBC (CDCl_3) de la Longipin-2-eno-1,7,9-triona [5]



Longipina-2,7-dieno-1,9-diona [6]



Al someter a reflujo en benceno utilizando una trampa Dean-Stark en presencia de ácido *p*-toluensulfónico monohidratado a la dicetona [4] se detectó mediante TLC la formación de tres productos ([6], [18] y [19]) de los cuales el compuesto [6] (sólido blanco de P.F. = 103-109 °C) presentó R_f intermedio entre [19] y [18] y se aisló mediante cromatografía preparativa de placas (PLC). El dieno [6] presentó en su espectro IR (Fig. 6A, Tabla 6A) bandas típicas de dobles enlaces [$\nu_{\text{máx.}}$: 3050, 895 y 840 cm^{-1} (= C-H) y $\nu_{\text{máx.}}$: 1636 y 1616 cm^{-1} (C=C)] y dos absorciones fuertes asignables a grupos carbonilos α,β insaturados [$\nu_{\text{máx.}}$: 1678 y 1649 cm^{-1} (>C=C=O)]. Este producto corresponde a la deshidratación del sustrato [4] y su formación se confirma por la aparición en RMN- ^1H de un sistema AB olefínico [H-7 (δ_{H} : 6,16, *dd*, $J \cong 11,9$ y 2,0 Hz) y H-8 (δ_{H} : 5,95, *d*, $J \cong 11,9$ Hz)], cuyo desplazamiento químico indica que está conjugado con una cetona (C-9, δ_{C} : 201,8). Las señales asignadas al H-7 y al H-8 se correlacionan en HMQC (Fig. 6E) con dos picos ubicados en la región de los carbonos sp^2 olefínicos [C-7 (δ_{C} : 150,6) y C-8 (δ_{C} : 126,0)]. La estructura [6] quedó establecida por todos los cruces observados en su espectro HMBC (Fig. 6F).

Figura 6A: Espectro Infrarrojo (KBr) de la Longipina-2,7-dieno-1,9-diona [6]

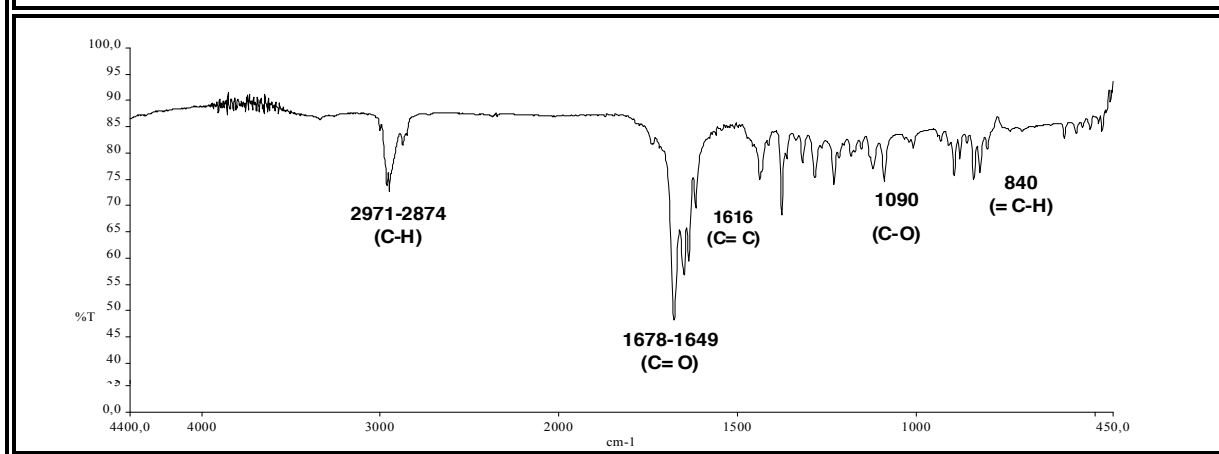


Tabla 6A: Bandas de Absorción Significativas en el Espectro Infrarrojo (KBr) de la Longipina-2,7-dieno-1,9-diona [6]

$\nu_{\text{máx.}}$ (cm^{-1})	2971 y 2874	1678	1649	1616	840
Asignación	C-H	C=O	C=O	C=C	=C-H

Figura 6B: Espectro de RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), de la Longipina-2,7-dieno-1,9-diona [6]

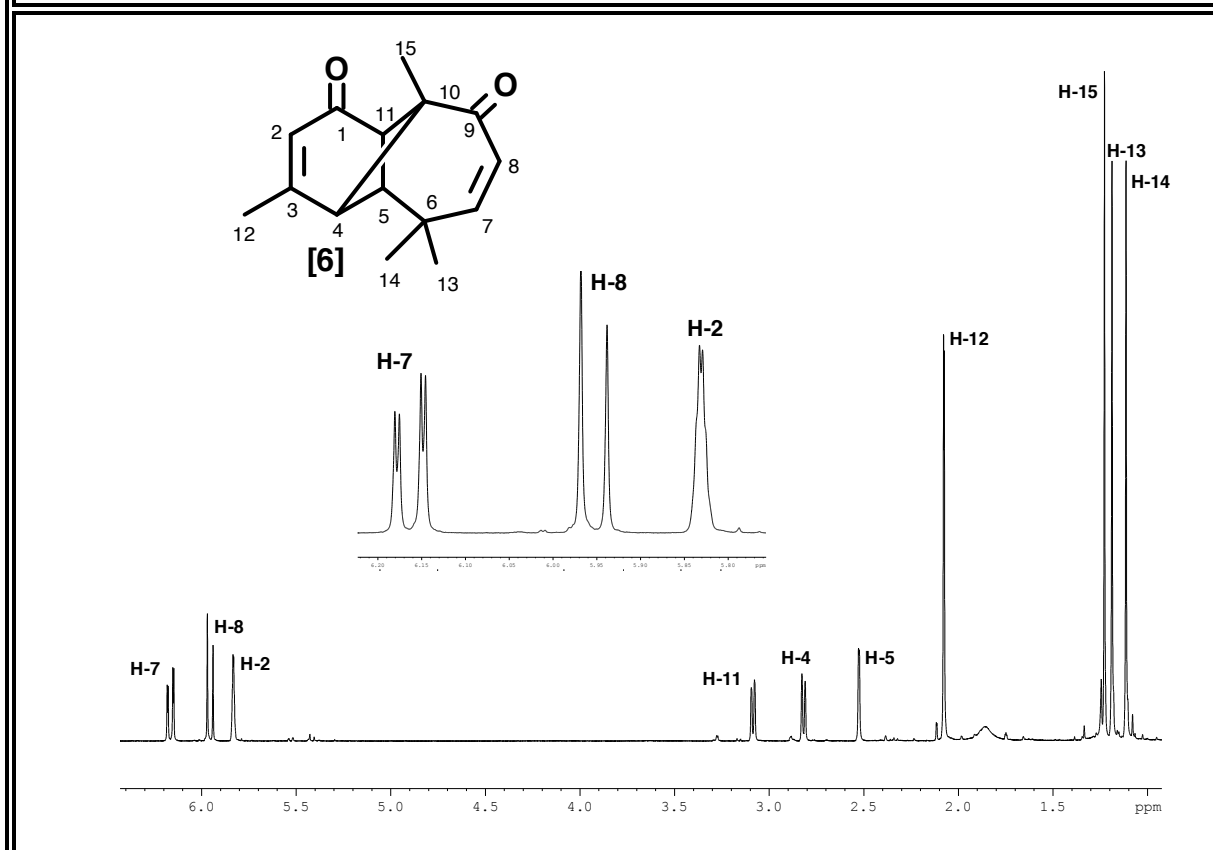


Tabla 6B: Desplazamientos Químicos (δ) en el Espectro de RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), de la Longipina-2,7-dieno-1,9-diona [6]

H	H-2	H-4	H-5	H-7	H-8
δ (ppm)	5,83	2,82	2,53	6,16	5,95
m	<i>d</i>	<i>d</i>	<i>d</i>	<i>dd</i>	<i>d</i>
<i>J</i>(Hz)	1,3	6,2	1,6	11,9 y 2,0	11,9
H	H-11	H-12	H-13	H-14	H-15
δ (ppm)	3,09	2,09	1,23	1,11	1,19
m	<i>d</i>	<i>d</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>s</i>
<i>J</i>(Hz)	6,2	1,3	-	-	-

Figura 6C: Espectro de RMN-¹³C (CDCl₃, 100 MHz), de la Longipina-2,7-dieno-1,9-diona [6]

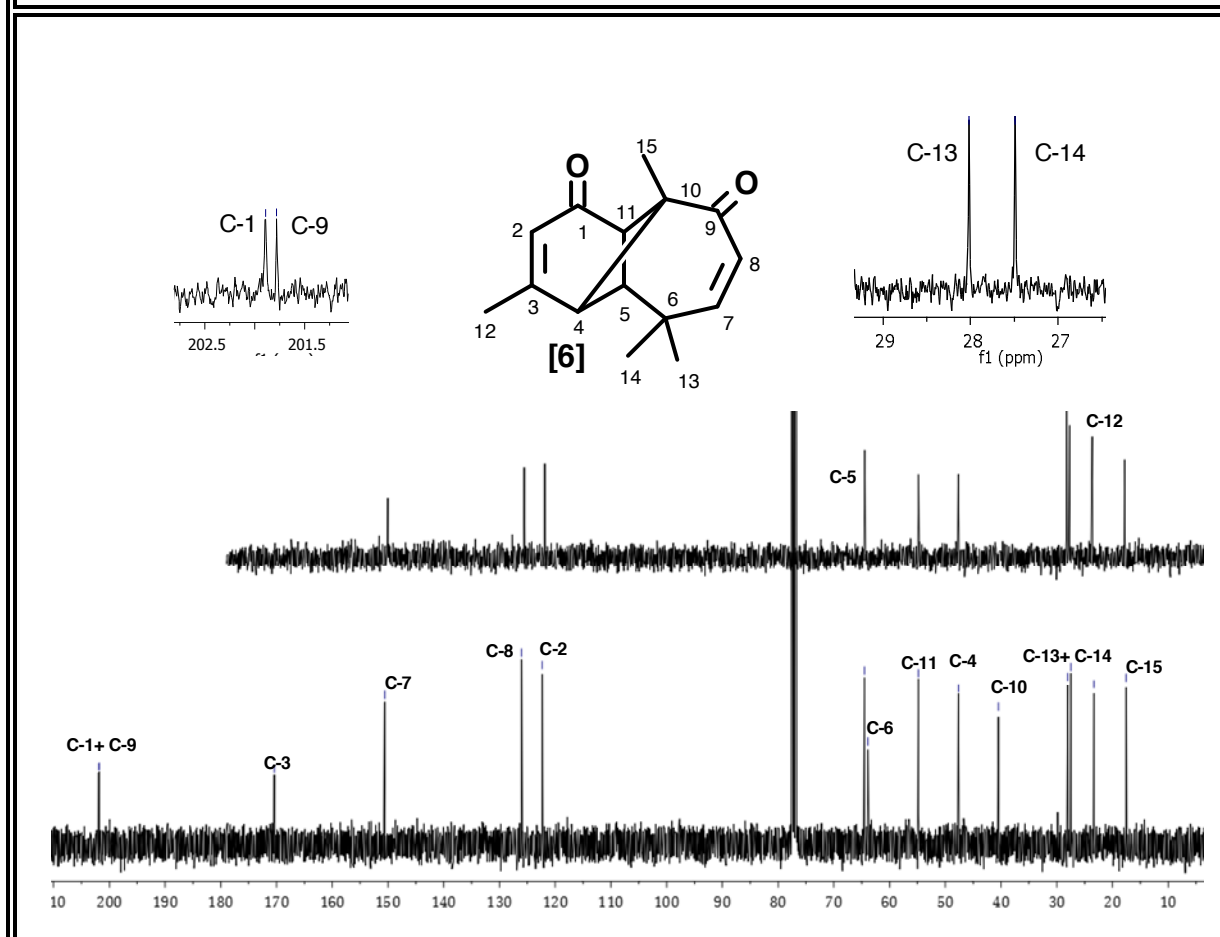
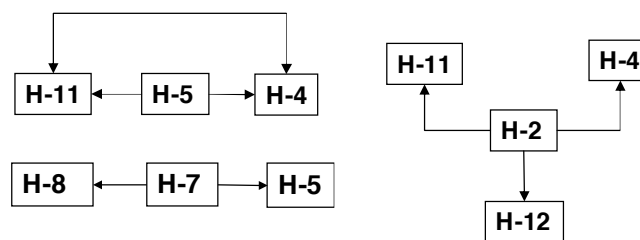
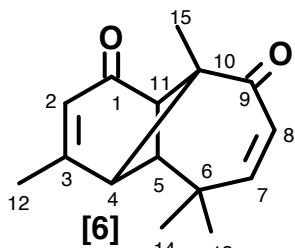
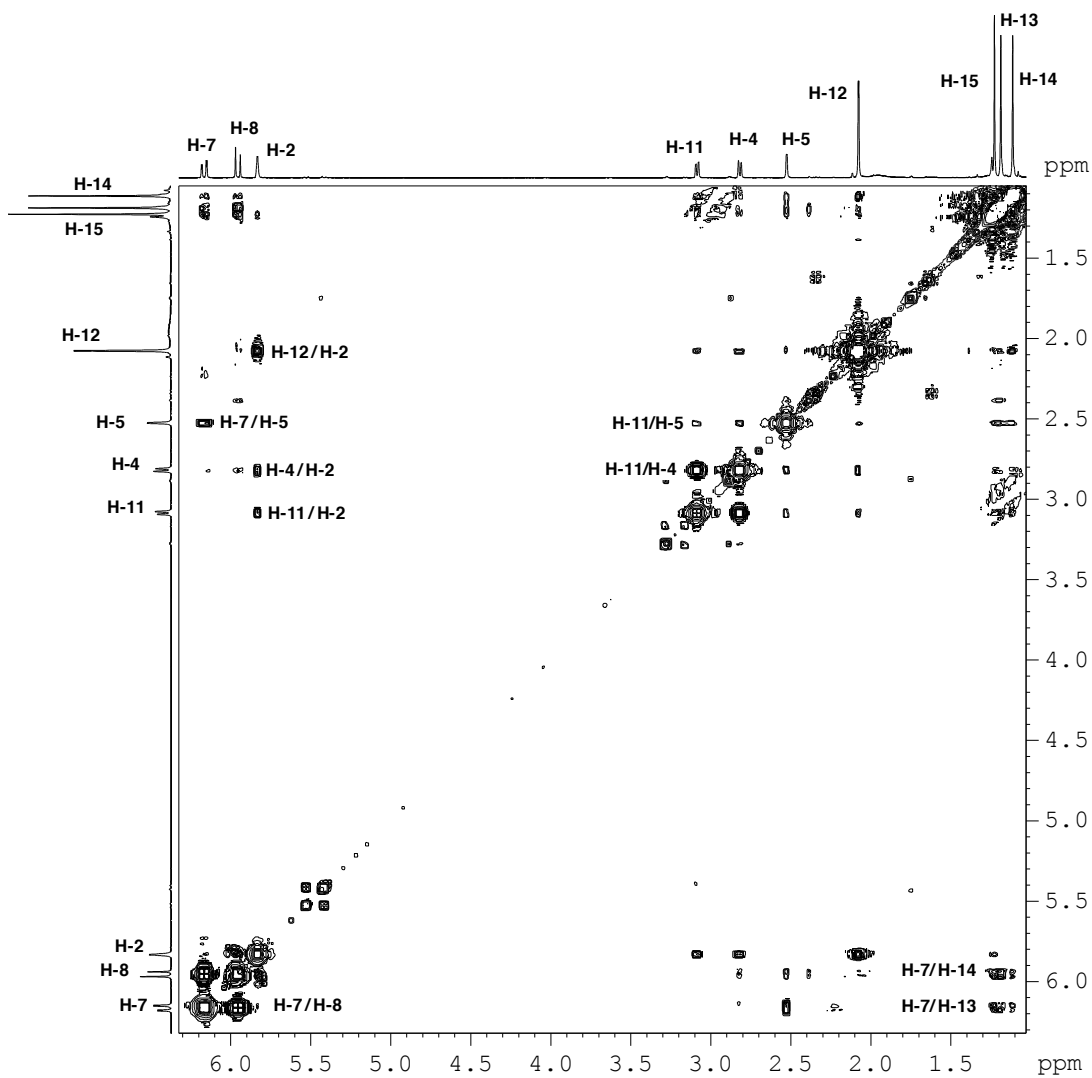


Tabla 6C: Desplazamientos Químicos (δ) en el Espectro de RMN-¹³C (CDCl₃, 100 MHz), de la Longipina-2,7-dieno-1,9-diona [6]

C	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	C-7	C-8
δ	201,9	122,3	170,4	47,7	64,5	63,9	150,6	126,0
Tipo	> C=O	=CH	=C<	>CH	>CH	>C<	=CH	=CH
C	C-9	C-10	C-11	C-12	C-13	C-14	C-15	Valores de δ , relativos al TMS como referencia interna
δ	201,8	40,5	54,8	23,4	28,0	27,4	17,5	
Tipo	> C=O	>C<	>CH	-CH ₃	-CH ₃	-CH ₃	-CH ₃	

Figura 6D: Espectro ^1H , ^1H -COSY (CDCl_3) de la Longipina-2,7-dieno-1,9-diona [6]



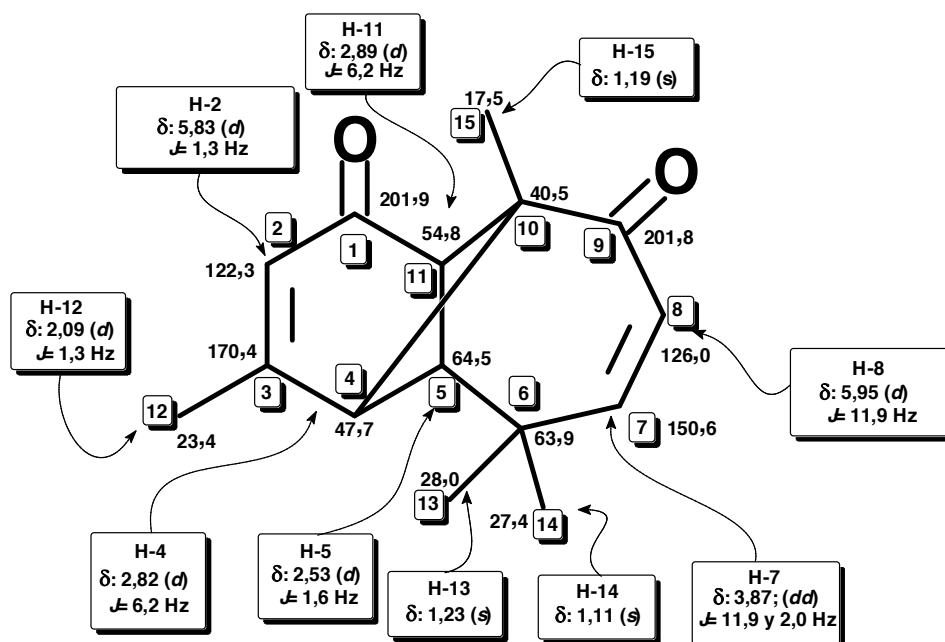


Figura 6E: Espectro HMQC (CDCl_3) de la Longipina-2,7-dieno-1,9-diona [6]

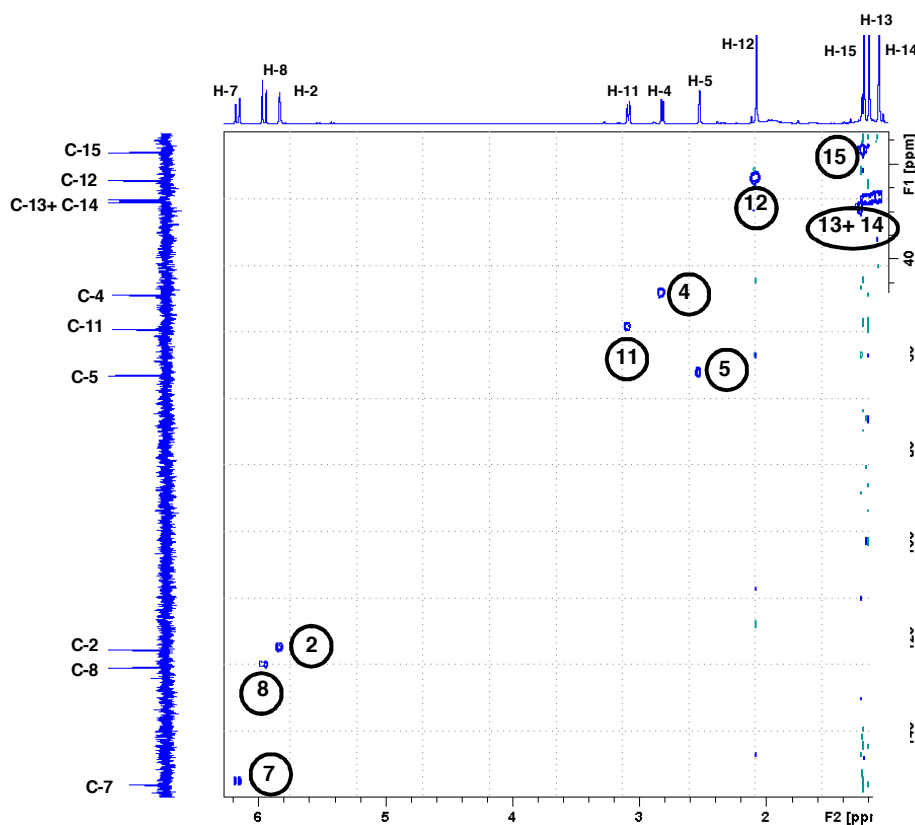
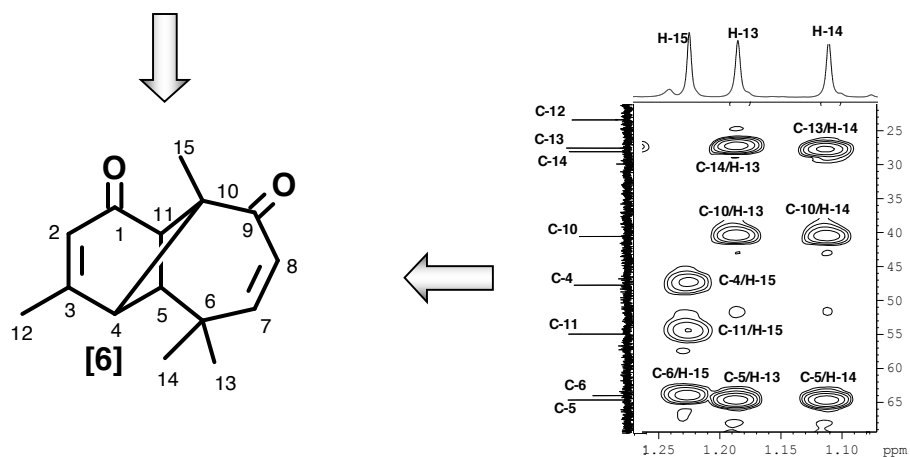
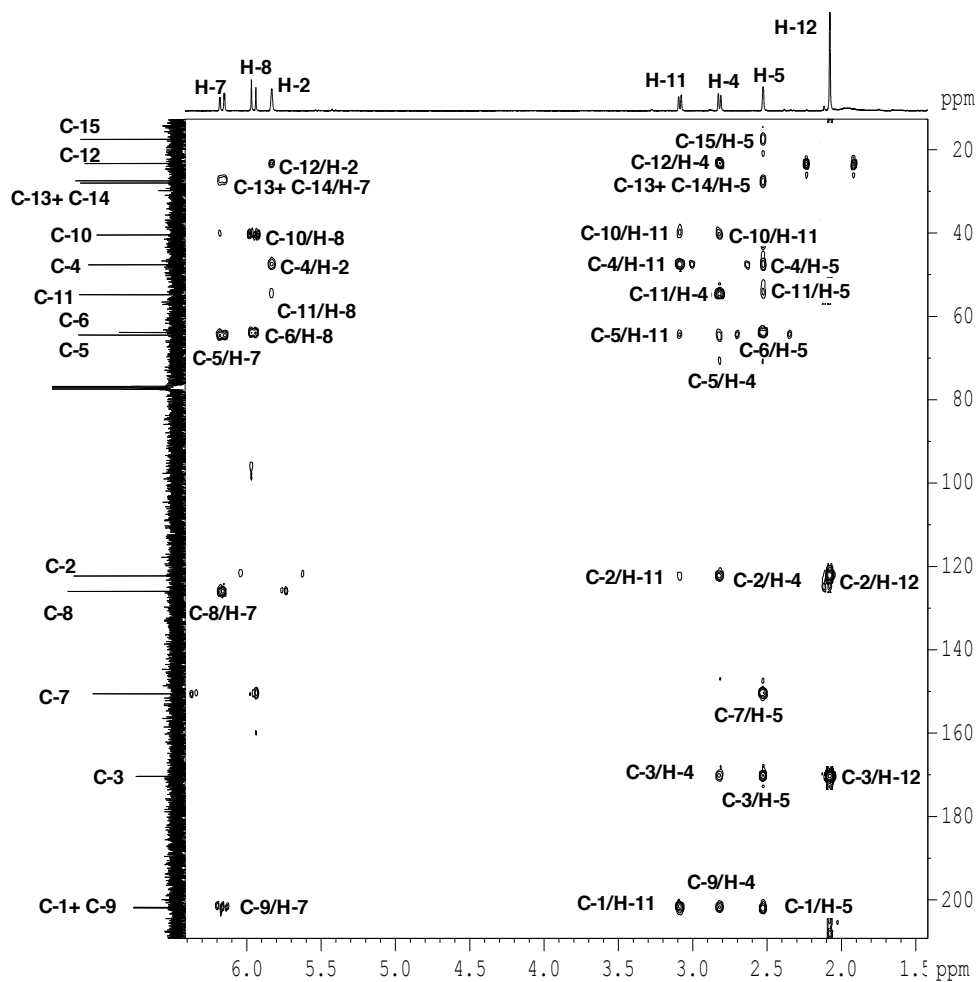
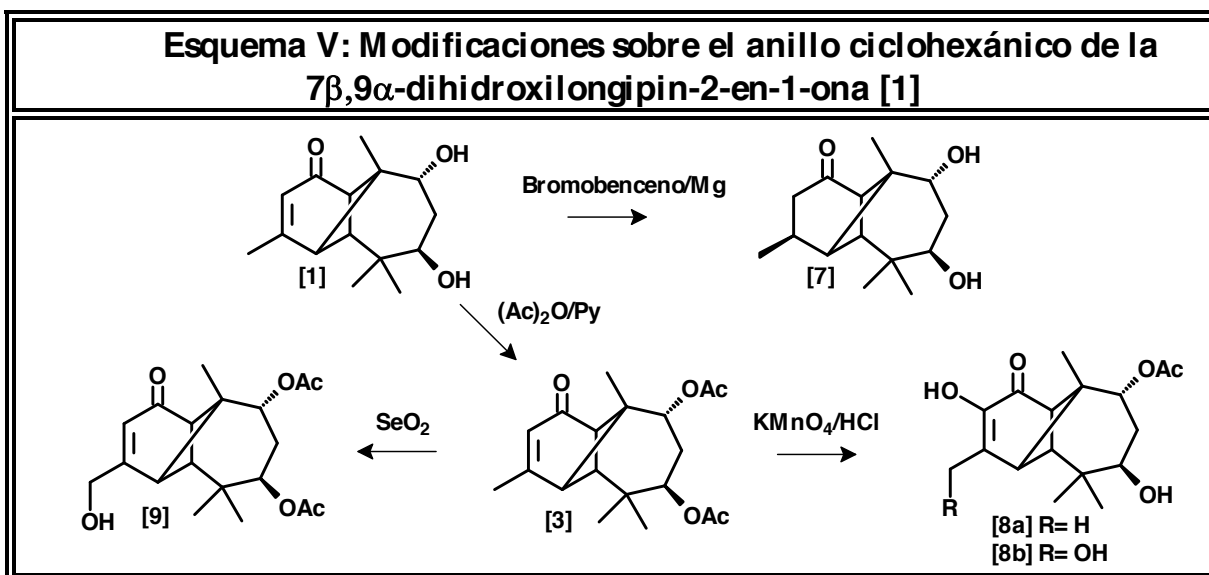


Figura 6F: Espectro HMBC (CDCl₃) de la Longipina-2,7-dieno-1,9-diona [6]



Modificaciones sobre el anillo ciclohexánico

Las modificaciones efectuadas sobre el anillo ciclohexánico de los longipinanos, estuvieron en un principio orientadas a establecer la estereoquímica de la rasteviona (Román *et al.*, 1985), un longipinano de la *Stevia serrata* cuya estructura fue determinada en 1981 (Román *et al.*, 1981). En la presente investigación, las reacciones sobre la ciclohexenona del longipineno se centraron fundamentalmente en obtener derivados diosfenólicos. Los diosfenoles son α -dicetonas, en las cuales uno de los carbonilos está enolizado; los mismos forman parte de la estructura de diversos productos de origen natural y sintético (Arnarp *et al.*, 1991; De Hernandez *et al.*, 1997; Galindo *et al.*, 1999). Estos compuestos presentan gran utilidad en el campo de la síntesis orgánica, debido a que pueden experimentar reagrupamientos tipo Claisen (Trost & Schroeder, 2000), adiciones tipo Michael (Utaka *et al.*, 1986), reacciones de Wittig (Saalfrank *et al.*, 1983), reacciones fotoquímicas (Feigenbaum *et al.*, 1986) y reacciones de expansión y contracción de anillos (Takano *et al.*, 1979). La presencia de diosfenoles en productos naturales es frecuente, y algunos estudios de relación estructura-actividad, han determinado que este rasgo estructural es clave en su actividad biológica (Urban *et al.*, 2004; Bawm *et al.*, 2008).

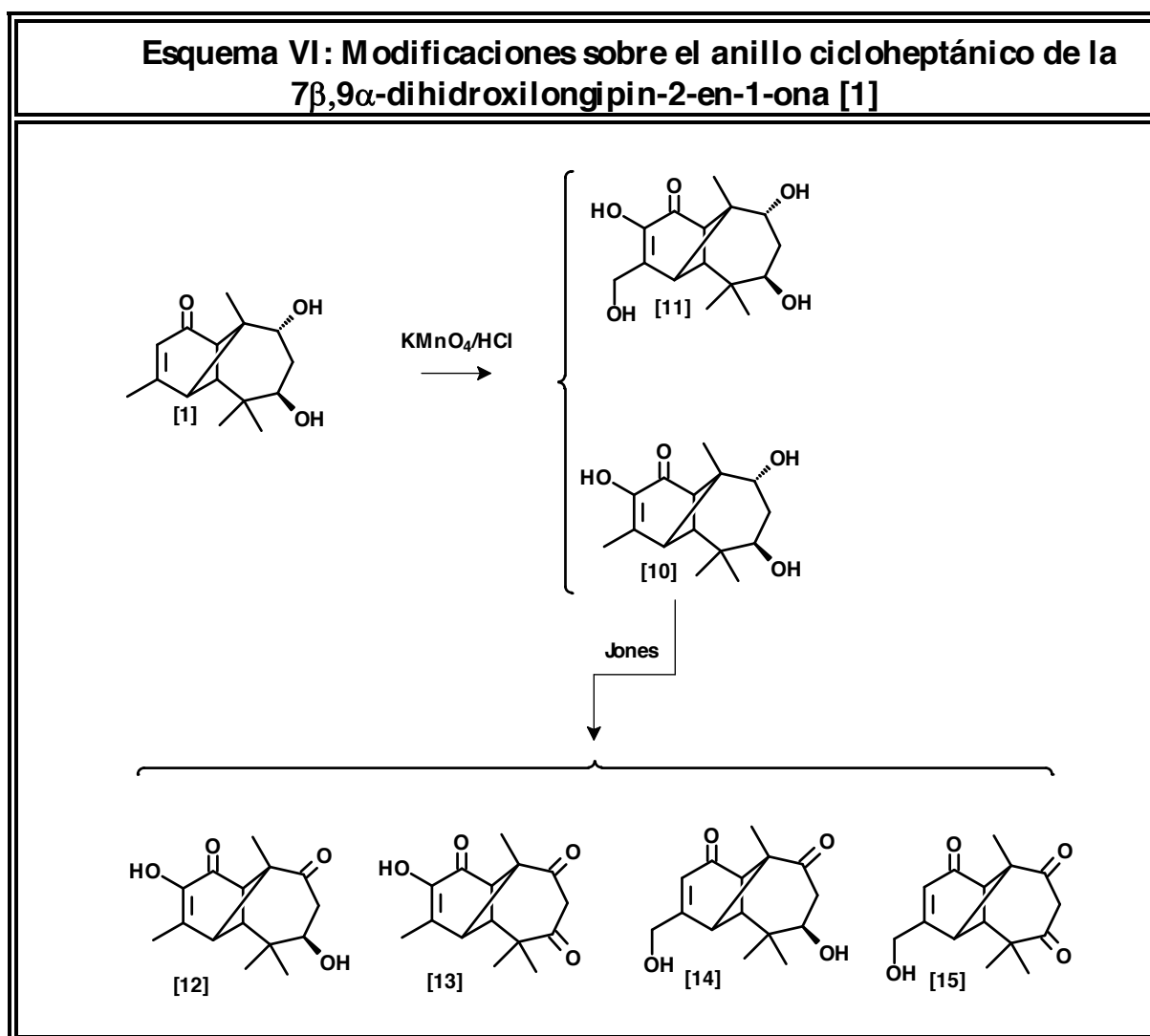


Los ensayos para generar los productos [8a], [8b] y [9] (Esquema V) se llevaron a cabo como reacciones piloto a partir del diacetato [3] ya que se pretendía modificar solamente el doble enlace. Sin embargo, los espectro de RMN-¹H de los compuestos [8a] y [8b] (Fig. 8a-B, Tabla 8a-B y Fig. 8b-B, Tabla 8b-B) permitieron concluir que el ion permanganato ataca selectivamente al doble enlace*.

(*) El medio de reacción ácido (KMnO₄/HCl) desprotege los grupos acetato ubicados en C-7 y C-9. El grupo hidroxilo de C-7 no experimenta la reacción de oxidación a cetona que cabría esperar en estas condiciones. Cuando se desprotege el grupo hidroxilo de C-9 se forman productos de reagrupamiento.

Debido a la oxidación selectiva del ion permanganato sobre el doble enlace de la ciclohexenona, la reacción se llevo a cabo empleando el diol **[1]** como sustrato de partida (Esquema VI). A su vez, de forma de ampliar la diversidad de diosfenoles obtenidos se trató con reactivo de Jones el triol **[10]*** (Chacón & Amaro, 2015) (Esquema VI).

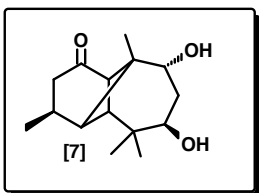
La reducción del doble enlace C-2 / C-3 para formar el compuesto **[7]** (Esquema VII), al igual que la formación de los compuestos **[14]** y **[15]** (Esquema IX) constituyen resultados inesperados cuya propuesta mecanística se discutirá más adelante.



Los compuestos **[7]**, **[8a]**, **[8b]**,....., **[15]**, fueron caracterizados al contrastar sus datos espectrales con los del diacetato **[3]** (en el caso de **[8a]**, **[8b]** y **[9]**) y el diol **[1]** (en el caso de **[12]**, **[13]**, **[14]** y **[15]**). A continuación se describen brevemente los cambios más significativos observados en los espectros de IR y RMN.

(*) La metodología seguida para obtener el triol **[10]** fue publicada en un artículo titulado "Síntesis de un derivado diosfenólico a partir de la 7 β ,9 α -dihidroxi-longipin-2-en-1-ona" en la revista Avances en Química, 10(1), 41-47 (2015).

3-*epi*-7 β ,9 α -dihidroxi-longipin-2-en-1-ona [7]



Con la finalidad de explorar la reactividad de la ciclohexenona, el diol [1] fue tratado con un reactivo de Grignard (Esquema VII). Sin embargo, en lugar de producirse alguna de las adiciones esperadas sobre C-1 ó C-3, se llevo a cabo la reducción del doble enlace C-2/C-3 generando el compuesto [7].

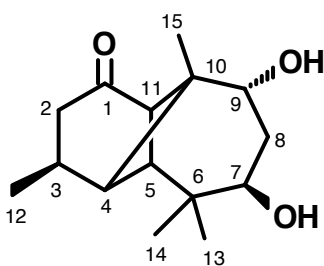
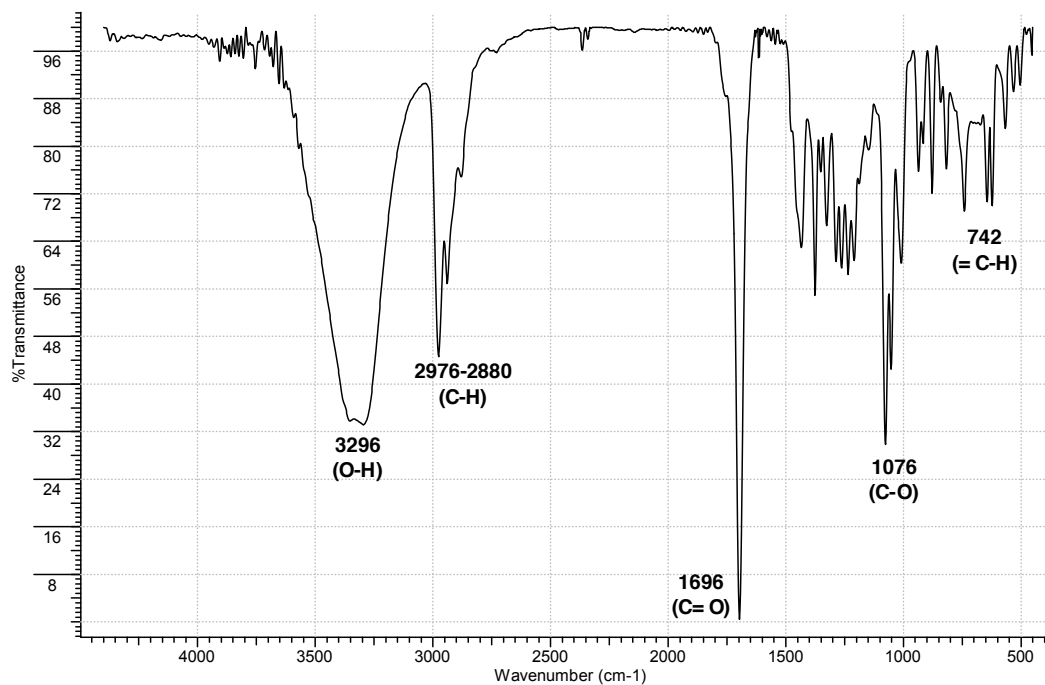
Al contrastar los datos espectroscópicos del compuesto [7] con los del sustrato de partida [1] se pueden apreciar los siguientes cambios:

1. En el espectro de IR del compuesto [7] (Fig. 7A; Tabla 7A) se observa la desaparición de los picos correspondientes a las absorciones de doble enlace C=C. Esto es congruente con la ausencia de la señal del protón olefínico H-2 con respecto al diol [1] (Fig. 7B; Tabla 7B) y concuerda con la desaparición de los carbonos sp^2 correspondientes a C-2 y C-3 en conjunto con la detección de nuevos picos sp^3 [δ_C : 41,9 (C-2) y δ_C : 37,4 (C-3)] y el desapatallamiento del carbonilo C-1 [δ_C : 213,1 ($>C=O$; C1); $\Delta\delta$: 9,1 respecto a C-1 (δ_C : 204,0) en [1]] (Fig. 7C; Tabla 7C).
2. La aparición de un nuevo carbono metínico en el espectro RMN- ^{13}C (Fig. 7C; Tabla 7C) atribuido a C-3 (δ_C : 37,4), en concordancia con el cambio de multiplicidad de los protones H-12 (δ_H : 1,19 *d*, $J = 7,3$ Hz) del metilo ubicado en C-3 respecto al diol [1].

La estructura [7] (incluyendo la configuración del nuevo carbono quiral C-3) quedo establecida al comparar los datos de RMN- ^{13}C con los reportados en la bibliografía (Román *et al.*, 1985).

Para la formación del compuesto [7] (Esquema VII) se proponen dos posibles mecanismos; ambos inician con la coordinación de los electrones n de la cetona [1], con el reactivo de Grignard. El primer mecanismo propuesto está basado en rupturas homolíticas que conllevan a la formación de una carga negativa sobre C-3, un catión Mg^{+1} y un radical bromo. El movimiento de un electrón desde Mg^{+1} al radical bromo origina las especies iónicas Mg^{+2} y Br^{-1} (de esta forma ambos iones alcanzan su estado de valencia más favorable). Finalmente, en el quench de la reacción el agua rompe el enlace magnesio-oxígeno formando un enol que evoluciona al compuesto [7]. En la segunda propuesta, luego de que los electrones del oxígeno se han coordinado con el metal, la deficiencia electrónica de C-3 se incrementa debido a la conjugación de la cetona con el doble enlace. Seguidamente, el magnesio metálico Mg^0 cambia su estado de oxidación a Mg^{+2} aportando un par de electrones a C-3, esto conlleva a un movimiento de pares de electrones que culmina con la salida del anión bromuro. Es importante destacar que solamente fue detectada la formación del compuesto de configuración *s* (con el metilo C-12 en orientación β).

**Figura 7A: Espectro Infrarrojo (KBr),
de la 3-*epi*-7 β ,9 α -dihidroxi-longipin-2-en-1-ona [7]**



**Tabla 7A: Bandas de Absorción Significativas en el Espectro Infrarrojo (KBr)
de la 3-*epi*-7 β ,9 α -dihidroxi-longipin-2-en-1-ona [7]**

$\nu_{\text{máx.}} \text{ (cm}^{-1}\text{)}$	3296	2976 - 2880	1696	1076	742
Asignación	O-H	C-H	C=O	C-O	=C-H

Figura 7B: Espectro de RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), de la 3-*epi*-7 β ,9 α -dihidroxi-longipin-2-en-1-ona [7]

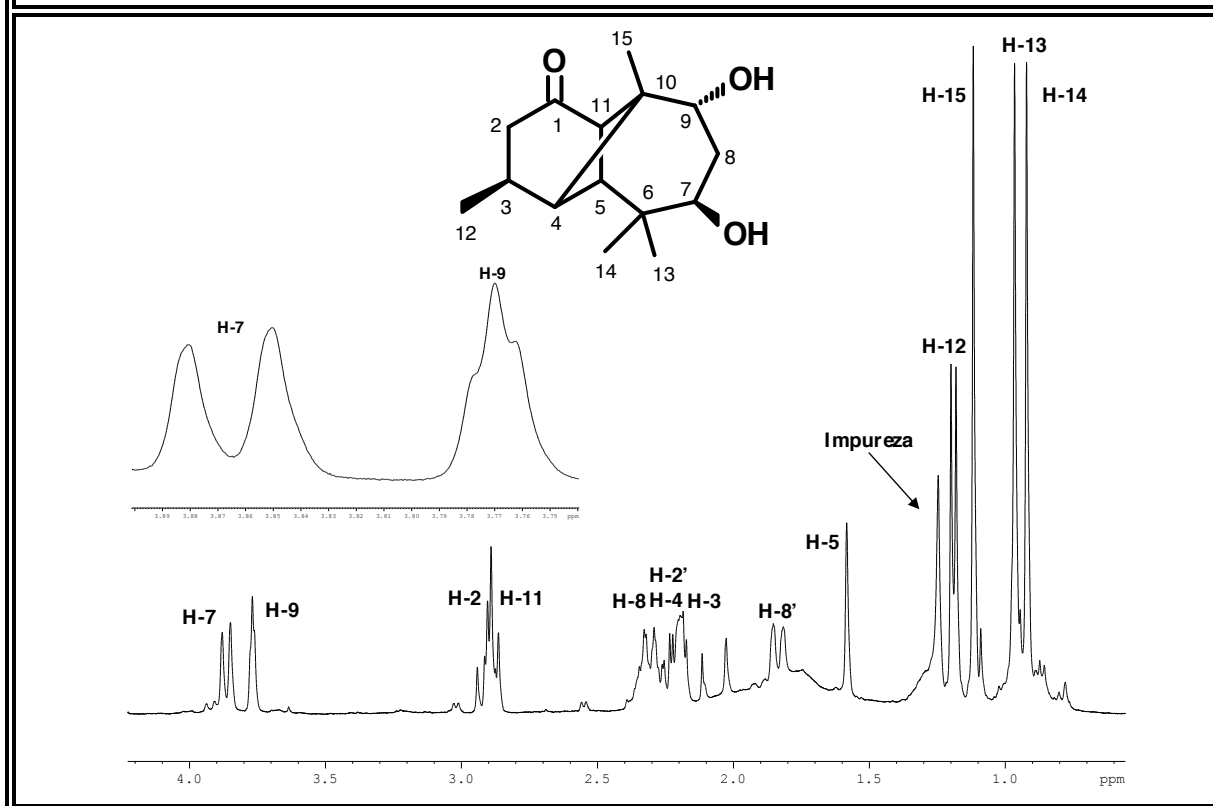


Tabla 7B: Desplazamientos Químicos (δ) en el Espectro de RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), de la 3-*epi*-7 β ,9 α -dihidroxi-longipin-2-en-1-ona [7]

H	H-2	H-3	H-4	H-5	H-7	H-8
δ (ppm)	2,91 y 2,18	2,32	2,21	1,59	3,87	2,29 y 1,82
m	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>s</i>	<i>d</i>	<i>m</i>
<i>J</i> (Hz)	-	-	-	-	12,2	-
H	H-9	H-11	H-12	H-13	H-14	H-15
δ (ppm)	3,77	2,89	1,19	1,18	1,22	1,21
m	<i>t</i>	<i>m</i>	<i>d</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>s</i>
<i>J</i> (Hz)	3,1	-	7,3	-	-	-

Figura 7C: Espectro de RMN-¹³C (CDCl₃, 100 MHz), de la 3-*epi*-7β,9α-dihidroxi-longipin-2-en-1-ona [7]

El desplazamiento químico de C-1 se estableció inequívocamente en el espectro HMBC (Fig. 7F) por los cruces H-2 ↔ C-1 ↔ H-11/H-3 ↔ C-1 ↔ H-5

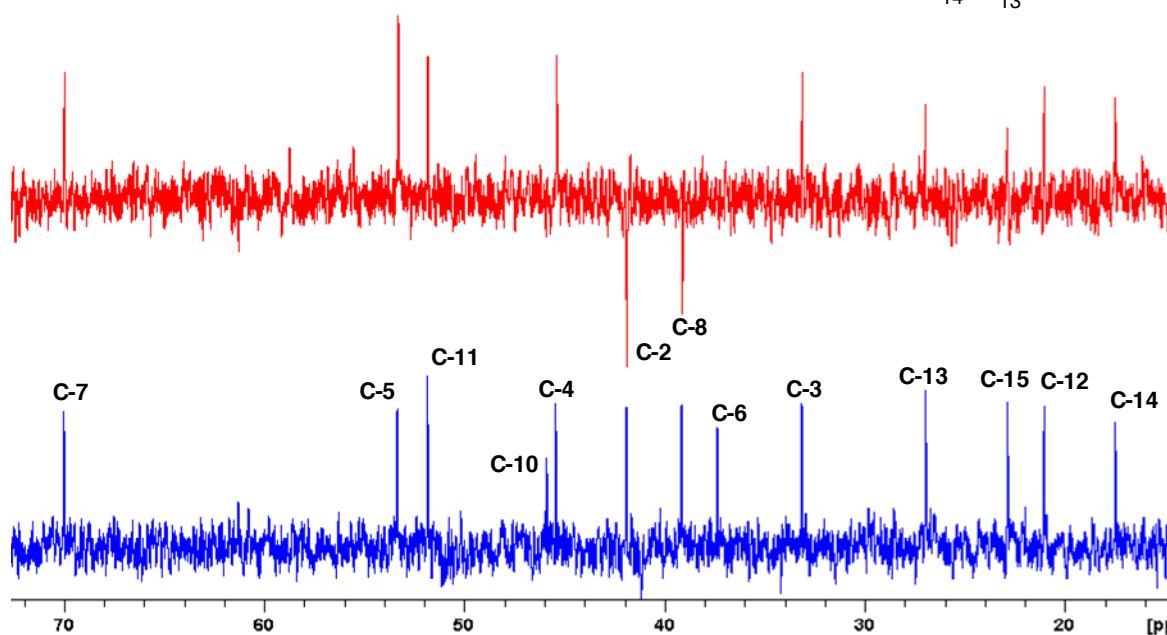
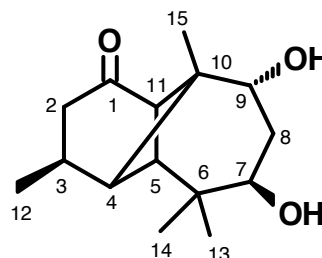
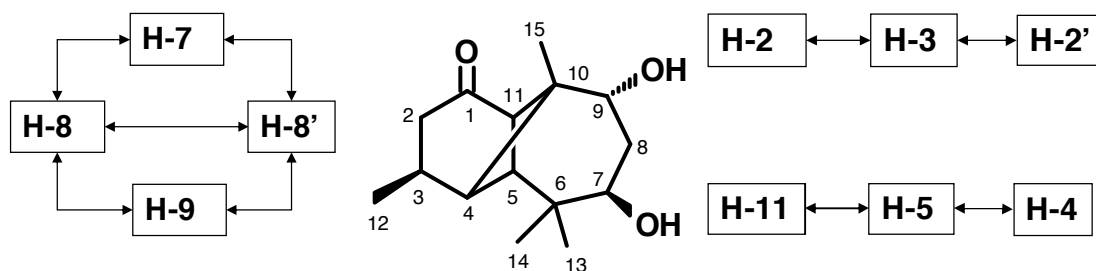
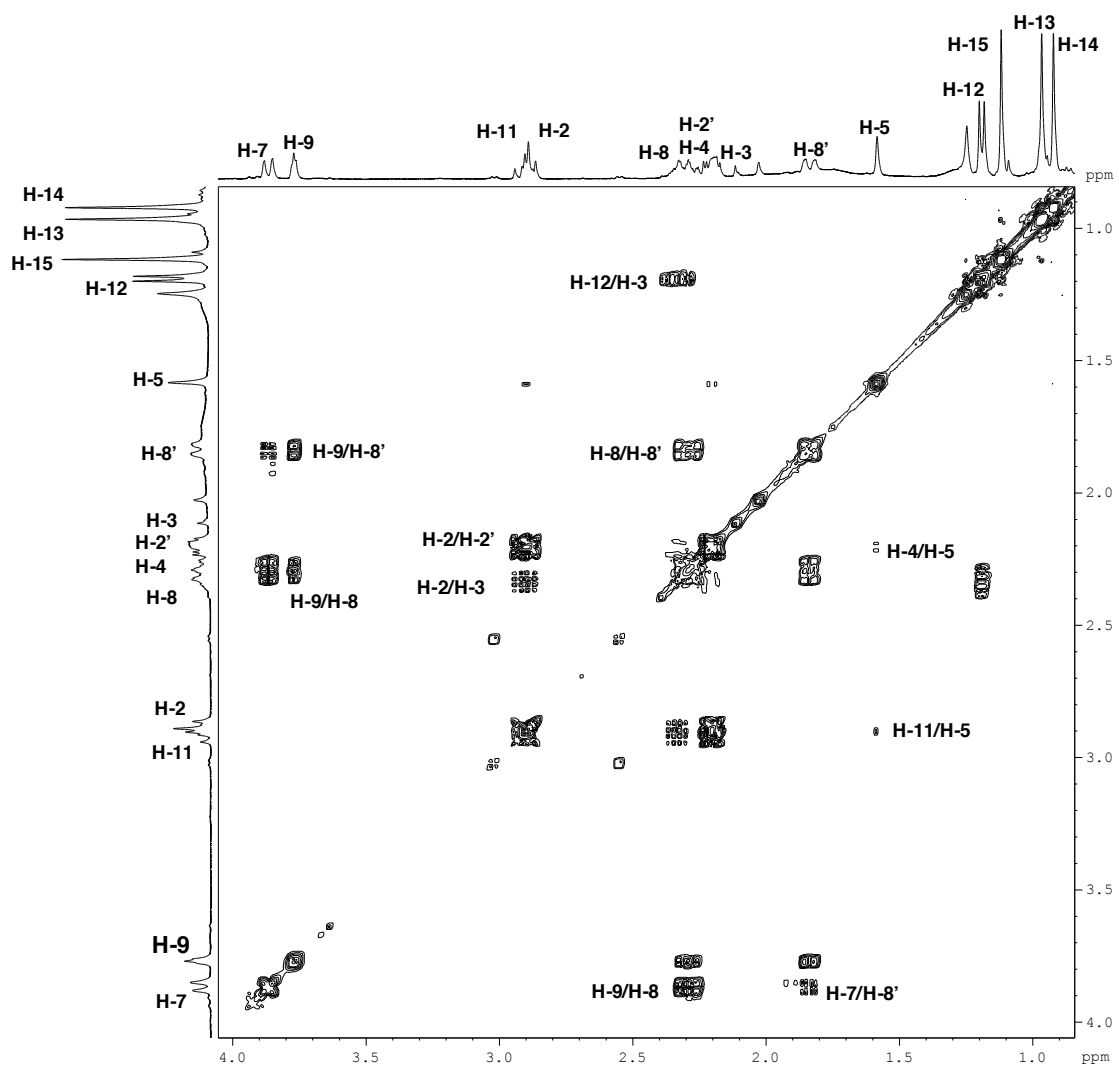
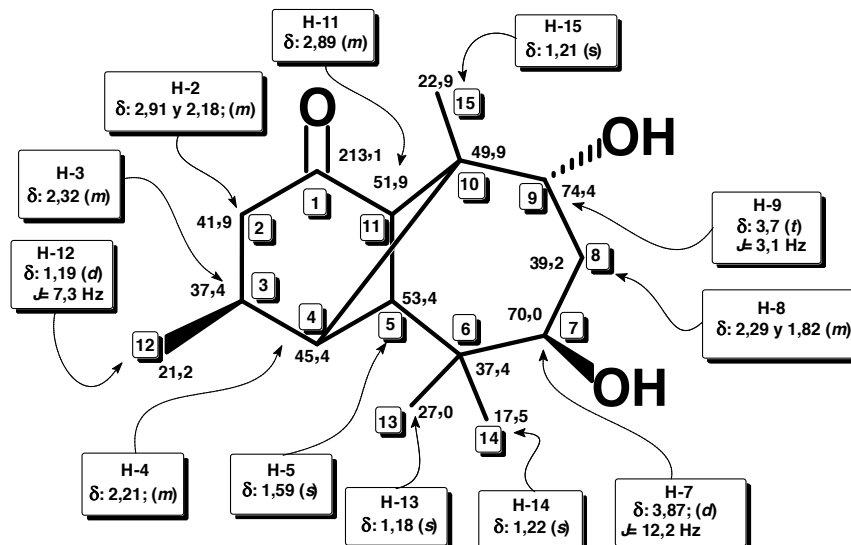


Tabla 7C: Desplazamientos Químicos (δ) en el Espectro de RMN-¹³C (CDCl₃, 100 MHz), de la 3-*epi*-7β,9α-dihidroxi-longipin-2-en-1-ona [7]

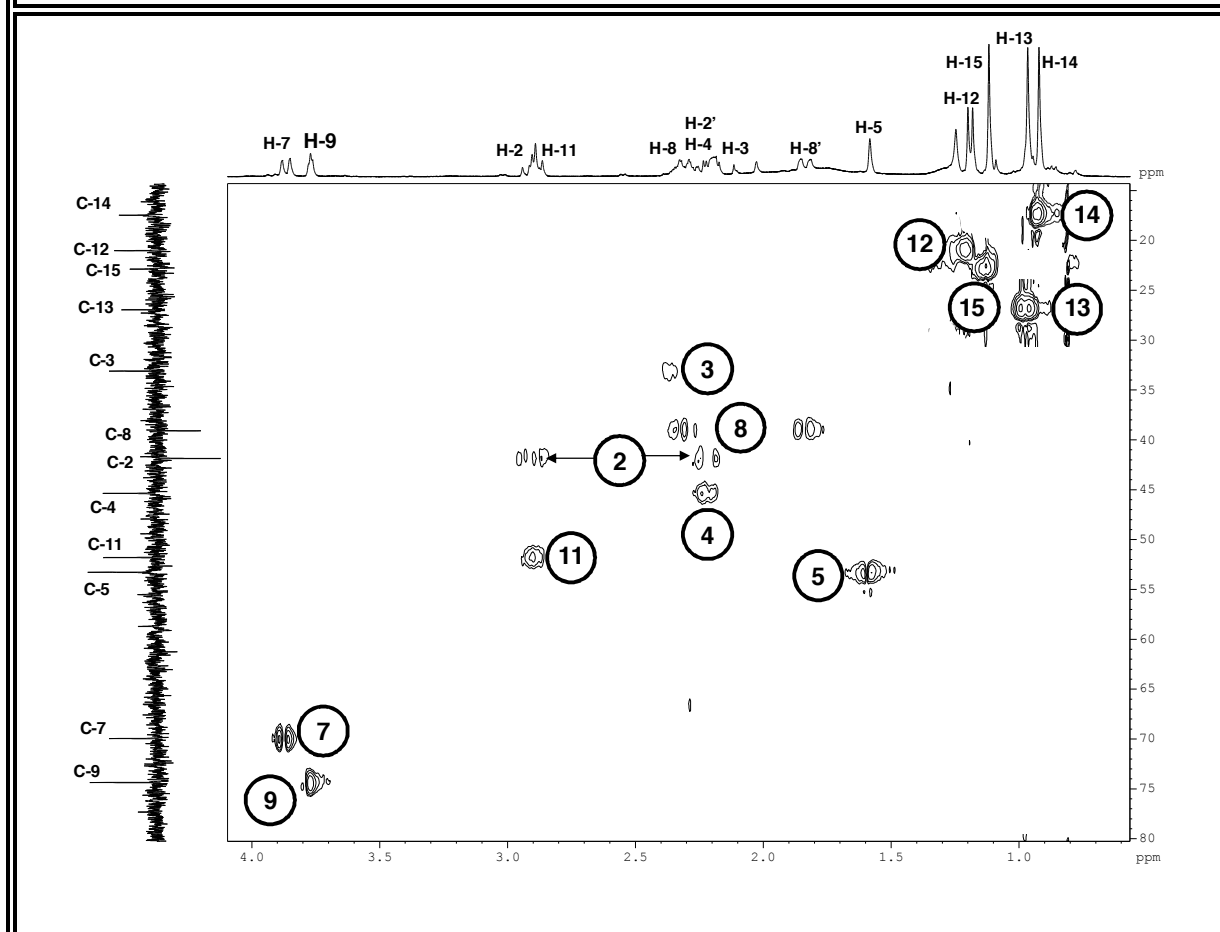
C	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	C-7	C-8
δ	213,1	41,9	37,4	45,4	53,4	37,4	70,0	39,2
Tipo	>C=O	-CH ₂	>CH	>CH	>CH	>C<	-CH-O-	-CH ₂
C	C-9	C-10	C-11	C-12	C-13	C-14	C-15	Valores de δ, relativos al TMS como referencia interna
δ	74,4	49,9	51,9	21,1	27,0	17,5	22,9	
Tipo	-CH-O-	>C<	>CH	-CH ₃	-CH ₃	-CH ₃	-CH ₃	

Figura 7D: Espectro $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY (CDCl_3)
de la 3-*epi*-7 β ,9 α -dihidroxilongipin-2-en-1-ona [7]

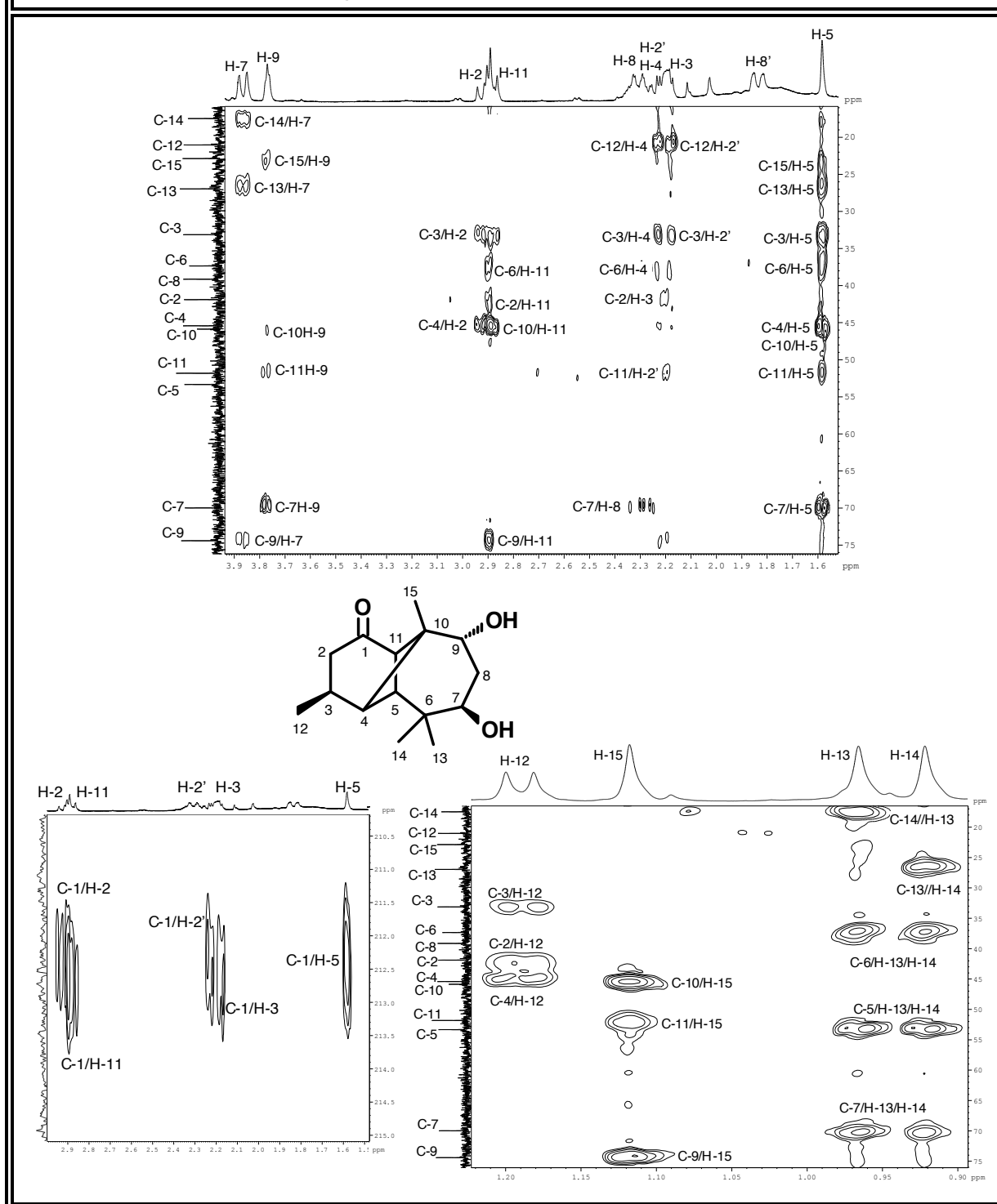




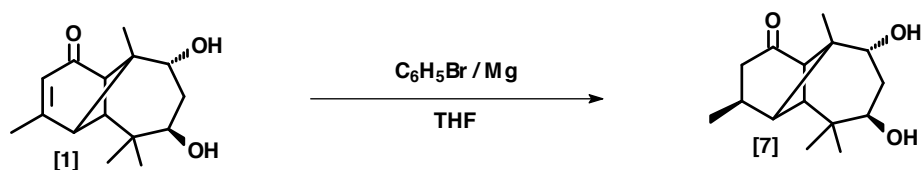
**Figura 7E: Espectro HSQC (CDCl_3)
de la 3-epi-7 β ,9 α -dihidroxi-longipin-2-en-1-ona [7]**



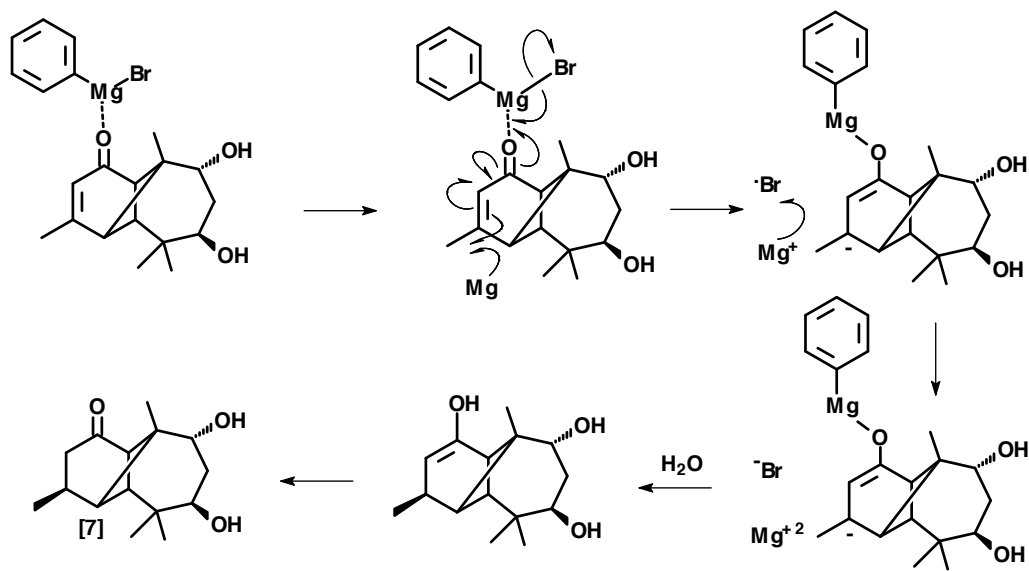
**Figura 7F: Espectro HMBC (CDCl₃)
de la 3-*epi*-7 β ,9 α -dihidroxi longipin-2-en-1-ona [7]**



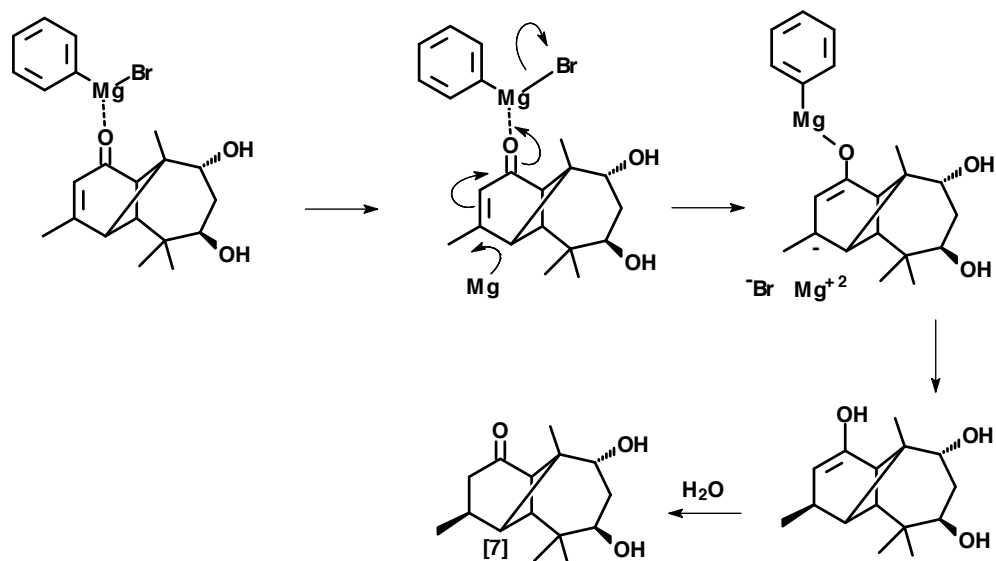
Esquema VII: Propuesta mecánica para la formación de la 3-*epi*-3-*epi*-7 β ,9 α -dihidroxi-longipin-2-en-1-ona [7]



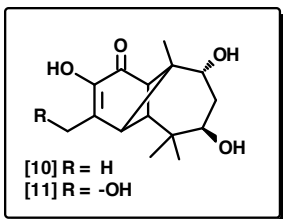
Propuesta Mecánica 1



Propuesta Mecánica 2



**2,7 β ,9 α -trihidroxi-longipin-2-en-1-ona [10] y
2,7 β ,9 α ,12-tetrahidroxi-longipin-2-en-1-ona [11]**

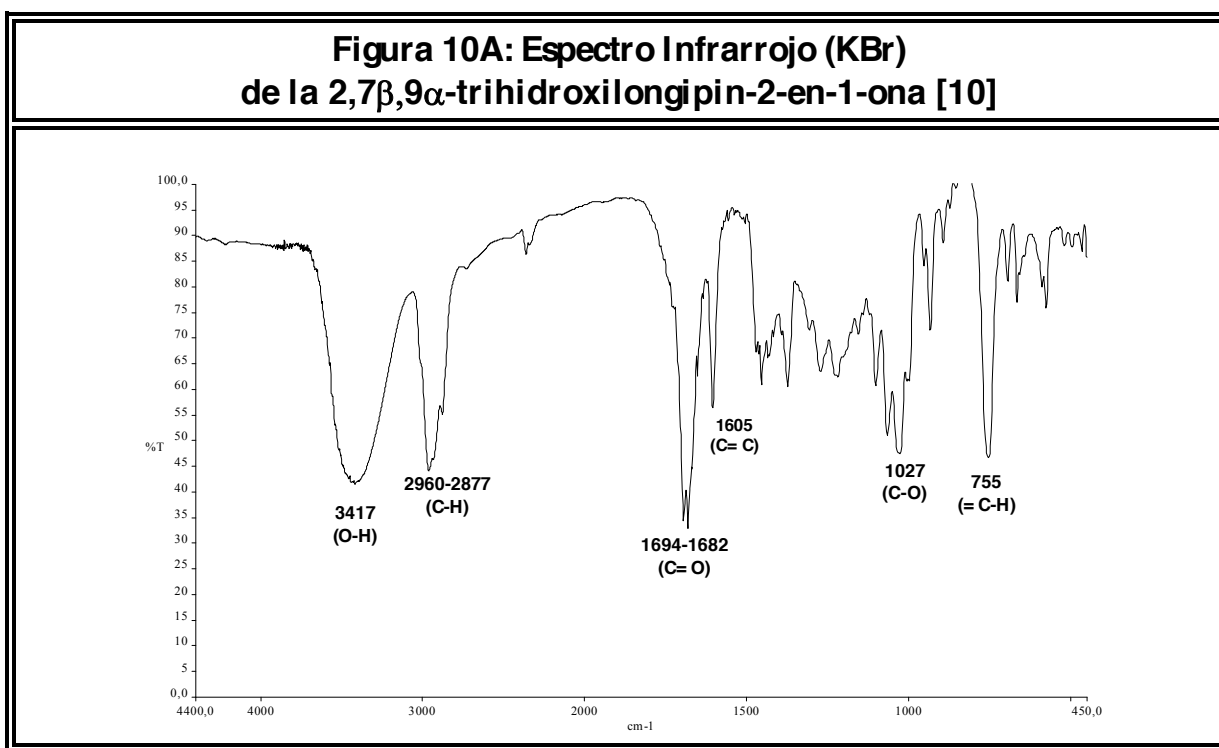


A una disolución en acetona de [1], se añadió, gota a gota y bajo agitación constante, una solución de permanganato de potasio (KMnO₄) en ácido clorhídrico concentrado (HCl). El curso de la reacción fue monitoreado por TLC hasta observar la desaparición del sustrato. Las nuevas manchas que se observaron sobre la TLC revelaron que la mezcla de reacción estaba conformada por varios productos de oxidación de similares R_f. Mediante cromatografía preparativa [hexano-AcOEt (1 : 1)] se obtuvieron los compuestos [10] y [11] (curiosamente, el tetraol [11] presentó mayor R_f que triol [10]). El análisis comparativo de los espectros de RMN de estos compuestos frente a los de [1], puso en evidencia que no hubo cambios en el anillo cicloheptánico, el cual conserva los dos grupos hidroxilos secundarios en C-7 y C-9 [IR, ν_{max} : 3417 cm⁻¹ (OH); RMN-¹H: δ_{H} : 3,91, *d*, *J* = 11,9 Hz (>CH-OH; H-7) y δ_{H} : 3,85, *s ancho*, (>CH-OH; H-9) ; RMN-¹³C, δ_{C} : 69,4 (>CH-OH; C-7) y δ_{C} : 73,4 (>CH-OH; C-9) para [10] y IR, ν_{max} : 3415 cm⁻¹ (OH); RMN-¹H: δ_{H} : 3,93, *m*, (>CH-OH; H-7) y δ_{H} : 3,90, *m*, (>CH-OH; H-9) ; RMN-¹³C, δ_{C} : 69,7 (>CH-OH; C-7) y δ_{C} : 73,4 (>CH-OH; C-9) para [11]]. De igual manera el esqueleto carbonado persiste, dado que las señales de los cuatro metilos (excepto el metilo C-12 del compuesto [11]) permanecen prácticamente invariables [RMN-¹H: δ_{H} : 2,16, *s*, (= C-CH₃; H-12), δ_{H} : 1,05, *s*, (-CH₃; H-15), δ_{H} : 0,95 y 0,97, *s*, (H₃C-C-CH₃; H-13 y H-14); RMN-¹³C, δ_{C} : 21,1 (-CH₃; C-12), δ_{C} : 21,7 (-CH₃; C-15), δ_{C} : 26,5 y 17,7 (H₃C-C-CH₃; C-13 y C-14) para [10] y RMN-¹H: δ_{H} : 1,09, *s*, (-CH₃; H-15), δ_{H} : 0,99 y 0,99, *s*, (H₃C-C-CH₃; H-13 y H-14); RMN-¹³C, δ_{C} : 21,8 (-CH₃; C-15), δ_{C} : 26,6 y 17,8 (H₃C-C-CH₃; C-13 y C-14) para [11]]. Las variaciones detectadas se centran en el anillo de ciclohexano, concretamente en el sistema alquénico. A continuación se presentan dichas variaciones:

1. En los productos [10] y [11] el doble enlace C-2/C-3 se convirtió en una olefina tetrasustituida dado que no se detectan en sus espectros RMN-¹H señales de protones olefínicos (Figuras 10B y 11B). Sin embargo, en sus espectros de RMN-¹³C se observan dos picos atribuibles a carbonos sp² olefínicos cuaternarios [RMN-¹³C, δ_{C} : 164,3 (= C-O-; C-2) y δ_{C} : 126,7 (= C<; C-3) para [10] y RMN-¹³C, δ_{C} : 158,7 (= C-O-; C-2) y δ_{C} : 128,8 (= C<; C-3) para [11]].
2. El desapantallamiento del pico atribuido a C-2 de ambos compuestos ([10] y [11]), el cual es justificable si se interpreta como la sustitución del hidrógeno olefínico (presente en [1]) por un hidroxilo enólico (presentes en [10] y [11]).

- El notable apantallamiento de la señal asignada a C-3 de ambos compuestos ([10] y [11]) (δ_C : 126,7, $\Delta\delta$: -45 ppm respecto a C-3 en [1], δ_C : 171,7 para [10] y δ_C : 128,8, $\Delta\delta$: -42 ppm respecto a C-3 en [1], δ_C : 171,7 para [11]), entendible en función del efecto dador de electrones (por resonancia), del grupo hidroxilo.
- En los espectros RMN- ^1H y RMN- ^{13}C del compuesto [11] (Fig.11B y Fig.11C) se observa la desaparición del metilo alílico C-12 y la aparición de un nuevo metileno oxigenado [δ_H : 4,44, *d*, J = 17,1 Hz ($>\text{CH}_2\text{-OH}$; H-12) y δ_C : 42,7 ($>\text{CH}_2\text{-OH}$; H-12)]. La presencia de este nuevo metileno se puede observar claramente en el espectro HMQC (Fig. 11E).

De esta forma, ambas estructuras fueron identificadas como: la 2,7 β ,9 α -trihidroxi-Longipin-2-en-1-ona [10] y la 2,7 β ,9 α ,12-tetrahydroxi-Longipin-2-en-1-ona [11].



**Tabla 10A: Bandas de Absorción Significativas en el Espectro Infrarrojo
(KBr) de la 2,7 β ,9 α -trihidroxi-longipin-2-en-1-ona [10]**

$\nu_{\text{máx.}}$ (cm^{-1})	3417	2960 y 2877	1694	1681	1605	755
Asignación	O-H	C-H	C=O	C=O	C=C	=C-H

Figura 10B: Espectro de RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), de la 2,7 β ,9 α -trihidroxi-longipin-2-en-1-ona [10]

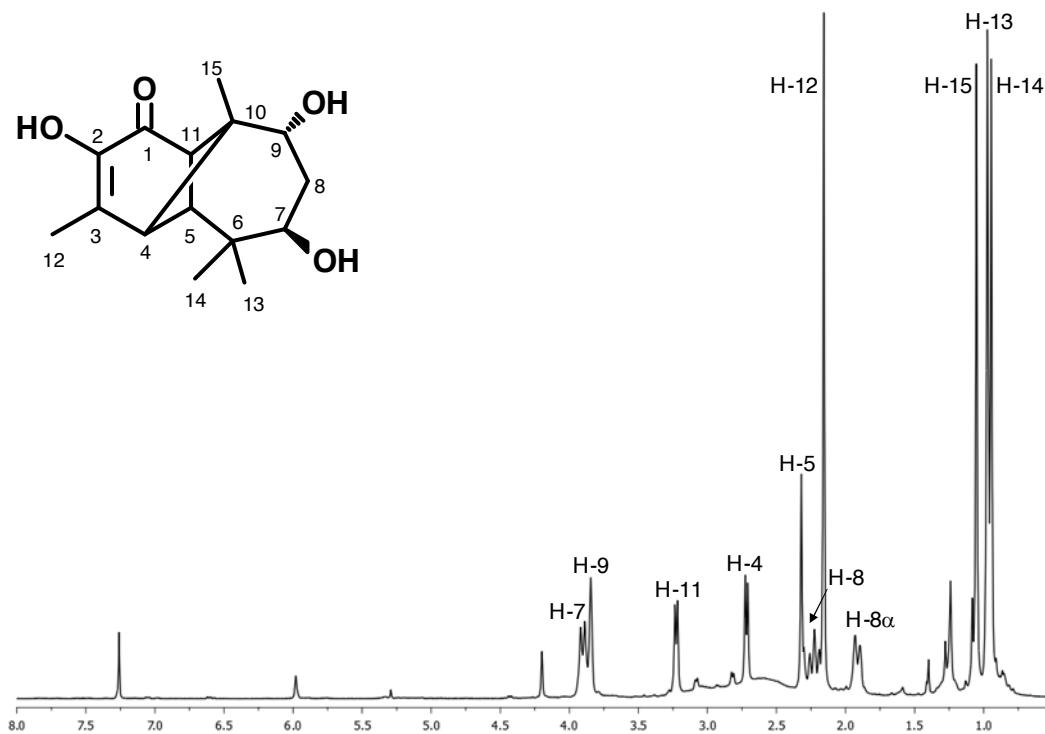


Tabla 10B: Desplazamientos Químicos (δ) en el Espectro de RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), de la 2,7 β ,9 α -trihidroxi-longipin-2-en-1-ona [10]

H	H-4	H-5	H-7	H-8	H-8'	H-9
δ (ppm)	2,72	2,32	3,91	1,91	2,23	3,85
m	<i>d</i>	<i>s</i>	<i>d</i>	<i>d</i>	<i>m</i>	<i>sa</i>
J(Hz)	7,3	-	11,9	14,2	-	-
H	H-11	H-12	H-13	H-14	H-15	Valores de δ , relativos al TMS como referencia interna
δ (ppm)	3,23	2,16	0,95	0,97	1,05	
m	<i>d</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	
J(Hz)	7,3	-	-	-	-	

Figura 10C: Espectro de RMN-¹³C (CDCl₃, 100 MHz), de la 2,7β,9α-trihidroxi-longipin-2-en-1-ona [10]

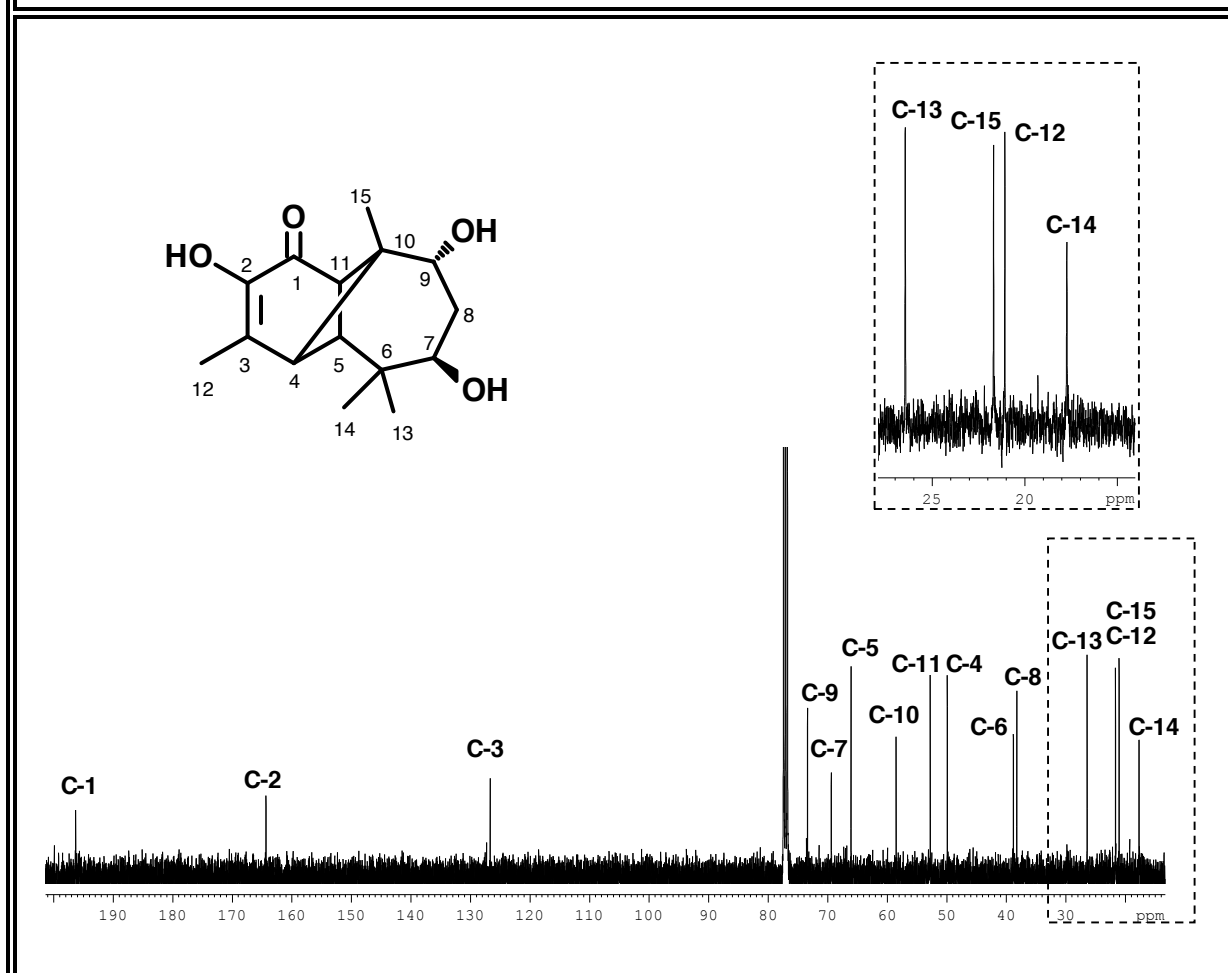
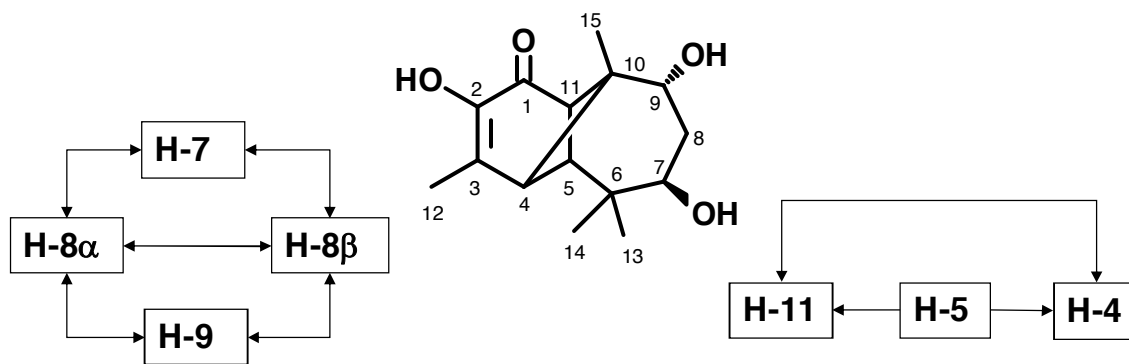
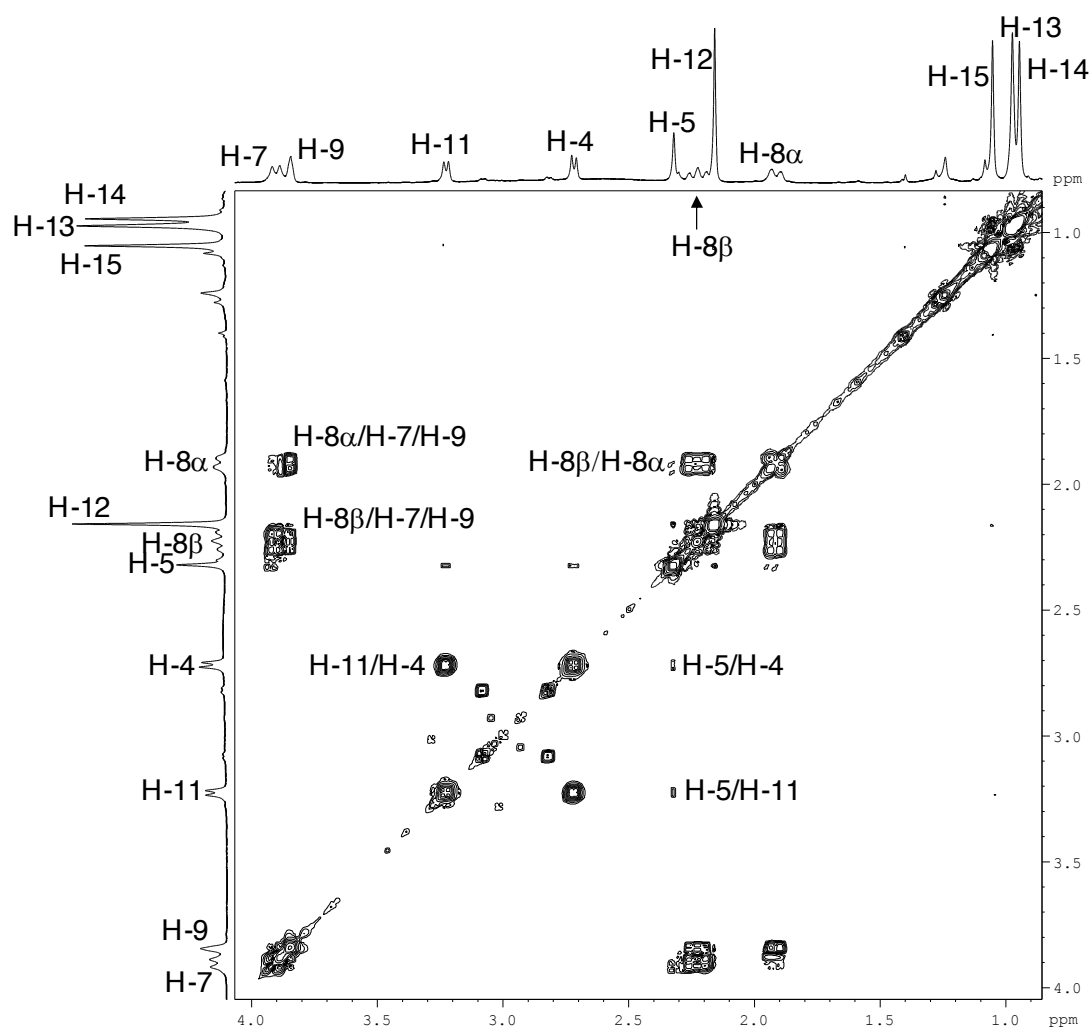


Tabla 10C: Desplazamientos Químicos (δ) en el Espectro de RMN-¹³C (CDCl₃, 100 MHz), de la 2,7β,9α-trihidroxi-longipin-2-en-1-ona [10]

C	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	C-7	C-8	
δ	196,3	164,3	126,7	49,9	66,1	38,8	69,4	38,3	
Tipo	>C=O	=C-OH	=C<	>CH	>CH	>C<	-CH-O-	-CH ₂	
C	C-9	C-10	C-11	C-12	C-13	C-14	C-15	Valores de δ , relativos al TMS como referencia interna	
δ	73,4	58,5	52,8	21,1	26,5	17,7	21,7		
Tipo	-CH-O-	>C<	>CH	-CH ₃	-CH ₃	-CH ₃	-CH ₃		

**Figura 10D: Espectro $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY (CDCl_3)
de la 2,7 β ,9 α -trihidroxilongipin-2-en-1-ona [10]**



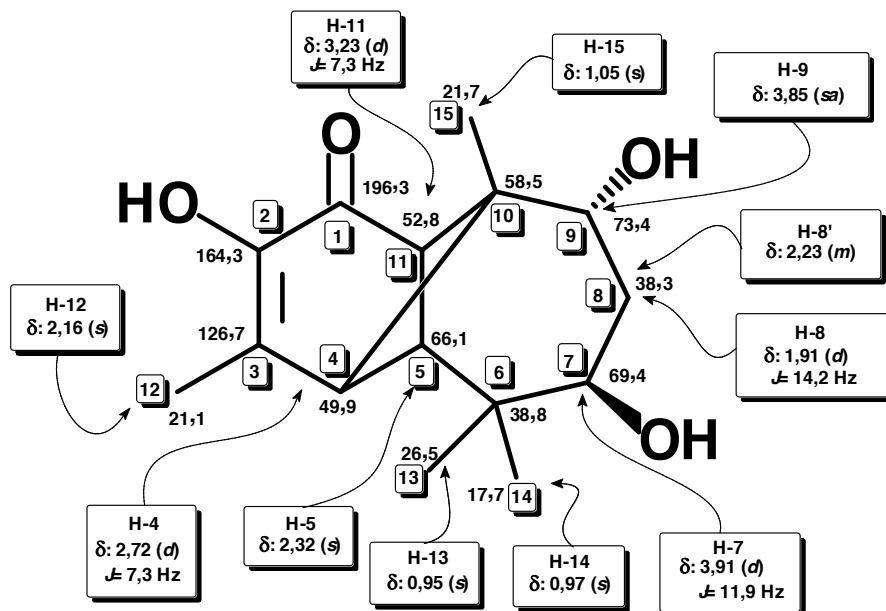
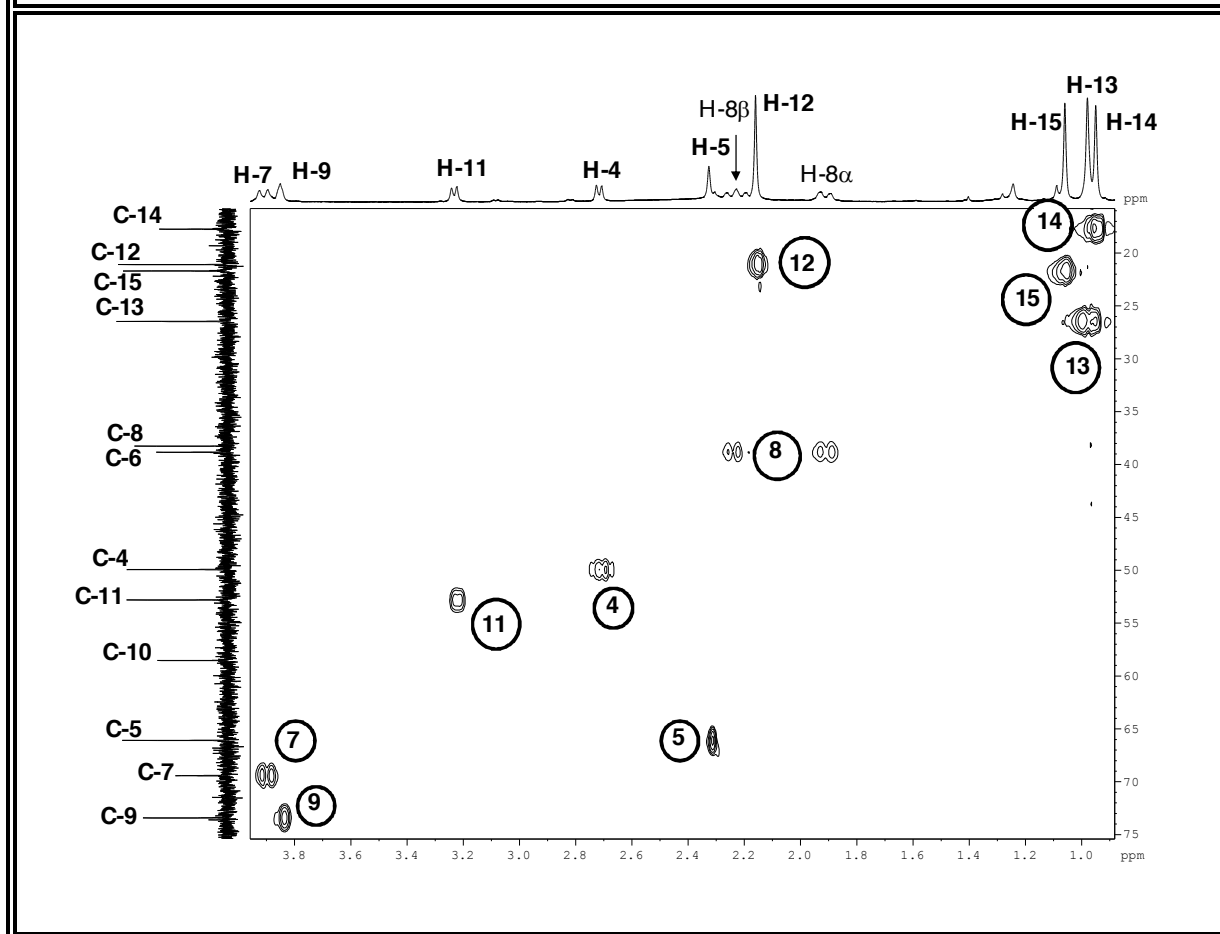


Figura 10E: Espectro HMQC (CDCl_3)
de la 2,7 β ,9 α -trihidroxi-longipin-2-en-1-ona [10]



**Figura 10F: Espectro HMBC (CDCl₃)
de la 2,7 β ,9 α -trihidroxilongipin-2-en-1-ona [10]**

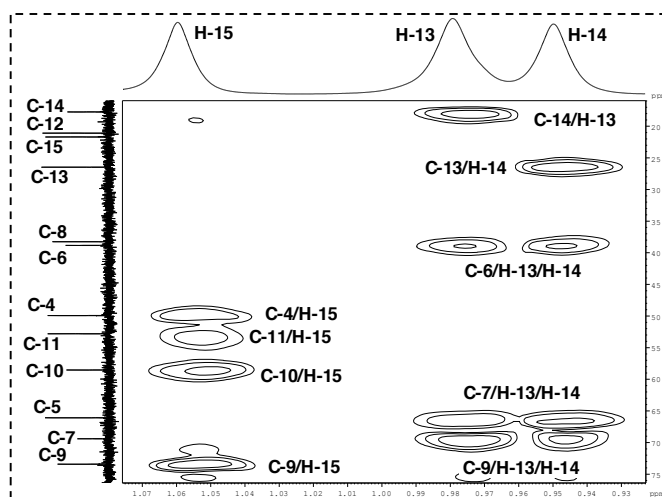
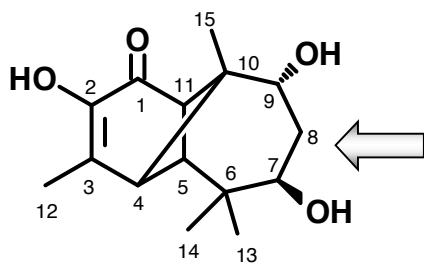
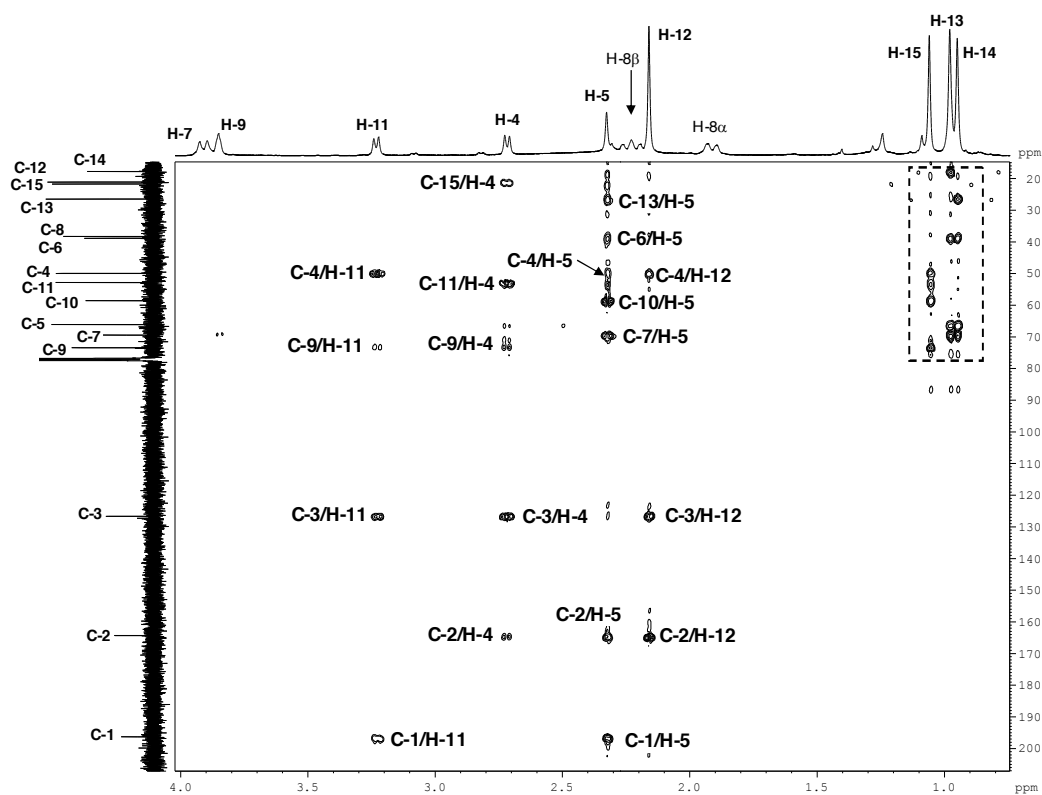


Figura 11A: Espectro Infrarrojo (KBr)
de la 2,7 β ,9 α ,12-tetrahidroxilongipin-2-en-1-ona [11]

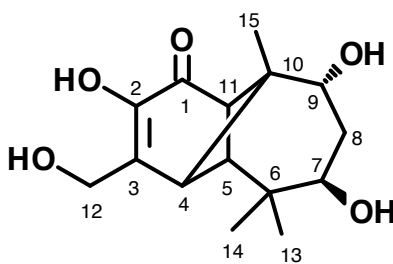
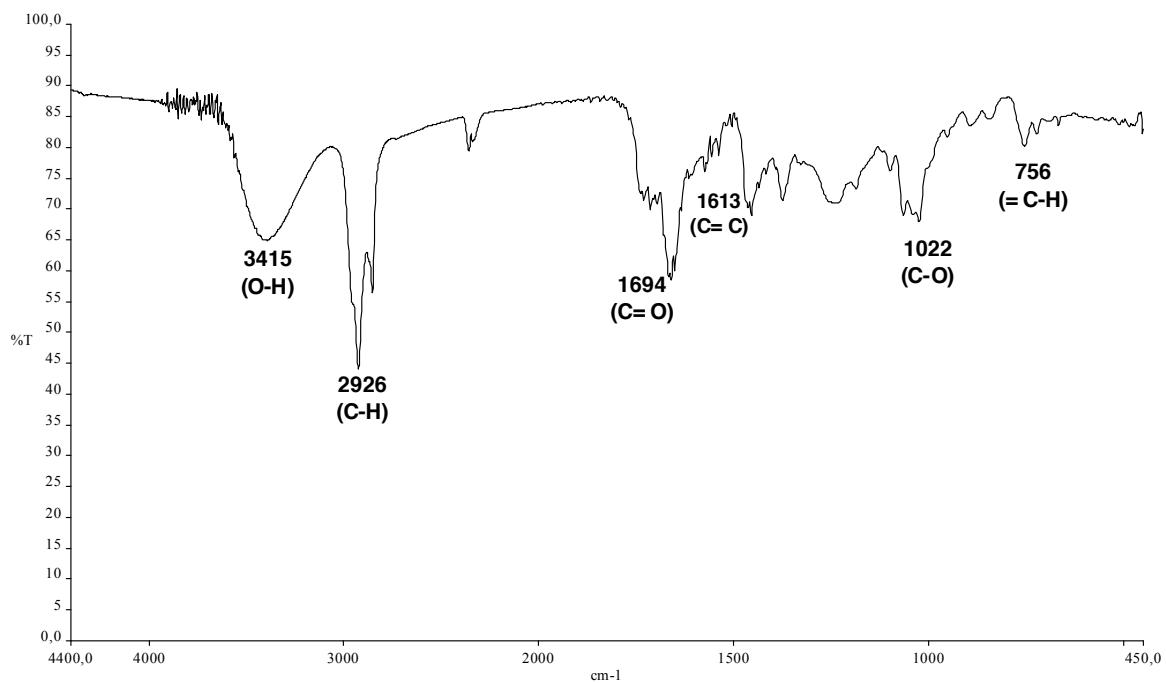


Tabla 11A: Bandas de Absorción Significativas en el Espectro Infrarrojo
(KBr) de la 2,7 β ,9 α ,12-tetrahidroxilongipin-2-en-1-ona [11]

$\nu_{\text{máx.}} (\text{cm}^{-1})$	3415	2926	1694	1613	1022	756
Asignación	O-H	C-H	C=O	C=C	C-O	=C-H

Figura 11B: Espectro de RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), de la 2,7β,9α,12-tetrahidroxilongipin-2-en-1-ona [11]

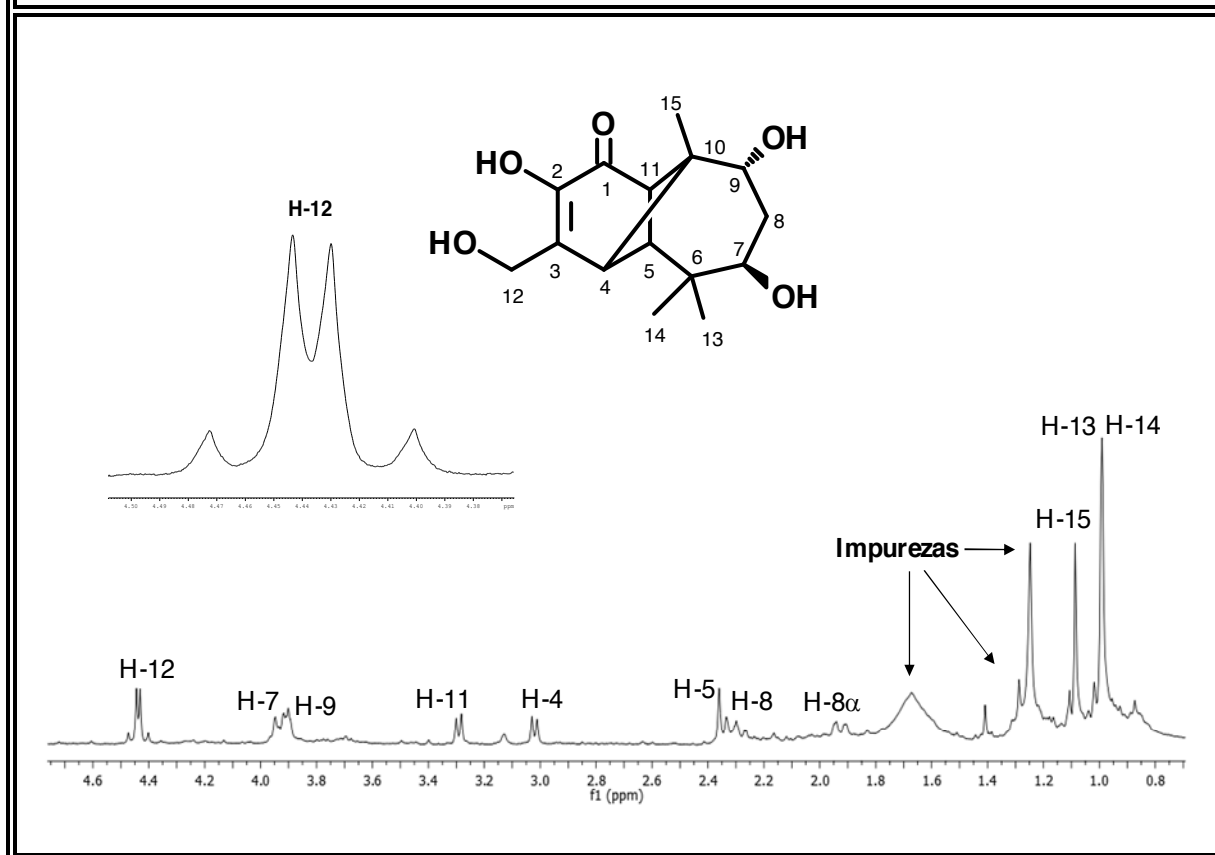


Tabla 11B: Desplazamientos Químicos (δ) en el Espectro de RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), de la 2,7β,9α,12-tetrahidroxilongipin-2-en-1-ona [11]

H	H-4	H-5	H-7	H-8	H-8'	H-9
δ (ppm)	3,02	2,36	3,93	2,31	1,93	3,90
m	<i>d</i>	<i>s</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>
<i>J</i> (Hz)	7,3	-	-	-	-	-
H	H-11	H-12	H-13	H-14	H-15	Valores de δ , relativos al TMS como referencia interna
δ (ppm)	3,29	4,44*	0,99	0,99	1,09	
m	<i>d</i>	<i>d</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	
<i>J</i> (Hz)	7,3	17,1	-	-	-	

(*) La señal de los protones oximetilénicos diastereotópicos H-12 corresponde un par de dobletes que se superponen con una constante de acoplamiento 17,1 Hz debido al acoplamiento geminal.

Figura 11C: Espectro de RMN-¹³C (CDCl₃, 100 MHz), de la 2,7β,9α,12-tetrahidroxilongipin-2-en-1-ona [11]

Debido a la baja intensidad de los picos de la muestra [11], los desplazamientos químicos de varios de los carbonos fueron establecidos por medio de los espectros HMQC (Fig. 11E) y HMBC (Fig. 11F).

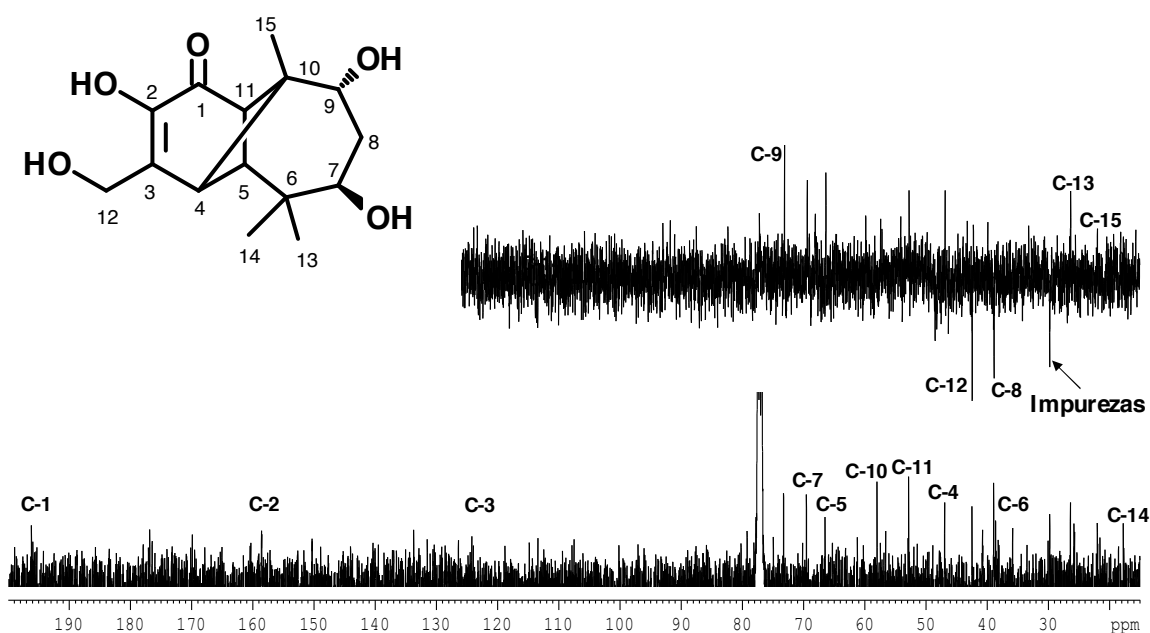
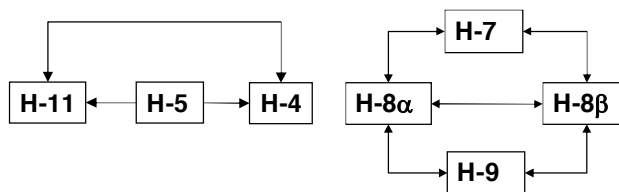
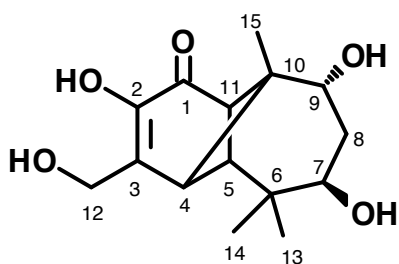
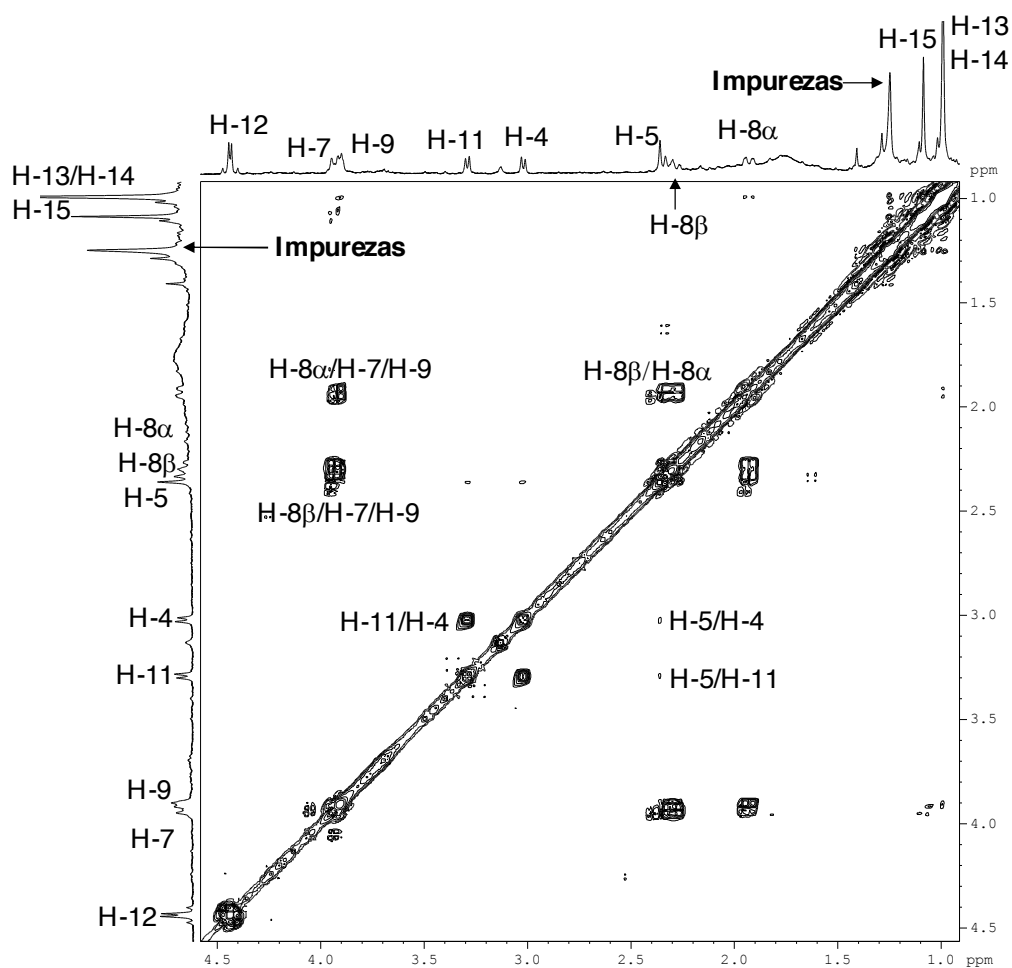


Tabla 11C: Desplazamientos Químicos (δ) en el Espectro de RMN-¹³C (CDCl₃, 100 MHz), de la 2,7β,9α,12-tetrahidroxilongipin-2-en-1-ona [11]

C	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	C-7	C-8	
δ	195,5	158,7	128,8	47,1	66,7	38,9	69,7	39,1	
Tipo	> C=O	= C-OH	= C<	> CH	> CH	> C<	-CH-O-	-CH ₂	
C	C-9	C-10	C-11	C-12	C-13	C-14	C-15	Valores de δ , relativos al TMS como referencia interna	
δ	73,4	58,0	52,9	42,7	26,6	17,8	21,8		
Tipo	-CH-O-	> C<	> CH	-CH ₂ -O-	-CH ₃	-CH ₃	-CH ₃		

Figura 11D: Espectro $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY (CDCl_3) de la 2,7 β ,9 α ,12-tetrahidroxilongipin-2-en-1-ona [11]



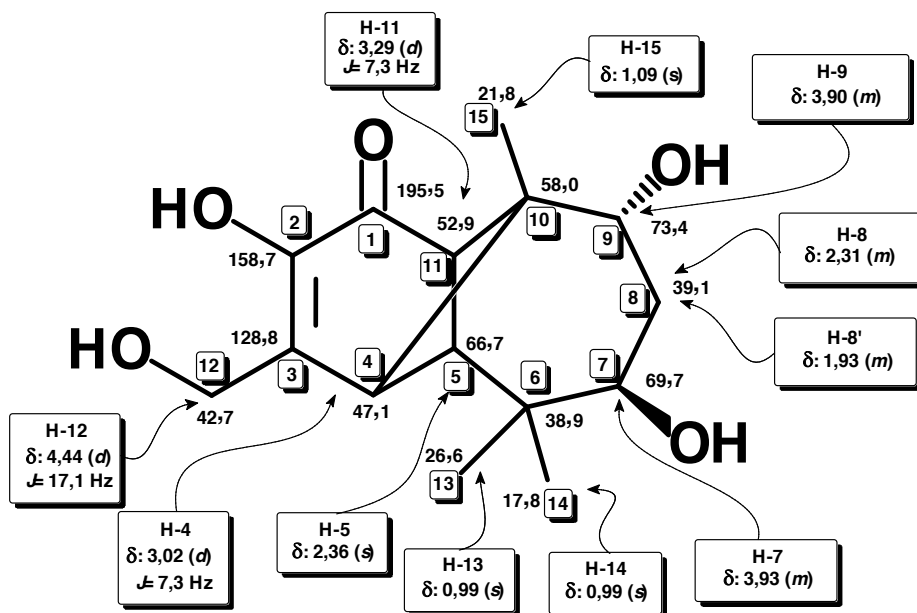
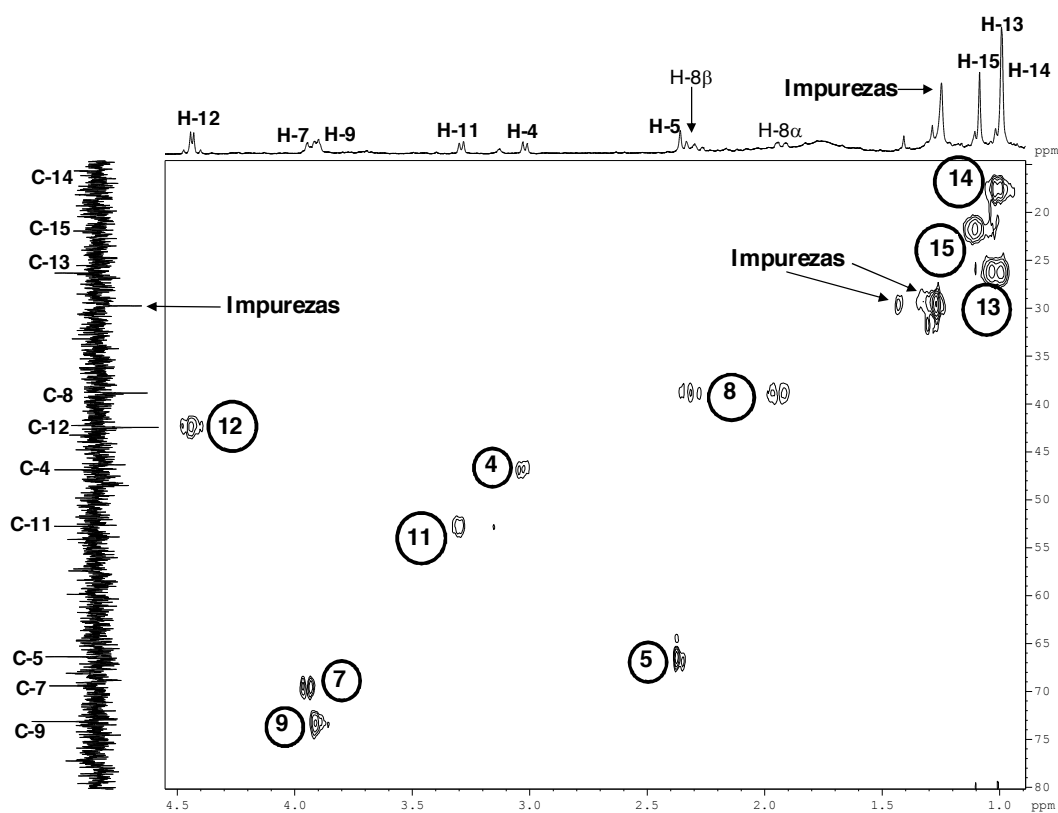
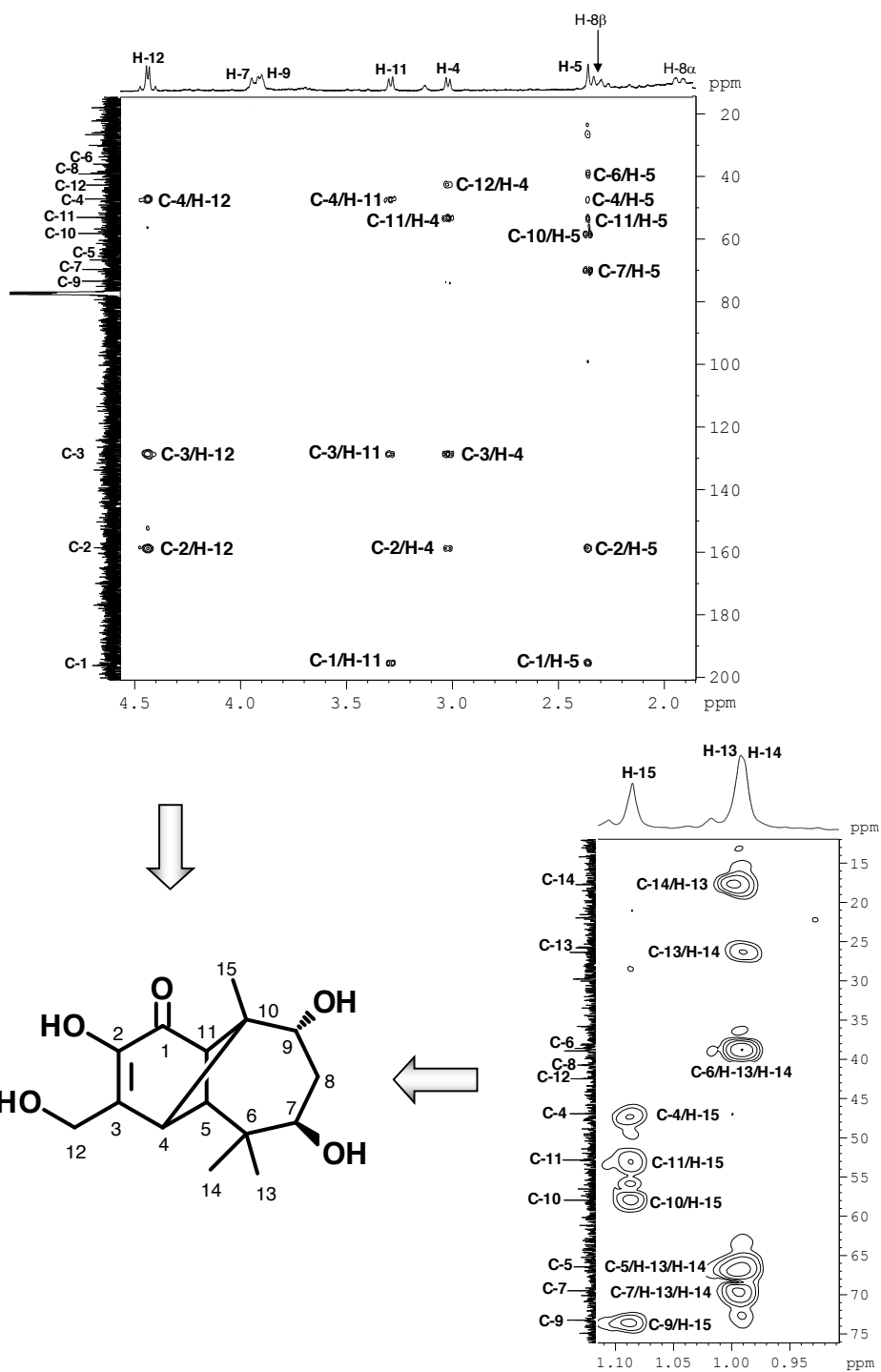


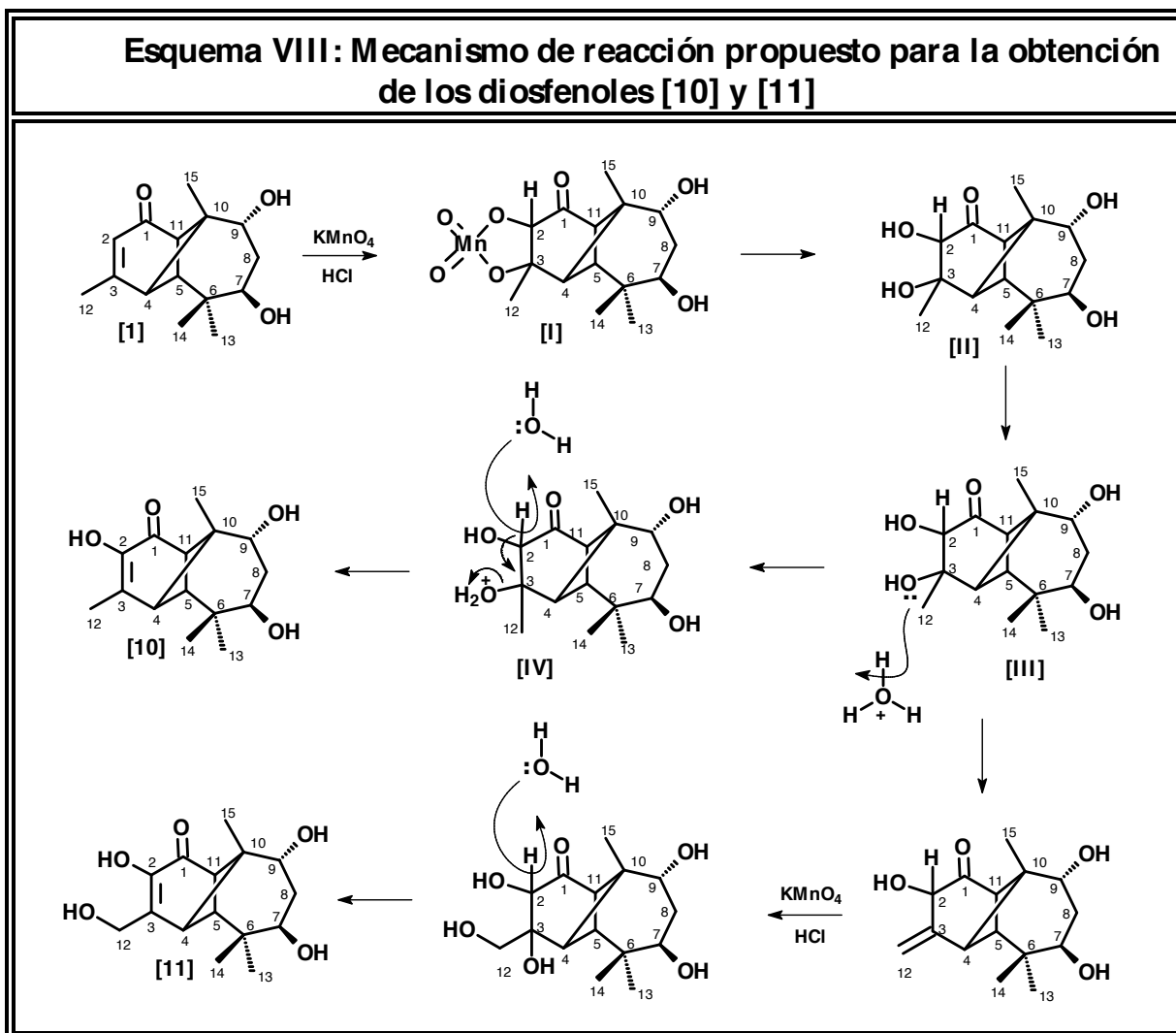
Figura 11E: Espectro HMQC (CDCl_3)
de la 2,7 β ,9 α ,12-tetrahydroxilongipin-2-en-1-ona [11]



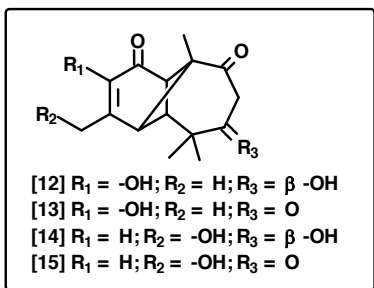
**Figura 11F: Espectro HMBC (CDCl₃)
de la 2,7β,9α,12-tetrahidroxilongipin-2-en-1-ona [11]**



La oxidación de dobles enlaces con permanganato de potasio para generar glicoles es una reacción ampliamente conocida en química orgánica (Dash *et al.*, 2009). Por esta razón, el mecanismo propuesto para la generación del diosfenol [10] (Esquema VIII) inicia con el ataque del ión permanganato al doble enlace C-2/C-3 del compuesto [1] (estructura [I]), para obtener el correspondiente 1,2-diol (estructura [II]). El medio ácido protona al grupo hidroxilo ubicado en C-3 haciéndolo buen grupo saliente (estructura [III]). El protón α al carbonilo cetónico, debido a su carácter ácido, es sustraído por una molécula de agua del medio de reacción, originando una β eliminación (estructura IV) que conduce a la formación de la 2,7 β ,9 α -trihidroxi-longipin-2-en-1-ona [10]. La estructura III puede evolucionar a la formación de un doble enlace exocíclico (entre C-3 y C-12) el cual es oxidado para formar el glicol correspondiente, que finalmente por β eliminación origina la 2,7 β ,9 α ,12-tetrahidroxi-longipin-2-en-1-ona [11] (Esquema VIII).



2,7 β -dihidroxi-longipin-2-eno-1,9-diona [12]; 2-hidroxi-longipin-2-eno-1,7,9-triona [13]; 7 β ,12-dihidroxi-longipin-2-eno-1,9-diona [14] y 12-hidroxi-longipin-2-eno-1,7,9-triona [15]



El triol [10] fue tratado con reactivo de Jones. El curso de la reacción fue monitoreado por TLC hasta observar la desaparición del sustrato. Las nuevas manchas que se observaron sobre la TLC revelaron que la mezcla de reacción estaba conformada por varios productos de oxidación. Mediante cromatografía preparativa [hexano-AcOEt (1:1)] se obtuvieron los compuestos [12], [13], [14] y [15]. En los cuatro productos fue oxidado el grupo hidroxilo ubicado en C-9 [δ_C : 209,7 ($>\underline{C}=\text{O}$; [12]); δ_C : 202,0 ($>\underline{C}=\text{O}$; [13]); δ_C : 210,4 ($>\underline{C}=\text{O}$; [14]); δ_C : 202,1 ($>\underline{C}=\text{O}$; [15])]. Sin embargo, la oxidación de la posición C-7 solo se produjo en los compuestos [13] y [15]* [(δ_C : 201,7 ($>\underline{C}=\text{O}$; [13]) y δ_C : 202,4 ($>\underline{C}=\text{O}$; [15])]. Los cambios más significativos que se observan al comparar los espectros de RMN-¹H y RMN-¹³C de los productos obtenidos de la oxidación con Jones con los del producto de partida [10] y los de los compuestos [4] y [5] (estos últimos fueron de particular interés para caracterizar el anillo cicloheptánico) se presentan a continuación:

1. Los compuestos [12] y [14] presentaron en sus espectros de RMN-¹H un protón oximetínico cuya señal es atribuible a H-7 [δ_H : 3,83, *dd*, *J* = 6,2 y 1,2 Hz ($>\underline{\text{C}}\text{H}-\text{OH}$; H-7) y δ_C : 74,3 ($>\underline{\text{C}}\text{H}-\text{OH}$; C-7) para [12] y δ_H : 3,84, *d*, *J* = 7,7 Hz ($>\underline{\text{C}}\text{H}-\text{OH}$; H-7) y δ_C : 74,3 ($>\underline{\text{C}}\text{H}-\text{OH}$; C-7) para [14]]. En ambos casos la multiplicidad y el desplazamiento es prácticamente el mismo al respecto a H-7 [δ_H : 3,82, *dd*, *J* \cong 7,6 y 1,3 Hz (H-7) y δ_C : 74,3 (C-7)] de la dicetona [4]. Lo mismo ocurre al comparar los valores de C-8 y C-9 de los tres compuestos [δ_C : 46,1 (C-8) y δ_C : 209,7 (C-9) para [12]; δ_C : 46,2 (C-8) y δ_C : 210,4 (C-9) para [14] y δ_C : 46,3 (C-8) y δ_C : 210,8 (C-9) para [4)]. Así pues, se concluye que el anillo cicloheptánico de los compuestos [4], [12] y [14] tienen igual patrón de sustitución.
2. Los compuestos [13] y [15] muestran en sus espectros de RMN-¹H un par de dobletes que corresponden a protones metilénicos diasterotópicos, cuyo desplazamiento químico indica que están ubicados en posición α a dos carbonos cetónicos [δ_H : 4,31, *d*, *J* = 11,2 Hz ($>\underline{\text{C}}\text{H}_2$; H-8); δ_H : 3,86, *d*, *J* = 11,2 Hz ($>\underline{\text{C}}\text{H}_2$; H-8') y δ_C : 57,7 ($>\underline{\text{C}}\text{H}_2$; C-8) para [13] y δ_H : 4,26, *m*, ($>\underline{\text{C}}\text{H}_2$; H-8); δ_H : 3,98, *d*, *J* = 11,2 Hz ($>\underline{\text{C}}\text{H}_2$; H-8') y δ_C : 58,2 ($>\underline{\text{C}}\text{H}_2$; C-8) para [15]].

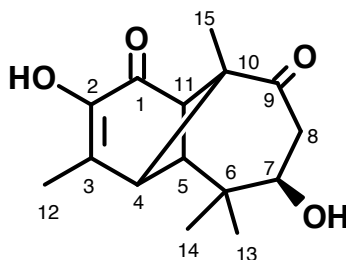
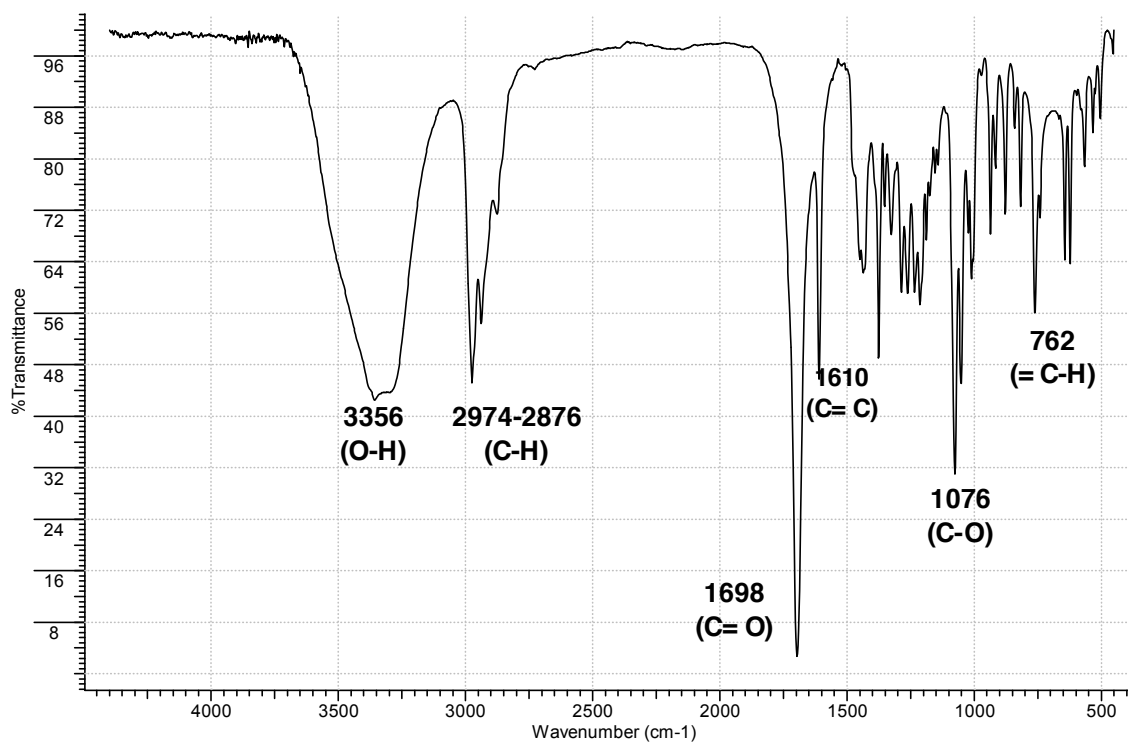
(*) Es probable que de prolongar el tiempo de reacción el número de productos de obtenidos se reduzca, según el mecanismo planteado (Esquema VIII), a la formación del compuesto [15].

Los desplazamientos, la multiplicidad y la constante de acoplamiento de los metilenos de **[13]** y **[15]** son muy similares a los protones H-8 de la tricetona **[5]**. A su vez, al contrastar los valores de los carbonos cetónicos C-7 y C-9 de **[5]** con los picos más desapantallados observados en los espectros de RMN-¹³C de los productos **[13]** y **[15]** (Fig. 13C; Tabla 13C y Fig. 15C; Tabla 15C) se podrá constatar que poseen desplazamientos muy parecidos. De esta forma se concluye que el anillo cicloheptánico de los compuestos **[5]**, **[13]** y **[15]** tiene igual patrón de sustitución.

3. Los picos correspondientes a los carbonos C-1, C-2, C-3 y C-12 del compuesto **[10]** (Fig. 10C; Tabla 10C) tienen un desplazamiento químico aproximadamente igual a los carbonos asignados como C-1, C-2 C-3 y C-12 de productos **[12]** y **[13]** (Fig. 12C; Tabla 12C y Fig. 13C; Tablas 13C). Con base en esto, queda establecido que la conformación estructural del anillo ciclohexánico de los compuestos **[10]**, **[12]** y **[13]** es la misma.
4. Los espectros de RMN-¹H y RMN-¹³C de los productos **[14]** y **[15]** en contraste con los de **[10]**, revelan la aparición de un metino olefínico [δ_{H} : 6,02, *s*, (= CH; H-2) y δ_{C} : 122,9 (= CH; C-2) para **[14]** y δ_{H} : 6,09, *m*, (= CH; H-2) y δ_{C} : 123,1 (= CH; C-2) para **[15]**]. Esto indica que el doble enlace del compuesto de partida **[10]** paso a ser trisustituido. También es notoria la ausencia del metilo alílico y la aparición de un nuevo metileno oxigenado [δ_{H} : 4,21, *sa*, (> CH₂-OH; H-12) y δ_{C} : 45,2 (> CH₂-OH; C-12) para **[14]** y δ_{H} : 4,25, *m*, (> CH₂-OH; H-12) y δ_{C} : 45,3 (> CH₂-OH; C-12) para **[15]**]. Así pues, se puede afirmar que el metilo asignado como C-12 en el compuesto **[10]** fue oxidado a un alcohol primario.

Con base en lo anteriormente expuesto, queda establecida la estructura de los productos **[12]**, **[13]**, **[14]** y **[15]**. Como habría de esperarse, todos presentan oxidaciones en los hidroxilos del anillo cicloheptánico. Sin embargo, la reducción de C-2 en los compuestos **[13]** y **[15]** es una reacción inesperada. La propuesta mecanística para explicar la formación de dichos productos consiste en una etapa inicial en la que se protona la ciclohexenona del sustrato de partida **[10]** seguido de formación de una olefina exocíclica entre C-3/C-12 (Esquema IX). El intermediario de reacción **[10a]** puede evolucionar de dos formas: en la ruta I la desprotonación del hidroxilo enólico origina la cetona **[10b]**. La protonación del hidroxilo ubicado en posición α con respecto a la cetona promueve el ataque de una molécula de agua sobre el metileno C-12. En este punto, la formación de los productos **[13]** y **[15]** se encuentra favorecida debido a la formación del sistema conjugado. En la ruta II, se desprotona el hidroxilo ubicado en C-2 hasta formar la cetona **[10c]**. Finalmente, el intermedio **[10c]** evoluciona hasta los productos **[13]** y **[15]**.

**Figura 12A: Espectro Infrarrojo (KBr)
de la 2,7β-dihidroxi-longipin-2-eno-1,9-diona [12]**



**Tabla 12A: Bandas de Absorción Significativas en el Espectro Infrarrojo
(KBr) de la 2,7β-dihidroxi-longipin-2-eno-1,9-diona [12]**

$\nu_{\text{máx.}} (\text{cm}^{-1})$	3356	2974	1698	1610	1076	762
Asignación	O-H	C-H	C=O	C=C	C-O	=C-H

Figura 12B: Espectro de RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), de la 2,7β-dihidroxi-longipin-2-eno-1,9-diona [12]

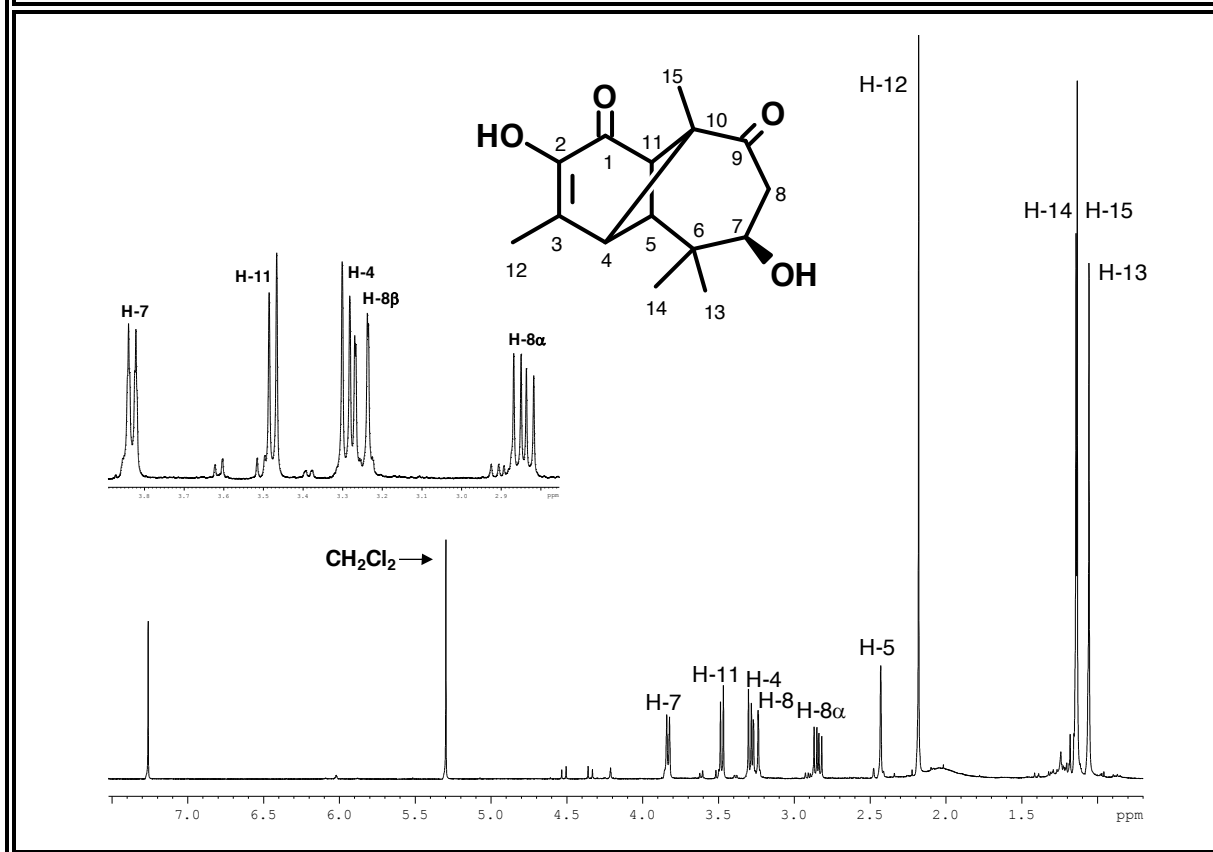


Tabla 12B: Desplazamientos Químicos (δ) en el Espectro de RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), de la 2,7β-dihidroxi-longipin-2-eno-1,9-diona [12]

H	H-4	H-5	H-7	H-8	H-8'
δ (ppm)	3,29	2,43	3,83	3,25	2,84
m	<i>d</i>	<i>s</i>	<i>dd</i>	<i>dd</i>	<i>dd</i>
J(Hz)	7,6	-	6,2 y 1,2	12,7 y 1,2	12,7 y 7,4
H	H-11	H-12	H-13	H-14	H-15
δ (ppm)	3,48	2,18	1,06	1,14	1,13
m	<i>d</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>s</i>
J(Hz)	7,6	-	-	-	-

Figura 12C: Espectro de RMN-¹³C (CDCl₃, 100 MHz), de la 2,7β-dihidroxi-longipin-2-eno-1,9-diona [12]

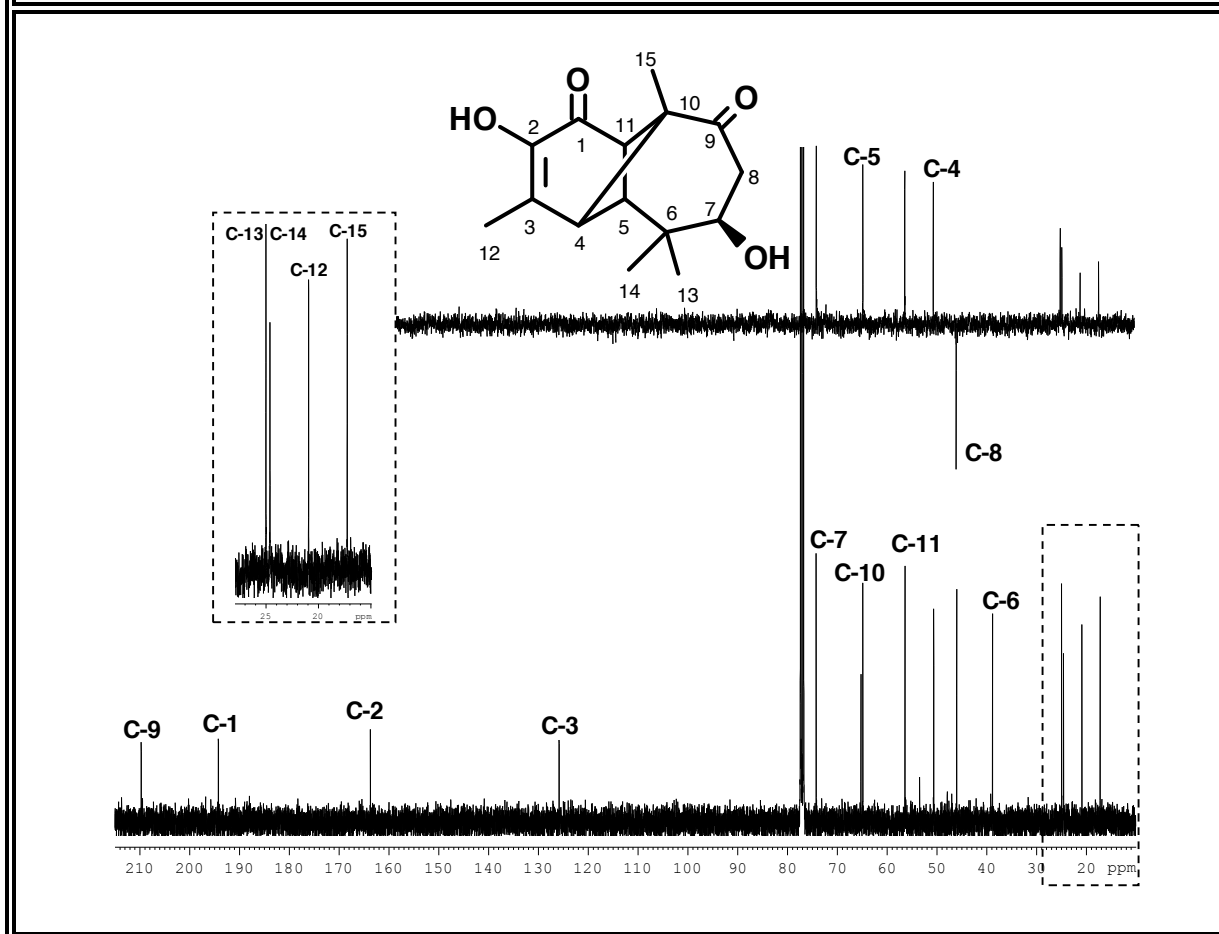
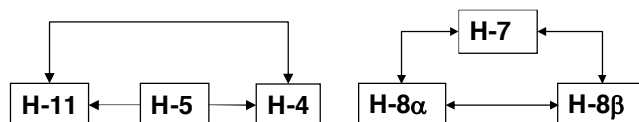
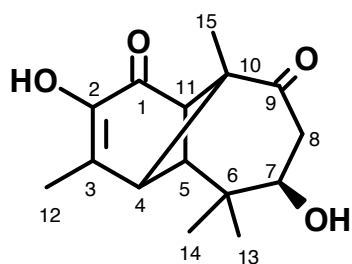
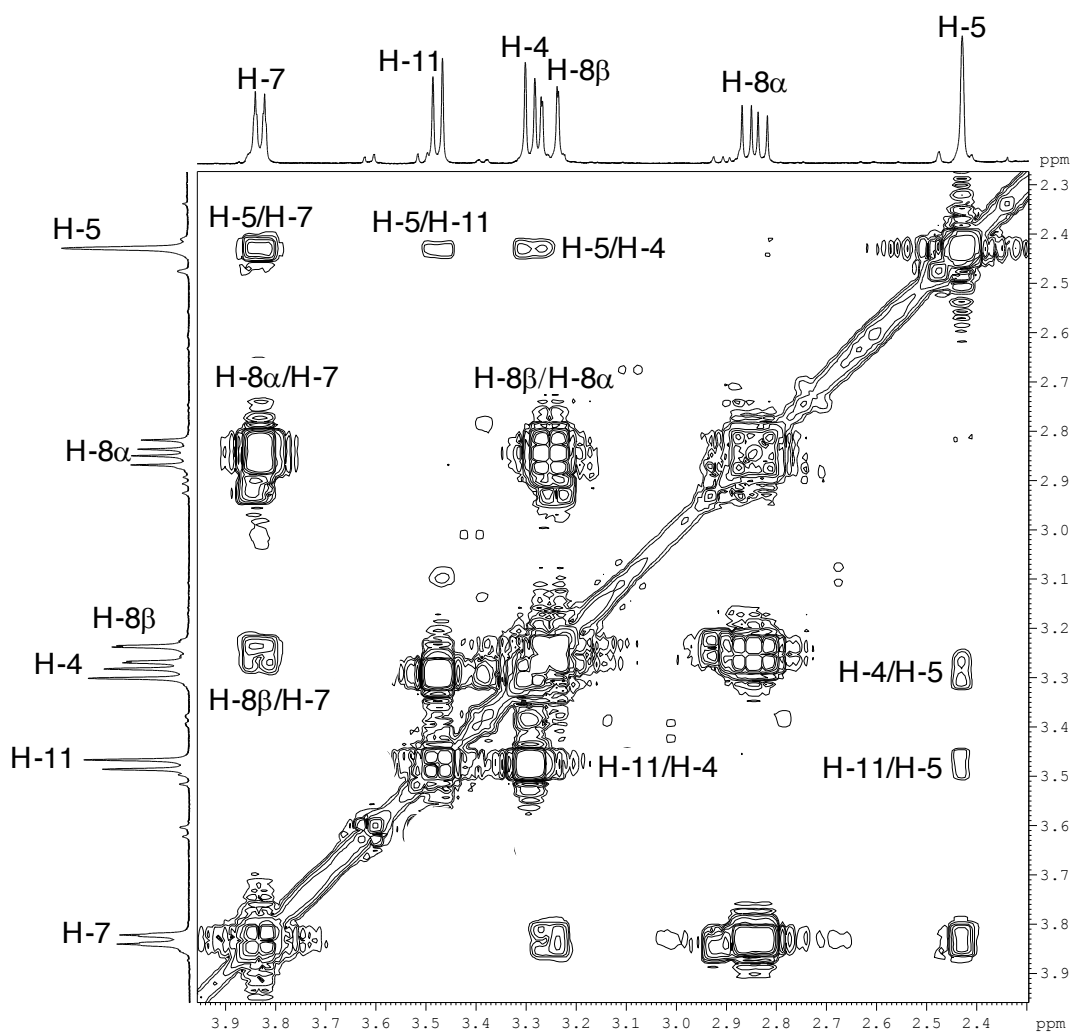


Tabla 12C: Desplazamientos Químicos (δ) en el Espectro de RMN-¹³C (CDCl₃, 100 MHz), de la 2,7β-dihidroxi-longipin-2-eno-1,9-diona [12]

C	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	C-7	C-8
δ	194,2	163,7	125,8	50,7	64,9	38,9	74,3	46,1
Tipo	> C=O	= C-OH	= C<	> CH	> CH	> C<	-CH-O-	-CH ₂
C	C-9	C-10	C-11	C-12	C-13	C-14	C-15	Valores de δ, relativos al TMS como referencia interna
δ	209,7	65,3	56,4	20,9	25,0	24,6	17,3	
Tipo	> C=O	> C<	> CH	-CH ₃	-CH ₃	-CH ₃	-CH ₃	

Figura 12D: Espectro $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY (CDCl₃) de la 2,7 β -dihidroxitongipin-2-eno-1,9-diona [12]



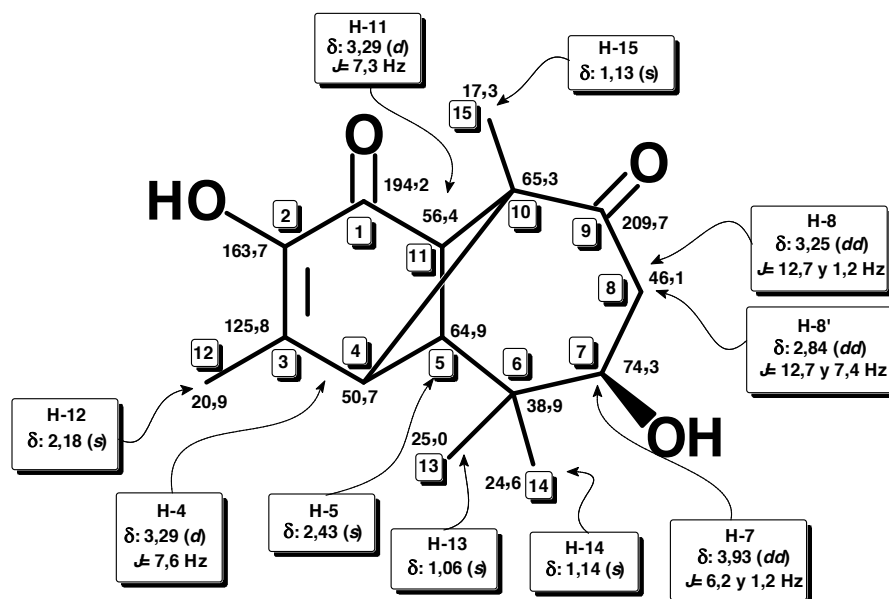


Figura 12E: Espectro HMQC (CDCl_3)
de la 2,7β-dihydroxilongipin-2-eno-1,9-diona [12]

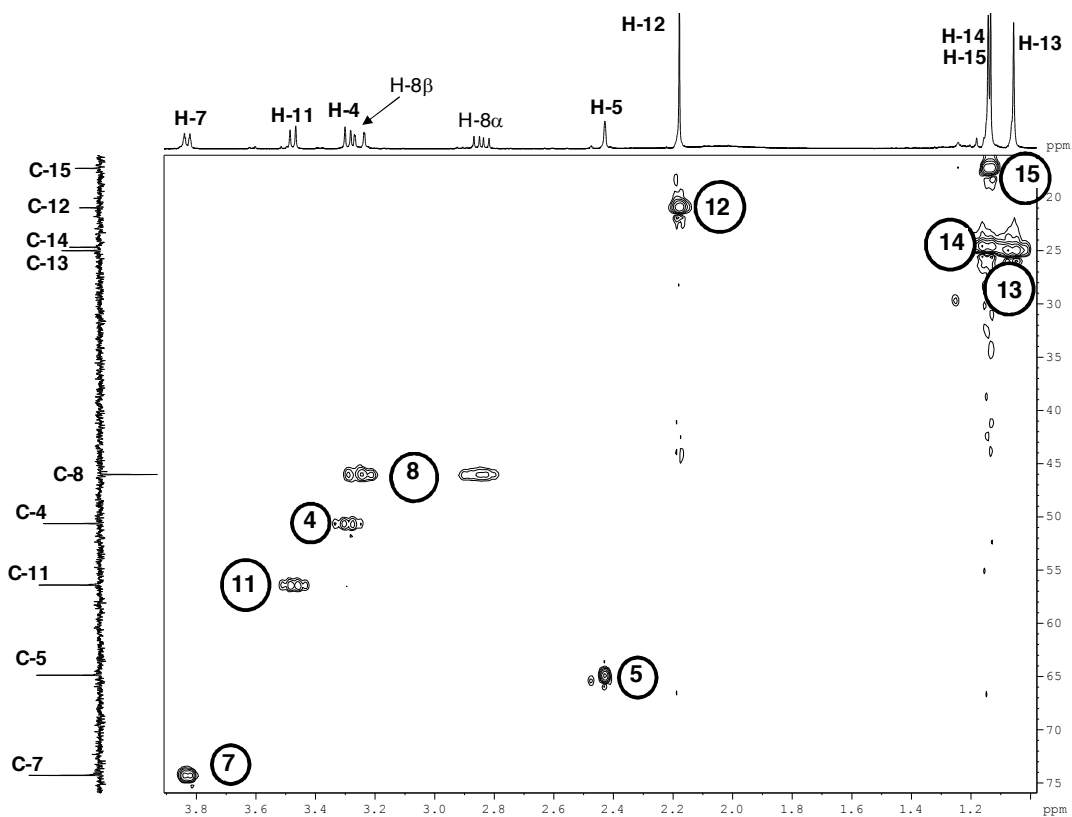
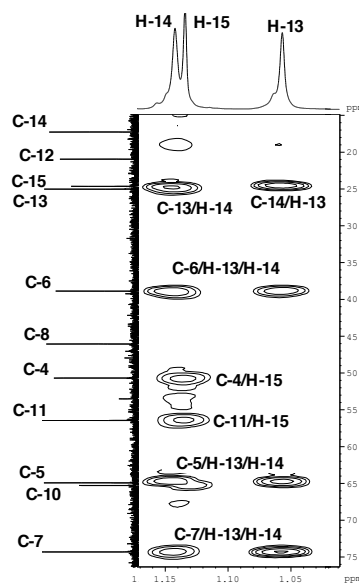
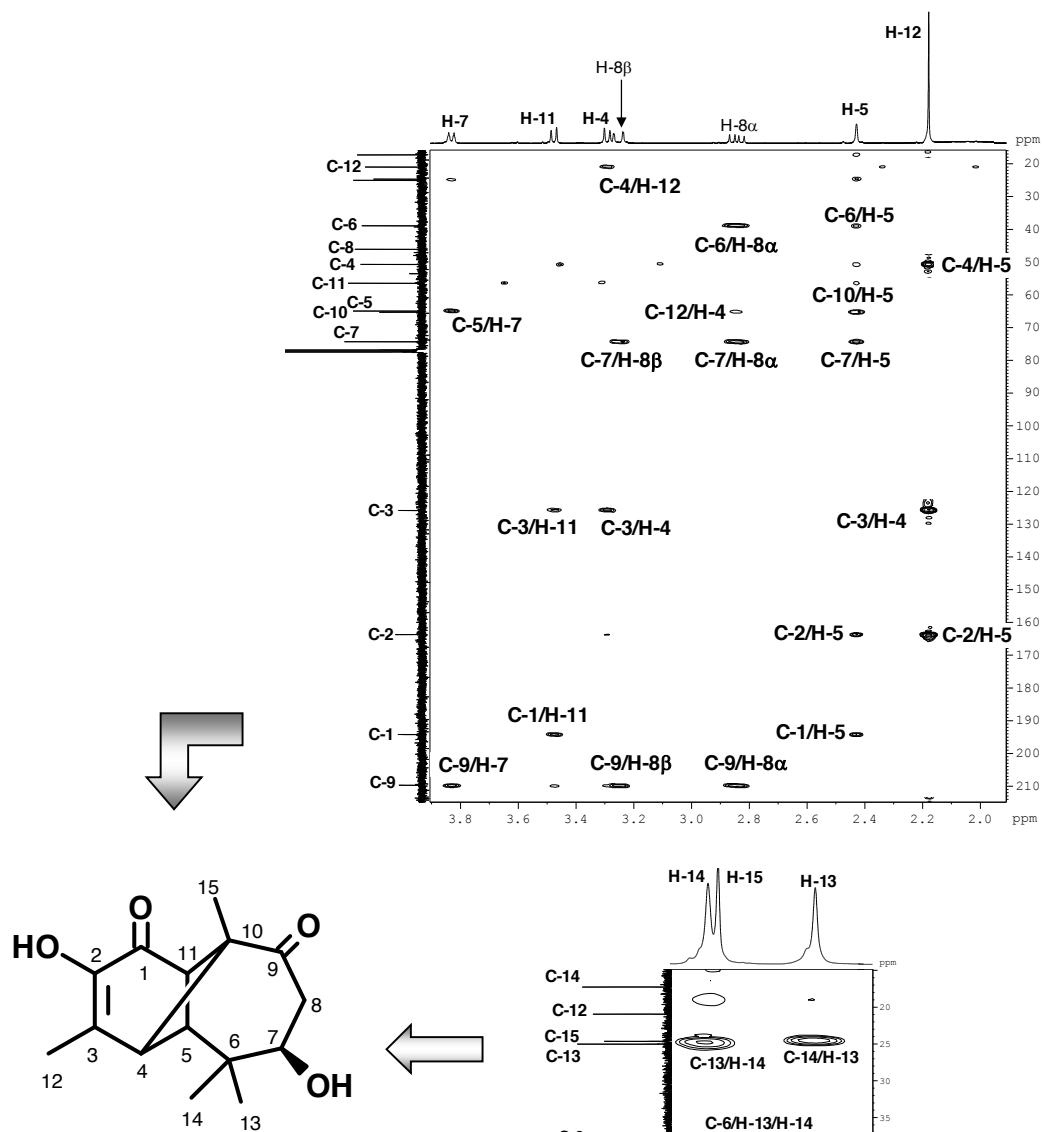
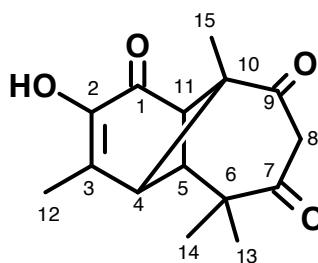
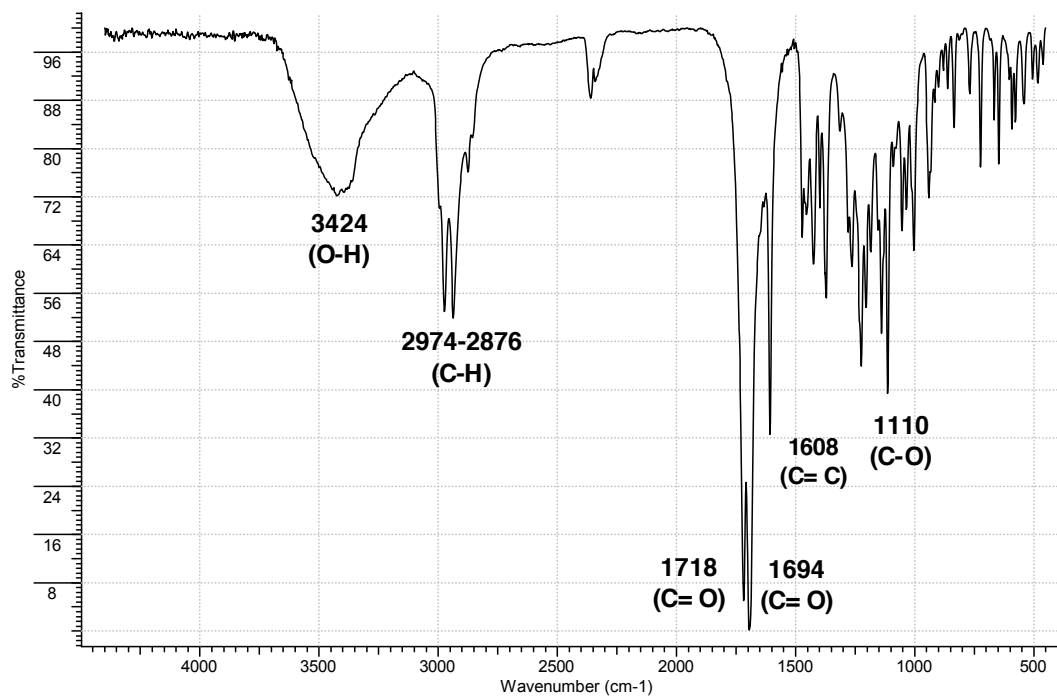


Figura 12F: Espectro HMBC (CDCl₃)
de la 2,7-dihidroxi-longipin-2-eno-1,9-diona [12]



**Figura 13A: Espectro Infrarrojo (KBr)
de la 2-hidroxi-longipin-2-eno-1,7,9-triona [13]**



**Tabla 13A: Bandas de Absorción Significativas en el Espectro Infrarrojo
(KBr) de la 2-hidroxi-longipin-2-eno-1,7,9-triona [13]**

$\nu_{\text{máx.}} (\text{cm}^{-1})$	3424	2974 y 2876	1718 y 1694	1608	1110
Asignación	O-H	C-H	C=O	C=C	C-O

Figura 13B: Espectro de RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), de la 2-hidroxilongipin-2-eno-1,7,9-triona [13]

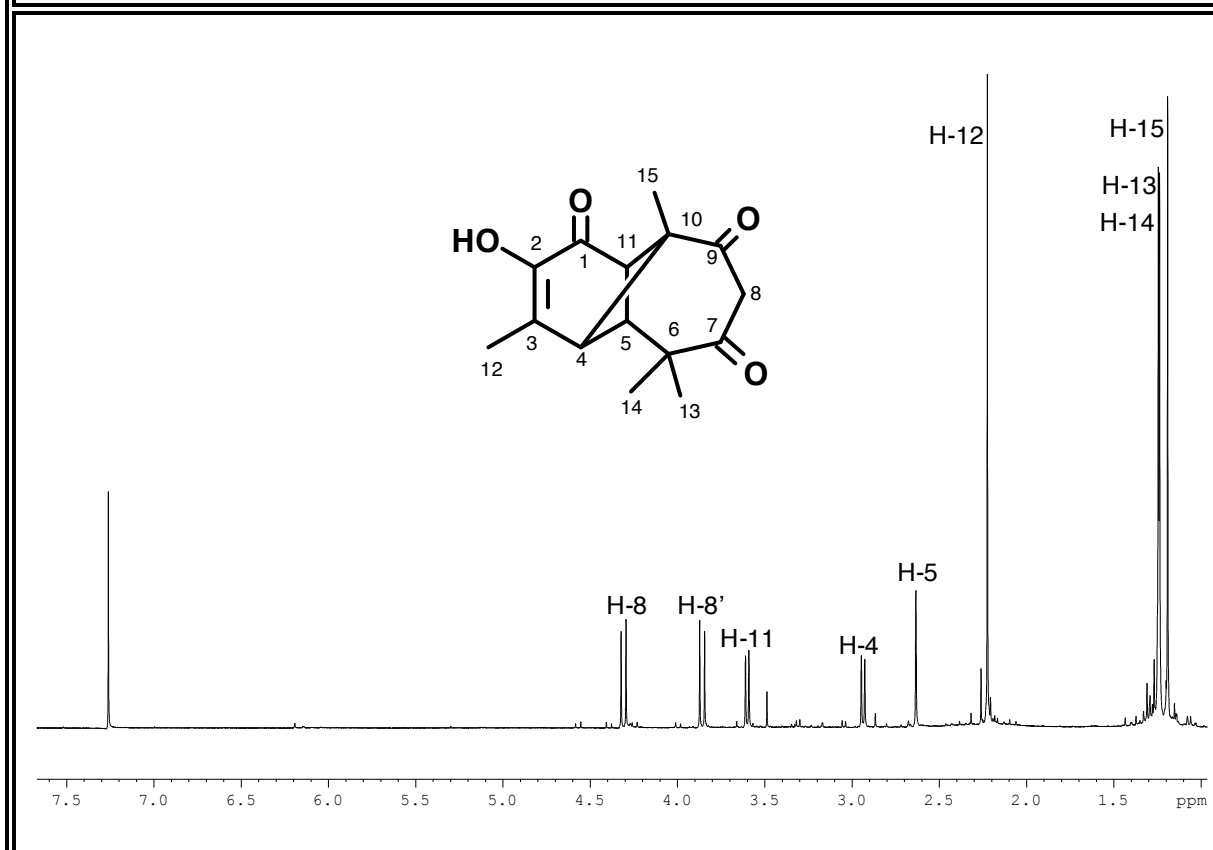


Tabla 13B: Desplazamientos Químicos (δ) en el Espectro de RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), de la 2-hidroxilongipin-2-eno-1,7,9-triona [13]

H	H-4	H-5	H-8	H-8'	H-11
δ (ppm)	2,94	2,63	4,31	3,86	3,60
m	<i>d</i>	<i>s</i>	<i>d</i>	<i>d</i>	<i>d</i>
<i>J</i>(Hz)	7,8	-	11,2	11,2	7,8
H	H-12	H-13	H-14	H-15	Valores de δ , relativos al TMS como referencia interna
δ (ppm)	2,22	1,23	1,24	1,19	
m	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	
<i>J</i>(Hz)	-	-	-	-	

Figura 13C: Espectro de RMN-¹³C (CDCl₃, 100 MHz), de la 2-hidroxi-longipin-2-eno-1,7,9-triona [13]

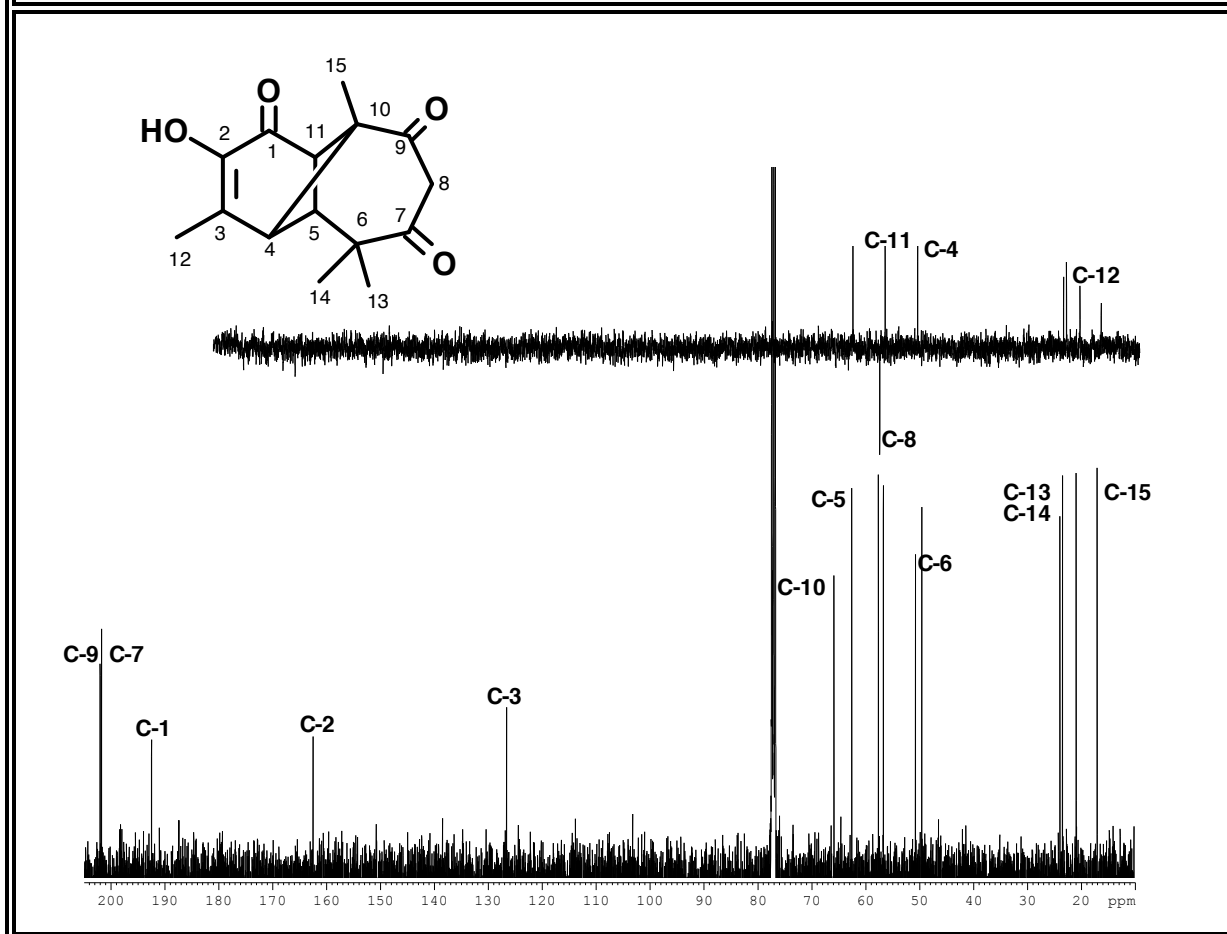
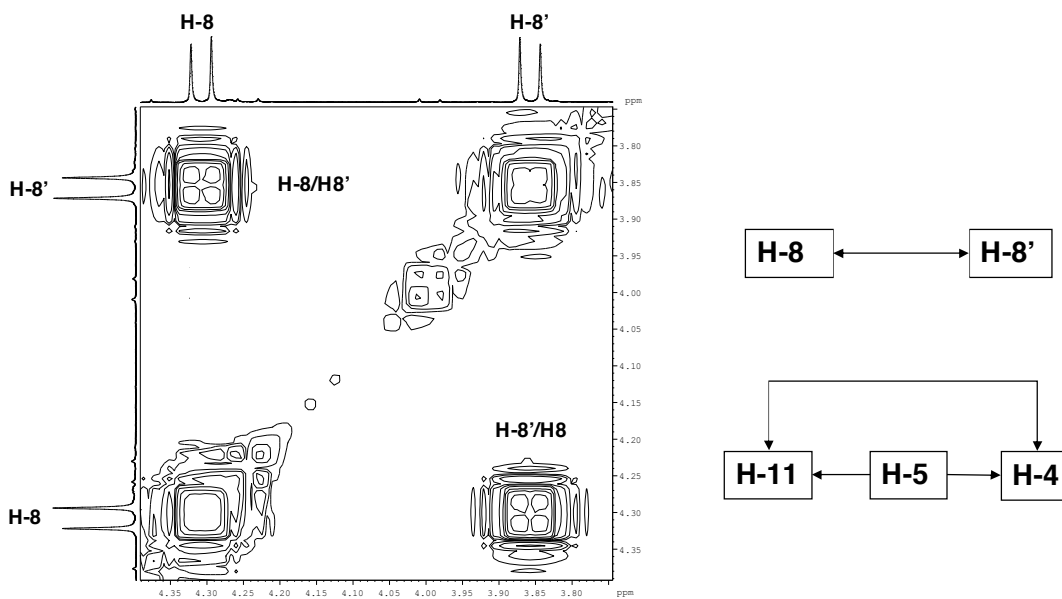
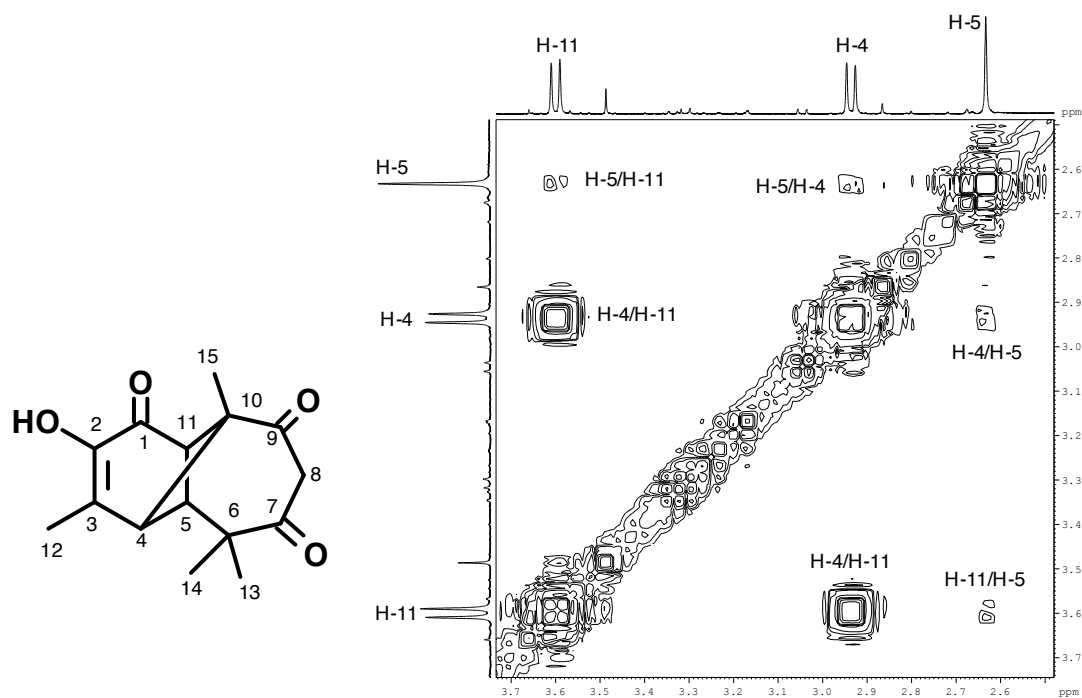


Tabla 13C: Desplazamientos Químicos (δ) en el Espectro de RMN-¹³C (CDCl₃, 100 MHz), de la 2-hidroxi-longipin-2-eno-1,7,9-triona [13]

C	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	C-7	C-8
δ	192,4	162,5	126,6	50,8	62,6	49,6	201,7	57,7
Tipo	> C=O	= C-OH	= C<	> CH	> CH	> C<	> C=O	-CH ₂
C	C-9	C-10	C-11	C-12	C-13	C-14	C-15	Valores de δ , relativos al TMS como referencia interna
δ	202,0	65,9	56,7	21,0	24,0	23,5	17,1	
Tipo	> C=O	> C<	> CH	-CH ₃	-CH ₃	-CH ₃	-CH ₃	

Figura 13D: Espectro $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY (CDCl_3), de la 2-hidroxilongipin-2-eno-1,7,9-triona [13]



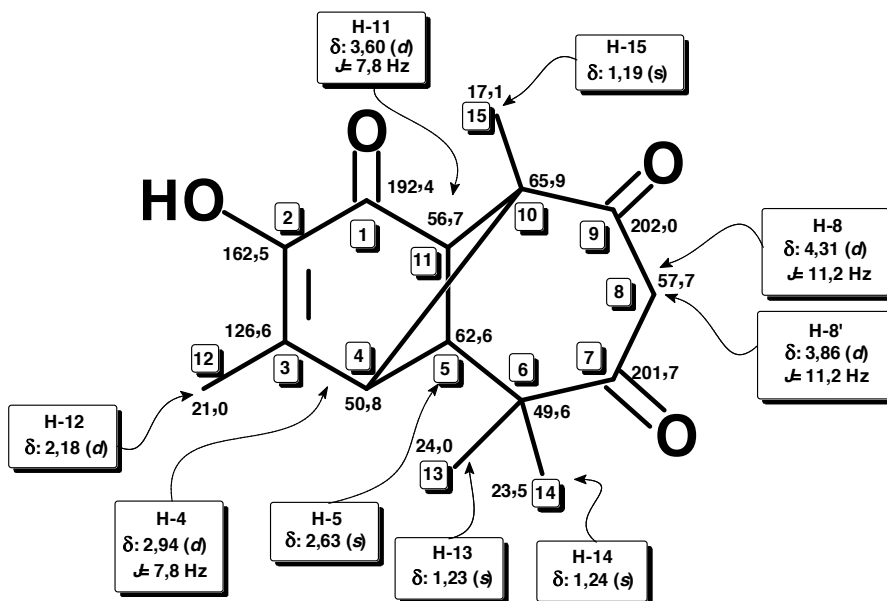
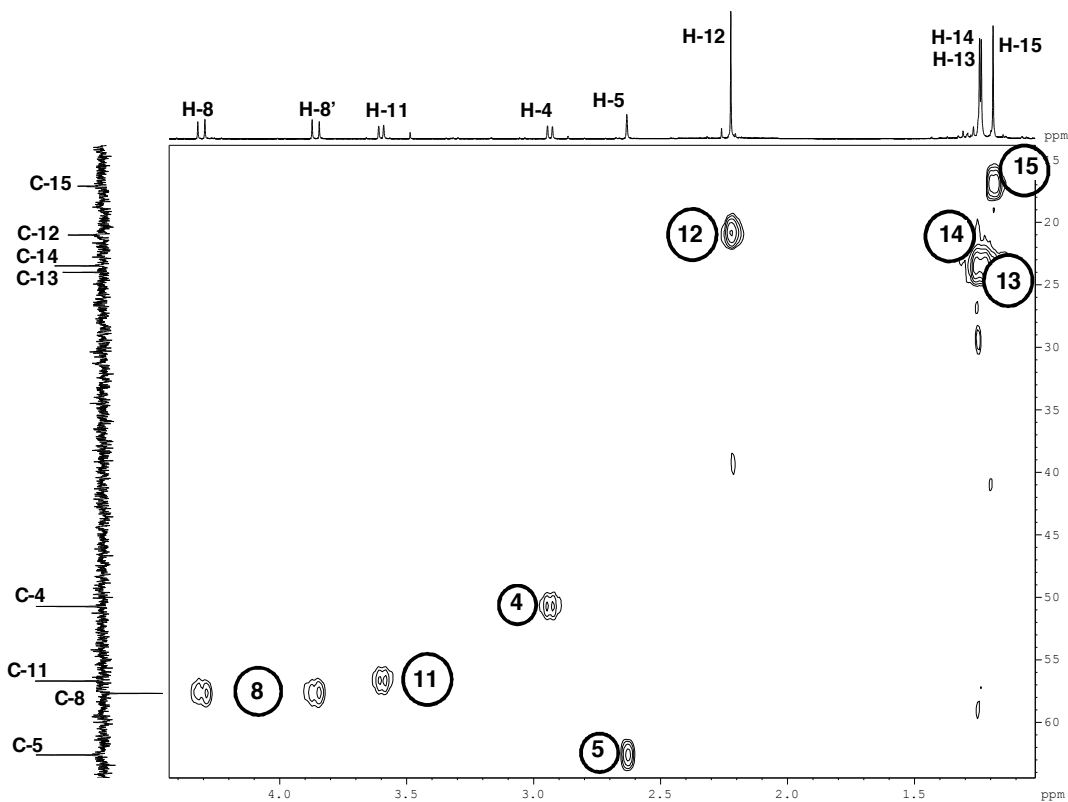
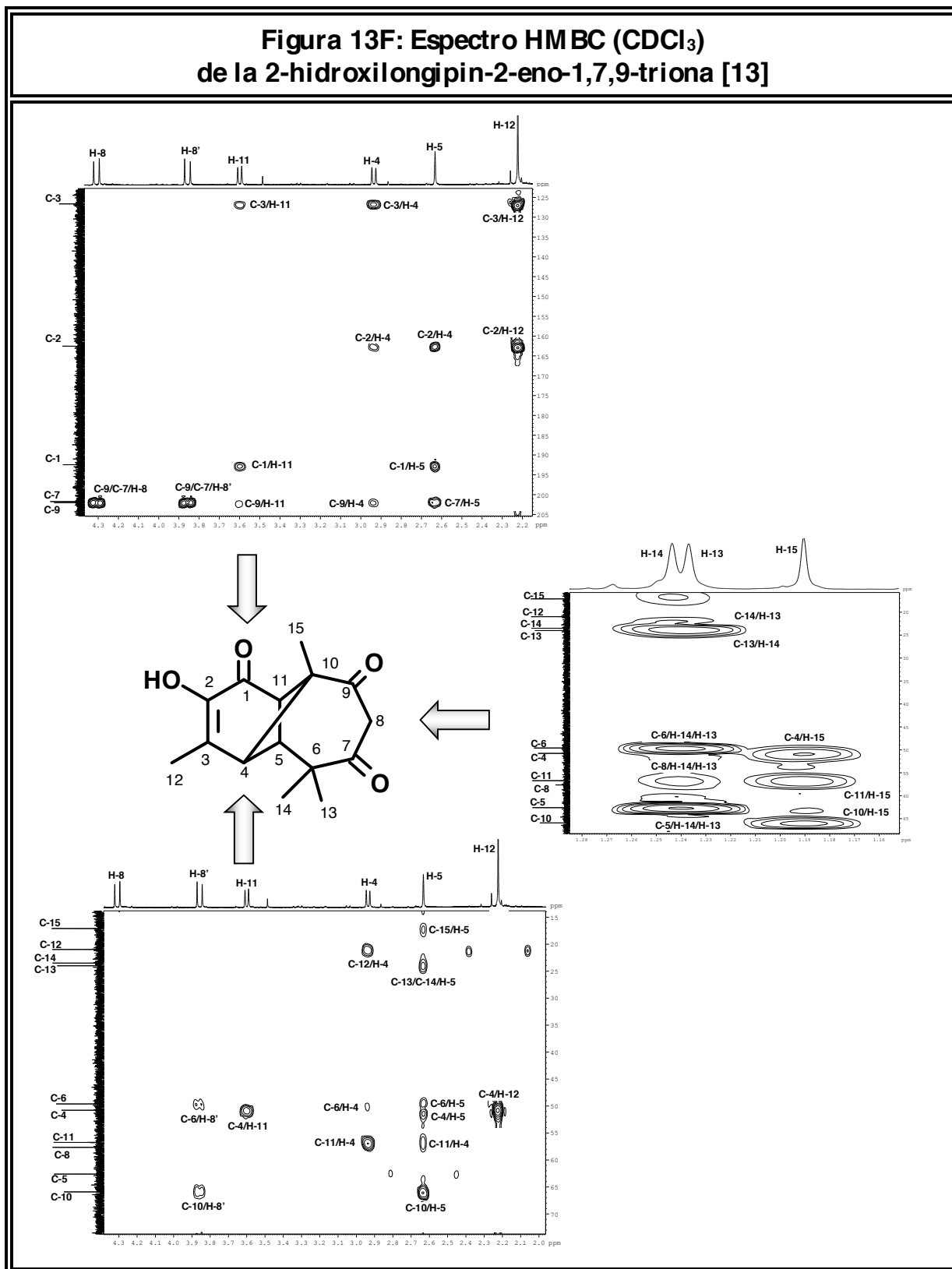


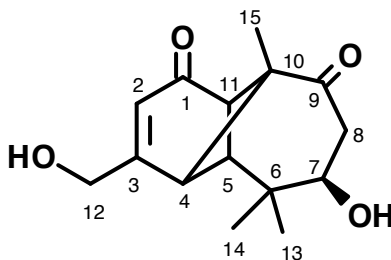
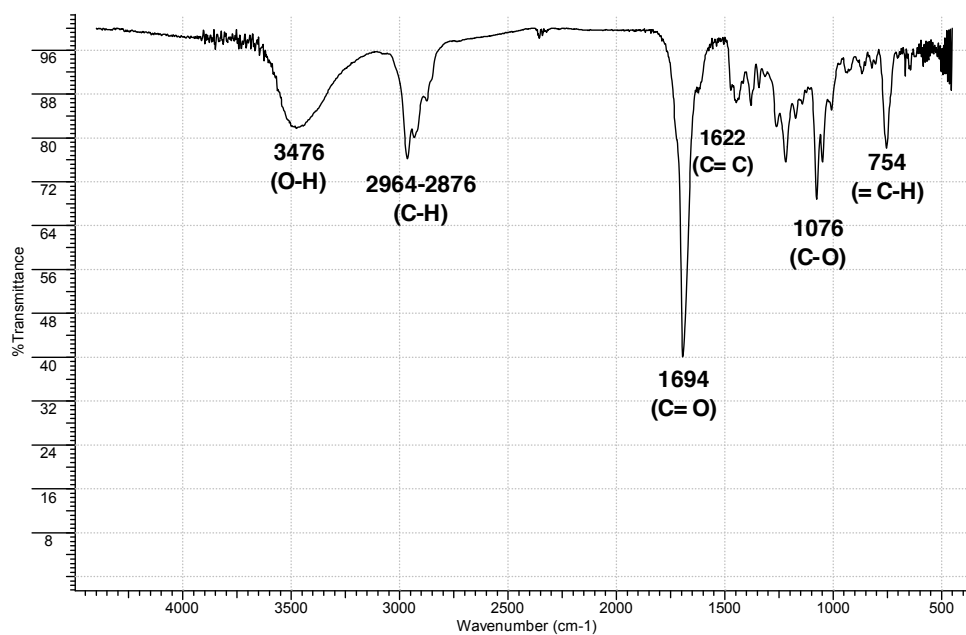
Figura 13E: Espectro HMQC (CDCl_3) de la 2-hidroxilongipin-2-eno-1,7,9-triona [13]



**Figura 13F: Espectro HMBC (CDCl_3)
de la 2-hidroxilongipin-2-eno-1,7,9-triona [13]**



**Figura 14A: Espectro Infrarrojo (KBr)
de la 7 β ,12-dihidroxi-longipin-2-eno-1,9-diona [14]**



**Tabla 14A: Bandas de Absorción Significativas en el Espectro Infrarrojo
(KBr) de la 7 β ,12-dihidroxi-longipin-2-eno-1,9-diona [14]**

$\nu_{\text{máx.}} \text{ (cm}^{-1}\text{)}$	3476	2964-2876	1694	1622	1076	754
Asignación	O-H	C-H	C=O	C=C	C-O	=C-H

Figura 14B: Espectro de RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), de la 7β,12-dihidroxi-longipin-2-eno-1,9-diona [14]

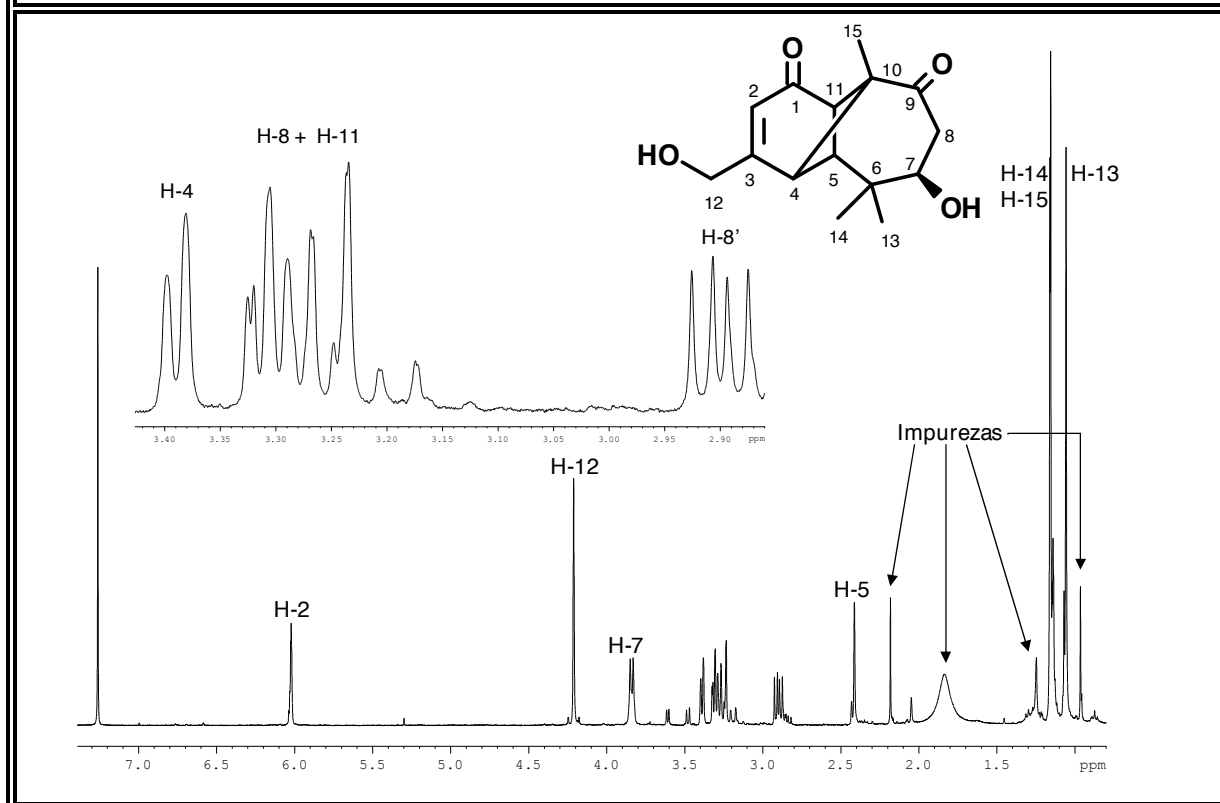


Tabla 14B: Desplazamientos Químicos (δ) en el Espectro de RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), de la 7β,12-dihidroxi-longipin-2-eno-1,9-diona [14]

H	H-2	H-4	H-5	H-7	H-8	H-8'
δ (ppm)	6,02	3,39	2,41	3,84	3,26	2,90
m	s	d	s	d	m	dd
J(Hz)	-	6,8	-	7,7	-	12,7 y 7,6
H	H-11	H-12	H-13	H-14	H-15	Valores de δ , relativos al TMS como referencia interna
δ (ppm)	3,26	4,21	1,06	1,16	1,15	
m	m	sa	s	s	s	
J(Hz)	-	-	-	-	-	

Figura 14C: Espectro de RMN-¹³C (CDCl₃, 100 MHz), de la 7β,12-dihidroxi-longipin-2-eno-1,9-diona [14]

Debido a la baja intensidad de los picos de los carbonos de la muestra [14], los desplazamientos químicos de varios de los carbonos fueron establecidos por medio de los espectros HMQC (Fig. 14E) y HMBC (Fig. 14F).

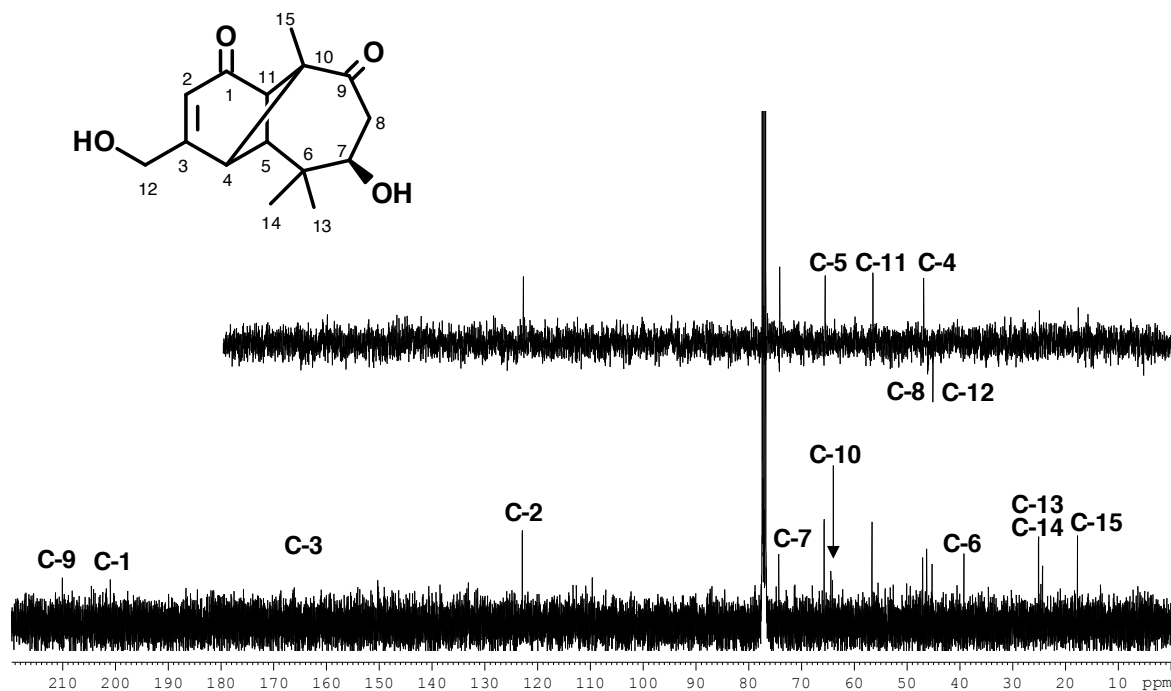
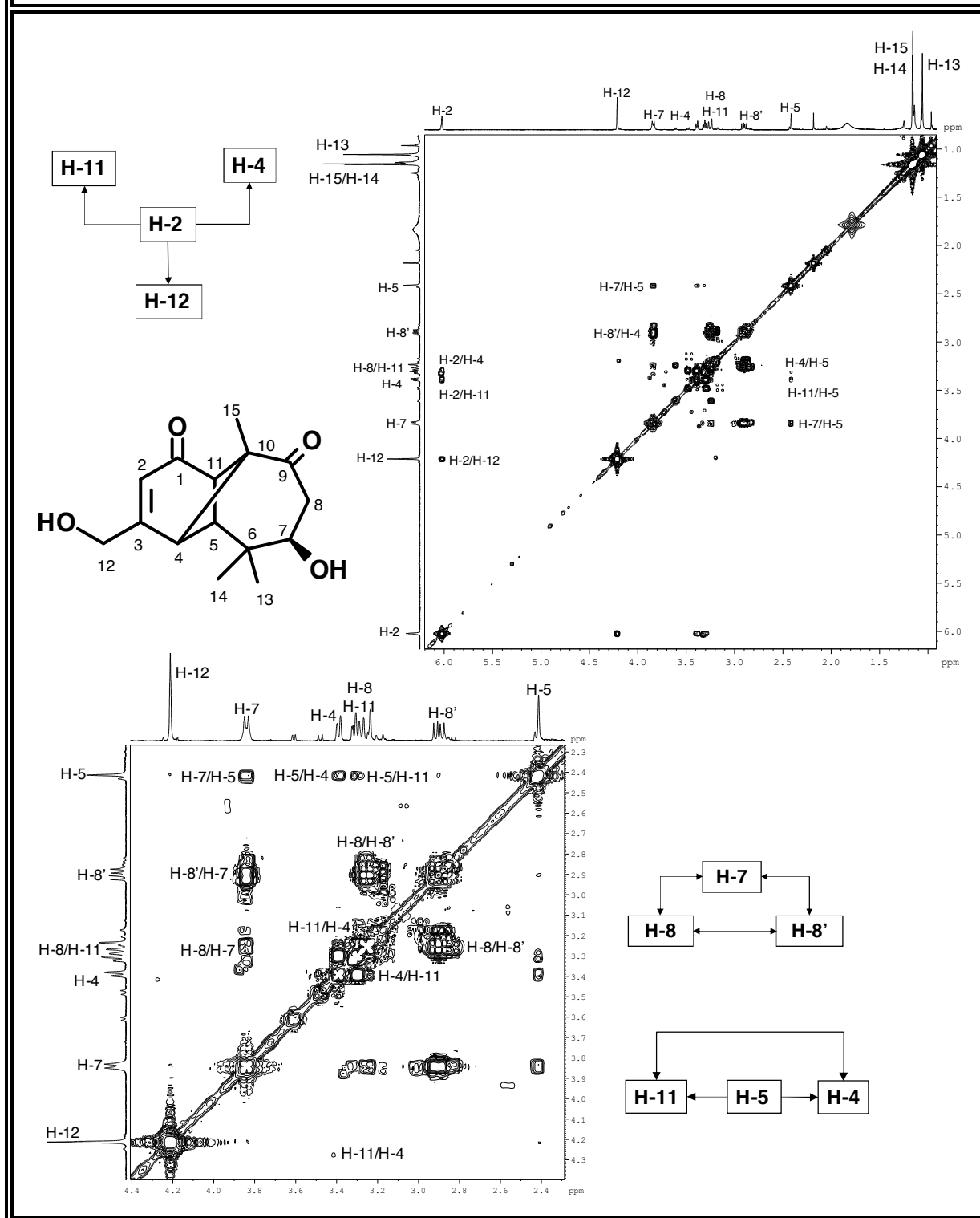


Tabla 14C: Desplazamientos Químicos (δ) en el Espectro de RMN-¹³C (CDCl₃, 100 MHz), de la 7β,12-dihidroxi-longipin-2-eno-1,9-diona [14]

C	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	C-7	C-8
δ	201,3	122,9	166,2	46,8	65,6	39,3	74,3	46,2
Tipo	> C=O	=CH	=C<	>CH	>CH	>C<	-CH-O-	-CH ₂
C	C-9	C-10	C-11	C-12	C-13	C-14	C-15	Valores de δ , relativos al TMS como referencia interna
δ	210,4	64,0	56,6	45,2	25,0	24,4	17,6	
Tipo	>C=O	>C<	>CH	-CH ₂	-CH ₃	-CH ₃	-CH ₃	

**Figura 14D: Espectro $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY (CDCl_3)
de la 7 β ,12-dihidroxi-longipin-2-eno-1,9-diona [14]**



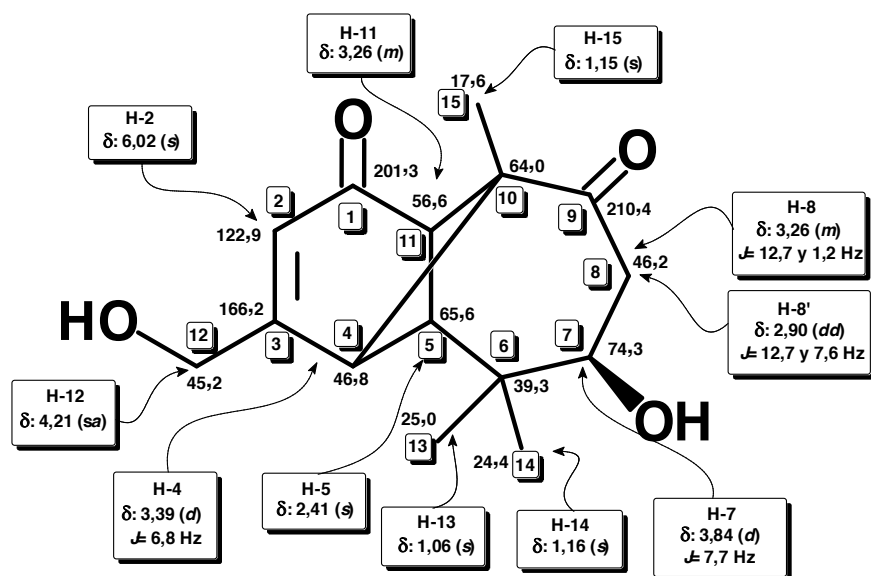
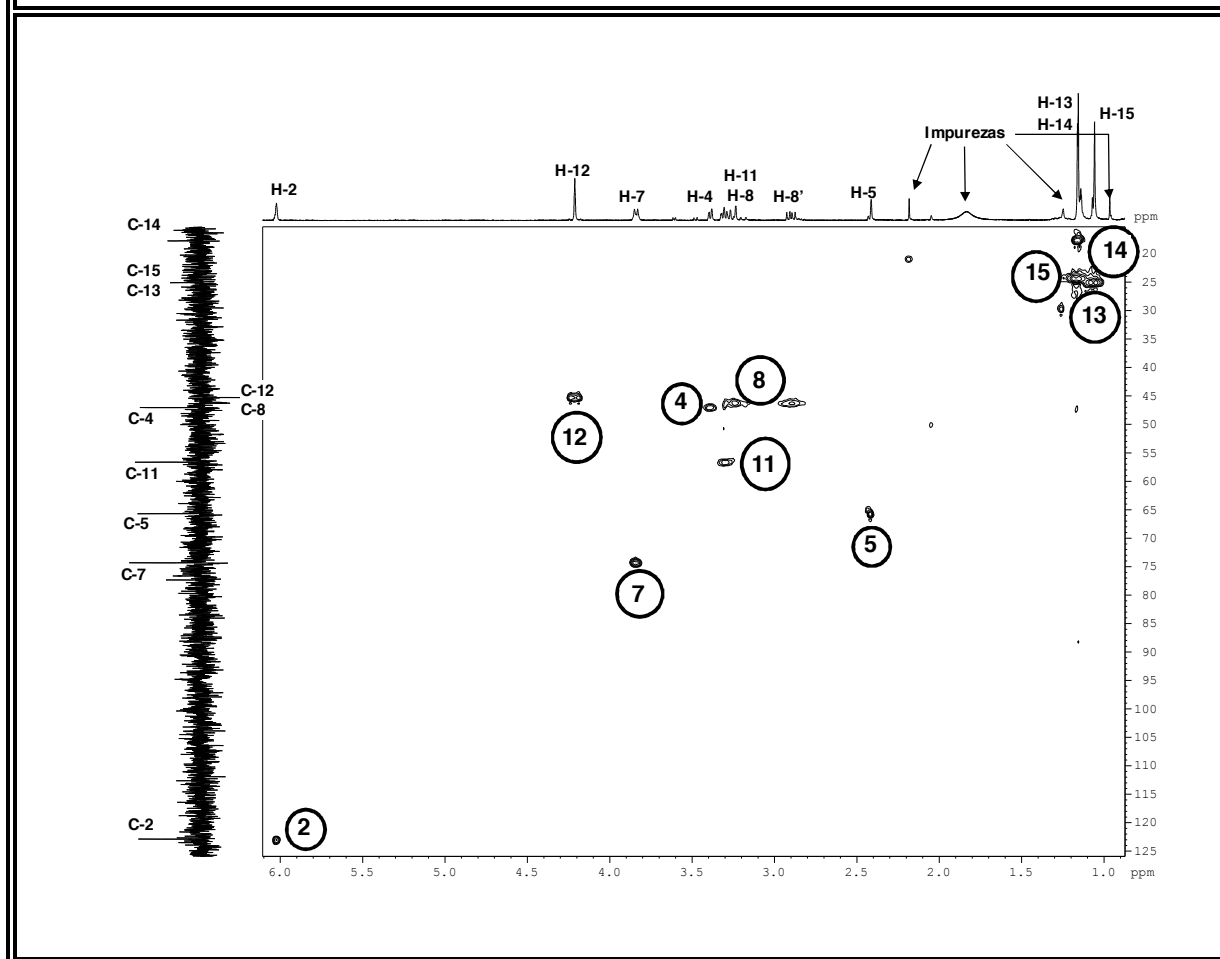
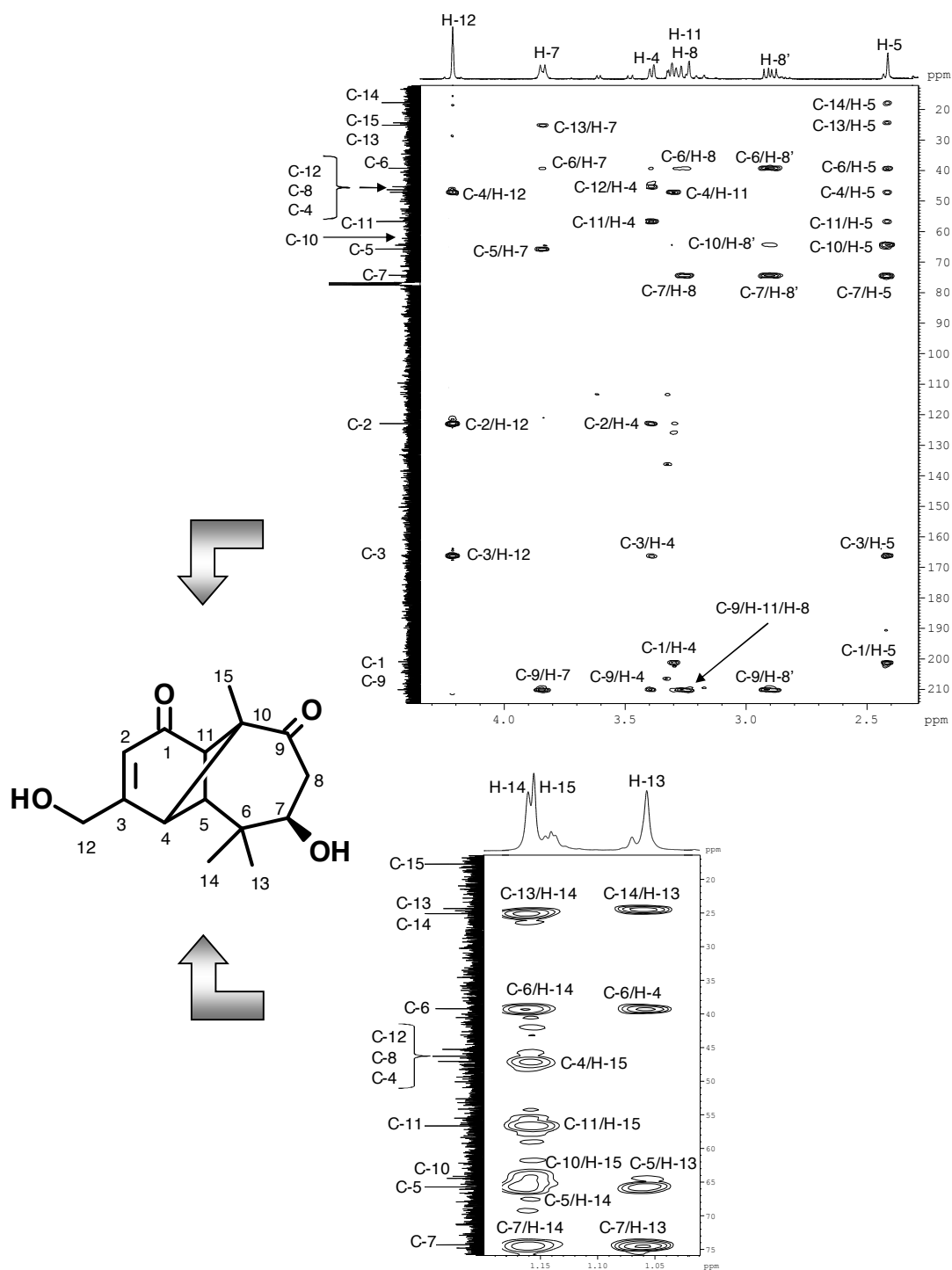


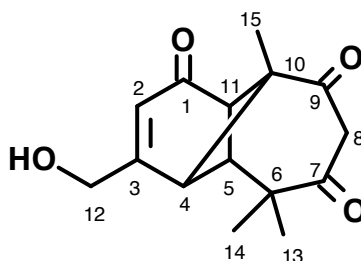
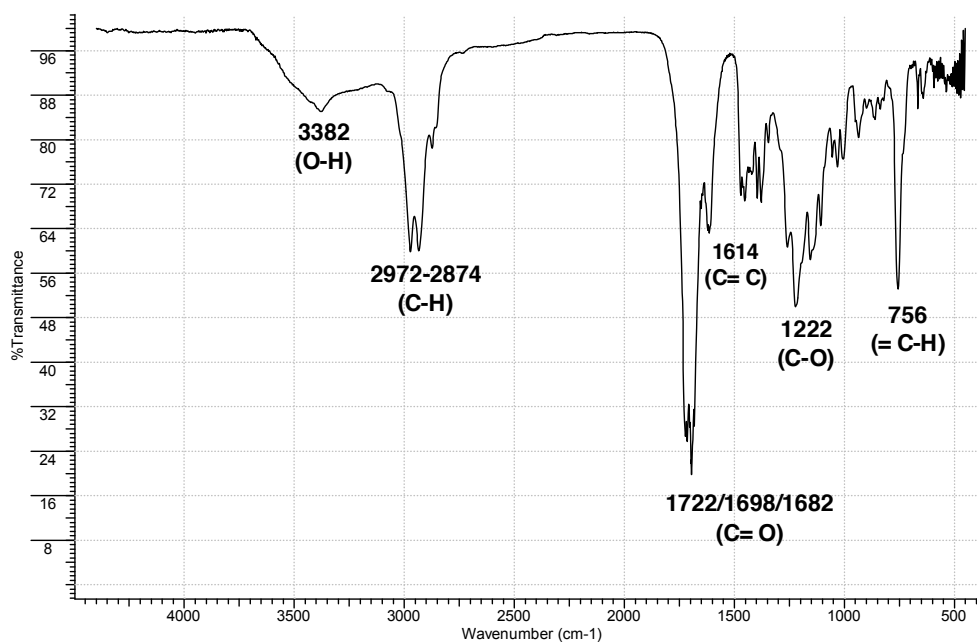
Figura 14E: Espectro HMQC (CDCl_3) de la 7 β ,12-dihydroxilongipin-2-eno-1,9-diona [14]



**Figura 14F: Espectro HMBC (CDCl₃)
de la 7β,12-dihidroxi-longipin-2-eno-1,9-diona [14]**



**Figura 15A: Espectro Infrarrojo (KBr)
de la 12-hidroxi longipin-2-eno-1,7,9-triona [15]**



**Tabla 15A: Bandas de Absorción Significativas en el Espectro Infrarrojo
(KBr) de la 12-hidroxi longipin-2-eno-1,7,9-triona [15]**

$\nu_{\text{máx.}} \text{ (cm}^{-1}\text{)}$	3382	2972-2874	1722-1698-1682	1614	1222	756
Asignación	O-H	C-H	C=O	C=C	C-O	=C-H

Figura 15B: Espectro de RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), de la 12-hidroxi-longipin-2-eno-1,7,9-triona [15]

El compuesto [15] fue aislado como una mezcla junto con la tricetona [13]. Las señales correspondientes a [13] se indican mediante línea discontinua.

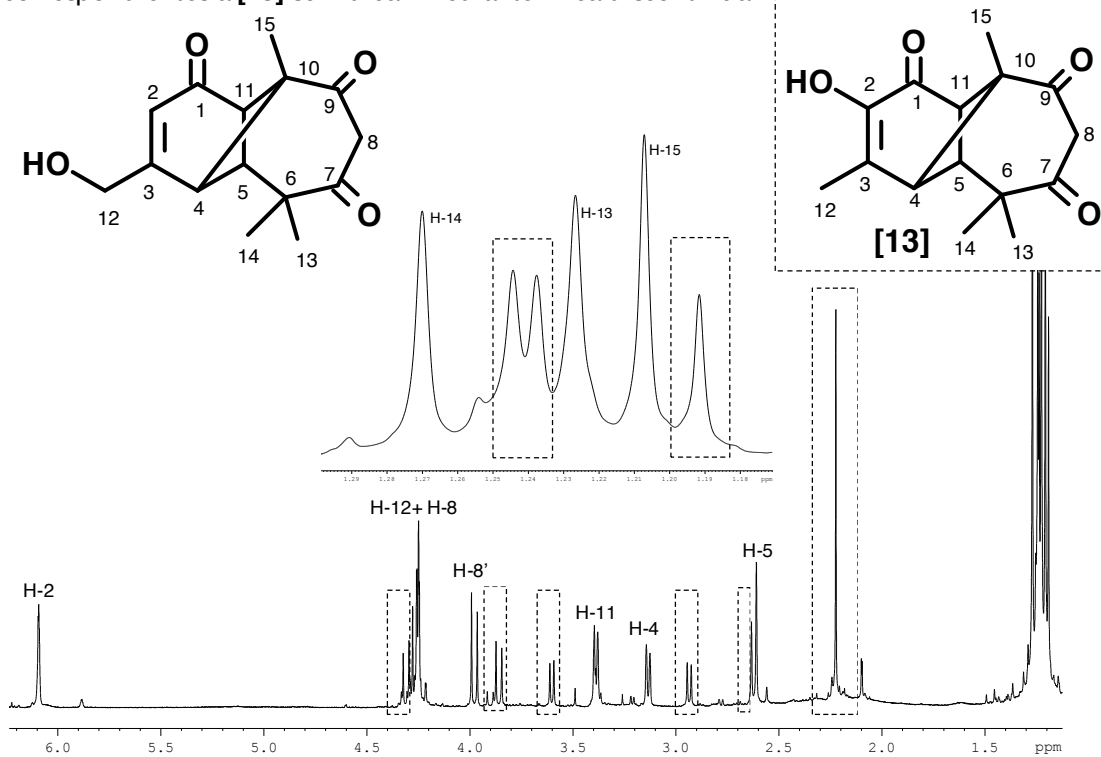


Tabla 15B: Desplazamientos Químicos (δ) en el Espectro de RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), de la 12-hidroxi-longipin-2-eno-1,7,9-triona [15]

H	H-2	H-4	H-5	H-8	H-8'
δ (ppm)	6,09	3,13	2,60	4,26	3,98
m	<i>m</i>	<i>d</i>	<i>s</i>	<i>m</i>	<i>d</i>
J(Hz)	-	7,1	-	-	11,2
H	H-11	H-12	H-13	H-14	H-15
δ (ppm)	3,39	4,25	1,23	1,27	1,21
m	<i>d</i>	<i>m</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>s</i>
J(Hz)	6,4	-	-	-	-

Figura 15C: Espectro de RMN-¹³C (CDCl₃, 100 MHz), de la 12-hidroxi-longipin-2-eno-1,7,9-triona [15]

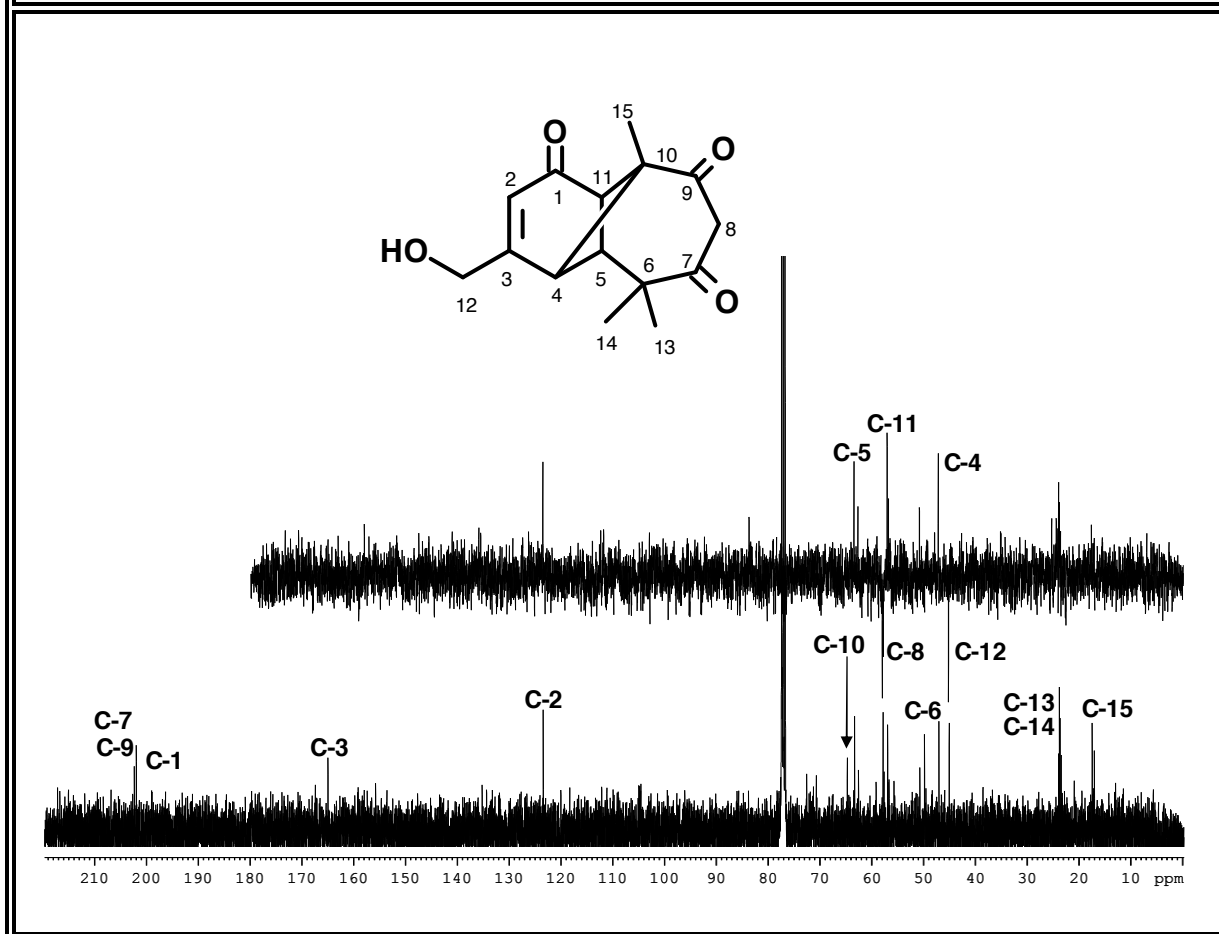
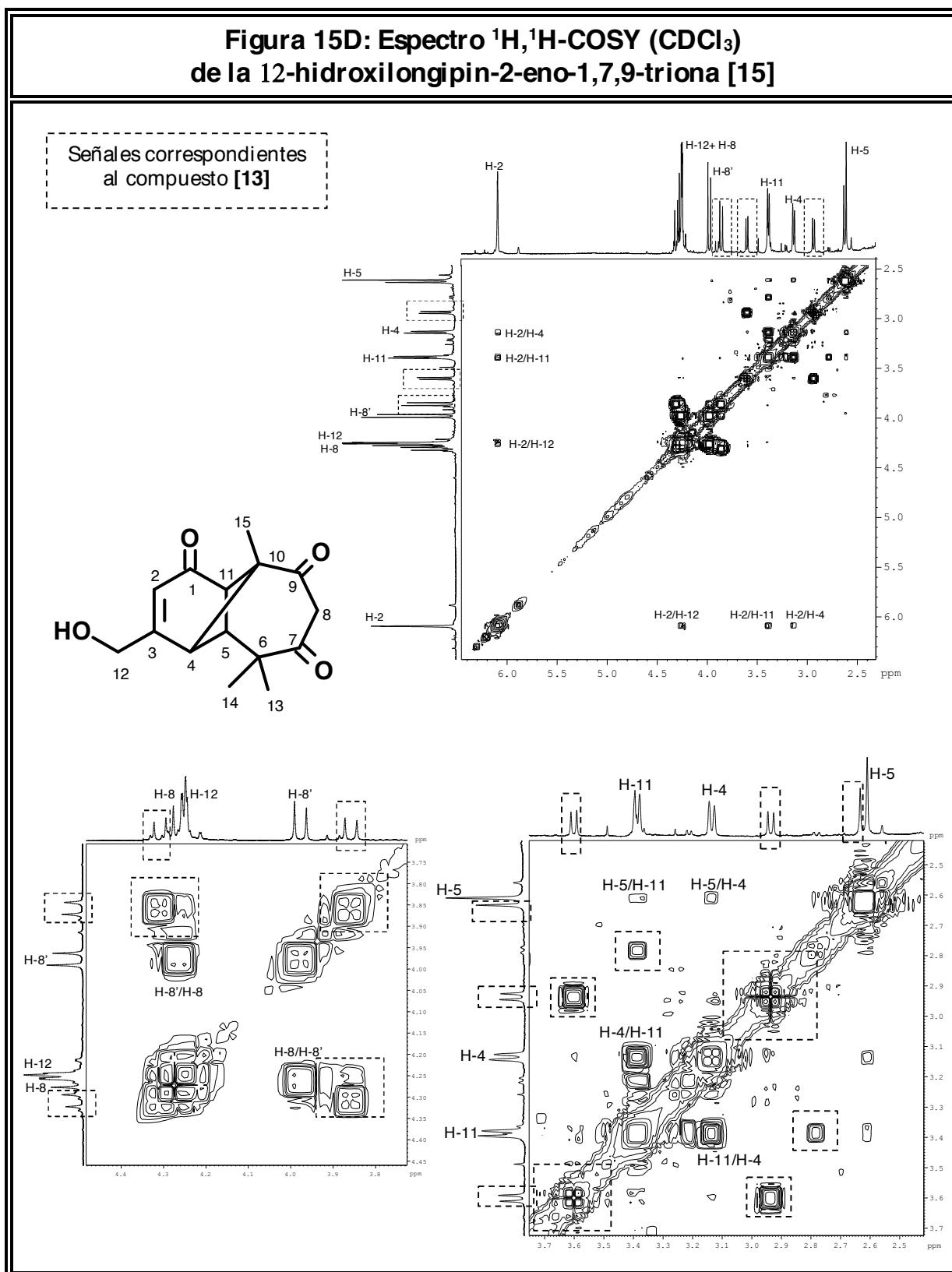


Tabla 15C: Desplazamientos Químicos (δ) en el Espectro de RMN-¹³C (CDCl₃, 100 MHz), de la 12-hidroxi-longipin-2-eno-1,7,9-triona [15]

C	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	C-7	C-8	
δ	199,2	123,1	164,6	47,2	63,7	50,0	202,4	58,2	
Tipo	> C=O	=CH	=C<	>CH	>CH	>C<	>C=O	-CH ₂	
C	C-9	C-10	C-11	C-12	C-13	C-14	C-15		Valores de δ , relativos al TMS como referencia interna
δ	202,1	64,6	57,2	45,3	23,9	23,8	17,3		
Tipo	>C=O	>C<	>CH	-CH ₂ -O-	-CH ₃	-CH ₃	-CH ₃		

**Figura 15D: Espectro $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY (CDCl₃)
de la 12-hidroxilongipin-2-eno-1,7,9-triona [15]**



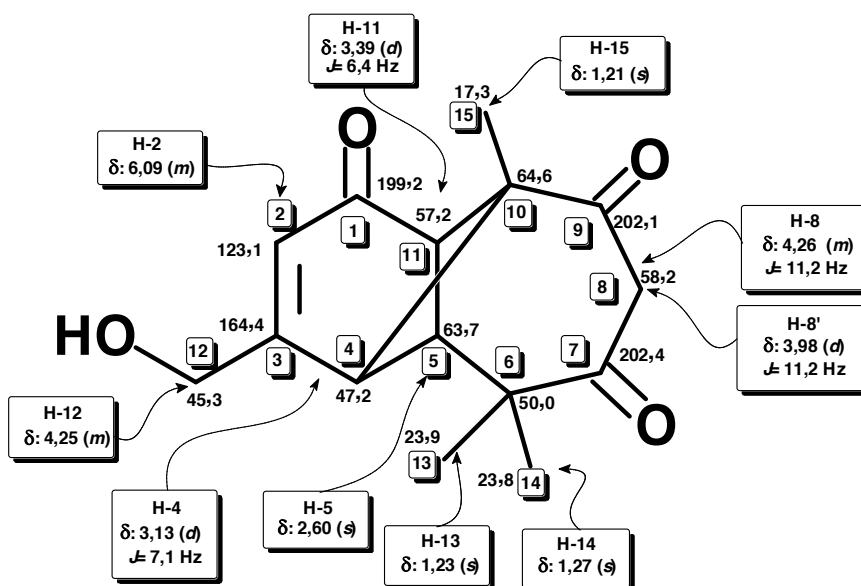
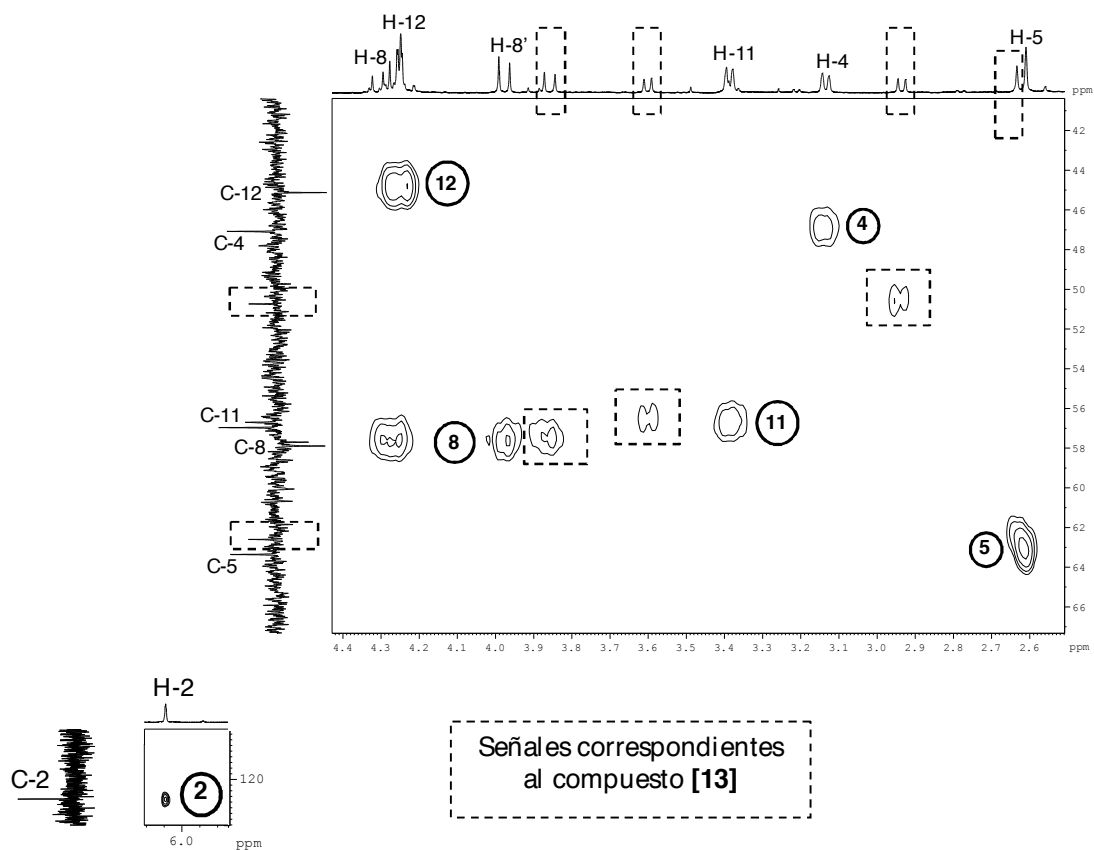
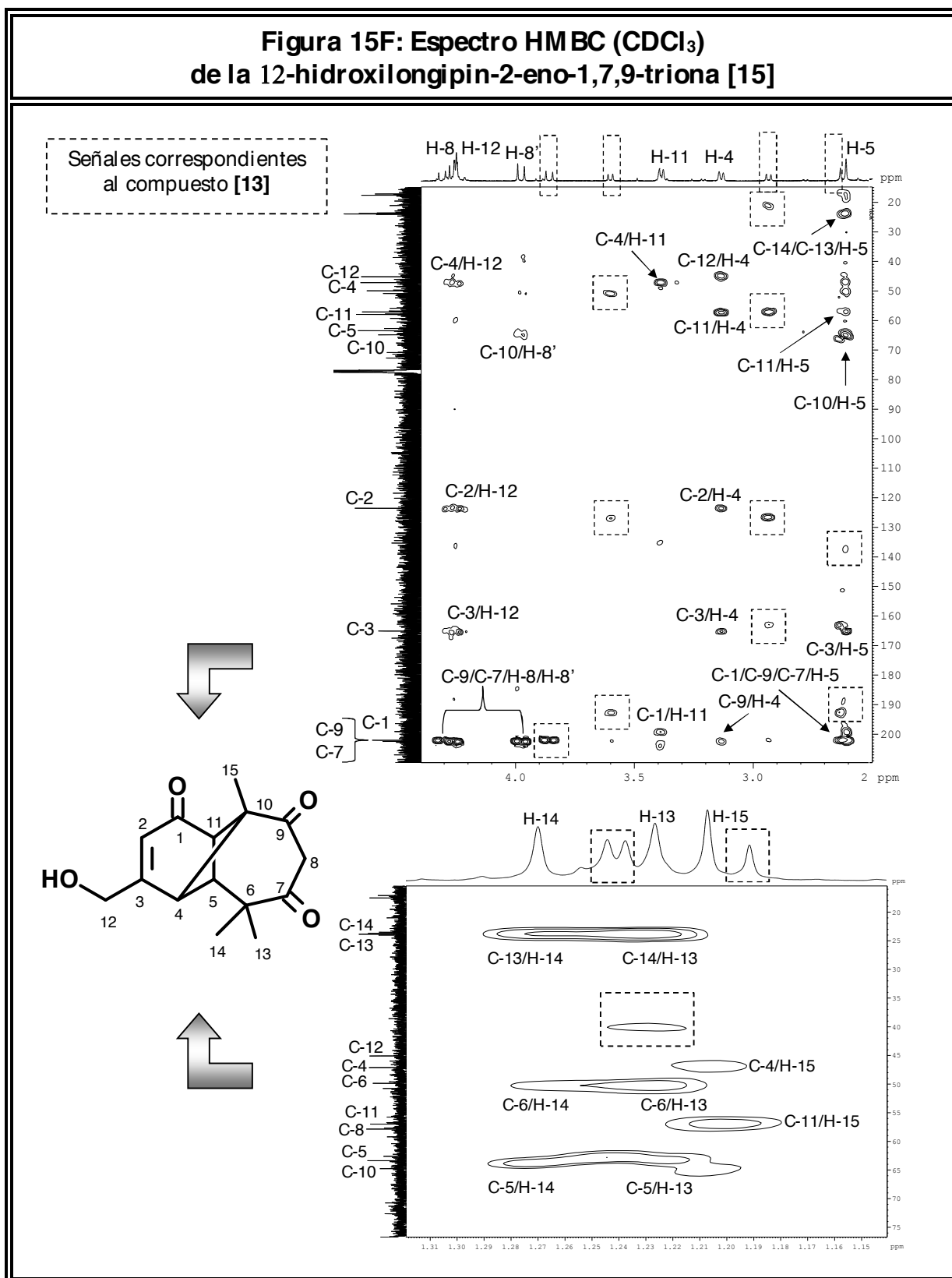


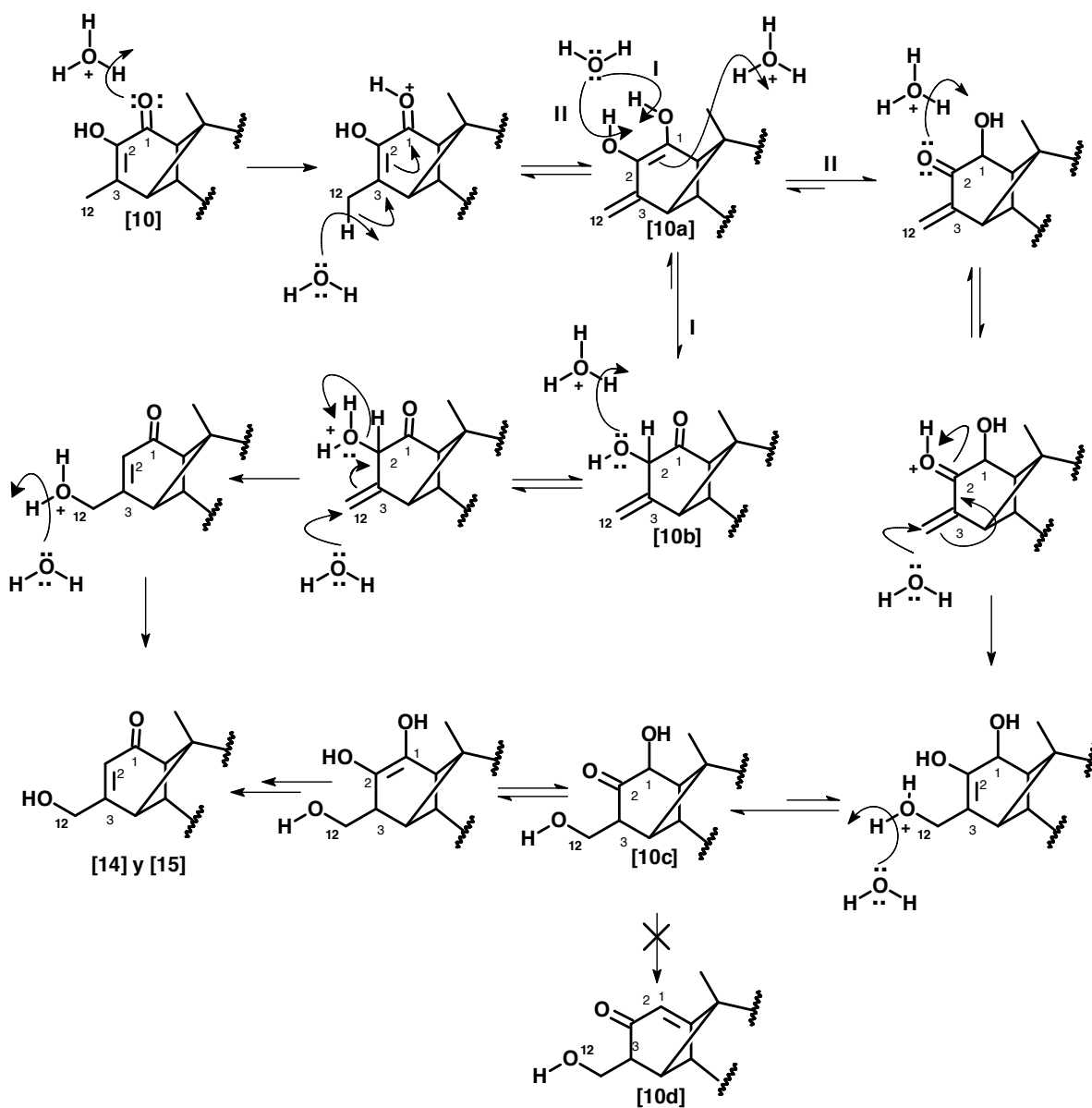
Figura 15E: Espectro HMQC (CDCl_3) de la 12-hidroxilongipin-2-eno-1,7,9-triona [15]



**Figura 15F: Espectro HMBC (CDCl₃)
de la 12-hidroxilongipin-2-eno-1,7,9-triona [15]**

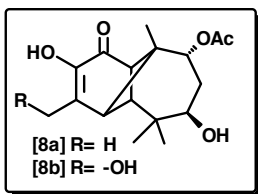


Esquema IX: Propuesta mecánica para la formación de los compuestos [14] y [15]



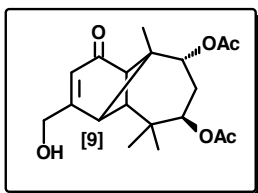
La formación de [10d] violaría la regla de Bredt

**2,7 β -dihidroxi-9 α -acetoxilongipin-2-en-1-ona [8a] y
2,7 β ,12-trihidroxi-9 α -acetoxilongipin-2-en-1-ona [8b]**



Antes de tratar el diol [1] con KMnO_4/HCl , se realizó una experiencia piloto utilizando el diacetato [3]. La mezcla de reacción fue cromatografiada sobre PLC dando como resultado el aislamiento del diol [8a] y el triol [8b]. Los espectros RMN- ^1H de los compuestos [8a] y [8b] indican oxidaciones sobre los carbonos C-2 y C-12 (la desaparición del protón olefínico H-2 tanto en [8a] como en [8b] y el transformación del metilo en metileno oxigenado en [8b]). También es posible apreciar que ambos compuestos han perdido un grupo acetato y debido a la multiplicidad de la señal apantallada se puede determinar que la hidrólisis ocurrió sobre los ésteres ubicados en C-7. El hecho de que no se hayan detectado oxidaciones sobre los grupos hidroxilo que se generan en la reacción permite suponer que el ion permanganato oxida selectivamente al doble enlace y al metilo alílico.

12-hidroxi-7 β ,9 α -diacetoxilongipin-2-en-1-ona [9]



Para estudiar la oxidación alílica del metilo C-12, se realizó un ensayo piloto tratando el diacetato [3] con dióxido de selenio (SeO_2). La mezcla de reacción fue purificada por PLC y el espectro de RMN- ^1H del producto mayoritario (Fig. 9B; Tabla 9B) reveló que la oxidación de C-12 conlleva a la aparición de un par de dobletes a δ_{H} : 4,34 ppm. Así pues, fue corroborado, el desplazamiento químico y la multiplicidad de la señal que toman los protones H-12 después de que se efectúa la oxidación. El mecanismo seguido para la formación del compuesto [9] puede observarse en el esquema X.

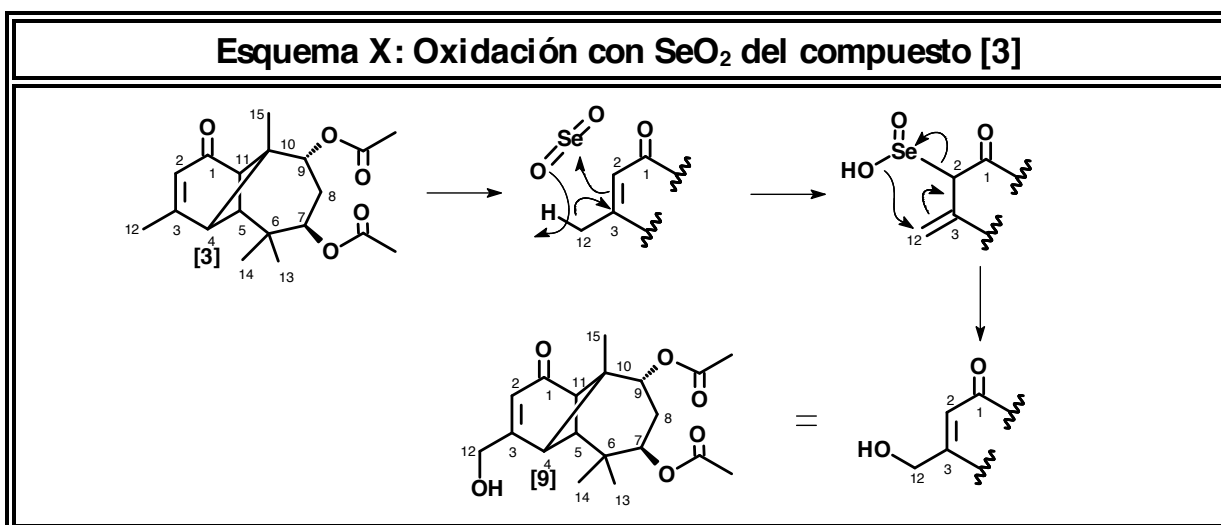


Figura 8a-B: Espectro de RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), de la 2,7β-dihidroxi-9α-acetoxilongipin-2-en-1-ona [8a]

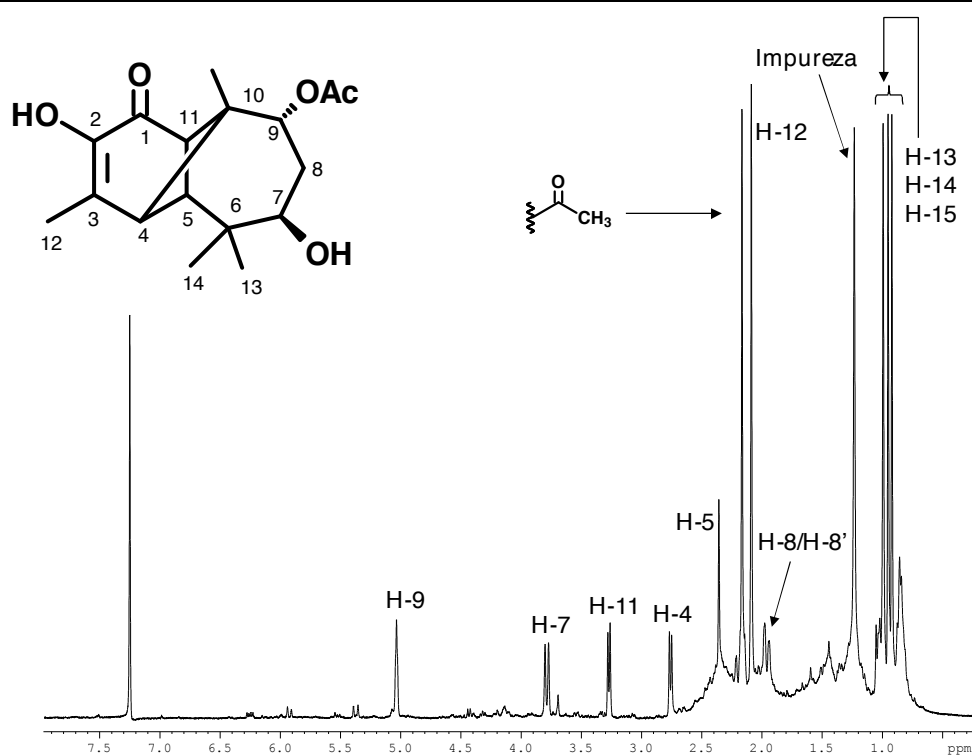


Tabla 8a-B: Desplazamientos Químicos (δ) en el Espectro de RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), de la 2,7β-dihidroxi-9α-acetoxilongipin-2-en-1-ona [8a]

H	H-4	H-5	H-7	H-8/H-8'
δ (ppm)	2,77	2,37	3,80	2,2-1,8
m	<i>d</i>	<i>s</i>	<i>d</i>	<i>m</i>
J(Hz)	7,5	-	11,7	-
H	H-9	H-12	O-CO-CH ₃	H-13 / H-14 / H-15
δ (ppm)	5,08	2,18	2,10	1,00 - 0,93
m	<i>sa</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>s/s/s</i>
J(Hz)	-	-	-	-

Figura 8b-B: Espectro de RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), de la 2,7β,12-trihidroxi-9α-acetoxilongipin-2-en-1-ona [8b]

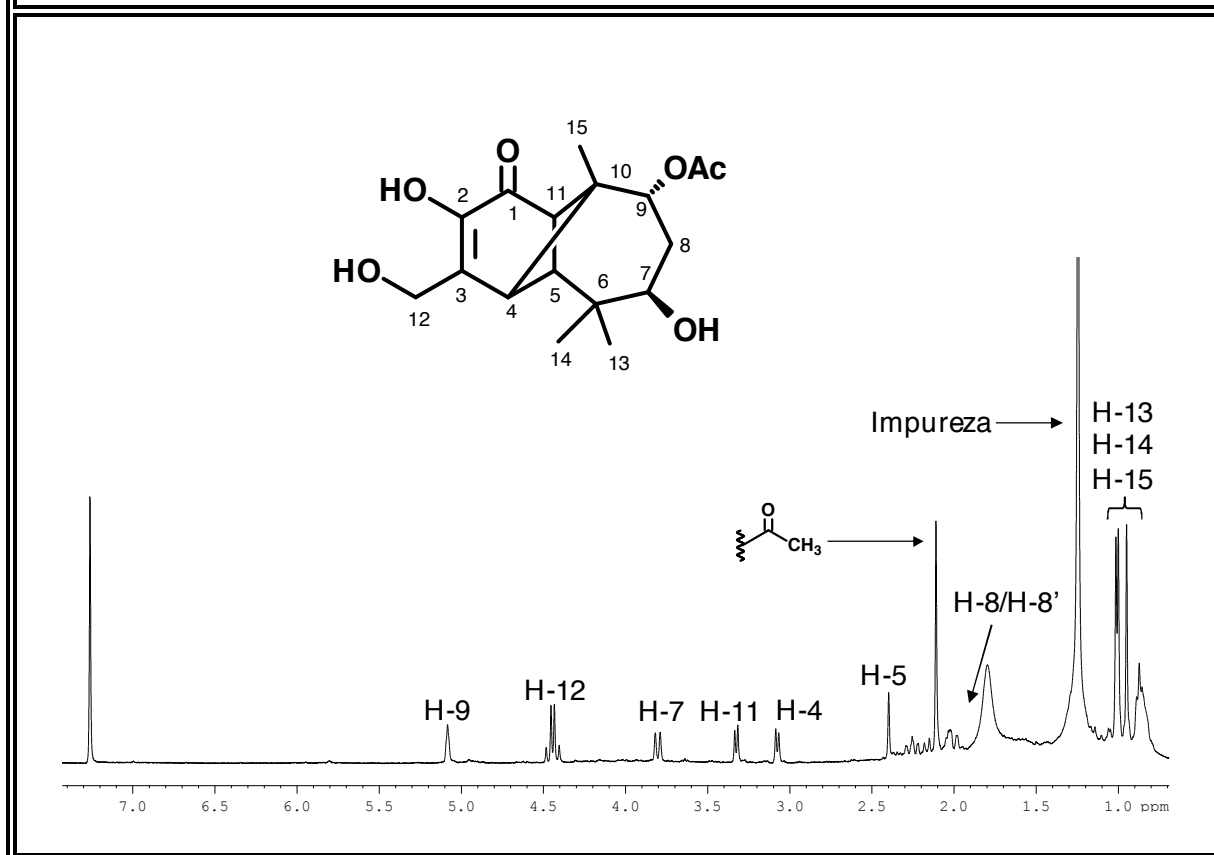


Tabla 8b-B: Desplazamientos Químicos (δ) en el Espectro RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), de la 2,7β,12-trihidroxi-9α-acetoxilongipin-2-en-1-ona [8b]

H	H-4	H-5	H-7	H-8/H-8'
δ (ppm)	3,08	2,40	3,80	2,31-1,95
m	<i>d</i>	<i>s</i>	<i>d</i>	<i>m</i>
J(Hz)	7,5	-	11,8	-
H	H-9	H-12	O-CO-CH ₃	H-13 / H-14 / H-15
δ (ppm)	5,08	4,44	2,11	1,03 - 0,92
m	<i>sa</i>	<i>d</i>	<i>s</i>	<i>s / s / s</i>
J(Hz)	-	20,0	-	-

Figura 9B: Espectro de RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), de la 12-hidroxi-7 β ,9 α -diacetoxilongipin-2-en-1-ona [9]

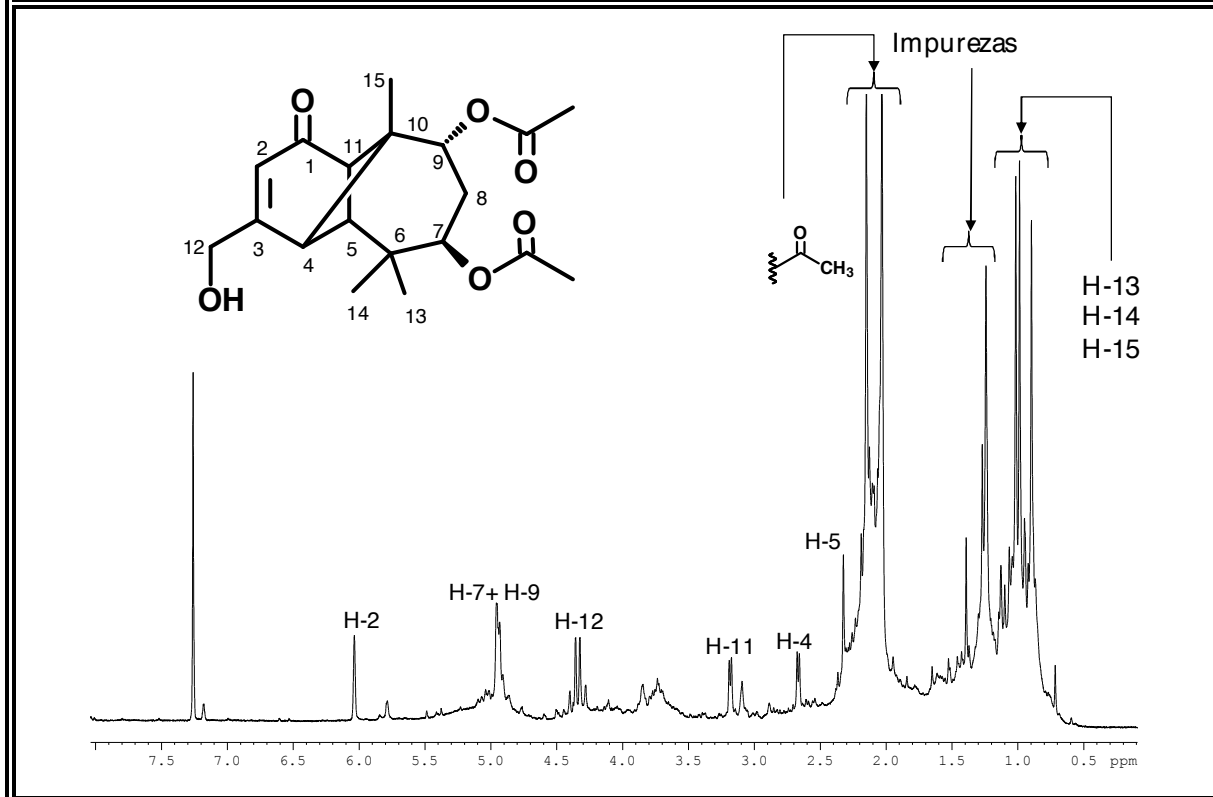


Tabla 9B: Desplazamientos Químicos (δ) en el Espectro de RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), de la 12-hidroxi-7 β ,9 α -diacetoxilongipin-2-en-1-ona [9]

H	H-4	H-5	H-7	H-9
δ (ppm)	2,67	2,32	5,00 - 4,85	5,00 - 4,85
m	<i>d</i>	<i>s</i>	<i>m</i>	<i>m</i>
<i>J</i> (Hz)	6,4	-	-	-
H	H-12	O-CO-CH ₃	O-CO-CH ₃	H-13 / H-14 / H-15
δ (ppm)	4,34	2,03	2,15	1,04 - 0,86
m	<i>d</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>s/s/s</i>
<i>J</i> (Hz)	18,0	-	-	-

Reagrupamientos Moleculares

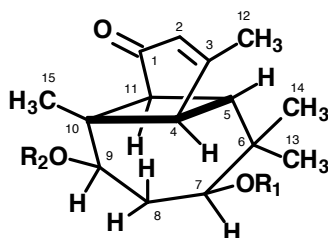


Figura 22

Debido a la tensión anular conferida por el anillo ciclobútano, la presencia de cetonas y/o dobles enlaces en el anillo ciclohexánico y la frecuente funcionalización de los carbonos C-7 y C-9 (Fig. 22); los longipinanos son moléculas interesantes para estudiar reacciones de reagrupamiento molecular bajo diferentes condiciones experimentales. Esto ha generado resultados realmente sorprendentes, en lo que respecta a la generación de nuevos esqueletos sesquiterpénicos (Joseph-Nathan & Cerda-García-Rojas, 1994).

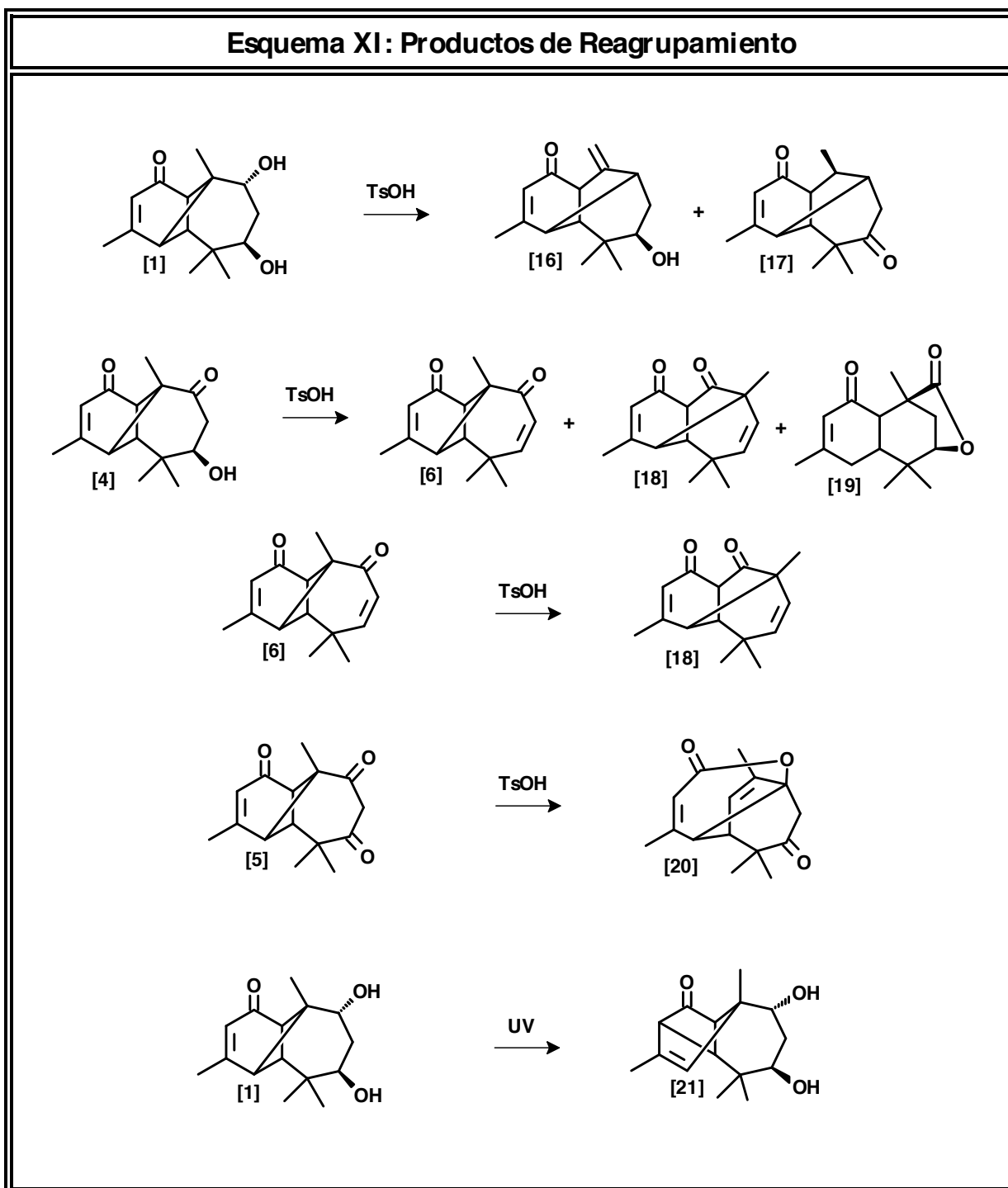
Este apartado comenzó haciendo una reacción que se ha descrito detalladamente en la bibliografía [el tratamiento del diol **[1]** con ácido *p*-toluensulfónico (TsOH) en reflujo con benceno (Roman *et al.*, 1991; Joseph-Nathan, 1994)] obteniendo los productos **[16]** y **[17]** (Esquema XI) cuyo esqueleto se conoce con el nombre de moreliano* (Roman *et al.*, 1992). Al someter la dicetona **[4]** a reflujo benceno en presencia de TsOH con una trampa Dean & Stark se obtienen junto con el producto de deshidratación **[6]** anteriormente descrito, dos nuevos productos (**[18]** y **[19]**) (Esquemas XI, XII y XIII). El análisis detallado de los espectros RMN uni- y bidimensionales de los productos **[18]** y **[19]** permitió establecer sus estructura exacta. Posteriormente, mediante la revisión detallada de la bibliografía, se determinó que las estructuras de ambos productos de reagrupamiento son esqueletos nuevos para la ciencia. Es oportuno mencionar que el mecanismo planteado para la generación de **[18]** (Esquema XII) es congruente con el siguiente hecho experimental: al tomar una muestra del dieno **[6]** y someterla a condiciones de reflujo, todo el sustrato evoluciona a la formación de la dicetona **[18]** (Esquema XII). Esto brinda cierta evidencia en apoyo del mecanismo propuesto.

En vista de los resultados mencionados anteriormente, se procedió a tratar la tricetona **[5]** en las mismas condiciones que al compuesto **[4]** (Esquema XIV) esto llevó a obtener la lactona **[20]** cuya estructura fue determinada mediante el estudio de sus espectros RMN uni- y bidimensionales. El compuesto **[20]** es una δ -lactona cuyo esqueleto es un *seco* derivado de la serie del moreliano.

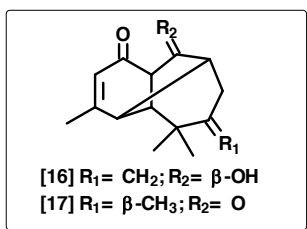
Dadas las características de la estructura tricíclica del longipineno **[1]**, es una molécula interesante para llevar a cabo reacciones pericíclicas. Estas reacciones pueden ser concertadas vía radicales libres y generalmente no dependen del medio donde se llevan a cabo, sino de la naturaleza del sustrato. El anillo ciclobutano en posición α a la cetona α,β -insaturada es un sistema adecuado para efectuar reordenamientos sigmatrópicos [1,3].

(*) Estos productos se emplearon para hacer ensayos en los que se pretendía obtener derivados sesquiterpénicos de la serie del Himachalano pero no se obtuvieron los resultados deseados.

Sobre la base de lo anteriormente expuesto, se procedió a explorar el potencial de estas reacciones. Así pues, el diol **[1]** fue irradiado con luz UV siguiendo la metodología reportada en la bibliografía (Meléndez-Rodríguez *et al.*, 2002). De esta forma se consiguió obtener el compuesto **[21]** (Esquemas XI y XV), el cual se conoce con el nombre de pingilonano (Joseph-Nathan *et al.*, 1996).



7 β -hidroximorelia-2,10(15)-dien-1-ona [16] y Morelian-2-eno-1,7-diona [17]



Después de someter a reflujo en benceno en presencia de TsOH al diol [1], fueron aislados por medio de PLC los productos [16] y [17]. Al comparar los datos espectroscópicos de RMN-¹H y RMN-¹³C de los productos obtenidos con los reportados en la bibliografía para derivados del moreliano, se determinó que los compuestos sintetizados eran la Moreli-2,10(15)-dien-7 β -ol-1-ona [16] y Moreli-2-en-1,7-diona [17]. A fin de establecer un patrón de comparación que facilitara la elucidación estructural en otros reagrupamientos moleculares realizados a partir del diol [1], se llevó a cabo el estudio de RMN bidimensional de [16] y [17].

Seguidamente se presenta una breve reseña de los datos espectrales de los compuestos [16] y [17]:

1. La desaparición del par de dobletes del anillo ciclobutánico H-4 y H-11 (los cuales son de carácter diagnóstico en esqueletos de la serie del longipinano y están ubicados normalmente entre 3,5 y 2,5 ppm) en los espectros de RMN-¹H (Fig. 16B y Fig. 17B) de los productos [16] y [17], indica la apertura del anillo ciclobutánico en ambos productos.
2. El espectro IR del compuesto [16] (Fig. 16A; Tabla 16A) muestra bandas típicas de hidroxilos [$\nu_{\text{max.}}$: 3417 cm⁻¹ (O-H); $\nu_{\text{max.}}$: 1098 cm⁻¹ (C-O)], de un carbonilo cetónico α,β - insaturado [$\nu_{\text{max.}}$: 1668 cm⁻¹ (C=O)] y de dobles enlaces [$\nu_{\text{max.}}$: 1620 cm⁻¹ (C=C) y 960 y 865 cm⁻¹ (=C-H)].
3. El producto [16] presenta un doble enlace trisustituido en posición α a una cetona. Los picos correspondientes al sistema conjugado [δ_{C} : 198,7 (>C=O; C-1); δ_{C} : 124,0 (=CH; C-2) y δ_{C} : 166,1 (=C<; C-2)] pueden apreciarse en el espectro RMN-¹³C (Fig. 16C; Tabla 16C). El acoplamiento del protón olefínico [δ_{H} : 5,60, *sa*, (=CH; H-2)] observado en el espectro ¹H,¹H-COSY (Fig. 16D) con los protones de un metilo alílico [δ_{H} : 1,97, *d*, J = 1,4 Hz (-CH₃; H-12) y δ_{C} : 23,3 (-CH₃; C-12)] indica que necesariamente uno de los sustituyentes del doble enlace es un metilo. Lo mencionado anteriormente, sumado a los cruces C-4 \leftrightarrow H-2 \leftrightarrow C-12 / H-2 \leftrightarrow C-11 \leftrightarrow H-4 \leftrightarrow C-11 observados en el espectro HMBC (Fig. 16F) confirman que el compuesto [16] conserva el anillo ciclohexénico de la figura 16-1.

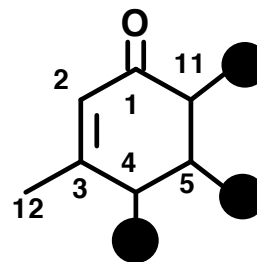


Figura 16-1

4. La presencia de un doble enlace metilénico exocíclico quedó confirmada al observar en el espectro de RMN- ^1H dos singuletes a δ_{H} : 5,14 y δ_{H} : 5,00 (H-15A y H15B), que se correlacionan, ambos, a través del HMQC (Fig. 16E), con un pico que resuena en el DEPT en fase inversa a δ_{C} : 119,2 (= CH_2 ; C-15). El carbono cuaternario de este doble enlace resuena a δ_{C} : 144,6 (= C< ; C-10).
5. El espectro RMN- ^1H del compuesto **[16]** (Fig. 16D) exhibe un protón oximetínico [δ_{H} : 3,61, *d*, $J = 11,3$ y $5,7$ Hz ($>\text{CH-OH}$; H-7) y δ_{C} : 71,9 ($>\text{CH-OH}$; C-7)] el cual muestra en $^1\text{H},^1\text{H-COSY}$ (Fig. 16D) un acoplamiento con los protones metilénicos [δ_{H} : 2,03, *m*, ($>\text{CH}_2$; H-8); δ_{H} : 1,69, *m* ($>\text{CH}_2$; H-8') y δ_{C} : 39,1 ($>\text{CH}_2$; C-8)] y en HMBC (Fig. 16F) con un carbono cuaternario que forma parte de un grupo *gem*-dimetilo [δ_{C} : 38,7 ($>\text{C}<$; C-6)]. A su vez, los hidrógenos metilénicos (H-8 y H-8') presentan una correlación en el espectro HMBC (Fig. 16F) con un metino [δ_{H} : 2,64, *m*, ($>\text{CH}$; H-9) y δ_{C} : 44,2 ($>\text{CH}$; C-9) y con el carbono olefínico cuaternario C-10. La presencia de las señales C-11 \leftrightarrow H-4 \leftrightarrow C-10 \leftrightarrow H-9 \leftrightarrow C-6 \leftrightarrow H-13 \leftrightarrow C-14 / C-13 \leftrightarrow H-7 \leftrightarrow C-8 \leftrightarrow H-9 \leftrightarrow C-10 \leftrightarrow H-11 observadas en el espectro HMBC (Fig. 16F) permiten efectuar la fusión entre la ciclohexenona representada en la figura 16-1 y los carbonos C-6, C-7, C8, C-9 y C-10. Así pues, queda establecido que el compuesto **[16]** posee el sistema de anillos fusionado de seis y siete miembros del sustrato de partida (Fig. 16-2).

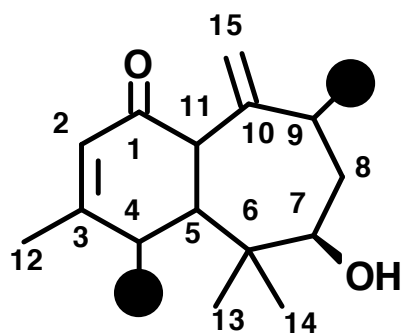


Figura 16-2

6. Finalmente los cruces C-3 \leftrightarrow H-9/H-4 \leftrightarrow C-9 (Fig. 16F) permiten establecer la estructura tricíclica de la Moreli-7 β -hidroxi-2,10(15)-dien-1-ona **[16]**.
7. El espectro IR del compuesto **[17]** (Fig. 17A), en contraste con los de **[1]** y **[16]**, no se observan absorciones de grupos hidroxilo. Sin embargo, son notorias las bandas de carbonilo [ν_{max} : 1703 y 1670 cm^{-1} (C= O)] y de doble enlace carbono-carbono [ν_{max} : 1627 cm^{-1} (C= C) y 754 cm^{-1} (= C-H)]. La desaparición de la banda de -OH (con respecto a **[16]**) sumado a la detección de un nuevo pico carbonílico sugiere que se efectuó una oxidación sobre el compuesto **[16]** promoviendo la formación del compuesto **[17]**.

8. En el espectro de RMN-¹³C del producto **[17]** (Fig. 17C) pueden observarse picos que corresponden un carbonilo cetónico conjugado con una olefina trisustituida [δ_C : 201,8 ($>C=O$; C-1)] en la cual, uno de los sustituyentes es un metilo [δ_C : 23,5 ($>CH_3$; C-12)].

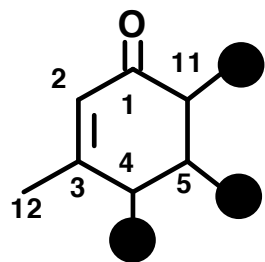


Figura 17-1

Al igual que en la estructura **[16]**, existen correlaciones en HMBC [$C-2 \leftrightarrow H-4 \leftrightarrow C-3 \leftrightarrow H-12 \leftrightarrow C-2 / C-14 \leftrightarrow H-5 \leftrightarrow C-13$ (Fig. 17F)] que indican que en la estructura del compuesto **[17]** está incluida una ciclohexenona (Fig. 17-1).

9. Pueden apreciarse cuatro cambios significativos en el espectro de RMN-¹³C del producto **[17]** con respecto a los del dieno **[16]**: la presencia de un nuevo carbonilo cetónico [δ_C : 214,3 ($>C=O$; C-7)], la desaparición de dos picos de carbonos olefínicos (los cuales correspondían al doble enlace exocíclico), la ausencia del carbono oximetínico (atribuido a C-7 en el compuesto **[16]**) y la aparición, en la región de los carbonos sp^3 de dos nuevos picos que corresponden a un metino [δ_H : 1,95, *m*, ($>CH$; H-10) y δ_C : 43,8 ($>CH$; C-10)] y un metilo [δ_H : 0,89, *d*, ($-CH_3$; H-115) y δ_C : 17,8 ($-CH_3$; C-15)]. Estas variaciones en los datos de RMN indican que existen dos modificaciones estructurales en **[17]** (con respecto a la estructura reportada para el dieno **[16]**): la oxidación del carbono C-7 y la reducción del doble enlace exocíclico C-10/C-14. Así pues, se concluye que la estructura de **[17]** debe incluir un anillo ciclohexenónico fusionado con una ciclohexenona tal como se ilustra en la figura 17-2.

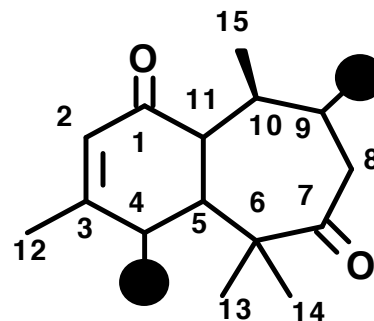
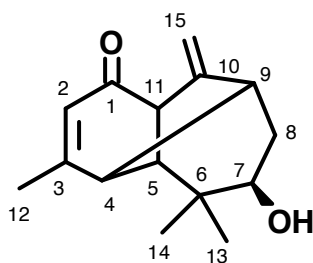
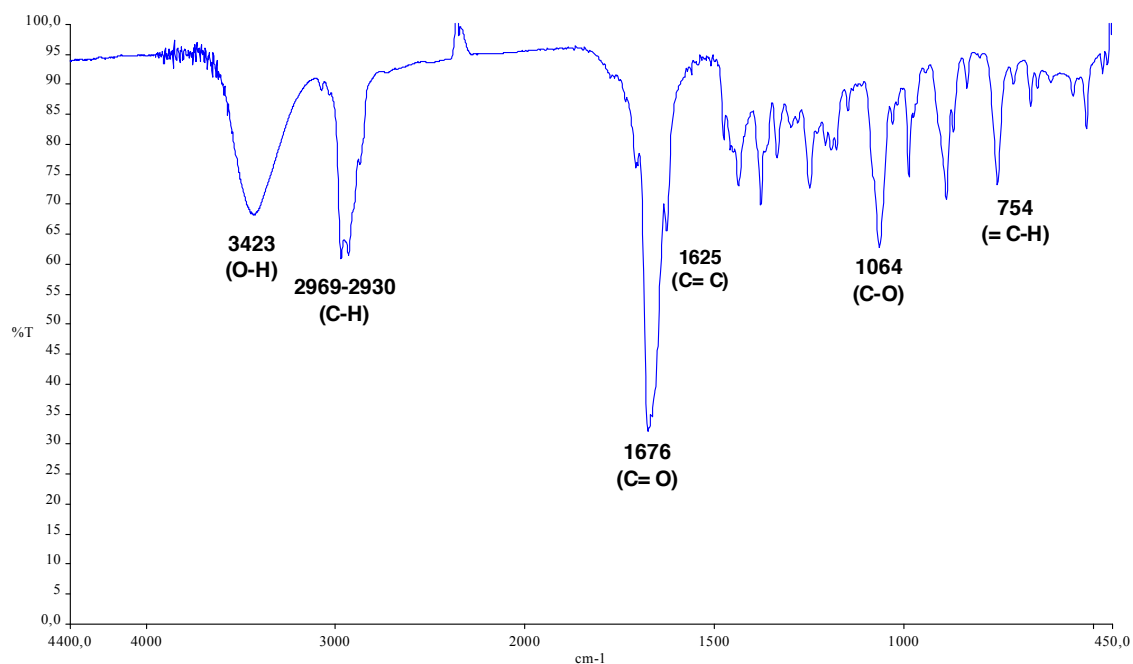


Figura 17-2

10. Por medio de los cruces $H-4 \leftrightarrow C-8 / H-8 \leftrightarrow C-4$ observados en el HMBC (Fig. 17F) la estructura fue identificada como la Moreli-2-en-1,7-diona **[17]**.

Los estructuras tricíclicas **[16]** y **[17]** se generan mediante un reagrupamiento Wagner-Meerwein que inicia por la protonación del grupo hidroxilo ubicado en C-9 del compuesto **[1]**. La salida del hidroxilo protonado se ve beneficiada por dos factores importantes: la liberación de la tensión del anillo ciclobutano, el cual se expande a un anillo pentacíclico y la formación de un carbocatión terciario sobre el carbono C-10 (Esquema 17, pag. 23).

**Figura 16A: Espectro Infrarrojo (KBr)
de la 7 β -hidroximorelia-2,10(15)-dien-1-ona [16]**



**Tabla 16A: Bandas de Absorción Significativas en el Espectro Infrarrojo
(KBr) de la 7 β -hidroximorelia-2,10(15)-dien-1-ona [16]**

$\nu_{\text{máx.}} \text{ (cm}^{-1}\text{)}$	3423	2969-2930	1676	1625	1064	754
Asignación	O-H	C-H	C=O	C=C	C-O	=C-H

Figura 16B: Espectro de RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), de la 7β-hidroximorelia-2,10(15)-dien-1-ona [16]

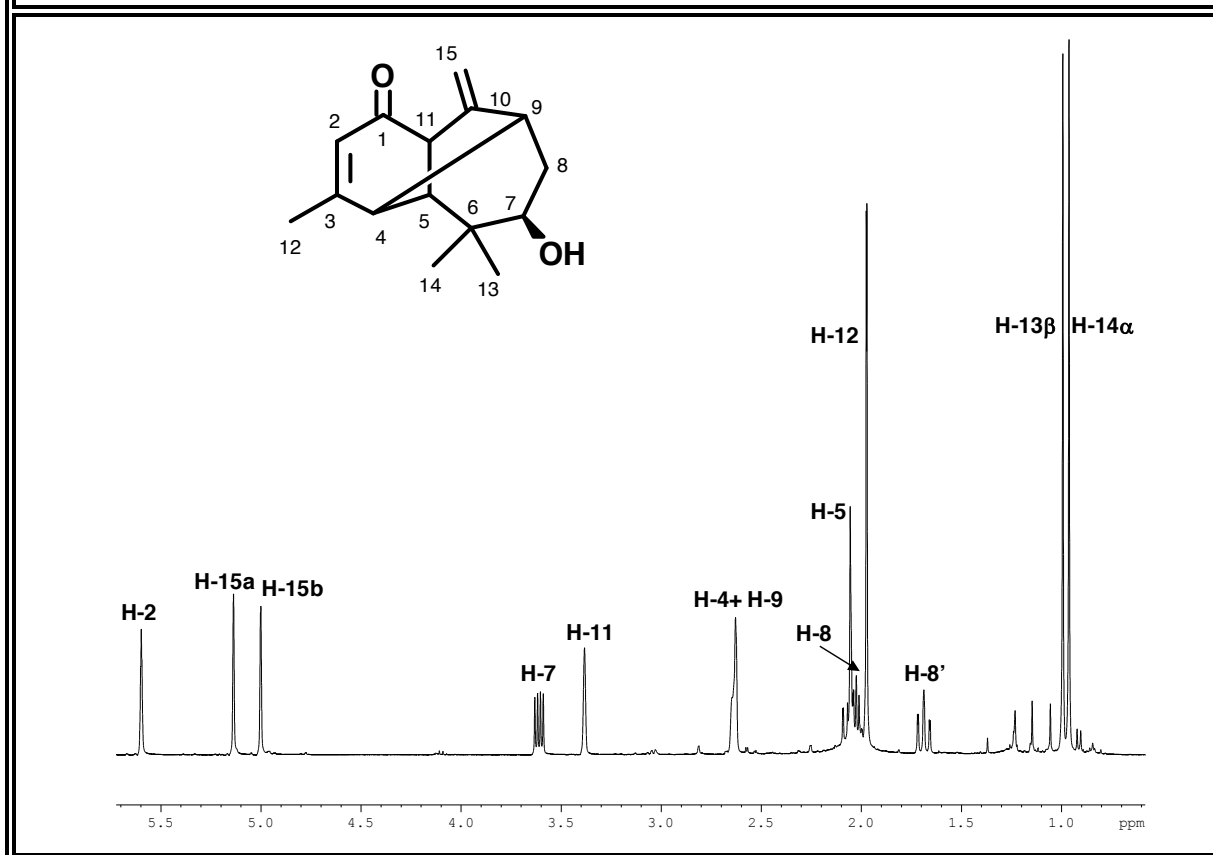


Tabla 16B: Desplazamientos Químicos (δ) en el Espectro de RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), de la 7β-hidroximorelia-2,10(15)-dien-1-ona [16]

H	H-2	H-4	H-5	H-7	H-8	H-8'	H-9
δ (ppm)	5,60	2,64	2,06	3,61	2,03	1,69	2,64
m	sa	m	s	dd	m	m	m
J(Hz)	-	-	-	11,3 y 5,7	-	-	-
H	H-11	H-12	H-13 α	H-14 β	H-15a	H-15b	Valores de δ , relativos al TMS como referencia interna
δ (ppm)	3,38	1,97	0,99	0,96	5,14	5,00	
m	s	d	s	s	s	s	
J(Hz)	-	1,4	-	-	-	-	

Figura 16C: Espectro de RMN-¹³C (CDCl₃, 100 MHz), de la 7β-hidroximorelia-2,10(15)-dien-1-ona [16]

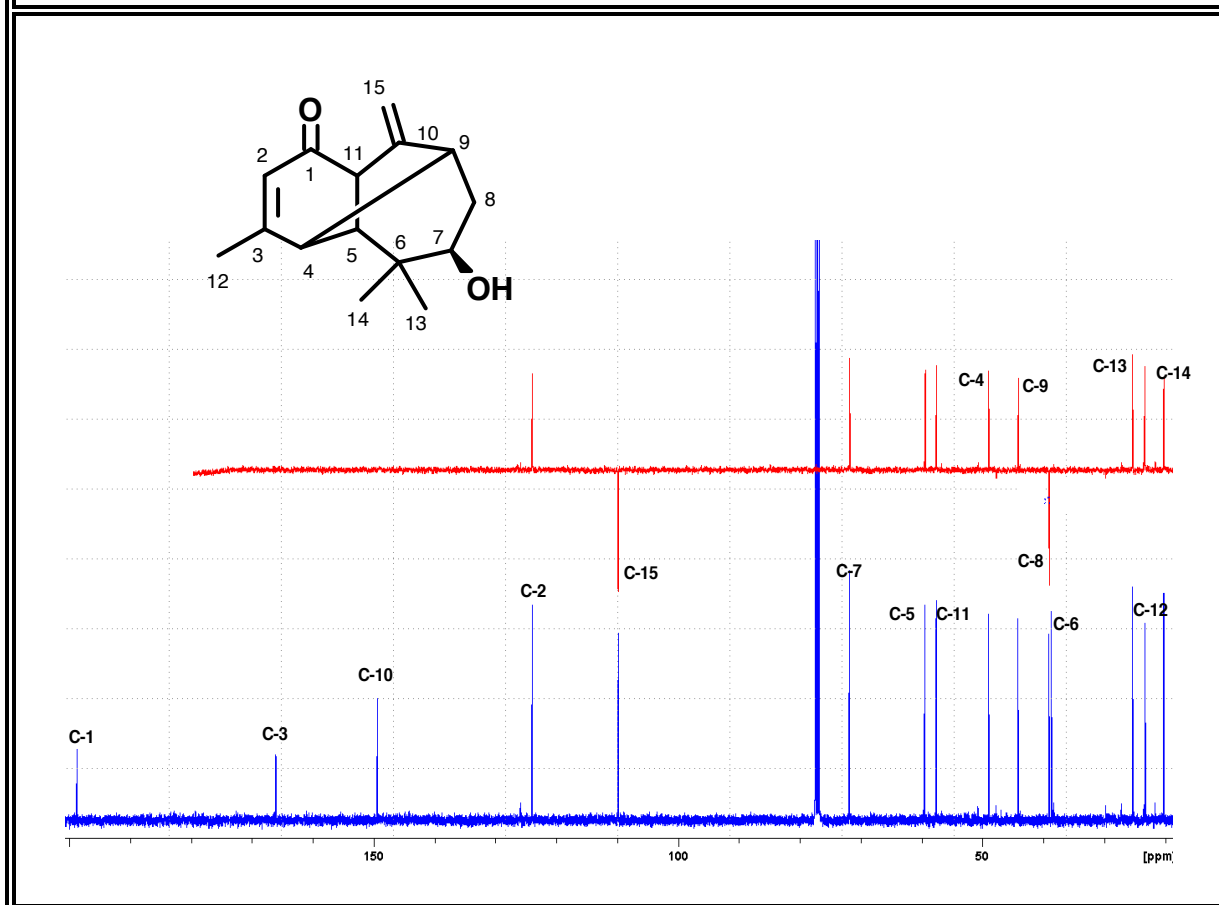
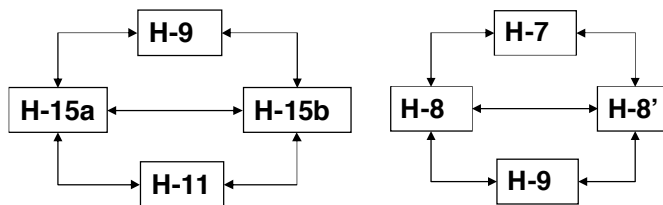
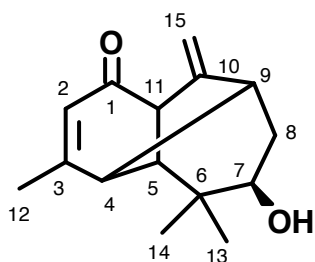
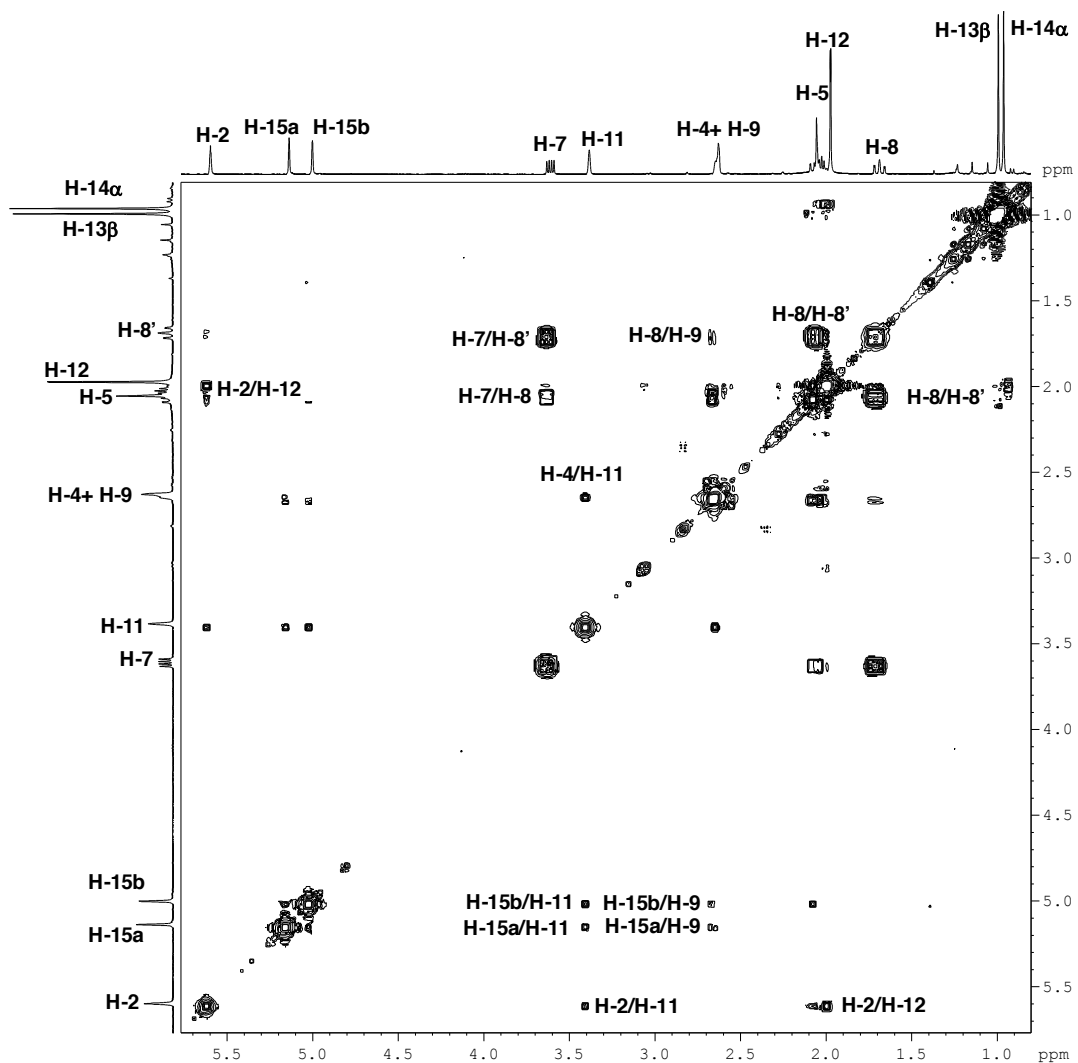


Tabla 16C: Desplazamientos Químicos (δ) en el Espectro de RMN-¹³C (CDCl₃, 100 MHz), de la 7β-hidroximorelia-2,10(15)-dien-1-ona [16]

C	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	C-7	C-8
δ	198,7	124,0	166,1	49,0	59,5	38,7	71,9	39,1
Tipo	>C=O	=CH	=C<	>CH	>CH	>C<	-CH-O-	-CH ₂

C	C-9	C-10	C-11	C-12	C-13	C-14	C-15	Valores de δ , relativos al TMS como referencia interna
δ	44,2	149,4	57,6	23,3	25,4	20,2	109,9	
Tipo	>CH	=C<	>CH	-CH ₃	-CH ₃	-CH ₃	=CH ₂	

Figura 16D: Espectro $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY (CDCl_3)
de la 7 β -hidroximorelia-2,10(15)-dien-1-ona [16]



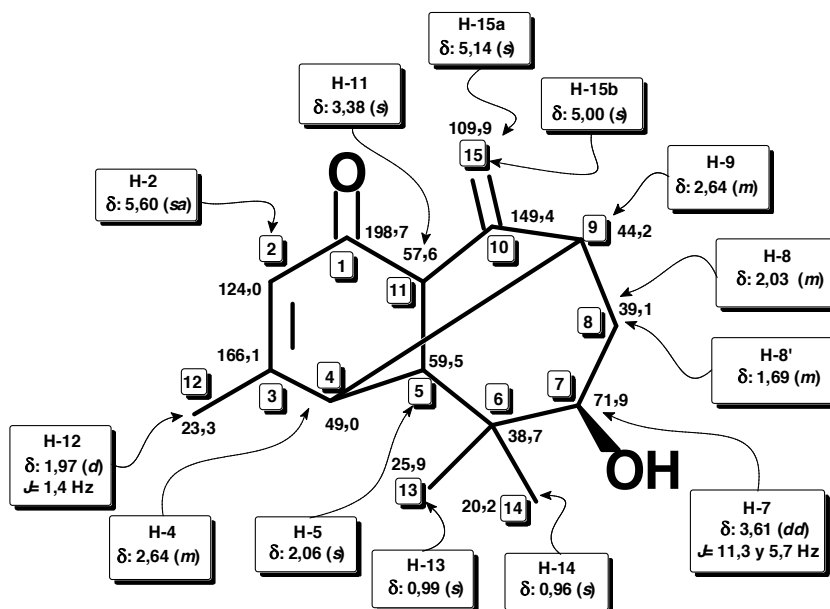
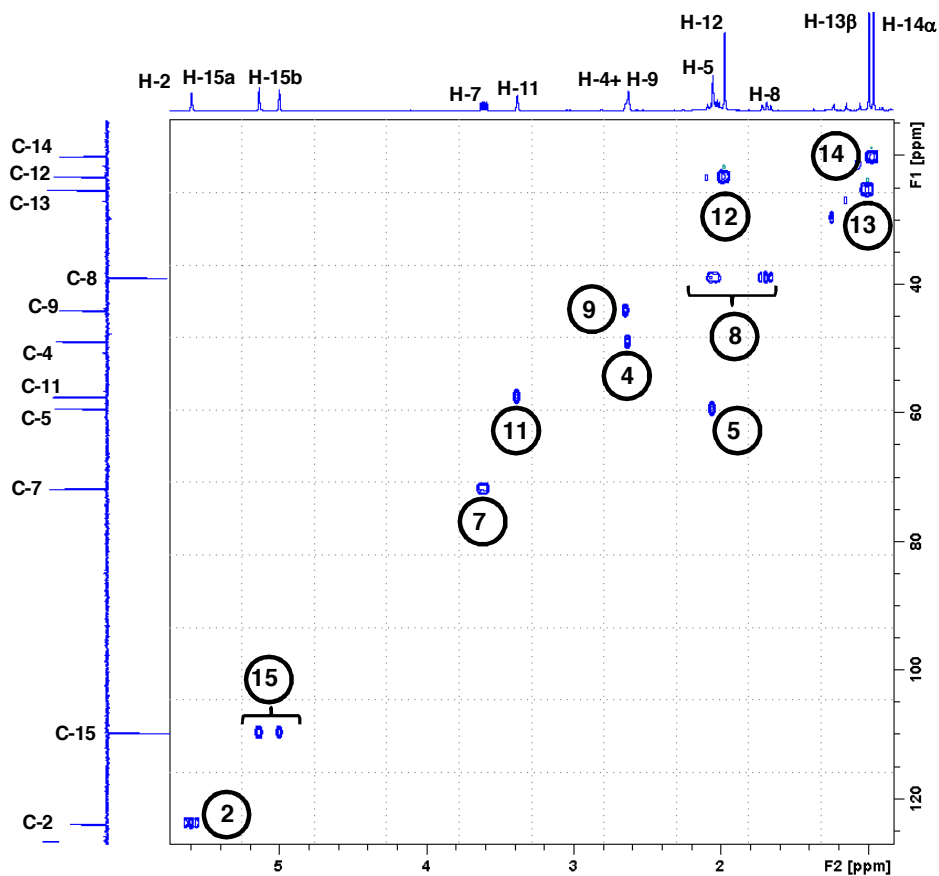
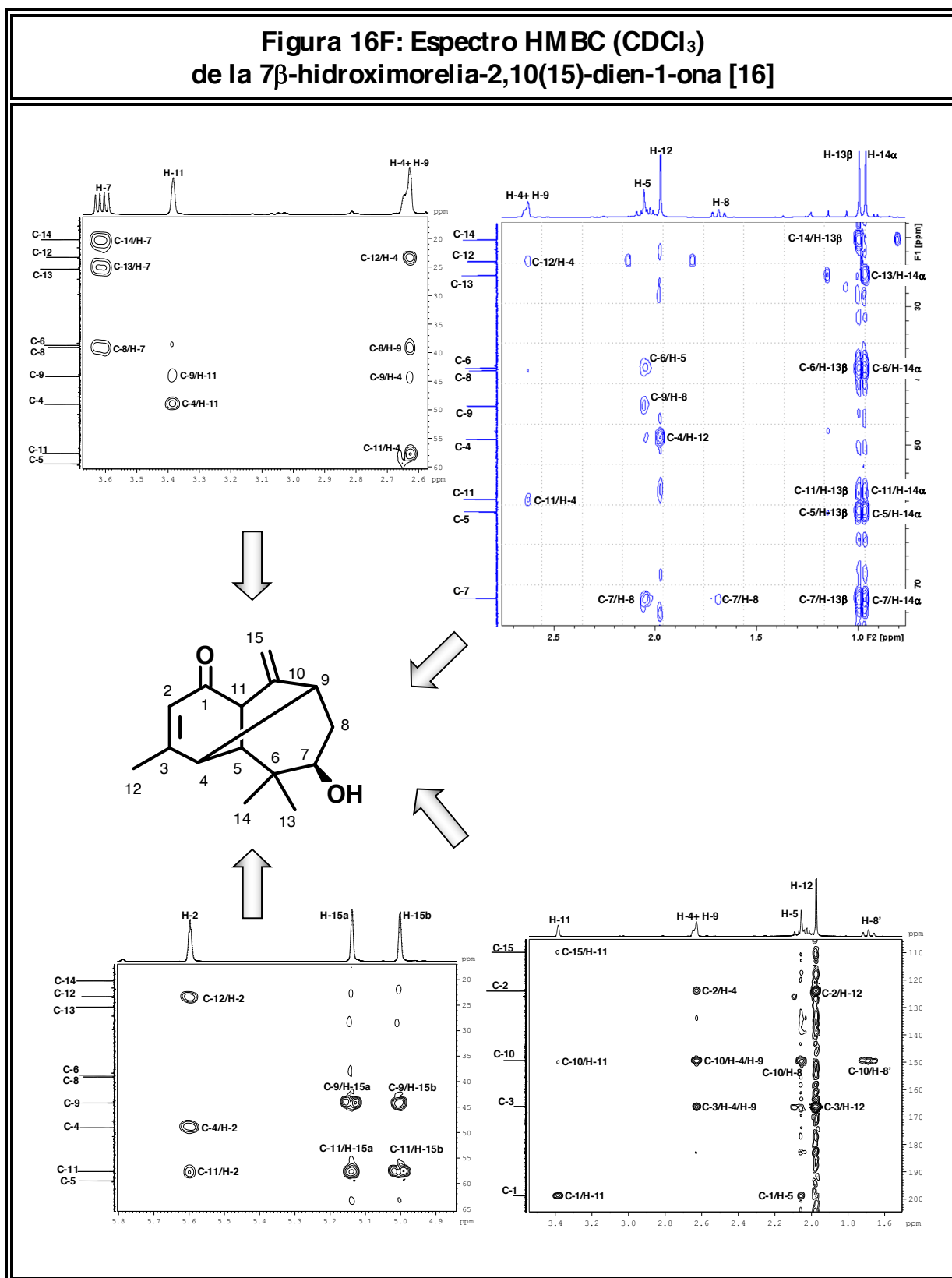


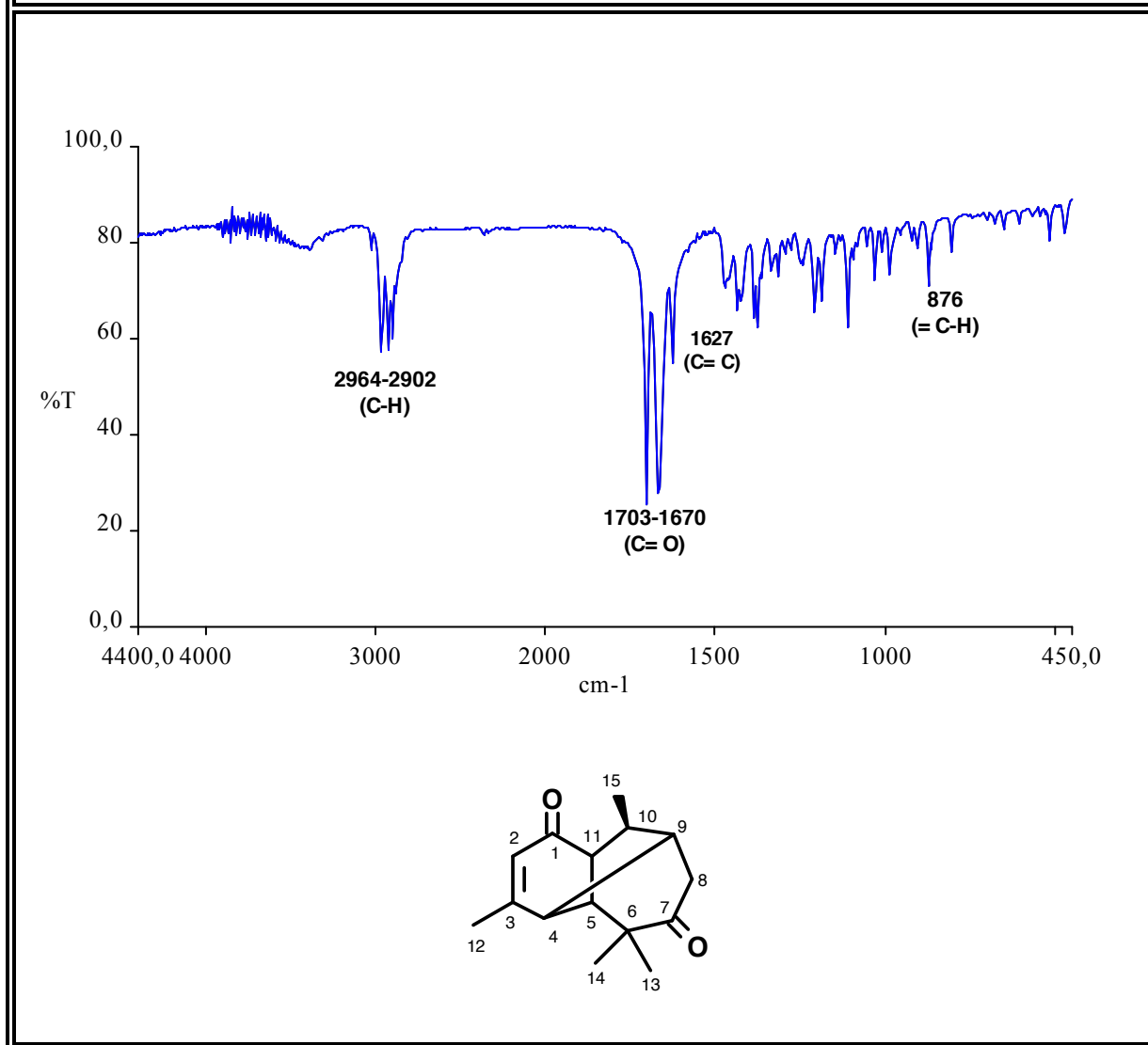
Figura 16E: Espectro HMQC (CDCl₃) de la 7β-hidroximorelia-2,10(15)-dien-1-ona [16]



**Figura 16F: Espectro HMBC (CDCl₃)
de la 7β-hidroximorelia-2,10(15)-dien-1-ona [16]**



**Figura 17A: Espectro Infrarrojo (KBr)
de la Morelian-2-eno-1,7-diona [17]**



**Tabla 17A: Bandas de Absorción Significativas en el
Espectro Infrarrojo (KBr) de la Morelian-2-eno-1,7-diona [17]**

$\nu_{\text{máx.}} (\text{cm}^{-1})$	2969-2930	1703	1670	1627	754
Asignación	C-H	C=O	C=O	C=C	=C-H

Figura 17B: Espectro de RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), de la Morelian-2-eno-1,7-diona [17]

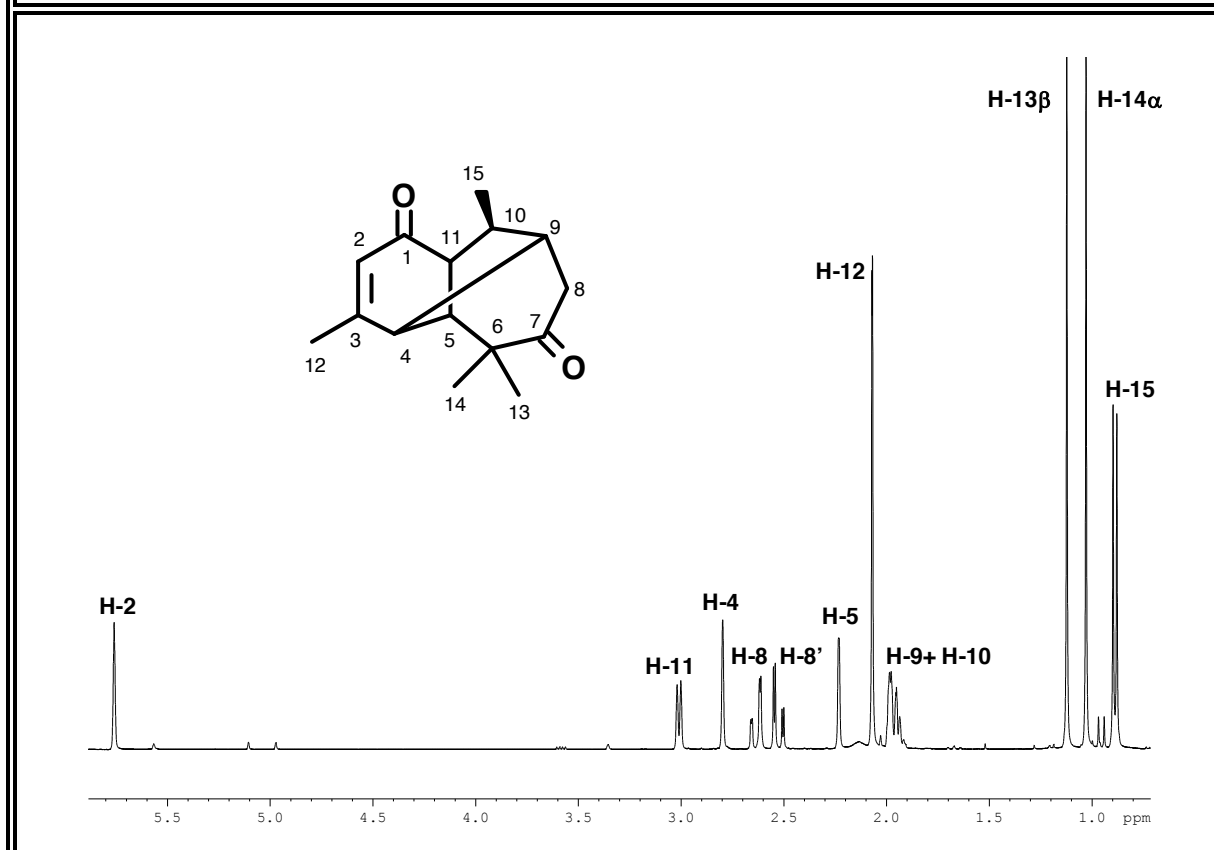


Tabla 17B: Desplazamientos Químicos (δ) en el Espectro de RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), Morelian-2-eno-1,7-diona [17]

H	H-2	H-4	H-5	H-8	H-8'	H-9
δ (ppm)	5,76	2,80	2,23	2,64	2,52	1,95
m	<i>sa</i>	<i>s</i>	<i>d</i>	<i>dd</i>	<i>dd</i>	<i>m</i>
J(Hz)	-	-	1,2	16,7 y 2,7	16,7 y 3,5	-
H	H-10	H-11	H-12	H-13α	H-14β	H-15
δ (ppm)	1,95	3,01	2,07	1,12	1,03	0,89
m	<i>m</i>	<i>d</i>	<i>d</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>d</i>
J(Hz)	-	7,3	1,2	-	-	7,3

Figura 17C: Espectro de RMN-¹³C (CDCl₃, 100 MHz), de la Morelian-2-eno-1,7-diona [17]

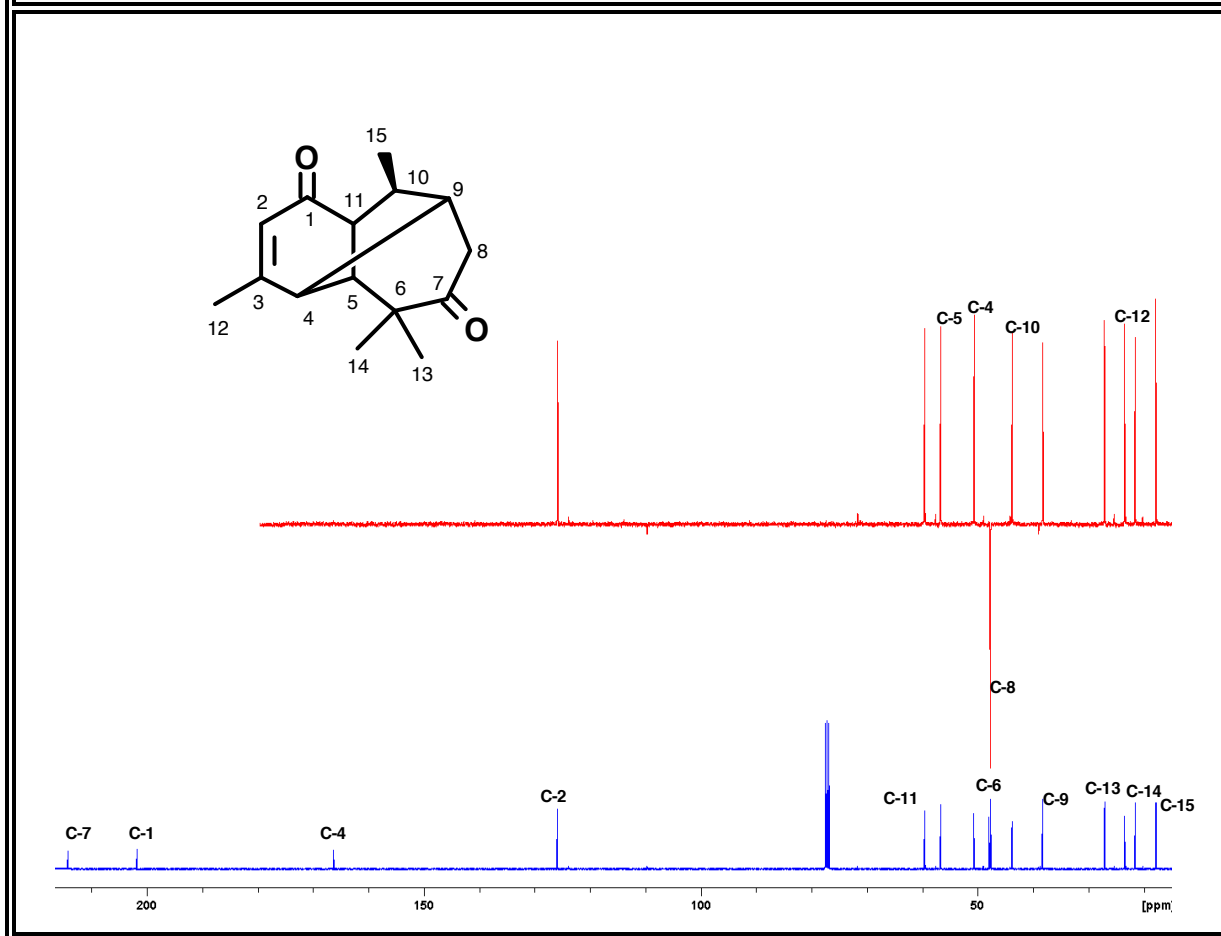
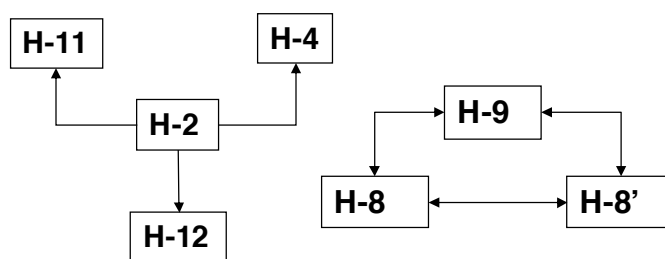
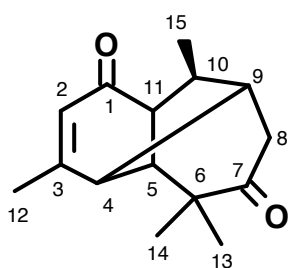
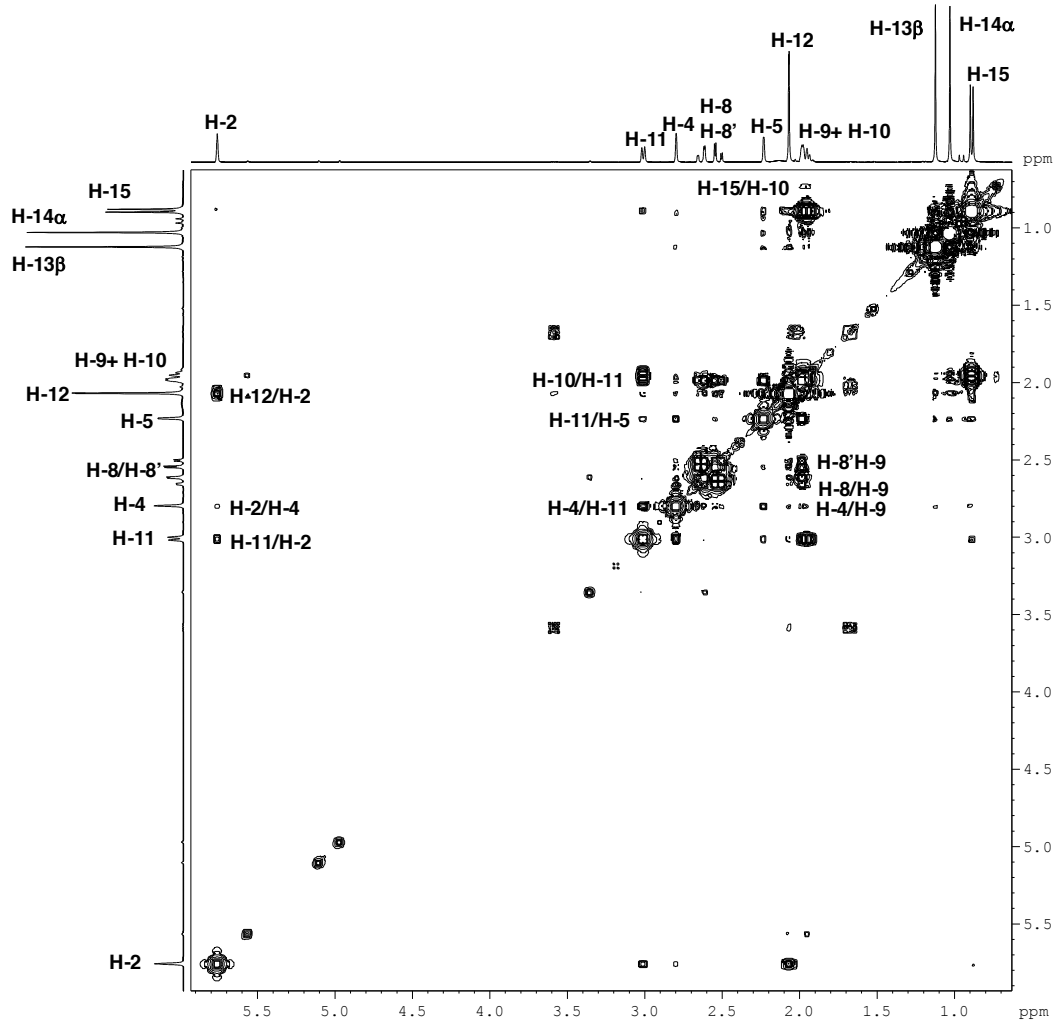


Tabla 17C: Desplazamientos Químicos (δ) en el Espectro de RMN-¹³C (CDCl₃, 100 MHz), de la Morelian-2-eno-1,7-diona [17]

C	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	C-7	C-8
δ	201,8	125,9	166,3	50,7	56,7	48,0	214,3	47,7
Tipo	> C= O	= CH	= C<	> CH	> CH	> C<	> C= O	-CH ₂
C	C-9	C-10	C-11	C-12	C-13	C-14	C-15	Valores de δ , relativos al TMS como referencia interna
δ	38,3	43,8	59,6	23,5	27,1	21,6	17,8	
Tipo	> CH	> CH	> CH	-CH ₃	-CH ₃	-CH ₃	-CH ₃	

**Figura 17D: Espectro ^1H , ^1H -COSY (CDCl_3)
de la Morelian-2-eno-1,7-diona [17]**



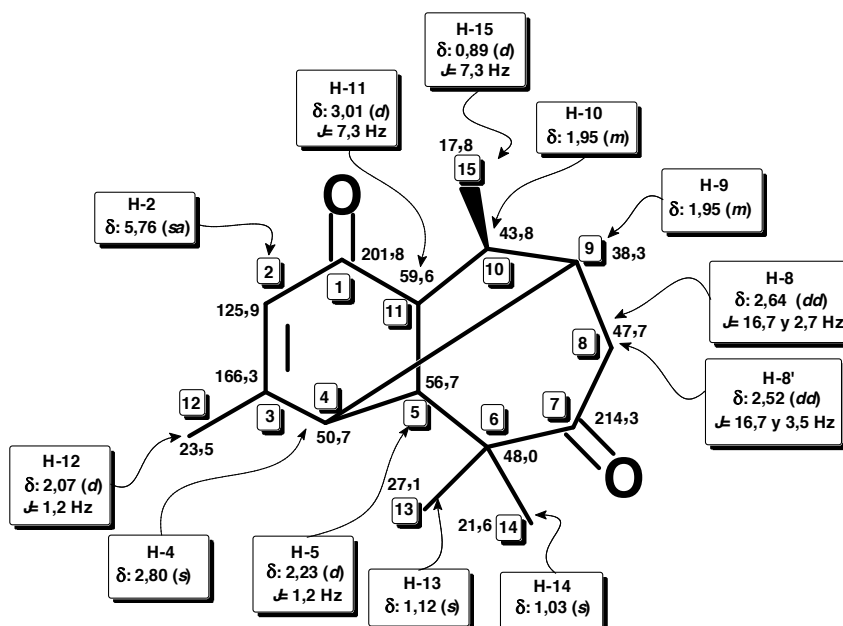


Figura 17E: Espectro HMQC (CDCl_3) de Morelian-2-eno-1,7-diona [17]

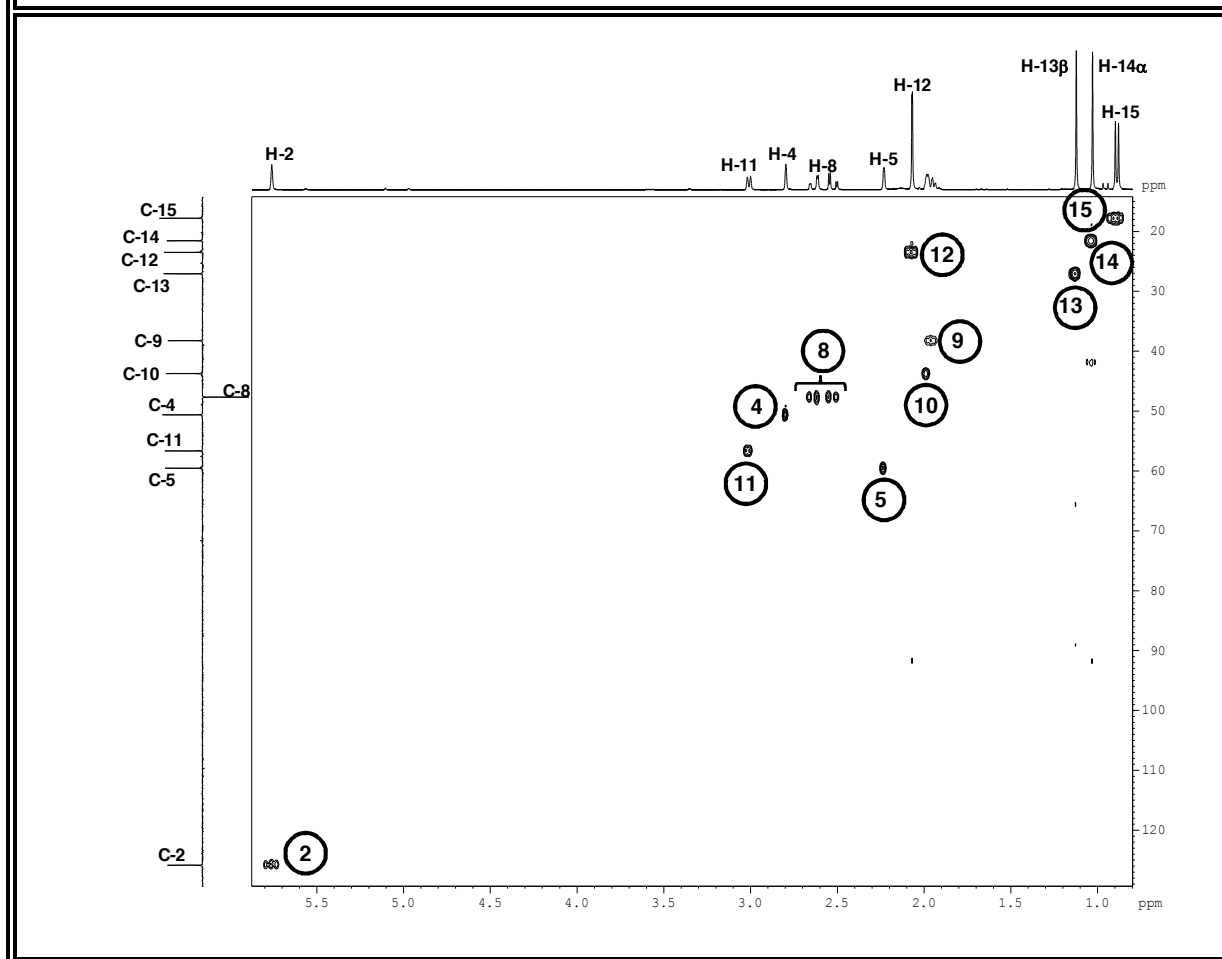
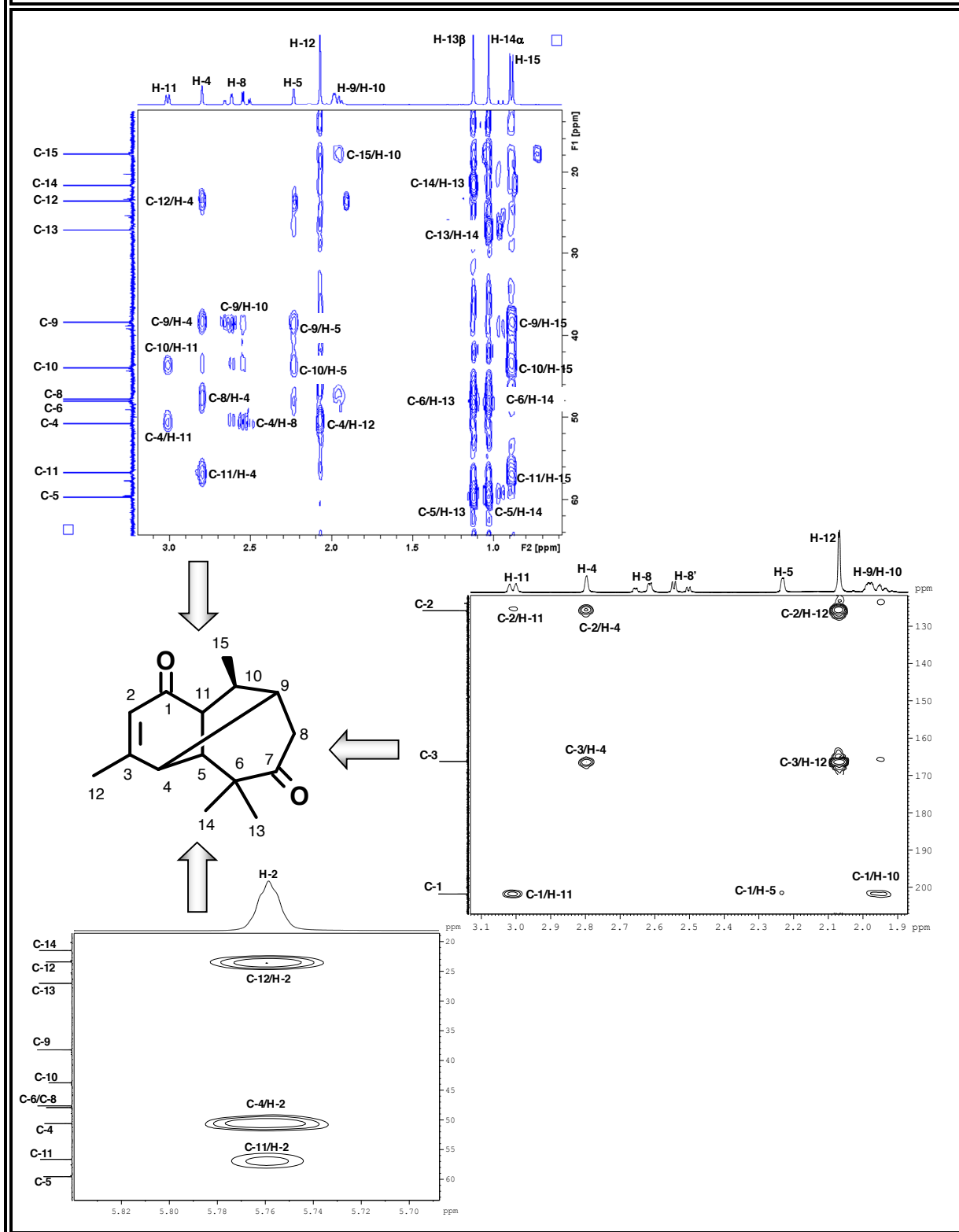
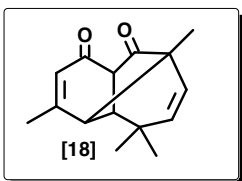


Figura 17F: Espectro HMBC (CDCl₃) de la Morelian-2-eno-1,7-diona [17]



Merida-2,7-dieno-1,9-diona [18]



Después de someter a refluxo en benceno en presencia de TsOH a la dicetona [4], se detecto por medio de TLC la formación de tres compuestos. Estos compuestos fueron aislados por medio de PLC. El compuesto de menor Rf fue identificado como el producto de deshidratación [6]. El producto [18] precedía al compuesto [6] sobre la cromatografía bidimensional; fue aislado como un sólido blanco de P.F. = 94-97 °C. Su espectro IR (Fig. 18A) presenta bandas típicas de dobles enlaces [$\nu_{\text{máx.}}$: 3050 y 815 cm^{-1} (= C-H) y $\nu_{\text{máx.}}$: 1611 cm^{-1} (C= C)] y una absorción intensa asignable a grupos carbonilos [$\nu_{\text{máx.}}$: 1682 cm^{-1} C= O)].

Figura 18A: Espectro Infrarrojo (KBr) de la Merida-2,7-dieno-1,9-diona [18]

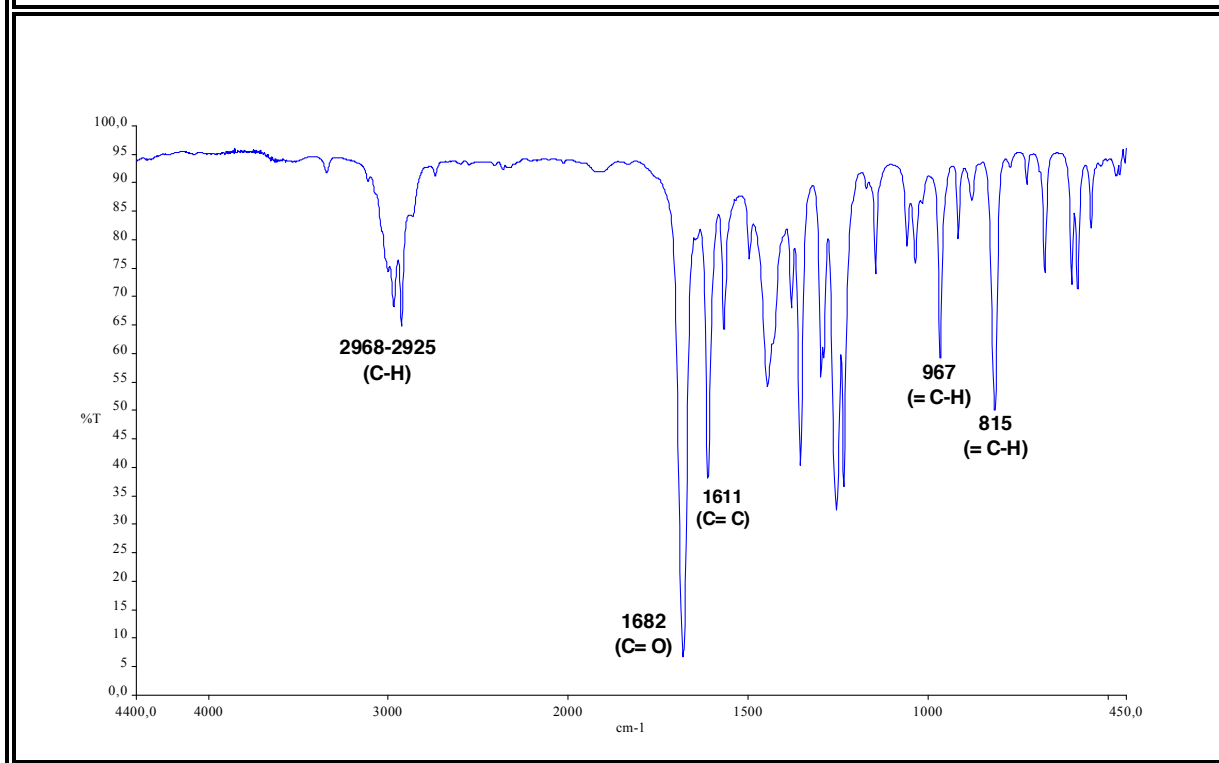


Tabla 18A: Bandas de Absorción Significativas en el Espectro Infrarrojo (KBr) de la Merida-2,7-dieno-1,9-diona [18]

$\nu_{\text{máx.}} (\text{cm}^{-1})$	3050	2968	1682	1611	967	815
Asignación	= C-H	C-H	C= O	C= C	= C-H	= C-H

Los datos obtenidos del análisis de sus espectros de RMN- ^1H (Fig. 18B; Tabla 8B) y de RMN- ^{13}C (BB, DEPT 135) (Fig. 18C; Tabla 18C), permitieron determinar el número de hidrógenos y carbonos presentes en la molécula, y también, el grado de hibridación y tipo de sustitución de cada carbono, con lo cual fue posible establecer la fórmula molecular $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{O}_2$. Esta fórmula molecular exige siete (7) grados de insaturación. De acuerdo con los datos de IR se infiere que algunas de las insaturaciones corresponden a grupos carbonilo $\text{C}=\text{O}$ y dobles enlaces olefínicos $\text{C}=\text{C}$. Esto concuerda con la detección, en su espectro de RMN- ^{13}C (Fig. 18C; Tabla 18C) de dos picos propios de carbonos cetónicos [δ_{C} : 200,1 ($>\text{C}=\text{O}$, C-1) y δ_{C} : 202,2 ($>\text{C}=\text{O}$, C-9)] y cuatro de carbonos olefínicos [δ_{C} : 125,5 ($=\underline{\text{C}}\text{H}$, C-2); δ_{C} : 163,3 ($=\underline{\text{C}}<$, C-3), δ_{C} : 139,5 ($=\underline{\text{C}}\text{H}$, C-7) y δ_{C} : 129,7 ($=\underline{\text{C}}\text{H}$, C-8)]. En consecuencia, las tres insaturaciones restantes corresponden a anillos, por lo tanto el compuesto es tricíclico.

El producto [18] muestra en sus espectros RMN- ^1H (Fig. 18B; Tabla 18B) y de RMN- ^{13}C (Fig. 18C; Tabla 18C) señales correspondientes a un doble enlace trisustituido conjugado con una cetona (C-1, C-2 y C-3). El protón olefínico [δ_{H} : 5,83, *s*, ($=\underline{\text{C}}\text{H}$, H-2)] presenta en el espectro $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY (Fig. 18D) un acoplamiento con los protones de un metilo alílico [δ_{H} : 2,12, *d*, $J = 1,3$ Hz ($-\underline{\text{C}}\text{H}_3$, H-12)], por lo tanto, uno de los sustituyentes de la olefina es un metilo (Fig. 18F-1).

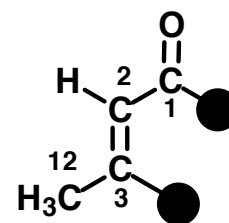


Figura 18F-1

Las señales olefínicas restantes [δ_{H} : 5,53, *dd*, $J = 9,1$ y $1,3$ Hz ($=\underline{\text{C}}\text{H}$, H-7) y δ_{H} : 5,42 ($=\underline{\text{C}}\text{H}$, C-8)] (Fig. 18B y Fig. 18C) corresponden a un alqueno disustituido cuyas constantes de acoplamiento corresponden a un doble enlace *cis*. En el espectro COSY (Fig. 18D) se puede apreciar el sistema AB de estos hidrógenos. En el espectro HMBC (Fig. 18F), estos metinos olefínicos presentan correlaciones con dos carbonos cuaternarios sp^3 , de los cuales, uno forma parte de un grupo *gem*-dimetilo [δ_{C} : 37,2 ($>\underline{\text{C}}<$, C-6)] y el otro soporta un metilo [δ_{C} : 45,8 ($>\underline{\text{C}}<$, C-10)] (Fig. 18F-2).

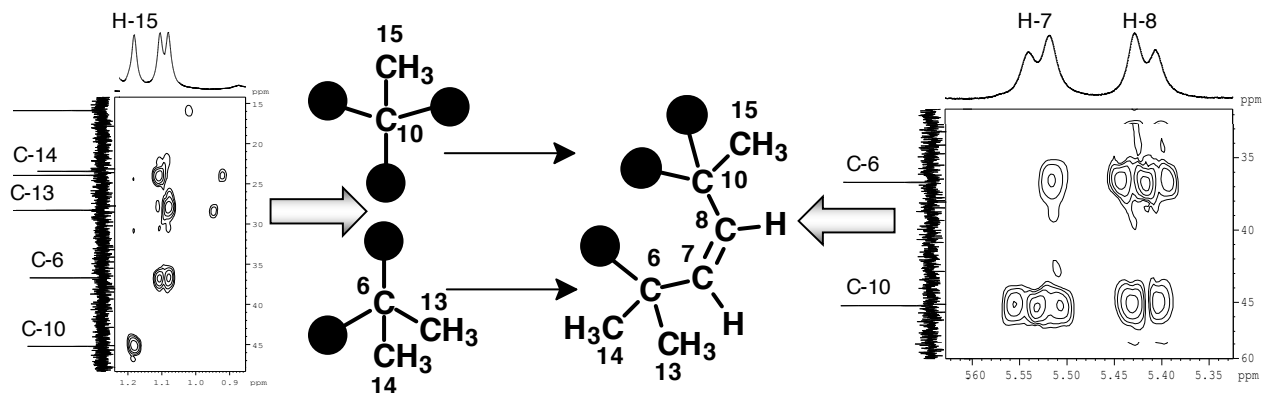


Figura 18F-2

En el DEPT 135 del compuesto **[18]** (Fig. 18C; Tabla 18C) se detectan tres carbonos sp^3 cuyo desplazamiento corresponde a metinos [δ_C : 57,0 ($>CH$, C-4); δ_C : 54,8 ($>CH$, C-5), δ_C : 57,8 ($>CH$, C-11)]. Por medio del espectro HMQC (Fig. 18E), se determinó que los picos de estos carbonos presentan cruces con tres protones que resuenan entre 3.30 y 2.30 ppm [δ_H : 3,28, *d*, $J = 3,5$ Hz ($>CH$, H-4); δ_H : 2,39, *s*, ($>CH$, H-5), δ_H : 2,89, *d*, $J = 1,1$ Hz ($>CH$, H-11)]. A su vez, estos protones conforman un sistema ABX en el espectro $^1H, ^1H$ -COSY (Fig. 18D y Fig. 18F-3). También es posible apreciar las correlaciones cruces H-5 \leftrightarrow C-11 \leftrightarrow H-4 / H-11 \leftrightarrow C-4 (Fig. 18F). Con base en estas evidencias, se concluye que los metinos C-4, C-5 y C-11 están unidos entre sí como se indica en la Figura 18F-3.

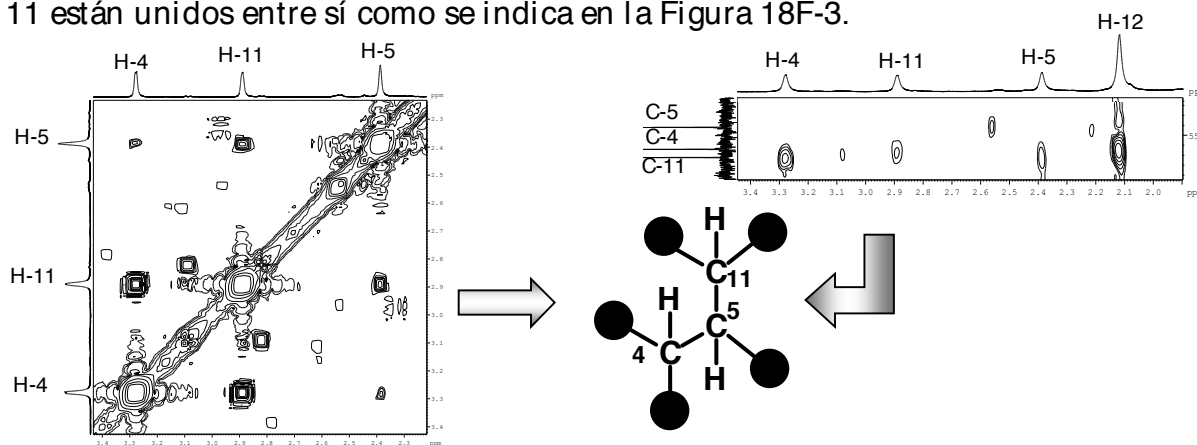


Figura 18F-3

En los espectros HMBC (Fig. 18F) y $^1H, ^1H$ -COSY (Fig. 18D) se observan señales que indican que las subunidades estructurales representadas en las figuras 18F-1, 18F-2 y 18F-3, están conectadas entre sí. Así pues, las correlaciones C-1 \leftrightarrow H-11 / C-3 \leftrightarrow H-5 \leftrightarrow C-1 (Fig. 18F) permiten fusionar las subunidades de las figuras 18F-1 y 18F-3 generando una ciclohexenona trisustituida (Fig. 18F-4). Los cruces H-14 \leftrightarrow C-5 \leftrightarrow H-13 / H-7 \leftrightarrow C-5 señalan que el carbono cuaternario del grupo *gem* dimetilo está unido al carbono C-5 de la ciclohexenona (Fig. 18F-4). La unión de estos fragmentos se confirma mediante la correlación entre el protón olefínico H-7 y el hidrógeno cabeza de puente H-5 (Fig. 18D).

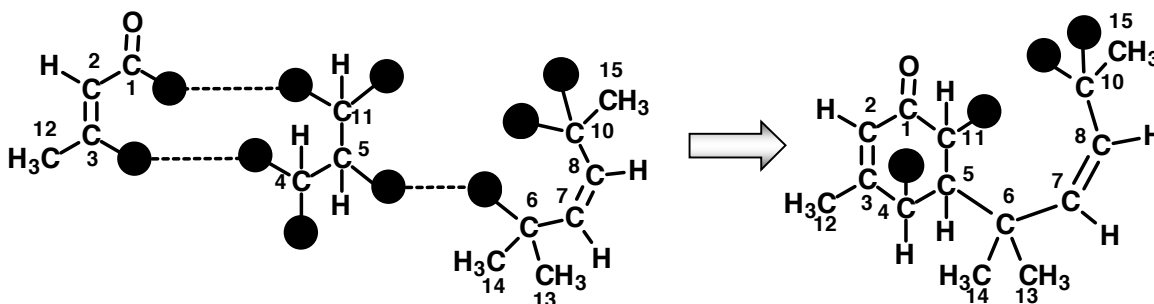


Figura 18F-4

En este punto, se han utilizado catorce de los quince átomos de carbono que conforman la estructura y de acuerdo con el análisis desarrollado; solamente resta incluir en la subunidad estructural de la figura 18F-4 un carbonilo cetónico (C-9) que según las correlaciones $H-5 \leftrightarrow C-9 \leftrightarrow H-15$ dicha cetona debe ubicarse entre el metino C-11 y el carbono cuaternario C-10 (Fig. 18F-5).

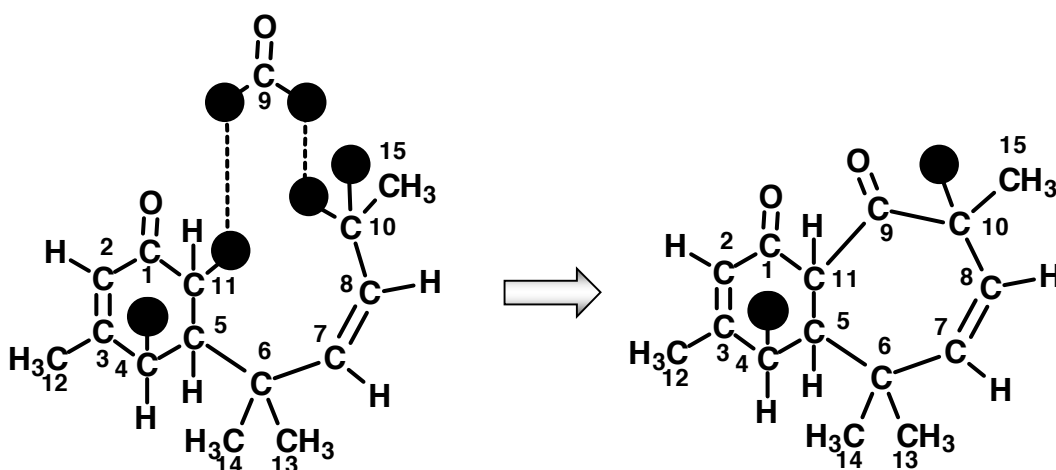


Figura 18F-5

En la figura 18F-5, resulta evidente que los carbonos C-4 y C-10 requieren de un enlace σ para completar su número de coordinación. Por esta razón, se concluye que el enlace faltante para formar el tercer ciclo que exige la fórmula molecular establecida para el compuesto **[18]** ($C_{15}H_{18}O_2$), está ubicado entre los carbonos C-4 y C-10. Así pues, se obtiene la estructura gruesa representada en la figura 18F-6.

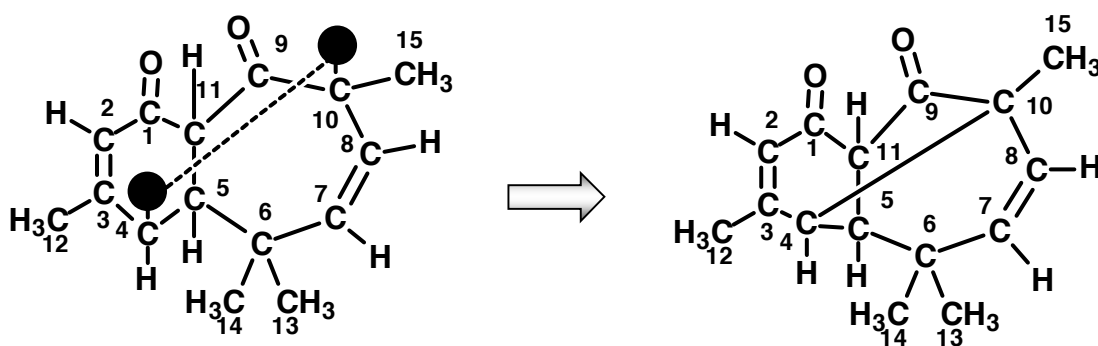


Figura 18F-6

La multiplicidad y las constantes de acoplamiento observadas para los protones H-4, H-5 y H-11 del compuesto **[18]** (Fig. 18F-6 y Fig. 18F-7) exigen que los ángulos diedros $H-4 \wedge C-4 \wedge C-5 \wedge H-5$ / $H-5 \wedge C-5 \wedge C-11 \wedge H-11$ tengan valores cercanos a 90° . Esto requiere que dichos protones sean cabeza de puente en un sistema tricíclico como el planteado en la figura 18F-8.

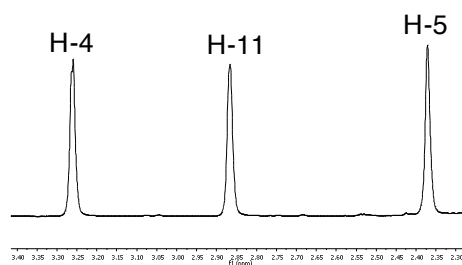


Figura 18F-7

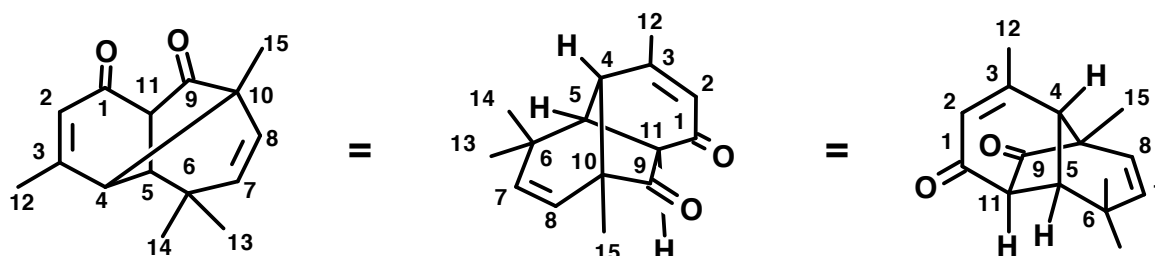


Figura 18F-8

Una extensa revisión bibliográfica puso en evidencia que el producto de reagrupamiento **[18]** presenta una nueva conectividad entre los átomos de carbono que conforman la estructura, es decir; la estructura obtenida posee un esqueleto nuevo para la ciencia, por lo tanto, este esqueleto se ha nombrado como Meridano.

Esquema XII: Mecanismo propuesto para la formación de la Merida-2,7-dieno-1,9-diona **[18]**

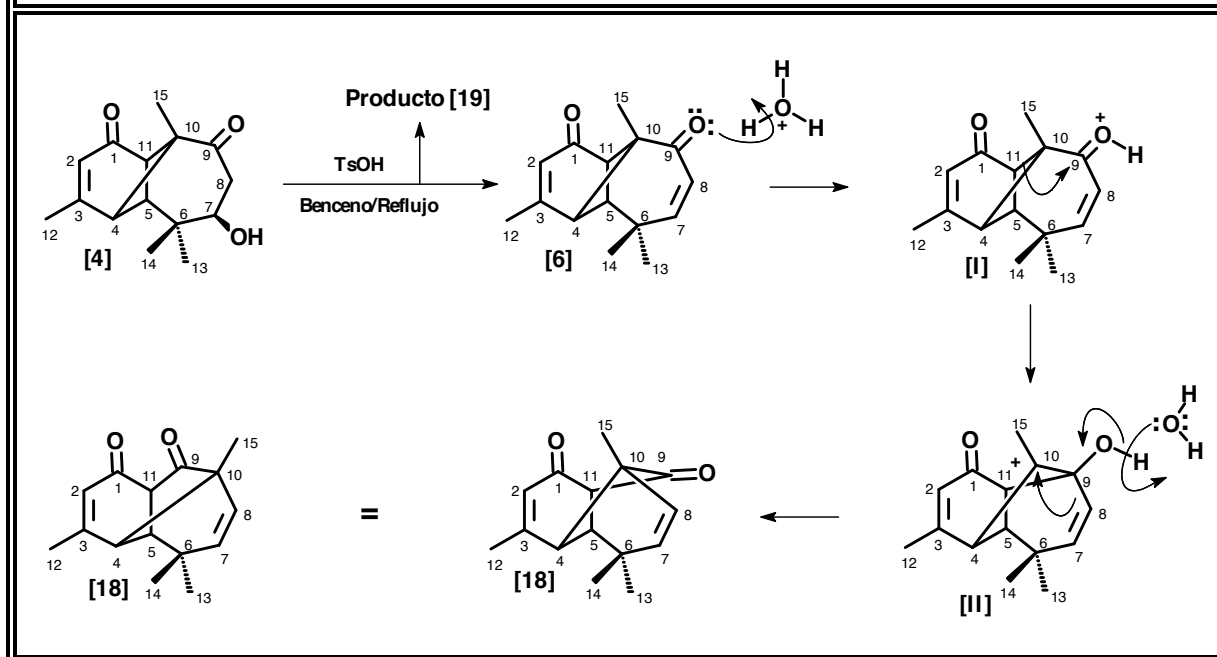


Figura 18B: Espectro de RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), de la Merida-2,7-dieno-1,9-diona [18]

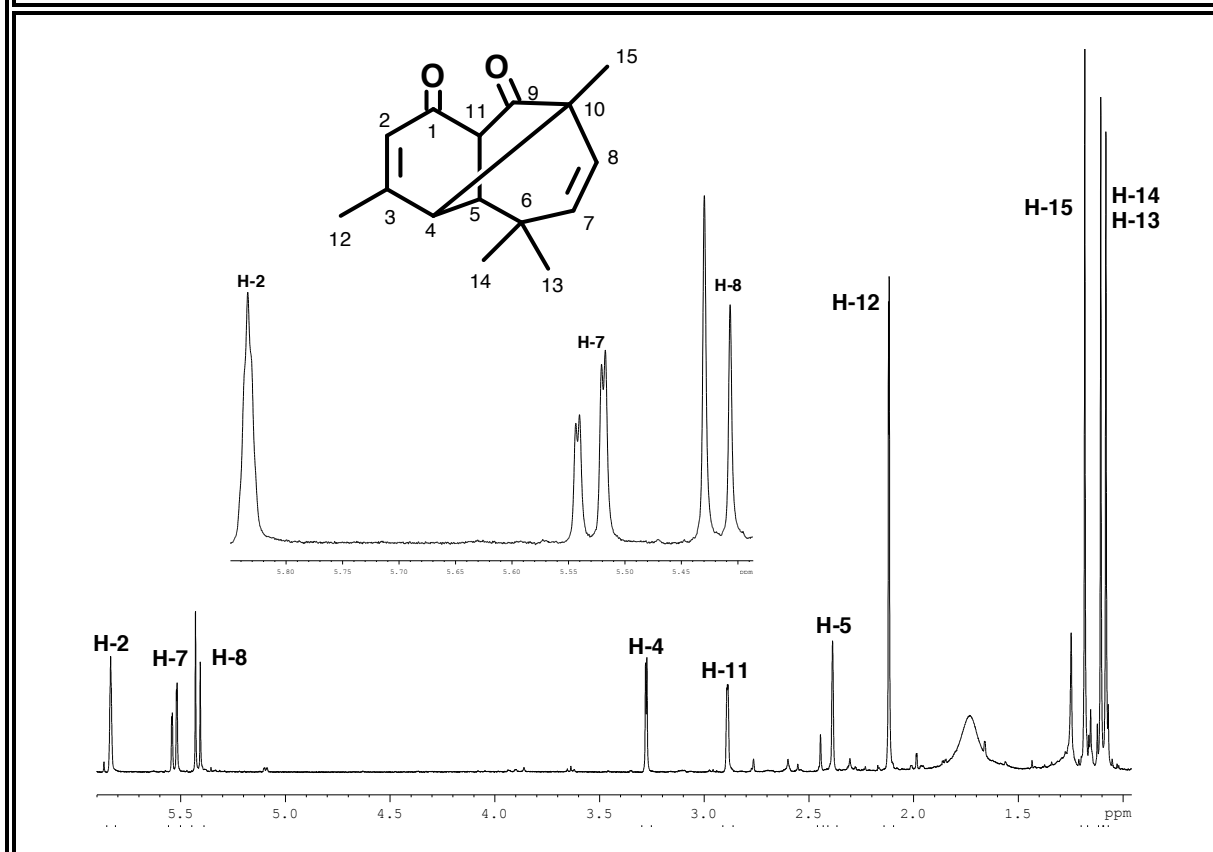


Tabla 18B: Desplazamientos Químicos (δ) en el Espectro de RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), de la Merida-2,7-dieno-1,9-diona [18]

H	H-2	H-4	H-5	H-7	H-8
δ (ppm)	5,83	3,28	2,39	5,53	5,42
m	<i>s</i>	<i>d</i>	<i>s</i>	<i>dd</i>	<i>d</i>
<i>J</i>(Hz)	-	3,5	-	9,1 y 1,3	9,1
H	H-11	H-12	H-13	H-14	H-15
δ (ppm)	2,89	2,12	1,11	1,08	1,18
m	<i>d</i>	<i>d</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>s</i>
<i>J</i>(Hz)	1,1	1,3	-	-	-

Figura 18C: Espectro de RMN-¹³C (CDCl₃, 100 MHz), de la Merida-2,7-dieno-1,9-diona [18]

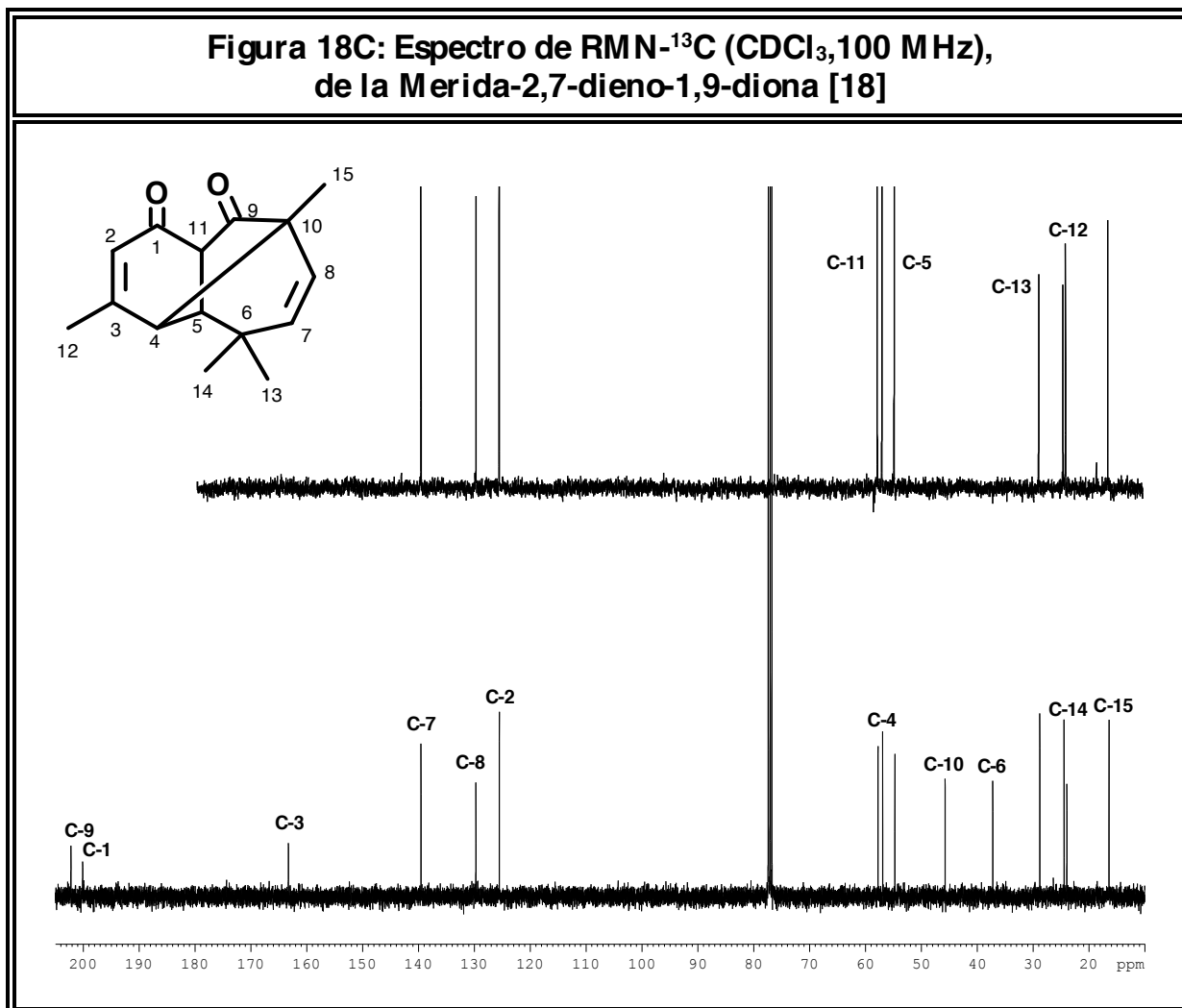
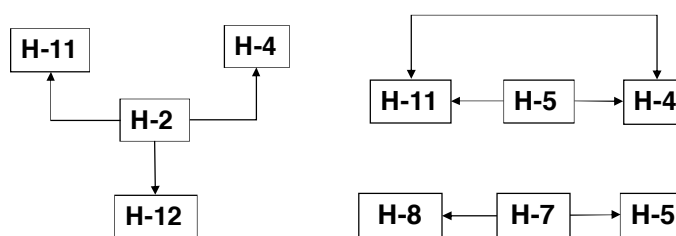
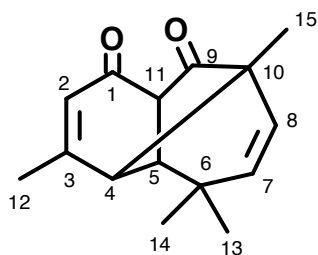
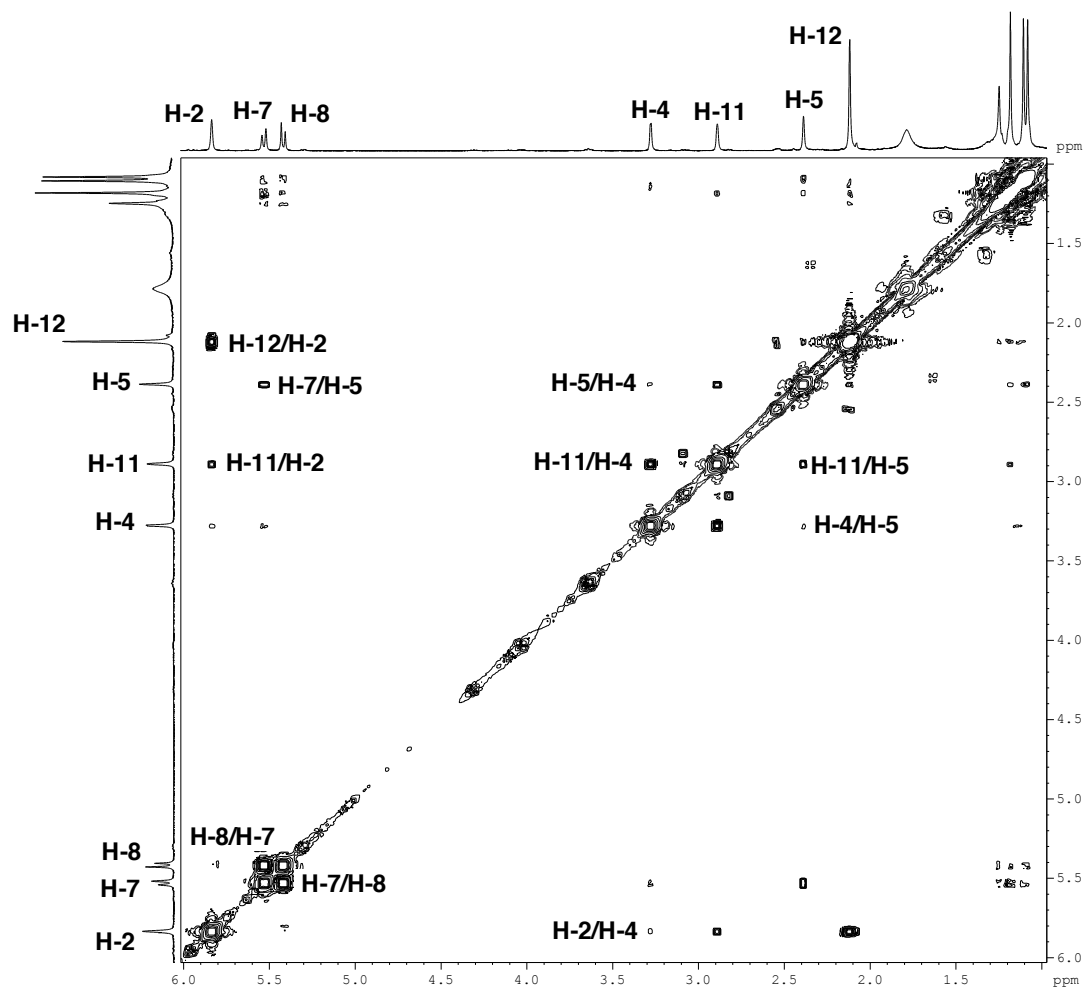


Tabla 18C: Desplazamientos Químicos (δ) en el Espectro de RMN-¹³C (CDCl₃, 100 MHz), de la Merida-2,7-dieno-1,9-diona [18]

C	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	C-7	C-8	
δ	200,1	125,5	163,3	57,0	54,8	37,2	139,5	129,7	
Tipo	> C= O	= CH	= C<	> CH	> CH	> C<	= CH	= CH	
C	C-9	C-10	C-11	C-12	C-13	C-14	C-15		Valores de δ , relativos al TMS como referencia interna
δ	202,2	45,8	57,8	24,0	28,8	24,5	16,4		
Tipo	> C= O	> C<	> CH	-CH ₃	-CH ₃	-CH ₃	-CH ₃		

Figura 18D: Espectro $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY (CDCl_3)
de la Merida-2,7-dieno-1,9-diona [18]



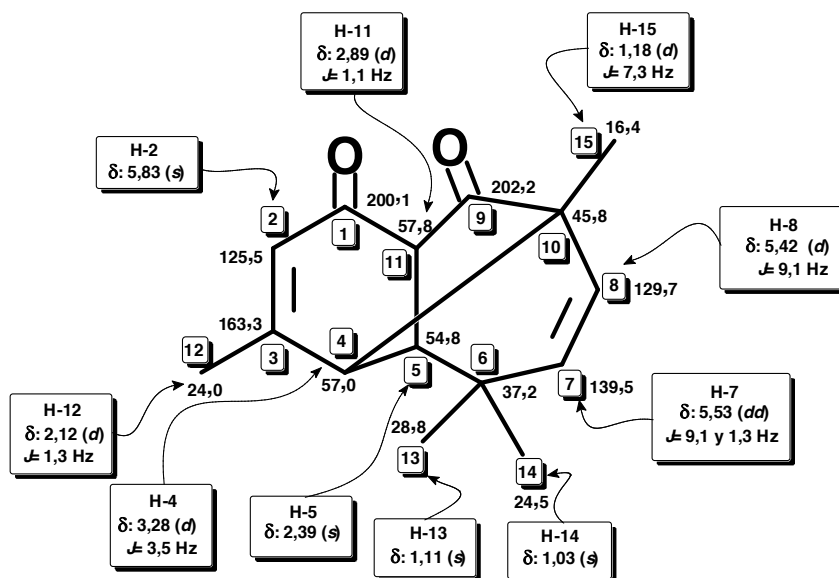


Figura 18E: Espectro HMQC (CDCl_3) de la Merida-2,7-dieno-1,9-diona [18]

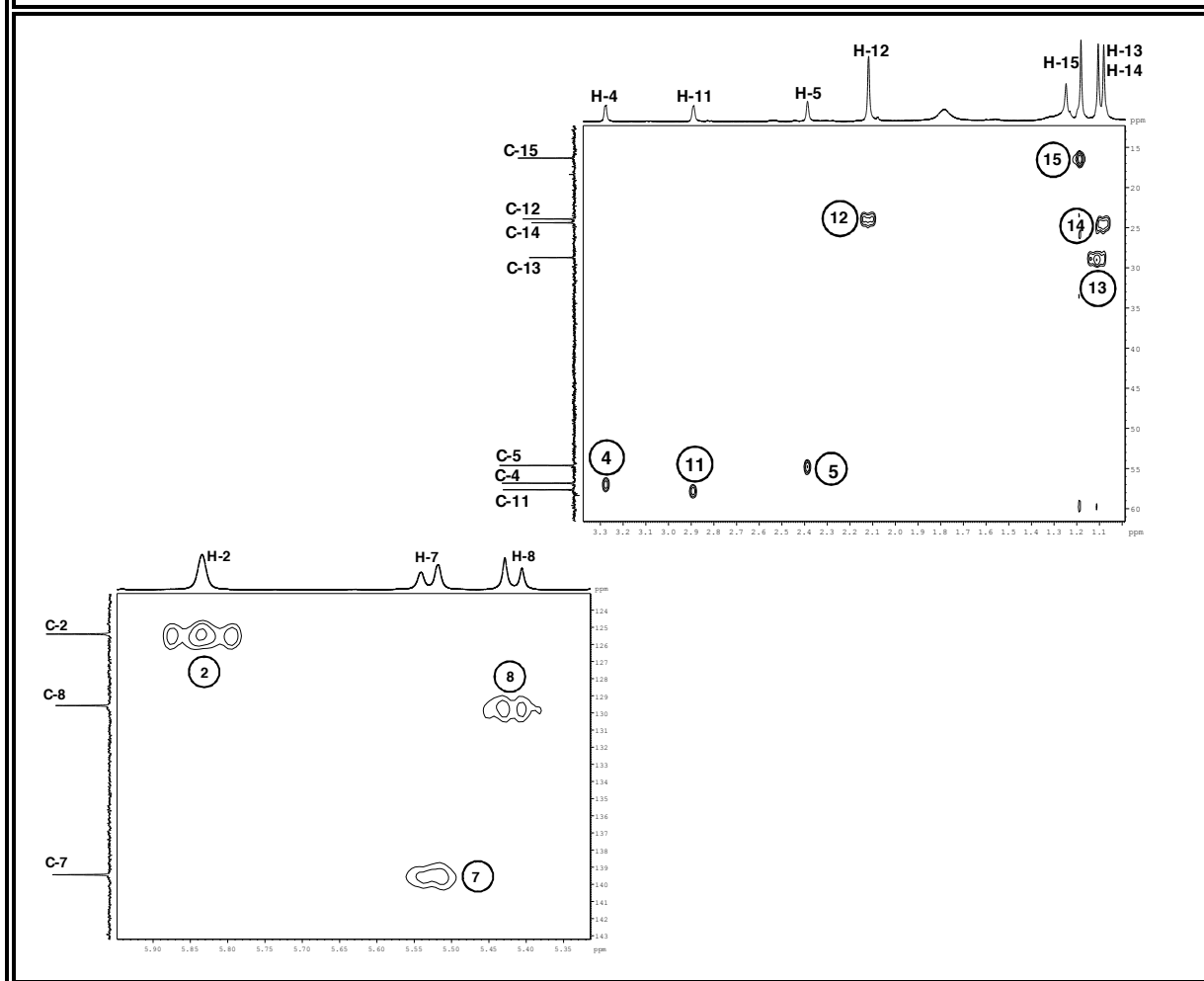
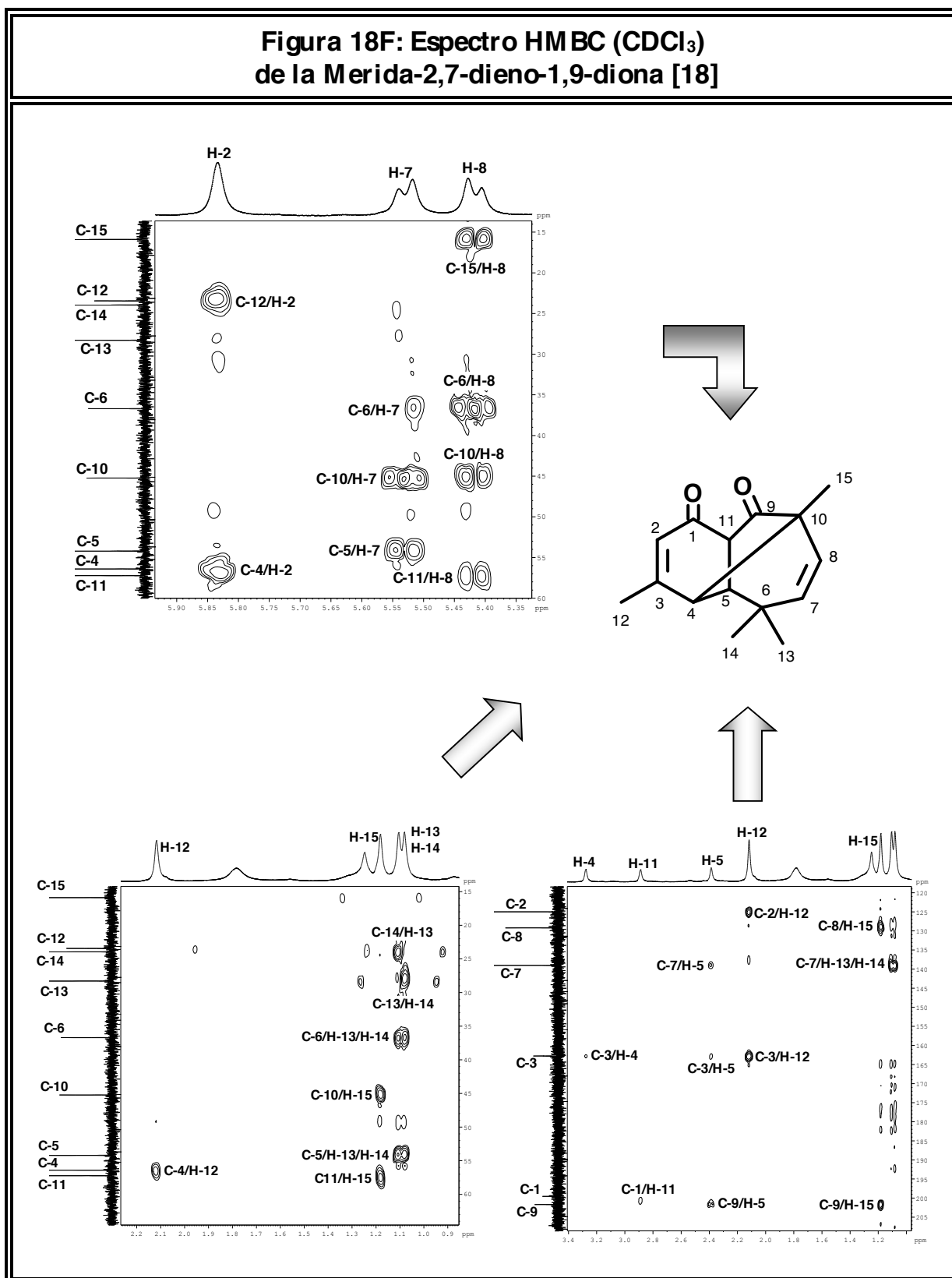
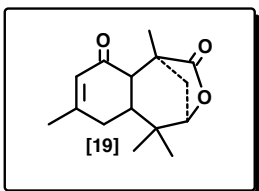


Figura 18F: Espectro HMBC (CDCl₃)
de la Merida-2,7-dieno-1,9-diona [18]



1-oxo-2-en-uladan-7(9)-olida [19]



El compuesto [19], se obtiene en la reacción de reflujo en benceno junto con los productos [6] y [18] anteriormente descritos. El compuesto [19] resulto ser el de menor R_f sobre la cromatografía bidimensional, Fue aislado como un sólido cristalino de P.F. = 182-183 °C. Su espectro IR (Fig. 19A; Tabla 19A) presento bandas típicas de dobles enlaces [$\nu_{\text{máx.}}$: 1616 cm^{-1} (C= C) y 888 cm^{-1} (= C-H)] y dos absorciones intensas asignables a grupos carbonilos [$\nu_{\text{máx.}}$: 1767 y 1648 cm^{-1} C= O)].

Figura 19A: Espectro Infrarrojo (KBr) de la 1-oxo-2-en-uladan-7(9)-olida [19]

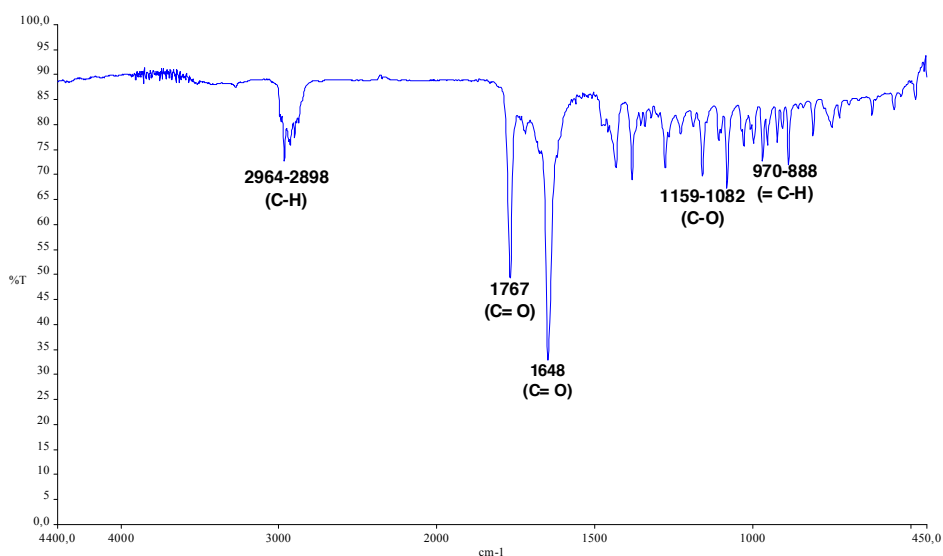


Tabla 19A: Bandas de Absorción Significativas en el Espectro Infrarrojo (KBr) de la 1-oxo-2-en-uladan-7(9)-olida [19]

$\nu_{\text{máx.}}$ (cm^{-1})	2964-2898	1767	1648	1159-1082	970-888
Asignación	C-H	C= O	C= O	C-O	= C-H

A partir del estudio de sus espectros de RMN- ^1H (Figura 19B; Tabla 19B) y de RMN- ^{13}C (BB, DEPT 135) (Figura 19C; Tabla 19C), se determinó el número de hidrógenos y de carbonos presentes en la molécula, y también, el grado de hibridación y tipo de sustitución de cada carbono. Según esto, la fórmula molecular del compuesto **[19]** es $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{O}_3$. Esta fórmula molecular exige seis (6) grados de insaturación, de acuerdo con los datos de IR se infiere que algunas de las insaturaciones corresponden a grupos carbonilo $\text{C}=\text{O}$ y dobles enlaces olefinicos $\text{C}=\text{C}$. Esto concuerda con la detección, en su espectro de RMN- ^{13}C (Fig. 19C; Tabla 19C) de dos picos propios de carbonos carbonílicos [δ_{C} : 197,0 ($>\text{C}=\text{O}$, C-1) y δ_{C} : 179,6 ($-\text{O}-\text{C}=\text{O}$, C-9)] y dos de carbonos olefinicos [δ_{C} : 125,6 ($=\text{CH}$, C-2); δ_{C} : 162,7 ($=\text{C}<$, C-3)]. En consecuencia, las tres insaturaciones restantes corresponden a anillos, con lo cual el compuesto es tricíclico.

Al igual que en los casos anteriores, los espectros RMN- ^1H (Fig. 19B) y RMN- ^{13}C exhiben señales correspondientes a una olefina trisustituida conjugada con una cetona, en la cual uno de los sustituyentes es un metilo [δ_{H} : 1,90, s, ($-\text{CH}_3$, H-12) y δ_{C} : 24,4 ($-\text{CH}_3$, C-12)]. Este fragmento de la molécula está conectado con dos metinos [δ_{H} : 2,36, m, ($>\text{CH}$, H-5); δ_{C} : 40,9 ($>\text{CH}$, C-5); δ_{H} : 2,65, d, $J=6,5$ Hz ($>\text{CH}$, H-11); δ_{C} : 49,8 ($>\text{CH}$, C-11)] y un metileno [δ_{H} : 2,83, dd, $J=19,3$ y $12,4$ Hz ($>\text{CH}_2$, H-4); δ_{H} : 2,12, m, ($>\text{CH}_2$, H-4') y δ_{C} : 31,2 ($>\text{CH}_2$, C-4)]. La unión de estos carbonos se estableció mediante los cruces $\text{H-12} \leftrightarrow \text{C-4} \leftrightarrow \text{H-11} \leftrightarrow \text{C-1} / \text{C-3} \leftrightarrow \text{H-4} \leftrightarrow \text{C-12}$ que se observan en su espectro HMBC (Fig. 19F) y están representados en la figura 19F-1.

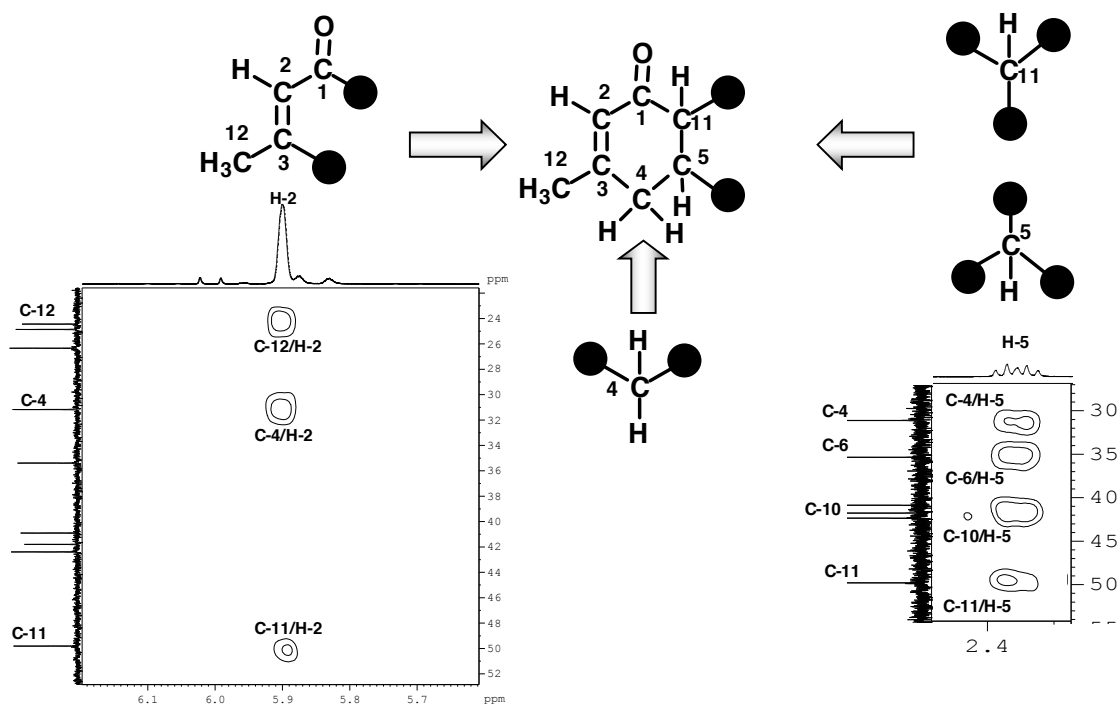


Figura 19F-1

Los protones metínicos H-5 y H-11 de la subunidad estructural planteada en la figura 19F-1 están conectados a los carbonos cuaternarios C-6 y C-10 respectivamente [δ_C : 35,4; ($>C<$; C-6) y δ_C : 41,8; ($>C<$; C-10)]. Según las evidencias espectroscópicas observadas en HMBC (Fig. 19F) y $^1H,^1H$ -COSY (Fig. 19E), el carbono identificado como C-6 forma parte de un grupo *gem*-dimetilo y está unido a un carbono oximetínico [δ_H : 4,27, *d*, $J = 5,9$ Hz ($>CH-O-$; H-7) y δ_C : 85,6; ($>CH-O-$; C-7)] cuyo desplazamiento químico indica que forma parte de un éster. Por otro lado, el carbono C-10 soporta a un metilo [δ_H : 1,14, *s*, ($-CH_3$; H-15) y δ_C : 18,2; ($-CH_3$; C-15)] y un grupo carbonilo [δ_C : 179,6; ($-O-C=O$; C-9)] correspondiente a un éster. No habiendo otras funciones oxigenadas en la molécula, necesariamente deben estar unidos el oxígeno ubicado sobre C-7 y el carbono C-9 conformando el anillo lactónico que se representa en la subunidad estructural de la figura 19F-2.

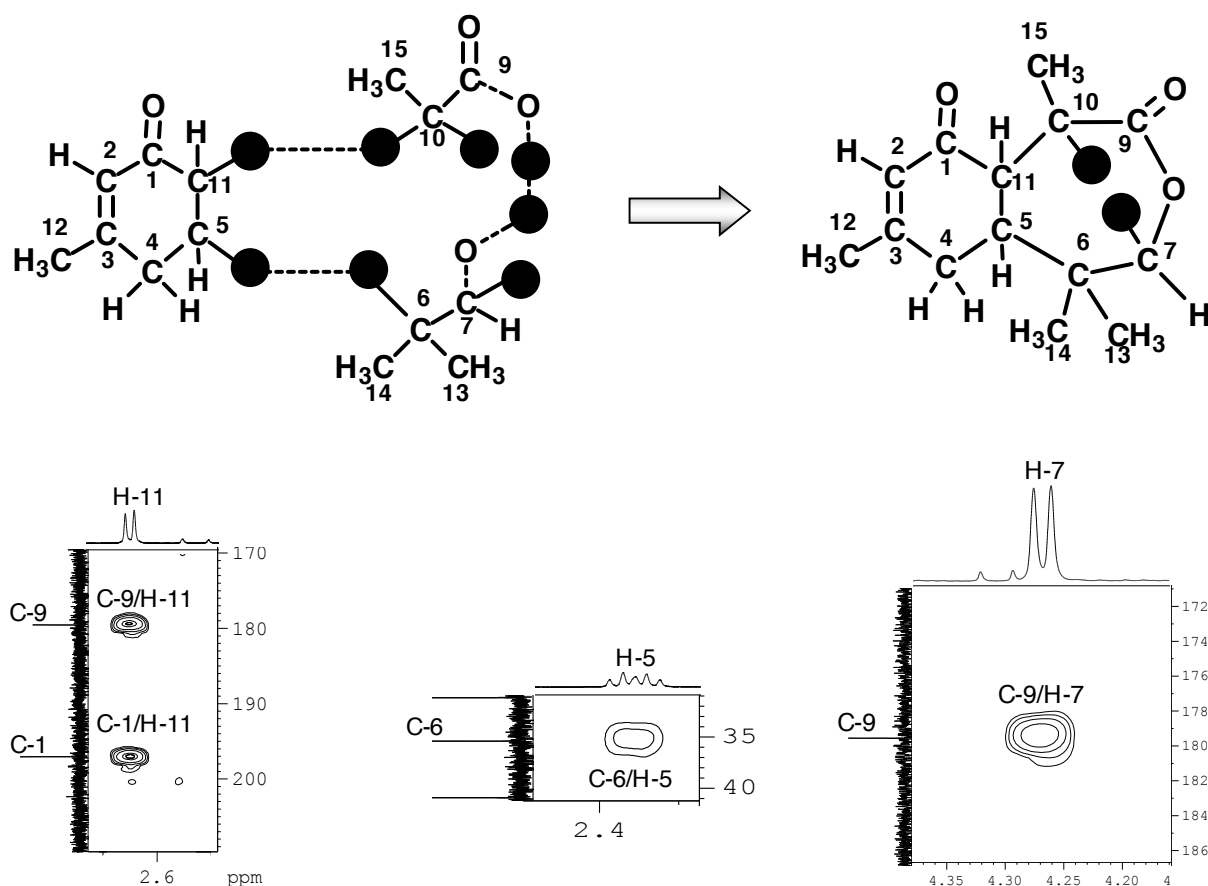


Figura 19F-2

En la subunidad estructural representada en la figura 19F-2 se han incluido catorce de los quince carbonos que conforman la molécula, solo falta conectar un metileno [δ_{H} : 2,24, *d*, $J = 12,0$ Hz ($>\text{CH}_2$; H-8); δ_{H} : 2,12, *m*, ($>\text{CH}_2$; H-8') y δ_{C} : 42,4; ($>\text{CH}_2$; C-8)] y generar el tercer ciclo del compuesto **[19]**. Así pues, la única opción posible es conectar dicho metileno al carbono cuaternario C-10 y al oximetino C-7 (Fig. 19F-3). La unión de estos carbonos se sustenta por las correlaciones observadas en HMBC: C-10 \leftrightarrow H-8 \leftrightarrow C-11 / H-8 \leftrightarrow C-9 (Fig. 19F) y COSY: H-8 \leftrightarrow H-7 (Fig. 19D).

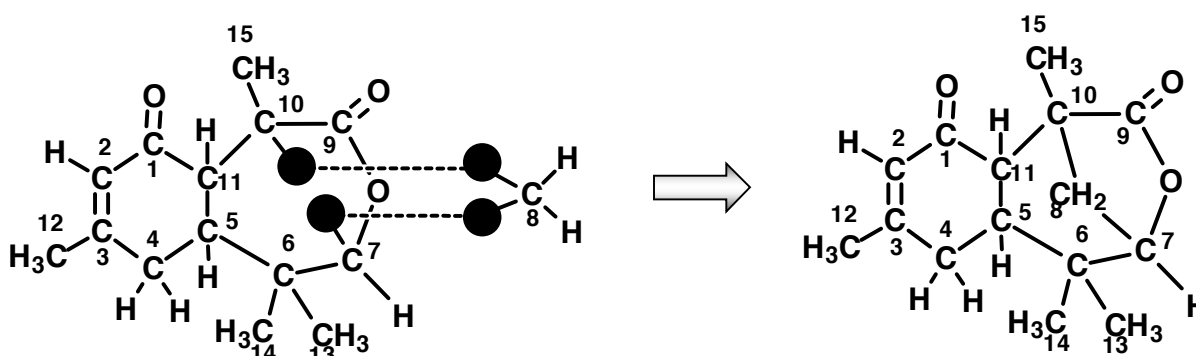


Figura 19F-3

La estereoquímica del compuesto **[19]** se determinó mediante las correlaciones H-5 \leftrightarrow H-11 \leftrightarrow H-15 observadas en su espectro NOESY (Fig. 19G y 19F-4)

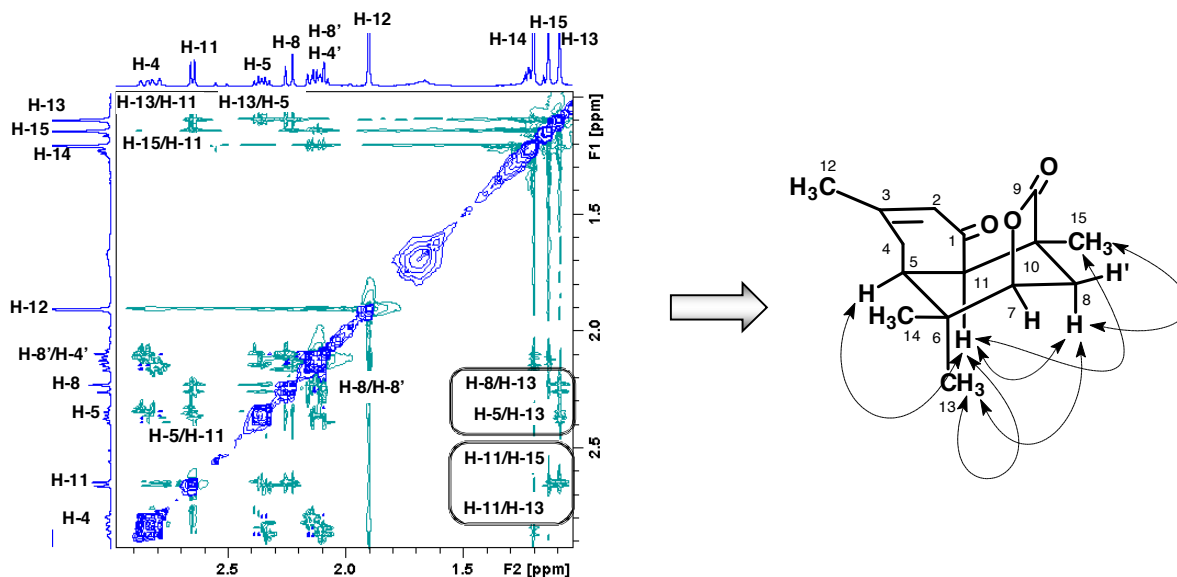


Figura 19F-4

Al igual que en el caso anterior (compuesto [18]), la revisión bibliográfica indico que el esqueleto del producto de reagrupamiento [19] es nuevo para la ciencia. Así pues, este esqueleto se nombró como Uladano.

Para la formación del compuesto [19], se propone el mecanismo representado en el esquema XIII.

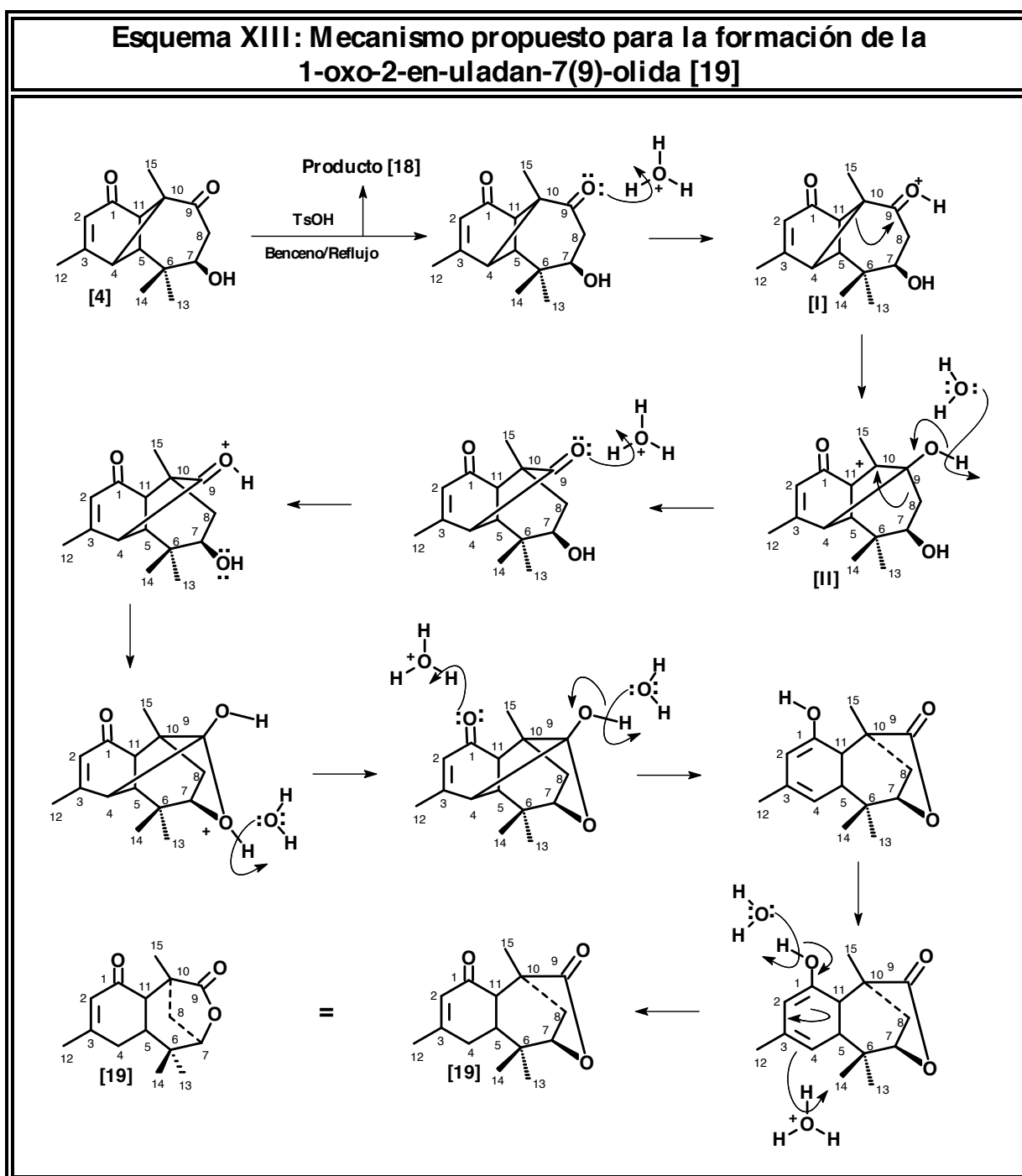


Figura 19B: Espectro de RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), de la 1-oxo-2-en-uladan-7(9)-olida [19]

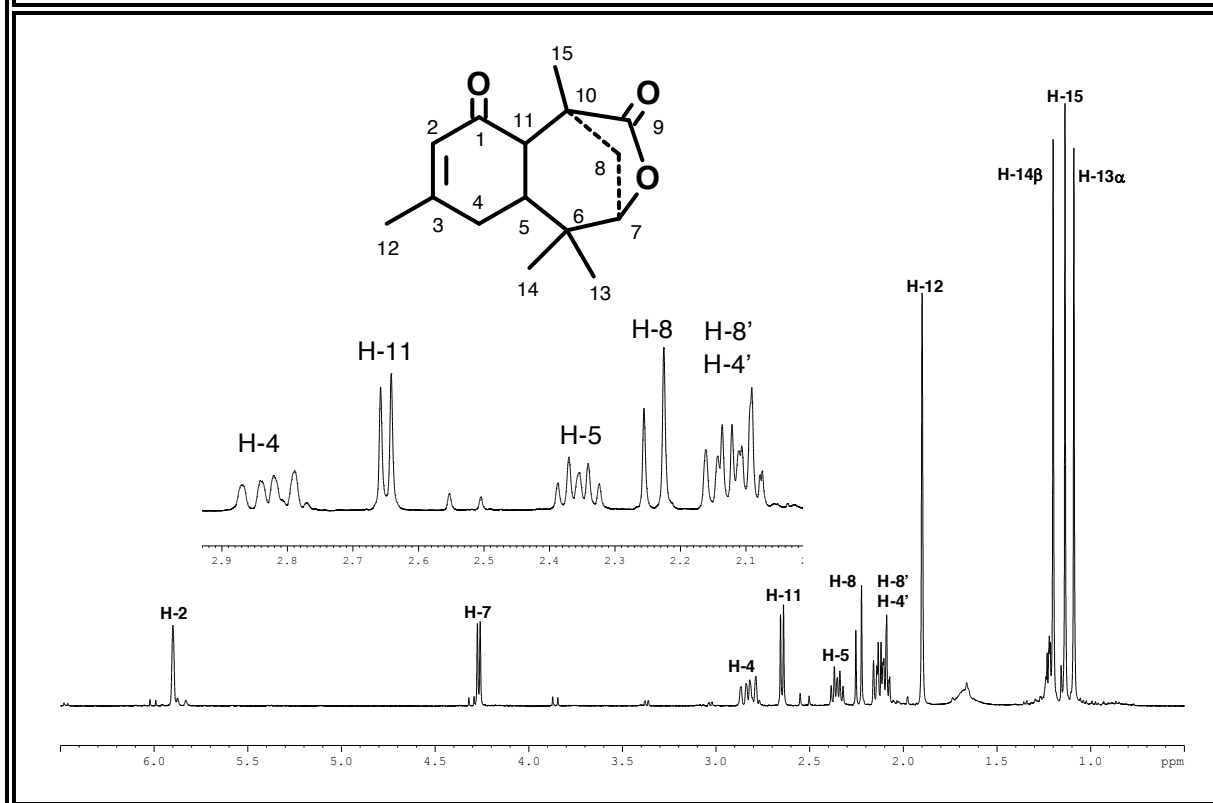


Tabla 19B: Desplazamientos Químicos (δ) en el Espectro de RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), de la 1-oxo-2-en-uladan-7(9)-olida [19]

H	H-2	H-4	H-4'	H-5	H-7	H-8
δ (ppm)	5,90	2,83	2,12	2,36	4,27	2,24
m	<i>s</i>	<i>dd</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>d</i>	<i>d</i>
J(Hz)	-	19,3 y 12,4	-	-	5,9	12,0
H	H-8'	H-11	H-12	H-13	H-14	H-15
δ (ppm)	2,12	2,65	1,90	1,09	1,20	1,14
m	<i>m</i>	<i>d</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>s</i>
J(Hz)	-	6,5	-	-	-	-

Figura 19C: Espectro de RMN-¹³C (CDCl₃, 100 MHz), de la 1-oxo-2-en-uladan-7(9)-olida [19]

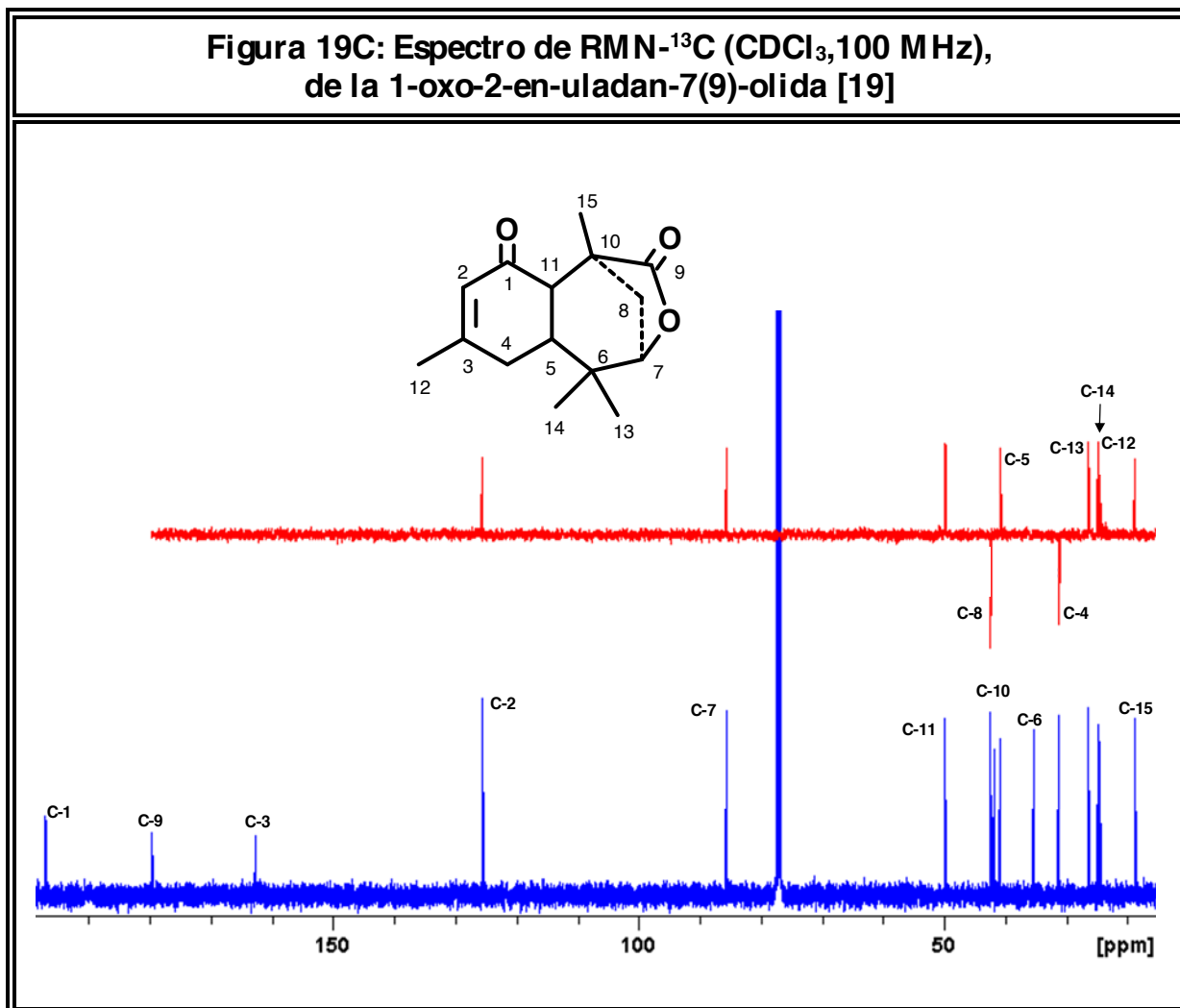
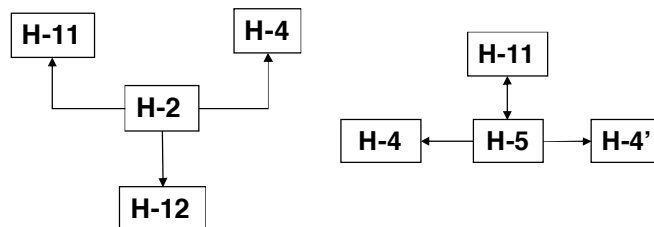
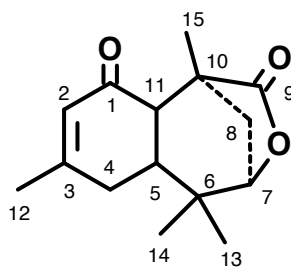
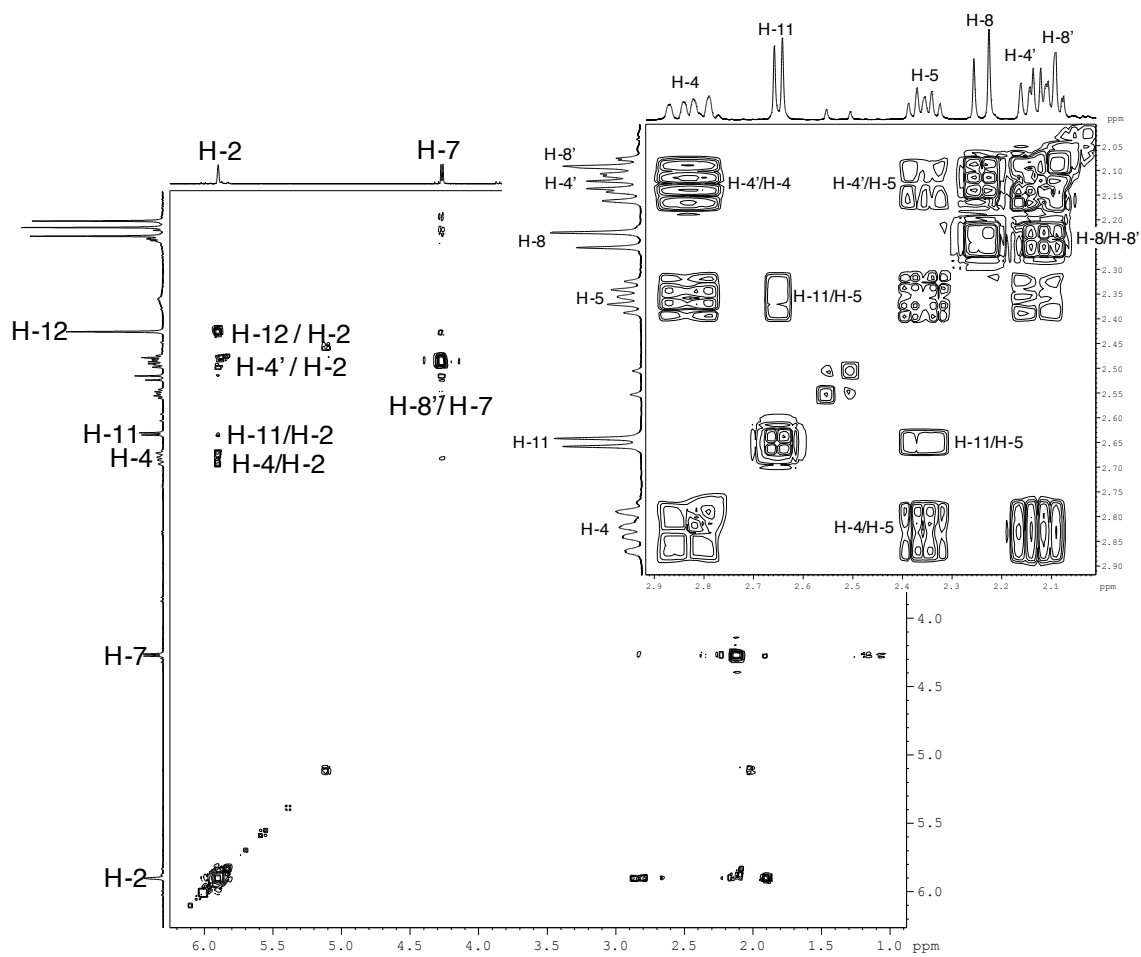


Tabla 19C: Desplazamientos Químicos (δ) en el Espectro de RMN-¹³C (CDCl₃, 100 MHz), de la 1-oxo-2-en-uladan-7(9)-olida [19]

C	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	C-7	C-8	
δ	197,0	125,6	162,7	31,2	40,9	35,4	85,6	42,4	
Tipo	>C=O	=CH	=C<	-CH ₂	>CH	>C<	-CH-O-	-CH ₂	
C	C-9	C-10	C-11	C-12	C-13	C-14	C-15		Valores de δ , relativos al TMS como referencia interna
δ	179,6	41,8	49,8	24,4	26,3	24,9	18,2		
Tipo	O-C=O	>C<	>CH	-CH ₃	-CH ₃	-CH ₃	-CH ₃		

Figura 19D: Espectro $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY (CDCl_3) de la 1-oxo-2-en-uladan-7(9)-olida [19]



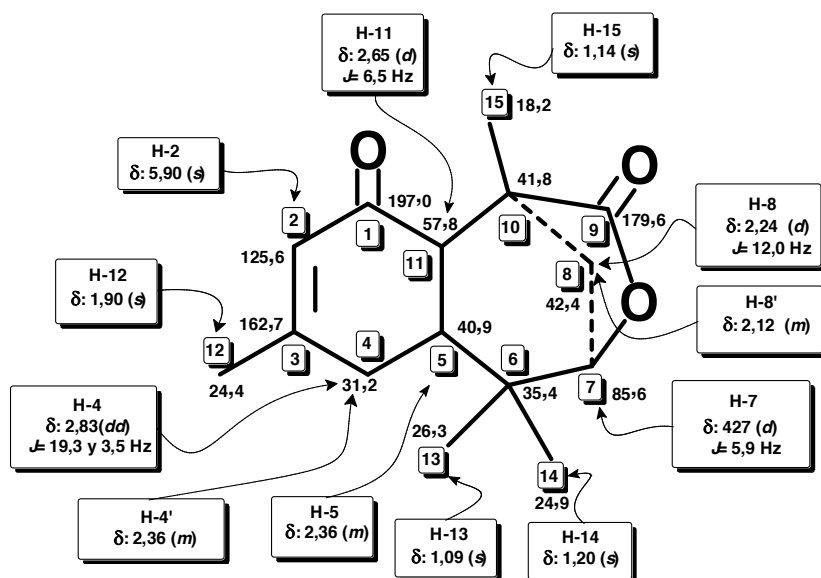
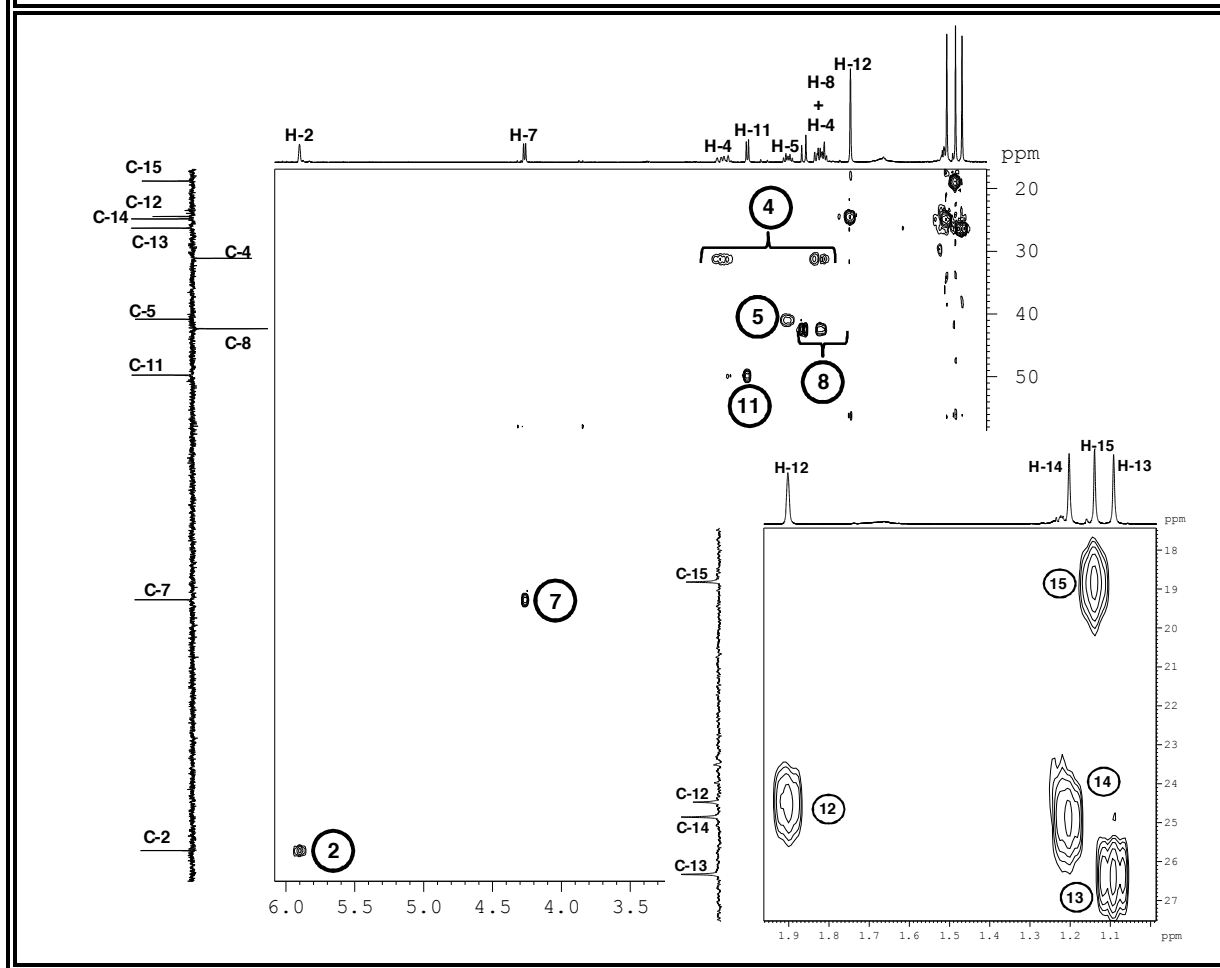
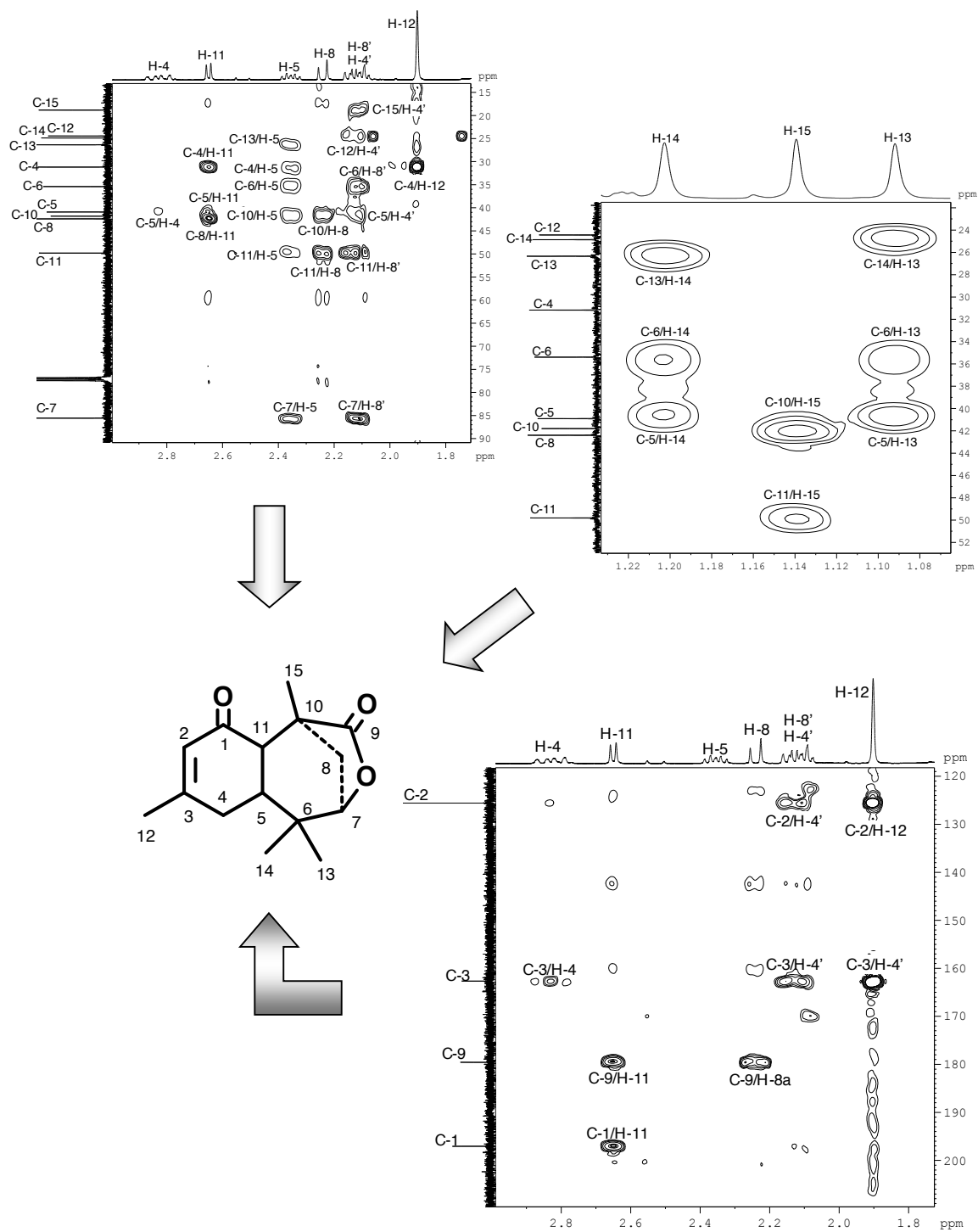


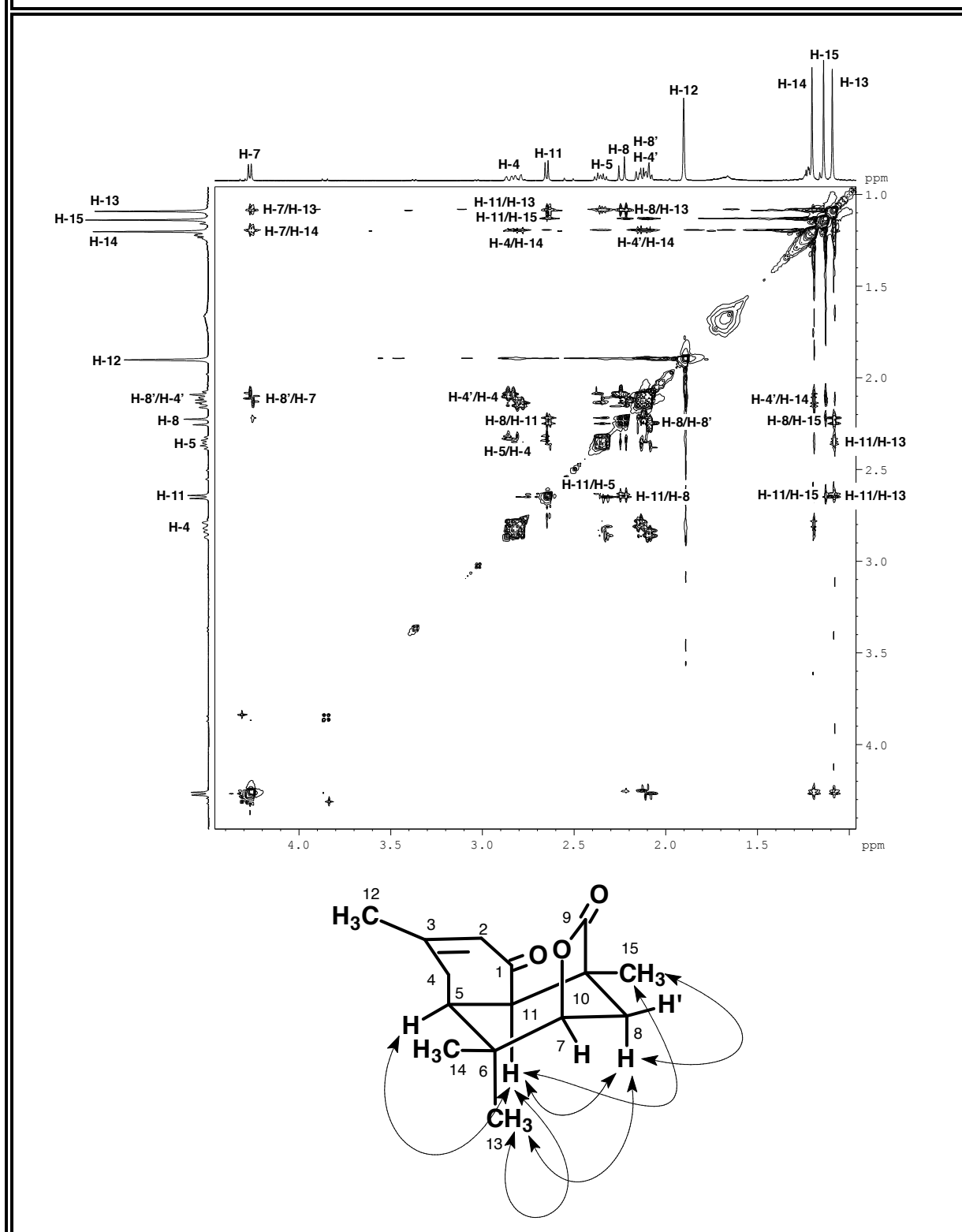
Figura 19E: Espectro HMQC (CDCl_3) de la 1-oxo-2-enuladan-7(9)-olida [19]



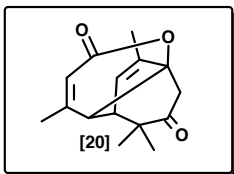
**Figura 19F: Espectro HMBC (CDCl₃)
de la 1-oxo-2-en-uladan-7(9)-olida [19]**



**Figura 19G: Espectro NOESY (CDCl₃)
de la 1-oxo-2-en-uladan-7(9)-olida [19]**



(4*R*,5*S*,9*S*)-1,11-*seco*-oxomorelian-2,10-dien-9,1-olida [20]



La tricetona [5] fue sometida a reflujo en benceno utilizando una trampa Dean-Stark en presencia de TsOH. La mezcla de reacción fue purificada mediante PLC obteniéndose un sólido blanco (P.F. = 125-126 °C). Su espectro IR (Fig. 20A; Tabla 20A) presento bandas típicas de grupos carbonilo [$\nu_{\text{máx.}}$: 1722, 1711 y 1678 cm^{-1} (C=O) y absorciones asignables a dobles enlaces [$\nu_{\text{máx.}}$: 1622 (C=C) y 888 (=C-H) cm^{-1}].

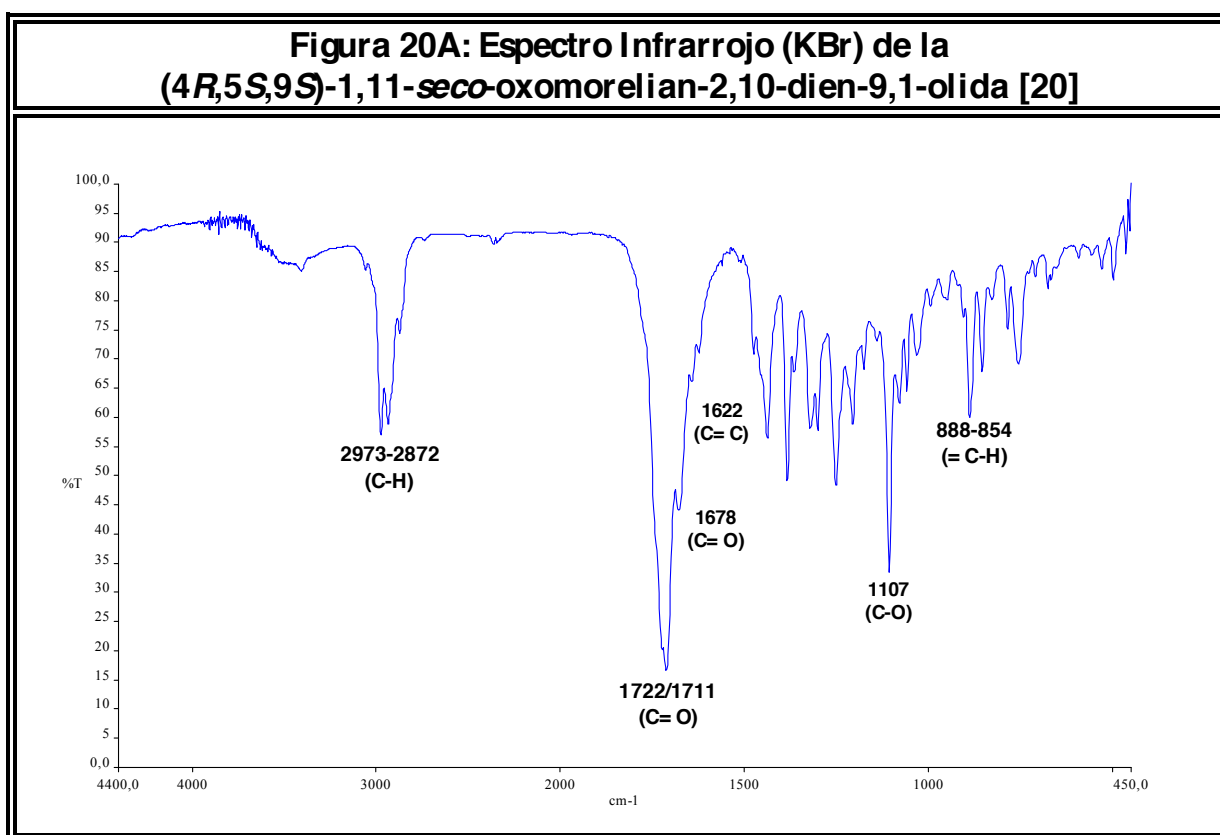


Tabla 7A: Bandas de Absorción Significativas en el Espectro Infrarrojo (KBr) de la (4*R*,5*S*,9*S*)-1,11-*seco*-oxomorelian-2,10-dien-9,1-olida [20]

$\nu_{\text{máx.}}$ (cm^{-1})	2973-2872	1722/1711/1678	1622	1107	888-854
Asignación	C-H	C=O	C=C	C-O	=C-H

Con base en sus espectros de RMN-¹H (Figura 20B; Tabla 20B) y de RMN-¹³C (BB, DEPT 135) (Figura 20C; Tabla 20C), se determinó que la fórmula molecular del compuesto **[20]** es C₁₅H₁₈O₃. Esta fórmula molecular corresponde a siete (7) grados de insaturación, de acuerdo con los datos de IR se infiere que algunas de las insaturaciones corresponden grupos carbonilo C=O y dobles enlaces olefínicos C=C. Esto concuerda con la detección, en su espectro de RMN-¹³C (Fig. 20C; Tabla 20C) de dos picos propios de carbonos carbonílicos [δ_C : 162,6 (-O-C=O, C-1) y δ_C : 211,4 (>C=O, C-7)] y cuatro de carbonos olefínicos [δ_C : 118,8 (=CH, C-2); δ_C : 158,4 (=C<, C-3), δ_C : 144,6 (=C<, C-10) y δ_C : 124,9 (=CH, C-11)]. En consecuencia, las tres insaturaciones restantes corresponden a anillos, con lo cual el compuesto es tricíclico.

Mediante el análisis detallado de sus espectros de RMN se determinó que el compuesto **[20]** es un *seco* derivado del moreliano. A continuación se presentan los cambios más significativos que pueden apreciarse en los espectros de RMN-¹H y RMN-¹³C (Fig. 20B y 20C) del compuesto **[20]** con respecto al sustrato de partida **[5]**.

1. La desaparición en el espectro de RMN-¹H (Fig. 20B; Tabla 20B) del par de dobletes del anillo ciclobutánico H-4 y H-11 los cuales, como se ha mencionado anteriormente son de carácter diagnóstico en esqueletos de la serie del longipinano.
2. El carbono carbonílico C-1 se apantalla notablemente (δ_C : 162,6, $\Delta\delta$: -37,6 ppm respecto a C-1 en **[5]**, δ_C : 200,2). Su nuevo desplazamiento químico corresponde con el grupo carbonilo de un éster α,β insaturado.
3. El carbono cetónico C-9 se transforma en un carbono oxigenado sp³ (δ_C : 87,3) cuyo desplazamiento indica que su oxígeno forma parte de un éster.
4. Los protones metílicos H-15 (Fig. 20B, Tabla 20B) se desapantallan (δ_H : 1,66, $\Delta\delta$: 0,45 ppm respecto a H-15 en **[5]**, δ_H : 1,21) y se desdobla como un doblete de 0,9 Hz (este valor corresponde a un acoplamiento alílico con un protón olefínico). Esto quiere decir que el metilo C-15 del producto **[20]** se encuentra ubicado sobre un doble enlace. Lo anteriormente expuesto concuerda perfectamente con la aparición de dos picos (Fig. 20C; Tabla 20C y Fig. 20E) correspondientes a una olefina trisustituida [C-10 (δ_C : 144,6 ppm) y C-11 (δ_C : 124,9 ppm)].
5. El par de dobletes de los protones metilénicos diasterotópicos H-8 [δ_H : 2,87, *d*, J = 17,0 Hz (>CH₂, H-8); δ_H : 2,79, *d*, J = 17,0 Hz (>CH₂, H-8')] se apantalla [δ_H : 2,82, $\Delta\delta$: -1,28 ppm respecto a H-8 en **[5]**, δ_H : 4,1 (tomando como referencia el valor medio de desplazamiento de ambos dobletes)]. Esto se debe al cambio de la función del carbono C-9.

Figura 20B: Espectro de RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), de la (4*R*,5*S*,9*S*)-1,11-*seco*-oxomorelian-2,10-dien-9,1-olida [20]

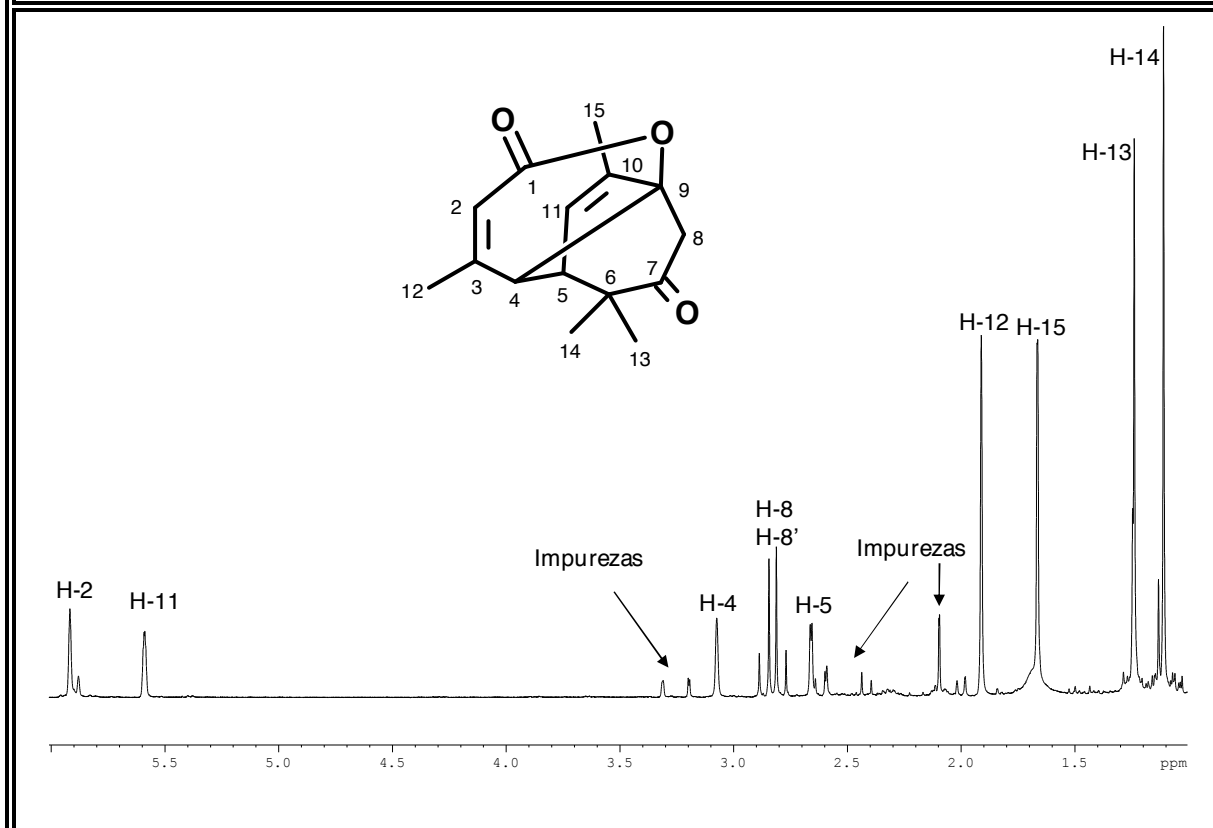


Tabla 20B: Desplazamientos Químicos (δ) en el Espectro de RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), de la (4*R*,5*S*,9*S*)-1,11-*seco*-oxomorelian-2,10-dien-9,1-olida [20]

H	H-2	H-4	H-5	H-8	H-8'
δ (ppm)	5,92	3,07	2,66	2,87	2,79
m	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>d</i>	<i>d</i>	<i>d</i>
J(Hz)	-	-	3,0	17,1	17,1
H	H-11	H-12	H-13	H-14	H-15
δ (ppm)	5,59	1,91	1,24	1,11	1,66
m	<i>dc</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>d</i>
J(Hz)	3,0 y 1,7	-	-	-	1,0

Figura 20C: Espectro de RMN-¹³C (CDCl₃, 100 MHz), de la (4*R*,5*S*,9*S*)-1,11-*seco*-oxomorelian-2,10-dien-9,1-olida [20]

Debido a la baja intensidad de los picos de los carbonos de la muestra [20], los desplazamientos químicos de varios carbonos fueron establecidos por medio de los espectros HMQC (Fig. 20E) y HMBC (Fig. 20F).

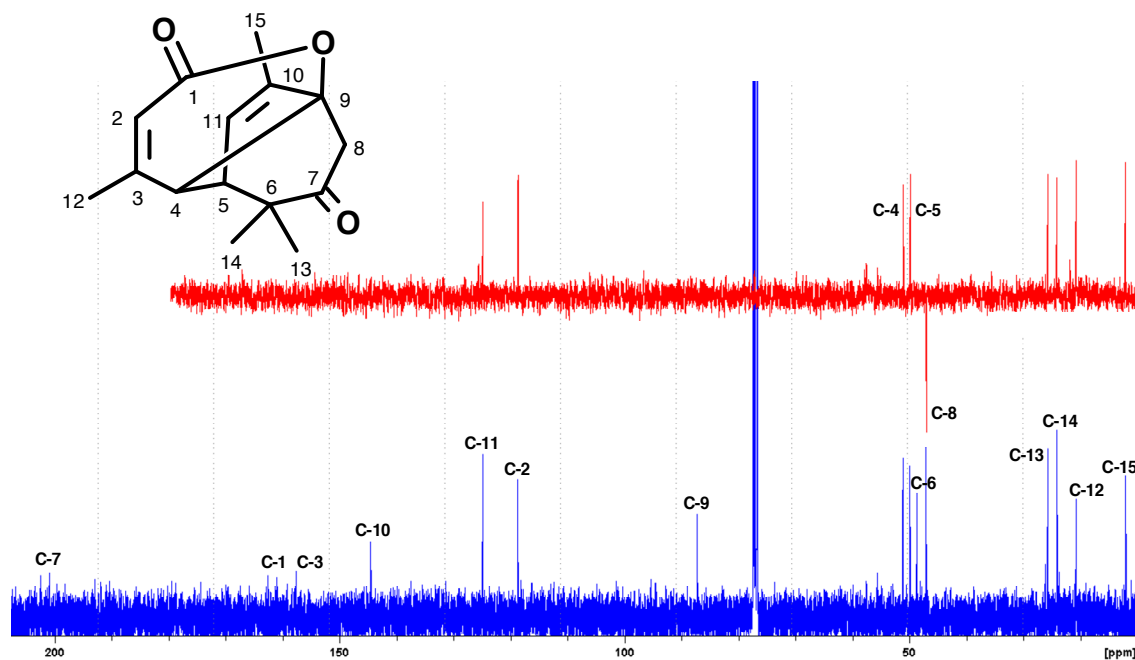
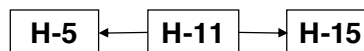
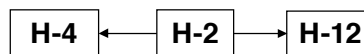
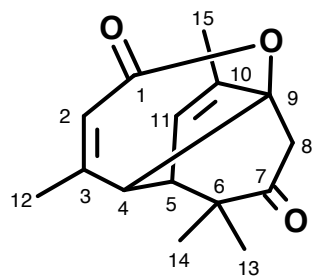
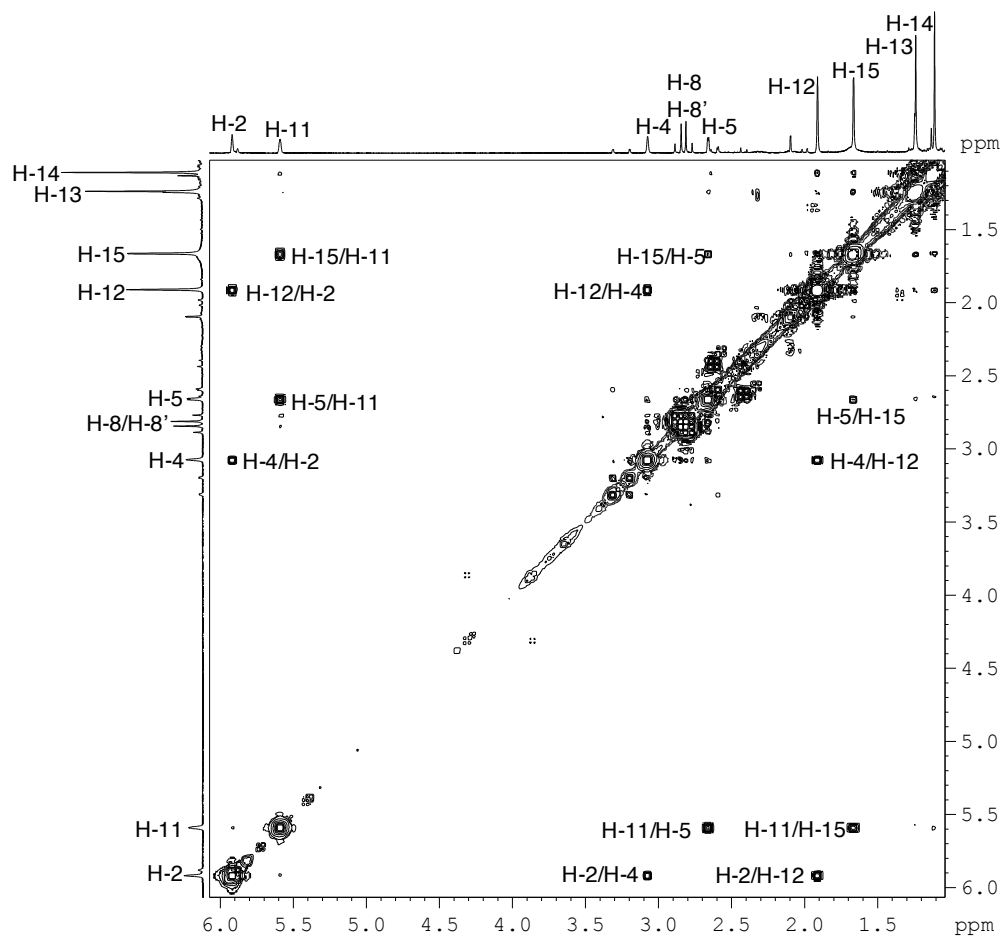
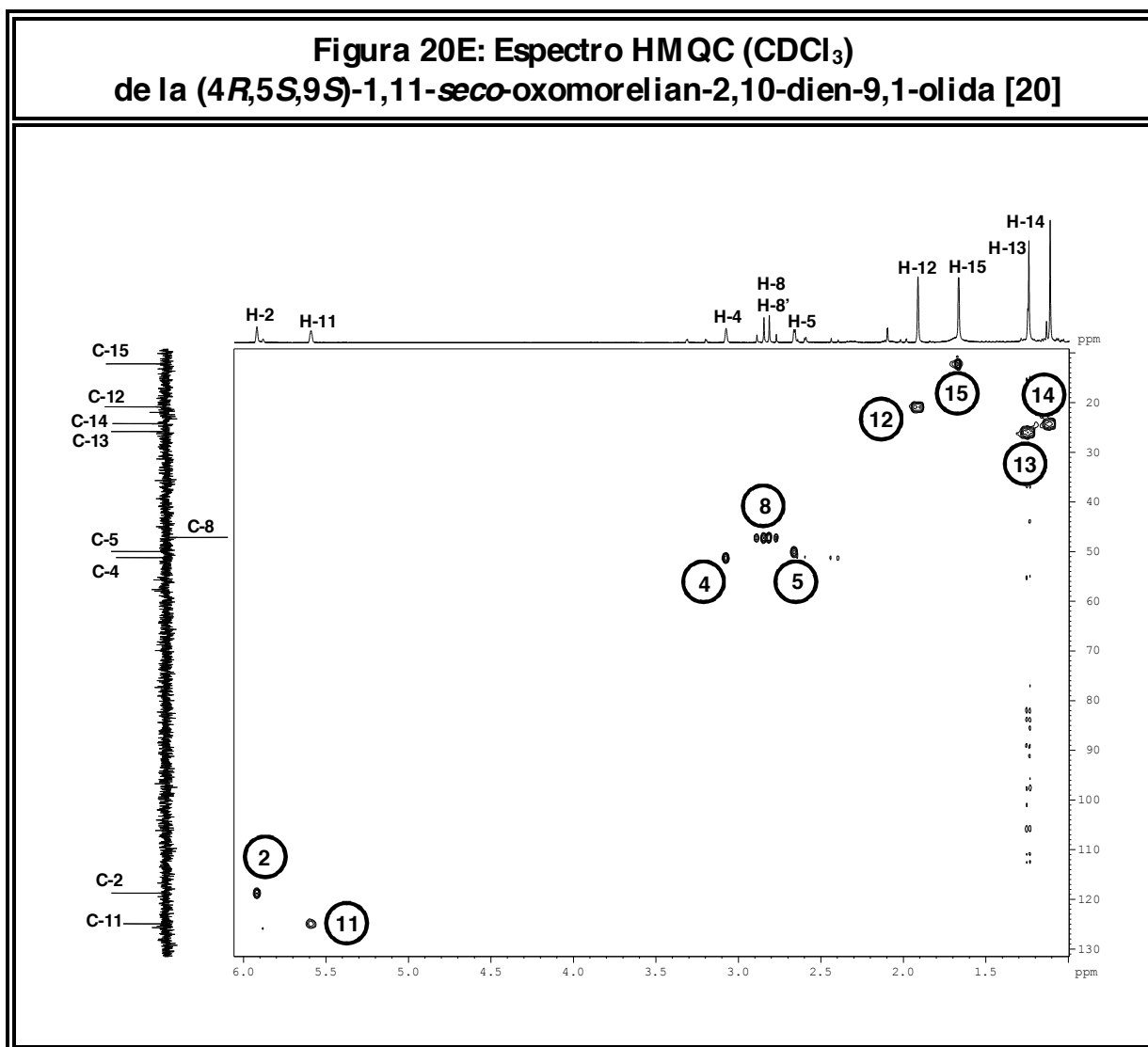
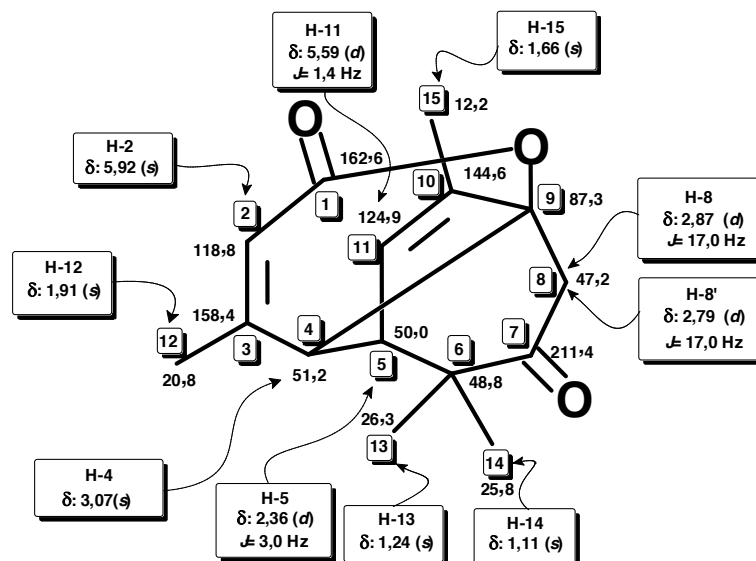


Tabla 20C: Desplazamientos Químicos (δ) en el Espectro de RMN-¹³C (CDCl₃, 100 MHz), de la (4*R*,5*S*,9*S*)-1,11-*seco*-oxomorelian-2,10-dien-9,1-olida [20]

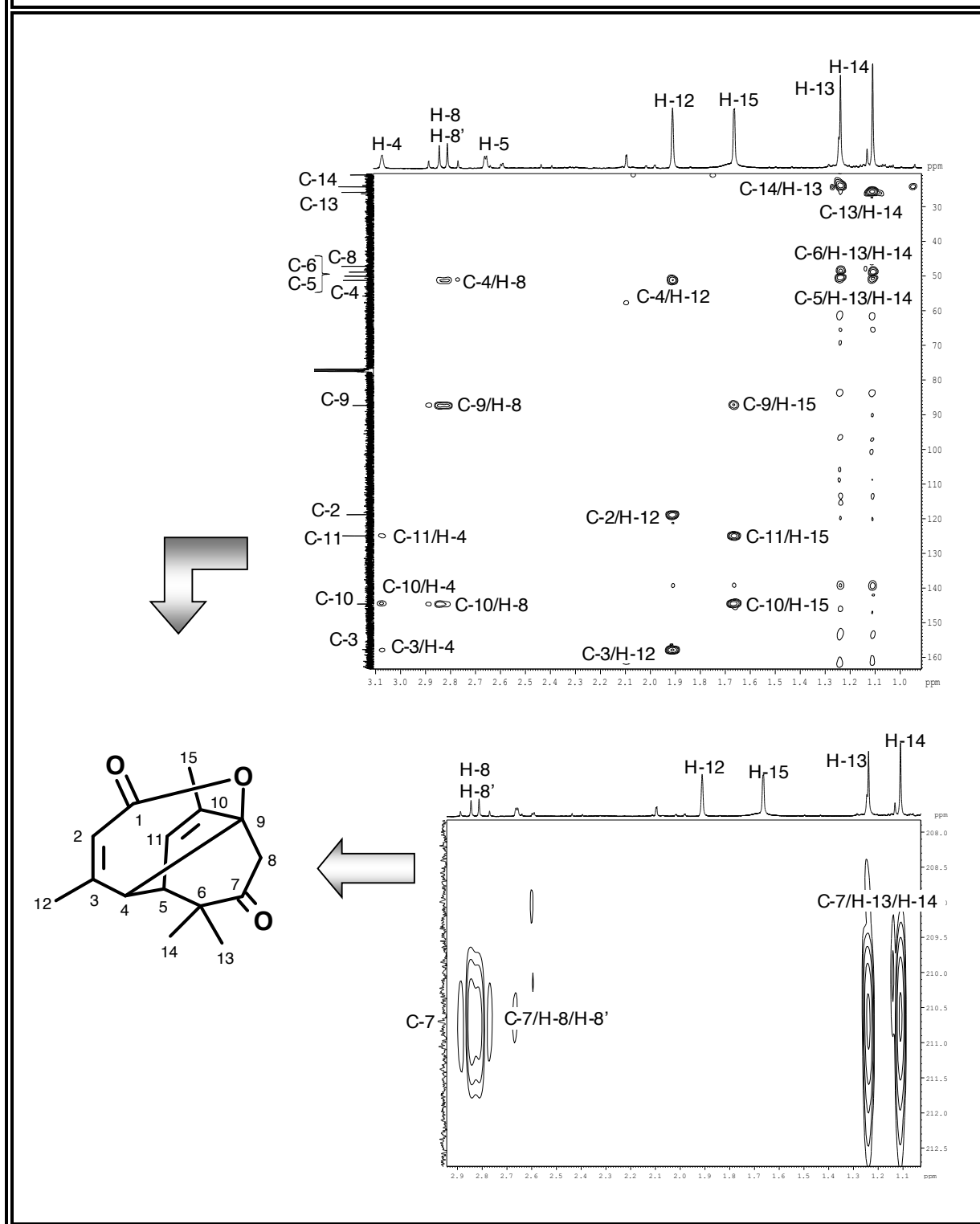
C	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	C-7	C-8
δ	162,6	118,8	158,5	51,2	50,0	48,8	211,4	47,2
Tipo	>C=O	=CH	=C<	-CH ₂	>CH	>C<	>CH	-CH ₂
C	C-9	C-10	C-11	C-12	C-13	C-14	C-15	Valores de δ , relativos al TMS como referencia interna
δ	87,3	144,6	124,9	20,8	26,3	25,8	12,2	
Tipo	>C<	=C<	=CH	-CH ₃	-CH ₃	-CH ₃	-CH ₃	

**Figura 20D: Espectro $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY (CDCl_3)
de la (4*R*,5*S*,9*S*)-1,11-*seco*-oxomorelian-2,10-dien-9,1-olida [20]**

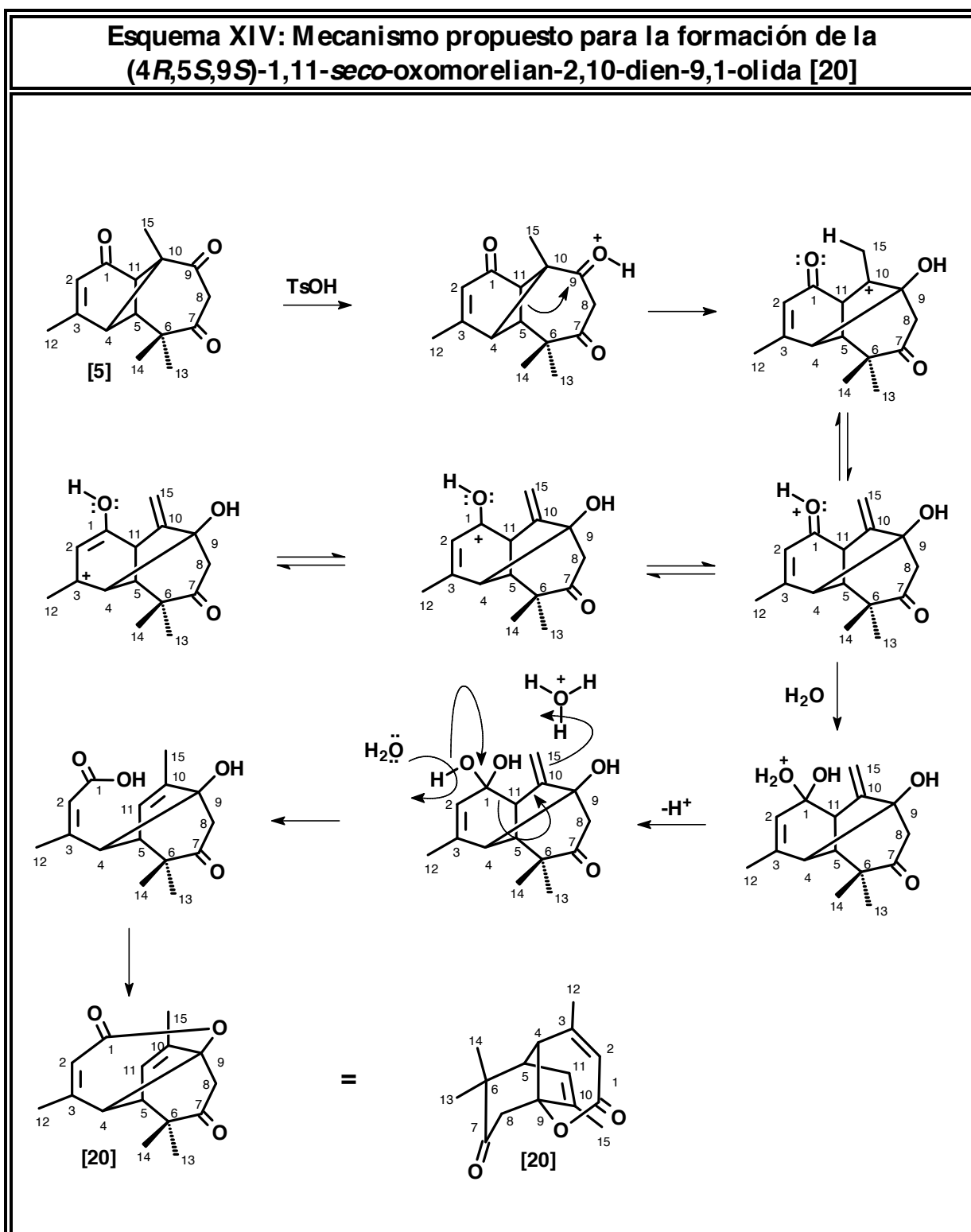




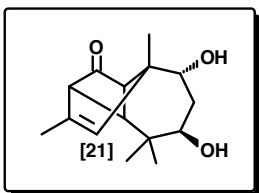
**Figura 20F: Espectro HMBC (CDCl₃)
de la (4*R*,5*S*,9*S*)-1,11-*seco*-oxomorelian-2,10-dien-9,1-olida [20]**



A continuación se presenta la propuesta mecanística planteada para la formación de la *seco*-2,10-dien-7 β -hidroxi-7-oxomorelian-1-olida [20] (Esquema XIV).



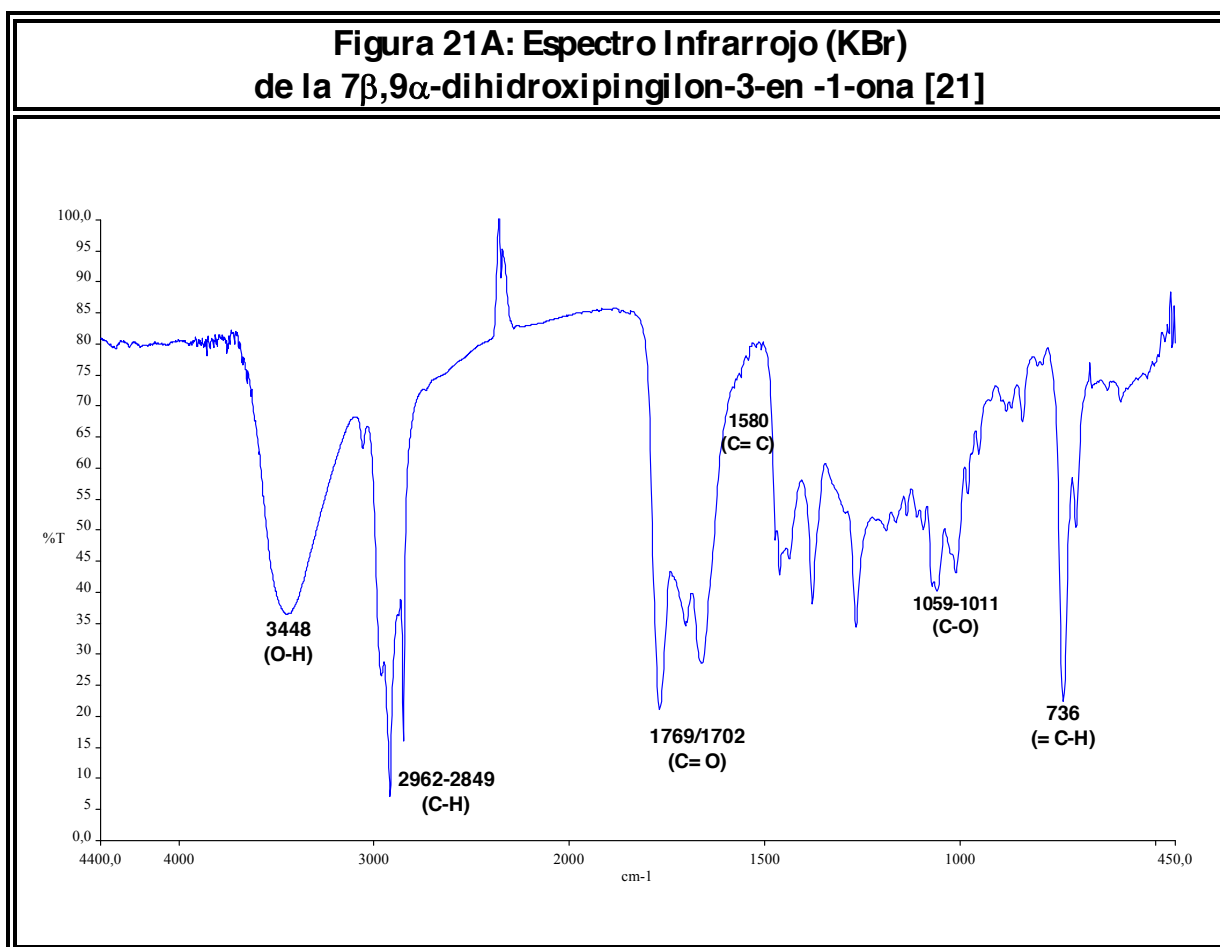
7 β ,9 α -dihidroxipingilon-3-en -1-ona [21]



Al someter el cetodiol [1] a la acción de la luz UV, se detectó, por TLC, la formación de dos nuevos productos, pero sólo uno de ellos, pudo ser estructuralmente caracterizado mediante el análisis de sus espectros de RMN uni y bidimensionales. El análisis de estos espectros permitió concluir que se trataba de un producto reagrupado [21]. Así pues:

1. La desaparición en el espectro de RMN-¹H (Fig. 21B; Tabla 21B) del par de dobletes del anillo ciclobutánico H-4 y H-11 los cuales, como se ha mencionado anteriormente son de carácter diagnóstico en esqueletos de la serie del longipinano.
2. El producto obtenido resultó ser otro diol, debido a la detección en su espectro de RMN-¹H de dos señales propias de hidrógenos geminales a grupos hidroxilos [δ_{H} : 3,65, *dd*, $J = 4,0$ y $0,8$ Hz ($> \text{CH-OH}$; H-7) y δ_{H} : 3,82, *d*, $J = 12,0$ Hz ($> \text{CH-OH}$; H-9)]; ambas señales se cruzan en el espectro ¹H,¹H-COSY con dos multipletes asignables a los hidrógenos diastereotópicos de un metileno [δ_{H} : 2,18, *m*, ($> \text{CH}_2$; H-8) y δ_{H} : 1,85 *m*, ($> \text{CH}_2$; H-8')]. Al comparar estas señales con las del producto de partida [1] (Fig. 1B, Tabla 1B), se observa que son semejantes a las que componen el anillo de siete miembros. De esta manera se deduce que la parte del cicloheptano que soporta los grupos hidroxilos no sufre modificaciones.
3. En concordancia con lo anterior, es también evidente la presencia del grupo *gem*-dimetilo caracterizado a través de dos aparentes singuletes [δ_{H} : 1,19, *s*, ($-\text{CH}_3$; H-13) y δ_{H} : 1,01 *s*, ($-\text{CH}_3$; H-14)]. El acoplamiento a larga distancia de estas dos señales, es detectable por el débil cruce observado entre las mismas en el espectro ¹H,¹H-COSY (Fig. 21D). De igual forma, en el espectro de RMN-¹H, se localiza un singulete [δ_{H} : 1,13, *s*, ($-\text{CH}_3$; H-15)], típico de un metilo cuaternario.
4. En el espectro de RMN-¹H del producto [21] (Fig. 21B), se aprecia un protón metínico olefínico [δ_{H} : 5,08, *s*, ($=\text{CH}$; H-4)] y presenta una correlación alílica en el espectro ¹H,¹H-COSY (Fig. 21D) con un singulete atribuible a un metilo olefínico [δ_{H} : 1,78, *s*, ($-\text{CH}_3$; H-12)]. Estos datos caracterizan a un doble enlace trisustituido, que no se encuentra conjugado al grupo cetónico. Esto es congruente con el apantallamiento del carbono olefínico C-3 (δ_{C} : 138,0, $\Delta\delta$: -33,7 ppm respecto a C-3 en [1], δ_{C} : 171,7).

5. En el espectro $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY es notable un sistema de espines complejo, conformado por los hidrógenos de una ciclobutanona [δ_{H} : 2,18, m, ($> \text{CH}$; H-5); y señales de dos hidrógenos α a la cetona: δ_{H} : 3,22, t, $J = 8,0$ Hz ($> \text{CH}$; H-2) y δ_{H} : 3,06, t, $J = 8,0$ Hz ($> \text{CH}$; H-11)]. La presencia de esta ciclobutanona y la evidente migración del doble enlace caracterizado en el apartado anterior, demuestra que el producto en estudio se generó mediante un reordenamiento molecular que transforma el anillo de ciclohexenona inicial, en uno de ciclobutanona.



**Tabla 21A: Bandas de Absorción Significativas en el Espectro Infrarrojo
(KBr) de la 7 β ,9 α -dihidroxipingilon-3-en -1-ona [21]**

$\nu_{\text{máx.}} (\text{cm}^{-1})$	3448	2962-2849	1769-1702	1580	1059-1011	888-854
Asignación	O-H	C-H	C=O	C=C	C-O	=C-H

Figura 21B: Espectro de RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), de la 7β,9α-dihidroxipingilon-3-en -1-ona [21]

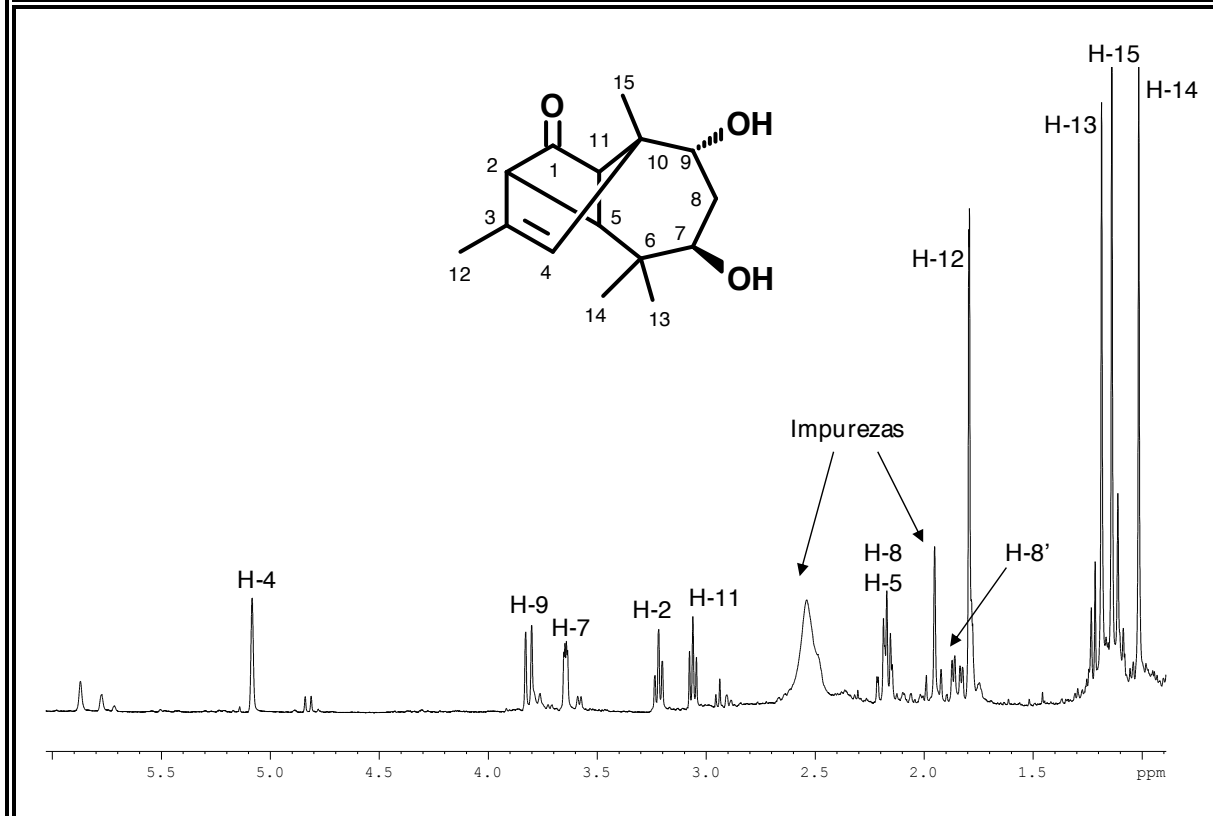


Tabla 21B: Desplazamientos Químicos (δ) en el Espectro de RMN-¹H (CDCl₃, 400 MHz), de la 7β,9α-dihidroxipingilon-3-en -1-ona [21]

H	H-2	H-4	H-5	H-7	H-8	H-8'
δ (ppm)	3,22	5,08	2,18	3,65	2,18	1,85
m	<i>t</i>	<i>s</i>	<i>m</i>	<i>dd</i>	<i>m</i>	<i>m</i>
J(Hz)	8,0	-	-	4,0 y 0,8	-	-
H	H-9	H-11	H-12	H-13	H-14	H-15
δ (ppm)	3,82	3,06	1,78	1,19	1,01	1,13
m	<i>d</i>	<i>t</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>s</i>
J(Hz)	12,0	8,0	-	-	-	-

Figura 21C: Espectro de RMN-¹³C (CDCl₃, 100 MHz), de la 7β,9α-dihidroxipingilon-3-en -1-ona [21]

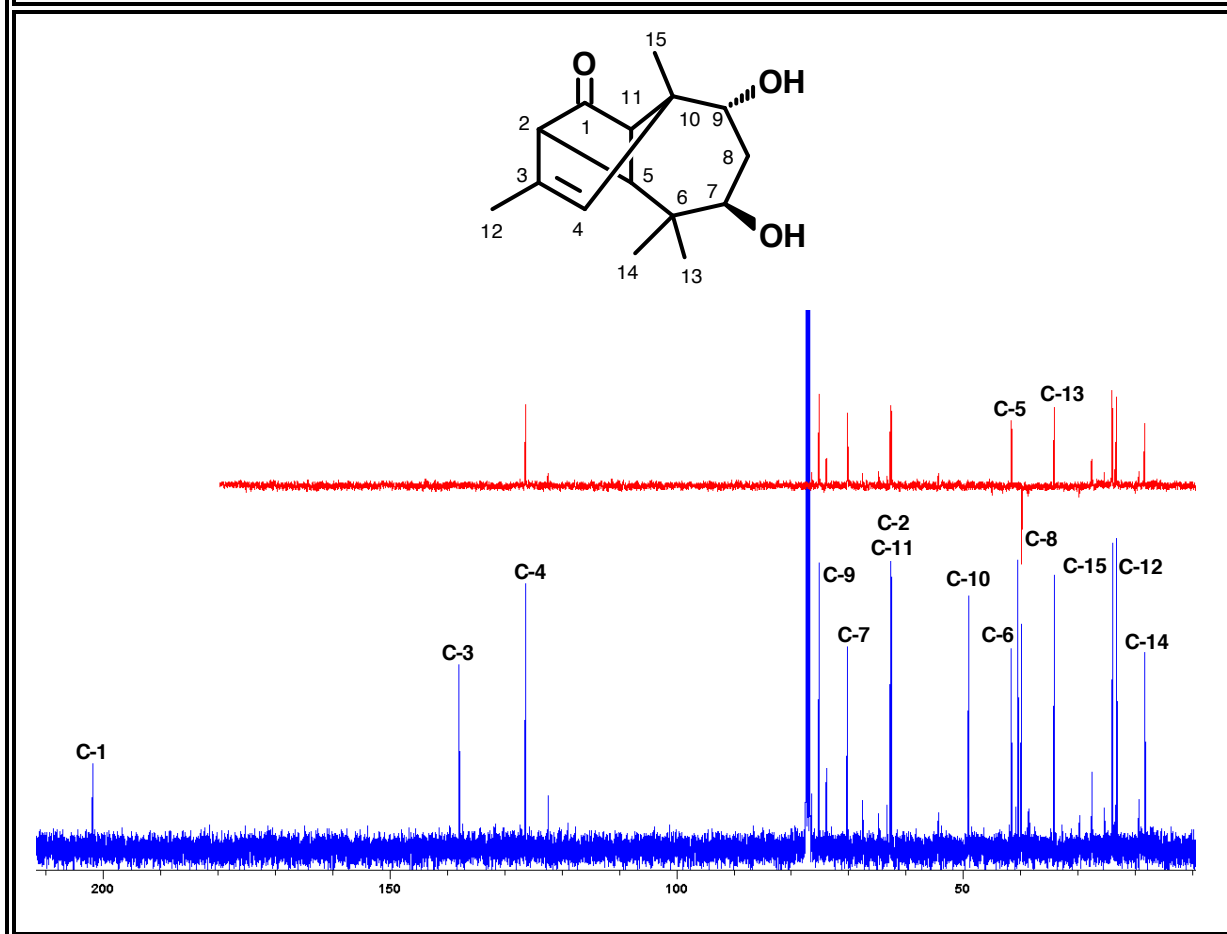
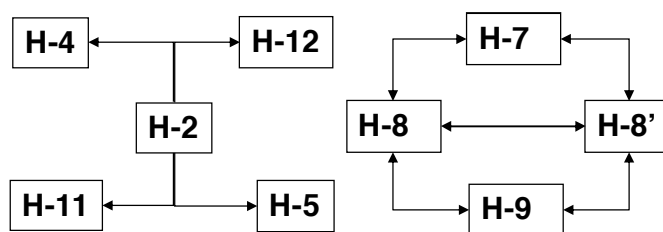
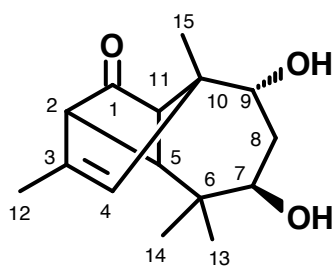
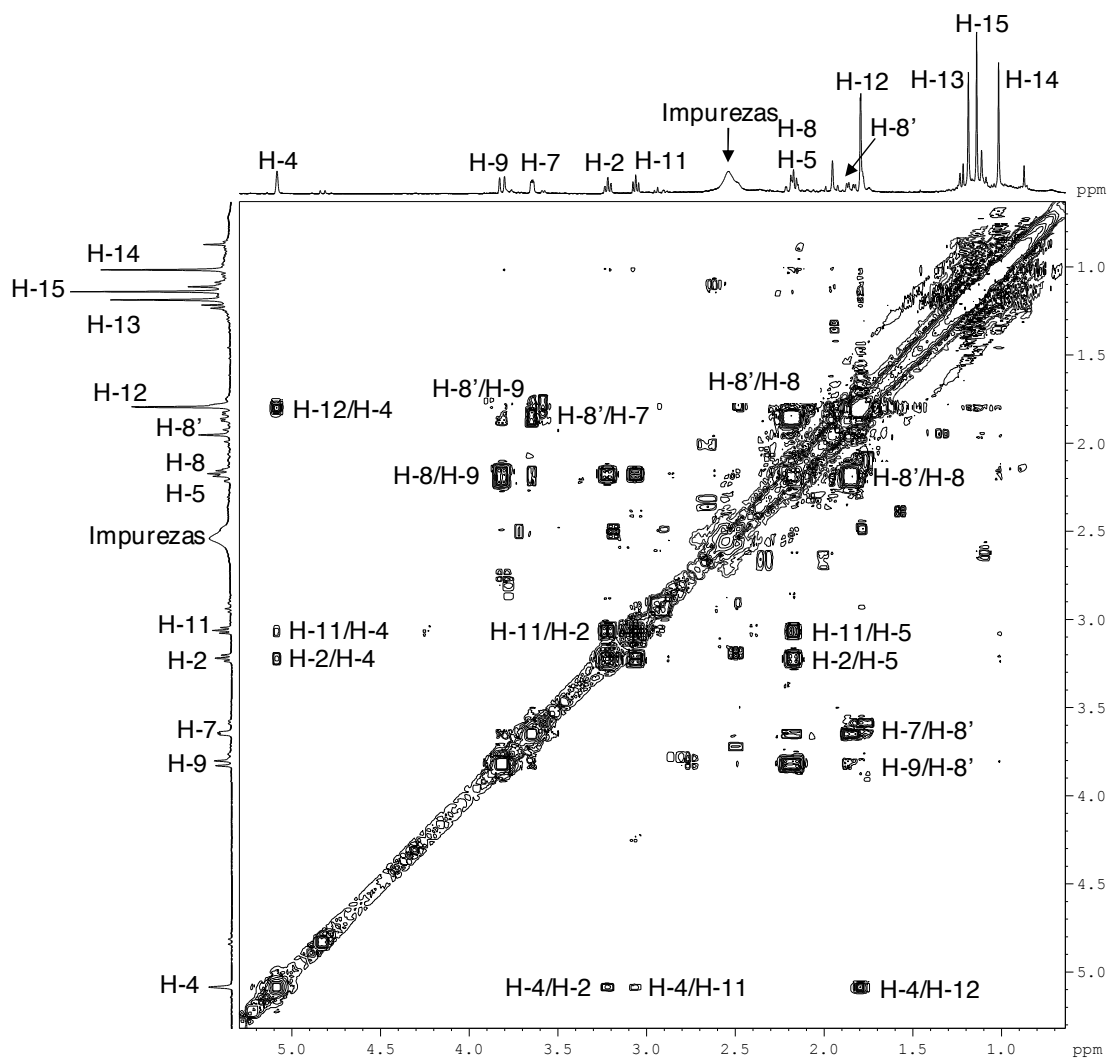


Tabla 21C: Desplazamientos Químicos (δ) en el Espectro de RMN-¹³C (CDCl₃, 100 MHz), de la 7β,9α-dihidroxipingilon-3-en -1-ona [21]

C	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	C-7	C-8	
δ	201,9	62,7	138,0	126,4	40,5	41,7	70,2	39,9	
Tipo	> C= O	> CH	= C<	= CH	> CH	> C<	-CH-O-	-CH ₂	
C	C-9	C-10	C-11	C-12	C-13	C-14	C-15	Valores de δ , relativos al TMS como referencia interna	
δ	75,2	49,1	62,6	23,3	34,2	18,4	24,0		
Tipo	-CH-O-	> C<	> CH	-CH ₃	-CH ₃	-CH ₃	-CH ₃		

**Figura 21D: Espectro $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY (CDCl_3)
de la $7\beta, 9\alpha$ -dihidroxipingilon-3-en-1-ona [21]**



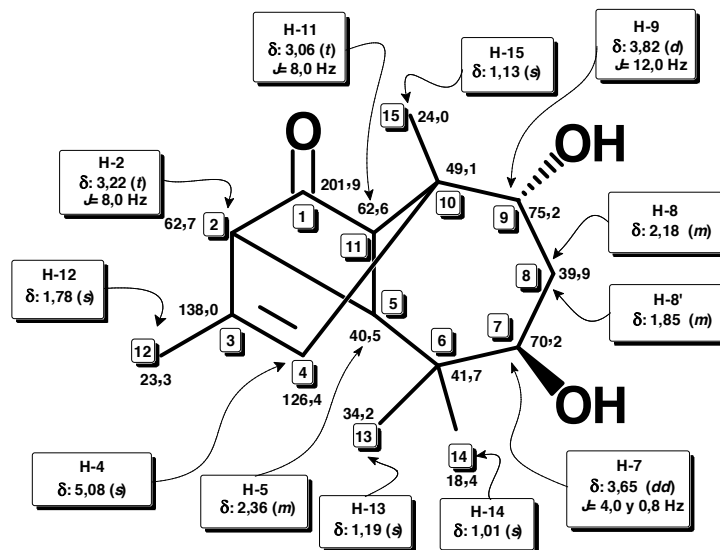
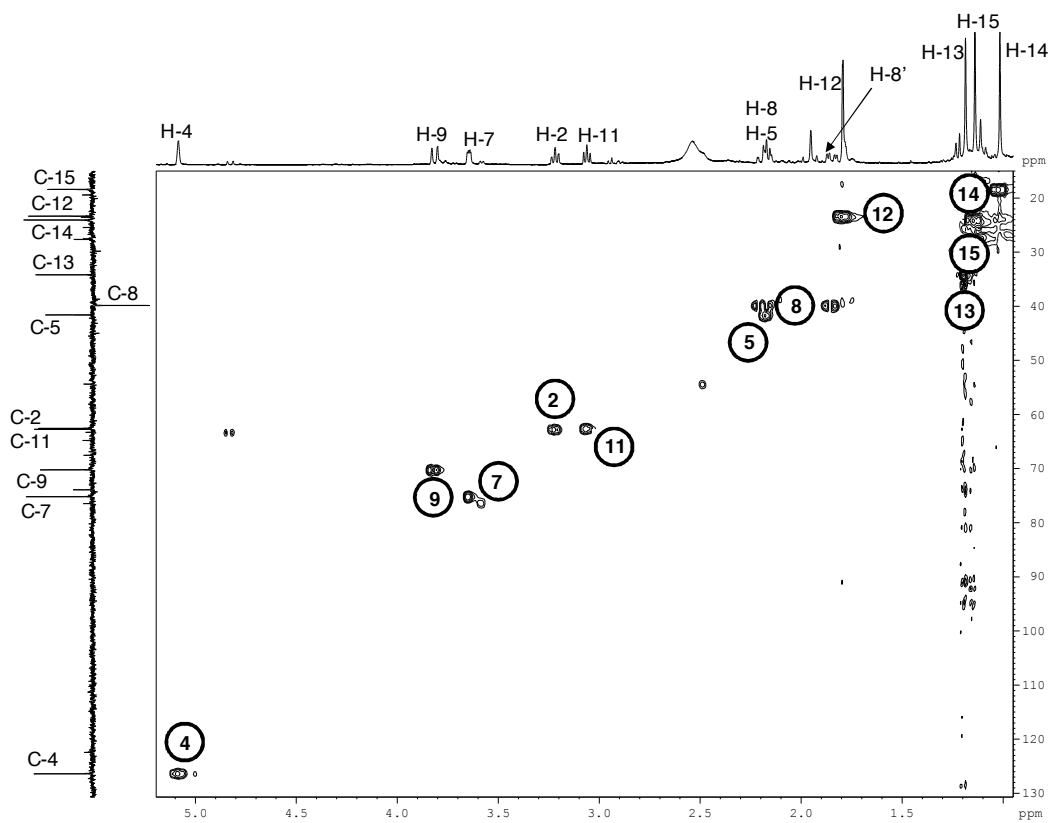
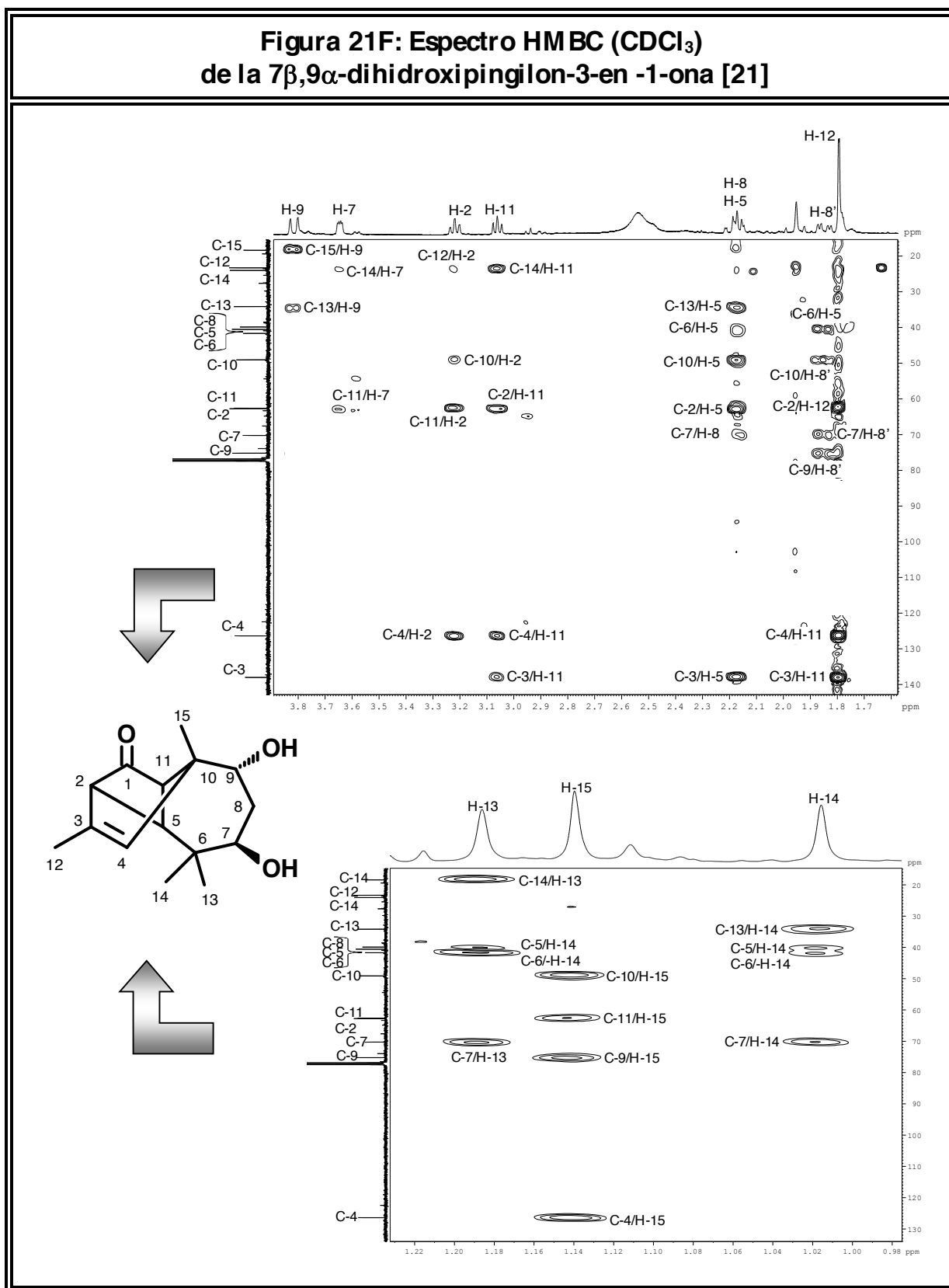


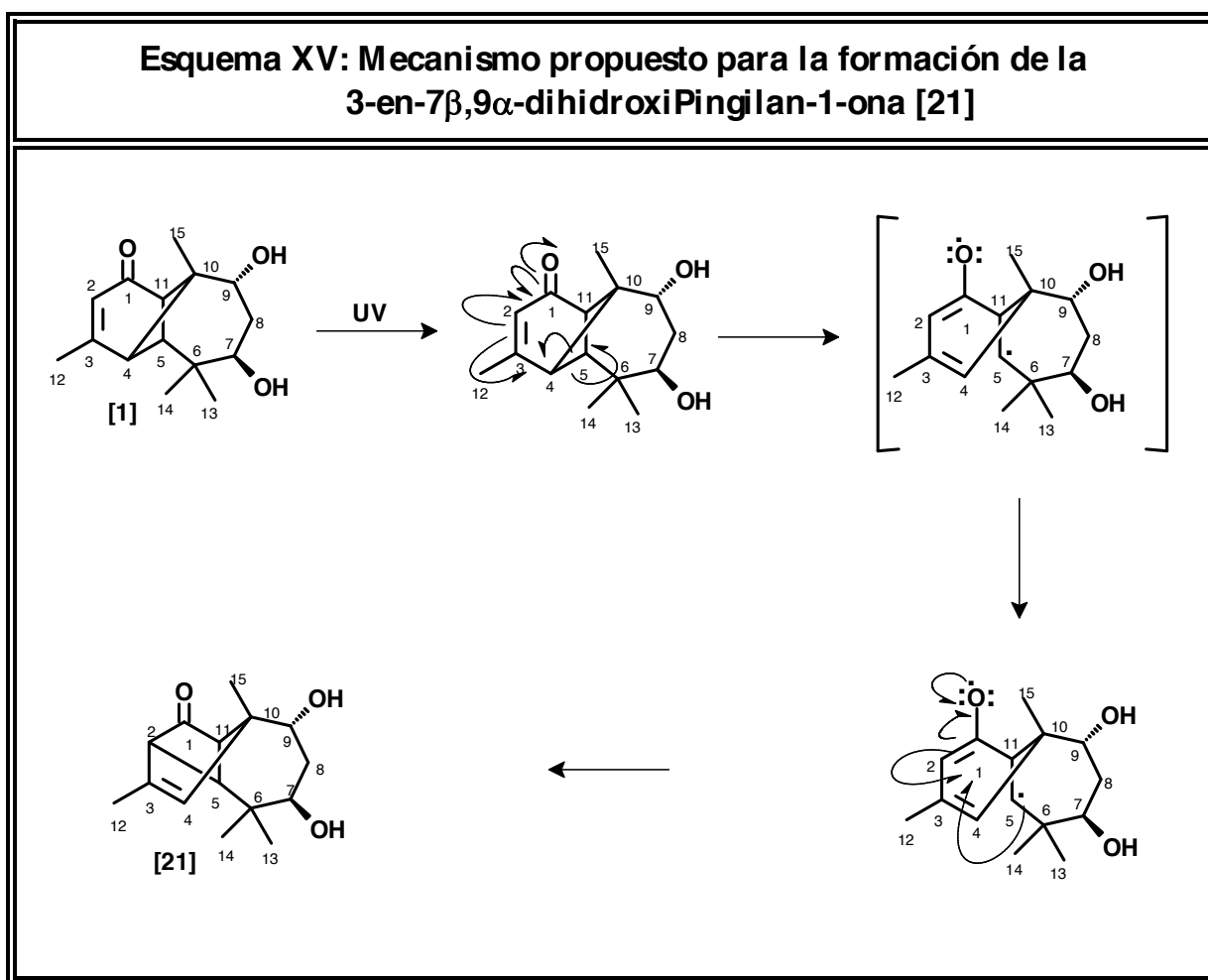
Figura 21E: Espectro HMQC (CDCl_3) de la 7 β ,9 α -dihidroxipingilon-3-en-1-ona [21]



**Figura 21F: Espectro HMBC (CDCl₃)
de la 7 β ,9 α -dihidroxipingilon-3-en -1-ona [21]**

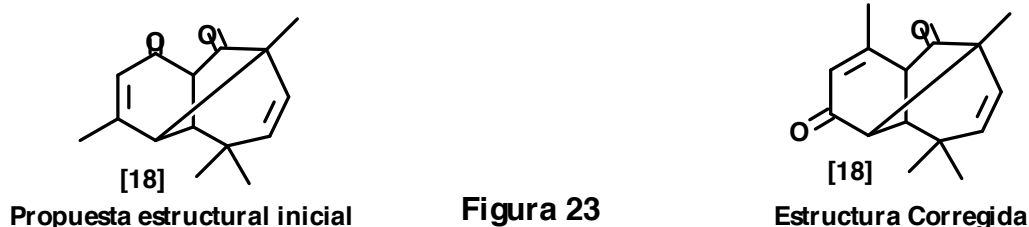


En el esquema XV se presenta el mecanismo descrito en la bibliografía para la formación de los esqueletos del pingilonano (Meléndez-Rodríguez *et al.*, 2002; Joseph-Nathan *et al.*, 1996). Según la revisión bibliográfica, esta es la primera vez se obtiene el compuesto **[21]** con los grupos hidróxilo libres; en todos los reportes anteriores parten del producto **[3]** (el producto diacetilado) y obtienen el diéster del producto **[21]**.

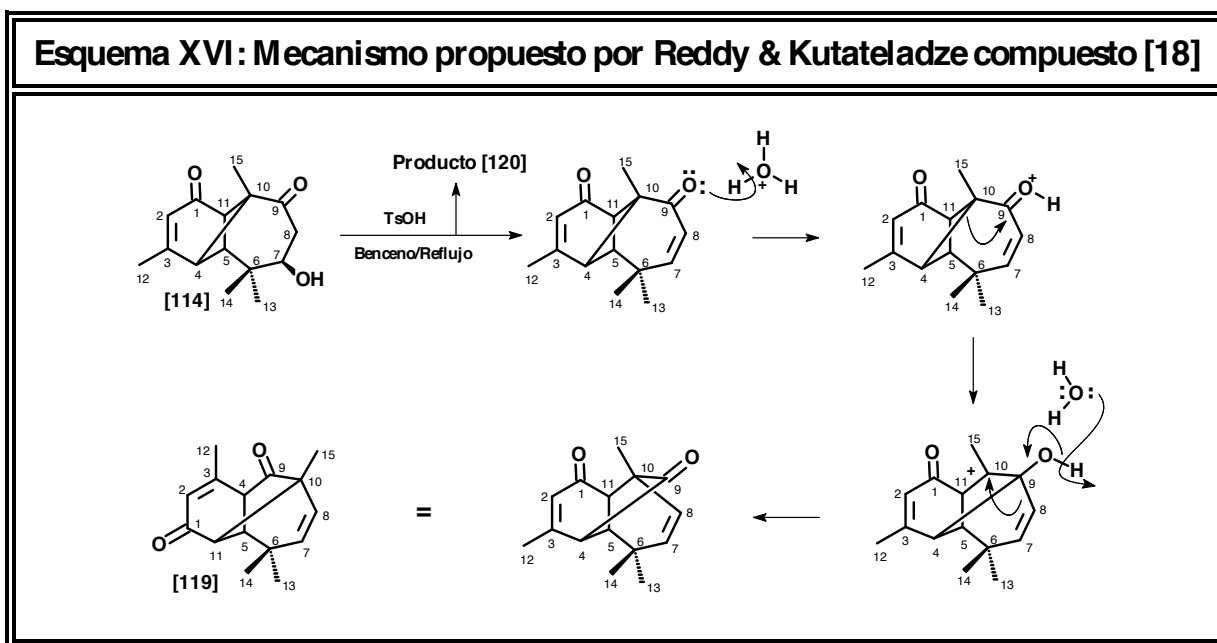


REVISIÓN DE LA ESTRUCTURA DEL MERIDANO

Los resultados obtenidos sobre los reagrupamientos moleculares del **Meridano** y **Uladano** fueron publicados recientemente en la revista *Tetrahedron Letters* con el título "**Meridane and uladane, two unprecedented sesquiterpene skeletons obtained by Wagner–Meerwein rearrangements of Longipinane derivatives**" (Chacón & Amaro; 2016). Basado en los resultados presentados en dicha publicación, el Profesor **Andrei G. Kutateladze**, de la Universidad de Denver, realizó el análisis computacional de los datos experimentales y los contrastó con la estructura propuesta para la Merida-2,7-dieno-1,9-diona **[18]** (Reddy & Kutateladze; 2016). La conclusión del análisis del Profesor Kutateladze indica que la estructura correcta de la Merida-2,7-dieno-1,9-diona (y en consecuencia del esqueleto del Meridano) es la que se presenta a continuación (Figura 23):



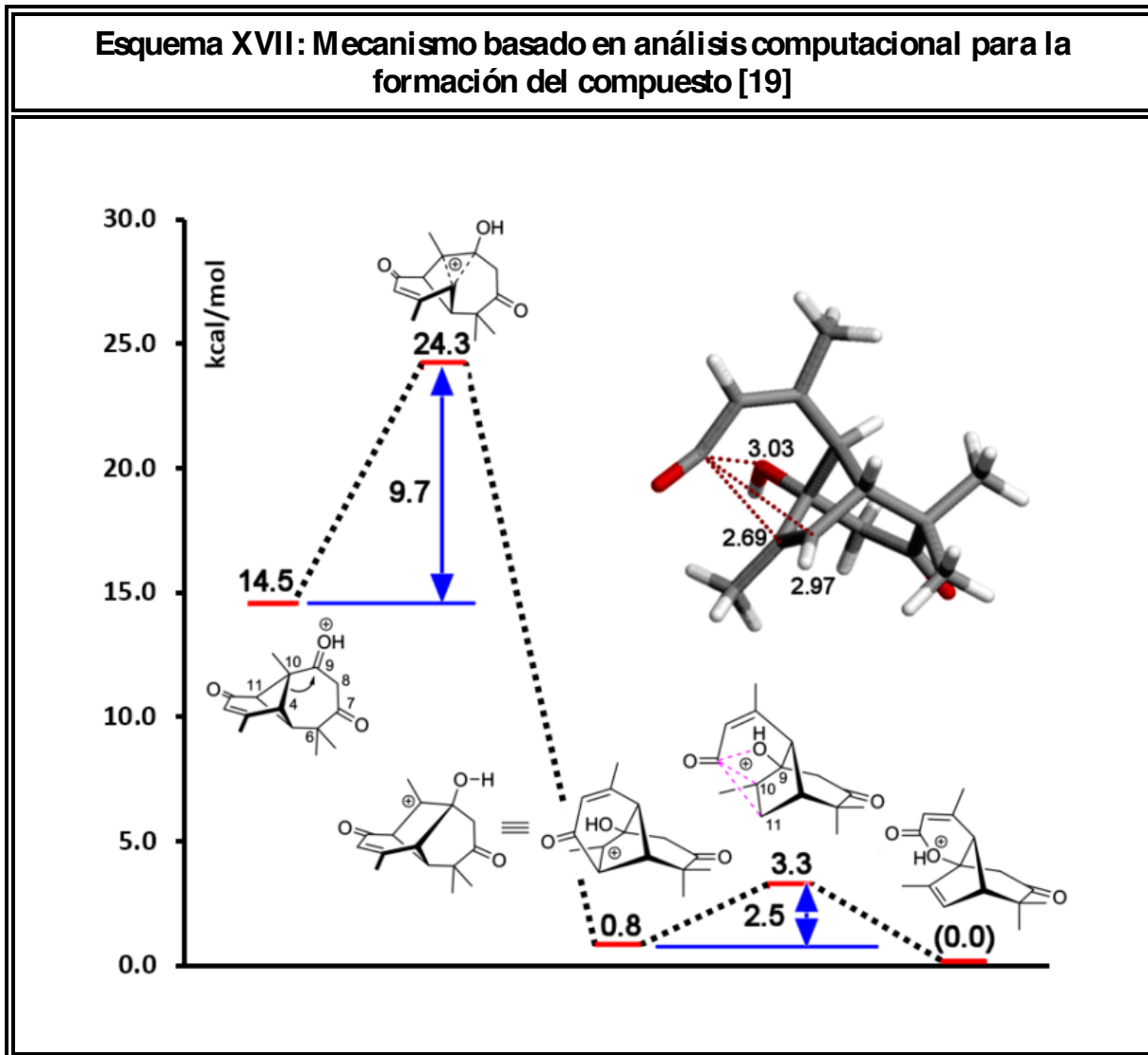
Para justificar la formación de la estructura corregida del Meridano, el Profesor Kutateladze planteó la siguiente ruta mecanística (Reddy & Kutateladze; 2016):



Es importante señalar que la estructura corregida del Meridano continúa siendo un esqueleto carbocíclico nuevo para la ciencia.

REVISIÓN DEL MECANISMO PROPUESTO PARA LA FORMACIÓN DEL *SECO*-MORELIANO

Recientemente, como parte de un trabajo en conjunto con el **Prof. Andrei Kutateladze**, se llevó a cabo el estudio computacional del mecanismo de formación y la estructura propuesta para el *seco*-moreliano [20]. Los resultados fueron publicados en la revista *Journal of Natural Products* con el título "**Structure Determination and Mechanism of Formation of a *seco*-Moreliane Derivative Supported by Computational Analysis**" (Chacón *et al.*, 2017). El análisis computacional confirmó la estructura propuesta para el derivado [20]; más aún, los computos señalan que el mecanismo de reacción transcurre mediante la formación de un carbocatión inusual que permite la transformación cetona / éster (Esquema XVII).



PARTE EXPERIMENTAL

1. TÉCNICAS GENERALES APLICADAS.

1.1. Cromatografía en Capa Fina y Capa Gruesa:

Para la cromatografía de capa fina analítica se emplearon placas de gel de sílice fluorescente sobre soporte de vidrio de la casa Merck, HF 254 (0,25 mm de espesor). Las cromatoplasas se desarrollaron en los sistemas de eluyentes adecuados y se revelaron rociándolas con “*oleum*” [$\text{CH}_3\text{COOH}-\text{H}_2\text{O}-\text{H}_2\text{SO}_4$ (20:4:1) v/v] y luego calentándolas con corriente de aire a 100 °C por algunos minutos. Las placas para cromatografía de capa gruesa o preparativa se prepararon suspendiendo gel de sílice fluorescente (HF 254) en agua destilada (relación 1:2 p/p), y extendiendo luego la mezcla en piezas de vidrio. Las placas fueron activadas a 120 °C durante 24 horas.

1.2. Cromatografía en columna:

Para la cromatografía en columna al vacío se usó como adsorbente gel de sílice 60 (63-200 μm , 70-230 mesh) de la casa Merck. Las columnas se desarrollaron siguiendo las técnicas descritas en la literatura (Coll & Bowden, 1986). La cromatografía en columna de exclusión (Sephadex LH-20), se realizó según la metodología descrita por Henke (1995).

1.3. Punto de Fusión:

Los puntos de fusión fueron determinados empleando un aparato de plancha de calentamiento para el rango 20-300 °C (± 1 °C), marca Fisher-Johns.

1.4. Rotaciones Específicas:

Las rotaciones específicas se tomaron en un Polarímetro Dr. Steeg & Reuter G.m.b. H. de 60 Hz.

1.5. Espectros de Infrarrojo:

Se realizaron en un espectrofotómetro infrarrojo-FT Perkin Elmer. Modelo FT-1725X, en pastillas de KBr.

1.6. Espectros Ultravioleta:

Los espectros UV se realizaron en un espectrofotómetro Perkin-Elmer, Lambda 3B, con celdas de cuarzo de 1 cm de espesor, en metanol (Merk-Uvasol).

1.7. Espectros de RMN- ^1H y de RMN- ^{13}C :

Se corrieron en un equipo de Resonancia Magnética Nuclear Bruker-Advance DRX 400, a 400 y 100 MHz, respectivamente.

1.8. Espectros de Masas:

Se midieron en un Espectrofotómetro Hewlett Packard, modelo 5930A, a un potencial de 70 eV.

2. RECOLECCIÓN, SECADO Y PREPARACIÓN DEL MATERIAL VEGETAL.

El material vegetal (hojas y ramas) se colectó en el Páramo de la Gavidia, Municipio Rangel, Estado Mérida. La especie fue determinada como *Stevia lucida* Lagasca [sin. *Stevia glutinosa* H.B.K.]. Una muestra botánica como *Voucher Specimen* de referencia (J. M. Amaro-Luis, N° 1582) se encuentra depositada en el herbario MERF de la Facultad de Farmacia.

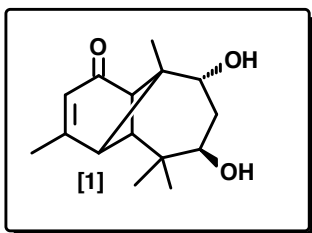
El material vegetal fresco se dispersó sobre una superficie plana recubierta con papel adsorbente y se mantuvo al aire, a temperatura ambiente y a la sombra durante quince días. A continuación se separaron las inflorescencias y las hojas de las ramas.

3. EXTRACCIÓN DEL MATERIAL VEGETAL.

Las hojas y ramas ($\cong 7,0$ Kg), secas y enteras fueron extraídas en frío con diclorometano durante 10 minutos. La disolución obtenida fue filtrada y concentrada al vacío en un rotavapor a temperatura no mayor a $40\text{ }^{\circ}\text{C}$, para generar un extracto crudo ($\cong 900$ g).

Posteriormente, dicho material se seco bajo campana, fue molido finamente en un molino eléctrico y se extrajo hasta agotamiento en un sohxlet, con etanol. La disolución obtenida fue filtrada y concentrada al vacío en un rotavapor a temperatura no mayor a $50\text{ }^{\circ}\text{C}$, para generar un extracto crudo ($\cong 1800$ g), el cual fue sometido a una marcha simplificadora para subdividir el crudo en productos de polaridad baja, media y alta según se indica en el esquema I (esta parte de la investigación condujo al aislamiento de las chalconas indicadas en el esquema III).

4. OBTENCIÓN DE LA $7\beta,9\alpha$ -DIHIDROXILONGIPIN-2-EN-1-ONA [1]



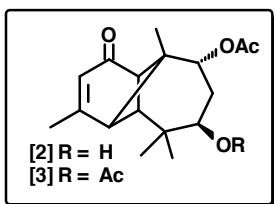
El extracto diclorométrico crudo ($\cong 900$ g), fue disuelto en metanol ligeramente caliente, luego se añadieron 400 g de KOH (disueltos en agua) y la mezcla se sometió a reflujo. El curso de la reacción fue monitoreado por TLC detectándose que el sustrato había reaccionado en su totalidad después de media hora de calentamiento. Transcurrido este tiempo se dejó enfriar la mezcla de reacción y luego fue vertida sobre agua, extraída con CH_2Cl_2 , y lavada sucesivamente con HCl (10 %) y agua. La capa orgánica fue decantada y secada sobre MgSO_4 anhidro. La evaporación del disolvente condujo a la obtención de un sólido blanco [1] ($\cong 14$ g), el cual fue recrystalizado en diclorometano.

Datos: Compuesto [1]	Pág.
Fórmula Molecular: C ₁₅ H ₂₂ O ₃ .	
Masa Molecular: 250 g/mol.	
Punto de Fusión: 174-175 °C (diclorometano)	
Rotación Específica: [α] _D = + 42° (c, 0,33 metanol).	
Espectro IR: (KBr), Fig 1A.....	47
Espectro UV (MeOH): Fig. 1I.....	47
Espectro RMN- ¹ H: (C ₅ D ₅ N), Fig. 1B; Tabla 1B.....	49
Espectro RMN- ¹³ C: (C ₅ D ₅ N), Fig. 1C; Tabla 1C.....	50
Espectro de Masas: (70 eV), Fig. 1H; Tabla 1H.....	51
Espectro ¹ H, ¹ H-COSY: (C ₅ D ₅ N), Fig. 1D.....	54
Espectro HMQC: (C ₅ D ₅ N), Fig. 1E.....	55
Espectro HMBC: (C ₅ D ₅ N), Fig. 1F.....	56
Espectro NOESY: (C ₅ D ₅ N), Fig. 1G.....	53

5. OBTENCIÓN DE DERIVADOS DE LA 7β,9α-DIHIROXILONGIPIN-2-EN-1-ONA [1]

5.1. Modificaciones sobre el anillo cicloheptánico

5.1.1. Síntesis y purificación de 7β-hidroxi-9α-acetoxilongipin-2-en-1-ona[2] y 7β,9α-diacetoxilongipin-2-en-1-ona [3]



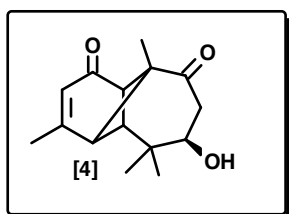
Aproximadamente 500 mg del diol [1] fueron disueltos en piridina (25 mL) y posteriormente se añadió un ligero exceso de Ac₂O (30 mL) bajo agitación constante a temperatura ambiente. Luego de transcurrir una hora, fue extraída una alícuota de 1 mL de la mezcla de reacción, esta porción de la mezcla fue vertida en 5 mL de HCl (10 %). Esta solución acuosa fue extraída con tres lavados de 5 mL de diclorometano. La fase orgánica fue lavada con 5 mL disolución de NaHCO₃ (5 %) y seguidamente con una solución saturada de NaCl; se secó sobre MgSO₄ anhidro y se filtró. El residuo obtenido después de evaporar el solvente fue purificado por cromatografía preparativa sobre placas de gel de sílice eluidas con Hexano-AcOEt (1:1). Se recuperaron ≅ 9 mg del producto monoacetilado en C-9 (Compuesto [2]). La evolución del resto de la mezcla de reacción fue seguida por medio de cromatografía de capa fina hasta observar la desaparición de [1] y la formación de un solo producto (el diéster [3]).

Después de 24 horas de reacción, la mezcla se vertió sobre agua fría y luego se extrajo con diclorometano varias veces. La capa orgánica decantada se lavó con HCl (10 %), luego con disolución de NaHCO₃ (5 %) y seguidamente con agua saturada de NaCl; se secó sobre MgSO₄ anhidro y se filtró. El residuo obtenido después de evaporar el solvente fue purificado por cromatografía de columna con diclorometano-AcOEt (4:1). Se recuperaron \cong 518 mg de **[3]**.

Datos: Compuesto [2]	Pág.
Fórmula Molecular: C ₁₇ H ₂₄ O ₄ .	
Masa Molecular: 292 g/mol.	
Punto de Fusión: Compuesto resinoso	
Espectro IR: (KBr), Fig 2A, Tabla 2A.....	65
Espectro RMN- ¹ H: (CDCl ₃), Fig. 2B; Tabla 2B.....	66

Datos: Compuesto [3]	Pág.
Fórmula Molecular: C ₁₉ H ₂₆ O ₅ .	
Masa Molecular: 334 g/mol.	
Punto de Fusión: Líquido resinoso	
Espectro IR: (KBr), Fig 3A, Tabla 3A.....	59
Espectro RMN- ¹ H: (CDCl ₃), Fig. 3B; Tabla 3B.....	60
Espectro RMN- ¹³ C: (CDCl ₃), Fig. 3C; Tabla 3C.....	61
Espectro ¹ H, ¹ H-COSY: (CDCl ₃), Fig. 3D.....	62
Espectro HMQC: (CDCl ₃), Fig. 3E.....	63
Espectro HMBC: (CDCl ₃), Fig. 3F.....	64

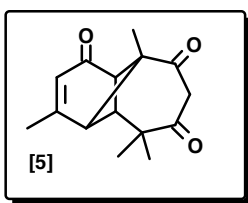
5.1.2. 7 β -hidroxilongipin-2-eno-1,9-diona **[4]**



A 500 mg de **[1]** disueltos en diclorometano (15 mL), se le añadieron 10 mL de Reactivo de Collins [CrO₃(piridina)₂] (Collins *et al.*, 1968) y la mezcla se mantuvo en reposo durante 1 hora a 0 °C. Transcurrido este tiempo, el precipitado de sales insolubles de cromo fue removido mediante filtración por gravedad. El filtrado se agitó en un embudo de decantación con HCl (10%); la fase orgánica decantada se secó sobre MgSO₄ anhidro y luego se filtró a través de una columna de alúmina/celita. El líquido recuperado se evaporó a sequedad, obteniéndose un residuo sólido que fue purificado por columna flash [Hexano-AcOEt (1:1)]. Se recuperaron aproximadamente 440 mg de la dicetona **[4]**.

Datos: Compuesto [4]	Pág.
Fórmula Molecular: C ₁₅ H ₂₀ O ₃ .	
Masa Molecular: 248 g/mol.	
Punto de Fusión: 132-134°C	
Espectro IR: (KBr), Fig. 4A, Tabla 4A.....	69
Espectro RMN- ¹ H: (CDCl ₃), Fig. 4B; Tabla 4B.....	70
Espectro RMN- ¹³ C: (CDCl ₃), Fig. 4C; Tabla 4C.....	71
Espectro ¹ H, ¹ H-COSY: (CDCl ₃), Fig. 4D.....	72
Espectro HMQC: (CDCl ₃), Fig. 4E.....	73

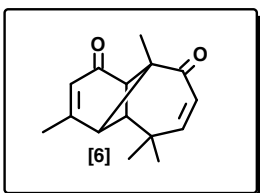
5.1.3. Longipin-2-eno-1,7,9-triona [5]



A 500 mg de [1] disueltos en acetona (20 mL), mantenidos en agitación a 0 °C en un baño de hielo, se le fueron añadiendo pequeñas porciones de Reactivo de Jones (CrO₃/H₂SO₄). La reacción fue controlada por los cambios de color y la formación de un precipitado azulado. Cuando persistió el color naranja del reactivo se suspendió la adición del mismo y se mantuvo la mezcla en agitación durante 15 minutos. Luego, se añadió un ligero exceso de metanol, se filtró y el líquido obtenido se evaporó a sequedad, obteniéndose un residuo (≅ 410 mg) que mostraba en TLC una mancha nítida. El compuesto fue recristalizado utilizando etanol dando lugar a la formación de cristales incoloros.

Datos: Compuesto [5]	Pág.
Fórmula Molecular: C ₁₅ H ₁₈ O ₃ .	
Masa Molecular: 246 g/mol.	
Punto de Fusión: 128-130°C	
Espectro IR: (KBr), Fig. 5A, Tabla 5A.....	74
Espectro RMN- ¹ H: (CDCl ₃), Fig. 5B; Tabla 5B.....	75
Espectro RMN- ¹³ C: (CDCl ₃), Fig. 5C; Tabla 5C.....	76
Espectro ¹ H, ¹ H-COSY: (CDCl ₃), Fig. 5D.....	77
Espectro HMQC: (CDCl ₃), Fig. 5E.....	78
Espectro HMBC: (CDCl ₃), Fig. 5F.....	79

5,1,4. Longipina-2,7-dieno-1,9-diona [6]



Al someter 100 mg la dicetona [4] a reflujo en benceno (15 mL) durante 1 hora, utilizando una trampa Dean-Stark (para remover el agua que se genera en la reacción favoreciendo la formación de los productos) en presencia de ácido *p*-toluensulfónico monohidratado (80 mg). Se detecto mediante TLC la formación de tres productos ([6], [18] y [19]) de los cuales el compuesto [6] presento R_f intermedio entre [19] y [18] y se aisló mediante cromatografía preparativa de placas (PLC) eluidas con diclorometano. De esta forma se obtuvieron 30 mg de un sólido blanco (P.F. = 103-109 °C). Es importante mencionar que al repetir la experiencia utilizando tolueno en lugar de benceno se obtienen resultados similares.

Datos: Compuesto [6]

Pág.

Fórmula Molecular: $C_{15}H_{18}O_2$.

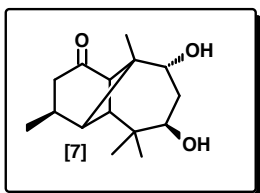
Masa Molecular: 230 g/mol.

Punto de Fusión: 103-109°C

Espectro IR: (KBr), Fig 6A, Tabla 6A.....	80
Espectro RMN- 1H : ($CDCl_3$), Fig. 6B; Tabla 6B.....	81
Espectro RMN- ^{13}C : ($CDCl_3$), Fig. 6C; Tabla 6C.....	82
Espectro $^1H, ^1H$ -COSY: ($CDCl_3$), Fig. 6D.....	83
Espectro HMQC: ($CDCl_3$), Fig. 6E.....	84
Espectro HMBC: ($CDCl_3$), Fig. 6F.....	85

5.2. Modificaciones sobre el anillo ciclohexánico

5.2.1. 3-*epi*-7 β ,9 α -dihidroxi longipin-2-en-1-ona [7]



En un balón de 2 bocas fueron colocados 500 mg de finas virutas de magnesio, dos cristales de I_2 (\cong 30 mg) y THF seco (2 mL). En la boca superior del balón fue conectado el condensador y en la lateral el embudo de adición; los extremos de ambos fueron sellados con tubos que contenían $CaCl_2$ anhidro. A través del embudo se añadieron 2 mL de bromobenceno (recién destilado). En el embudo se añadieron 5 mL de THF seco. La mezcla se mantuvo a 50°C durante 15 minutos y se adicionaron 180 mg del diol [1] disueltos en THF seco (5 mL). La mezcla se calentó a reflujo durante 30 minutos. Transcurrido este tiempo, fue vertida en 20 mL de agua-hielo y acidificada con 5 mL de HCl (10 %).

Finalmente, la mezcla fue lavada con acetato de etilo (3 lavados de 10 mL). El residuo resinoso obtenido fue purificado mediante cromatografía preparativa de placas eluidas con acetato de etilo. Fueron recuperados 6 mg de un compuesto resinoso (producto de reducción **[7]**).

Datos: Compuesto **[7]**

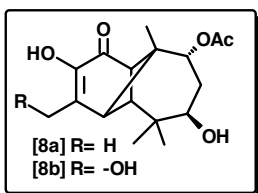
Pág.

Fórmula Molecular: C₁₅H₂₄O₂.

Masa Molecular: 252 g/mol.

Espectro IR: (KBr), Fig 7A, Tabla 7A.....	89
Espectro RMN- ¹ H: (CDCl ₃), Fig. 7B; Tabla 7B.....	90
Espectro RMN- ¹³ C: (CDCl ₃), Fig. 7C; Tabla 7C.....	91
Espectro ¹ H, ¹ H-COSY: (CDCl ₃), Fig. 7D.....	92
Espectro HMQC: (CDCl ₃), Fig. 7E.....	93
Espectro HMBC: (CDCl ₃), Fig. 7F.....	94

5.2.2. 2,7β-dihidroxi-9α-acetoxilongipin-2-en-1-ona **[8a]** y 2,7β,12-trihidroxi-9α-acetoxilongipin-2-en-1-ona **[8b]**



A una disolución en acetona (10 mL) de diacetato **[3]** (30 mg). se añadió, gota a gota y bajo agitación constante, una solución de permanganato de potasio (KMnO₄) en ácido clorhídrico concentrado (HCl). El curso de la reacción fue monitoreado por TLC hasta observar la desaparición del sustrato. Las nuevas manchas que se observaron sobre la TLC revelaron que la mezcla de reacción estaba conformada por varios productos de oxidación de similares R_f. La mezcla de reacción fue cromatografiada mediante cromatografía preparativa de placas [hexano-AcOEt (1:1)] dando como resultado el diol **[8a]** (7 mg) y el triol **[8b]** (5 mg).

Datos: Compuesto **[8a]**

Pág.

Fórmula Molecular: C₁₇H₂₄O₅.

Masa Molecular: 308 g/mol.

Espectro RMN- ¹ H: (CDCl ₃), Fig. 8a-B; Tabla 8a-B.....	138
--	-----

Datos: Compuesto **[8b]**

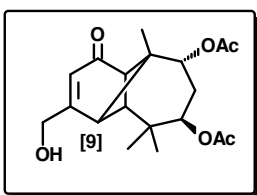
Pág.

Fórmula Molecular: C₁₇H₂₄O₆.

Masa Molecular: 324 g/mol.

Espectro RMN-¹H: (CDCl₃), Fig. 8b-B; Tabla 8b-B..... ..139

5.2.3. 12-hidroxi-7β,9α-diacetoxilongipin-2-en-1-ona [9]



Una solución de diacetato **[3]** (50 mg) en dioxano (10 mL) bajo agitación continua fue tratada con dióxido de selenio (20 mg) y peróxido de hidrógeno (H₂O₂) (0,2 mL) a temperatura ambiente durante 4 horas. Finalmente se añadió agua (5 mL) sobre la mezcla de reacción, se extrajo con diclorometano y se seco con MgSO₄ anhidro. El residuo obtenido fue purificado mediante cromatografía preparativa de placas eluidas con diclorometano. El producto mayoritario fue identificado como el alcohol alílico **[9]** (14 mg).

Datos: Compuesto **[9]**

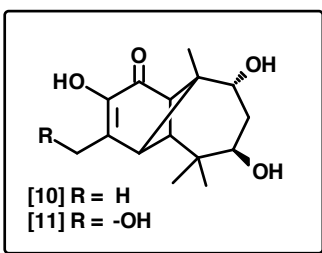
Pág.

Fórmula Molecular: C₁₉H₂₆O₆.

Masa Molecular: 350 g/mol.

Espectro RMN-¹H: (CDCl₃), Fig. 9B; Tabla 9B..... ..140

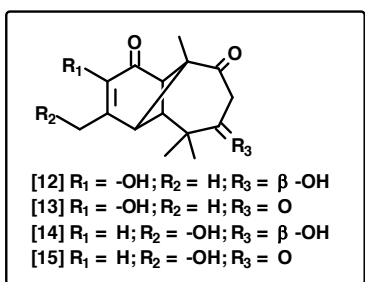
5.2.4. 2,7β,9α-trihidroxilongipin-2-en-1-ona [10] y 2,7β,9α,12-tetrahidroxilongipin-2-en-1-ona [11]



A una disolución en acetona (5 mL) de **[1]** (100 mg), se añadió, gota a gota y bajo agitación constante, una solución de permanganato de potasio (KMnO₄) en ácido clorhídrico concentrado (HCl). El curso de la reacción fue monitoreado por TLC hasta observar la desaparición del sustrato. Las nuevas manchas que se observaron sobre la TLC revelaron que la mezcla de reacción estaba conformada por varios productos de oxidación de similares R_f. Mediante cromatografía preparativa de placas [hexano-AcOEt (1:1)] se obtuvieron los compuestos **[10]** (20 mg) y **[11]** (8 mg) (curiosamente, el tetraol **[11]** presentó mayor R_f que triol **[10]**). La reacción se llevó a cabo en una segunda oportunidad empleando 550 mg de **[1]** recuperándose aproximadamente 120 mg de **[10]** y 70 mg de **[11]**.

Datos: Compuesto [10]	Pág.
Fórmula Molecular: C ₁₅ H ₂₂ O ₄ .	
Masa Molecular: 266 g/mol.	
Espectro IR: (KBr), Fig 10A, Tabla 10A.....	97
Espectro RMN- ¹ H: (CDCl ₃), Fig. 10B; Tabla 10B.....	98
Espectro RMN- ¹³ C: (CDCl ₃), Fig. 10C; Tabla 10C.....	99
Espectro ¹ H, ¹ H-COSY: (CDCl ₃), Fig. 10D.....	100
Espectro HMQC: (CDCl ₃), Fig. 10E.....	101
Espectro HMBC: (CDCl ₃), Fig. 10F.....	102
 Datos: Compuesto [11]	 Pág.
Fórmula Molecular: C ₁₅ H ₂₂ O ₅ .	
Masa Molecular: 282 g/mol.	
Espectro IR: (KBr), Fig 11A, Tabla 11A.....	103
Espectro RMN- ¹ H: (CDCl ₃), Fig. 11B; Tabla 11B.....	104
Espectro RMN- ¹³ C: (CDCl ₃), Fig. 11C; Tabla 11C.....	105
Espectro ¹ H, ¹ H-COSY: (CDCl ₃), Fig. 11D.....	106
Espectro HMQC: (CDCl ₃), Fig. 11E.....	107
Espectro HMBC: (CDCl ₃), Fig. 11F.....	108

5.3.5. 2,7β-dihidroxi-longipin-2-eno-1,9-diona [12]; 2-hidroxi-longipin-2-eno-1,7,9-triona [13]; 7β,12-dihidroxi-longipin-2-eno-1,9-diona [14] y 12-hidroxi-longipin-2-eno-1,7,9-triona [15]

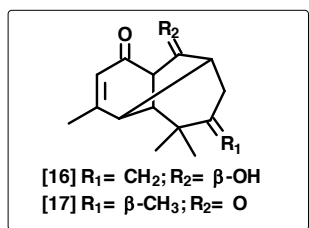


El triol **[10]** (120 mg) fue tratado con reactivo de Jones bajo las mismas condiciones que se emplearon para obtener la tricetona **[5]**. El curso de la reacción fue monitoreado por TLC hasta observar la desaparición del sustrato. Las nuevas manchas que se observaron sobre la TLC revelaron que la mezcla de reacción estaba conformada por varios productos de oxidación. Mediante cromatografía preparativa [hexano-AcOEt (1:1)] se obtuvieron los compuestos **[12]** (12 mg), **[13]** (9 mg), **[14]** (12 mg) y **[15]** (fueron recuperados 10 mg en mezcla con **[13]** 2:1).

Datos: Compuesto [12]	Pág.
Fórmula Molecular: $C_{15}H_{20}O_4$.	
Masa Molecular: 264 g/mol.	
Espectro IR: (KBr), Fig 12A, Tabla 12A.....	..112
Espectro RMN- 1H : ($CDCl_3$), Fig. 12B; Tabla 12B.....	..113
Espectro RMN- ^{13}C : ($CDCl_3$), Fig. 12C; Tabla 12C.....	..114
Espectro $^1H, ^1H$ -COSY: ($CDCl_3$), Fig. 12D.....	..115
Espectro HMQC: ($CDCl_3$), Fig. 12E.....	..116
Espectro HMBC: ($CDCl_3$), Fig. 12F.....	..117
Datos: Compuesto [13]	Pág.
Fórmula Molecular: $C_{15}H_{18}O_4$.	
Masa Molecular: 262 g/mol.	
Espectro IR: (KBr), Fig 13A, Tabla 13A.....	..118
Espectro RMN- 1H : ($CDCl_3$), Fig. 13B; Tabla 13B.....	..119
Espectro RMN- ^{13}C : ($CDCl_3$), Fig. 13C; Tabla 13C.....	..120
Espectro $^1H, ^1H$ -COSY: ($CDCl_3$), Fig. 13D.....	..121
Espectro HMQC: ($CDCl_3$), Fig. 13E.....	..122
Espectro HMBC: ($CDCl_3$), Fig. 13F.....	..123
Datos: Compuesto [14]	Pág.
Fórmula Molecular: $C_{15}H_{20}O_4$.	
Masa Molecular: 264 g/mol.	
Espectro IR: (KBr), Fig 14A, Tabla 14A.....	..124
Espectro RMN- 1H : ($CDCl_3$), Fig. 14B; Tabla 14B.....	..125
Espectro RMN- ^{13}C : ($CDCl_3$), Fig. 14C; Tabla 14C.....	..126
Espectro $^1H, ^1H$ -COSY: ($CDCl_3$), Fig. 14D.....	..127
Espectro HMQC: ($CDCl_3$), Fig. 14E.....	..128
Espectro HMBC: ($CDCl_3$), Fig. 14F.....	..129

Datos: Compuesto [15]	Pág.
Fórmula Molecular: C ₁₅ H ₁₈ O ₄ .	
Masa Molecular: 262 g/mol.	
Espectro IR: (KBr), Fig 15A, Tabla 15A.....	..130
Espectro RMN- ¹ H: (CDCl ₃), Fig. 15B; Tabla 15B.....	..131
Espectro RMN- ¹³ C: (CDCl ₃), Fig. 15C; Tabla 15C.....	..132
Espectro ¹ H, ¹ H-COSY: (CDCl ₃), Fig. 15D.....	..133
Espectro HMQC: (CDCl ₃), Fig. 15E.....	..134
Espectro HMBC: (CDCl ₃), Fig. 15F.....	..135

5.3.6. 7β-hidroximorelia-2,10(15)-dien-1-ona **[16]** y Morelian-2-eno-1,7-diona **[17]**



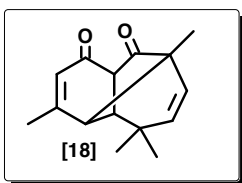
Después de someter a reflujo en benceno (15 mL) durante 1 hora en presencia de TsOH al diol **[1]** (180 mg), utilizando una trampa Dean-Stark (para remover el agua que se genera en la reacción favoreciendo la formación de los productos) en presencia de ácido *p*-toluensulfónico monohidratado (150 mg), se detecto mediante TLC la formación de dos productos.

La mezcla de reacción se dejo alcanzar la temperatura ambiente y se añadió a la misma NaHCO₃ (10 mL, 5%). La mezcla fue lavada con diclorometano (3 x 10 mL). y secada con MgSO₄ anhidro. El residuo obtenido fue cromatografiado en PLC (diclorometano) para obtener los productos **[16]** (76 mg) y **[17]** (24 mg).

Datos: Compuesto [16]	Pág.
Fórmula Molecular: C ₁₅ H ₂₀ O ₂ .	
Masa Molecular: 232 g/mol.	
Punto de Fusión: 130-131°C	
Espectro IR: (KBr), Fig 16A, Tabla 16A.....	..146
Espectro RMN- ¹ H: (CDCl ₃), Fig. 16B; Tabla 16B.....	..147
Espectro RMN- ¹³ C: (CDCl ₃), Fig. 16C; Tabla 16C.....	..148
Espectro ¹ H, ¹ H-COSY: (CDCl ₃), Fig. 16D.....	..149
Espectro HMQC: (CDCl ₃), Fig. 16E.....	..150
Espectro HMBC: (CDCl ₃), Fig. 16F.....	..151

Datos: Compuesto [17]	Pág.
Fórmula Molecular: C ₁₅ H ₂₀ O ₂ .	
Masa Molecular: 232 g/mol.	
Punto de Fusión: 158-160°C	
Espectro IR: (KBr), Fig 17A, Tabla 17A.....	..152
Espectro RMN- ¹ H: (CDCl ₃), Fig. 17B; Tabla 17B.....	..153
Espectro RMN- ¹³ C: (CDCl ₃), Fig. 17C; Tabla 17C.....	..154
Espectro ¹ H, ¹ H-COSY: (CDCl ₃), Fig. 17D.....	..155
Espectro HMQC: (CDCl ₃), Fig. 17E.....	..156
Espectro HMBC: (CDCl ₃), Fig. 17F.....	..157

5.3.7. Merida-2,7-dieno-1,9-diona **[18]**



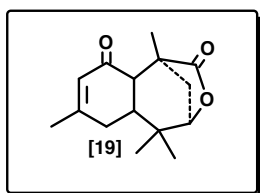
Al someter 100 mg la dicetona **[4]** a reflujo en benceno (15 mL) durante 1 hora, utilizando una trampa Dean-Stark (para remover el agua que se genera en la reacción favoreciendo la formación de los productos) en presencia de ácido *p*-toluensulfónico monohidratado (80 mg). Se detecto mediante TLC la formación de tres productos (**[6]**, **[18]** y **[19]**) de los cuales el compuesto **[18]** presento el mayor R_f. La mezcla de reacción se dejo alcanzar la temperatura ambiente y se añadió a la misma NaHCO₃ (10 mL, 5%). La mezcla fue lavada con diclorometano (3 x 10 mL). y secada con MgSO₄ anhidro. El residuo obtenido fue cromatografiado en PLC (diclorometano) para obtener el producto **[18]** (15 mg). Es importante mencionar que al repetir la experiencia utilizando tolueno en lugar de benceno se obtienen resultados similares. Los ensayos piloto empleando BF₃·(Et₂O)₂ indicaron que se formaban los mismos productos que al utiliza el ácido *p*-toluensulfónico monohidratado.

Al repetir el procedimiento señalado anteriormente, empleando como material de partida el compuesto **[6]** todo el sustrato evoluciona a la formación del producto **[18]**.

Datos: Compuesto [18]	Pág.
Fórmula Molecular: C ₁₅ H ₁₈ O ₂ .	
Masa Molecular: 230 g/mol.	
Punto de Fusión: 93-97°C	
Espectro IR: (KBr), Fig 18A, Tabla 18A.....	..158

Espectro RMN- ¹ H: (CDCl ₃), Fig. 18B; Tabla 18B.....	..163
Espectro RMN- ¹³ C: (CDCl ₃), Fig. 18C; Tabla 18C.....	..164
Espectro ¹ H, ¹ H-COSY: (CDCl ₃), Fig. 18D.....	..165
Espectro HMQC: (CDCl ₃), Fig. 18E.....	..166
Espectro HMBC: (CDCl ₃), Fig. 18F.....	..167

5.3.8. 1-oxo-2-en-uladan-7(9)-olida [19]



Al someter 100 mg la dicetona [4] a reflujo en benceno (15 mL) durante 1 hora, utilizando una trampa Dean-Stark (para remover el agua que se genera en la reacción favoreciendo la formación de los productos) en presencia de ácido *p*-toluensulfónico monohidratado (80 mg). Se detecto mediante TLC la formación de tres productos ([6], [18] y [19]) de los cuales el compuesto [19] presento el menor R_f. La mezcla de reacción se dejo alcanzar la temperatura ambiente y se añadió a la misma NaHCO₃ (10 mL, 5%). La mezcla fue lavada con diclorometano (3 x 10 mL). y secada con MgSO₄ anhidro. El residuo obtenido fue cromatografiado en PLC (diclorometano) para obtener el producto [19] (16 mg). La lactona [19] cristaliza en EtOH dando origen a cristales transparentes con forma laminar. Es importante mencionar que al repetir la experiencia utilizando tolueno en lugar de benceno se obtienen resultados similares. Los ensayos piloto empleando BF₃·(Et₂O)₂ indicaron que se formaban los mismos productos que al utiliza el ácido *p*-toluensulfónico monohidratado.

Datos: Compuesto [19]

Pág.

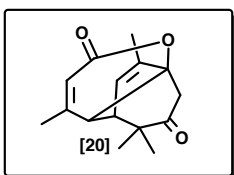
Fórmula Molecular: C₁₅H₂₀O₃.

Masa Molecular: 248 g/mol.

Punto de Fusión: 182-183°C

Espectro IR: (KBr), Fig 19A, Tabla 19A.....	..168
Espectro RMN- ¹ H: (CDCl ₃), Fig. 19B; Tabla 19B.....	..173
Espectro RMN- ¹³ C: (CDCl ₃), Fig. 19C; Tabla 19C.....	..174
Espectro ¹ H, ¹ H-COSY: (CDCl ₃), Fig. 19D.....	..175
Espectro HMQC: (CDCl ₃), Fig. 19E.....	..176
Espectro HMBC: (CDCl ₃), Fig. 19F.....	..177
Espectro NOESY: (CDCl ₃), Fig. 19G.....	..178

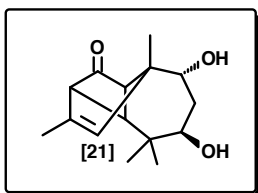
5.3.9. (4*R*,5*S*,9*S*)-1,11-*seco*-oxomorelian-2,10-dien-9,1-olida [20]



Al someter 100 mg la tricetona [5] a reflujo en benceno (15 mL) durante 1 hora, utilizando una trampa Dean-Stark (para remover el agua que se genera en la reacción favoreciendo la formación de los productos) en presencia de ácido *p*-toluensulfónico monohidratado (80 mg). Se detecto mediante TLC la formación de una mezcla productos de los cuales el compuesto [20]. La mezcla de reacción se dejo alcanzar la temperatura ambiente y se añadió a la misma NaHCO₃ (10 mL, 5%). La mezcla fue lavada con diclorometano (3 x 10 mL). y secada con MgSO₄ anhidro. El residuo obtenido fue cromatografiado en PLC (diclorometano) para obtener el producto [20] (18 mg).

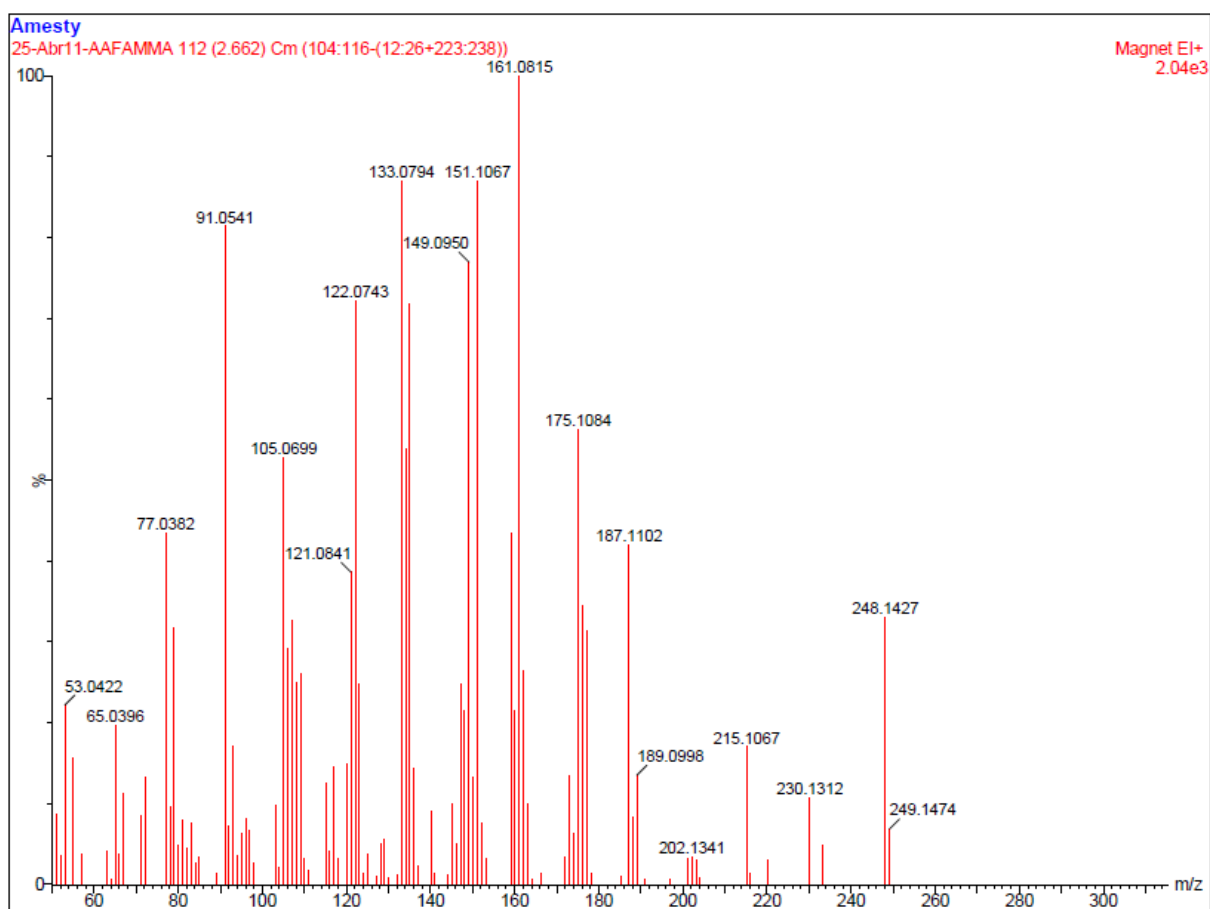
Datos: Compuesto [20]	Pág.
Fórmula Molecular: C ₁₅ H ₁₈ O ₃ .	
Masa Molecular: 246 g/mol.	
Punto de Fusión: 125-126°C	
Espectro IR: (KBr), Fig. 20A, Tabla 20A.....	..179
Espectro RMN- ¹ H: (CDCl ₃), Fig. 20B; Tabla 20B.....	..181
Espectro RMN- ¹³ C: (CDCl ₃), Fig. 20C; Tabla 20C.....	..182
Espectro ¹ H, ¹ H-COSY: (CDCl ₃), Fig. 20D.....	..183
Espectro HMQC: (CDCl ₃), Fig. 20E.....	..184
Espectro HMBC: (CDCl ₃), Fig. 20F.....	..185

5.3.10. 7β,9α-dihidroxipingilon-3-en-1-ona [21]

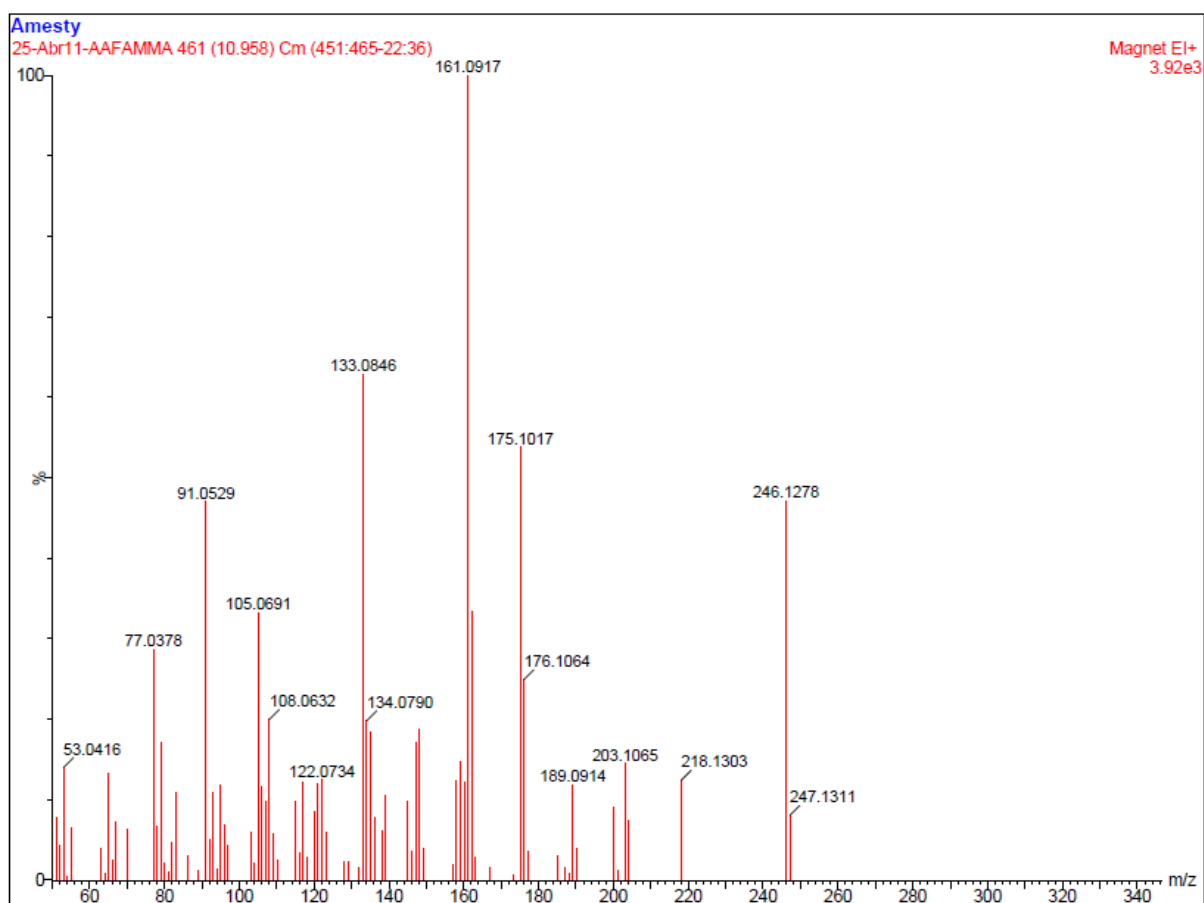


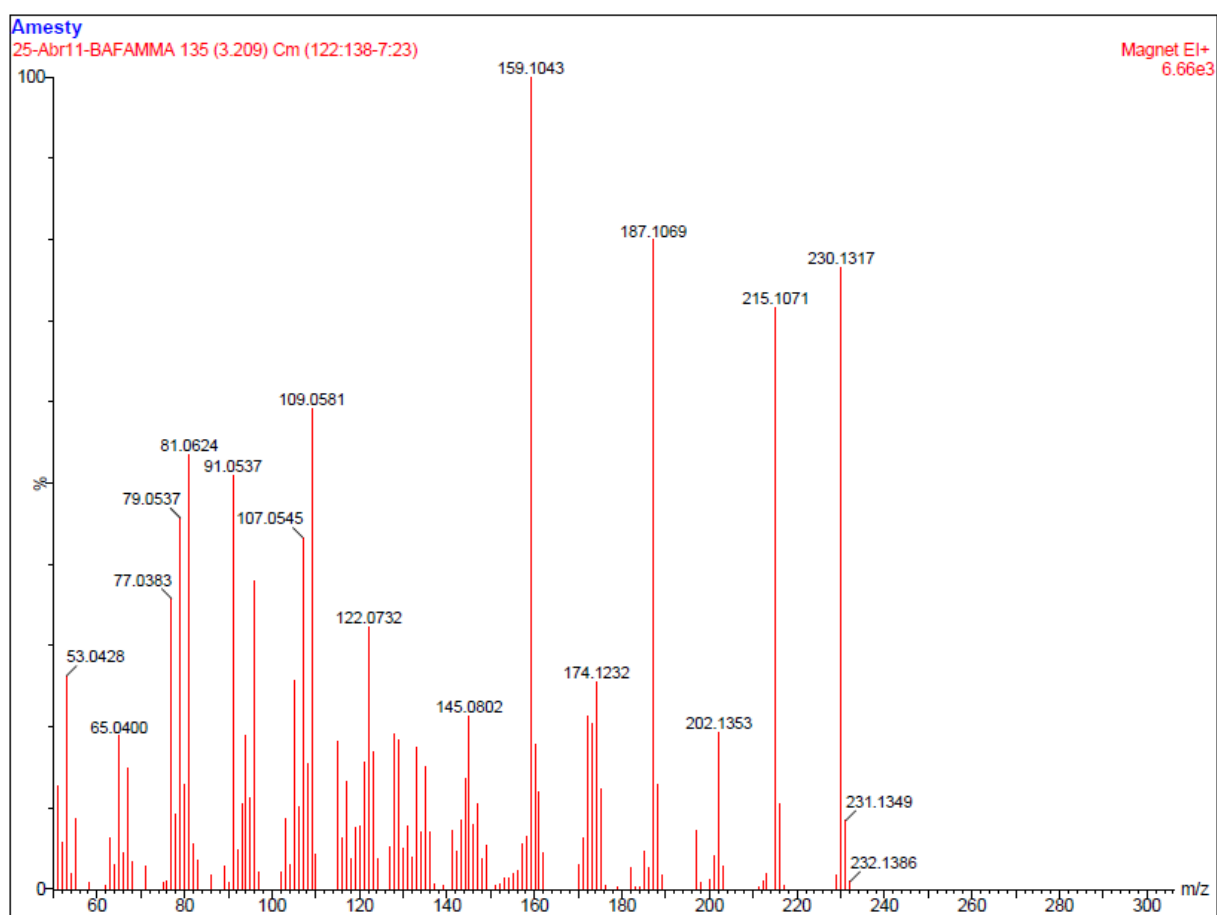
Al someter una solución metanólica del cetodiol [1] colocada en una celda de cuarzo a la acción de la luz UV suministrada por una lámpara de mercurio durante 1 hora, se detectó, por TLC la formación de al menos 3 productos. Una parte del crudo de reacción se cromatografió en PLC (AcOEt). Solo el compuesto [21], pudo ser estructuralmente caracterizado mediante el análisis de sus espectros de RMN uni y bidimensionales.

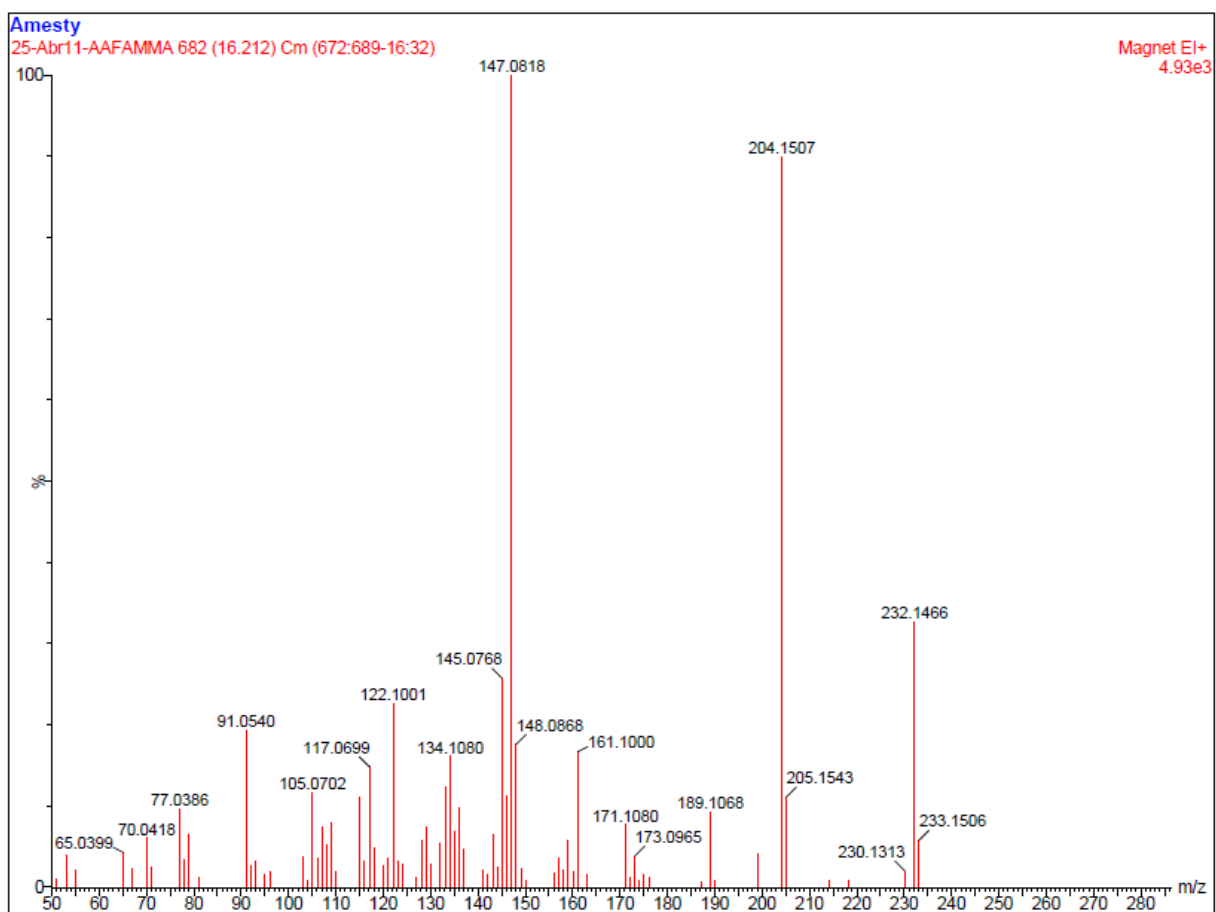
Datos: Compuesto [21]	Pág.
Fórmula Molecular: $C_{15}H_{22}O_3$.	
Masa Molecular: 250 g/mol.	
Espectro IR: (KBr), Fig 21A, Tabla 21A.....	..188
Espectro RMN- 1H : ($CDCl_3$), Fig. 21B; Tabla 21B.....	..189
Espectro RMN- ^{13}C : ($CDCl_3$), Fig. 21C; Tabla 21C.....	..190
Espectro $^1H, ^1H$ -COSY: ($CDCl_3$), Fig. 21D.....	..191
Espectro HMQC: ($CDCl_3$), Fig. 21E.....	..192
Espectro HMBC: ($CDCl_3$), Fig. 21F.....	..193

ESPECTROS DE MASAS DE LOS COMPUESTOS DEL CAPÍTULO 1**7 β -hidroxilongipin-2-eno-1,9-diona [4]**

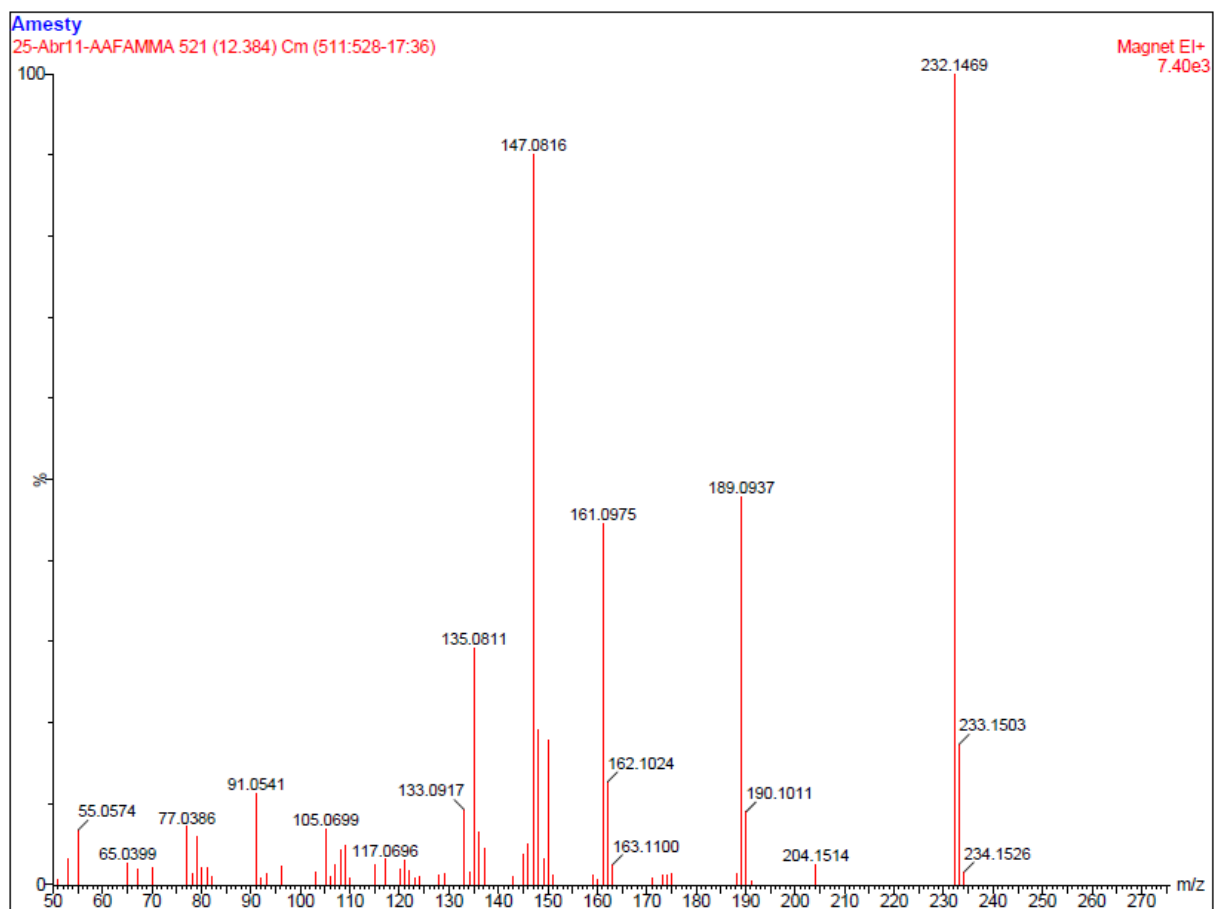
Longipin-2-eno-1,7,9-triona [5]



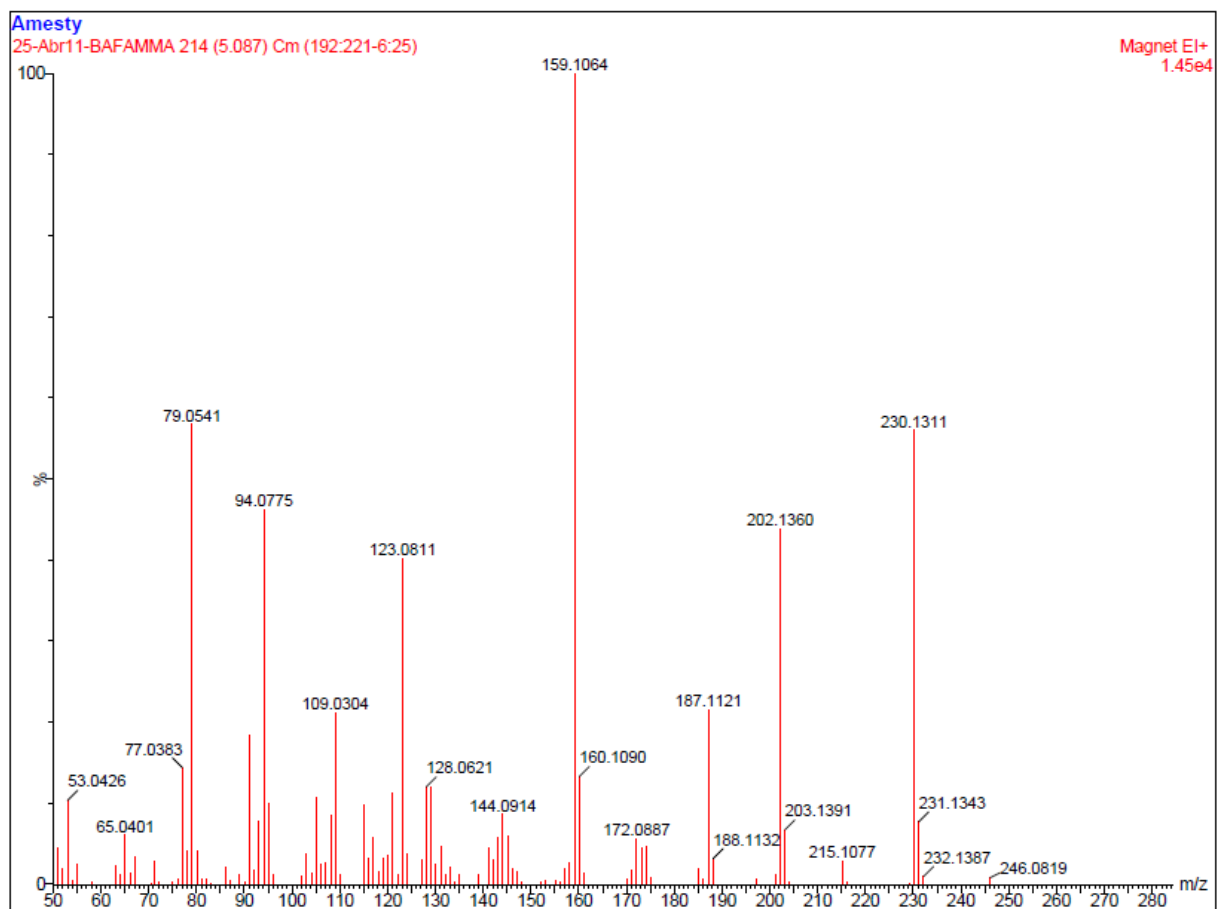
Longipina-2,7-dieno-1,9-diona [6]

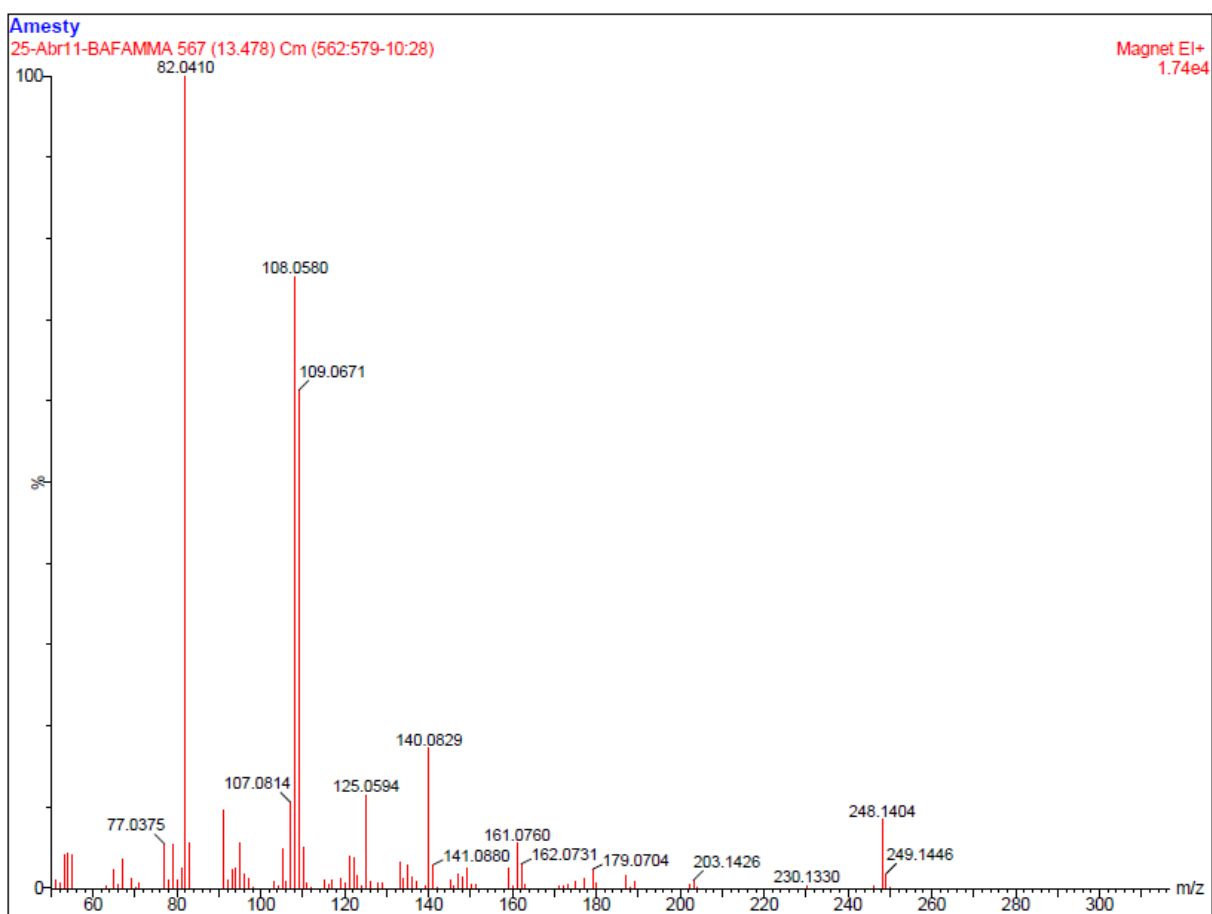
7 β -hidroximorelia-2,10(15)-dien-1-ona [16]

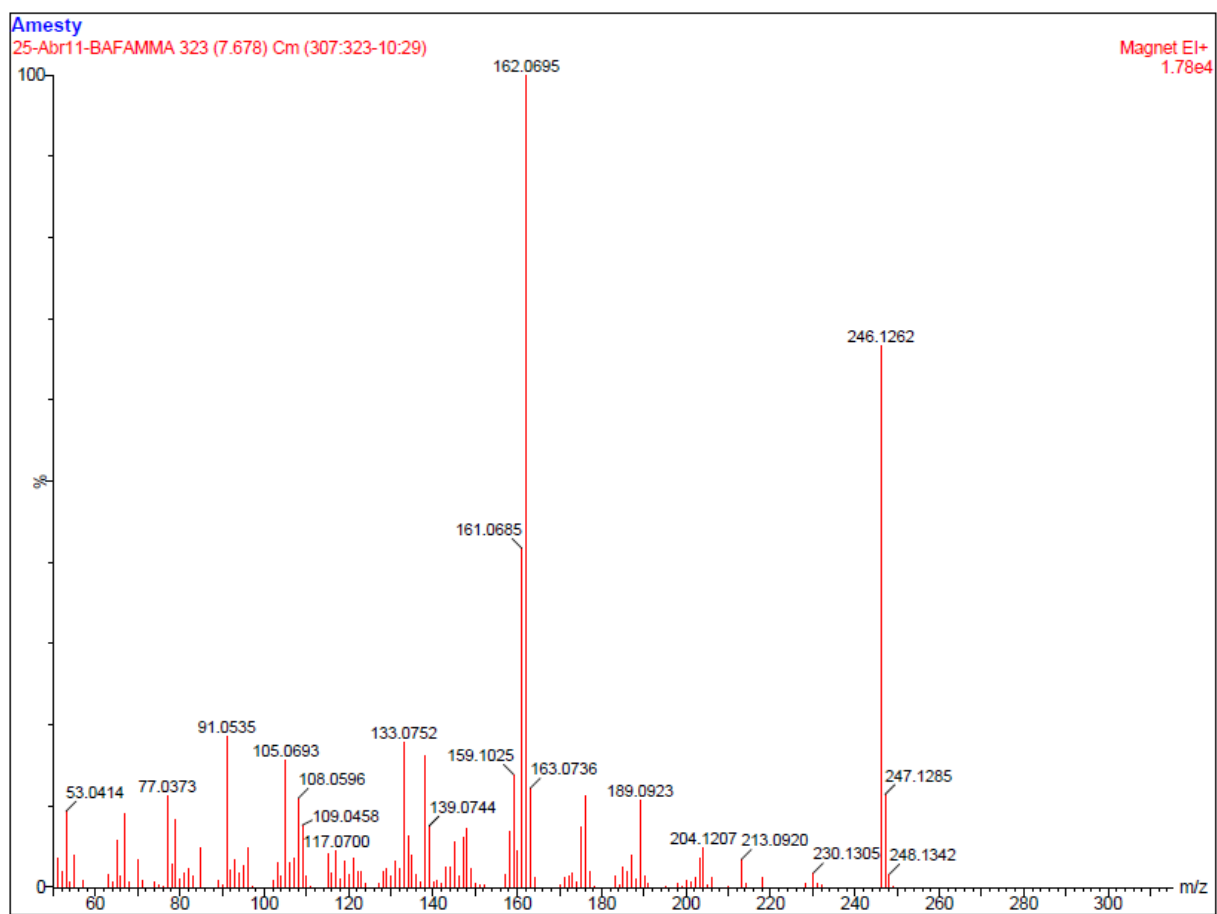
Morelian-2-eno-1,7-diona [17]



Merida-2,7-dieno-1,9-diona [18]



1-oxo-2-en-uladan-7(9)-olida [19]

(4*R*,5*S*,9*S*)-1,11-*seco*-oxomorelian-2,10-dien-9,1-olida [20]

CONCLUSIONES

En el presente capítulo del trabajo se da cuenta de los resultados obtenidos al efectuar transformaciones químicas centradas en obtener reagrupamientos moleculares y oxidaciones a partir de la 7 β ,9 α -dihidroxi-logipin-2-en-1-ona **[1]** obtenida de las partes aéreas de la *Stevia lucida* Lagasca. Dichos estudios demostraron que:

- ◆ Las hojas y ramas de la *Stevia lucida* Lagasca, resultaron ser una fuente importante de sesquiterpenos de la serie del longipineno sustituidos en las posiciones C-7 y C-9.
- ◆ Se reportan por primera los derivados **[6]**, **[8a]**, **[8b]**, **[9]**, **[10]**, **[11]**, **[12]**, **[13]**, **[14]** y **[15]**. Los derivados **[4]** y **[5]** se habían reportado previamente en el proyecto de Tesis Grado que precedió a esta investigación (Chacón & Amaro, 2008).
- ◆ En la formación de los compuestos **[10]** y **[11]** no se detecta la oxidación de los grupos hidroxilo ubicados en C-7 y C-9. Esto se debe a que la adición del reactivo (KMnO₄) se efectuó en función de la desaparición del sustrato de partida **[1]**. Por esta razón, al constatar que todo el diol **[1]** había reaccionado, se detenía la reacción. De haber adicionado un exceso de agente oxidante y prolongar el tiempo de reacción es muy probable que se hubiesen oxidado ambos grupos hidroxilo.
- ◆ La estructura lactona **[20]** corresponde a un *seco*-Moreliano. Este es el primer reporte de una estructura *seco* de este tipo de esqueletos.
- ◆ El producto **[18]** es un derivado obtenido a partir del reagrupamiento molecular (basado en migraciones \rightarrow 1,2) de la Longipina-2,7-dieno-1,9-diona **[6]**. Una exhaustiva revisión bibliográfica indicó que la estructura **[18]** posee un esqueleto nuevo para la ciencia en consecuencia fue nombrado como Meridano.
- ◆ El producto **[19]** es un derivado obtenido a partir del reagrupamiento molecular (basado en migraciones \rightarrow 1,2) de la 7 β -hidroxilongipin-2-eno-1,9-diona **[4]**. Una exhaustiva revisión bibliográfica indicó que la estructura **[19]** posee un esqueleto nuevo para la ciencia en consecuencia fue nombrado como Uladano.
- ◆ Es la primera vez que se reporta la reacción fotoquímica efectuada sobre el compuesto **[1]** con los grupos hidroxilo sin protección y se establece la estructura del pingilonano **[21]** con base en el estudio completo de RMN. En una investigación previa (Chacón & Amaro, 2008) se había propuesto que esta reacción era posible, pero el ensayo piloto solamente generó suficiente producto para hacer el espectro RMN-¹H. Esto sugiere que los grupos -OH no afectan en gran medida el mecanismo radicalario que gobierna esta reacción.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABAD-REYES J. A., BAHASAS A., DELGADO-MÉNDEZ P., AMARO-LUIS J. M., y TOWERS G. H. N., 2006. Actividad Antimicrobiana y Estudio Fitoquímico Preliminar de *Mandevilla veraguasensis* (Seem.) Helms. (Apocynaceae). **Avances Quím.**, **1**, 29-35.
2. ALVARADO J. G., ABAD-REYES J. A., MONTEALEGRE R. and AMARO-LUIS J. M., 2013. Naphthopyranones from Rhizomes of *Paepalanthus diffissus*. **Avanc. Quím.**, **8**, 131-138.
3. AMARO J. M. y HUNG M. 1985. Estudio Fitoquímico de la Flora Andina Venezolana III. Flavonoides y Esteroides de la *Stevia lucida* Lagasca. **Rev. Fac. Farm. ULA**, **25**, 125-134.
4. AMARO J. M. y HUNG M., 1988. Estudio Fitoquímico de la Flora Andina Venezolana IV. Estructura del Acido Labd-13(Z)-en-8 α -ol-15-oico, un Componente de la *Stevia lucida* Lagasca. **Acta Cient. Venez.**, **39**, 21-24.
5. AMARO J. M., ADRIÁN M., CERDÁ C. M. and JOSEPH-NATHAN P., 1988. Longipinene Derivatives from *Stevia lucida* and *S. triflora*. **Phytochemistry**, **27**, 1409-1412.
6. AMARO-LUIS J. M. and ADRIÁN-ROMERO M., 1997. Phytochemical Studies of the Venezuela Andean Flora, Part 11. A New Cariophyllane Derivative from *Stevia triflora*. **Die Pharmazie**, **52**, 162-63.
7. AMARO-LUIS J. M. and DELGADO-MÉNDEZ P., 1993. Phytochemical Studies of the Venezuela Andean Flora, Part 10. Flavonoids from the Leaves of *Chromolaena subscandes* (Hieron) K.& R., **J Nat. Prod.**, **56**, 610-12.
8. AMARO-LUIS J. M. y DELGADO-MÉNDEZ P., 1997. Estudio Fitoquímico de la Flora Andina Venezolana. Parte 14. Ácido 12-Oxo-9 β H, 13 α H-10,15-(Z)-Fitodienónico, un Componente de la *Chromolaena meridensis*. **Acta Cient. Venez.**, **48**, 123-28.
9. AMARO-LUIS J. M., 1993. Phytochemical Studies of the Venezuela Andean Flora, Part 9. An *ent*-Kaurenolide from *Stevia lucida*. **Phytochemistry**, **32**, 1611-13.
10. AMARO-LUIS J. M., 1997a. Phytochemical Studies of the Venezuela Andean Flora, Part 12. Abietane Diterpenoids from *Salvia rubescens* ssp. *truxillensis*. **Pharm. Acta Helv.**, **72**, 233-38.

11. AMARO-LUIS J. M., 1997b. Estudio Fitoquímico de Plantas de Los Andes Venezolanos. **En:** F. ECHEVERRI y W. QUIÑONES (Eds.) “**Tópicos en Productos Naturales: La Biodiversidad como Fuente de Moléculas Bioactivas**”, pág. 73-90. Universidad de Antioquia. Medellín.
12. AMARO-LUIS J. M., ADRIÁN M. and DÍAZ C., 1997. Phytochemical Studies of the Venezuela Andean Flora, Part 13. Isolation, Identification and Antimicrobial Activity of Ombuoside from *Stevia triflora*. **Ann. Pharm. Fr.**, **55**, 262-68.
13. AMARO-LUIS J. M., AMESTY A. E., MONTEALEGRE R. and BAHASAS A., 2006. Rospiglioside a New Totarane Diterpene from the Leaves of *Retrophyllum rospigliosii*. **J Mex. Chem. Soc.** **50**, 96-99.
14. AMARO-LUIS J. M., AMESTY A., BAHASAS A. and MONTEALEGRE R., 2008a. Biflavones from the Leaves of *Retrophyllum rospigliosii*. **Biochem. System. Ecol.**, **36**, 235-237.
15. AMARO-LUIS J. M., KHOTEICH-KHATIB S., CARRILLO-RODRÍGUEZ F. and BAHASAS A., 2008b. Myrsicorianol, A New Prenylated Benzoic Acid Derivative from *Myrsine coriacea*. **Nat. Prod. Commun.**, **3**, 323-327.
16. AMARO-LUIS J. M., RAMÍREZ I., DELGADO-MÉNDEZ P. and JORGE Z. D., 2002. Phytochemical Studies on the Venezuela Andean Flora. Part 14. Eudesmane Derivatives from *Verbesina turbacensis*. **J Braz. Chem. Soc.**, **13**, 352-57.
17. ARNARP J., DAHLIN B. M., ENZELL C. R., PETTERSSON T. and WEIDEMANN G., 1991. Tobacco Smoke Chemistry. 6. Alkyl-Substituted 2-Hydroxy-2-cyclohexenones Found in Cigarette Smoke Condensate. **Acta Chem. Scand.**, **45**, 105-107.
18. BADILLO V. M., 1994. Enumeración de las Compuestas (Asteraceae) de Venezuela. **Rev. Fac. Agron. UCV**, **45**, 1-191.
19. Bawm S., Matsuura H., Elkhateeb A., Nabeta K., Subeki, Nonaka N., Oku Y., and Katakura K. 2008. In vitro antitrypanosomal activities of quassinoid compounds from the fruits of a medicinal plant, *Brucea javanica*. **Veterinary Parasitology**, **158**, 288-294
20. BELLAMY L. M., 1975. “**The Infrared Spectra of Complex Molecules, Vol. 1 and 2.**” Chapman and Hall. London.
21. BUCKINGHAM J., 2000. “**Dictionary of Natural Products on CD-ROM.**” Chapman & Hall. London.
22. CANED. E., 1990. Enzymatic Formation of Sesquiterpenes. **Chem. Rev.**, **90**, 1089-1103.

23. CERDA-GARCÍA-ROJAS C. M., BUCIO M. A., ROMÁN L. U., HERNÁNDEZ, J. D. and JOSEPH-NATHAN, P. 2004. Preparation of moreliane derived volatile sesquiterpenes. *J Nat. Prod.*, **67**, 189-193.
24. CERDA-GARCÍA-ROJAS, C. M.; PEREDA-MIRANDA, R. The phytochemistry of *Stevia*: a general survey. Capítulo 5 del volumen: *Stevia*: The genus *Stevia*, de la serie Medicinal and Aromatic Plants-Industrial Profiles. Editor del libro: Kinghorn, A. D. Editor de la serie: Hardman, R. Editorial: Taylor & Francis, Londres, Inglaterra (2002) pp. 86-118. ISBN 0-415-26830-3.
25. CHACÓN P. A. and AMARO-LUIS JM. 2008. **Metabolitos Secundarios de la *Stevia lucida* Lagasca. Reacciones de Longipinenos**. Tesis de Grado. Facultad de Ciencias. Universidad de Los Andes. Mérida, República Bolivariana de Venezuela.
26. CHACÓN-MORALES P. A., 2013. “**Aportación al Estudio Fitoquímico del Género *Stevia*. Transformaciones Químicas en Sesquiterpenos de la Serie del Longipinano**”. Primer Seminario del Trabajo de Tesis Doctoral. Postgrado Interdisciplinario en Química Aplicada. Departamento de Química. Facultad de Ciencias. Universidad de Los Andes. Mérida. Venezuela.
27. CHACÓN-MORALES P. A., AMARO-LUIS JM. & BAHAS., 2013. Isolation and characterization of (+)-mellein, the first isocoumarin reported in *Stevia* genus. *Avanc. Quím.*, **8**, 145-151.
28. CHACÓN-MORALES P. A., AMARO-LUIS JM., 2015. Síntesis de un derivado diosfenólico a partir de la 7 β ,9 α -dihidroxi-longipin-2-en-1-ona. Avances en Química, 10(1), 41-47 (2015). *Avanc. Quím.*, **10(1)**, 41-47.
29. CHACÓN-MORALES P. A. and AMARO-LUIS JM. 2016. Meridane and uladane, two unprecedented sesquiterpene skeletons obtained by Wagner–Meerwein rearrangements of Longipinane derivatives. *Tetrahedron Lett.*, **57**, 2713–2716.
30. CHACÓN MORALES P. A., AMARO-LUIS J. M. AND. KUTATELADZE A. G. 2017. Structure Determination and Mechanism of Formation of a seco-Moreliane Derivative Supported by Computational Analysis. *J Nat. Prod.*, **80**, 1210-1214.
31. COLL J. C. and BOWDEN B. F., 1986. The Application of Vacuum Liquid Chromatography to the Separation of Terpenes Mixtures. *J Nat. Prod.*, **49**, 934-936.
32. COLLINS J. C., HESS W. W. and FRANK F. J., 1968. Dipyrindine-Chromium(VI) Oxide Oxidation of Alcohols in Dichloromethane. *Tetrahedron Letters*, **9**, 3363-3366.

33. DASH S., PATEL S. and MISHRA B.K., 2009. Oxidation by permanganate: synthetic and mechanistic aspects. ***Tetrahedron***, **65**, 707-739.
34. DE HERNANDEZ Z. N., HERNANDEZ L. R., CATALAN C. A. N., GEDRIS T. E. and Herz W., 1997, Guaianolides and germacradienolides from *Stevia sanguinea* ***Phytochemistry***, **46**, 721-727.
35. FAURE R., VINCENT E. J., GAYDOU E. M. and RAKOTONIRAINY O., 1986. Two-Dimensional NMR of Sesquiterpenic Compounds. I - Application to Complete Assignment of ¹H and ¹³C Spectra of α -Longipinene. ***Magn. Res. Chem.***, **24**, 883-889.
36. FEIGENBAUM A., FORT Y., PETE J. and SCHOLLER D., 1986. Photochemical cyclization of 2-alkyl-3-aryl-2-cyclohexenones and 2-alkoxy-3-aryl-2-cyclohexenones. ***J Org. Chem.***, **51**, 4424-4432.
37. GALARRAGA E., MITAINE-OFFER A. C., AMARO-LUIS J. M., MIYAMOTO T., POUYSÉGU L., QUIDEAU S., ROJAS L. B. and LACAILLE-DUBOIS M. A., 2010. Triterpene Saponins from the Fruits of *Phytolacca rugosa* (Phytolaccaceae). ***Natur. Prod. Commun.***, **5**, 775-776.
38. GALARRAGA E., MITAINE-OFFER A. C., AMARO-LUIS J. M., MIYAMOTO T., TANAKA C., POUYSÉGU L., QUIDEAU S., ROJAS L. B. and LACAILLE-DUBOIS M. A., 2011. Steroidal Saponins from the Fruits of *Cestrum ruizteranianum*. ***Nat. Prod. Commun.***, **6**, 1825-1826.
39. GALARRAGA MONTES E., AMARO-LUIS J. M., ROJAS L. B., MITAINE-OFFER A.-C. y LACAILLE-DUBOIS M. A., 2014. Triterpenos y Saponinas Triterpénicas de *Phytolacca icosandra* y *Phytolacca rugosa*. ***Ciencia (Maracaibo)***, **22**, 1-14.
40. GALINDO A., VILLEGAS N. and MANSILLA H., 1999. Cucurbitacins From *Bryonia Verrucosa*. Isomerization of 2-Hydroxy-3-Keto-Cucurbitacins ***Nat. Prod. Lett.***, **13**, 285-292.
41. GUERRA-RAMÍREZ D., CERDÁ-GACÍA-ROJAS C. M., PUENTES A. M. and JOSEPH-NATHAN P., 1998. Longipinene Diesters from *Stevia lucida*. ***Phytochemistry***, **48**, 1151-154.
42. HERNÁNDEZ L. R., CATALÁN C. A. N. and JOSEPH-NATHAN P., 1998. The Chemistry of the Genus *Stevia* (Asteraceae). ***Rev. Acad. Colomb. Cienc.***, **22**, 229-279.

43. HENKE H., 1995. "**Preparative Gel Chromatography on Sephadex LH-20**". Hüthig Verlag. Heidelberg.
44. HOLUM J. R., 1961. Study of the Chromium (VI) Oxide-Pyridine Complex. *J Org. Chem.*, **26**, 4814-16.
45. HUDLICKY M., 1990. "**Oxidations in Organic Chemistry**", pág. 283. John Wiley & Sons. New York.
46. JACKMANN L. M. and STERNHELL S., 1969. "**Applications of Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy in Organic Chemistry, 2a Ed.**" Pergamon Press. Oxford (Reino Unido).
47. JOSEPH-NATHAN P. and CERDA-GARCÍA-ROJAS C. M., 1994. Molecular rearrangements in longipinane derivatives. *Pure Appl. Chem.*, **66**, 2361-64.
48. JOSEPH-NATHAN P., CERDÁ C. M., ROMÁN L. U. and HERNÁNDEZ J. D., 1989. Preparation and Characterization of Naturally Occurring Longipinene Esters. *J Nat. Prod.*, **52**, 481-496.
49. JOSEPH-NATHAN P., MELENDEZ-RODRIGUEZ M., CERDA-GARCIA-ROJAS C. M., and CATALAN C. A. N., 1996. Photochemical Rearrangements of Highly Functionalized Longipinene Derivatives. *Tetrahedron Letters*, **37**, 8093-8096.
50. MELÉNDEZ-RODRÍGUEZ M., CERDA-GARCÍA-ROJAS C. M., CATALÁN C. A. and JOSEPH-NATHAN P., 2002a. Mechanistic studies of the photochemical rearrangement of 1-oxolongipin-2-ene derivatives. *Tetrahedron*, **58**, 2331-2338.
51. MELÉNDEZ-RODRÍGUEZ M., CERDA-GARCÍA-ROJAS C. M., and JOSEPH-NATHAN P., 2002b. Quirogane, Prenopsane, and Patzcuarane Skeletons Obtained by Photochemically Induced Molecular Rearrangements of Longipinene Derivatives. *J Nat. Prod.*, **65**, 1398-1411.
52. MIKES O., 1979. "**Laboratory Handbook of Chromatographic and Allied Methods**". Ellis Horwood. Chichester.
53. MIYASHITA M. and YOSHIKOSHI A., 1974. Stereoselective Total Synthesis of (\pm)-Longipinenes. *J Am. Chem. Soc.*, **96**, 1917-1925.
54. MONDOLIS E., MORÁN-PINZÓN J. A., ROJAS-MÁRQUEZ F. A., LÓPEZ-PÉREZ J. L., ABAD A., AMARO-LUIS J. M. and LEÓN DE GUERRERO E., 2013. Vasorelaxant Effects in Aortic Rings of Eight Diterpenoids Isolated from Three Venezuelan Plants. *Rev. Bras. Pharmacogn.*, **23**, 769-775.

55. RAMÍREZ-GONZÁLEZ I., AMARO-LUIS J. M. and BAHASAS A., 2013. Xanthenes from Aerial Parts of *Hypericum laricifolium* Juss. **Nat. Prod. Commun.**, **8**, 1731-1732.
56. ROMÁN L. U., CERDA-GARCÍA-ROJAS C. M., GUZMÁN R., CONCEPCIÓN, HERNÁNDEZ J. D. and JOSEPH-NATHAN P. 2002. Jiquilpane Hydrocarbon Skeleton Generated by Two Successive Wagner-Meerwein Rearrangements of Longipinane Derivatives. **J Nat. Prod.**, **65**, 1540-1546.
57. ROMÁN L. U., DEL RÍO R. E., HERNANDEZ J. D., CERDA-GARCIA-ROJAS C. M., CERVANTES D., CASTAÑEDA R. and JOSEPH-NATHAN P., 1985. Structural and Stereochemical Studies of Naturally Occurring Longipinene Derivatives. **J Org. Chem.**, **50**, 3965-3972.
58. ROMÁN L. U., HERNANDEZ J. D., CERDA-GACIA-ROJAS C. M., DOMINGUEZ-LOPEZ R. M. and JOSEPH-NATHAN P., 1992. Molecular rearrangements in the longipinene series. **J Nat. Prod.**, **55**, 577-588.
59. ROMÁN L. U., HERNÁNDEZ J. D., DEL RÍO R.E., BUCIO M. A., CERDA-GACIA-ROJAS C. M., and JOSEPH-NATHAN P., 1991. Wagner-Meerwein Rearrangements of Longipinene Derivatives. **J Org. Chem.**, **56**, 1938-1940.
60. ROMÁN L. U., ZEPEDA L. G., REBECA-MORALES N., HERNÁNDEZ J. D., CERDA-GACIA-ROJAS C. M., and JOSEPH-NATHAN P., 1995. Molecular rearrangement of Rastevione Mesylate into Arteagane Derivatives. **J Nat. Prod.**, **58**, 1808-1816.
61. ROMÁN L.U., DEL RÍO R.E., HERNÁNDEZ J.D., JOSEPH-NATHAN P., ZABEL V. and WATSON W.H., 1981. Structure, chemistry and stereochemistry of rastevione, a sesquiterpenoid from the genus *Stevia*. **Tetrahedron**, **37**, 2769-2778.
62. SAALFRANK R. W., SCHIERLING P. and SCHATZLEIN P., 1983. 4-Ylidenbutenolid-Synthesen, I. Einfache Synthese ungesättigter bicyclischer Orthoester und deren saure Hydrolyse zu anellierten 4-Alkyliden-2-buten-4-oliden. **Chem. Ber.**, **116**, 1463-1467.
63. SCOTT A. I., 1969. "Interpretation of Ultraviolet Spectra of Natural Products". Pergamon Press. Oxford.
64. SHOOLERY J. N. and ROGERS M. T., 1958. Nuclear Magnetic Resonance Spectra of Steroids. **J Am. Chem. Soc.**, **80**, 5121-35.

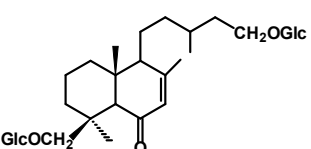
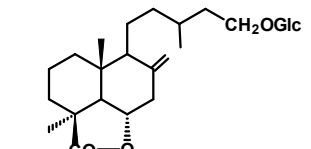
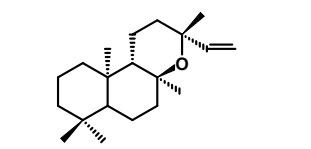
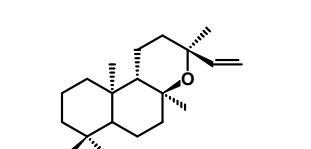
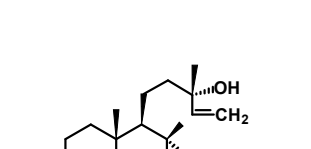
65. SIMPSON C. F., 1976. "**Practical High Performance Liquid Chromatography**". Heyden & Sons. London.
66. SÖVALL J., NYSTRÖM E., HAAHTI E. and FROM E., 1968. Liquid Chromatography on Lipophilic Sephadex, **En**, J. C. GRINDINGS and R. A. KELLER (Eds.) "**Advances in Chromatography**". Vol. 6, pag. 119-170. Marcel Dekker. New York.
67. SNYDER L. R. and KIRKLAND J. J., 1974. "**Introduction to Modern Liquid Chromatography**". John Wiley. London.
68. STAHL E., 1969. "**Thin-Layer Chromatography: Laboratory Handbook, 2nd Ed.**" Springer-Verlag. Berlín.
69. Takano S., Hatakeyama S. and Ogasawara K., 1979. Synthesis of the nontryptamine moiety of the Aspidosperma-type indole alkaloids via cleavage of a cyclic alpha-diketone monothioketal. An efficient synthesis of (+-)-quebrachamine and a formal synthesis of (+-)-tabersonine. **J Am. Chem. Soc.**, **101**, 6414-6420.
70. TAMAYO-CASTILLO G., JAKUPOVIC J., CASTRO V. and KING R. M., 1989. (+)- α -Copaen-8-One and Other Constituents from *Neomirandea* Species. **Phytochemistry**, **28**, 938-940.
71. TROST B. M. and SCHROEDER G. M., 2000. Cyclic 1,2-Diketones as Building Blocks for Asymmetric Synthesis of Cycloalkenones. **J Am. Chem. Soc.**, **122**, 3785-3786.
72. URBAN M., SAREK J., KLINOT J., KORINKOVA G. and HAJDUCH M., 2004. Synthesis of A-Seco Derivatives of Betulinic Acid with Cytotoxic Activity. **J Nat. Prod.**, **67**, 1100-1105.
73. UTAKA M., KURIKI H., SAKAI T. and TAKEDA A., 1986. New synthesis of jasmine lactone and related δ -lactones from 1,2-cyclohexanedione. Preparation and dye-sensitized photooxygenation of 3-(2-alkenyl)- and 3-(2-alkynyl)-1,2-cyclohexanediones. **J Org. Chem.**, **51**, 935-938.
74. VOGEL, A. I., 1974. "**Practical Organic Chemistry. 3rd Ed.**" pag. 152-154. Longman. London.

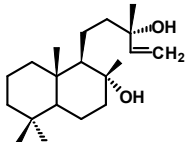
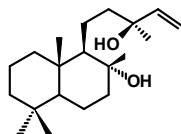
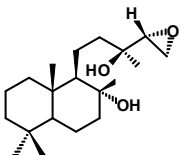
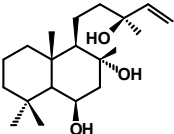
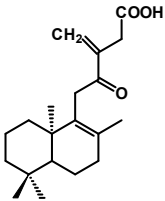
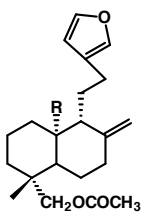
Capítulo 2

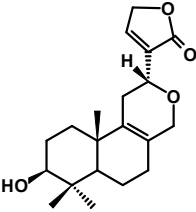
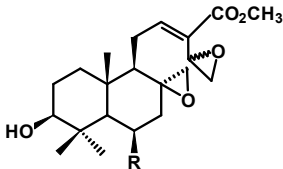
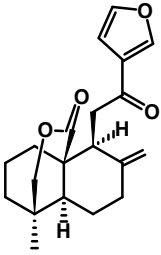
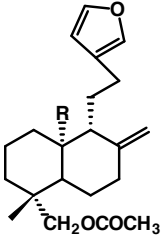
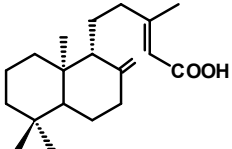
Hemisíntesis de Diterpenos de la serie del Labdano

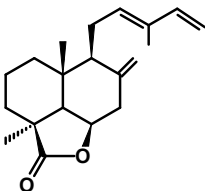
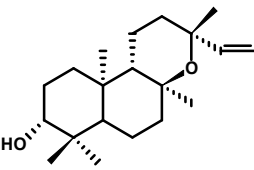
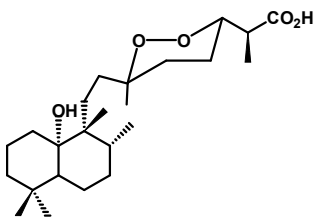
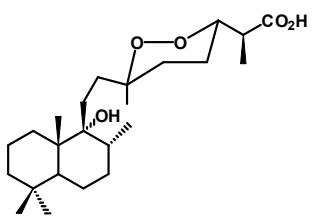
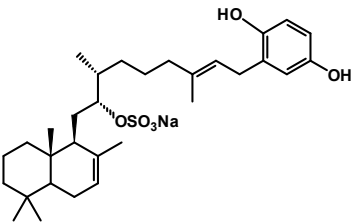
INTRODUCCIÓN

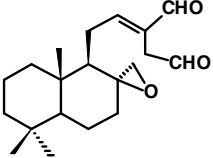
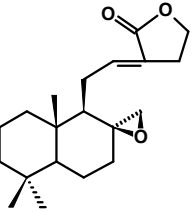
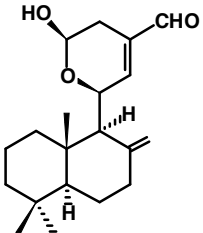
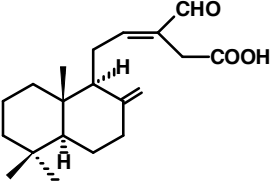
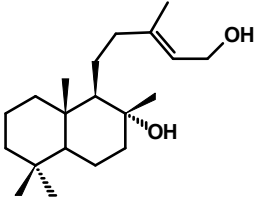
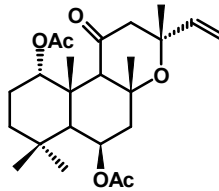
Los derivados del labdano y del *ent*-labdano están ampliamente distribuidos en los vegetales superiores. Estos compuestos poseen una gran variedad de funcionalización y son prolíferos en cuanto a actividad biológica se refiere. A continuación se presentan algunos reportes de estudios de actividad biológica que han sido realizados en derivados del labdano de origen natural.

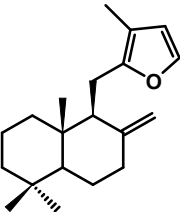
Actividad Bactericida			
Estructura	Planta de Origen	Bacteria	Referencia Bibliográfica
	<i>Viburnum suspensum</i> Lindl.	<i>Bacillus subtilis</i> <i>Escherichia coli</i>	Iwagawa <i>et al.</i> , 1992
	<i>Viburnum suspensum</i> Lindl.	<i>Aeromonas salmonicida</i> <i>Bacillus subtilis</i>	Iwagawa <i>et al.</i> , 1992
	<i>Cistus incanus</i> ssp. <i>creticus</i> L.	<i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>S. epidermidis</i> <i>S. hominis</i> <i>Escherichia coli</i>	Demetzos <i>et al.</i> , 2002
	<i>Cistus incanus</i> ssp. <i>creticus</i> L.	<i>Escherichia coli</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>S. epidermidis</i> <i>S. hominis</i>	Demetzos <i>et al.</i> , 2002
	<i>Cistus incanus</i> ssp. <i>creticus</i> L.	<i>E. coli</i> <i>Enterobacter cloacea</i> <i>K. pneumoniae</i> <i>Pseudomona aeruginosa</i> <i>S. epidermidis</i> <i>S. aureus</i>	Chinou <i>et al.</i> , 1994

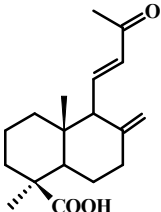
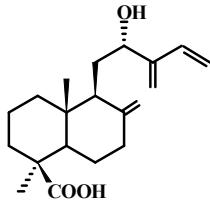
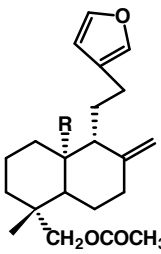
Actividad Bactericida (Continuación)			
Estructura	Planta de Origen	Bacteria	Referencia Bibliográfica
	<i>Pseudognaphalium heterotrichium</i> (Phil.) Anderb. <i>P. cheiranthifolium</i> (Lam.) Hilliard & B.L. Burt	<i>Bacillus cereus</i> <i>B. subtilis</i> <i>B. coagulans</i>	Mendoza <i>et al.</i> , 2002
	<i>Astragalus brachystachys</i> D.C.	<i>B. subtilis</i>	Jassbi <i>et al.</i> , 2002
	<i>Astragalus brachystachys</i> D.C.	<i>B. subtilis</i>	Jassbi <i>et al.</i> , 2002
	<i>Astragalus brachystachys</i> D.C.	<i>B. subtilis</i>	Jassbi <i>et al.</i> , 2002
	<i>Premna oligotricha</i> Baker	Screening frente a bacterias Gram- (+)	Habtemarian <i>et al.</i> , 1992
 R= CHO, Potamogetonido R= CH ₂ OH, Potamogetonol	<i>Potamogeton malaianus</i> Miq.	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Kittakoop <i>et al.</i> , 2001

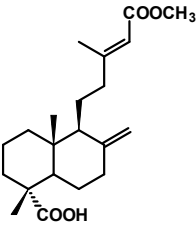
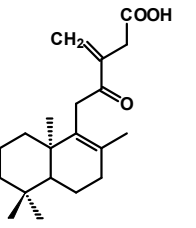
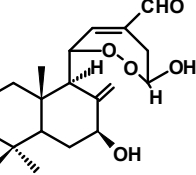
Actividad Bactericida (Continuación)			
Estructura	Planta de Origen	Bacteria	Referencia Bibliográfica
	<i>Aframomum aulacocarpos</i> Pellegr.	<i>B. subtilis</i>	Ayafor <i>et al.</i> , 1994
 <p>R= H Aulacocarpin A R= OH Aulacocarpin B</p>	<i>Aframomum aulacocarpos</i> Pellegr.	<i>B. subtilis</i>	Ayafor <i>et al.</i> , 1994
	<i>Potamogeton nodosus</i> Poir.	<i>B. cereus</i> <i>B. subtilis</i> <i>Shigella boydii</i> <i>S. shiga</i> <i>S. sonnei</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Streptococcus faecalis</i>	Qais <i>et al.</i> , 1998
 <p>R= CHO, Potamogetonido R= CH₂OH, Potamogetonol</p>	<i>Potamogeton malaianus</i> Miq.	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Kittakoop <i>et al.</i> , 2001
	<i>Copaifera paupera</i> (Herzog) Dwyer	<i>B. subtilis</i> <i>S. aureus</i> <i>S. epidermidis</i>	Tincusi <i>et al.</i> , 2002

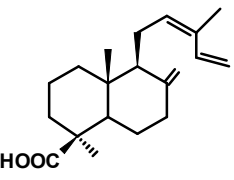
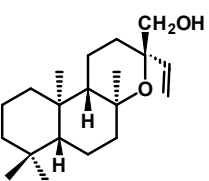
Actividad Bactericida (Continuación)			
Estructura	Planta de Origen	Bacteria	Referencia Bibliográfica
	<i>Salvia leriifolia</i> Benth	<i>S. aureus</i>	Habibi <i>et al.</i> , 2000
	<i>Cistus creticus</i>	<i>S. aureus</i> , <i>S. epidermidis</i> , <i>K. pneumoniae</i> y <i>P. aeruginosa</i>	Kalpoutzakis <i>et al.</i> , 2001
	<i>Mycale</i> (Esponja marina)	<i>B. subtilis</i> <i>S. aureus</i>	Tanaka <i>et al.</i> , 1993
	<i>Mycale</i> (Esponja marina)	<i>B. subtilis</i> <i>S. aureus</i>	Tanaka <i>et al.</i> , 1993
	Halichondriidae Castaña oscura (Nombre común) (Esponja marina)	<i>B. subtilis</i> <i>S. aureus</i>	Kernan <i>et al.</i> , 1988

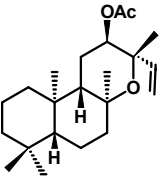
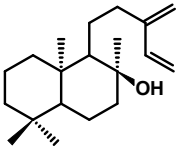
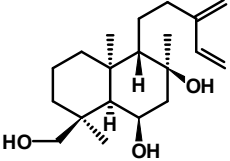
Actividad Fungicida			
Estructura	Planta de Origen	Hongo	Referencia Bibliográfica
	<i>Aframomum daniellii</i>	Screening frente a varios géneros	Kimbu <i>et al.</i> , 1987 Kim & Isoe, 1983
	<i>Alpinia galanga</i> Willd	Screening frente a especies del género <i>Candida</i>	Morita <i>et al.</i> , 1988
	<i>Renealmia alpinia</i> (Rottb.) Maas	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Zhou <i>et al.</i> , 1997
	<i>Renealmia alpinia</i> (Rottb.) Maas	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> Cepa Sc-7	Zhou <i>et al.</i> , 1997
	<i>Cistus incanus</i>	<i>Candida albicans</i>	Chinou <i>et al.</i> , 1994
	<i>Plectranthus ornatus</i> Codd.	<i>Candida albicans</i> <i>C. glabrata</i> <i>C. guilliermondii</i> <i>C. krusei</i> <i>C. tropicalis</i>	Rijo <i>et al.</i> , 2002

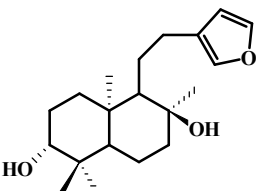
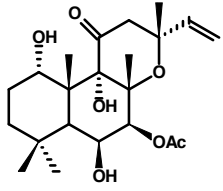
Actividad Fungicida (Continuación)			
Estructura	Planta de Origen	Hongo	Referencia Bibliográfica
	<i>Solidago chilensis</i> Cabrera	<i>Microsporium gypseum</i> <i>Trichophyton mentagrophytes</i>	Vila <i>et al.</i> , 2002

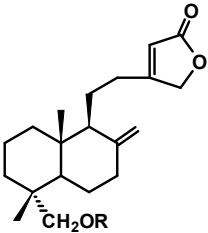
Actividad Antiviral			
Estructura	Planta de Origen	Virus	Referencia Bibliográfica
	<i>Thuja standishii</i> Carr.	Epstein-Barr (EBV-EA)	Tanaka <i>et al.</i> , 2000
	<i>Thuja standishii</i> Carr.	Epstein-Barr (EBV-EA)	Tanaka <i>et al.</i> , 2000
 <p>R= CHO, Potamogetonido R= CH₂OH, Potamogetonol</p>	<i>Potamogeton malaianus</i> Miq.	HSV-1	Kittakoop <i>et al.</i> , 2001

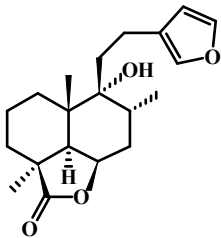
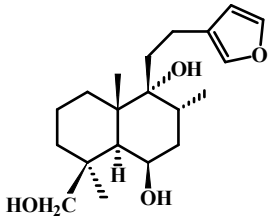
Actividad Leishmanicida y Antimalárica			
Estructura	Planta de Origen	Parásito	Referencia Bibliográfica
	<i>Polyalthia macropoda</i> King	<i>Leishmania donovani</i>	Richomme <i>et al.</i> , 1991
	<i>Premna schimperi</i> <i>Premna oligotricha</i>	<i>Leishmania aethiopica</i>	Habtemariam, 2003
	<i>Aframomum latifolium</i> K. Schum	<i>Plasmodium falciparum</i>	Duker-Eshun <i>et al.</i> , 2002

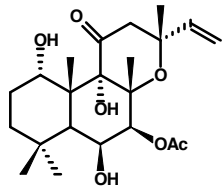
Actividad Anti-Inflamatoria			
Estructura	Planta de Origen	Método ó Mecanismo de Acción	Referencia Bibliográfica
	<i>Cryptomeria japonica</i> D. Don	CEP (edema podal inducido por carragenina)	Shimizu <i>et al.</i> , 1988
	<i>Sideritis javalambrensis</i> Pau	CEP (edema podal inducido por carragenina)	Alcaraz <i>et al.</i> , 1989

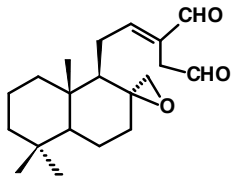
Actividad Anti-Inflamatoria (Continuación)			
Estructura	Planta de Origen	Método ó Mecanismo de Acción	Referencia Bibliográfica
	<i>Sideritis javalambrensis</i> Pau	Inhibe la síntesis de prostaglandina E ₂	De las Heras <i>et al.</i> , 1994
	<i>Sideritis javalambrensis</i> Pau	Inhibe la síntesis de prostaglandina E ₂	De las Heras <i>et al.</i> , 1994
	<i>Sideritis foetens</i> Benth	Inhibe la liberación de histamina	Navarro <i>et al.</i> , 1997

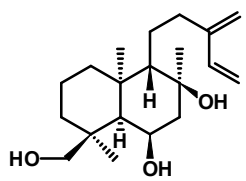
Actividad Antiespasmódica			
Estructura	Planta de Origen	Método ó Mecanismo de Acción	Referencia Bibliográfica
	<i>Dodonaea viscosa</i> Jack	Pruebas en cobayos y ratas-Contracciones inducidas por acetilcolina, histamina y cloruro de bario	Rojas <i>et al.</i> , 1996
 Forskolina	<i>Coleus forskohlii</i> Briq.	En uso comercial	Dubey <i>et al.</i> , 1974.

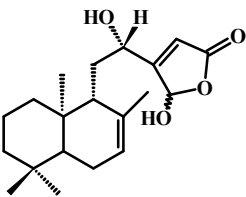
Actividad Cardiotónica			
Estructura	Planta de Origen	Método ó Mecanismo de Acción	Referencia Bibliográfica
 <p>R = H R = Ac</p>	<p><i>Melodinus monogynus</i> Roxb</p>	<p>Pruebas en corazones de ranas y conejos</p>	<p>Sethi <i>et al.</i>, 1988</p>

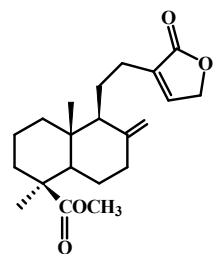
Actividad Antihipertensiva			
Estructura	Planta de Origen	Método ó Mecanismo de Acción	Referencia Bibliográfica
	<p><i>Marrubium vulgare</i> L</p>	<p>Pruebas en ratas con hipertensión espontánea</p>	<p>El Bardai <i>et al.</i>, 2003</p>
	<p><i>Marrubium vulgare</i> L</p>	<p>Pruebas en ratas con hipertensión espontánea</p>	<p>El Bardai <i>et al.</i>, 2003</p>

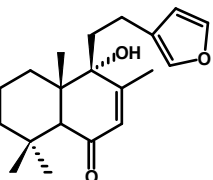
Actividad Hipotensora			
Estructura	Planta de Origen	Método ó Mecanismo de Acción	Referencia Bibliográfica
 <p>Forskolina</p>	<i>Coleus forskohlii</i> Briq.	En uso comercial	Lindner <i>et al.</i> , 1978

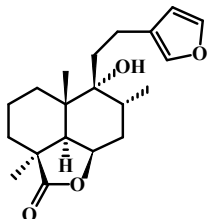
Actividad Antihipercolesterolémica			
Estructura	Planta de Origen	Método ó Mecanismo de Acción	Referencia Bibliográfica
	<i>Zingiber officinale</i> Roscoe	Inhibe la enzima HMG-CoA reductasa	Tanabe <i>et al.</i> , 1993

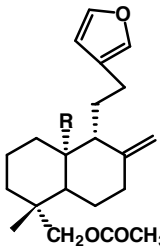
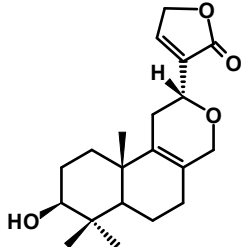
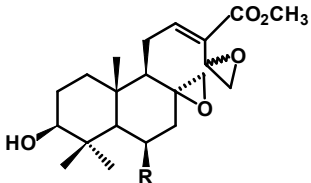
Actividad Inmunosupresora			
Estructura	Planta de Origen	Método ó Mecanismo de Acción	Referencia Bibliográfica
	<i>Sideritis foetens</i> Benth	Inhibe la proliferación de linfocitos	Navarro <i>et al.</i> , 2000

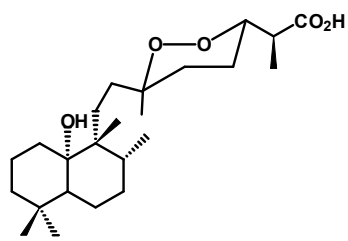
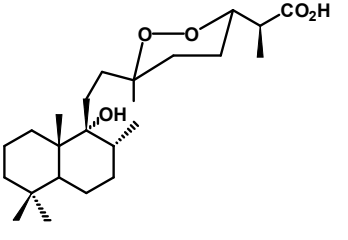
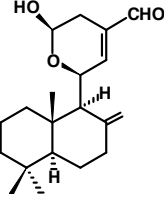
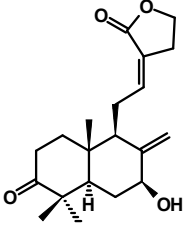
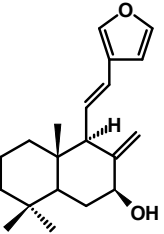
Actividad Inmunosupresora			
Estructura	Planta de Origen	Método ó Mecanismo de Acción	Referencia Bibliográfica
	<p><i>Alomia myriadenia</i> Baker</p>	<p>Inhibe completamente la proliferación de células mononucleares de la sangre periférica humana (PBMC)</p>	<p>Souza-Fagundes <i>et al.</i>, 2002</p>

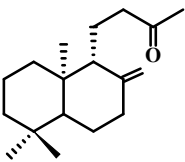
Actividad Inhibidora de la Agregación Plaquetaria			
Estructura	Planta de Origen	Método ó Mecanismo de Acción	Referencia Bibliográfica
	<p><i>Biota orientales</i> Endl.</p>	<p>Antagonista de los receptores de la 1-O-Alquil-2-O-Acetil-sn-Glicero-3-Fosfocolina PAF</p>	<p>Yang <i>et al.</i>, 1995; 1998</p>

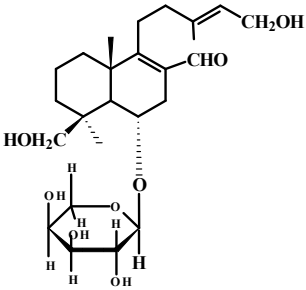
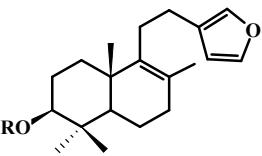
Actividad Inhibidora Gastro protectora			
Estructura	Planta de Origen	Método ó Mecanismo de Acción	Referencia Bibliográfica
	<p><i>Solidago chilensis</i> Cabrera</p>	<p>Pruebas efectuadas sobre úlceras gástricas inducidas en ratas</p>	<p>Rodríguez <i>et al.</i>, 2002</p>

Actividad Antinoceptiva			
Estructura	Planta de Origen	Método ó Mecanismo de Acción	Referencia Bibliográfica
	<i>Marrubium vulgare</i>	Ensayo de la Capsaicina	De Jesús <i>et al.</i> , 2000

Actividad Citotóxica y Antitumoral			
Estructura	Planta de Origen	Método ó Mecanismo de Acción	Referencia Bibliográfica
 <p>R= CHO, Potamogetonido R= CH₂OH, Potamogetonol</p>	<i>Potamogeton malaianus</i>	Citotoxicidad frente a células C6/36 (larvas del mosquito <i>Aedes albopictus</i>) y SF9 (células de ovario de <i>Spodoptera frugiperda</i>)	Kittakoop <i>et al.</i> , 2001
	<i>Afromomum aulacocarpos</i>	Ensayos efectuados en L1210 (leucemia linfocítica en ratones)	Ayafor <i>et al.</i> , 1994
 <p>R= OH Aulacocarpin B</p>	<i>Afromomum aulacocarpos</i>	Ensayos efectuados en L1210 (leucemia linfocítica en ratones)	Ayafor <i>et al.</i> , 1994

Actividad Citotóxica y Antitumoral (Continuación)			
Estructura	Planta de Origen	Método ó Mecanismo de Acción	Referencia Bibliográfica
	<i>Mycale</i> (Esponja marina)	Citotóxicidad contra A-549 (carcinoma humano de pulmón), HT-29 (adenocarcinoma de colon) y P-388 (leucemia linfocítica)	Tanaka <i>et al.</i> , 1993
	<i>Mycale</i> (Esponja marina)	Citotóxicidad contra A-549 (carcinoma humano de pulmón), HT-29 (adenocarcinoma de colon) y P-388 (leucemia linfocítica)	Tanaka <i>et al.</i> , 1993
	<i>Renealmia alpina</i> (Rottb)	Citotóxicidad contra células M-109 (carcinoma de pulmón)	Zhou <i>et al.</i> , 1997
	<i>Renealmia exaltata</i> L.f	Citotóxicidad contra células L-1210	Sekiguchi <i>et al.</i> , 2001
	<i>Hedychium coronarium</i> K.D Koeing	Inhibe el crecimiento de células V-79 (fibroblastos de pulmón de hámster chino) y el crecimiento de sarcoma 180 (sarcoma altamente maligno en ratones)	ItoKawa <i>et al.</i> , 1988

Actividad Anti-Algal			
Estructura	Planta de Origen	Método ó Mecanismo de Acción	Referencia Bibliográfica
	<i>Ruppia maritima</i> L.	actividad anti- algal contra <i>Selenastrum</i> <i>capricornutum</i>	DellaGreca <i>et al.</i> , 2000

Edulcorantes			
Estructura	Planta de Origen	Método ó Mecanismo de Acción	Referencia Bibliográfica
	<i>Baccharis gauchaudiana</i> D.C.	55 veces más dulce que una solución acuosa de sacarosa al 2 % p/v	Fullas <i>et al.</i> , 1991
 <p>R: Glc²-Rha R: Glc²-Xyl</p>	<i>Phlomis younghushandii</i> Mukerjee <i>Salvia digitaloides</i> Diles	-----	Katagiri <i>et al.</i> , 1994 Tanaka <i>et al.</i> , 1983b; 1985

Con base en lo anteriormente expuesto, se hace evidente que los diterpenos del labdano (tanto de la serie normal como la enantiomérica) son moléculas de una amplia diversidad en cuanto a su de funcionalización y sumamente interesantes en lo que a actividad biológica se refiere.

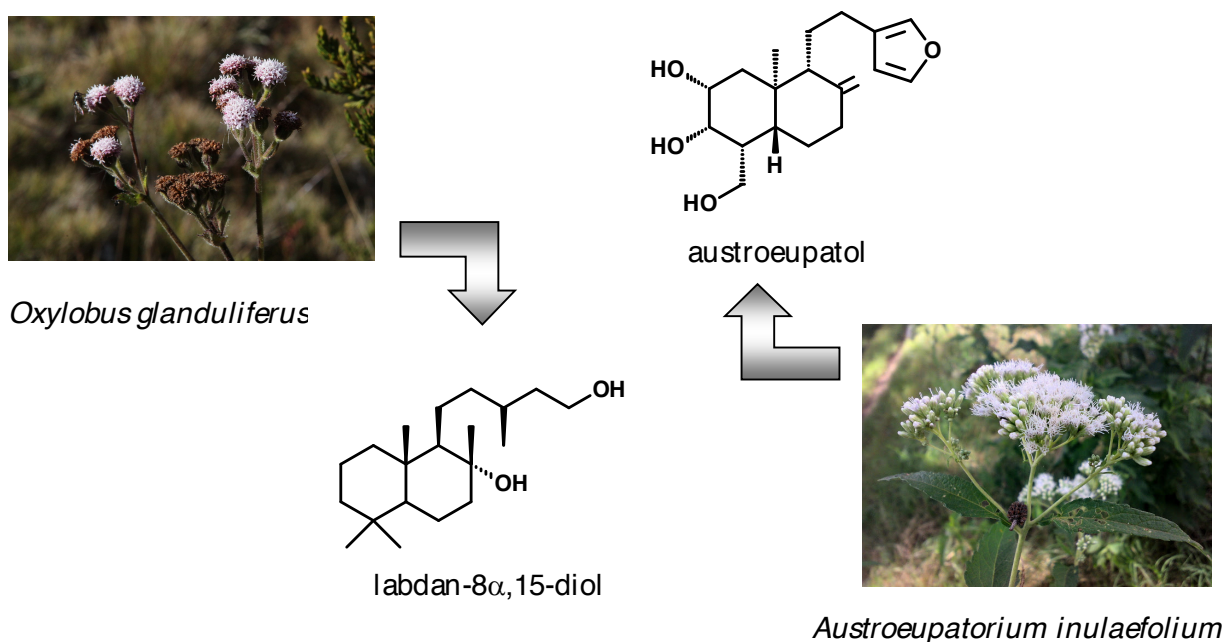


Figura 1

Numerosas plantas de las que componen la Flora Andina Venezolana biosintetizan diterpenos de la serie del labdano; pero nuestro interés se ha centrado en las especies *Oxylobus glanduliferus* A. Gray y *Austroepatorium inulaefolium* las cuales son fuente de labdan-8 α ,15-diol (Amaro & Adrián, 1982; Villalobos, 2008) y austroepatol (Triana *et al.*, 1995) respectivamente (Fig. 1). Ambas especies están incluidas en la tribu *Eupatoriae* (familia *Asteraceae*) y pertenecen a la vegetación de los páramos venezolanos. Por esta razón, en el presente capítulo se ha planteado como objetivo principal, aislar y caracterizar dos derivados del labdano: el labdan-8 α ,15-diol y austroepatol, con la finalidad de emplearlos como sustratos de partida para hacer hemisíntesis y obtener una batería de derivados con el propósito de efectuar ensayos de actividad biológica, fundamentalmente de tipo bactericida.

Así pues, sabiendo que el labdan-8 α ,15-diol **[1]** es uno de los metabolitos secundarios mayoritarios del *Oxylobus glanduliferus* A. Gray (Amaro & Adrián, 1982; Villalobos, 2008) y el austroepatol **[16]** es uno de los productos característicos del *Austroepatorium inulaefolium* (Triana *et al.*, 1995), se ha propuesto la siguiente hipótesis:

HIPÓTESIS:

Dado que se conoce que las especies *Oxylobus glanduliferus* A. Gray y *Austroeupatorium inulaefolium* biosintetizan respectivamente labdan-8 α ,15-diol y austroeupatul, debería ser posible, una vez que hayan sido aislados y caracterizados, obtener una batería de derivados semi-sintéticos a partir de estos compuestos, con la finalidad de realizar ensayos que permitan estimar su potencial biológico.

OBJETIVO GENERAL

Aislar e identificar el labdan-8 α ,15-diol y el austroeupatul presentes en las partes aéreas del *Oxylobus glanduliferus* A. Gray y *Austroeupatorium inulaefolium* respectivamente.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

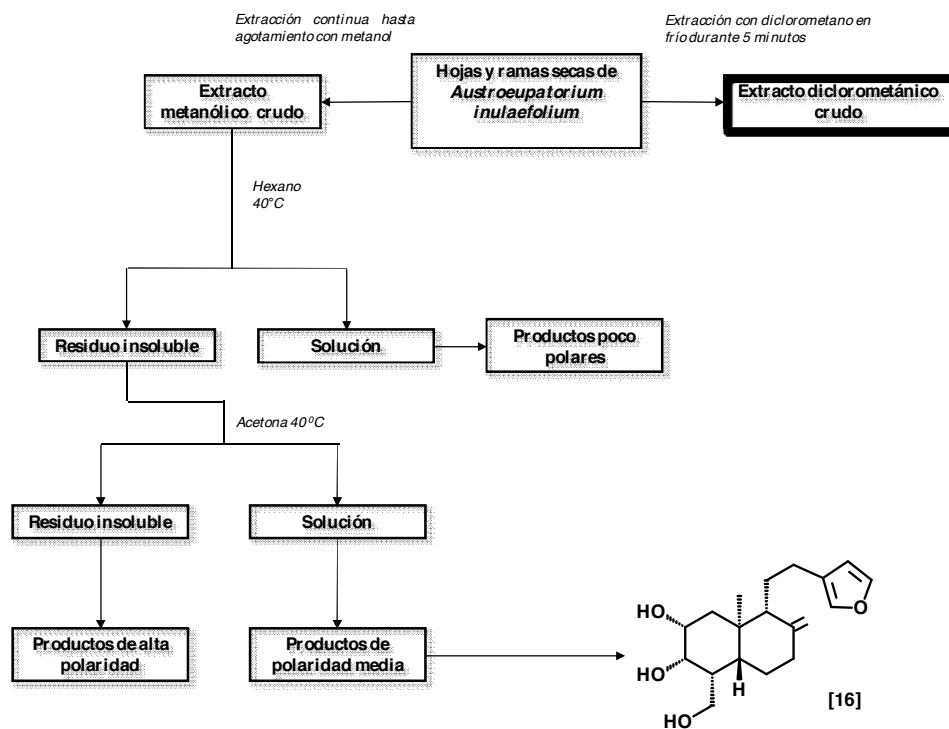
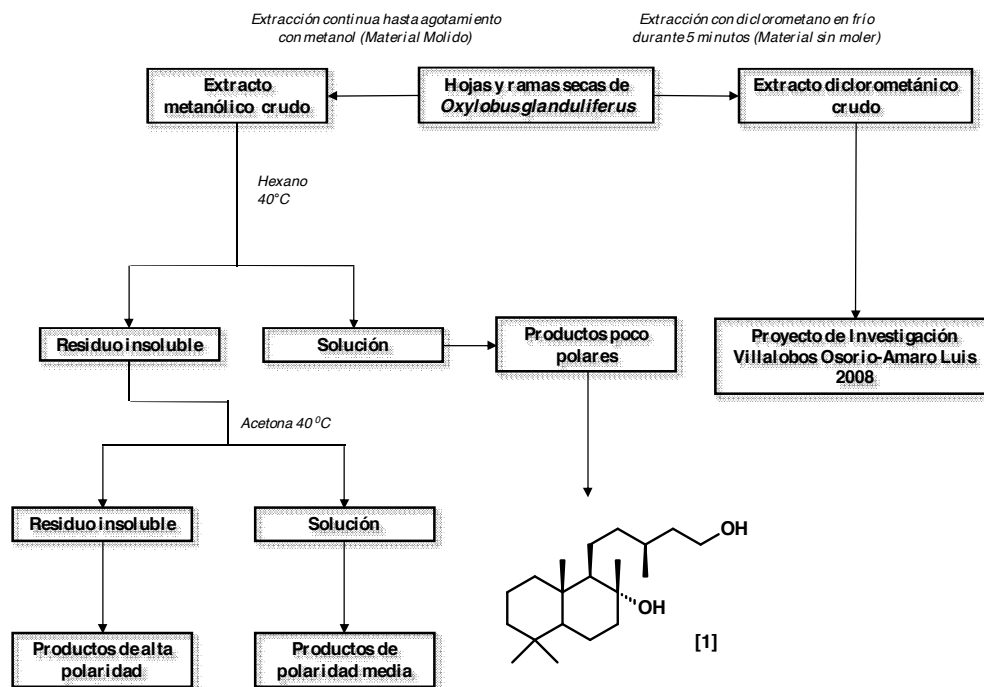
1. Realizar reacciones químicas (fundamentalmente reacciones de esterificación) sobre el labdan-8 α ,15-diol y el austroeupatul con la finalidad de obtener una batería de derivados de estos compuestos.
2. Determinar mediante técnicas espectroscópicas [IR, UV, EM y RMN (1D, 2D)] las estructuras de los compuestos obtenidos.
3. Realizar ensayos para evaluar la actividad antibacteriana de los derivados obtenidos, en cuatro (4) cepas bacterianas (dos Gram positivas y dos Gram negativas): *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

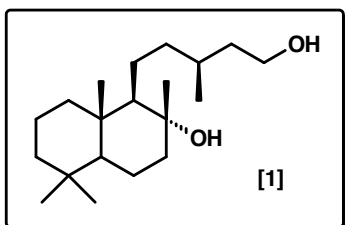
Las partes aéreas (sin moler) del *Oxylobus glanduliferus* (Sch.Bip.) Gray, una vez secas al aire, se sumergieron en diclorometano durante cinco minutos. Posteriormente, el material vegetal se secó bajo campana, se molió, y se extrajo con metanol caliente en forma continua en un sohxlet (Natori *et al.*, 1981). Las disoluciones obtenidas después de separar por filtración el material vegetal fueron concentradas en un rotavapor. El extracto en diclorometano fue preadsorbido en gel de sílice y posteriormente sometido a diferentes procesos de percolado, fraccionamiento y purificación (Esquema I), utilizando técnicas cromatográfica (Coll & Bowden, 1986; Henke, 1995; Mikes, 1979; Simpson, 1976; Sjövall *et al.*, 1968; Snyder & Kirkland, 1974; Ståhl, 1969).

Un procedimiento análogo al descrito anteriormente fue aplicado a las partes aéreas del *Austroeupatorium inulaefolium*.

Esquema I: Procedimiento Empleado en la Separación y Purificación del Labdan-8 α ,15-diol [1] y el Austroepatol [16]



Labdan-8 α ,15-diol [1]

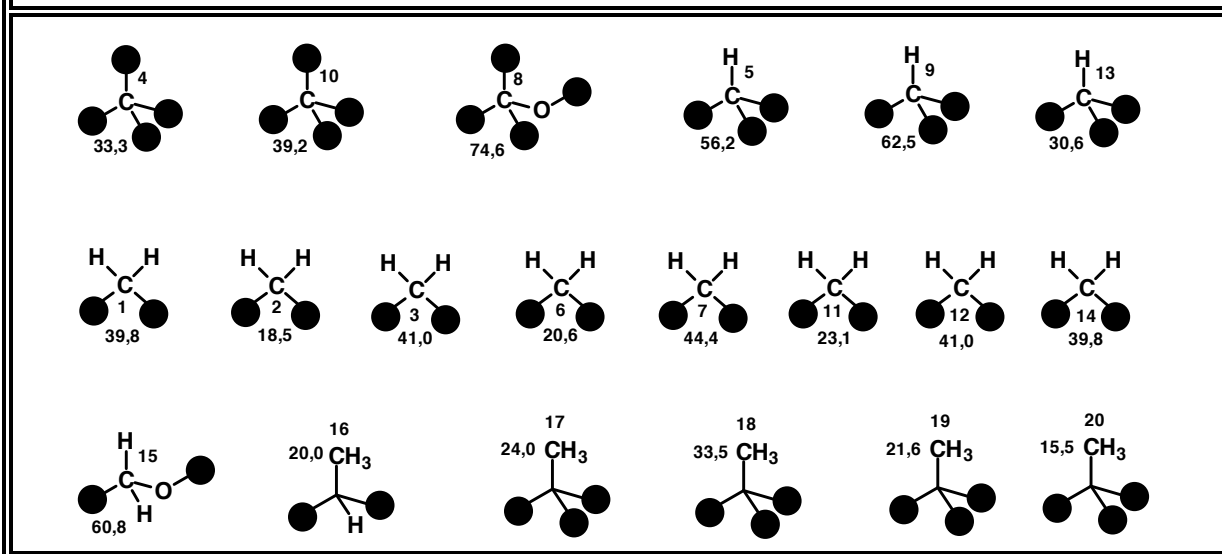


Del extracto diclorometánico descerado, fue aislado mediante cristalización con hexano un sólido blanco, el cual fue lavado y recristalizado repetidas veces hasta obtener agujas blancas, homogéneas en TLC; P. F. = 81-83 °C, $[\alpha]_D$: -38,5°. Su espectro IR (Fig. 1A; Tabla 1A), presenta bandas típicas de alcoholes [ν_{\max} : 3.360 cm^{-1} (O-H) y ν_{\max} : 1.062 cm^{-1} (C-O)], y también absorciones propias de enlaces C-H alifáticos [ν_{\max} : 2.926 y ν_{\max} : 2.869 cm^{-1} (tensión C-H) y ν_{\max} : 1.386 y 1.364 cm^{-1} (deformación C-H)].

La presencia en su espectro de masas (Fig. 1H; Tabla 1H) de un ion molecular a m/z : 310, y los datos derivados de sus espectros de RMN- ^1H (Fig. 1B-1; Tablas 1B-1) y de RMN- ^{13}C (Fig. 1C; Tabla 1C), en relación al número y tipo de hidrógenos y carbonos presentes en la molécula (Cuadro I), permitieron establecer la fórmula molecular $\text{C}_{20}\text{H}_{38}\text{O}_2$. Dicha fórmula molecular corresponde a un compuesto con dos insaturaciones, el cual necesariamente tiene que ser bicíclico, puesto que los datos de IR y de RMN- ^{13}C indican la carencia de dobles enlaces y de carbonilos.

En el cuadro I se representa el número total de metilos, metilenos, metinos y carbonos cuaternarios que corresponden a las veinte (20) señales que se observan entre 15 y 75 ppm en los espectros RMN- ^{13}C y DEPT 135 (Fig. 1C, Tabla 1C).

Cuadro I: Carbonos que conforman la estructura del Labdan-8 α , 15-diol [1]



(*) Los oxígenos de los hidroxilos ya fueron contabilizados al denotar la composición elemental de los grupos -CH₂-O- y -C-O-.

Figura 1A: Espectro Infrarrojo (KBr), del Labdan-8 α ,15-diol [1]

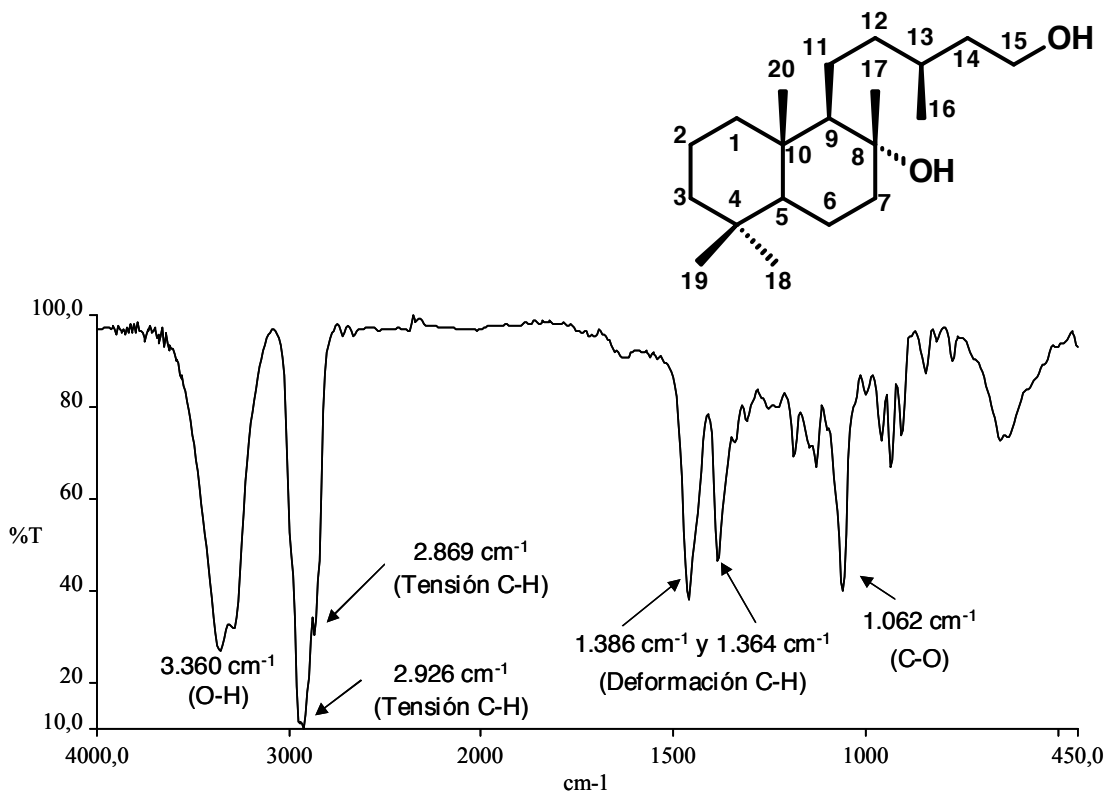


Tabla 1A: Bandas de Absorción Significativas en el Espectro IR (KBr), del Labdan-8 α ,15-diol [1]

$\nu_{\text{máx.}} \text{ (cm}^{-1}\text{)}$	3.360	2.926 y 2.869	1.386 y 1.364	1.062
Asignación	O-H	C-H	C-H	C-O

Los datos anteriores permiten establecer como hipótesis de trabajo, que el compuesto en estudio es posiblemente un diterpeno de las series del labdano o halimano, dado que, el número de metilos, metilenos, metinos y carbonos cuaternarios concuerdan sólo para esqueletos de este tipo (Dev & Misra, 1986); la posibilidad de otros esqueletos bicíclicos, tales como clerodano ó portulano queda excluida porque sus estructuras exigen tres metilos secundarios.

Figura 1B: Espectro de RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃), del Labdan-8 α ,15-diol [1]

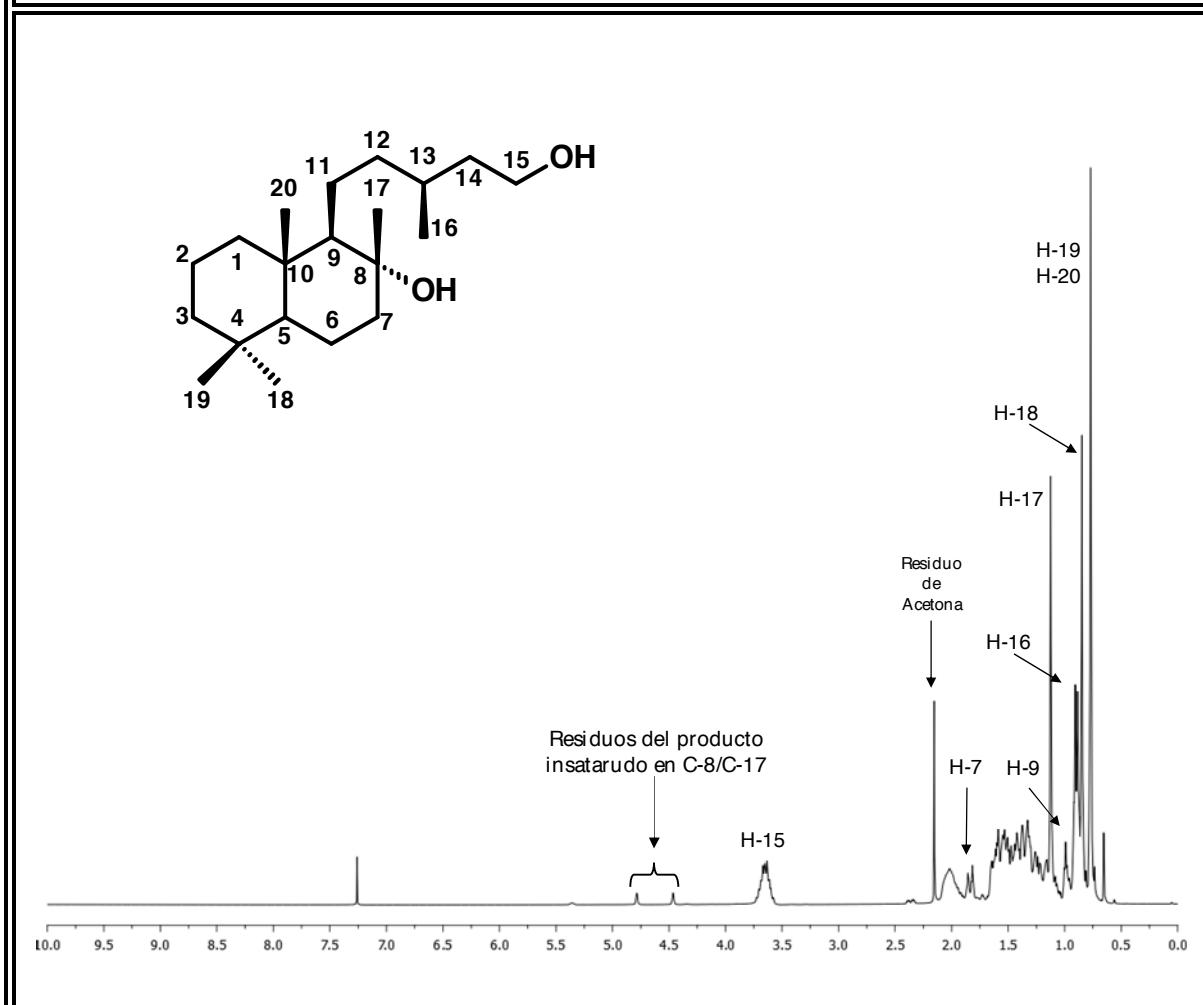


Tabla 1B: Desplazamientos Químicos (δ) en el Espectro de RMN-¹H (CDCl₃, 300 MHz), del Labdan-8 α ,15-diol [1]

H	H-7	H-9	H-15	H-16	H-17	H-18	H-19	H-20
δ (ppm)	1,84 y 1,36	0,99	3,65	0,89	1,12	0,85	0,78	0,77
M	<i>dt</i>	<i>t</i>	<i>m</i>	<i>d</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>s</i>
<i>J</i> (Hz)	12,0 y 3,1	3,1	-	6,3	-	-	-	-

Figura 1C: Espectro de RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃), del Labdan-8 α ,15-diol [1]

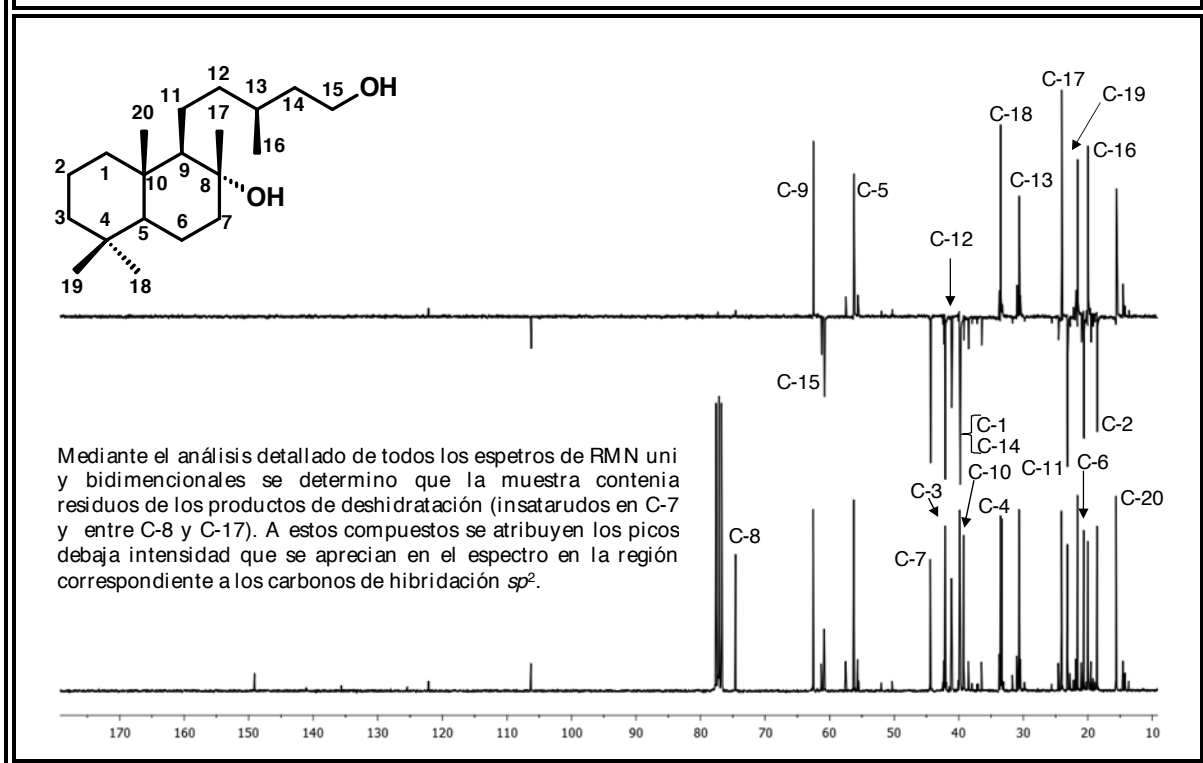
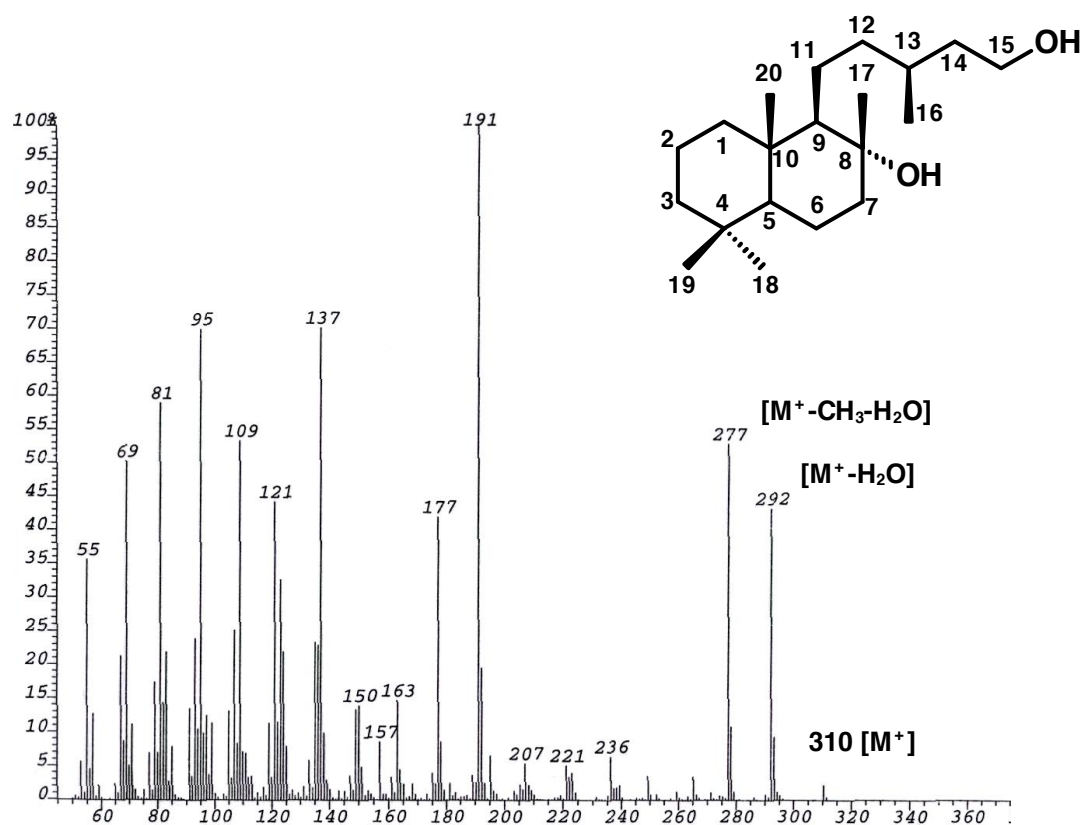


Tabla 1C: Desplazamientos Químicos (δ) en el Espectro de RMN-¹³C (CDCl₃, 75 MHz), del Labdan-8 α ,15-diol [1]

C	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	C-7
δ (ppm)	39,8	18,5	42,1	33,3	56,2	20,6	44,4
Tipo	>CH ₂	>CH ₂	>CH ₂	>C<	>CH	>CH ₂	>CH ₂
C	C-8	C-9	C-10	C-11	C-12	C-13	C-14
δ (ppm)	74,6	62,5	39,2	23,1	41,1	30,6	39,8
Tipo	>C-O-	>CH	>C<	>CH ₂	>CH ₂	>CH	>CH ₂
C	C-15	C-16	C-17	C-18	C-19	C-20	Valores de δ , relativos al TMS como referencia interna
δ (ppm)	60,8	20,0	24,0	33,5	21,6	15,5	
Tipo	>CH ₂ -O-	-CH ₃	-CH ₃	-CH ₃	-CH ₃	-CH ₃	

**Figura 1H: Espectro de Masas (Impacto Electrónico, 70 eV),
del Labdan-8 α ,15-diol [1]**

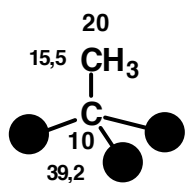
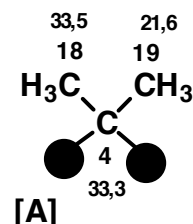


**Tabla 1H: Fragmentos (m/z) más Notables en el
Espectro de Masas del Labdan-8 α ,15-diol [1]**

m/z	310	292	277	236	221	207	191
Abund. Relat.	2,21	43,11	52,74	6,36	5,03	5,43	100
m/z	177	163	157	150	137	121	109
Abund. Relat.	41,90	14,67	8,58	13,92	70,09	44,15	53,29
m/z	95	81	79	71	69	67	55
Abund. Relat.	69,94	58,92	17,38	11,10	50,24	21,33	35,55

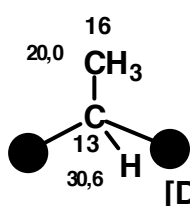
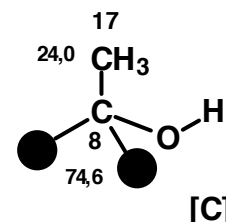
Los espectros HMQC (Fig. 1E) y HMBC (Fig. 1F) permitieron correlacionar cada uno de los picos del espectro de RMN-¹³C con las señales de los respectivos hidrógenos, unidos a uno, dos y tres enlaces. El análisis seguido para la elucidación estructural del labdan-8 α ,15-diol **[1]** se abordó estableciendo las siguientes subunidades estructurales:

En el espectro HMBC (Fig. 1F) se pueden observar los cruces de sendos singuletes metílicos [δ_H : 0,85 (-CH₃, H-18); δ_C : 33,5 (-CH₃, C-18) y δ_H : 0,78 (-CH₃, H-19*); δ_C : 21,6 (-CH₃, C-19)] con un carbono cuaternario [δ_C : 33,3 (>C<, C-4)] indica que hay un fragmento *gem*-dimetilo (subunidad estructural **[A]**) en la estructura de la molécula (Cuadro I).



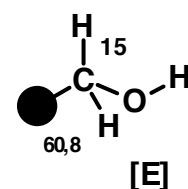
El cruce entre un sigulete que resuena a 0,78 ppm [δ_H : 0,78 (-CH₃, H-20*); δ_C : 15,5 (-CH₃, C-20)] y un carbono cuaternario [δ_C : 39,2 (>C<, C-10)] (espectro HMBC; Fig. 1F) señala la presencia del metilo ubicado sobre uno de los carbonos correspondientes a la fusión *trans*-decalínica (metilo angular) del diterpeno (subunidad estructural **[B]**, Cuadro I).

En el espectro RMN-¹³C (Fig. 1C) se detecta pico cuyo desplazamiento en BB corresponde a un carbono oxigenado [δ_C : 74,6 (>C<, C-8)] y su ausencia de señal en DEPT-135 indica que se trata de un alcohol terciario. En el espectro HMBC (Fig. 1F) se observa una señal que correlaciona este carbono (C-8) con un sigulete metílico [δ_H : 1,12 (-CH₃, H-17); δ_C : 24,0 (-CH₃, C-17)] lo cual permite fijar la subunidad estructural **[C]** (Cuadro I).



En el espectro RMN-¹H (Fig. 1B) se observa un doblete desplazado a 0,89 ppm correspondiente a un metilo secundario [δ_H : 0,85, d, $J \approx 6,3$ Hz, (CH₃, H-16); δ_C : 20,0 (-CH₃, C-16)]. Para justificar la multiplicidad de esta señal, el metilo obligatoriamente debe estar ubicado sobre un carbono metínico. Efectivamente, en el espectro HMBC (Fig. 1F) existe un contorno que se origina por la correlación entre el metilo secundario y un metino [δ_H : 1,5, *m* (>CH, H-13); δ_C : 30,6 (>CH, C-13)]. Así pues, queda establecida la subunidad estructural **[D]** (Cuadro I).

En el DEPT 135 en fase inversa (Fig. 1C, Tabla 1C) se observa un pico desplazado a 60,8 ppm correspondiente a un carbono oximetilénico [δ_C : 60,8 CH₂OH, (C-15)]. Esta señal presenta un cruce en el espectro HMQC (Fig. 1E) con un multiplete que resuena a 3,65 ppm [δ_H : 3,65, *m* (CH₂OH, H-15)] (subunidad estructural **[E]**).



(*) Los protones de los metilos H-19 y H-20 se superponen en el espectro RMN-¹H (Fig. 1B). Por esta razón, sus señales se observan como un singulete intenso cuya integral corresponde a seis (6) protones.

La complejidad del desdoblamiento de los protones metilénicos representados en la subunidad estructural **[E]** indican que el alcohol primario debe estar unidos a un metileno que forma parte de una cadena cuya movilidad en el espacio se encuentra restringida.

Una vez establecidas las subunidades estructurales que se presentadas anteriormente, pueden ser interconectadas de la siguiente forma:

Las subunidades **[A]**, **[B]** y **[C]** están interconectadas por medio de sendos metinos tal y como se ilustra en la fig. 1F-1. Esto se corrobora mediante los cruces $H-18 \leftrightarrow C-5 \leftrightarrow H-19 / H-20 \leftrightarrow C-5 / H-5 \leftrightarrow C-20 \leftrightarrow H-9 / H-20 \leftrightarrow C-9 \leftrightarrow H-17$ (espectro HMBC, Fig. 1F).

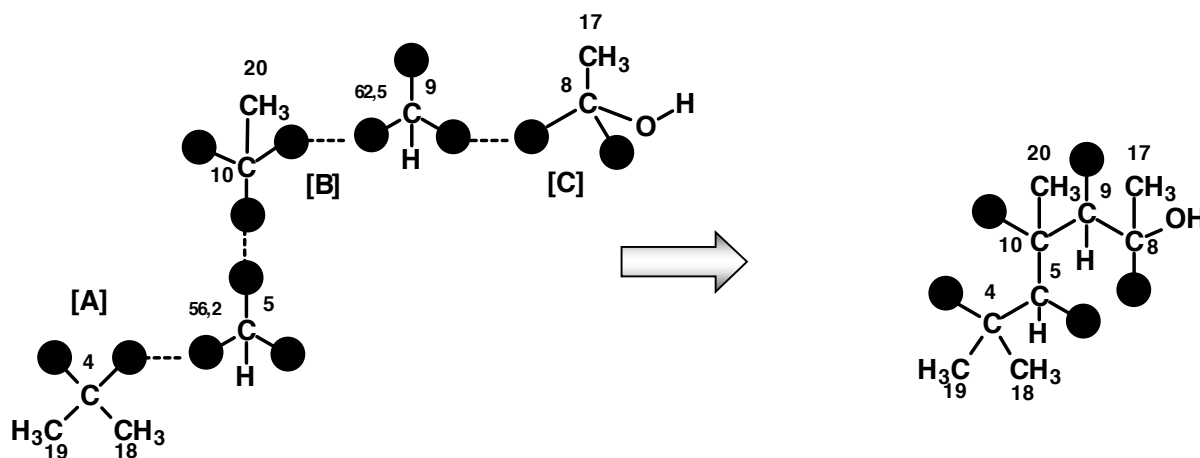


Figura 1F-1

Las subunidades **[E]** y **[D]** están unidas a través de un carbono metilénico según se indica en la fig. 1F-2. Esto queda establecido por las señales $C-14 \leftrightarrow H-15 \leftrightarrow C-13$ (espectro HMBC, Fig. 1F).

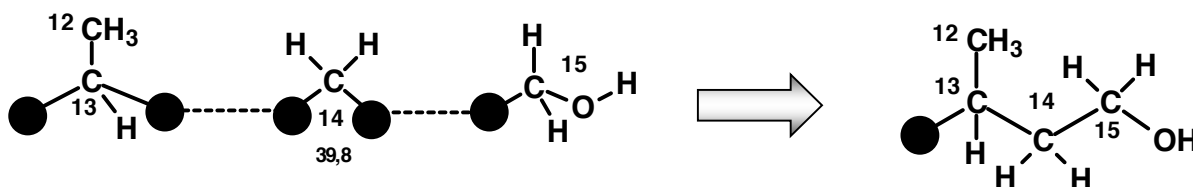


Figura 1F-2

Finalmente, al conectar las subunidades estructurales representadas en las figuras 1F-1 y 1F-2 por medio de los metilenos restantes (C-1, C-2, C-3, C-6, C-7, C-11 y C-12) se completa el sistema decalínico pentasustituido correspondiente a la estructura gruesa de la figura 1F-3. Estas conexiones se sustentan mediante los cruces $H-18 \leftrightarrow C-3 \leftrightarrow H-19 / H-20 \leftrightarrow C-1 / H-9 \leftrightarrow C-11 / H-16 \leftrightarrow C-12$ observados en el espectro HMBC (Fig. 1F).

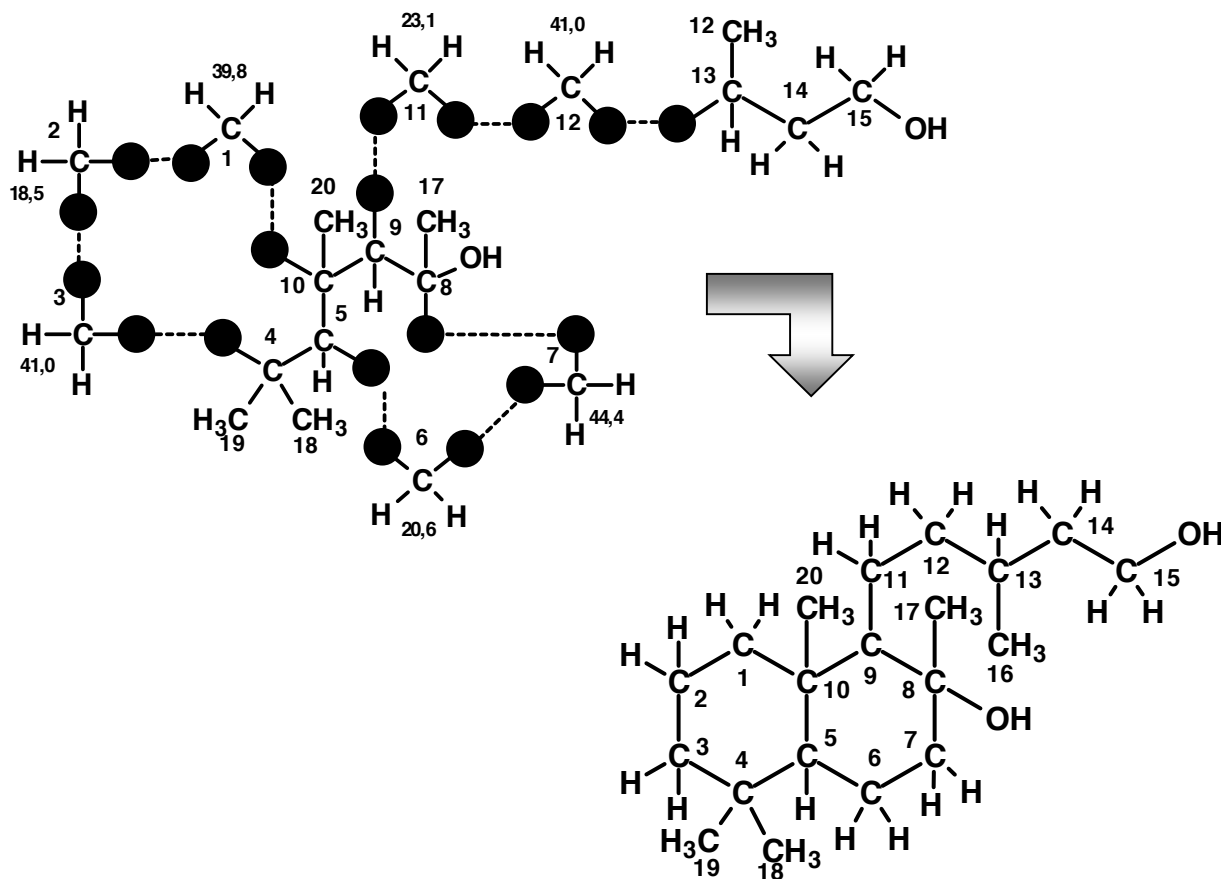


Figura 1F-3

La comparación de los datos espectroscópicos de RMN- ^1H y RMN- ^{13}C con los reportados en la literatura permitió identificar el compuesto aislado como el **labdan-8 α ,15-diol**.

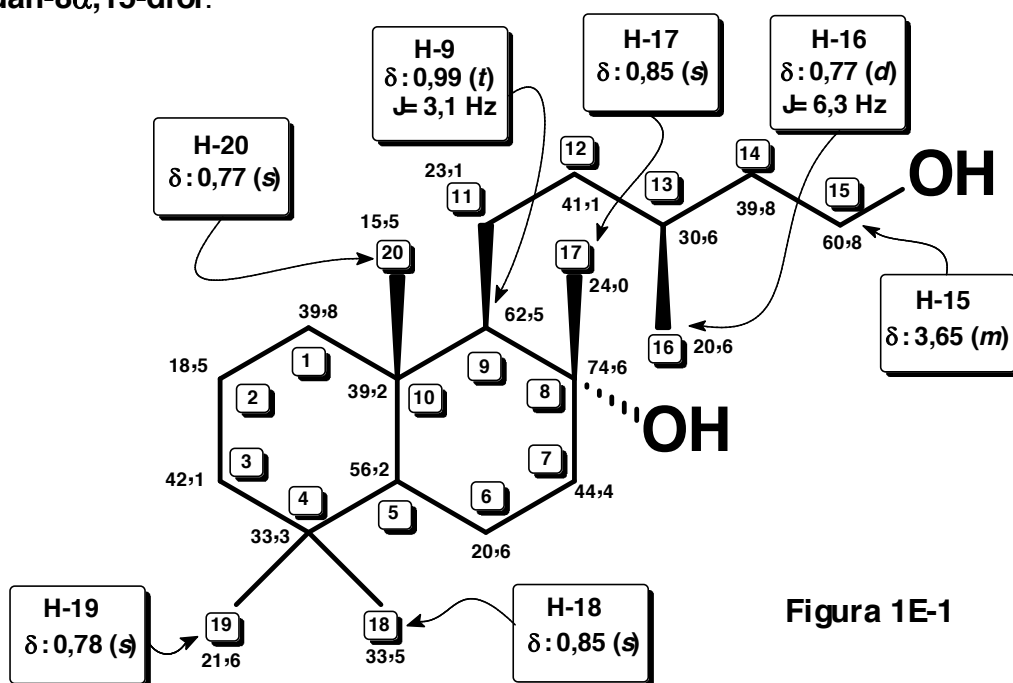


Figura 1E-1

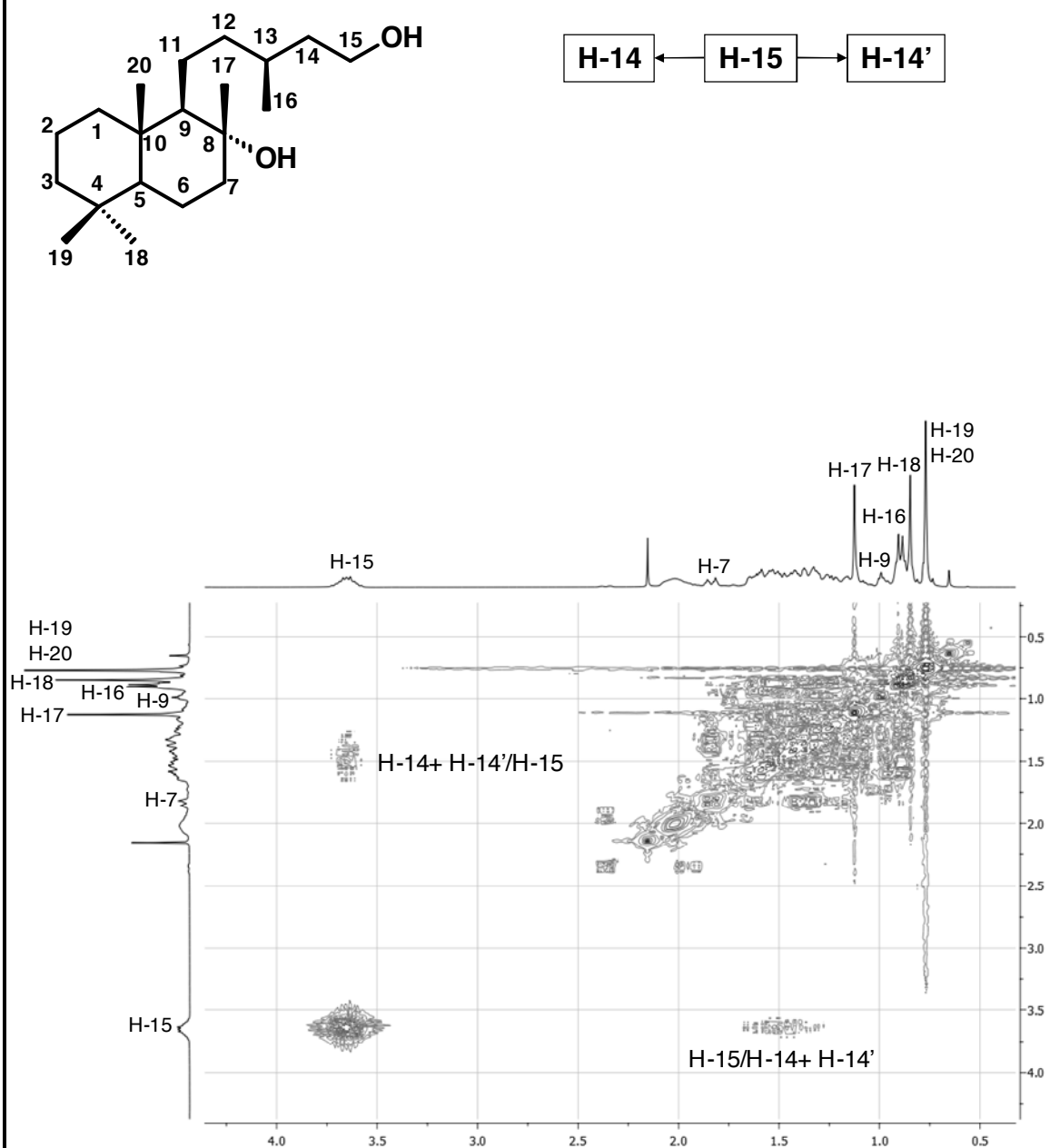
Figura 1D: Espectro $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY (CDCl_3) del Labdan- $8\alpha, 15$ -diol [1]

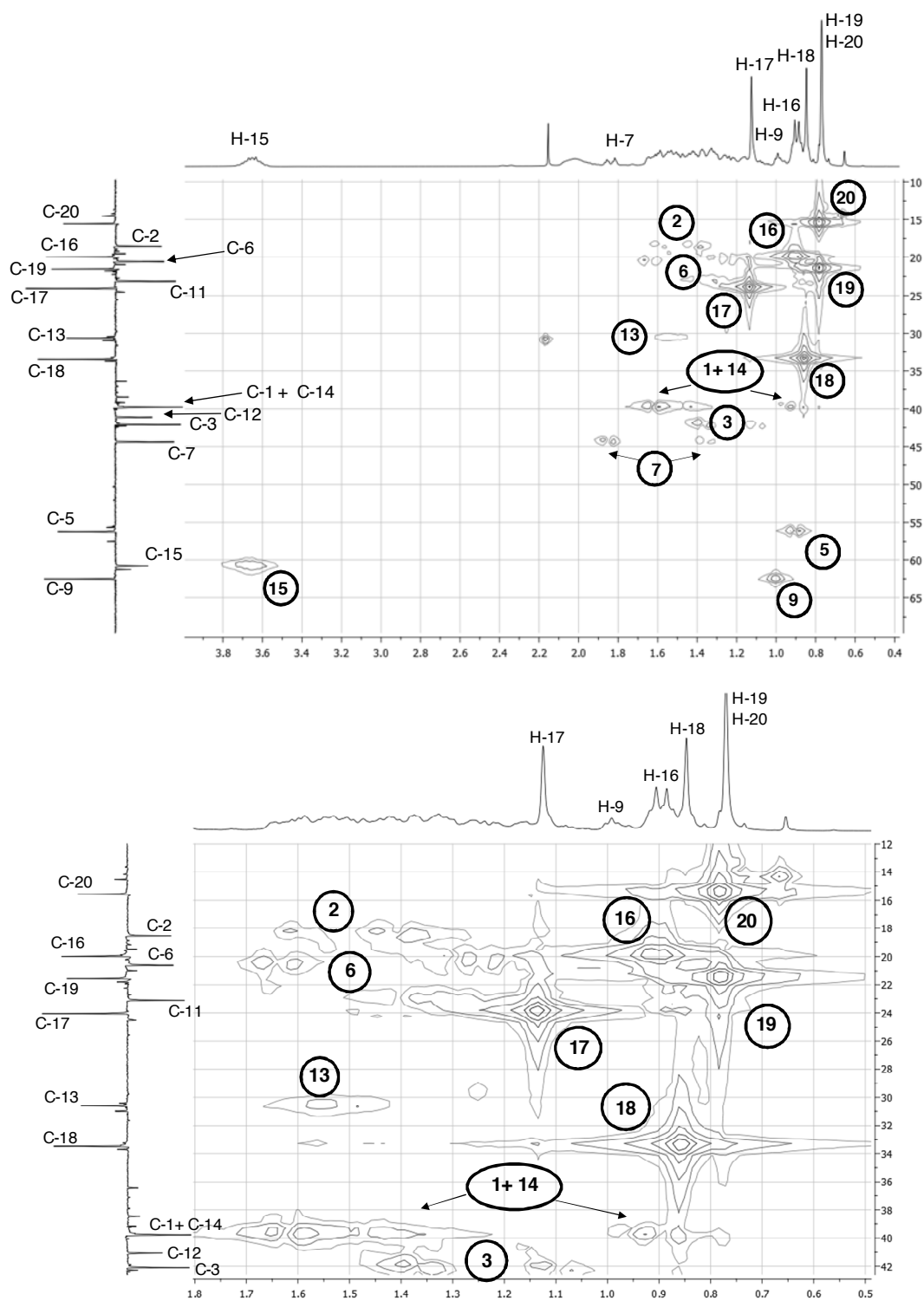
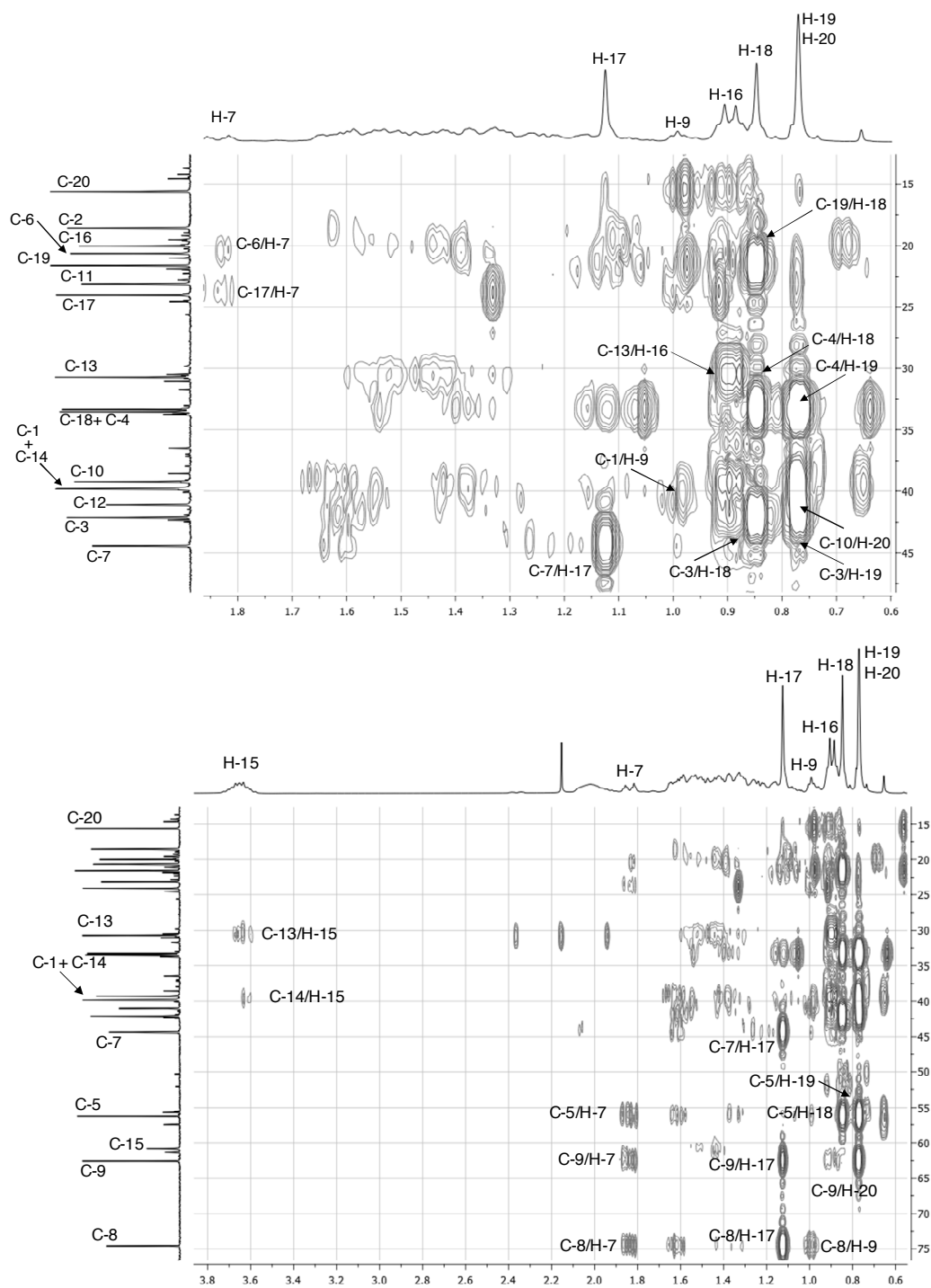
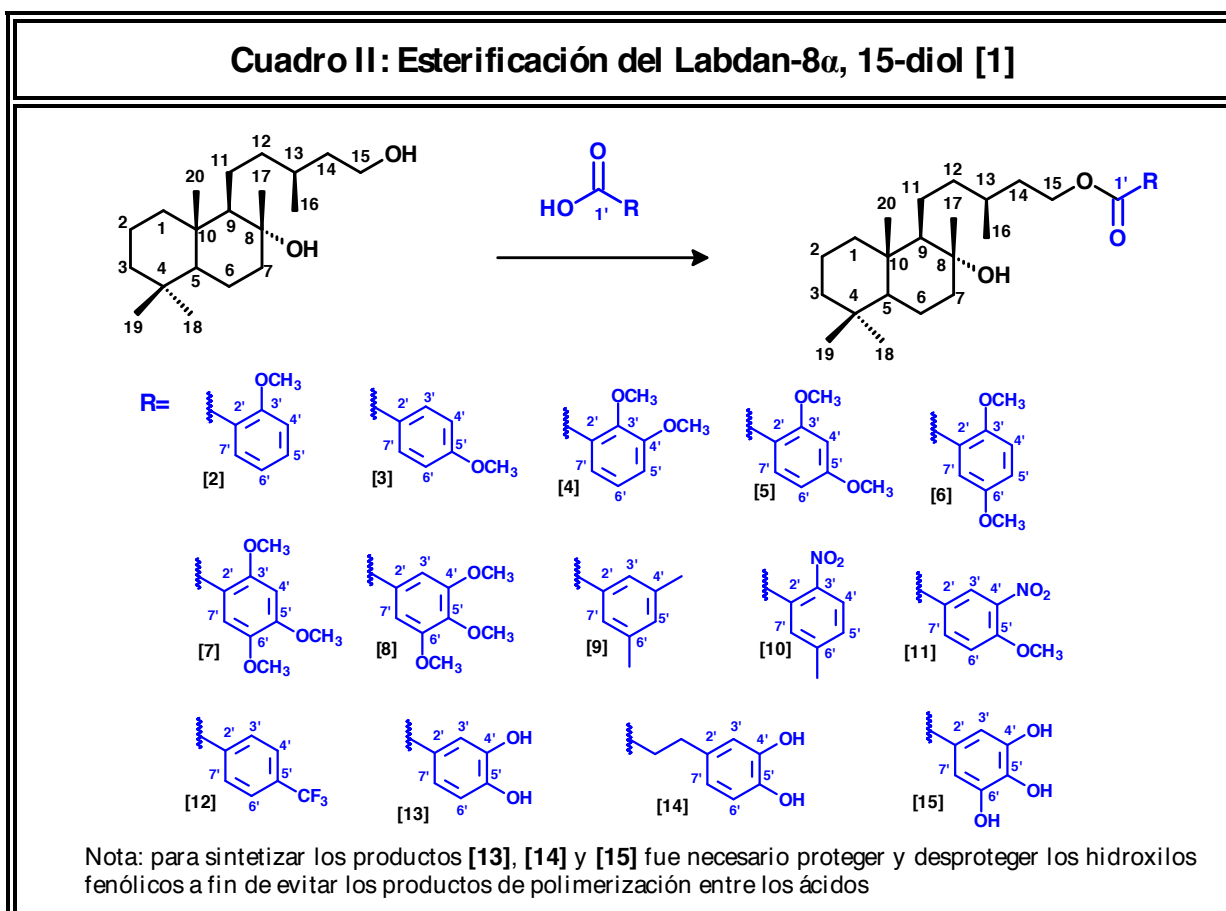
Figura 1E: Espectro HMQC (CDCl₃) del Labdan-8 α ,15-diol [1]

Figura 1F: Espectro HMBC (CDCl₃) del Labdan-8 α ,15-diol [1]

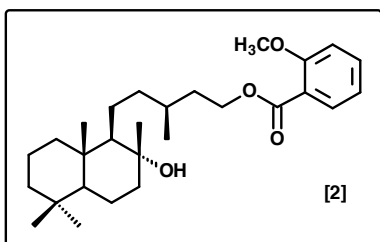
Ésteres del labdan-8 α ,15-diol [1]

El diol [1] fue esterificado empleando diversos ácidos aromáticos. En los espectros de RMN uni - y bidimensionales de los derivados obtenidos, las señales del núcleo diterpénico, no presentan prácticamente ninguna modificación (con excepción del oximetileno C-15, cuyas señales se desapattallan notablemente). Por esta razón, se hará especial énfasis en las regiones aromáticas de los espectros RMN- ^1H y RMN- ^{13}C de los ésteres obtenidos con la finalidad de centrar la atención en el fragmento ácido que se ha acoplado al diol [1]. También se denotaron en los espectros HMBC, los cruces entre H-15 (los protones oximetilénicos del diol [1]) y el carbono carbonílico (C-1') de los ésteres formados, debido a que esta correlación constituye una evidencia importante para constatar la formación del producto deseado.

El cuadro II presenta la reacción general seguida para la formación de todos los derivados obtenidos por medio del acoplamiento entre el labdan-8 α ,15-diol [1] y los compuestos aromáticos. Es oportuno destacar que el grupo hidroxilo ubicado en C-8 (correspondiente al alcohol terciario) nunca llegó a esterificarse.



2-metoxibenzoato de 8-hidroxi-15-labdaniolo [2]



Después de tratar el diol [1] bajo las condiciones de reacción descritas en el procedimiento general A, en presencia de ácido 2-metoxibenzoico, se obtuvo mediante purificación por columna flash un compuesto oleoso transparente, que se reveló como una mancha homogénea sobre la TLC. A continuación se presentan los espectros RMN-¹H, RMN-¹³C y HMBC del éster aromático [2]. En los espectros se observan claramente las señales de anillo aromático 1,2 disustituido.

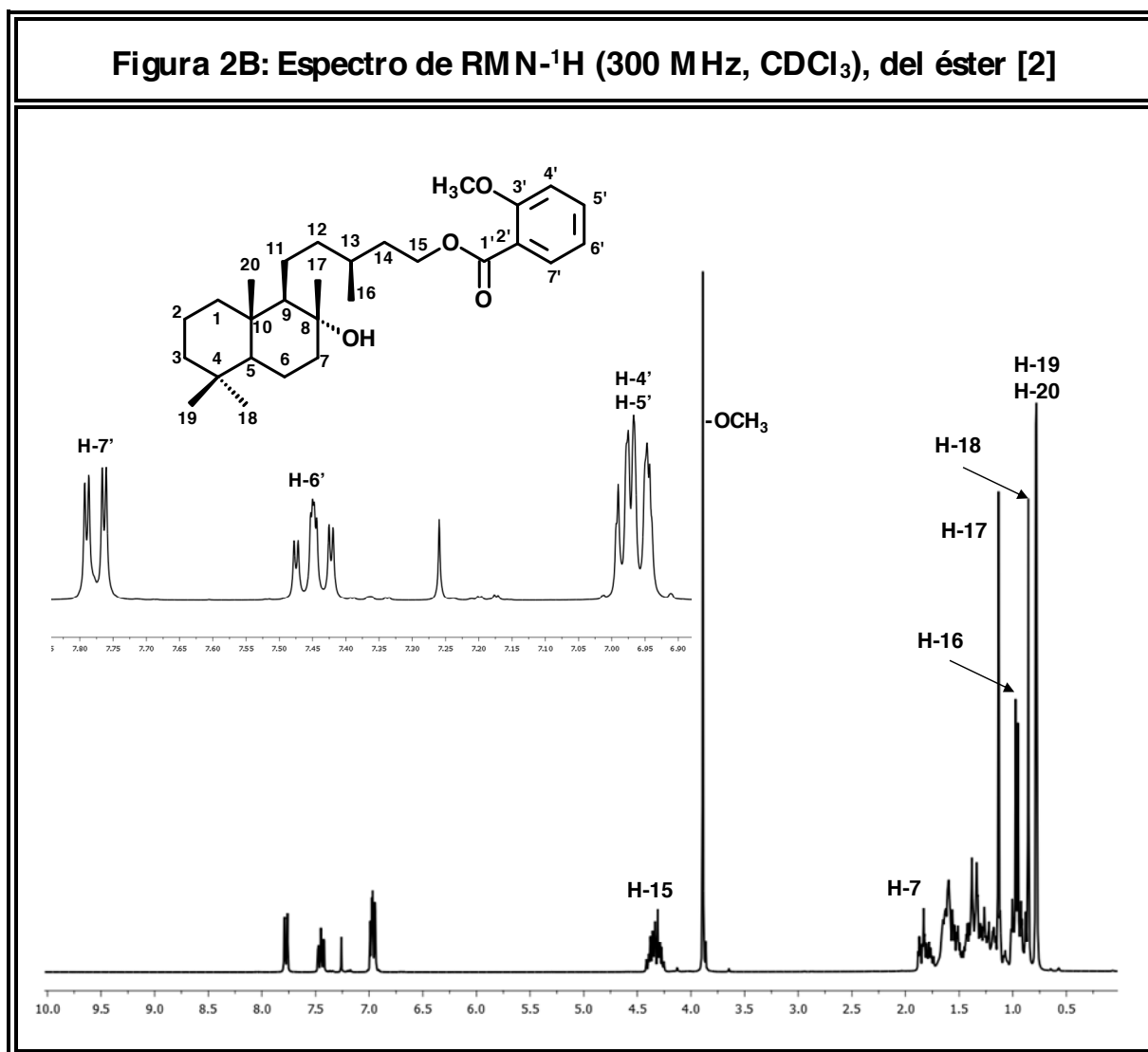


Figura 2C: Espectro de RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃), del éster [2]

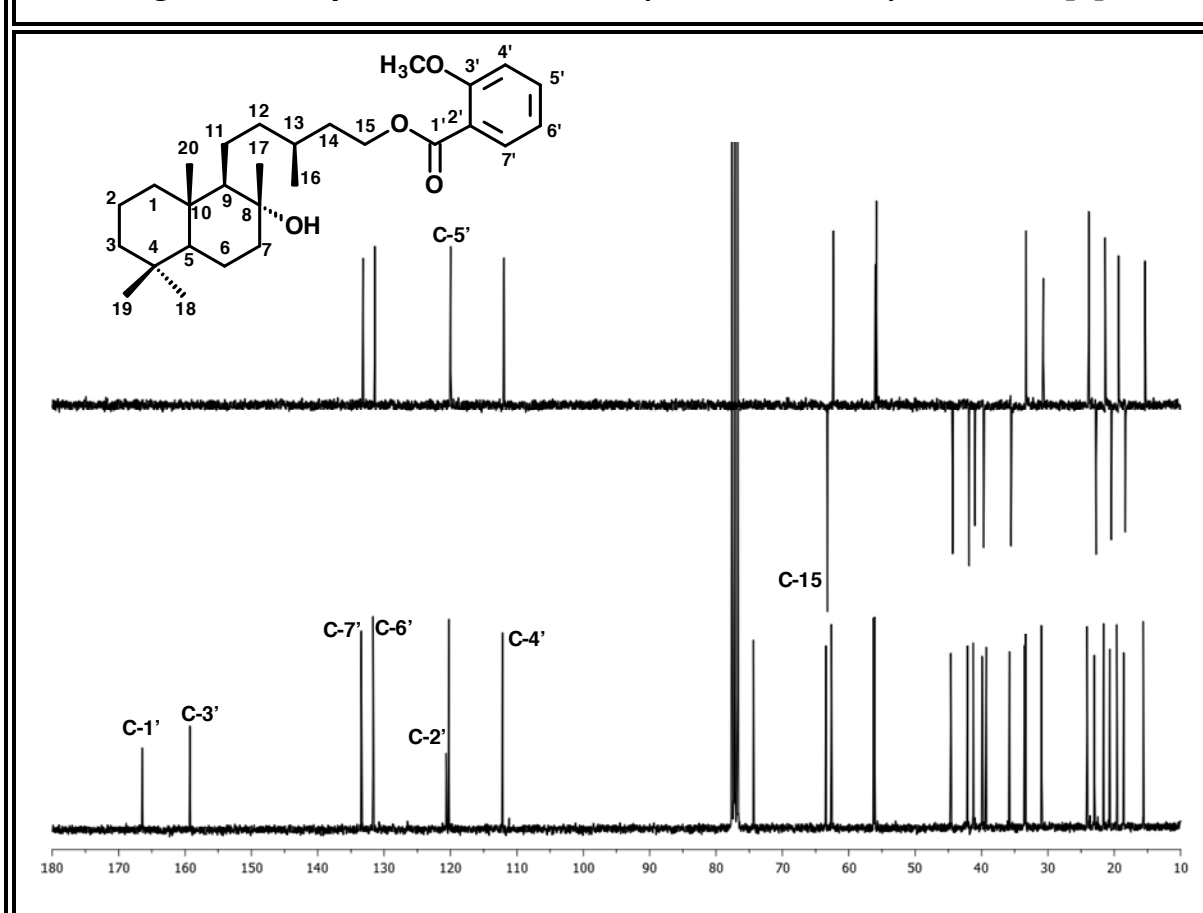
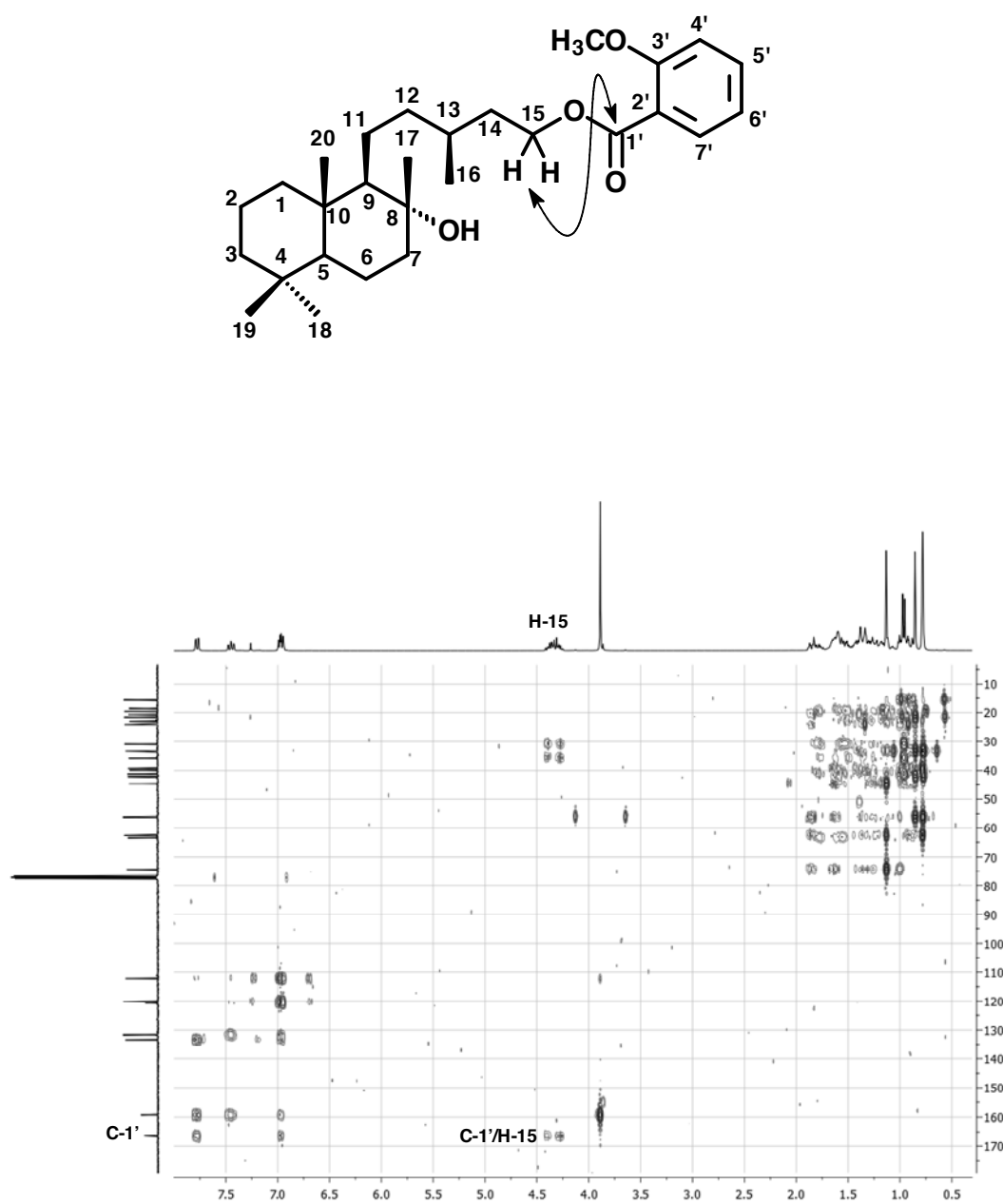
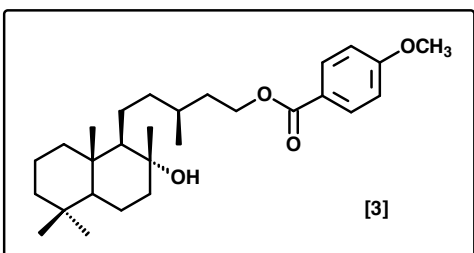


Tabla 2B/C: Desplazamientos Químicos (δ) en los Espectros de RMN-¹H y RMN-¹³C (CDCl₃, 300 y 75 MHz), del fragmento que corresponde al 2-metoxibenzoato del éster [2]

H	H-4'	H-5'	H-6'	H-7'	-OCH ₃		
δ (ppm)	6,98	6,98	7,45	7,77	3,89		
M	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>dd</i>	<i>s</i>		
J(Hz)	-	-	-	7,9 y 1,8	-		
C	C-1'	C-2'	C-3'	C-4'	C-5'	C-6'	C-7'
δ (ppm)	166,4	120,8	159,3	112,2	120,0	131,6	133,5
Tipo	-O-C=O	=C<	=C-O-	=CH	=CH	=CH	=CH

Figura 2F: Espectro HMBC (CDCl₃) del éster [2]

4-metoxibenzoato de 8-hidroxi-15-labdaniolo [3]



Después de tratar el diol [1] bajo las condiciones de reacción descritas en el procedimiento general A, en presencia de ácido 4-metoxibenzoico, se obtuvo mediante purificación por columna flash un compuesto oleoso transparente, que se reveló como una mancha homogénea sobre la TLC. A continuación se presentan los espectros RMN-¹H, RMN-¹³C y HMBC del éster aromático [3]. En los espectros se observan claramente las señales de anillo aromático 1,4 disustituido.

Figura 3B: Espectro de RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃), del éster [3]

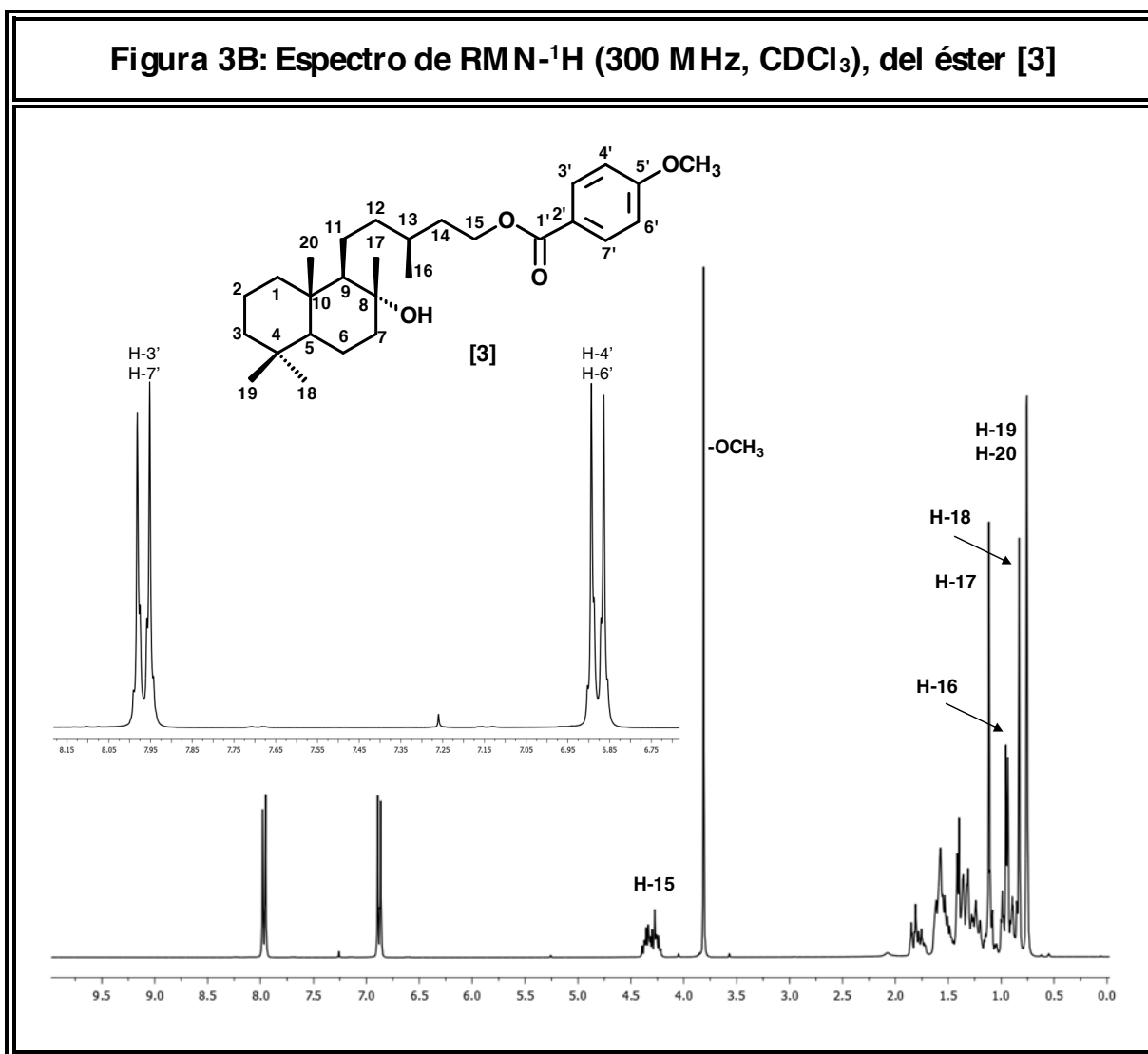


Figura 3C: Espectro de RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃), del éster [3]

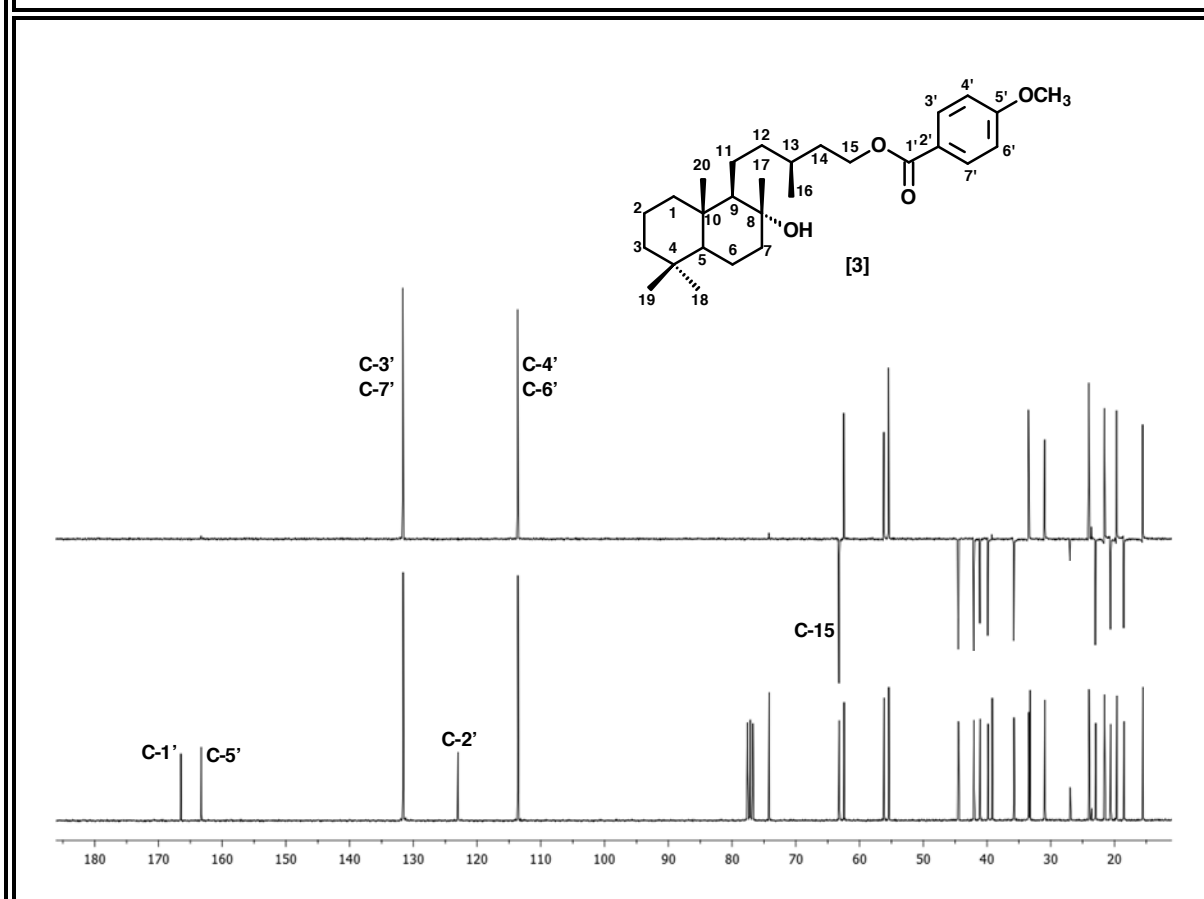
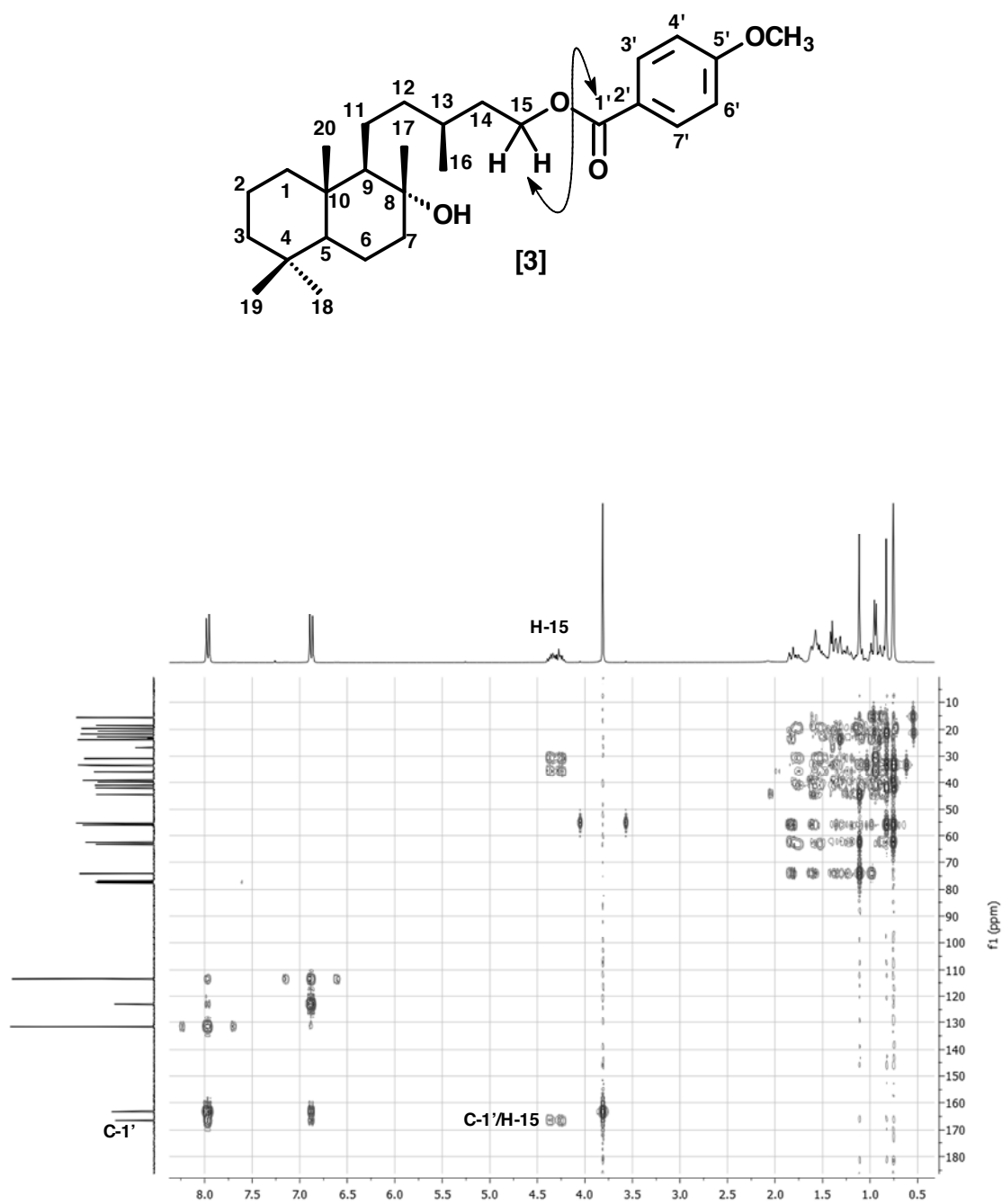
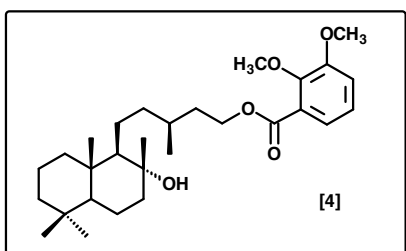


Tabla 3B/C: Desplazamientos Químicos (δ) en los Espectros de RMN-¹H y RMN-¹³C (CDCl₃, 300 y 75 MHz), del fragmento que corresponde al 4-metoxibenzoato del éster [3]

H	H-3' y H-7'		H-4' y H-6'		-OCH ₃	
δ (ppm)	7,97		6,88		3,81	
M	<i>d</i>		<i>d</i>		<i>s</i>	
J(Hz)	8,9		8,9		-	
C	C-1'	C-2'	C-3' y C-7'	C-4' y C-6'	C-5'	-OCH ₃
δ (ppm)	166,4	122,9	131,6	113,6	163,2	55,4
Tipo	-O-C=O	=C<	=CH	=CH	=C-O	-OCH ₃

Figura 3F: Espectro HMBC (CDCl₃) del éster [3]

2,3-dimetoxibenzoato de 8-hidroxi-15-labdaniolo [4]



Después de tratar el diol [1] bajo las condiciones de reacción descritas en el procedimiento general A, en presencia de ácido 2,3-dimetoxibenzoico, se obtuvo mediante purificación por columna flash un compuesto oleoso transparente, que se reveló como una mancha homogénea sobre la TLC. A continuación se presentan los espectros RMN-¹H, RMN-¹³C y HMBC del éster aromático [4]. En los espectros se observan claramente las señales de anillo aromático 1,2,3 trisustituido.

del éster aromático [4]. En los espectros se observan claramente las señales de anillo aromático 1,2,3 trisustituido.

Figura 4B: Espectro de RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃), del éster [4]

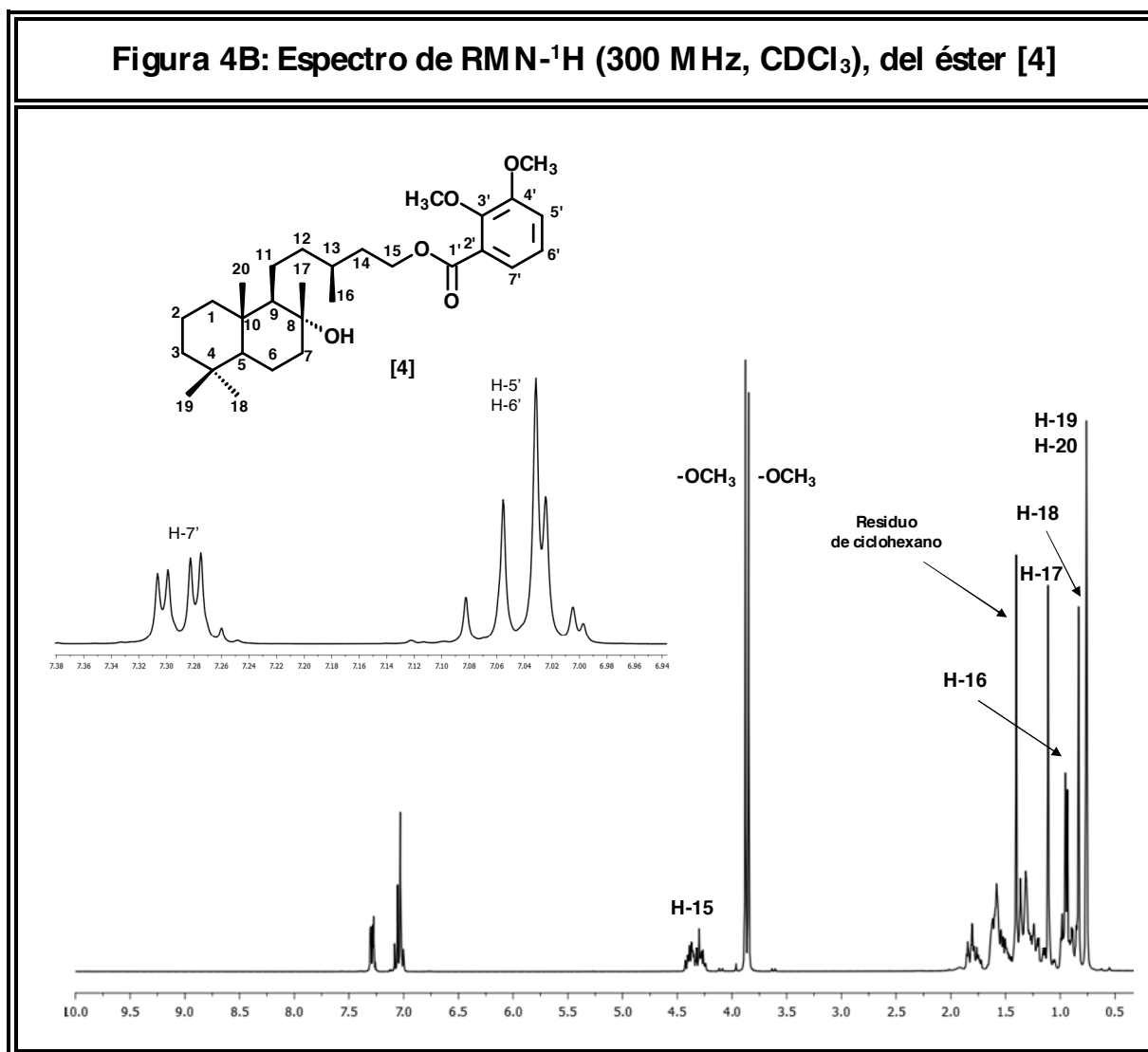


Figura 4C: Espectro de RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃), del éster [4]

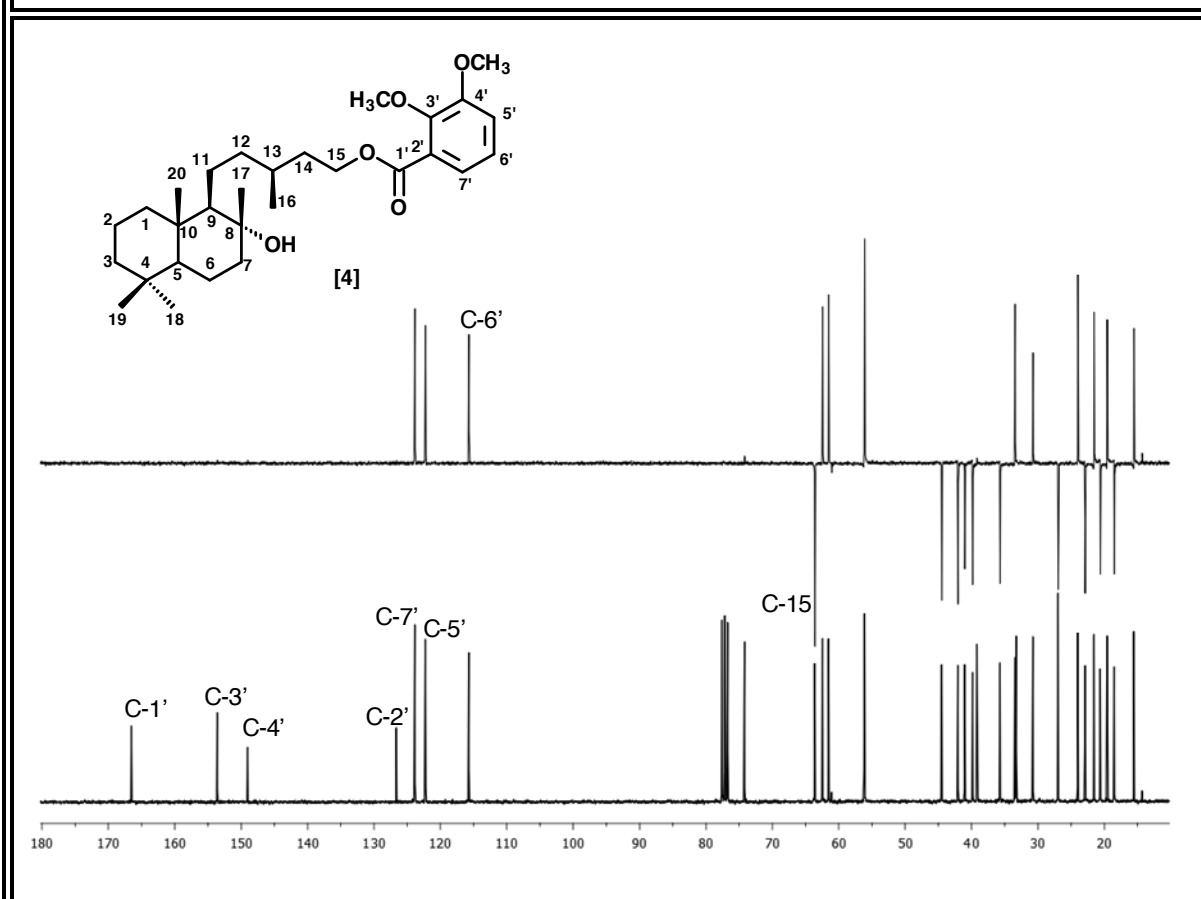
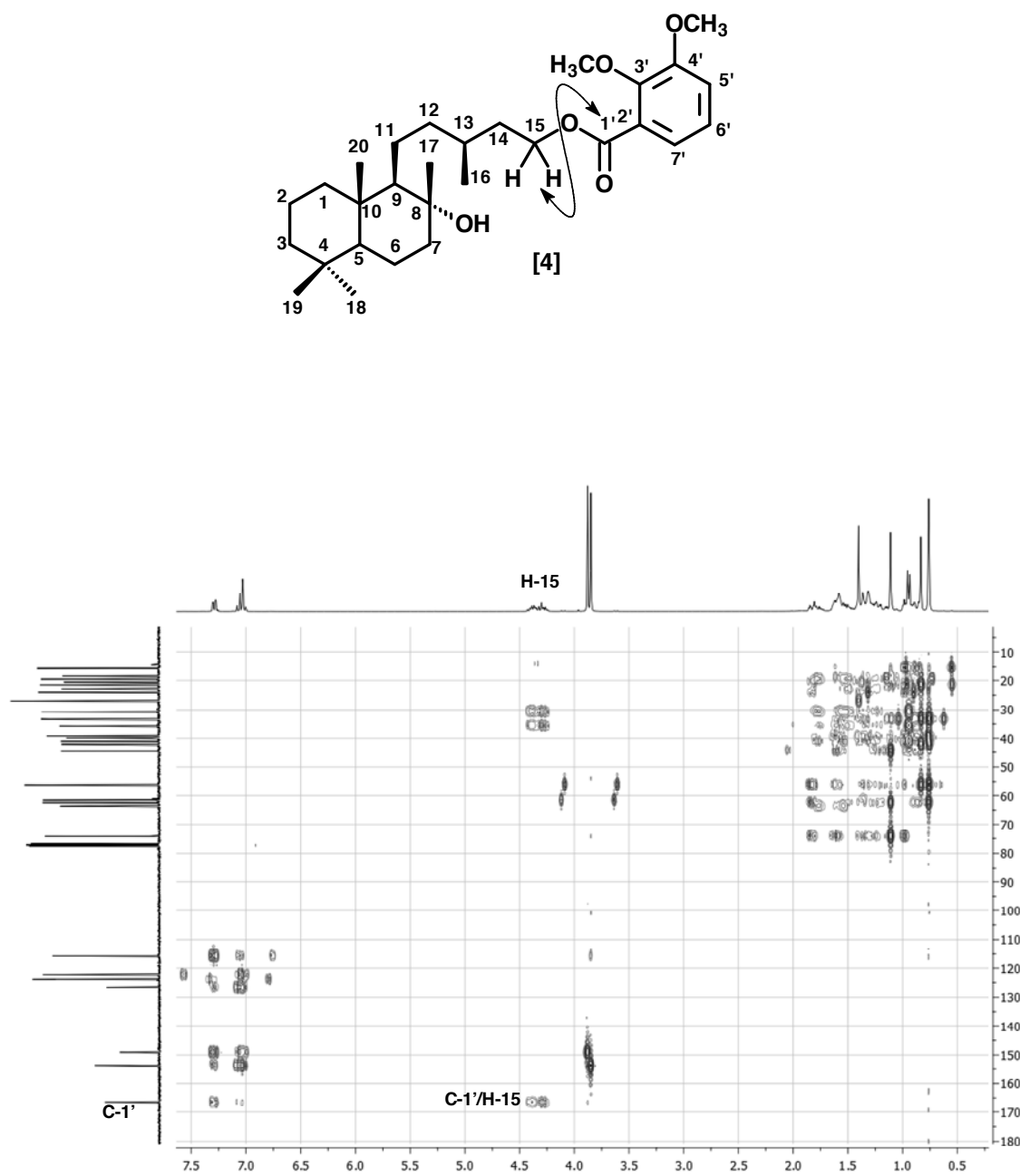
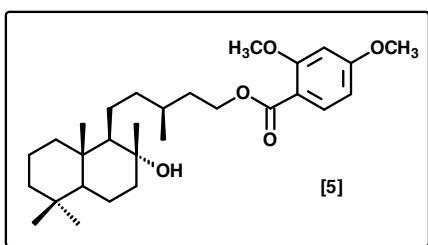


Tabla 4B/C: Desplazamientos Químicos (δ) en los Espectros de RMN-¹H y RMN-¹³C (CDCl₃, 300 y 75 MHz), del fragmento que corresponde al 2,3-dimetoxibenzoato del éster [4]

H	H-5'	H-6'	H-7'	-OCH ₃ (C-3')	-OCH ₃ (C-4')		
δ (ppm)	7,09-6,99	7,09-6,99	7,29	3,85	3,88		
M	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>dd</i>	<i>s</i>	<i>s</i>		
J(Hz)	-	-	7,2 y 2,3	-	-		
C	C-1'	C-2'	C-3'	C-4'	C-5'	C-6'	C-7'
δ (ppm)	166,4	126,4	153,5	148,9	122,3	115,7	123,7
Tipo	-O-C=O	=C<	=C-O	=C-O	=CH	=CH	=CH

Figura 4F: Espectro HMBC (CDCl₃) del éster [4]

2,4-dimetoxibenzoato de 8-hidroxi-15-labdanilo [5]



Después de tratar el diol [1] bajo las condiciones de reacción descritas en el procedimiento general B, en presencia de ácido 2,4-dimetoxibenzoico, se obtuvo mediante purificación por columna flash un compuesto oleoso transparente, que se reveló como una mancha homogénea sobre la TLC. A continuación se presentan los espectros RMN- ^1H , RMN- ^{13}C y HMBC del éster aromático [5]. En los espectros se observan claramente las señales de anillo aromático 1,2,4 trisustituido.

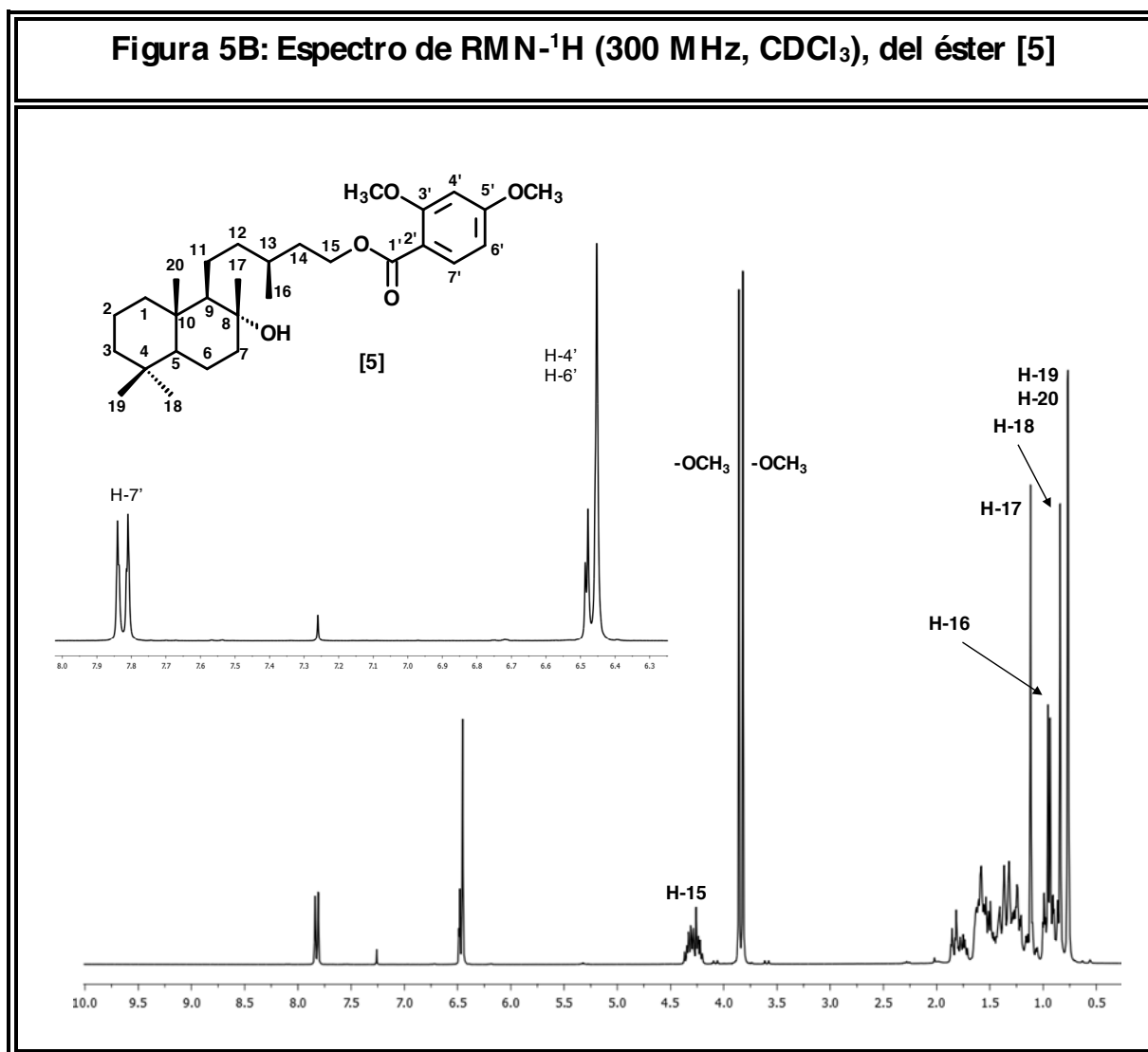


Figura 5C: Espectro de RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃), del éster [5]

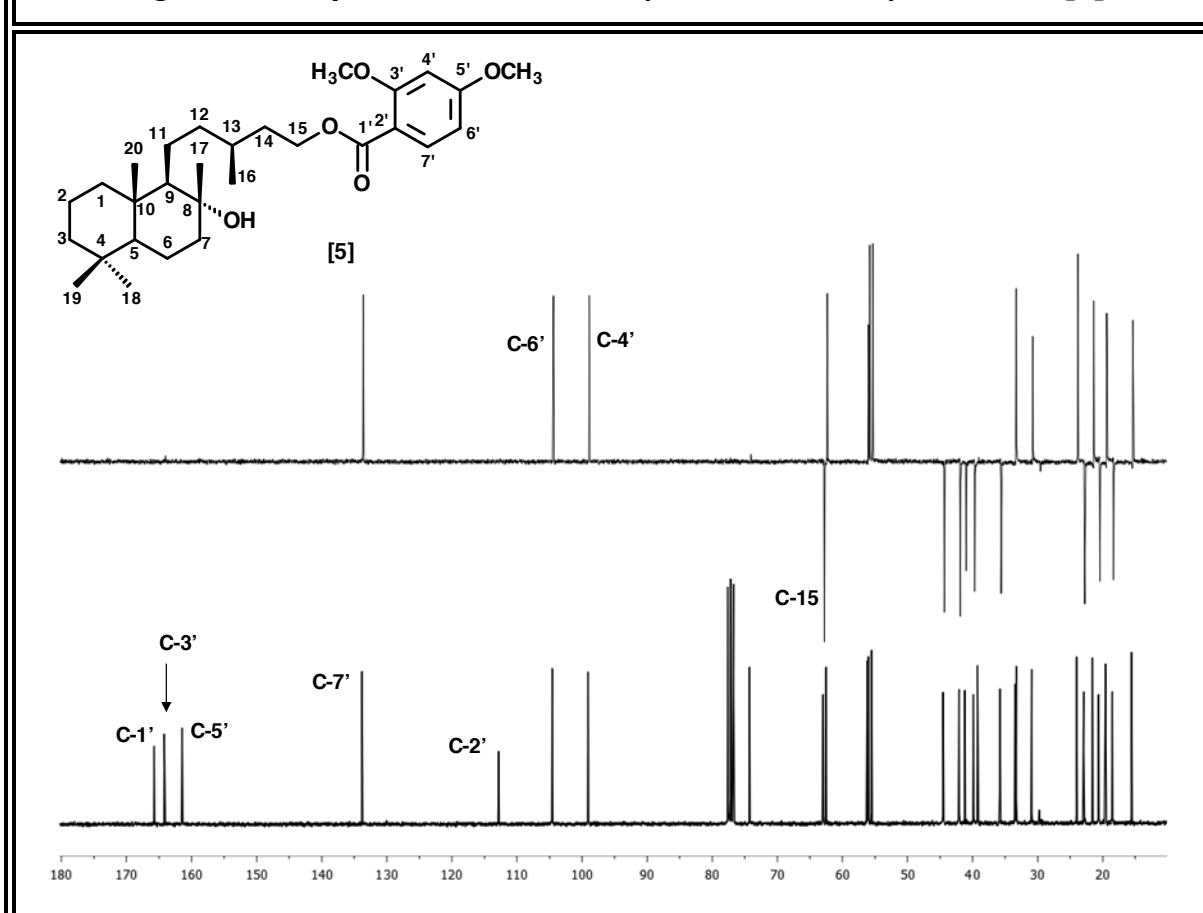
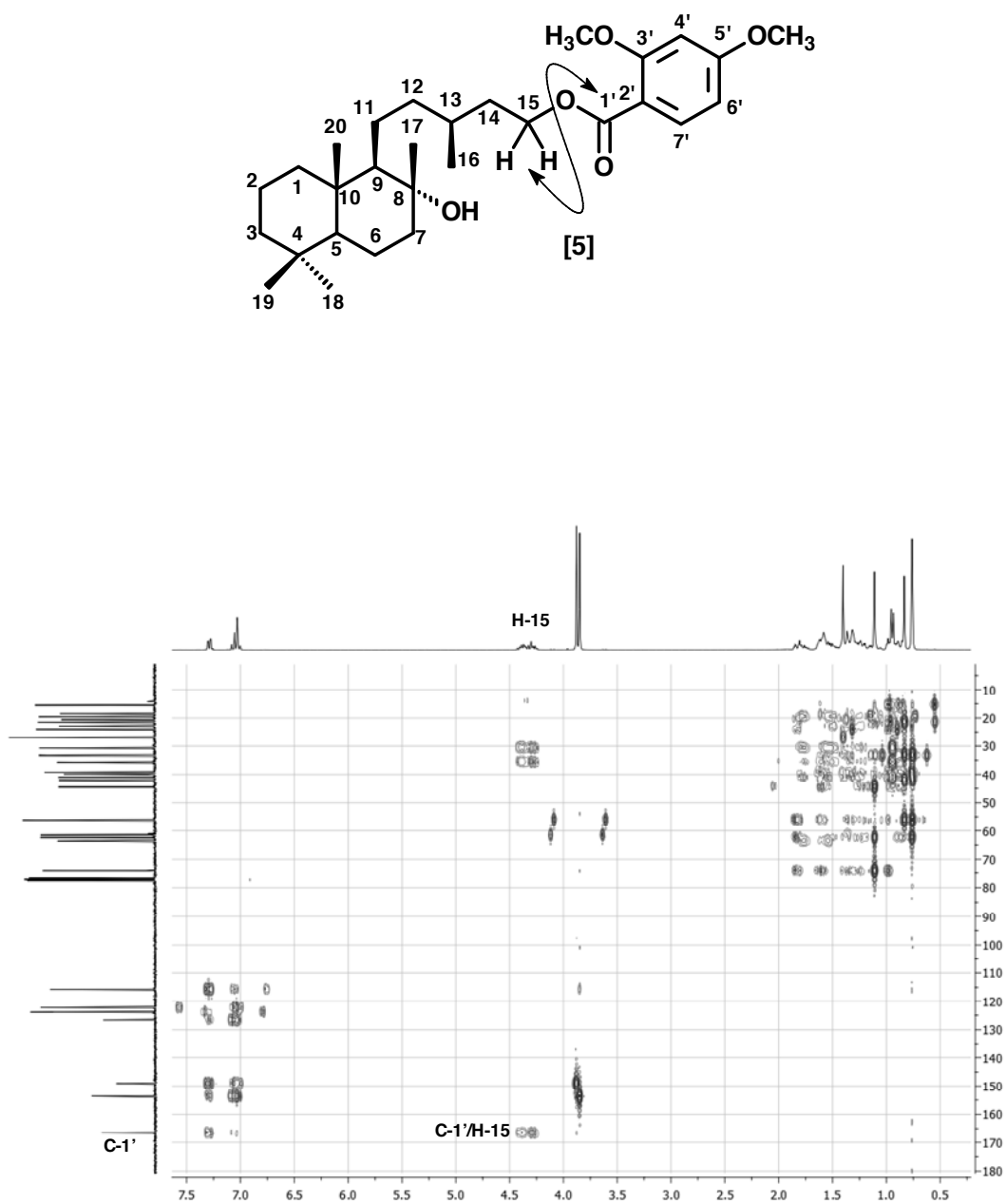
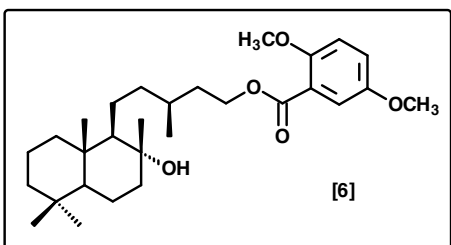


Tabla 5B/C: Desplazamientos Químicos (δ) en los Espectros de RMN-¹H y RMN-¹³C (CDCl₃, 300 y 75 MHz), del fragmento que corresponde al 2,4-metoxibenzoato del éster [5]

H	H-4'	H-6'	H-7'	-OCH ₃ (C-3')	-OCH ₃ (C-5')		
δ (ppm)	6,50-6,43	6,50-6,43	7,82	3,82	3,86		
M	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>d</i>	<i>s</i>	<i>s</i>		
J(Hz)	-	-	9,0	-	-		
C	C-1'	C-2'	C-3'	C-4'	C-5'	C-6'	C-7'
δ (ppm)	165,8	112,7	164,1	99,0	161,4	104,5	133,7
Tipo	-O-C=O	=C<	=C-O	=CH	=C-O	=CH	=CH

Figura 5F: Espectro HMBC (CDCl_3) del éster [5]

2,5-dimetoxibenzoato de 8-hidroxi-15-labdaniolo [6]



Después de tratar el diol [1] bajo las condiciones de reacción descritas en el procedimiento general A, en presencia de ácido 2,5-dimetoxibenzoico, se obtuvo mediante purificación por columna flash un compuesto oleoso transparente, que se reveló como una mancha homogénea sobre la TLC. A continuación se presentan los espectros RMN-¹H,

RMN-¹³C y HMBC del éster aromático [6]. En los espectros se observan claramente las señales de anillo aromático 1,2,5 trisustituido.

Figura 6B: Espectro de RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃), del éster [6]

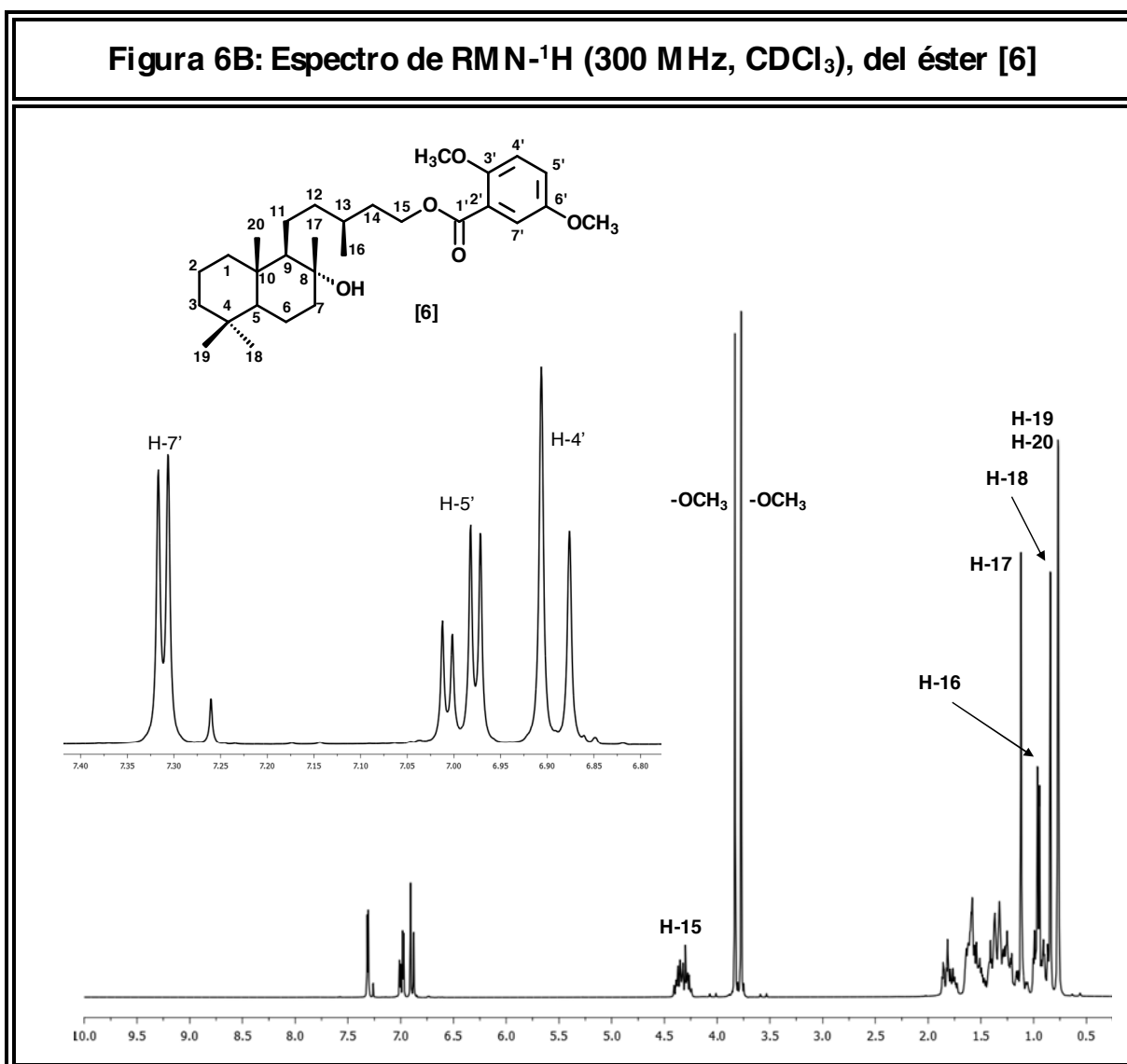


Figura 6C: Espectro de RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃), del éster [6]

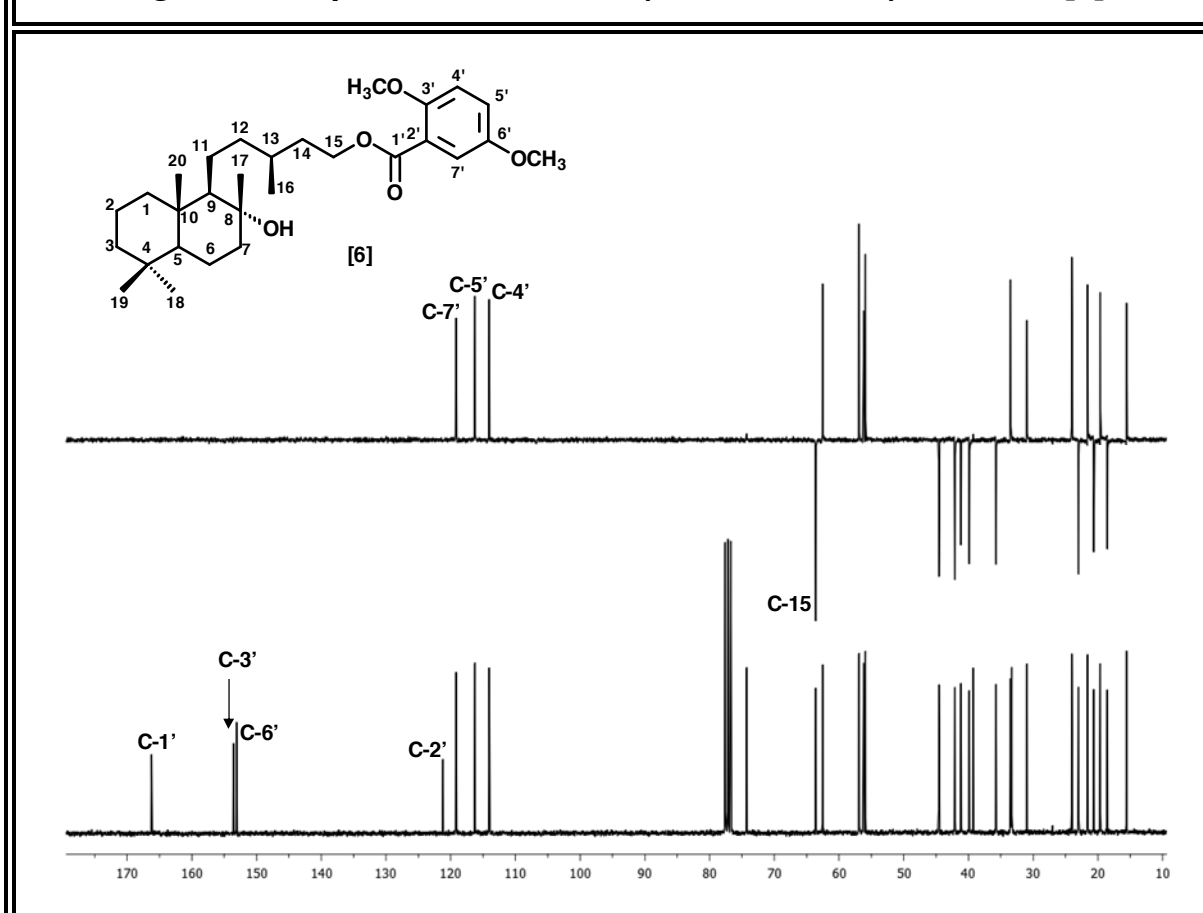
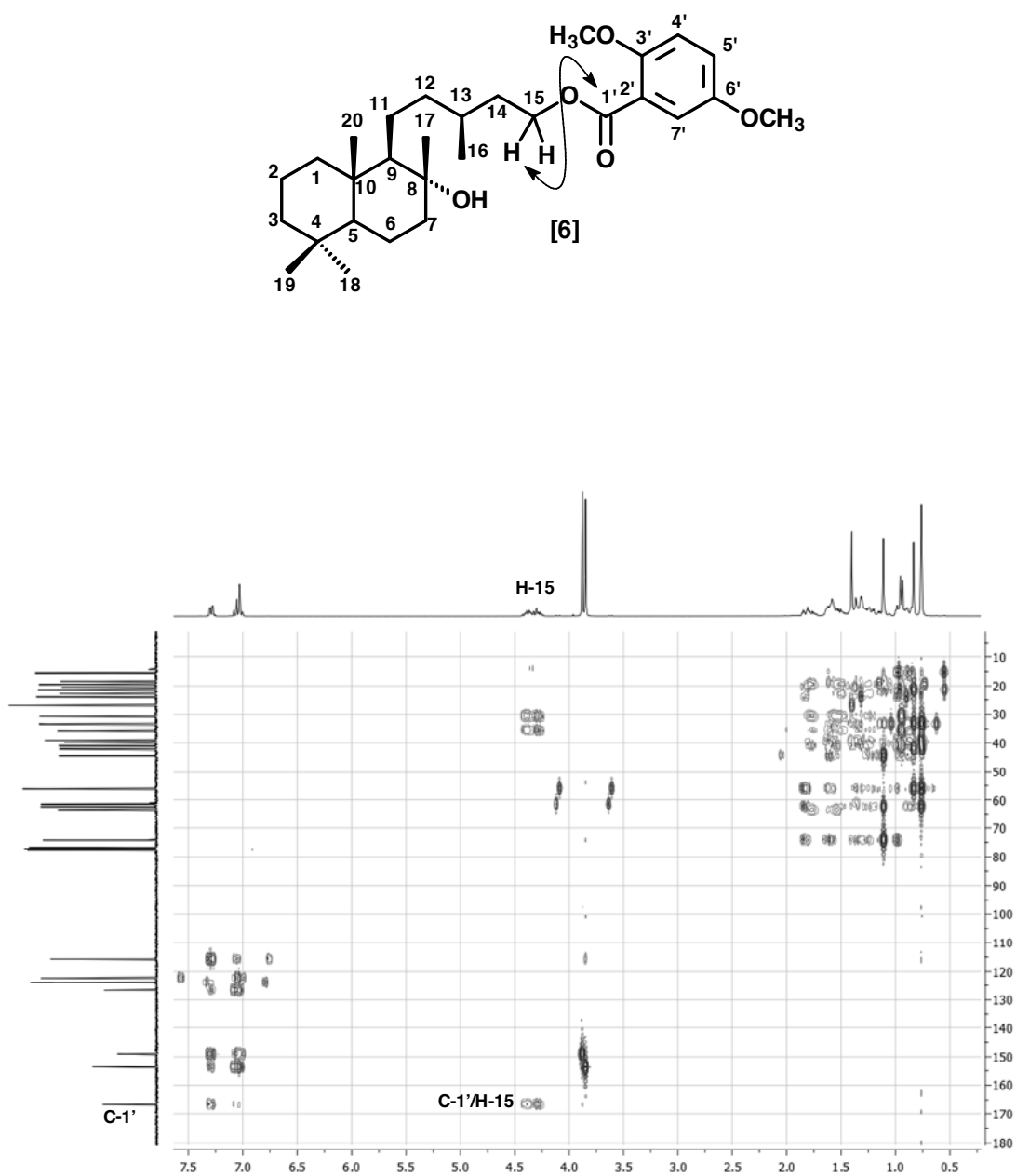
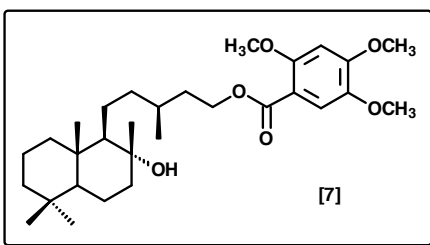


Tabla 6B/C: Desplazamientos Químicos (δ) en los Espectros de RMN-¹H y RMN-¹³C (CDCl₃, 300 y 75 MHz), del fragmento que corresponde al 2,5-dimetoxibenzoato del éster [6]

H	H-4'	H-5'	H-7'	-OCH ₃ (C-3')	-OCH ₃ (C-6')		
δ (ppm)	6,89	6,99	7,31	3,83	3,77		
M	<i>d</i>	<i>dd</i>	<i>d</i>	<i>s</i>	<i>S</i>		
J(Hz)	9,1	9,0 y 3,2	3,2	-	-		
C	C-1'	C-2'	C-3'	C-4'	C-5'	C-6'	C-7'
δ (ppm)	166,1	121,2	153,6	114,1	116,1	153,1	119,1
Tipo	-O-C=O	=C<	=C-O	=CH	=CH	=C-O	=CH

Figura 6F: Espectro HMBC (CDCl₃) del éster [6]

2,4,5-trimetoxibenzoato de 8-hidroxi-15-labdaniolo [7]



Después de tratar el diol [1] bajo las condiciones de reacción descritas en el procedimiento general A, en presencia de ácido 2,4,5-trimetoxibenzoico, se obtuvo mediante purificación por columna flash un compuesto oleoso transparente, que se reveló como una mancha homogénea sobre la TLC. A continuación se presentan los espectros RMN-¹H, RMN-¹³C y HMBC del éster aromático [7]. En los espectros se observan claramente las señales de anillo aromático 1,2,4,5 tetrasustituido.

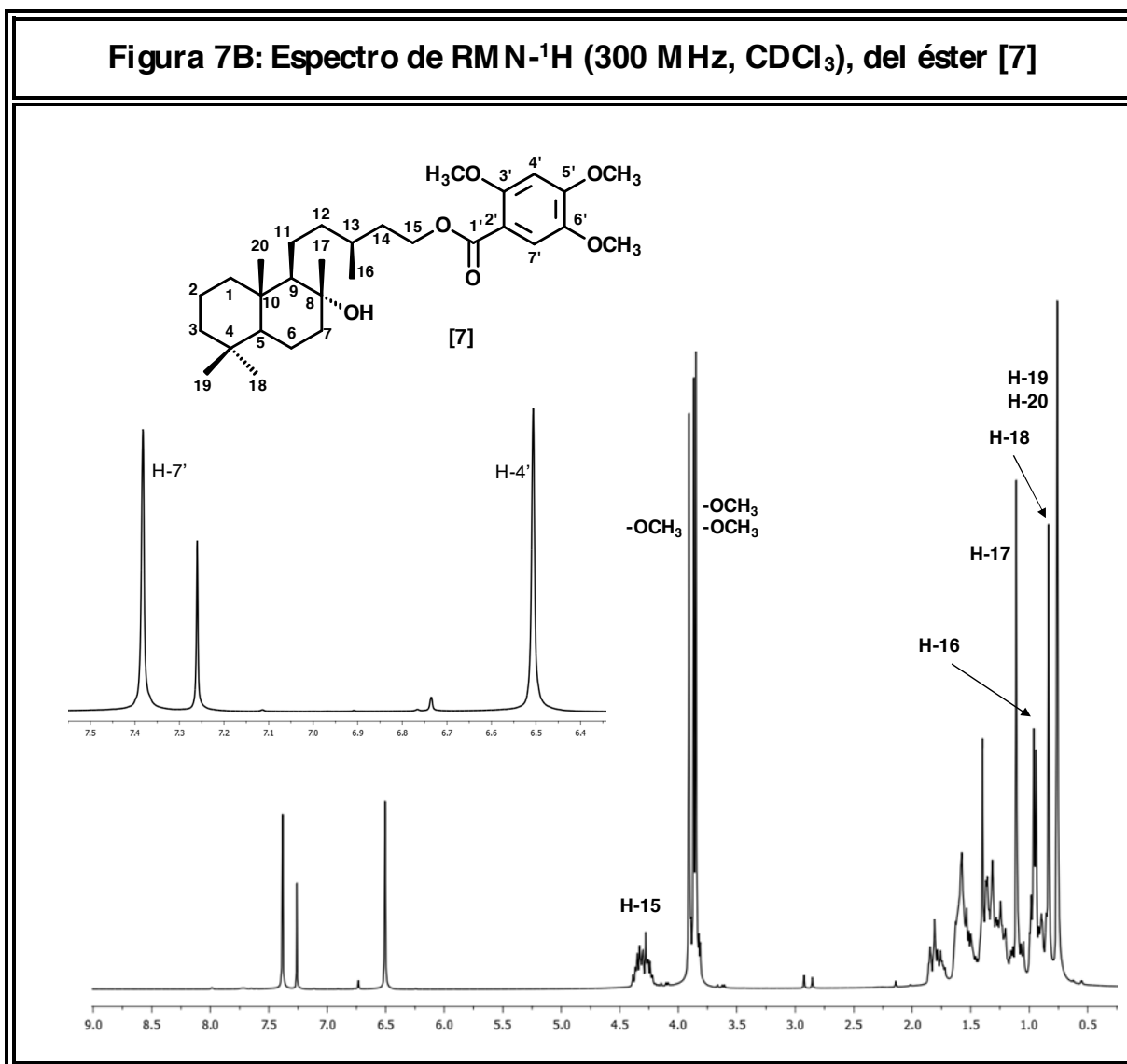


Figura 7C: Espectro de RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃), del éster [7]

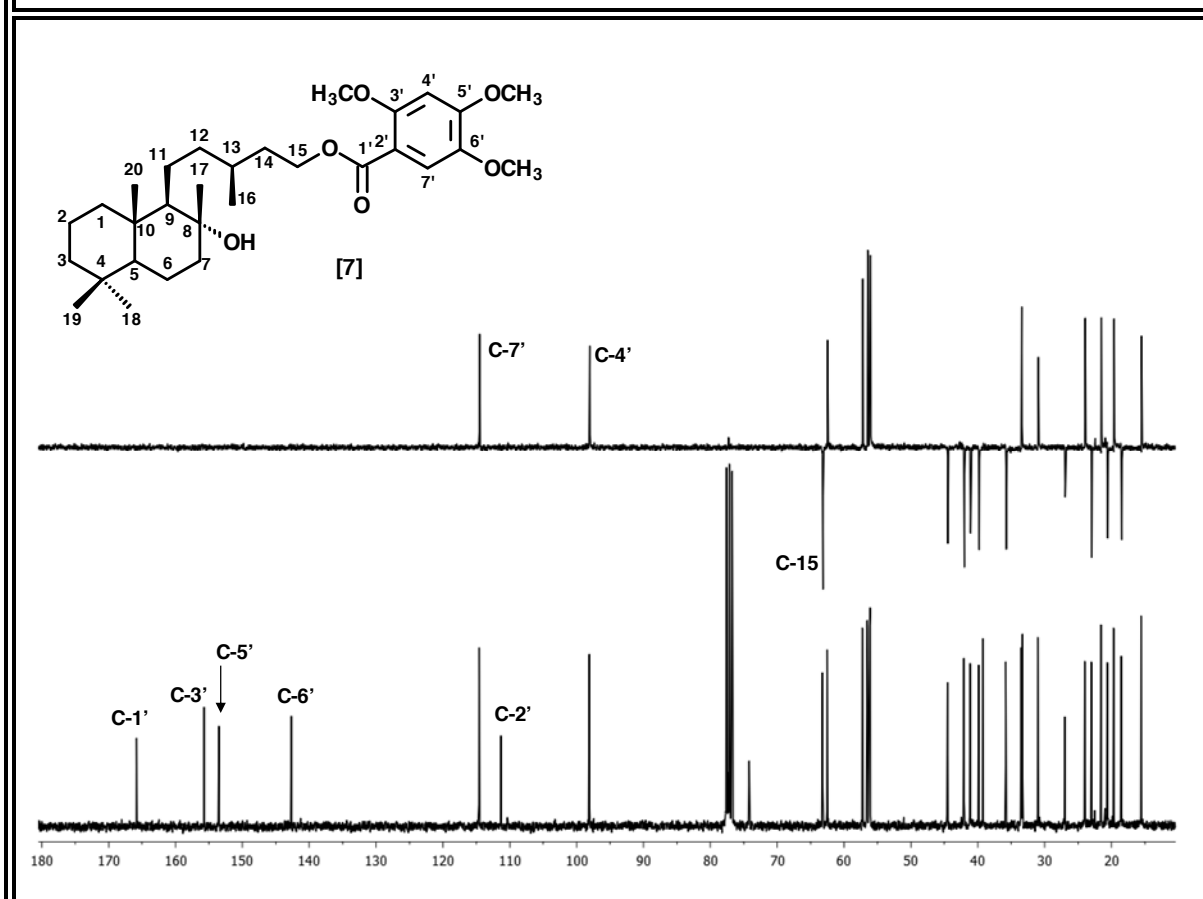
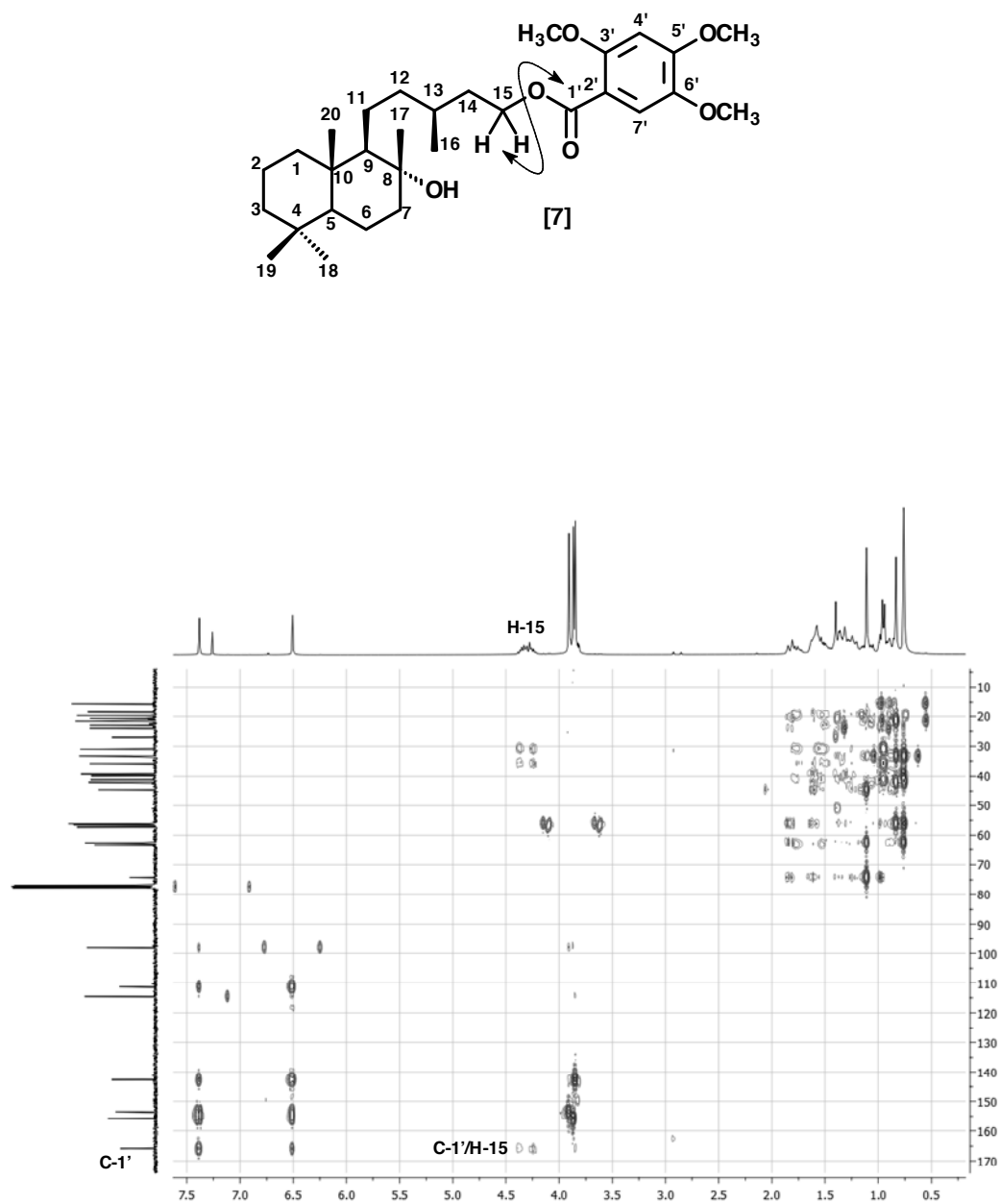
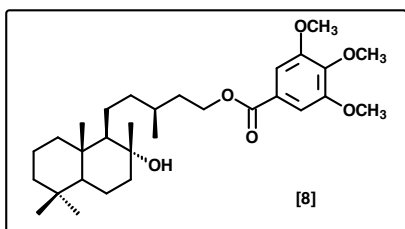


Tabla 7B/C: Desplazamientos Químicos (δ) en los Espectros de RMN-¹H y RMN-¹³C (CDCl₃, 300 y 75 MHz), del fragmento que corresponde al 2,4,5-trimetoxibenzoato del éster [7]

H	H-4'	H-7'	-OCH ₃ (C-3')	-OCH ₃ (C-5')	-OCH ₃ (C-6')		
δ (ppm)	6,50	7,38	3,86	3,91	3,85		
M	s	s	s	s	S		
J(Hz)	-	-	-	-	-		
C	C-1'	C-2'	C-3'	C-4'	C-5'	C-6'	C-7'
δ (ppm)	165,9	111,3	155,7	98,0	153,4	142,6	114,4
Tipo	-O-C=O	=C<	=C-O	=CH	=C-O	=C-O	=CH

Figura 7F: Espectro HMBC (CDCl₃) del éster [7]

3,4,5-trimetoxibenzoato de 8-hidroxi-15-labdaniolo [8]



Después de tratar el diol [1] bajo las condiciones de reacción descritas en el procedimiento general A, en presencia de ácido 3,4,5-trimetoxibenzoico, se obtuvo mediante purificación por columna flash un compuesto oleoso transparente, que se reveló como una mancha homogénea sobre la TLC. A continuación se presentan los espectros RMN-¹H, RMN-¹³C y HMBC del éster aromático [8]. En los espectros se observan claramente las señales de anillo aromático 1,3,4,5 tetrasustituido.

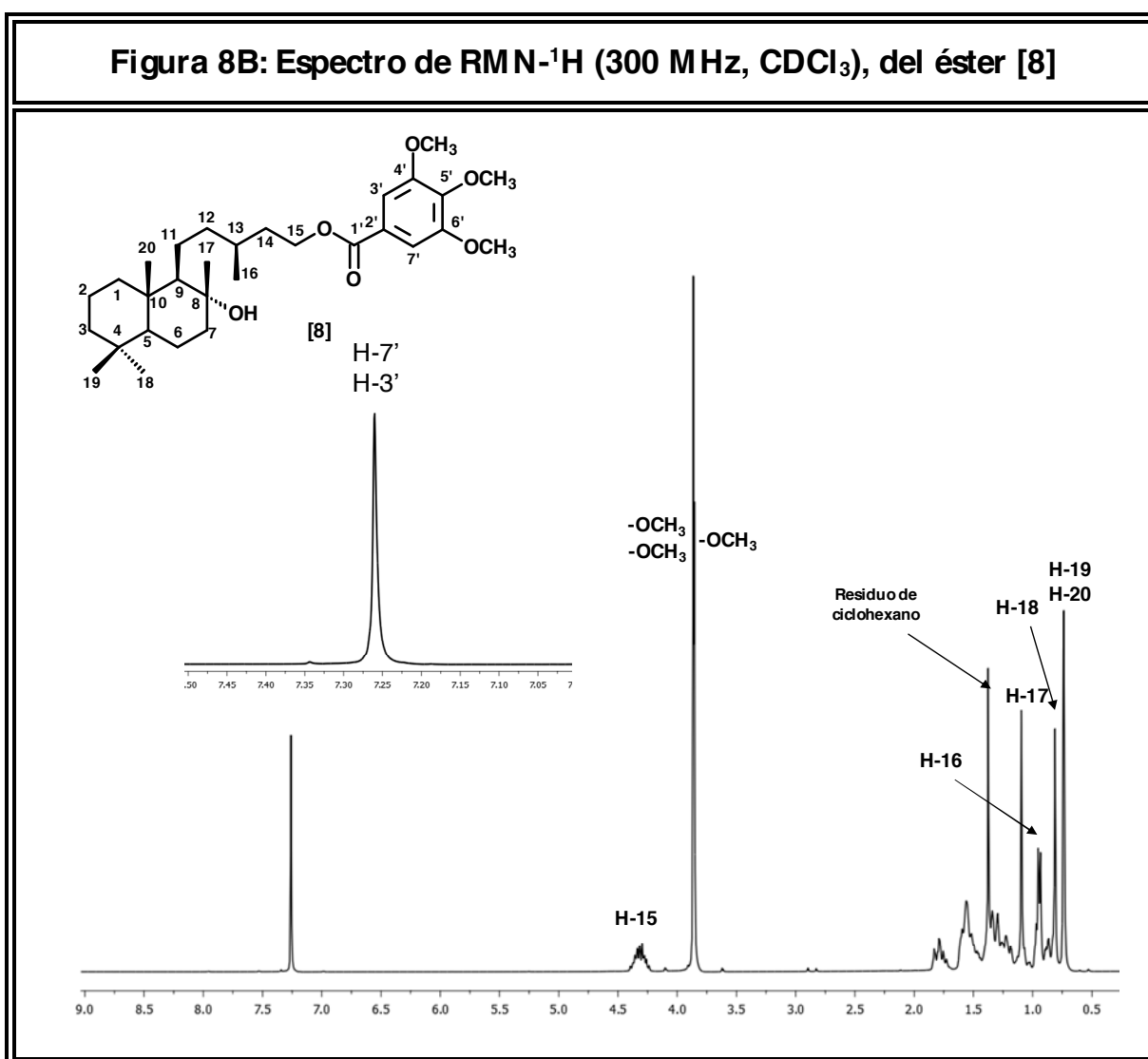


Figura 8C: Espectro de RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃), del éster [8]

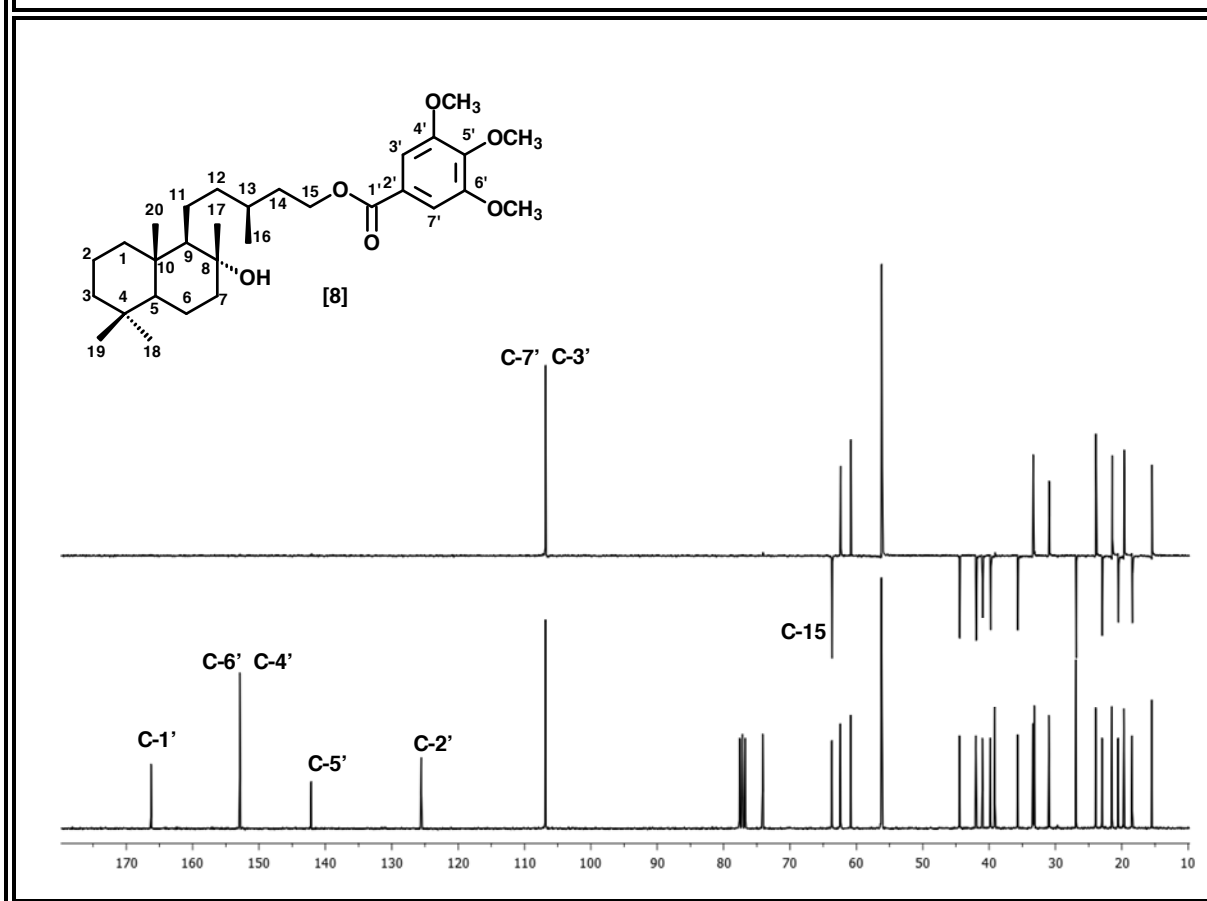
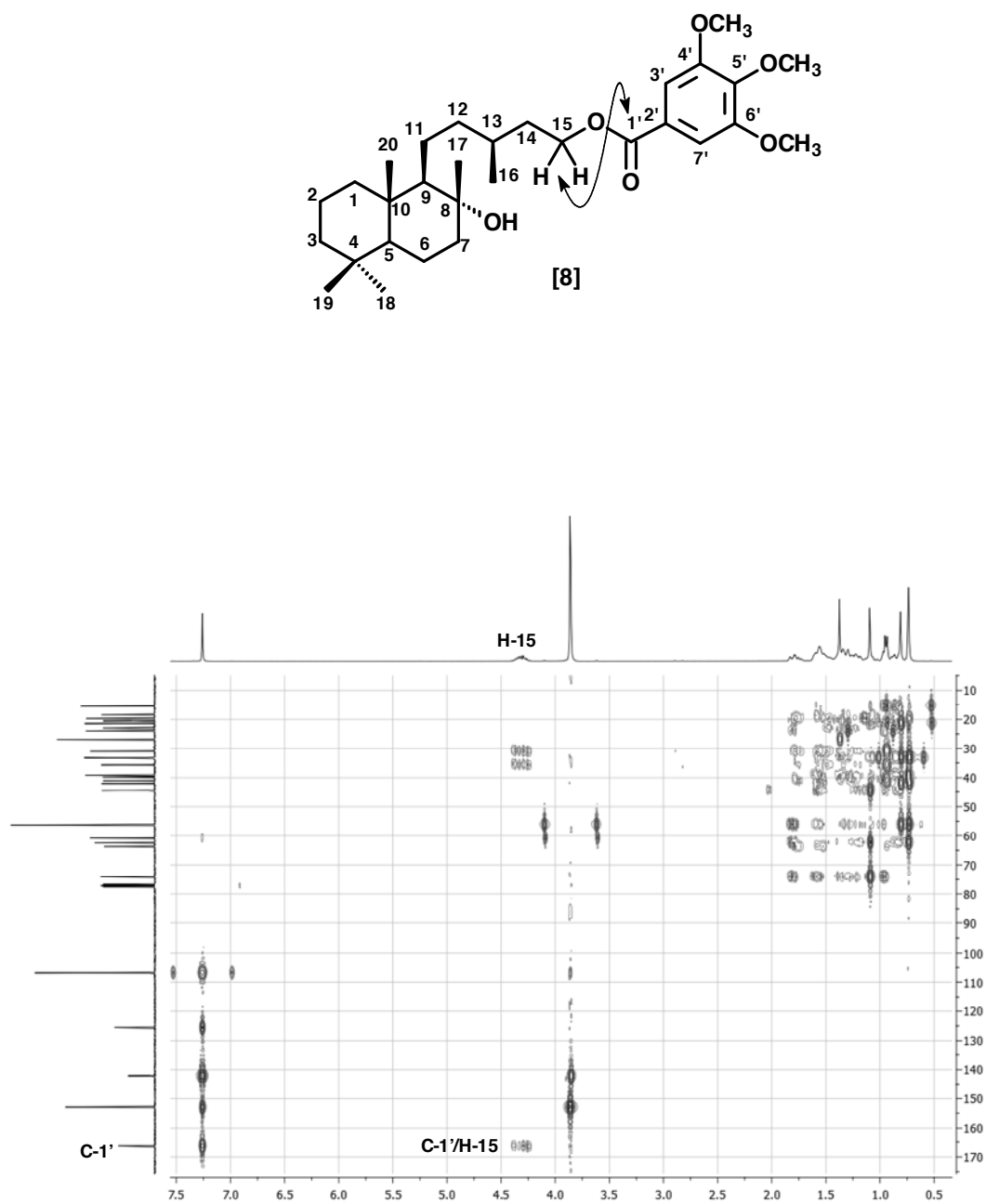
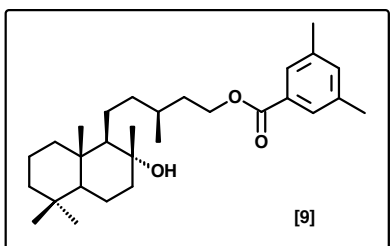


Tabla B8/C: Desplazamientos Químicos (δ) en los Espectros de RMN-¹H y RMN-¹³C (CDCl₃, 300 y 75 MHz), del fragmento que corresponde al 3,4,5-trimetoxibenzoato del éster [8]

H	H-3'	H-7'	-OCH ₃ (C-4')	-OCH ₃ (C-5')	-OCH ₃ (C-6')		
δ (ppm)	7,26	7,26	3,87	3,86	3,87		
M	s	s	s	s	s		
J(Hz)	-	-	-	-	-		
C	C-1'	C-2'	C-3'	C-4'	C-5'	C-6'	C-7'
δ (ppm)	166,3	125,4	106,8	152,7	141,9	152,7	106,8
Tipo	-O-C=O	=C<	=CH	=C-O	=C-O	=C-O	=CH

Figura 8F: Espectro HMBC (CDCl₃) del éster [8]

3,5-dimetilbenzoato de 8-hidroxi-15-labdaniolo [9]



Después de tratar el diol [1] bajo las condiciones de reacción descritas en el procedimiento general A, en presencia de ácido 3,5-dimetoxibenzoico, se obtuvo mediante purificación por columna flash un compuesto oleoso transparente, que se reveló como una mancha homogénea sobre la TLC. A continuación se presentan los espectros RMN- ^1H , RMN- ^{13}C y HMBC del éster aromático [9]. En los espectros se observan claramente las señales de anillo aromático 1,3,5 trisustituido.

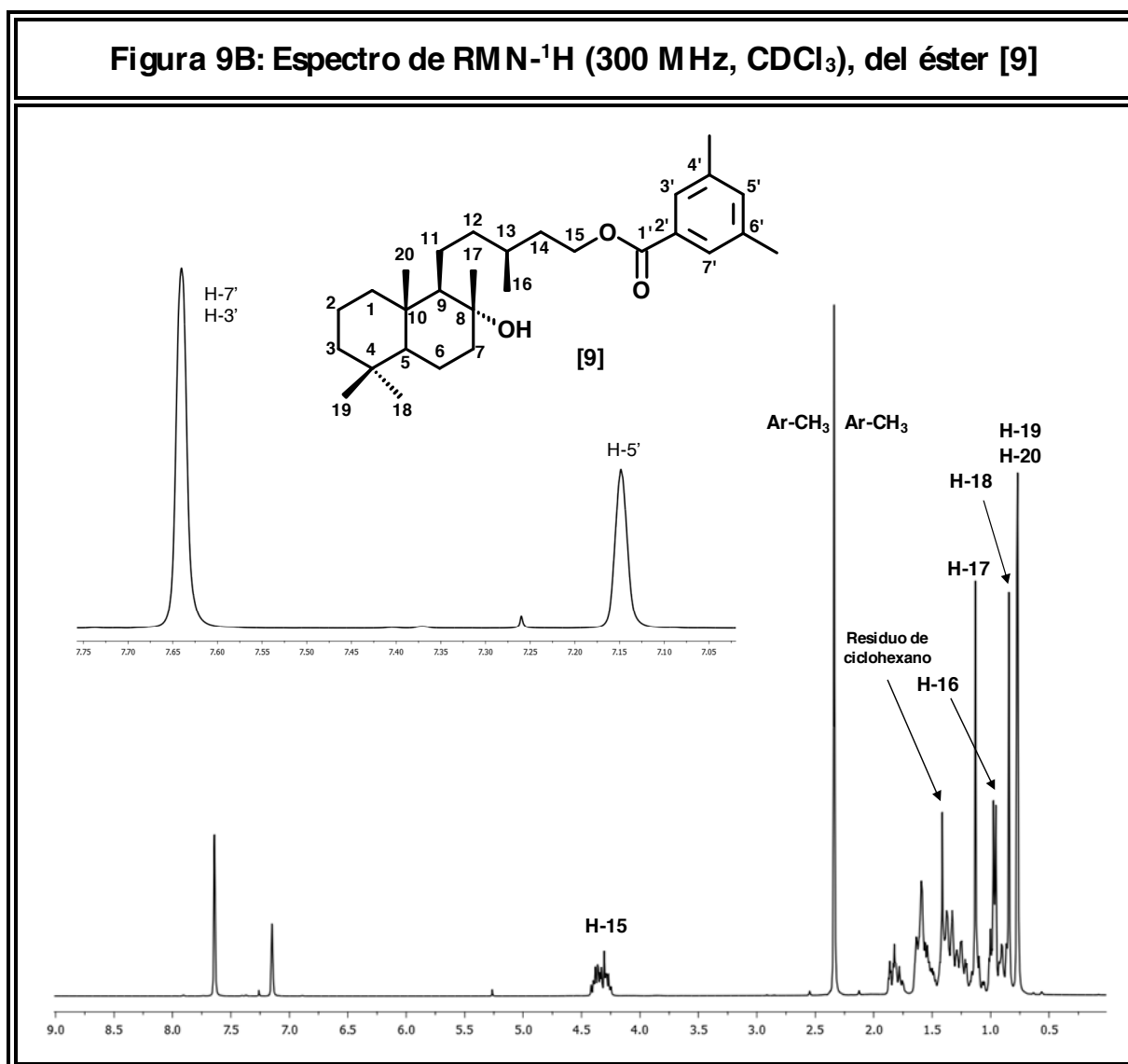


Figura 9C: Espectro de RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃), del éster [9]

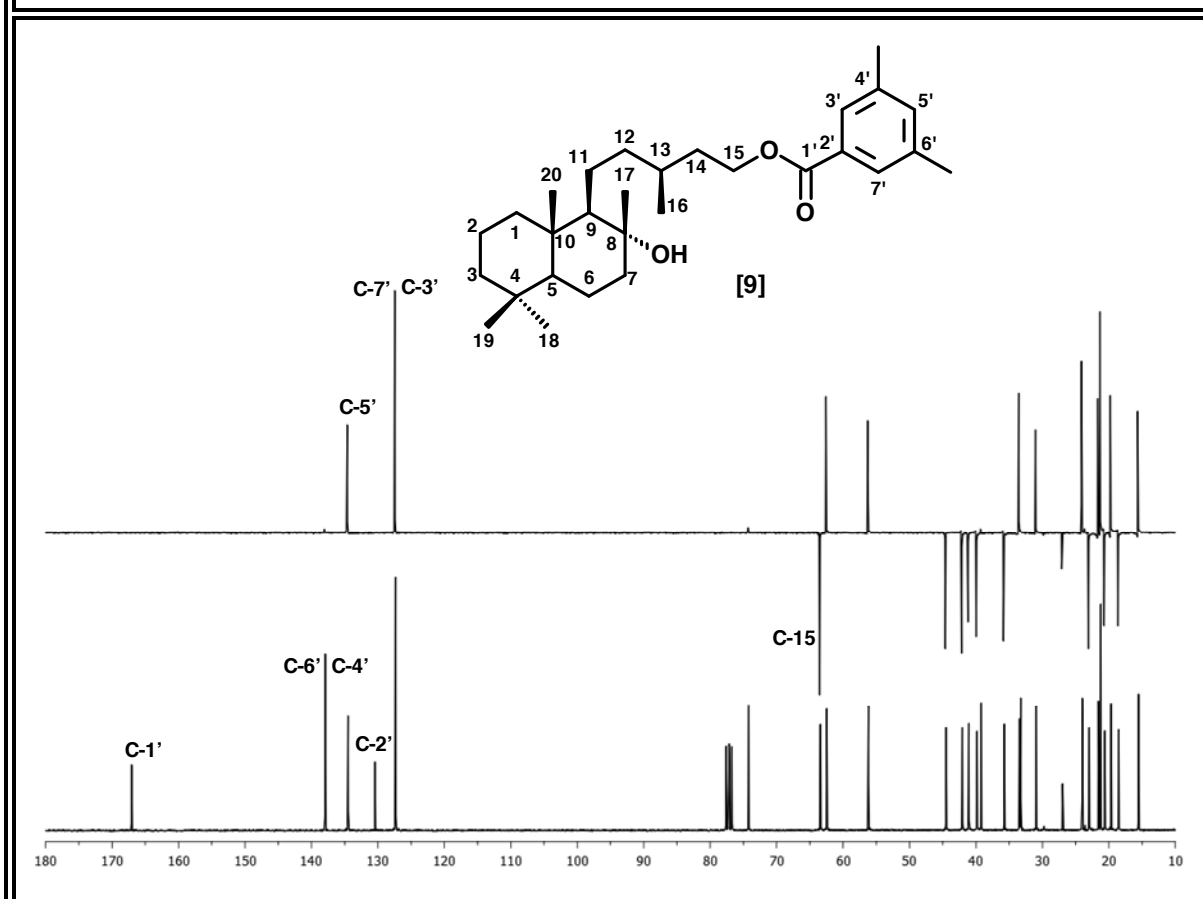
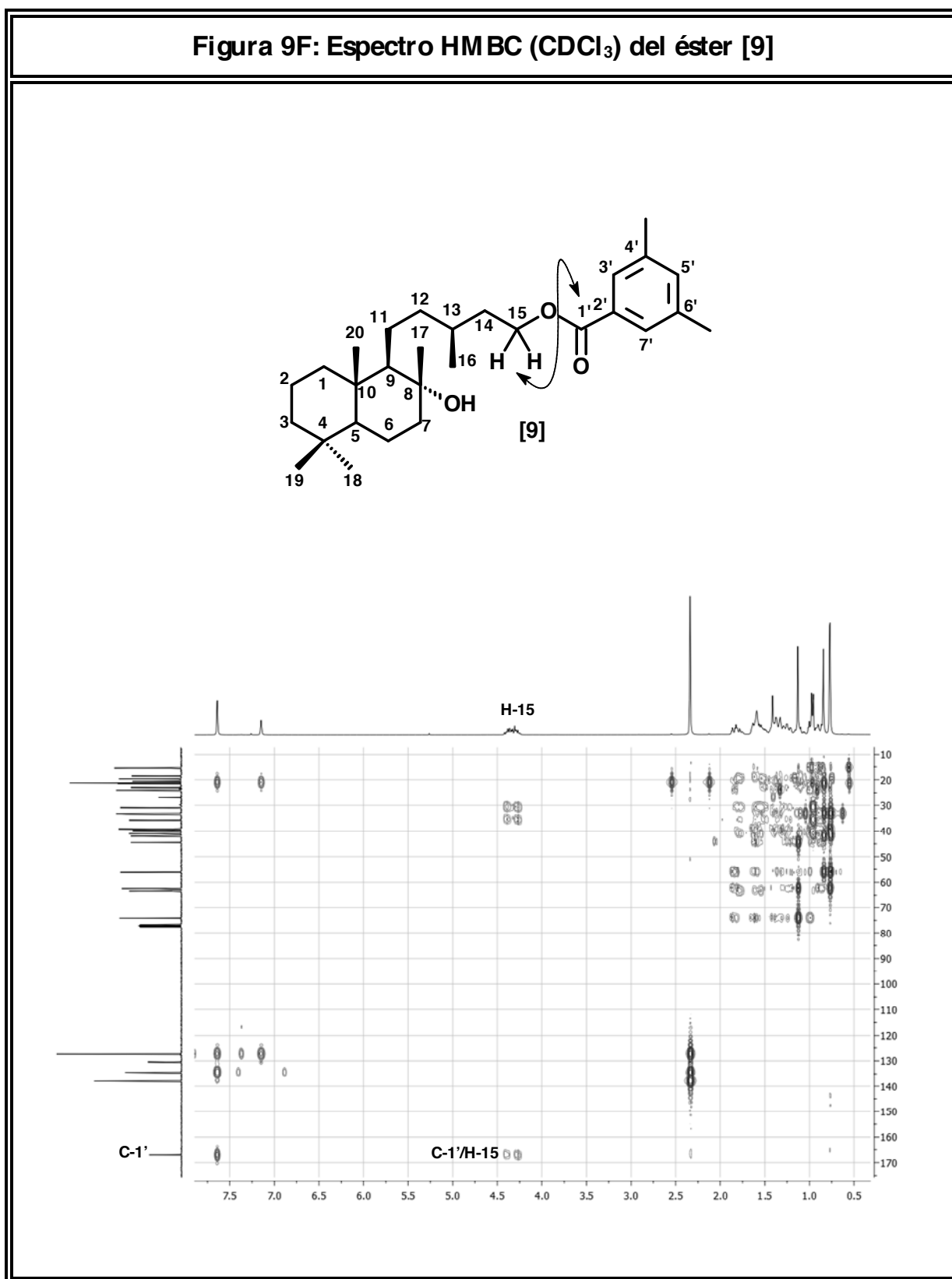
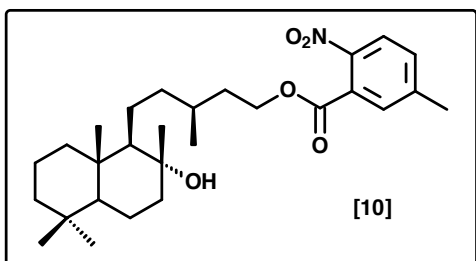


Tabla 9B/C: Desplazamientos Químicos (δ) en los Espectros de RMN-¹H y RMN-¹³C (CDCl₃, 300 y 75 MHz), del fragmento que corresponde al 3,5-dimetilbenzoato del éster [9]

H	H-3'	H-4'	H-7'	-CH ₃ (C-4')	-CH ₃ (C-6')		
δ (ppm)	7,63	7,14	7,63	2,33	2,33		
M	s	s	s	s	s		
J(Hz)	-	-	-	-	-		
C	C-1'	C-2'	C-3'	C-4'	C-5'	C-6'	C-7'
δ (ppm)	167,1	130,3	127,3	137,9	134,5	137,9	127,3
Tipo	-O-C=O	=C<	=CH	=C<	=CH	=C<	=CH

Figura 9F: Espectro HMBC (CDCl₃) del éster [9]

5-metil-2-nitrobenzoato de 8-hidroxi-15-labdanilo [10]



Después de tratar el diol [1] bajo las condiciones de reacción descritas en el procedimiento general A, en presencia de ácido 5-metoxi-2-nitrobenzoico, se obtuvo mediante purificación por columna flash un sólido blanco cristalino, que se reveló como una mancha homogénea sobre la TLC. A continuación se presentan los espectros

RMN-¹H, RMN-¹³C y HMBC del éster aromático [10]. En los espectros se observan claramente las señales de anillo aromático 1,2,5 trisustituido.

Figura 10B: Espectro de RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃), del éster [10]

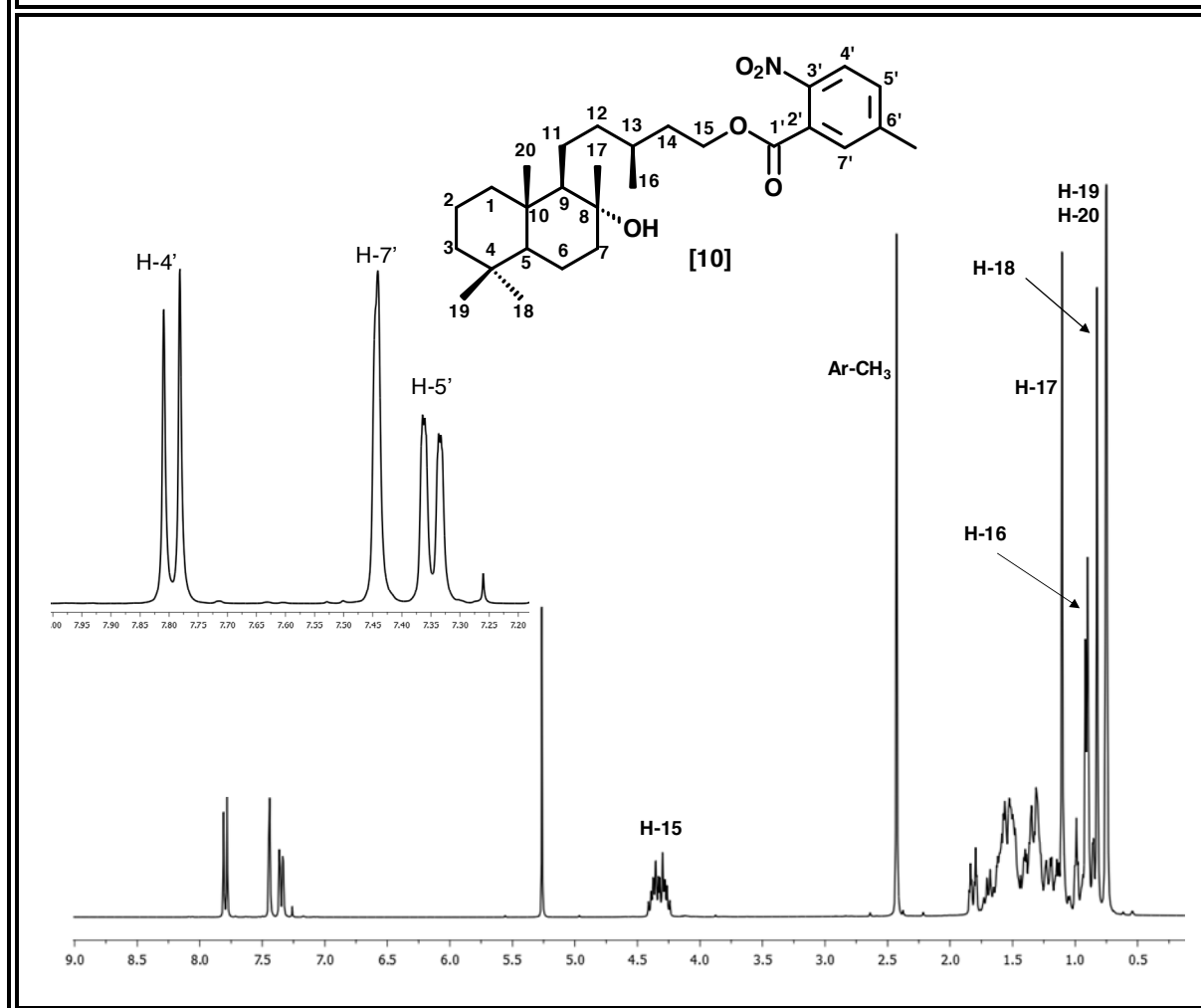


Figura 10C: Espectro de RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃), del éster [10]

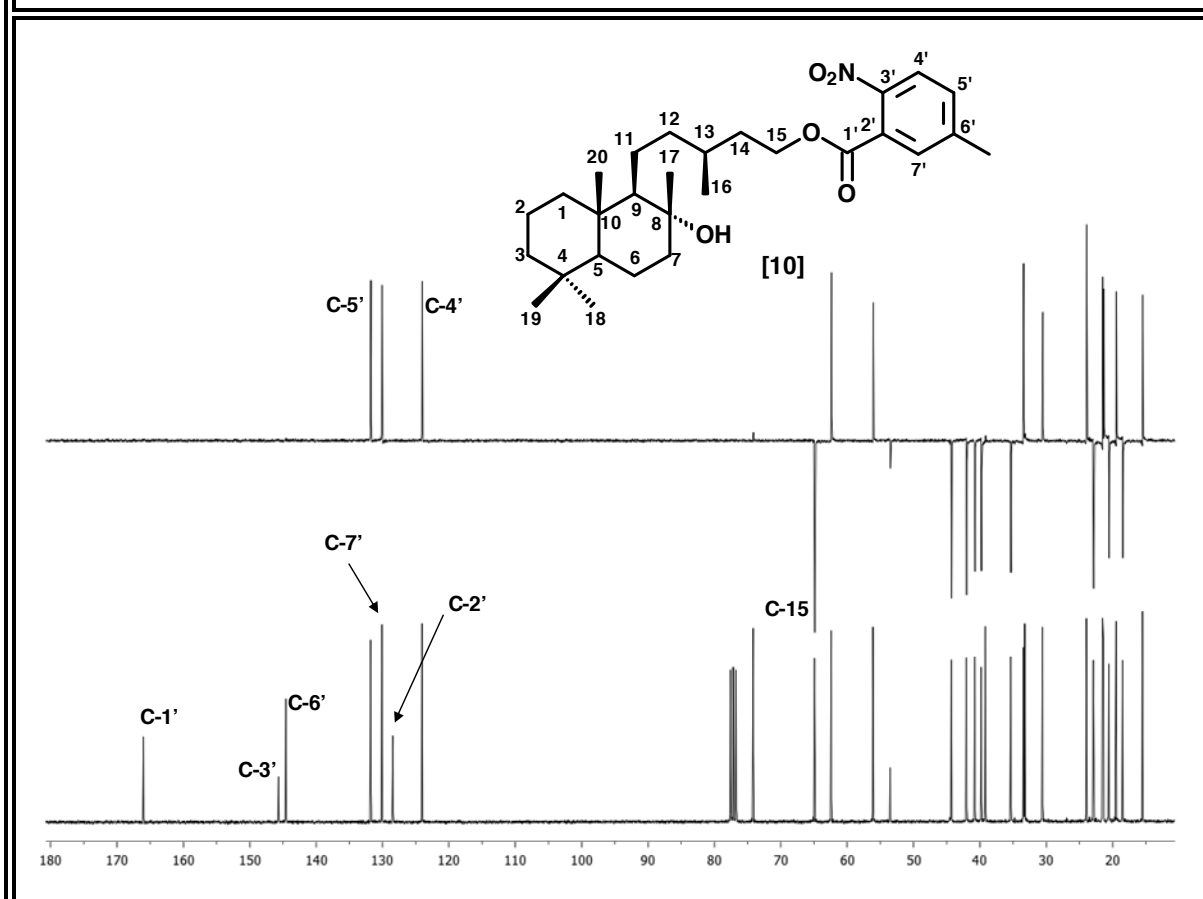
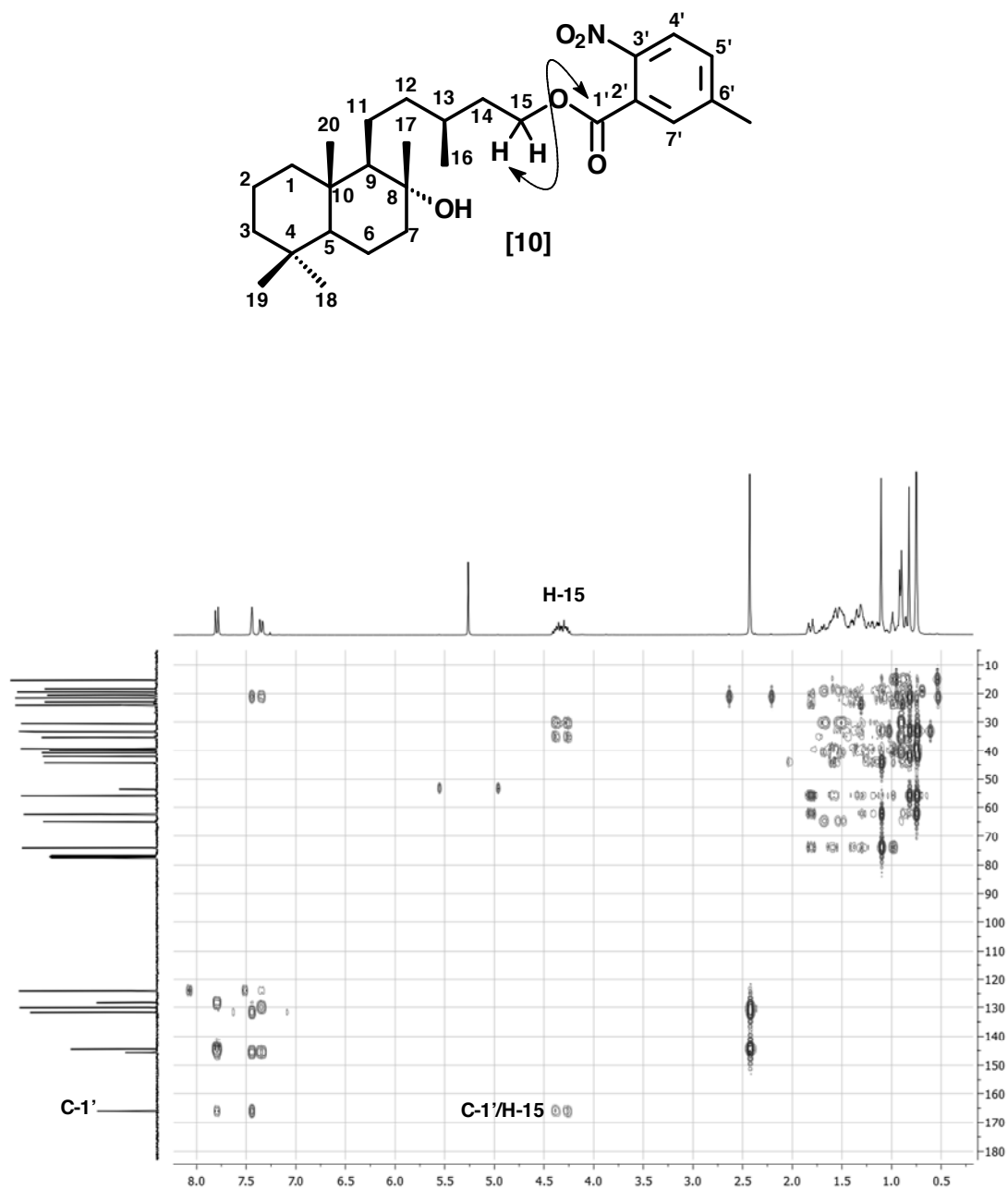
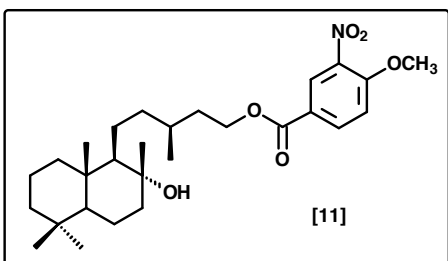


Tabla 10B/C: Desplazamientos Químicos (δ) en los Espectros de RMN-¹H y RMN-¹³C (CDCl₃, 300 y 75 MHz), del fragmento que corresponde al 5-metil-2-nitrobenzoato del éster [10]

H	H-4'	H-5'	H-7'	-CH ₃ (C-6')			
δ (ppm)	7,80	7,35	7,44	2,43			
M	<i>d</i>	<i>dd</i>	<i>sa</i>	<i>s</i>			
J(Hz)	8,3	8,3 y 1,1	-	-			
C	C-1'	C-2'	C-3'	C-4'	C-5'	C-6'	C-7'
δ (ppm)	165,9	128,2	145,6	124,0	131,6	144,5	130,1
Tipo	-O-C=O	=C<	=C-NO ₂	=CH	=CH	=C<	=CH

Figura 10F: Espectro HMBC (CDCl₃) del éster [10]

4-metoxi-3-nitrobenzoato de 8-hidroxi-15-labdaniolo [11]



Después de tratar el diol [1] bajo las condiciones de reacción descritas en el procedimiento general A, en presencia de ácido 3-metoxi-4-nitrobenzoico, se obtuvo mediante purificación por columna flash un sólido blanco cristalino, que se reveló como una mancha homogénea sobre la TLC. A continuación se presentan los espectros RMN- ^1H , RMN- ^{13}C y HMBC del éster aromático [11]. En los espectros se observan claramente las señales de anillo aromático 1,3,4 trisustituido.

Figura 11B: Espectro de RMN- ^1H (300 MHz, CDCl_3), del éster [11]

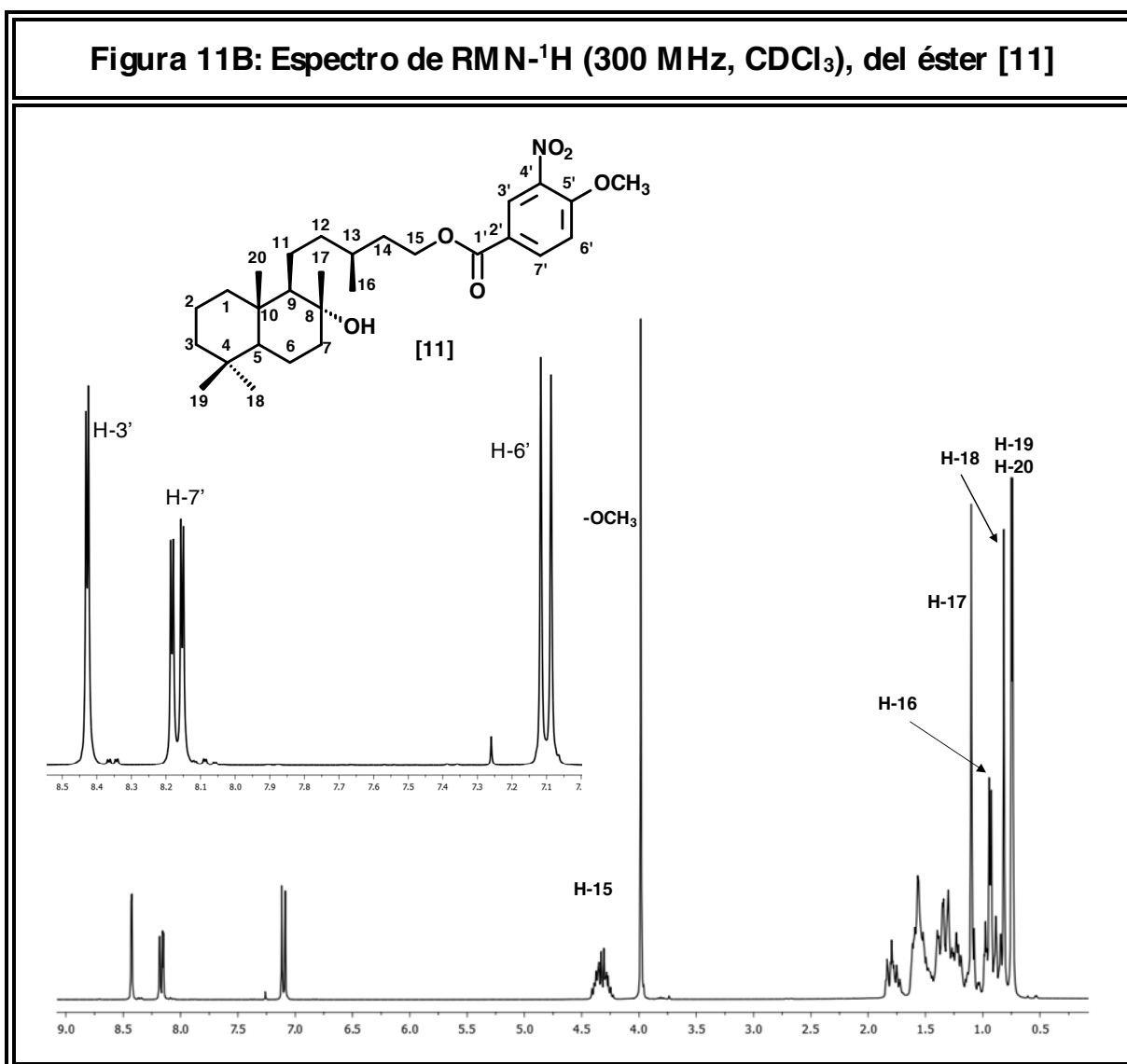


Figura 11B: Espectro de RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃), del éster [11]

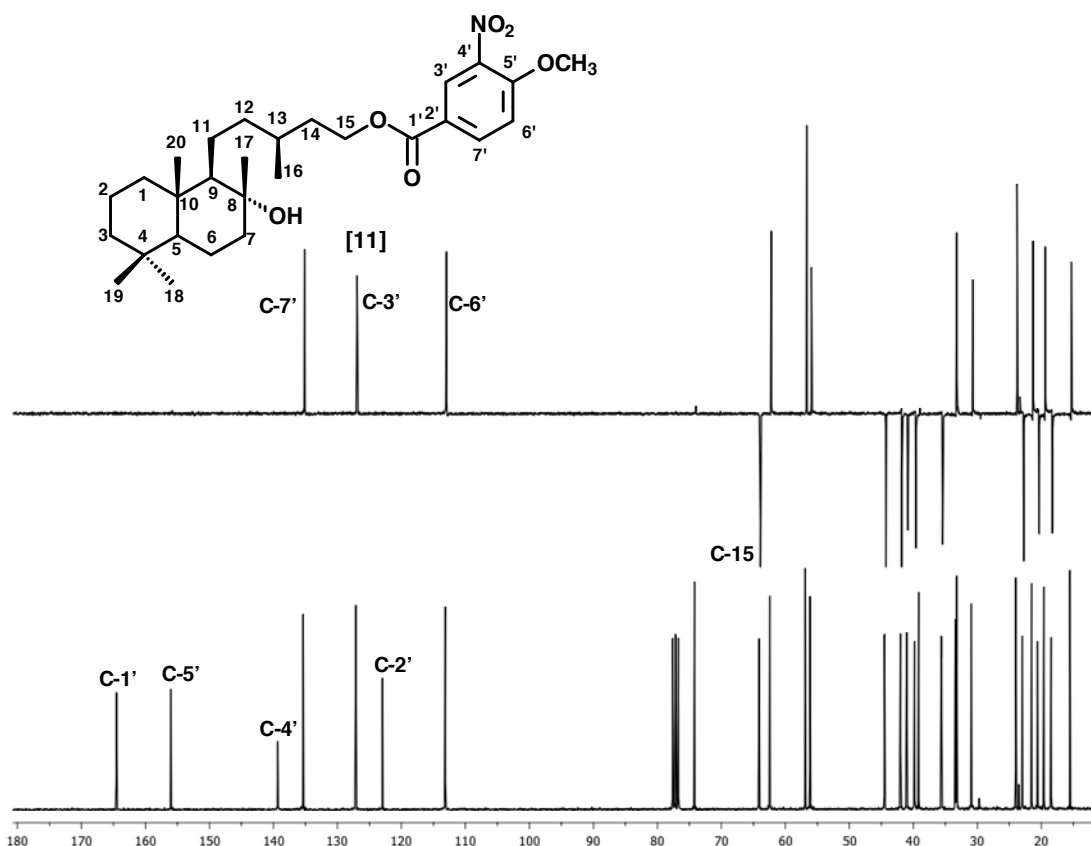
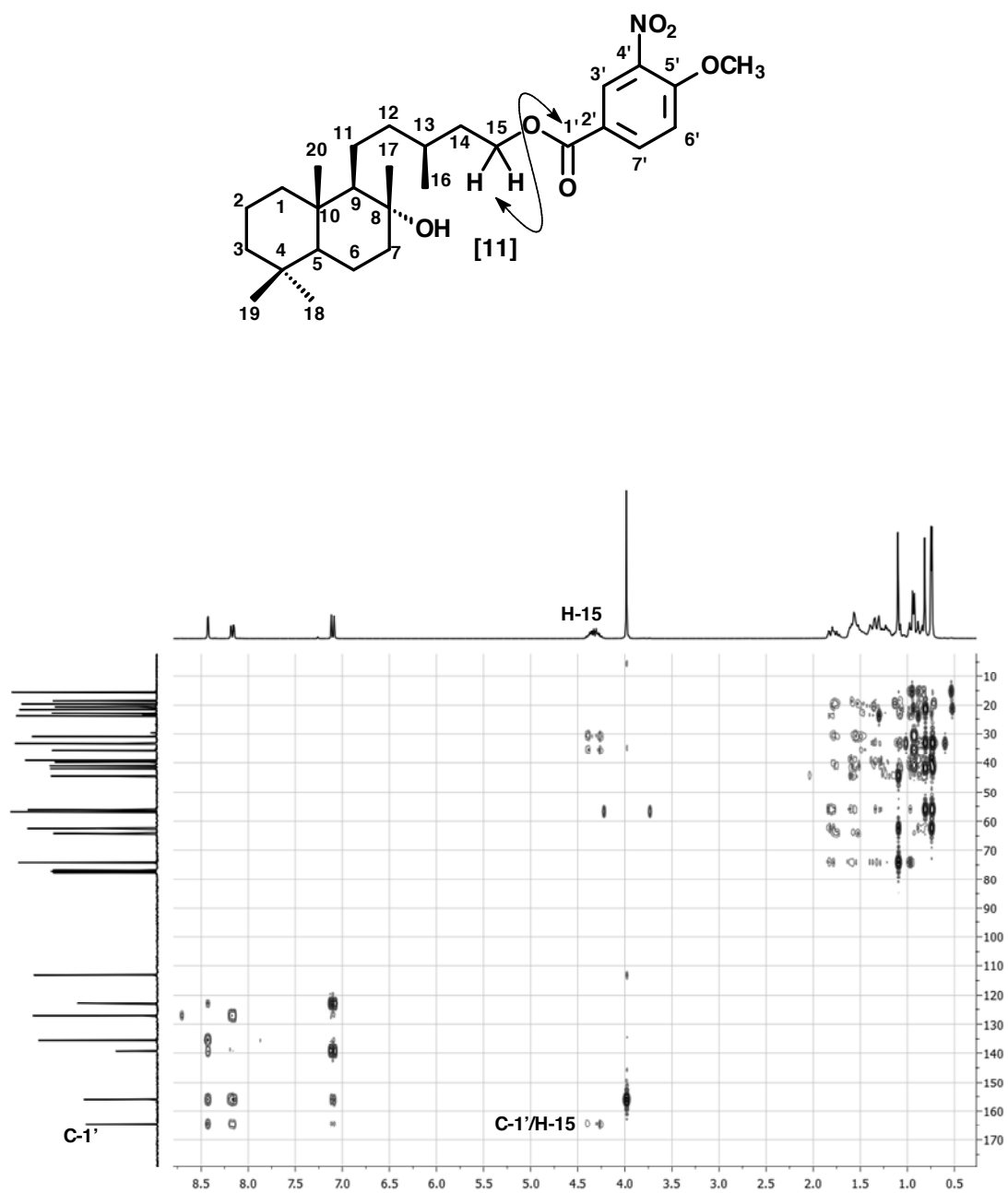
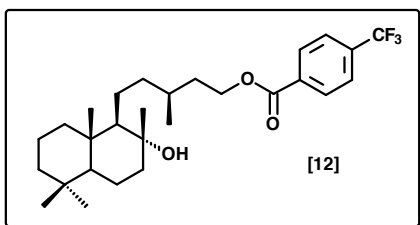


Tabla 11B/C: Desplazamientos Químicos (δ) en los Espectros de RMN-¹H y RMN-¹³C (CDCl₃, 300 y 75 MHz), del fragmento que corresponde al 3-metoxi-4-nitrobenzoato del éster [11]

H	H-3'	H-6'	H-7'	-OCH ₃ (C-4')			
δ (ppm)	8,43	7,10	8,17	3,97			
M	<i>d</i>	<i>d</i>	<i>dd</i>	<i>s</i>			
J(Hz)	2,1	8,9	8,9 y 2,1	-			
C	C-1'	C-2'	C-3'	C-4'	C-5'	C-6'	C-7'
δ (ppm)	164,4	122,9	126,9	139,2	155,9	113,0	135,2
Tipo	-O-C=O	=C<	=CH	=C-O	=C-NO ₂	=CH	=CH

Figura 11F: Espectro HMBC (CDCl₃) del éster [11]

4-trifluorometilbenzoato de 8-hidroxi-15-labdaniilo [12]



Después de tratar el diol [1] bajo las condiciones de reacción descritas en el procedimiento general A, en presencia de ácido 4-trifluorometoxibenzoico, se obtuvo mediante purificación por columna flash un sólido blanco cristalino, que se reveló como una mancha homogénea sobre la TLC. A continuación se presentan los espectros RMN-¹H, RMN-¹³C y HMBC del éster aromático [12]. En los espectros se observan claramente las señales de anillo aromático 1,4 disustituido.

Figura 12B: Espectro de RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃), del éster [12]

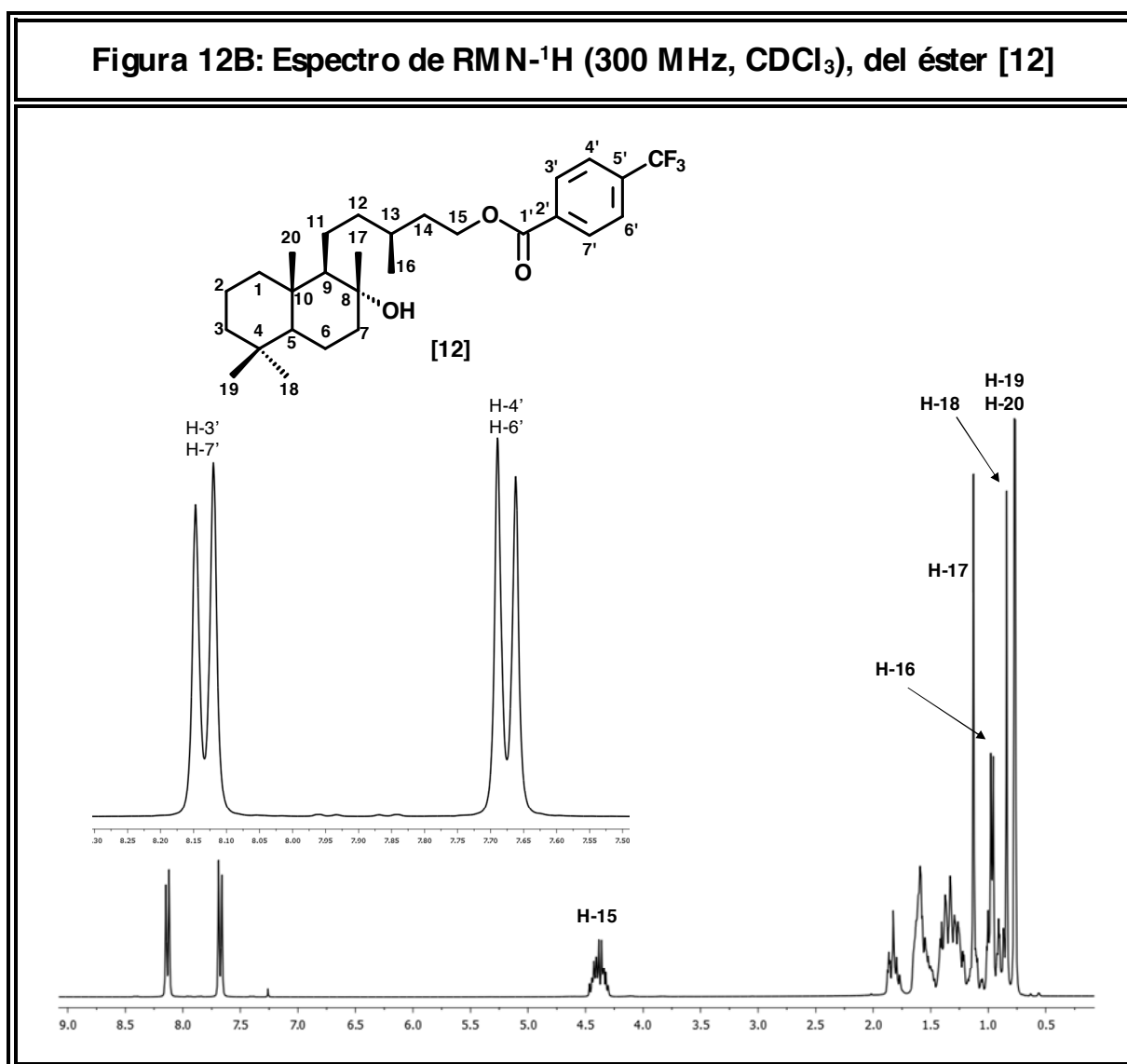


Figura 12C: Espectro de RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃), del éster [12]

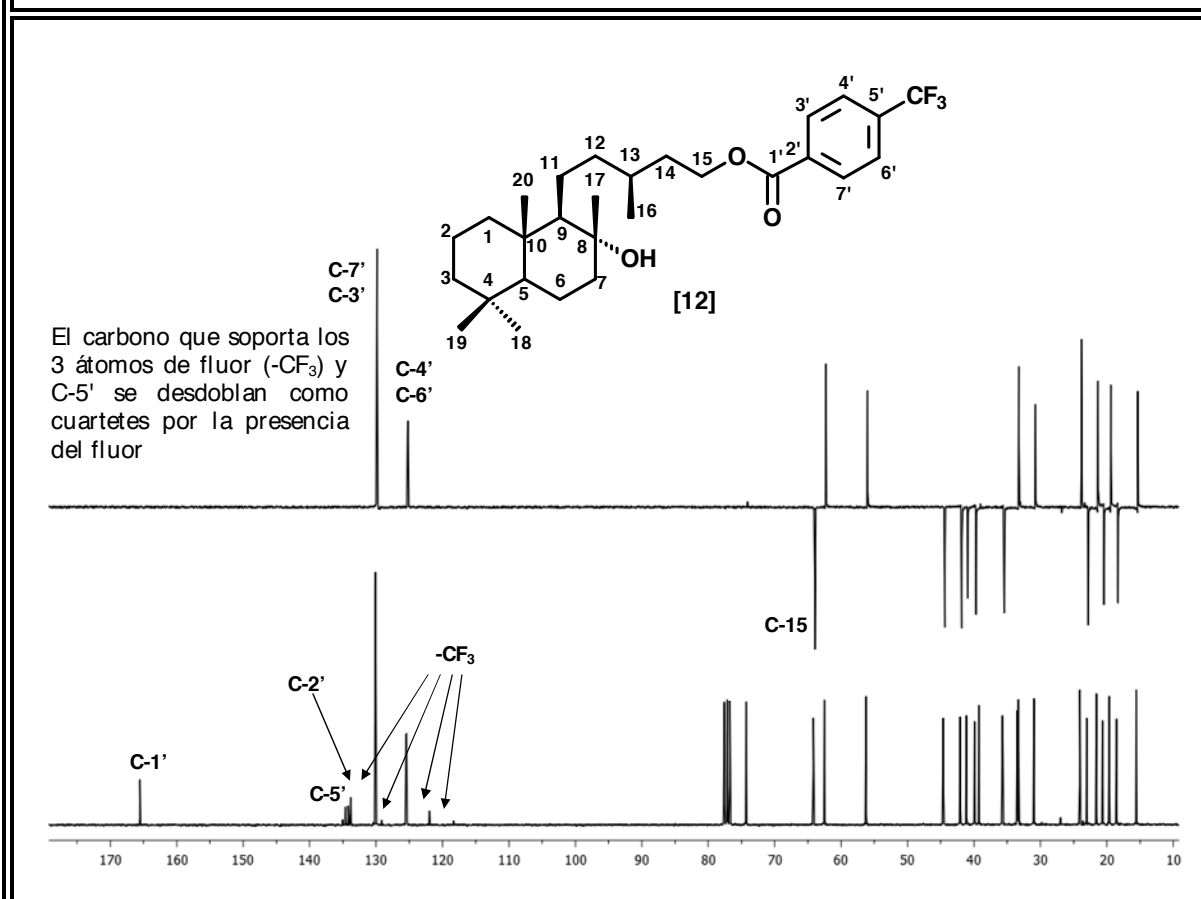
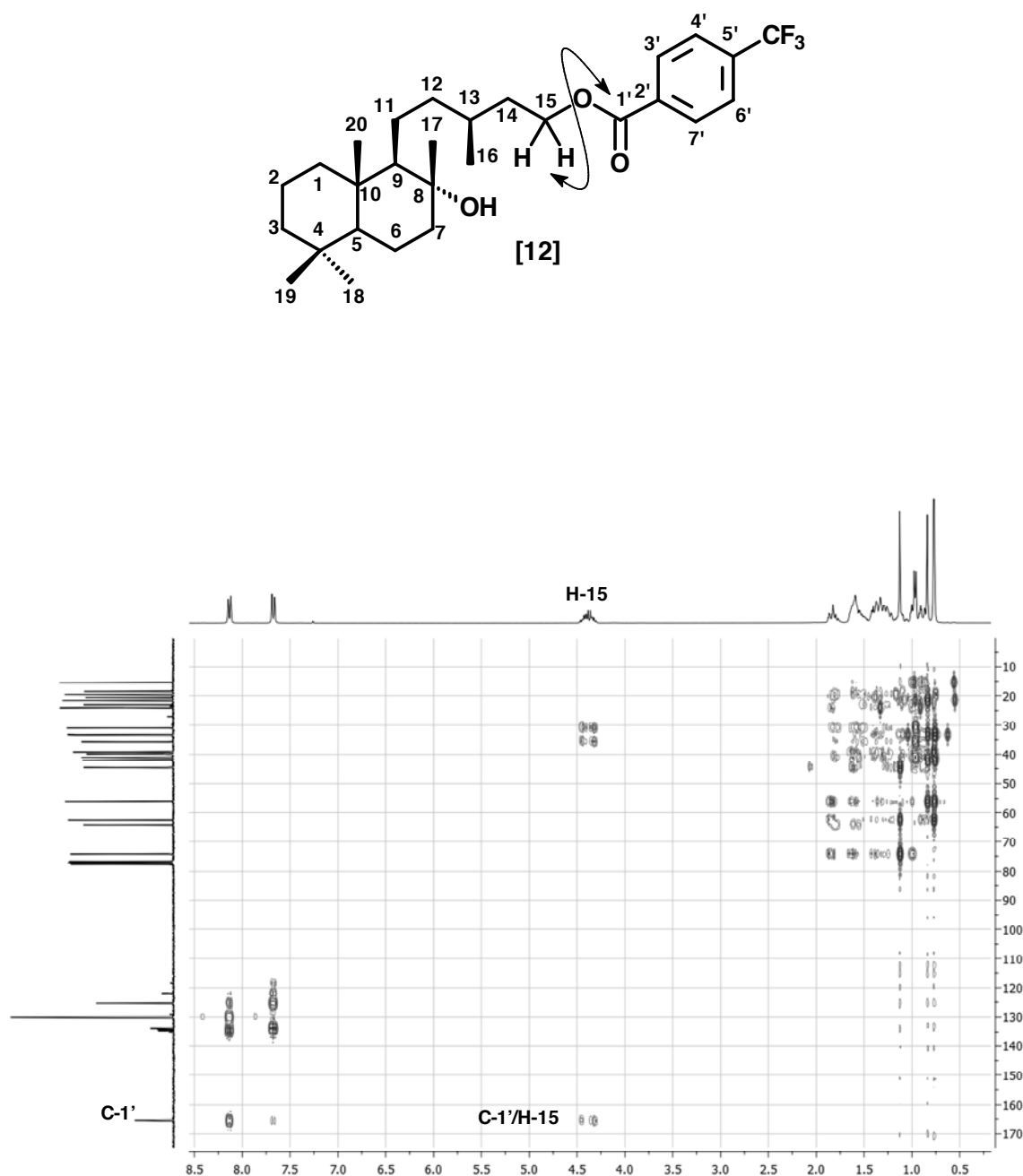
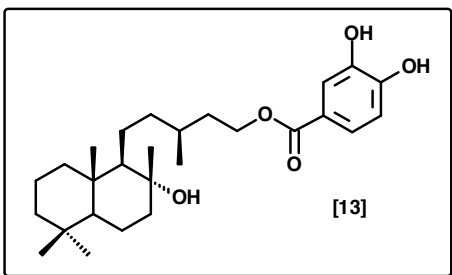


Tabla 12B/C: Desplazamientos Químicos (δ) en los Espectros de RMN-¹H y RMN-¹³C (CDCl₃, 300 y 75 MHz), del fragmento que corresponde al 4-trifluorobenzoato del éster [12]

H	H-3'	H-4'	H-6'	H-7'			
δ (ppm)	8,13	7,68	7,68	8,13			
M	<i>d</i>	<i>d</i>	<i>d</i>	<i>d</i>			
J(Hz)	8,1	8,1	8,1	8,1			
C	C-1'	C-2'	C-3'	C-4'	C-5'	C-6'	C-7'
δ (ppm)	165,4	133,7	129,9	125,3	134,4	125,3	129,9
Tipo	-O-C=O	=C<	=CH	=CH	=C-CF ₃	=CH	=CH

Figura 12F: Espectro HMBC (CDCl₃) del éster [12]

3,4-dihidroxibenzoato de 8-hidroxi-15-labdaniolo [13]



Después de tratar el diol **[1]** bajo las condiciones de reacción descritas en la parte experimental, en presencia de ácido 3,4-dihidroxibenzoico (los OH fenólicos fueron protegidos antes de la esterificación y desprotegidos después de la misma), se obtuvo mediante purificación por columna flash un sólido blanco, que se reveló como una mancha homogénea sobre la TLC. A continuación se presentan los espectros RMN-¹H, RMN-¹³C y HMBC del éster aromático **[13]**. En los espectros se observan claramente las señales de anillo aromático 1,4 disustituido.

En los espectros se observan claramente las señales de anillo aromático 1,4 disustituido.

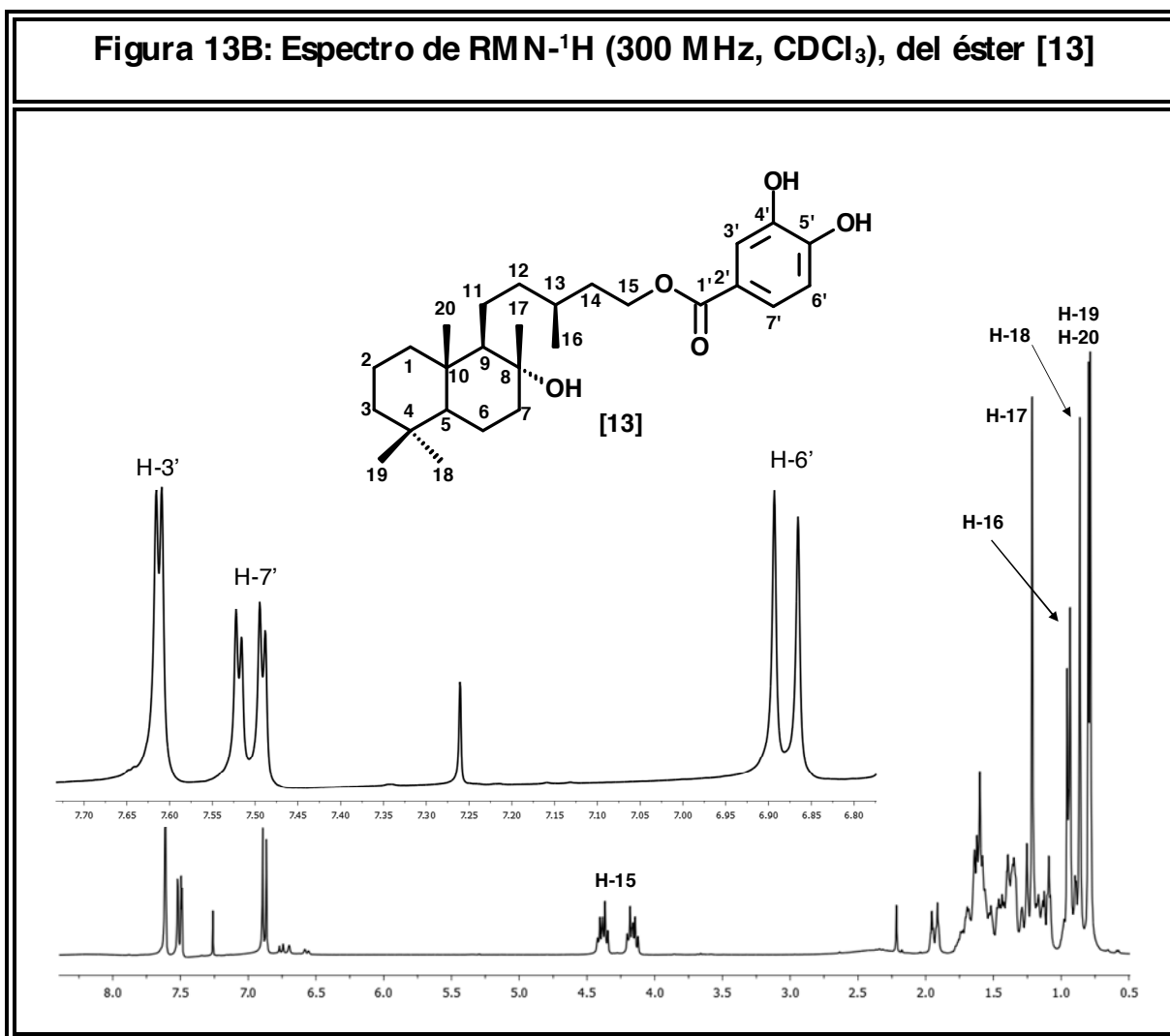


Figura 13C: Espectro de RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃), del éster [13]

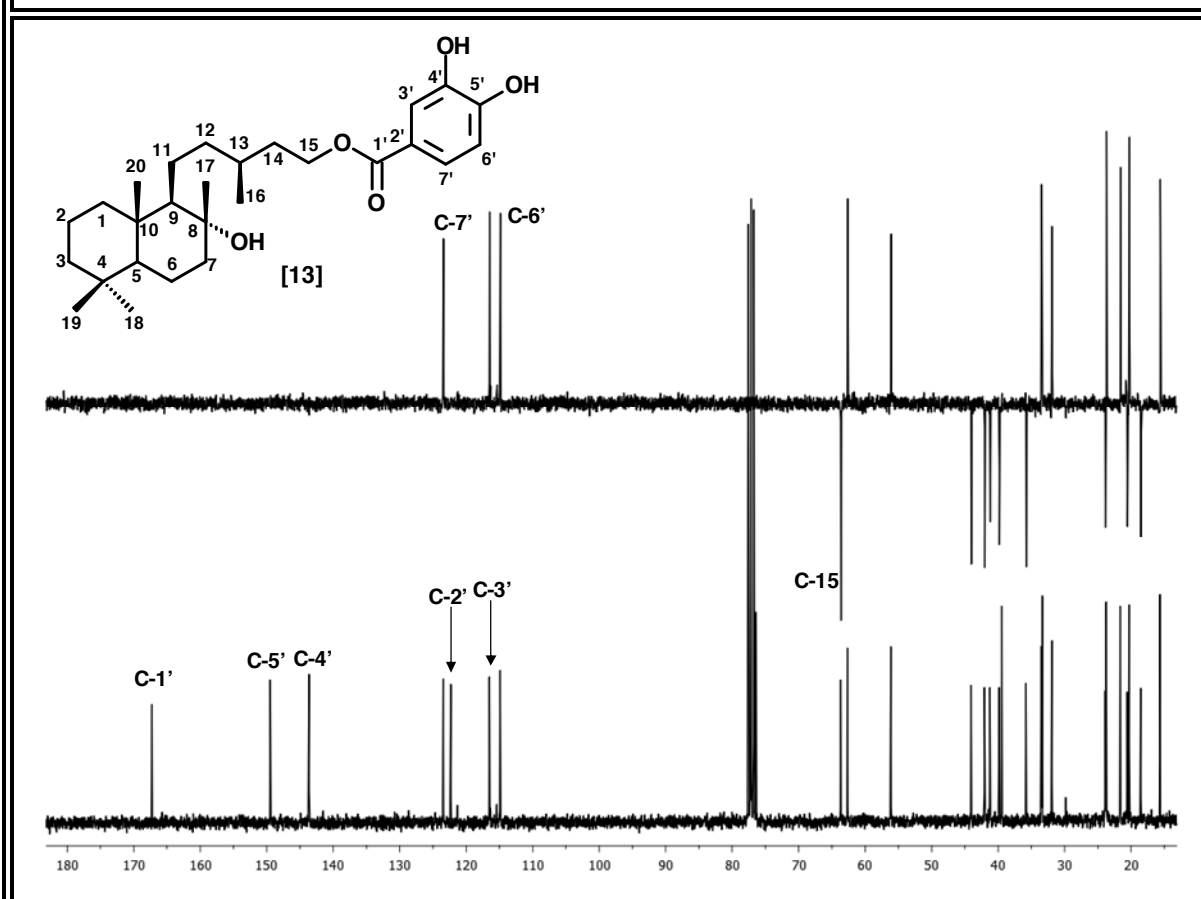
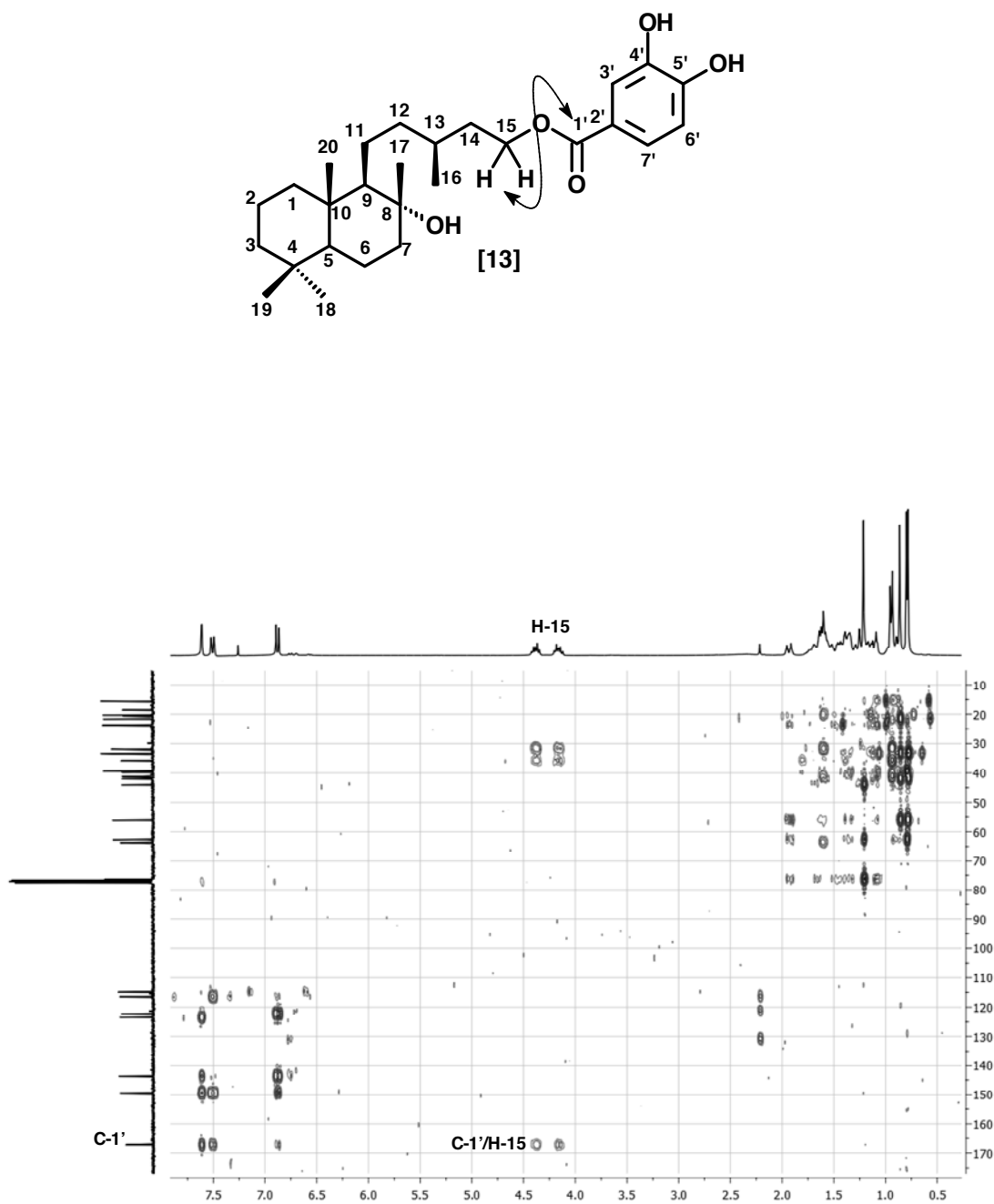
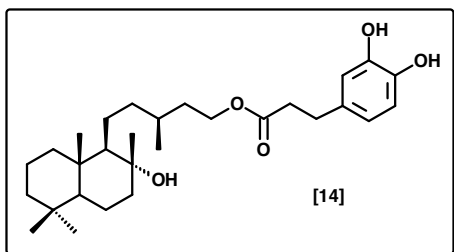


Tabla 13B/C: Desplazamientos Químicos (δ) en los Espectros de RMN-¹H y RMN-¹³C (CDCl₃, 300 y 75 MHz), del fragmento que corresponde al 3,4-dihydrobenzoato del éster [13]

H	H-3'		H-6'		H-7'		
δ (ppm)	7,61		6,88		7,51		
M	<i>d</i>		<i>d</i>		<i>Dd</i>		
<i>J</i> (Hz)	1,9		8,3		8,3 y 1,9		
C	C-1'	C-2'	C-3'	C-4'	C-5'	C-6'	C-7'
δ (ppm)	167,1	122,3	116,4	143,6	149,3	114,8	123,3
Tipo	-O-C=O	=C<	=CH	=C-O	=C-O	=CH	=CH

Figura 13F: Espectro HMBC (CDCl₃) del éster [13]

3-(3,4-dihidroxibencil)-propanoato de 8-hidroxi-15-labdaniolo [14]



Después de tratar el diol [1] bajo las condiciones de reacción descritas en la parte experimental, en presencia de ácido 3-(3,4-dihidroxibencil)-propanoico (los -OH fenólicos fueron protegidos antes de la esterificación y desprotegidos después de la misma), se obtuvo un compuesto oleoso, que se revelo como una mancha homogénea sobre la

TLC. A continuación se presentan los espectros RMN-¹H, RMN-¹³C y HMBC del éster aromático [14]. En los espectros se observan claramente las señales de anillo aromático 1,4 disustituido.

Figura 14B: Espectro de RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃), del éster [14]

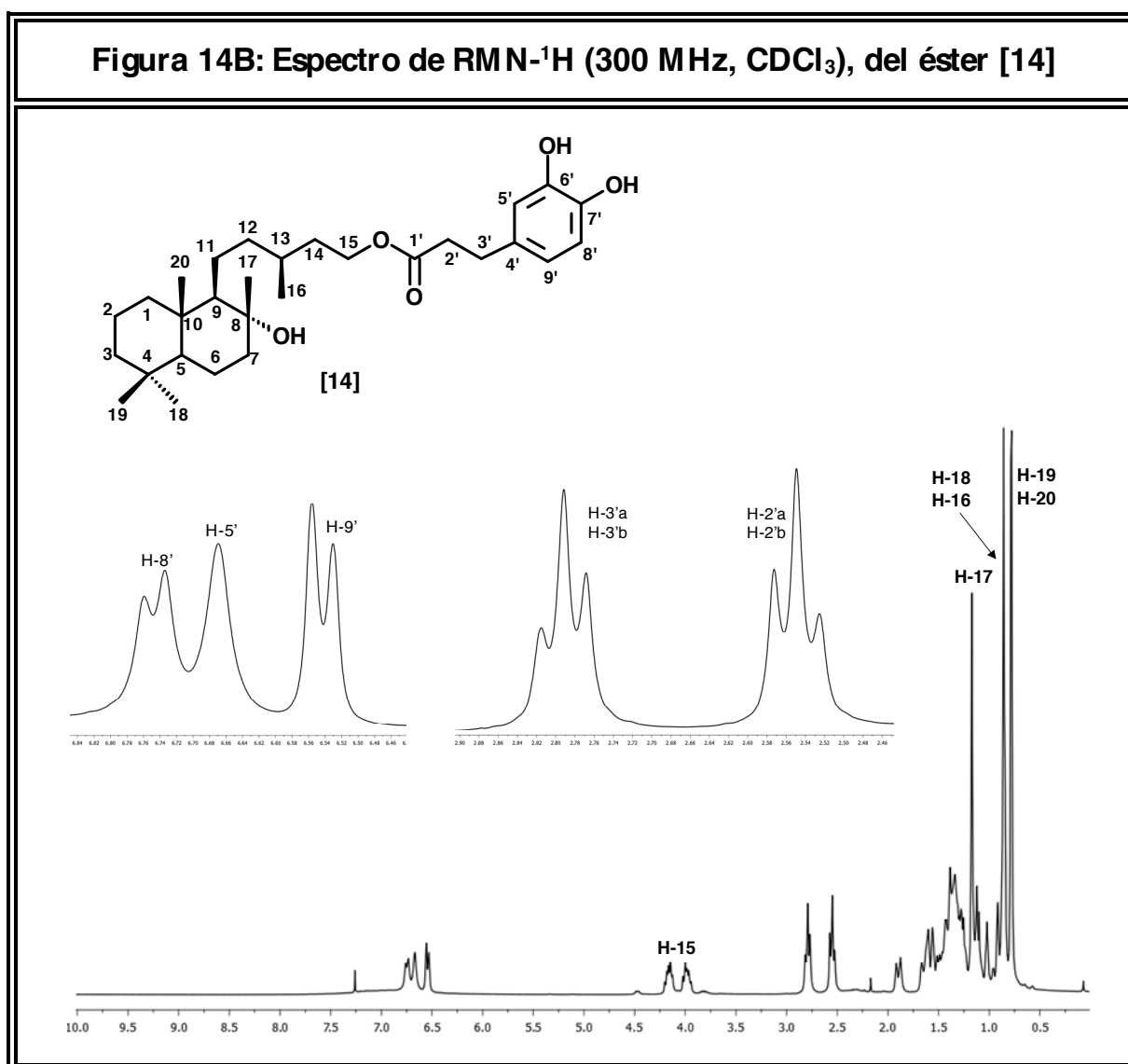


Figura 14C: Espectro de RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃), del éster [14]

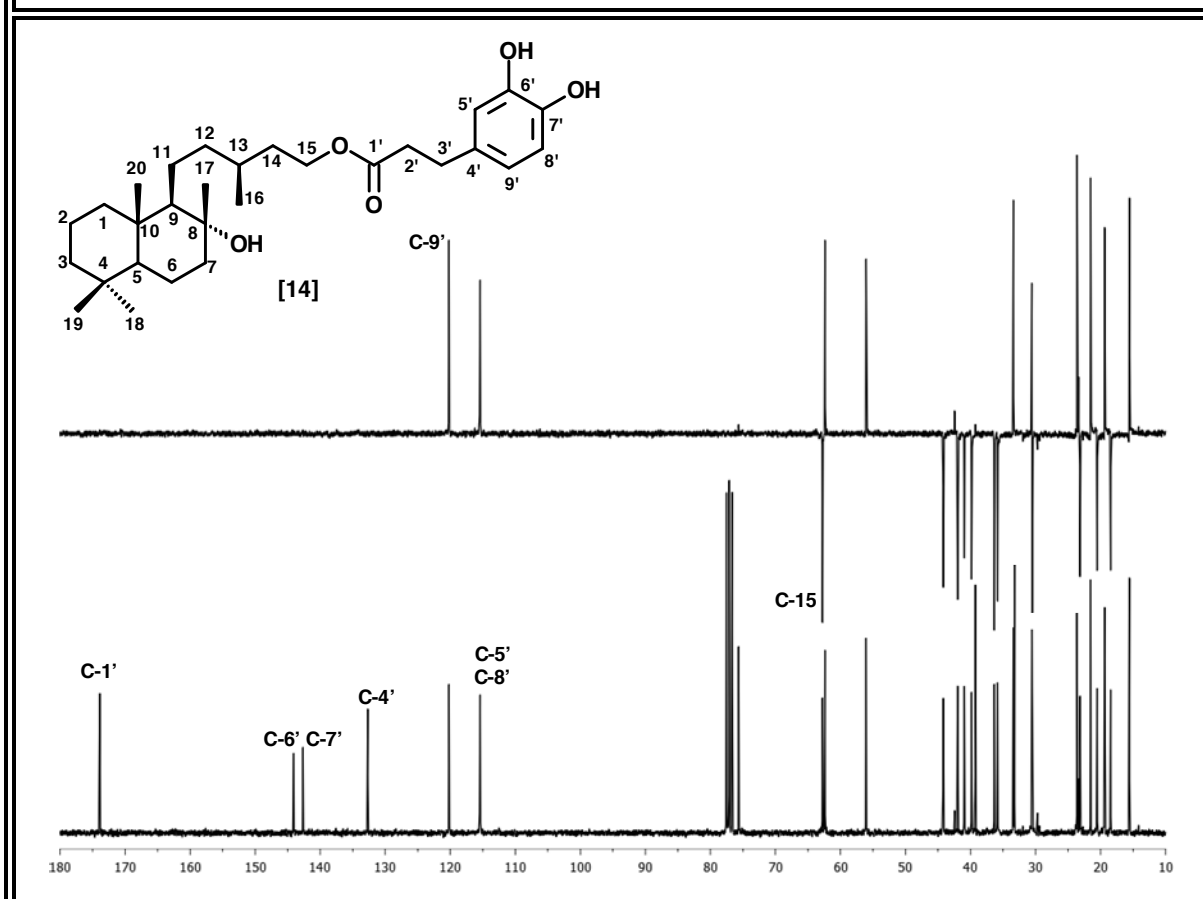
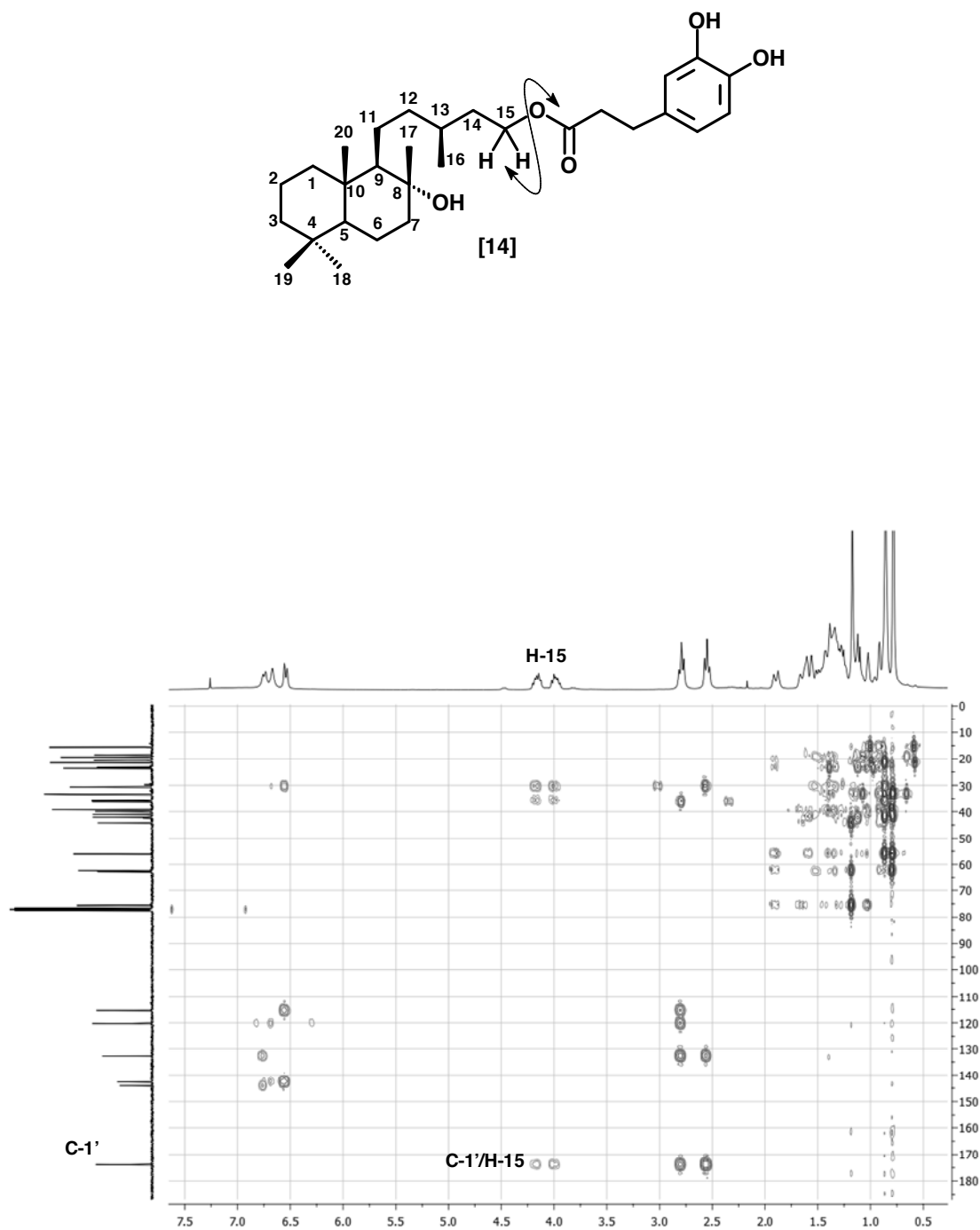
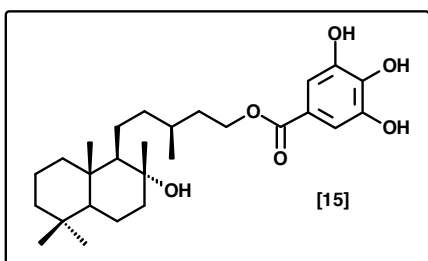


Tabla 14B/C: Desplazamientos Químicos (δ) en los Espectros de RMN-¹H y RMN-¹³C (CDCl₃, 300 y 75 MHz), del fragmento que corresponde al 3-(3,4-dihydroxibenceno)-propanoato del éster [14]

H	H-2'a/H-2'b	H-3'a/H-3'b	H-5'	H-8'	H-9'		
δ (ppm)	2,55	2,79	6,67	6,75	6,54		
M	<i>t</i>	<i>t</i>	<i>s</i>	<i>d</i>	<i>d</i>		
J(Hz)	7,1	7,1	-	7,5	7,5		
C	C-1'	C-4'	C-5'	C-6'	C-7'	C-8'	C-9'
δ (ppm)	173,8	132,6	115,4	144,0	142,6	115,4	120,2
Tipo	-O-C=O	=C<	=CH	=C-O	=C-O	=CH	=CH

Figura 14F: Espectro HMBC (CDCl₃) del éster [14]

3,4,5-trihidroxibenzoato de 8-hidroxi-15-labdaniolo [15]



Después de tratar el diol [1] bajo las condiciones de reacción descritas en la parte experimental, en presencia de ácido 3,4,5-trihidroxibenzoico (los OH fenólicos fueron protegidos antes de la esterificación y desprotegidos después de la misma), se obtuvo un compuesto oleoso que se reveló como una mancha homogénea sobre la TLC. A continuación se

presentan los espectros RMN-¹H, RMN-¹³C y HMBC del éster aromático [15]. En los espectros se observan claramente las señales de anillo aromático 1,4 disustituido.

Figura 15B: Espectro de RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃), del éster [15]

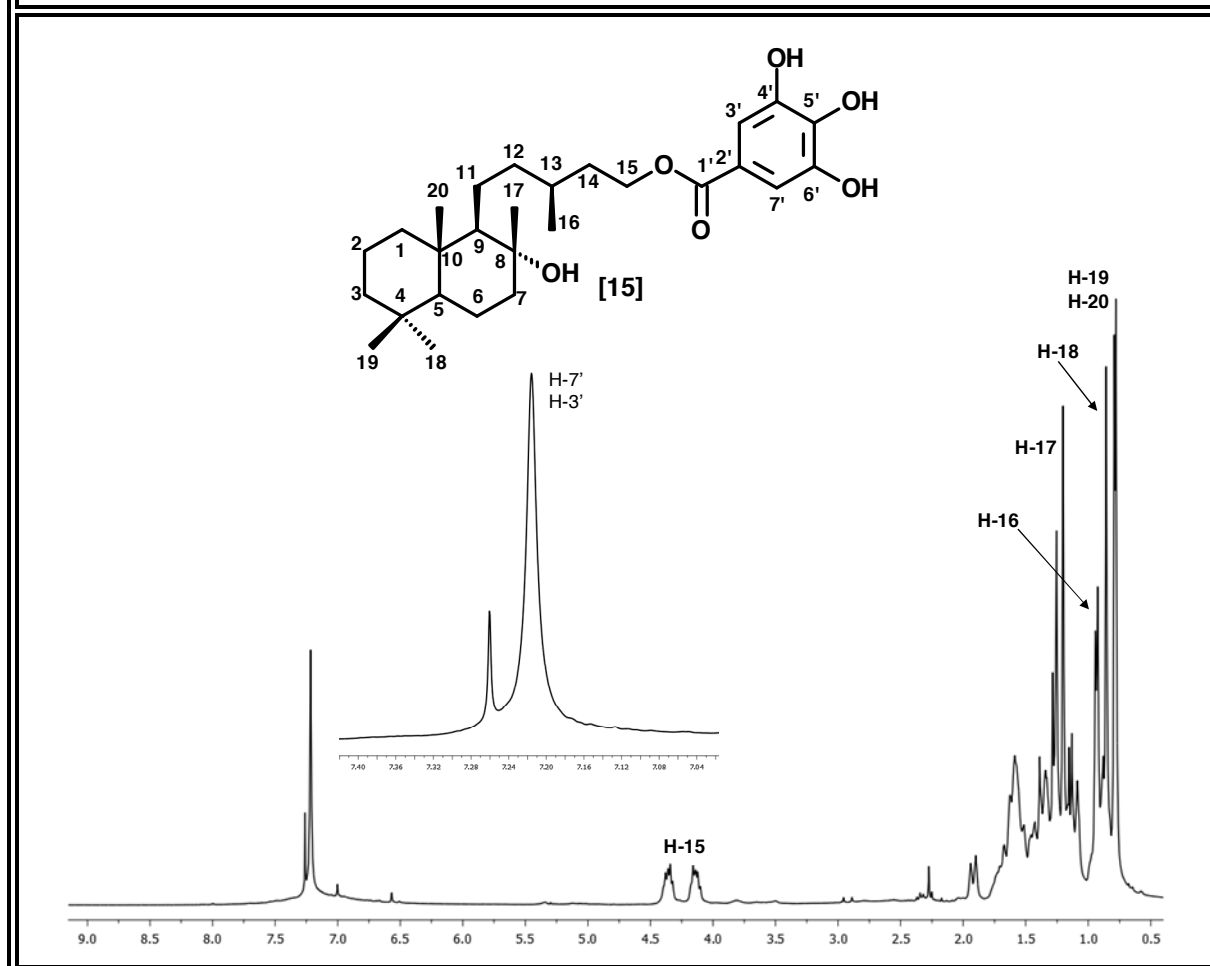


Figura 15B: Espectro de RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃), del éster [15]

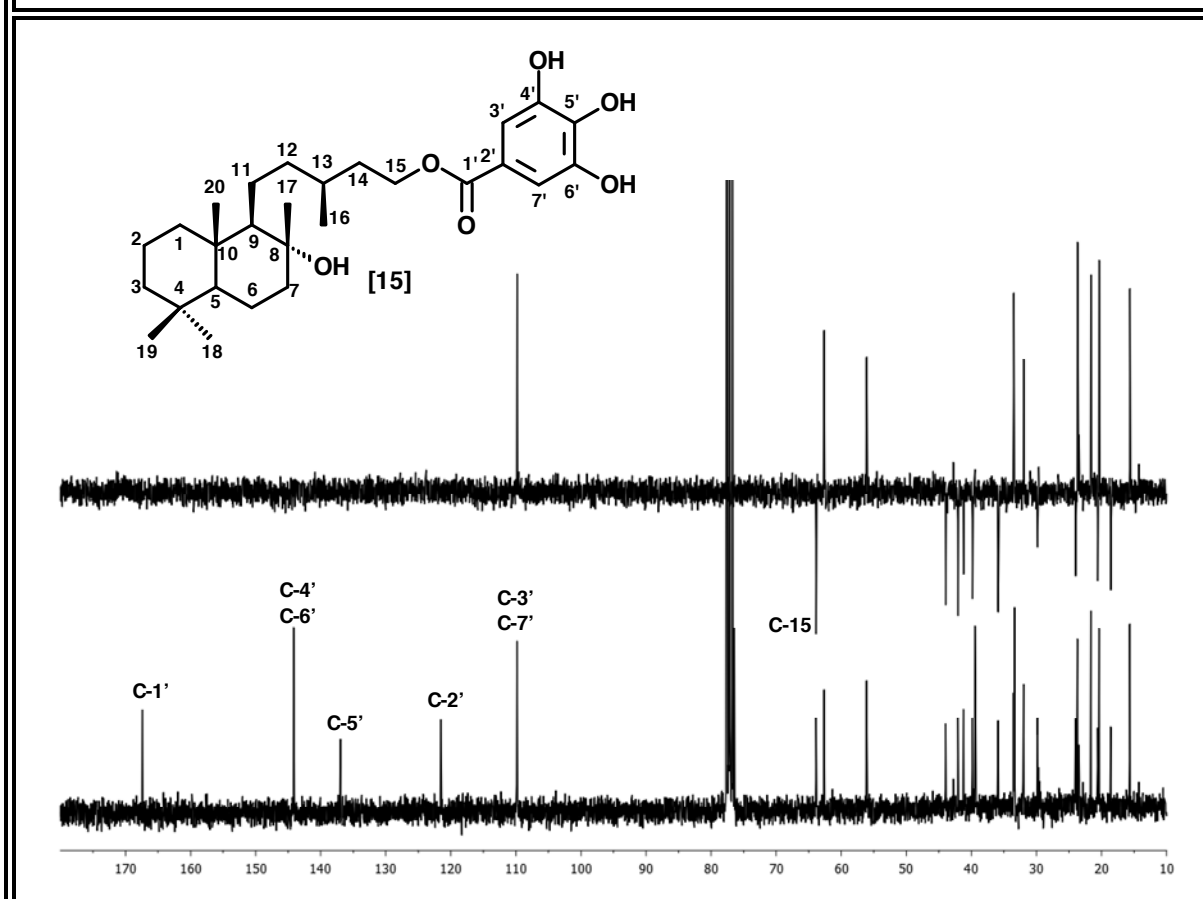
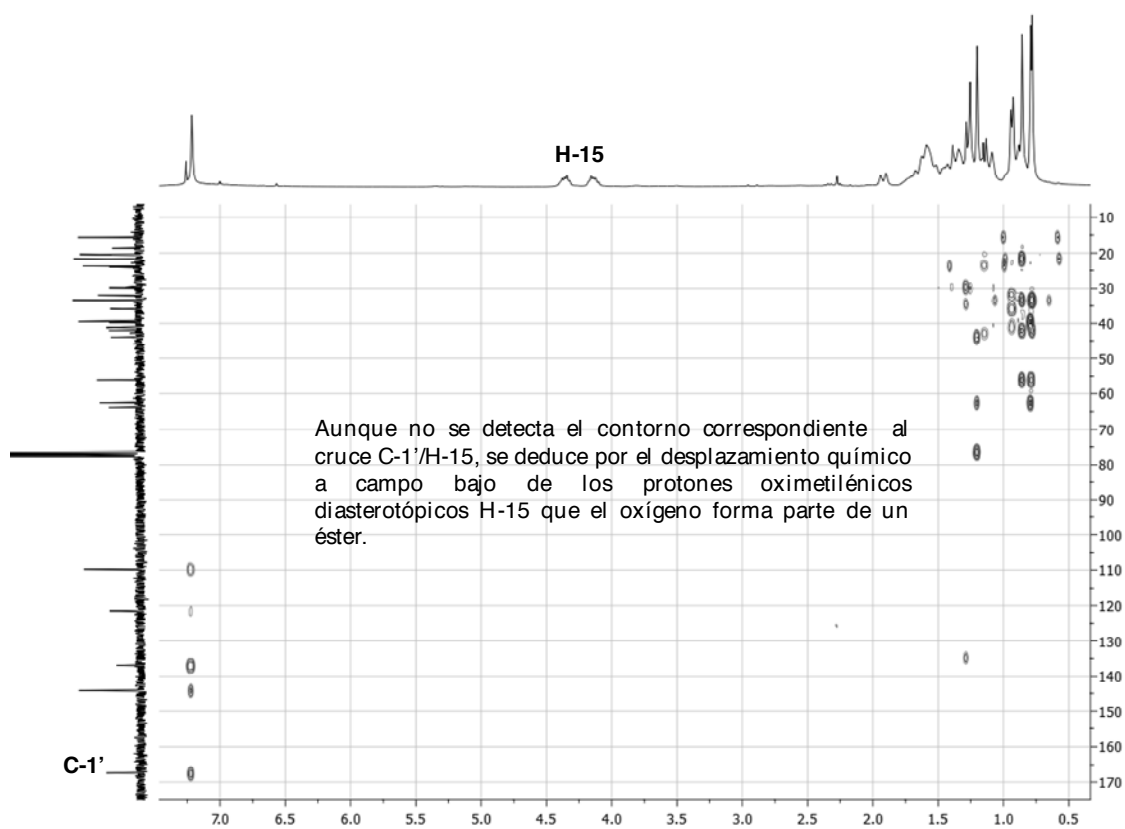
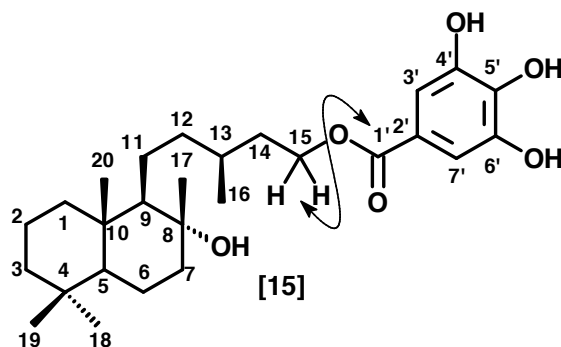


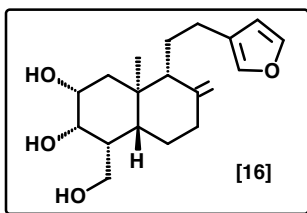
Tabla 15B/C: Desplazamientos Químicos (δ) en los Espectros de RMN-¹H y RMN-¹³C (CDCl₃, 300 y 75 MHz), del fragmento que corresponde al 3,4,5-trihidroxibenzoato del éster [15]

H	H-3'		H-7'				
δ (ppm)	7,22		7,22				
M	s		s				
J(Hz)	-		-				
C	C-1'	C-2'	C-3'	C-4'	C-5'	C-6'	C-7'
δ (ppm)	167,3	121,4	109,8	144,2	136,9	144,2	109,8
Tipo	-O-C=O	=C<	=CH	=C-O	=C-O	=C-O	=CH

Figura 15F: Espectro HMBC (CDCl_3) del éster [15]



Austroepatol [16]

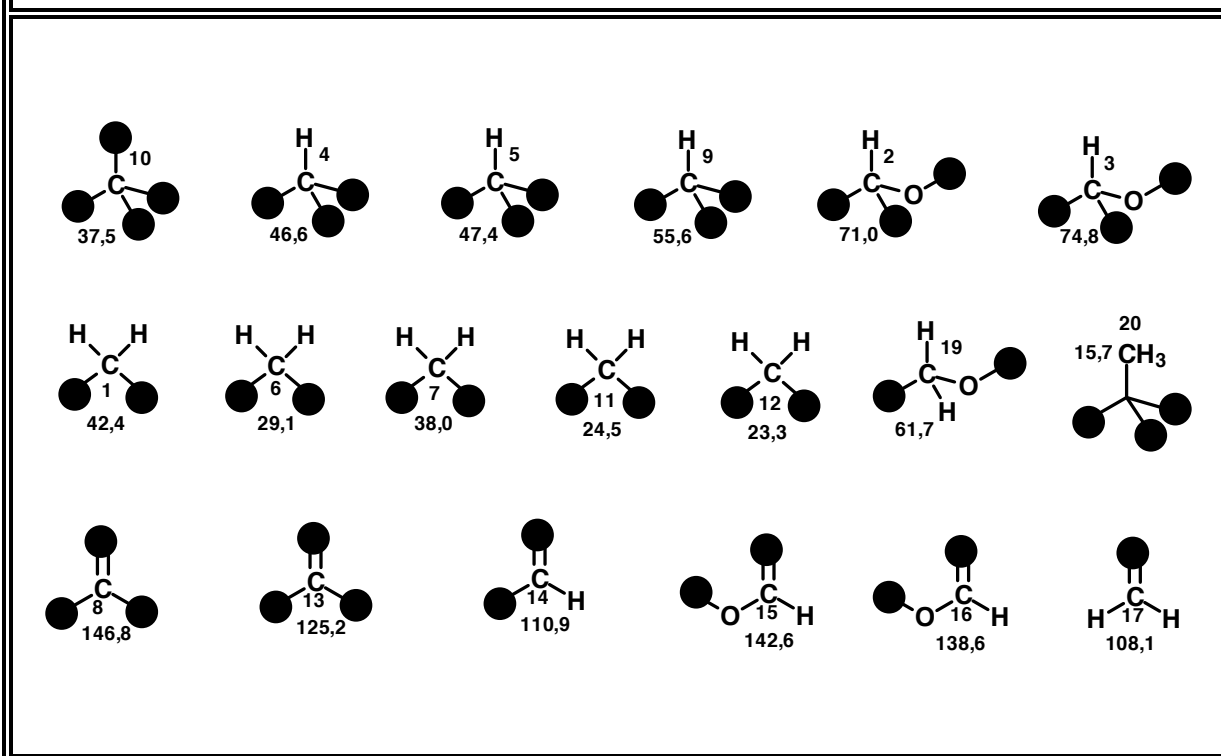


Este producto cristalizó adoptando la forma de un prisma incoloro (PF = 116-118°C) ($[\alpha]_{D}^{22,4}$: -78,9). Su espectro IR (Figura 16A; Tabla 16A) muestra bandas típicas de grupos hidroxilos [ν_{\max} : 3.368 cm^{-1} (O-H); ν_{\max} : 1.100-1250 cm^{-1} (C-O)], de olefinas [ν_{\max} : 3.082 cm^{-1} (=C-H); ν_{\max} : 1.642 cm^{-1} (C=C)]. Los datos obtenidos del análisis de sus espectros de

RMN- ^1H (Figura 16B; Tabla 16B) y de RMN- ^{13}C (BB, DEPT 90 y 135) (Figura 16C; Tabla 16C), permitieron determinar el número de hidrógenos y de carbonos presentes en la molécula, y también, el grado de hibridación y tipo de sustitución de cada carbono, con lo cual fue posible establecer la fórmula molecular $^*\text{C}_{19}\text{H}_{28}\text{O}_4$.

A continuación (Cuadro III) se indican el número total de metilos, metilenos, metinos y carbonos cuaternarios que corresponden a las veinte (19) señales que se observan entre 15 y 150 ppm en los espectros RMN- ^{13}C y DEPT 135 (Fig. 16C).

Cuadro III: Carbonos que conforman la estructura del Austroepatol [16]



(*) Los oxígenos de los hidroxilos fueron contabilizados al denotar la composición elemental de los grupos -CH₂-O- y -C-O-.

Figura 16A: Espectro Infrarrojo (KBr), del Austroeuapatol [16]

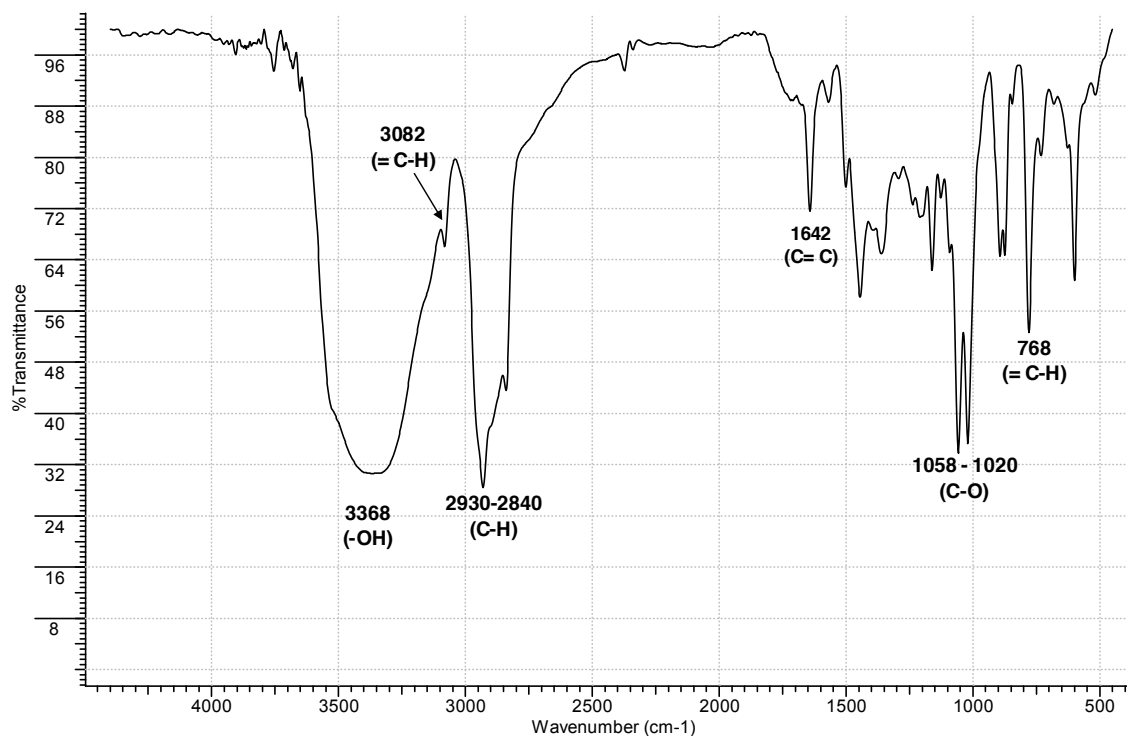


Tabla 16A: Bandas de Absorción Significativas en el Espectro IR (KBr), del Austroeuapatol [16]

$\nu_{\text{máx.}} (\text{cm}^{-1})$	3.368	3.082	2.920 y 2.840	1.642	1.058 y 1.020
Asignación	O-H	= C-H	C-H	C=C	C-O

Los datos anteriores permiten establecer como hipótesis de trabajo, que el compuesto en estudio es posiblemente un nor diterpeno. La fórmula establecida según lo mencionado anteriormente $\text{C}_{19}\text{H}_{28}\text{O}_4$, exige seis (6) grados de insaturación, tres (3) de los cuales corresponden a dobles enlaces carbono-carbono (C=C), en un todo de acuerdo con los datos de IR y con la detección, en su espectro de RMN- ^{13}C de 6 picos propios de carbonos sp^2 de olefinas. En consecuencia, las tres insaturaciones restantes corresponden a anillos, con lo cual el compuesto es tricíclico.

Figura 16B: Espectro de RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃), del Austroepatol [16]

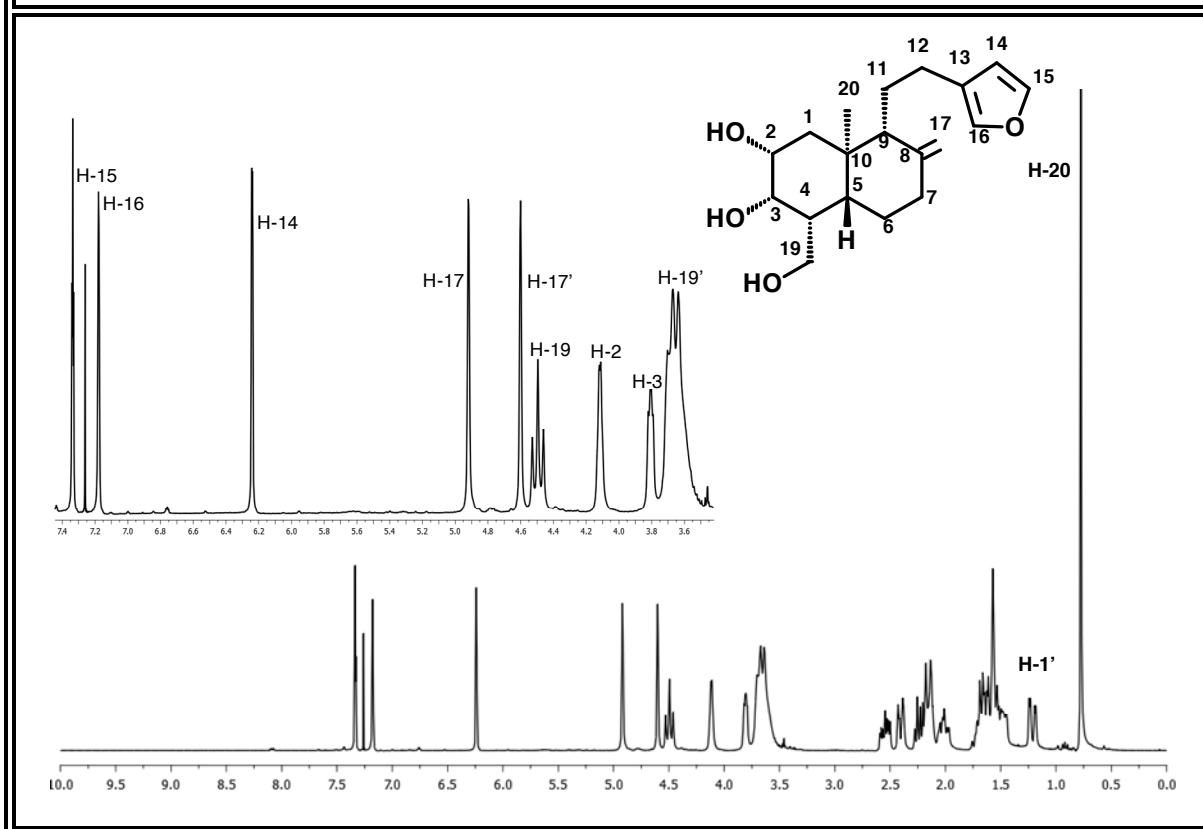


Tabla 16B: Desplazamientos Químicos (δ) en el Espectro de RMN-¹H (CDCl₃, 300 MHz), del Austroepatol [16]

H	H-2	H-3	H-4	H-5	H-9	H-14	H-15
δ (ppm)	4,09	3,77	2,10	1,51	1,54	6,23	7,32
M	<i>d</i>	<i>dd</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>d</i>	<i>t</i>
J(Hz)	2,4	5,3 y 3,3	-	-	-	0,7	1,5
H	H-16	H-17	H-17'	H-19	H-19'	H-20	Valores de δ , relativos al TMS como referencia interna
δ (ppm)	7,17	4,91	4,59	4,46	3,60	0,76	
M	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>t</i>	<i>d</i>	<i>s</i>	
J(Hz)	-	-	-	10,2	8,8	-	

Figura 16C: Espectro de RMN-¹³C (100 MHz, CDCl₃), del Austroepatol [16]

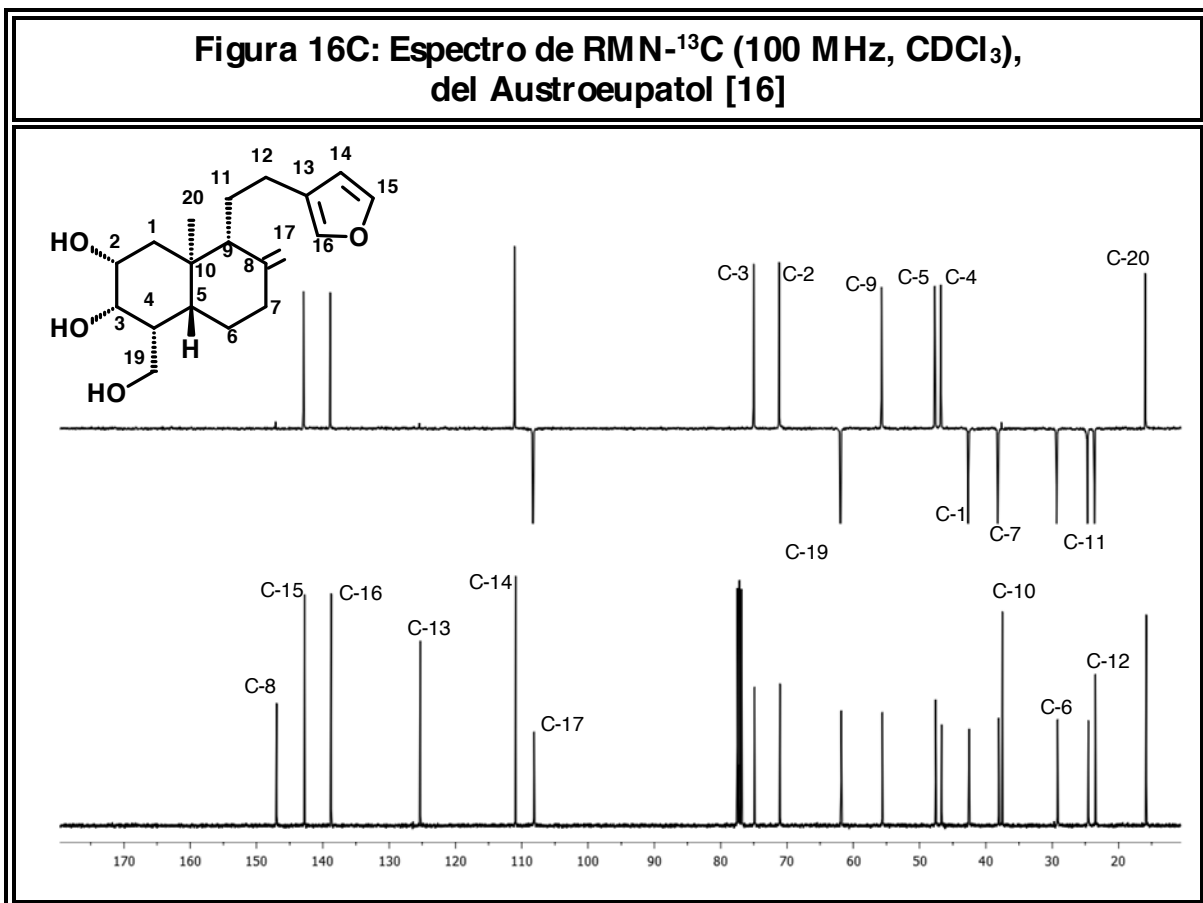


Tabla 16C: Desplazamientos Químicos (δ) en el Espectro de RMN-¹³C (CDCl₃, 100 MHz), del Austroepatol [16]

C	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	C-7
δ (ppm)	42,4	71,0	74,8	46,6	47,4	29,1	38,0
Tipo	>CH ₂	>CH-O-	>CH-O-	>CH	>CH	>CH ₂	>CH ₂
C	C-8	C-9	C-10	C-11	C-12	C-13	C-14
δ (ppm)	146,8	55,6	37,5	24,5	23,3	125,2	110,9
Tipo	= C<	>CH	>C<	>CH ₂	>CH ₂	= C<	= C-H
C	C-15	C-16	C-17	C-19	C-20	Valores de δ , relativos al TMS como referencia interna	
δ (ppm)	142,6	138,6	108,1	61,7	15,7		
Tipo	= C-H	= C-H	= CH ₂	>CH ₂ -O-	-CH ₃		

En la región comprendida entre 100 ppm y 150 ppm del espectro de RMN- ^{13}C (Fig. 16B) se observan un total de seis (6) señales de las cuales, según lo indica el DEPT 135 (Fig. 16B, Tabla 16B), una corresponde a un carbono metilénico olefínico exocíclico [δ_{C} : 108,1 (=CH $_2$; C-17)]. Según la multiplicidad de los protones metilénicos referenciados como H-17 y H-17' [δ_{H} : 4,91, s, (H-17) y δ_{H} : 4,65, s, (H-17')] se deduce que forman parte de una olefina disustituida, por lo tanto, el otro carbono del sistema alquénico es cuaternario [δ_{C} : 146,8 (=C<; C-8)] (Fig. 16F-1). Los cuatro carbonos sp^2 restantes conforman un sistema aromático, el cual, necesariamente debe ser de tipo furánico monosustituido de manera de justificar que tres de los carbonos sean metinos (Fig. 16C, Tabla 16C y Fig. 16E) (Fig. 16F-1).

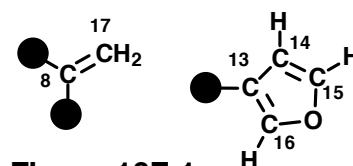


Figura 16F-1

En el espectro HMBC (Fig. 16F) se puede observar que el singulete que resuena a campo alto en el espectro RMN- ^1H (Fig. 16B Tabla 16B) atribuido al metilo angular [δ_{H} : 0,76; s, (-CH $_3$, H-20); δ_{C} : 15,7 (-CH $_3$; C-20)] se intercorrelaciona con un carbono cuaternario [δ_{C} : 37,5 (>C<; C-10)] y dos carbonos metínicos [δ_{H} : 1,51, *m*, (>CH, H-5); δ_{C} : 47,4 (>CH; C-5) y [δ_{H} : 1,54, *m*, (>CH, H-9); δ_{C} : 55,6 (>CH; C-9)]. A su vez, los protones de la olefina exocíclica presentan cruces con el carbono cuaternario (C-10) y uno de los metinos mencionados anteriormente. De esta forma, es posible proponer la subunidad estructural [A] (Fig. 16F-2).

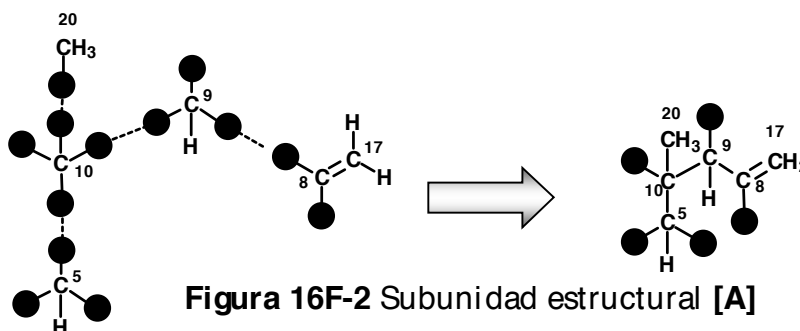


Figura 16F-2 Subunidad estructural [A]

Los protones oximetínicos del sustrato [16] [δ_{H} : 4,91 (H-2) y δ_{H} : 3,77 (H-3)], presentan en su espectro COSY (Fig. 16D) correlaciones entre sí (H-2 \leftrightarrow H-3) lo cual indica que ambos están ubicados a tres (3) enlaces de distancia (Fig. 16F-3). El hidrógeno referenciado como H-2, se correlaciona con protones metilénicos (H-2 \leftrightarrow H-1') (Fig. 16D), esto sugiere que el metino C-2 está unido a un metileno [δ_{C} : 42,4 (>CH $_2$; C-1); y δ_{H} : 2,11 (>CH $_2$, H-1); δ_{H} : 1,18 (>CH $_2$, H-1')] (Fig. 16F-3). Los protones oximetilénicos [δ_{H} : 4,46; *t*, $J = 10,2$ Hz (H-19) y δ_{H} : 3,60; *d*, $J = 8,8$ Hz (H-19')] están intercorrelacionados con H-3 (H-19 \leftrightarrow H-3 \leftrightarrow H-4) a través de una señal en el espectro COSY (Fig. 16D) que pertenece a un protón metínico [δ_{H} : 2,10; *m*, (H-4); δ_{C} : 46,6 (C-4)]. Además, dado que no existen más carbonos sp^3 oxigenados, se puede concluir que las funciones oxigenadas corresponden a grupos hidroxilo (Fig. 16F-3).

Con base en lo anteriormente mencionado, se establece la subunidad estructural **[B]**:

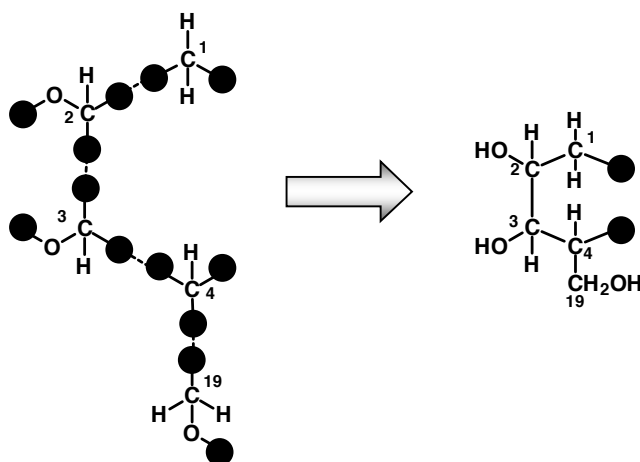


Figura 16F-3 Subunidad estructural **[B]**

La correlación C-1 \leftrightarrow H-20 observada en el espectro HMBC (Fig. 16F) permite conectar las subunidades estructurales **[A]** y **[B]**. También se puede apreciar que el anillo furánico se encuentra unido a un metileno [δ_C : 23,3 (>CH₂; C-12); δ_H : 2,54, *m*, (>CH₂, H-12), δ_H : 2,20, *m*, (>CH₂, H-12')]. Esto se constata mediante los cruces C-13 \leftrightarrow H-12/H-12' \leftrightarrow C-14 \leftrightarrow H-12/H-12' \leftrightarrow C-16 (Fig. 16F). Al incorporar sobre las subunidades estructurales planteadas anteriormente los metilenos restantes se genera la estructura gruesa representada en la figura 16F-4.

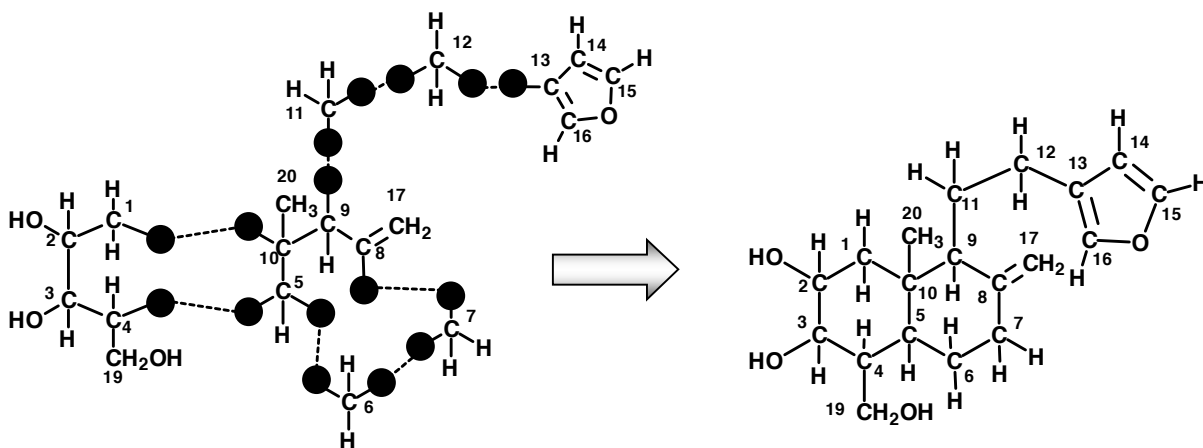
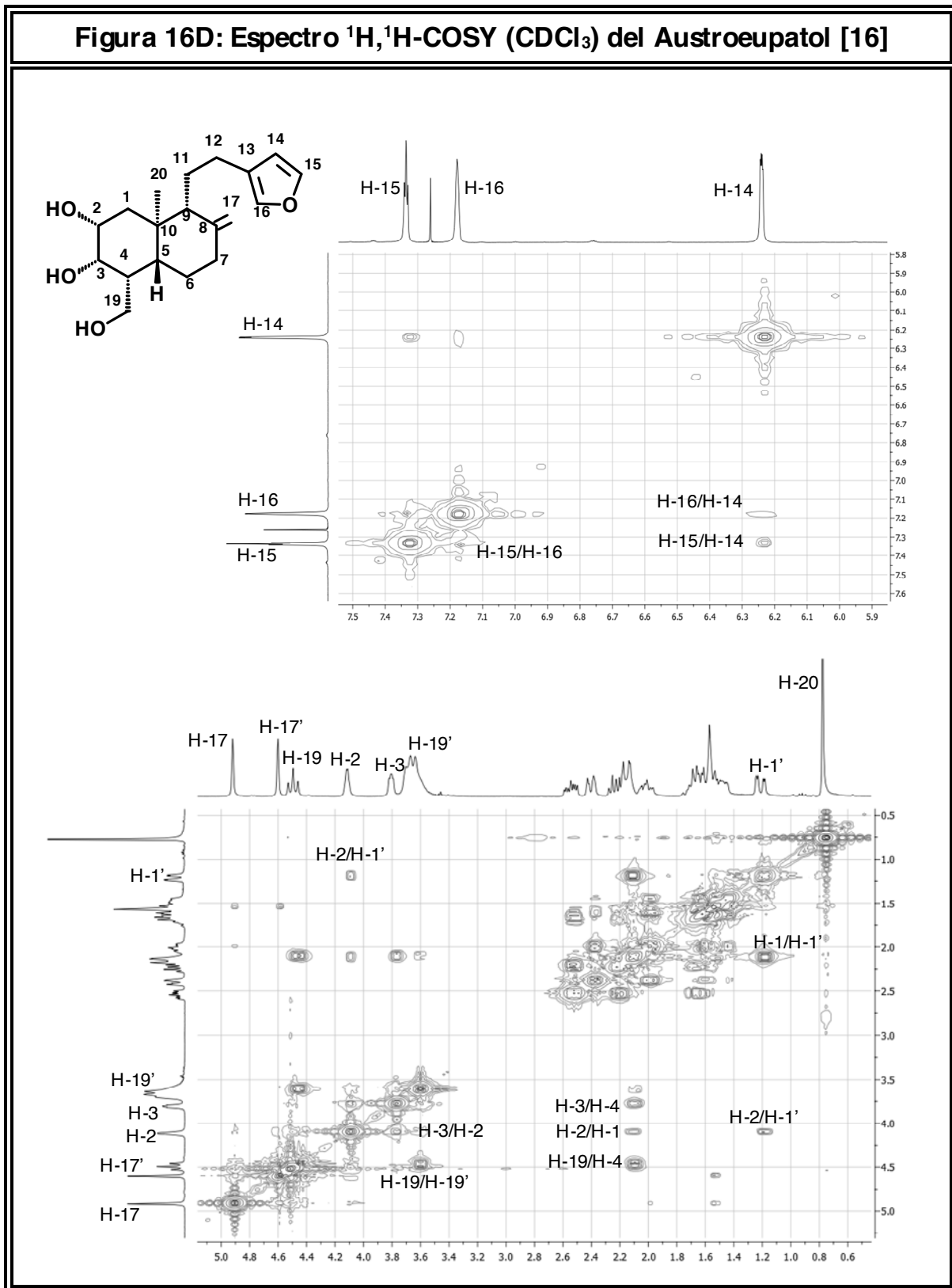


Figura 16F-4

La comparación de los datos obtenidos a partir del sustrato **[16]** con los reportados en la literatura (Triana *et al*, 1995), permitieron identificar el compuesto aislado como el **Austroepatol**, un triol *nor*-diterpénico de la serie del labdano.

Figura 16D: Espectro ^1H , ^1H -COSY (CDCl_3) del Austroeupatol [16]



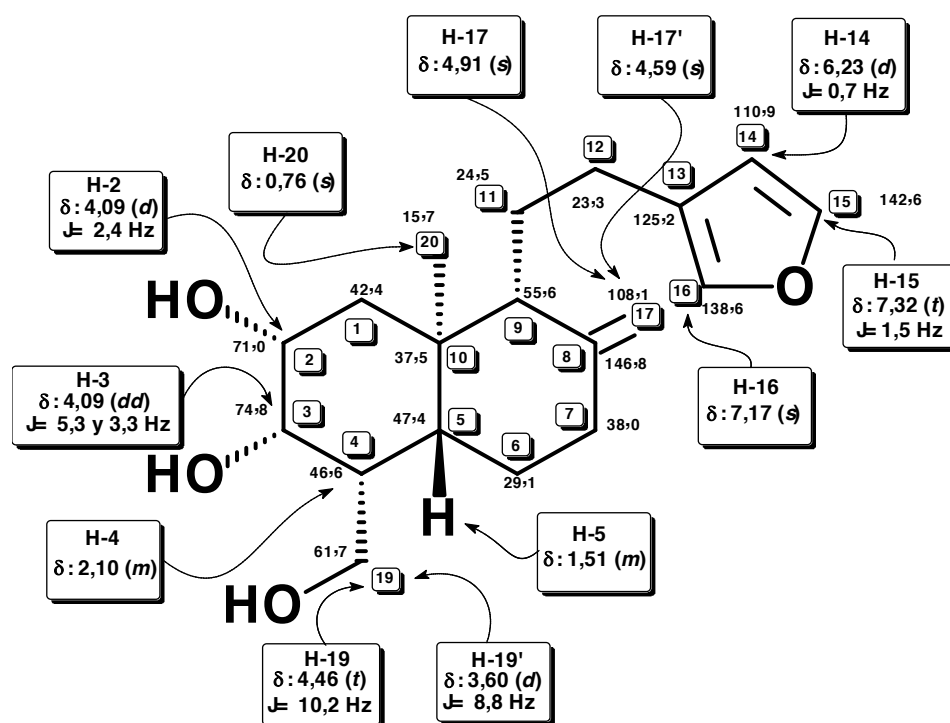


Figura 16E: Espectro HMQC (CDCl_3) del Austroeuaptol [16]

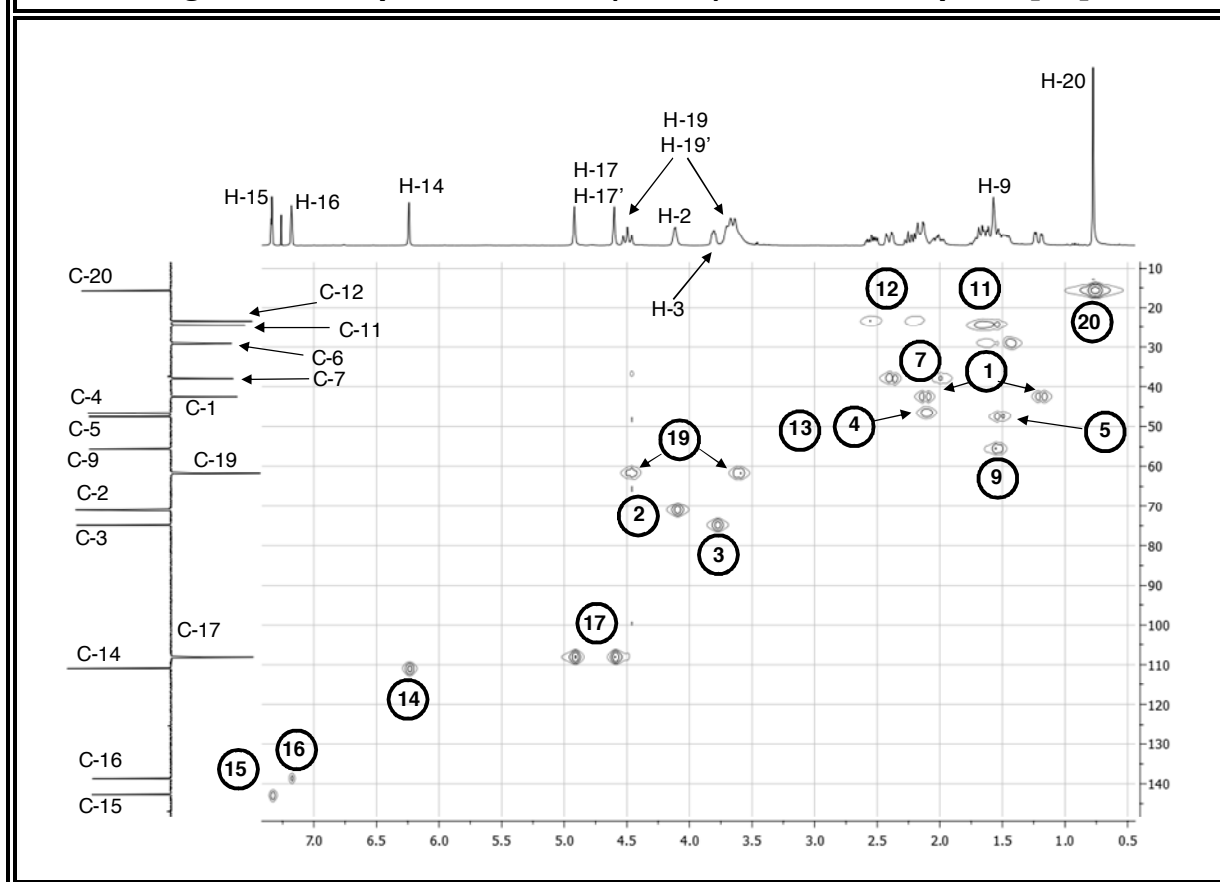
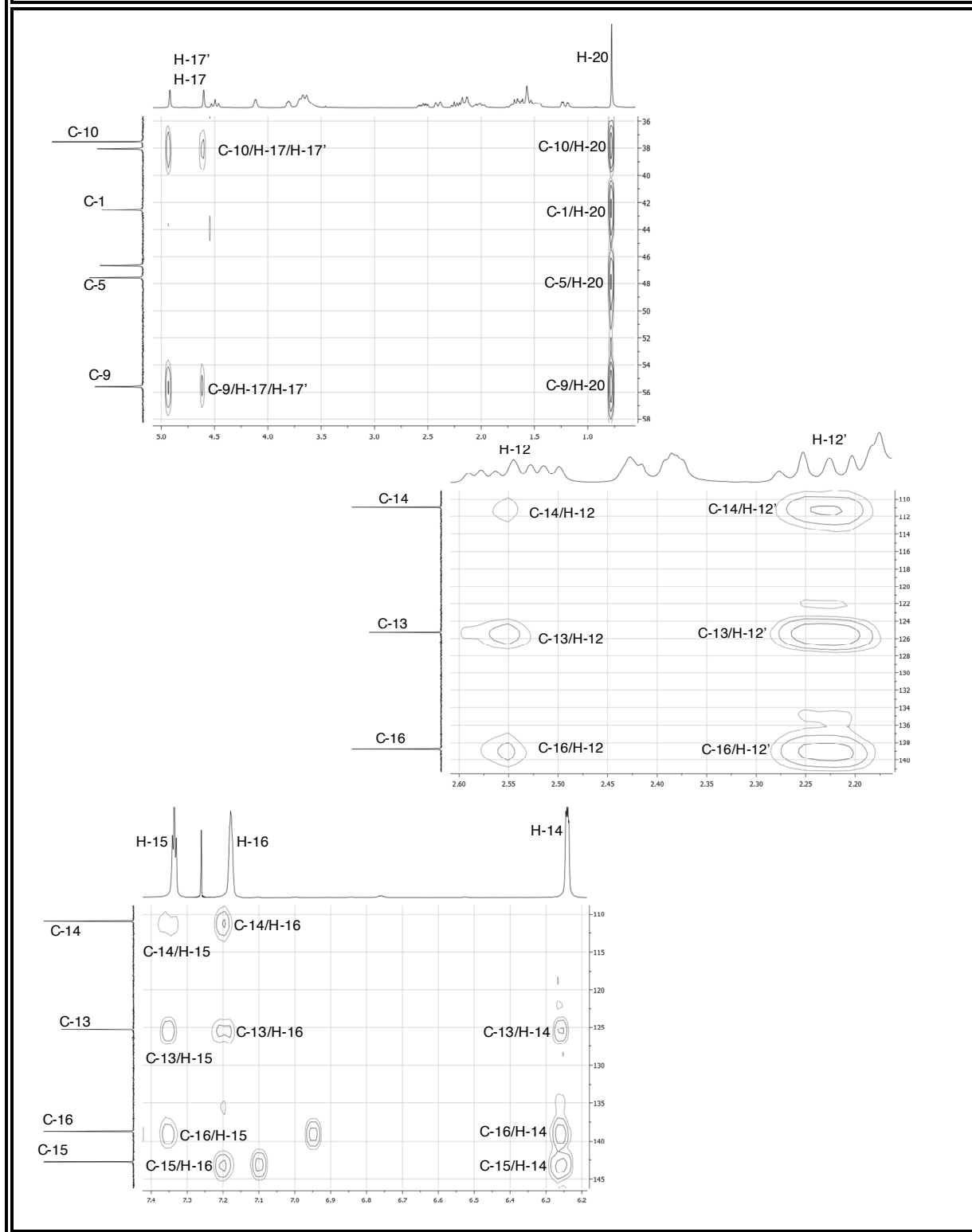
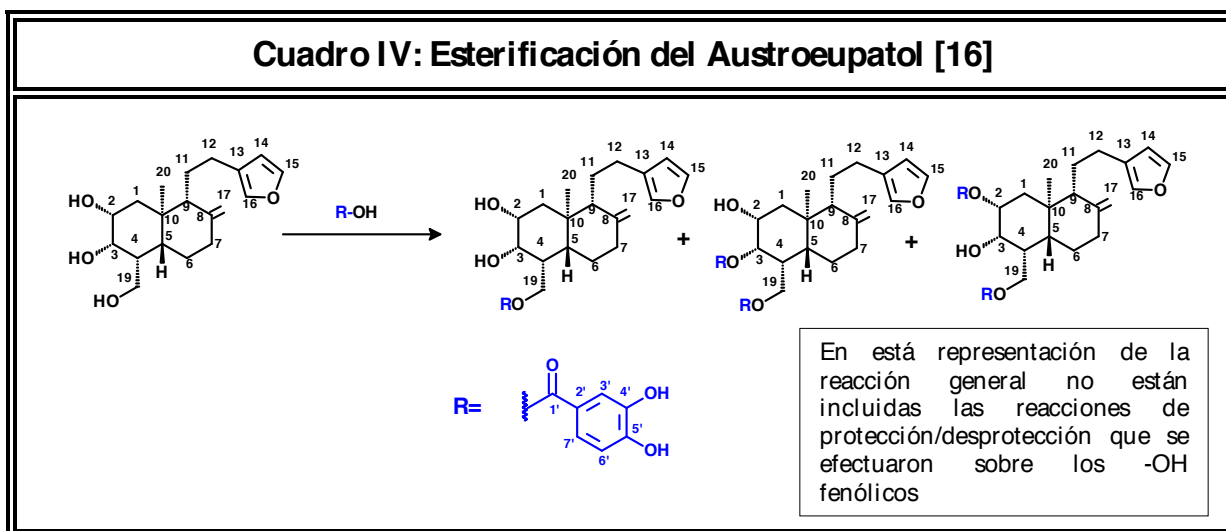


Figura 16F: Espectro HMBC (CDCl_3) del Austroeupatol [16]

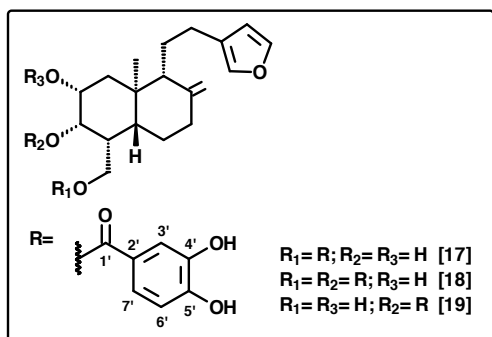
Ésteres del Austroepatol [16]

El triol [16] fue esterificado con ácido 3,4-dihidroxibencénico (también conocido como ácido protocatecuico ó PCA). Para evitar la polimerización de los ácidos con los hidroxilos fenólicos, los mismos fueron previamente protegidos antes de efectuar el acoplamiento con el austroepatol [16] (según se indica en la sección experimental). Una vez confirmada la formación de los productos de esterificación (mediante el análisis de los espectros de RMN) se procedió a la purificación de los mismos, y finalmente, las funciones fenólicas fueron desprotegidas según lo indicado en la sección experimental. De los tres grupos hidroxilo del compuesto [16], se puede establecer, en función de los rendimientos obtenidos, que el más reactivo es el ubicado en C-19 (correspondiente al alcohol primario). Así pues, el éster [17] es el compuesto que se produce en mayor rendimiento, y sin lugar a dudas, es el primer compuesto que se genera en la reacción. Sin embargo; pese a que la formación del éster [17] está cinéticamente favorecida, no es posible controlar la selectividad de las esterificaciones del triol [16] mediante la estequiometría de la reacción, ya que la misma fue efectuada en condiciones equimolares y poco tiempo después del inicio se detectó en TLC una mancha intensa correspondiente a la formación de [17] y simultáneamente dos manchas tenues. Una correspondiente al diéster que resulta del acoplamiento del hidroxilo ubicado en la posición C-3 del sustrato [17] (diéster [18], este es el segundo producto en cuanto a rendimiento se refiere) y la otra corresponde al monoéster que se forma por el acoplamiento entre el ácido y hidroxilo ubicado en la posición C-3 del compuesto [16], este último se obtiene en menor rendimiento. Es oportuno destacar que no se detectó la esterificación del hidroxilo en C-2.

A continuación, se presenta la reacción general seguida para la formación de los ésteres obtenidos a partir del austroepatol [16] (Cuadro IV).



3,4 dihidroxibenzoato de 2,3-dihidroxi-19-austroepatilo [17], Bis (3,4 dihidroxibenzoato) de 2-hidroxi-3,19-austroepatilo [18] y 3,4 dihidroxibenzoato de 2,19-dihidroxi-3-austroepatilo [19]



El austroepatol [16] fue sometido a las condiciones de esterificación descritas en el parte experimental en presencia de ácido 3,4-bis(tercbutildimetilsililo)benzénico. La cromatografía en TLC de la mezcla de reacción reveló que se habían formado tres compuestos de mayor R_f que el sustrato inicial. Los productos fueron separados mediante columna

flash. Una vez efectuada la separación de los compuestos, fue removida la protección de los hidroxilos fenólicos (ver parte experimental). Así pues, luego de realizar un análisis minucioso de los espectros RMN uni y bidimensionales de [17], [18], [19] y contrastarlos con los del sustrato de partida [16], se observó que las señales alifáticas del núcleo terpenoide no presentaban variaciones significativas. Sin embargo, en las regiones aromáticas de los espectros RMN- 1H y RMN- ^{13}C de los productos de reacción, se observó un incremento en el número de señales. También puede apreciarse en la zona que corresponde a oximetinos y oximetilenos el desplazamiento a campo bajo de algunas señales. Así pues, se describen brevemente los cambios más significativos que se observan en los espectros RMN- 1H , RMN- ^{13}C y HMBC de los productos [17], [18] y [19] (se hará hincapié en las señales de los residuos ácidos y la de los oximetinos y oximetilenos del núcleo terpenoide):

1. En los espectros de RMN- 1H y RMN- ^{13}C (Figuras 17B, 17C y Tablas 17B, 17C) del éster [17] se puede observar que las señales correspondientes al metileno oxigenado (C-19/H-19/H-19') se han desapantallado [δ_H : 4,84, *dd*, $J= 11,7$ y $4,4$ Hz (H-19); $\Delta\delta$: 0,38 ppm respecto a H-19 en [16] (δ_H : 4,46, *t*, $J= 10,2$ Hz); δ_H : 4,59, *dd*, $J= 11,7$ y $6,6$ Hz (H-19'), $\Delta\delta$: 0,99 ppm respecto a H-19' en [16] (δ_H : 3,60, *d*, $J= 8,8$ Hz (H-19'))]; δ_C : 63,9 (C-19), $\Delta\delta$: 2,2 ppm respecto a C-19 en [16] (δ_C : 61,7)] lo cual constituye una evidencia importante para establecer que la esterificación se llevó a cabo en la posición C-19. También es posible observar en la región aromática de los espectros RMN- 1H y RMN- ^{13}C las señales correspondientes al anillo aromático 1,3,4-trisustituido. Finalmente, en el espectro de HMBC se observa el cruce entre los protones oximetilénicos del núcleo terpenoide y el carbono carbonílico del residuo ácido que se acopla al triol [16].

2. El compuesto **[18]**, presenta en la región de los carbonos sp^2 de su espectro de RMN- ^{13}C (Fig. 18C) un total de veinte (20) señales, de las cuales dos son atribuibles a sendos grupos carbonilos de ésteres [δ_C : 166,6 (C-1') y δ_C : 166,1 (C-1'')] desplazados a campo alto, lo cual indica que ambos forman parte de un sistema conjugado. Las dieciocho (18) señales restantes corresponden a dobles enlaces carbono-carbono. Descartando las cuatro señales aromáticas del anillo furánico [δ_C : 111,9 (C-14), δ_C : 139,7 (C-16), δ_C : 143,4 (C-15) y δ_C : 126,4 (C-13)] y los dos picos de la olefina exocíclica [δ_C : 148,4 (C-8) y δ_C : 108,2 (C-17)] se deduce que las doce (12) señales aromáticas restantes pertenecen a dos anillos bencénicos 1,2,4-trisustituídos. Con base en lo anterior, se concluye que el compuesto **[18]** es producto del acoplamiento entre el núcleo terpénico **[16]** y dos unidades de ácido 3,4-dihidroxibencénico. El desapantallamiento de las señales del oximetileno C-19 [δ_H : 4,99, *dd*, $J = 11,6$ y $4,4$ Hz (H-19); $\Delta\delta$: 0,56 ppm respecto a H-19 en **[16]** (δ_H : 4,46, *t*, $J = 10,2$ Hz); δ_H : 4,74, *dd*, $J = 11,6$ y $5,2$ Hz (H-19'), $\Delta\delta$: 1,14 ppm respecto a H-19' en **[16]** (δ_H : 3,60, *d*, $J = 8,8$ Hz (H-19'))]; δ_C : 63,6 (C-19), $\Delta\delta$: 1,9 ppm respecto a C-19 en **[16]** (δ_C : 61,7)] indica que se encuentra acoplado a uno de los residuos del ácido aromático. Debido al desplazamiento químico observado en el protón oximetínico asignado como H-3 [δ_H : 5,07, *dd*, $J = 6,1$ y $3,0$ Hz (H-3); $\Delta\delta$: 1,30 ppm respecto a H-3 en **[16]** (δ_H : 3,77, *dd*, $J = 5,3$ y $3,3$ Hz); δ_C : 76,4 (C-3), $\Delta\delta$: 1,6 ppm respecto a C-3 en **[16]** (δ_C : 74,8)] se puede establecer que la segunda unidad de ácido polifenólico está ubicada en la posición C-3. De esta forma, se determinó que el compuesto **[18]** es el *Bis* (3,4-dihidroxibenzoato) de 2-hidroxi-3,19-austroepatilo.
3. En el éster **[19]**, no se efectuó la desprotección de los hidroxilos fenólicos (debido al bajo rendimiento de la formación del producto según lo indicado en la parte experimental). Su estructura fue establecida mediante la comparación su espectro de RMN- 1H (Fig. 19B) y el de los compuestos **[16]**, **[17]** y **[18]**. En la región de los protones geminales a oxígeno de los espectros RMN- 1H de **[16]**, **[17]** y **[18]** (Figuras 16B, 17B y 18B) se aprecia claramente la multiplicidad y el desplazamiento químico de los protones oximetínicos y oximetilénicos antes y después de haber sido esterificados. La única señal que cambia notoriamente en el espectro del compuesto **[19]** (de las correspondientes al núcleo terpénico) es un doblete de dobletes [δ_H : 5,19, *dd*, $J = 6,4$ y $3,4$ Hz (H-3)] cuya multiplicidad coincide con la atribuida al protón H-3 en los compuestos **[16]**, **[17]** y **[18]**. El desplazamiento químico de H-3 en **[19]** indica que su oxígeno geminal forma parte de un grupo éster. Así pues, queda establecido que la esterificación se efectuó sobre C-3.

Figura 17B: Espectro de RMN-¹H [300 MHz, (CD₃)₂CO], del monoéster [17]

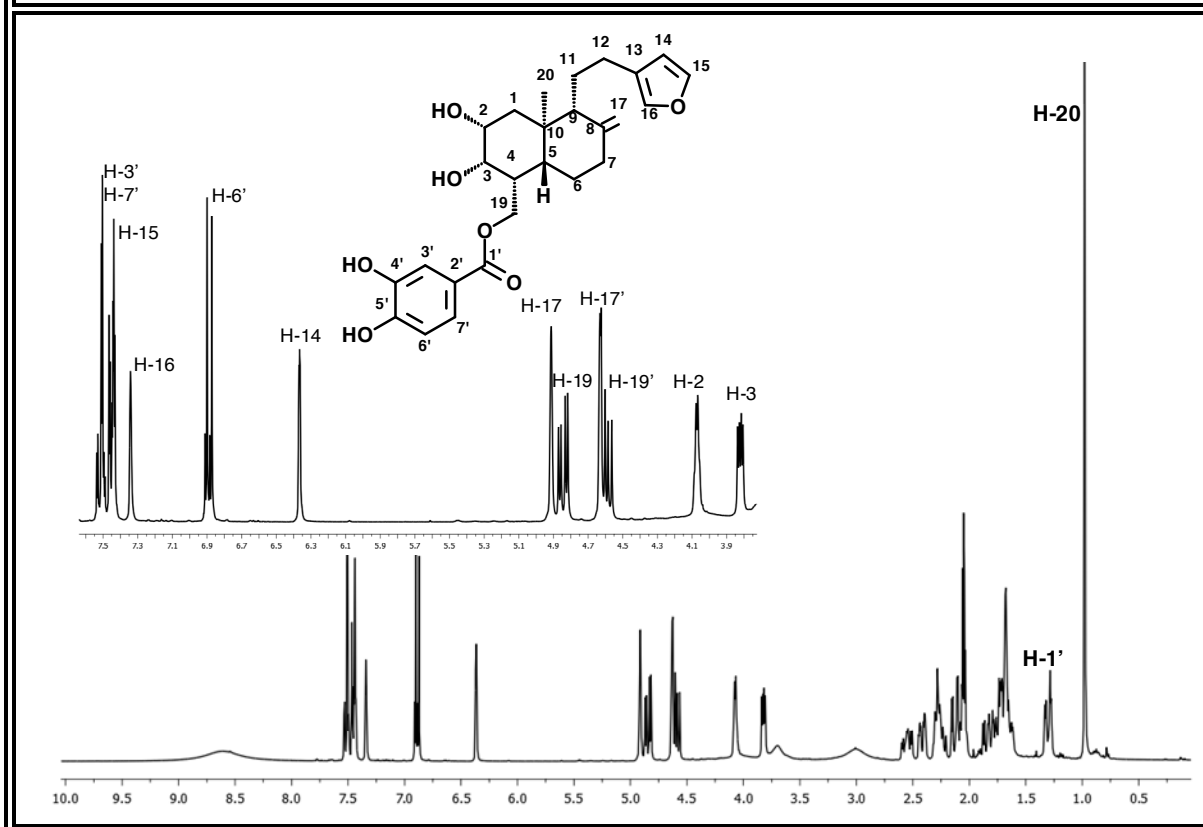


Tabla 17B: Desplazamientos Químicos (δ) en el Espectro de RMN-¹H [(CD₃)₂CO, 300 MHz], del monoéster [17]

H	H-2	H-3	H-14	H-15	H-16	H-17
δ (ppm)	4,07	3,77	6,37	7,58-7,40	7,34	4,91
M	<i>d</i>	<i>dd</i>	<i>dd</i>	<i>m</i>	<i>m</i>	<i>s</i>
J(Hz)	3,0	6,2 y 3,1	1,7 y 0,7	-	-	-
H	H-17'	H-19	H-19'	H-3'	H-6'	H-7'
δ (ppm)	4,63	4,84	4,59	7,58-7,40	6,89	7,58-7,40
M	<i>s</i>	<i>dd</i>	<i>dd</i>	<i>m</i>	<i>d</i>	<i>m</i>
J(Hz)	-	11,7 y 4,4	11,7 y 6,6	-	8,3	-

Figura 17C: Espectro de RMN-¹³C [(CD₃)₂CO, 75 MHz], del monoéster [17]

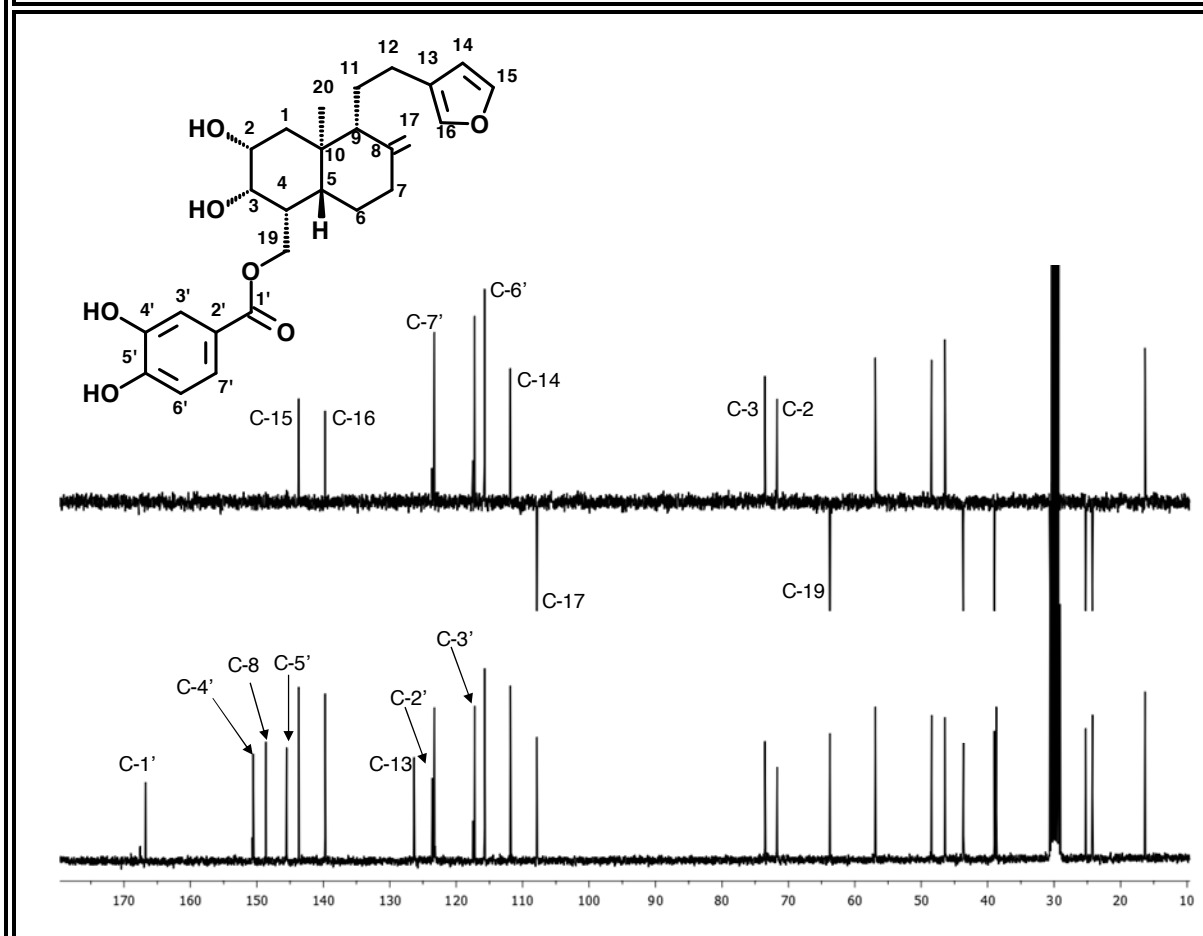


Tabla 17C: Desplazamientos Químicos (δ) en el Espectro de RMN-¹³C [(CD₃)₂CO, 75 MHz], del monoéster [17]

C	C-2	C-3	C-13	C-8	C-14	C-15	C-16	C-17
δ (ppm)	71,7	73,4	126,3	148,5	111,9	143,6	139,6	107,9
Tipo	>CH-O-	>CH-O-	=C<	=C<	=CH	=CH	=CH	=CH ₂
C	C-19	C-1'	C-2'	C-3'	C-4'	C-5'	C-6'	C-7'
δ (ppm)	63,7	166,7	123,5	117,2	150,4	145,5	115,7	123,1
Tipo	>CH ₂ -O	O-C=O	=C<	=CH	=C<	=C<	=CH	=CH

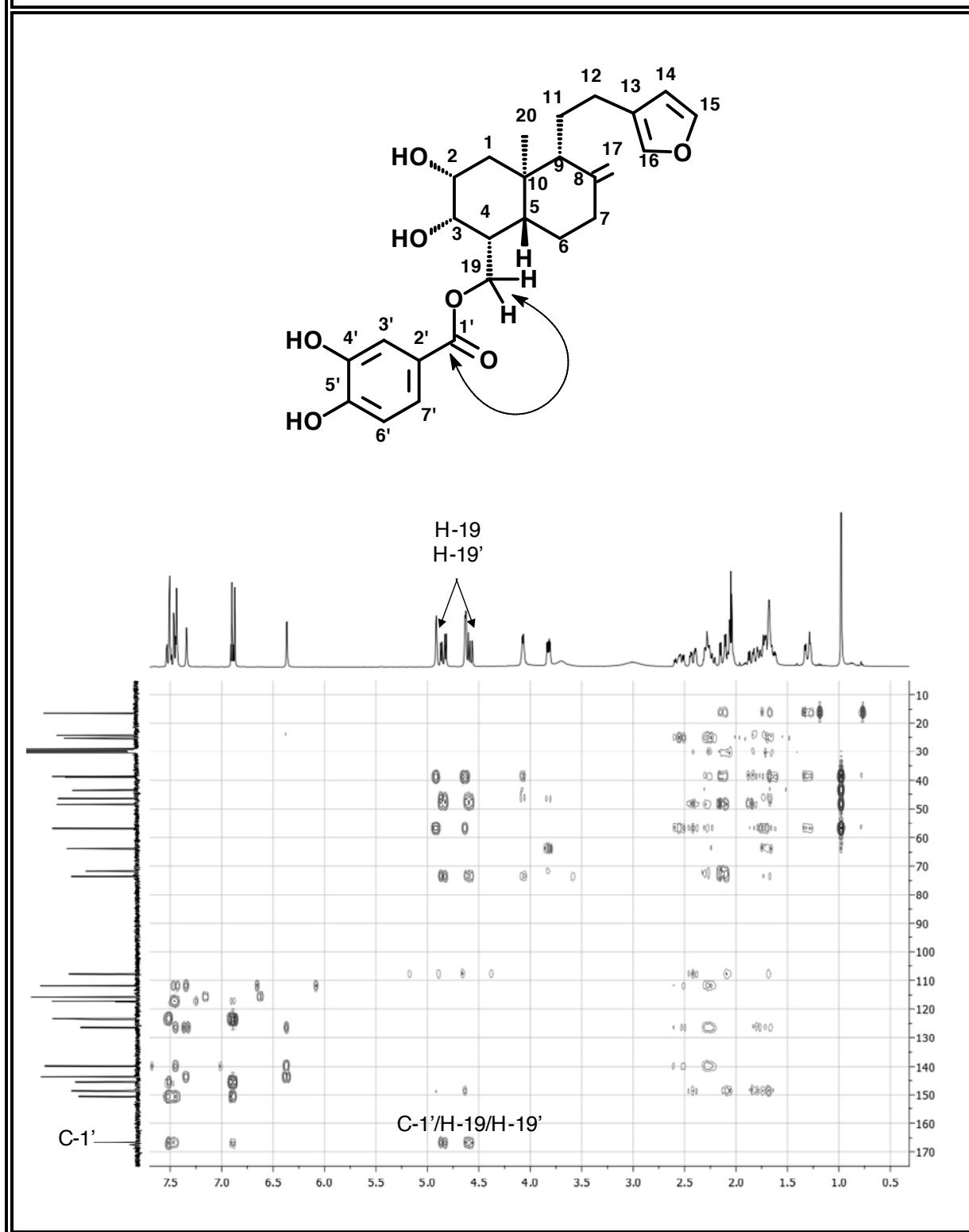
Figura 17F: Espectro HMBC [(CD₃)₂CO] del monoéster [17]

Figura 18B: Espectro de RMN-¹H [300 MHz, (CD₃)₂CO], del diéster [18]

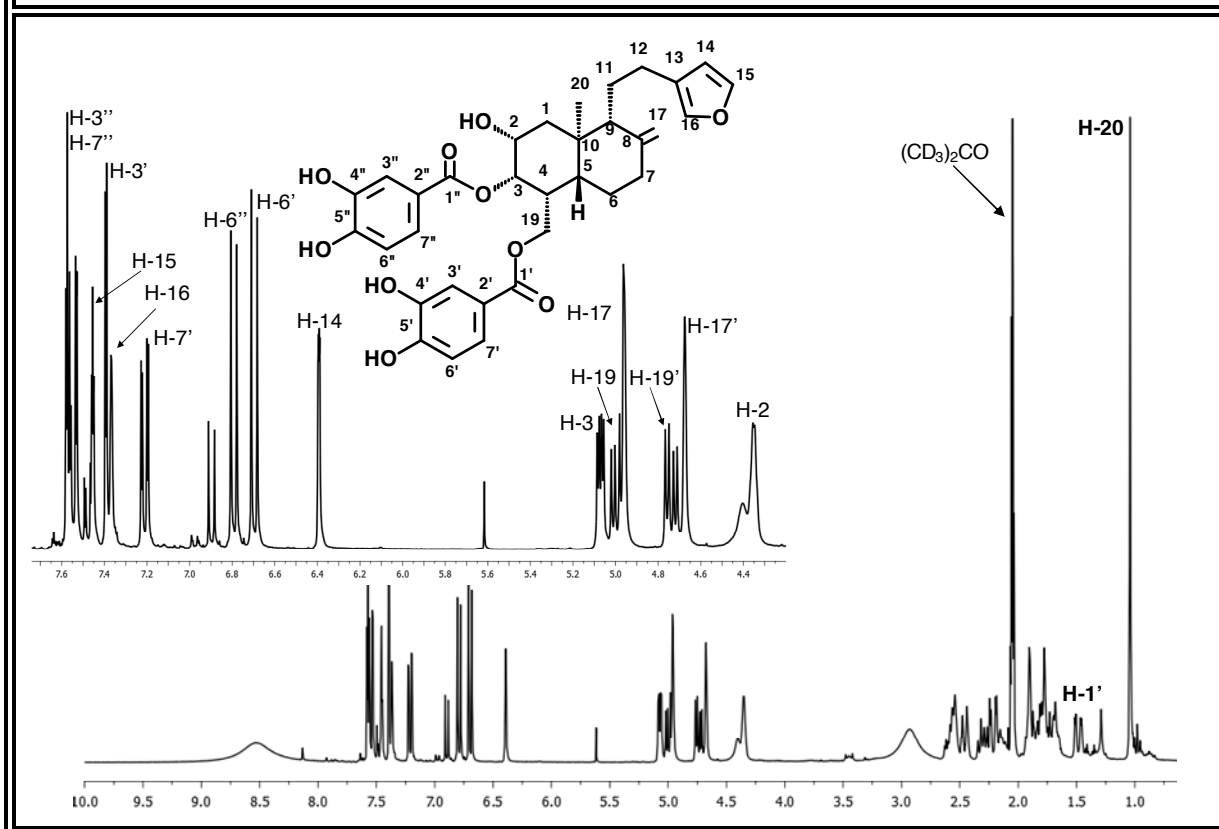


Tabla 18B: Desplazamientos Químicos (δ) en el Espectro de RMN-¹H [(CD₃)₂CO, 300 MHz], del diéster [18]

H	H-2	H-3	H-14	H-15	H-16	H-17	H-17'
δ (ppm)	4,35	5,07	6,39	7,45	7,37	4,96	4,67
M	<i>D</i>	<i>dd</i>	<i>dd</i>	<i>t</i>	<i>d</i>	<i>s</i>	<i>s</i>
<i>J</i> (Hz)	2,4	6,1 y 3,0	1,7 y 0,8	1,6	0,5	-	-
H	H-19	H-19'	H-3'	H-6'	H-6''	H-7'	H-3'/H-7''
δ (ppm)	4,99	4,74	7,39	6,70	6,79	7,21	7,57
M	<i>dd</i>	<i>dd</i>	<i>d</i>	<i>d</i>	<i>d</i>	<i>dd</i>	<i>m</i>
<i>J</i> (Hz)	11,6 y 5,1	11,6 y 6,2	2,0	8,3	8,2	8,3 y 2,0	-

Figura 18C: Espectro de RMN-¹³C [(CD₃)₂CO, 75 MHz], del diéster [18]

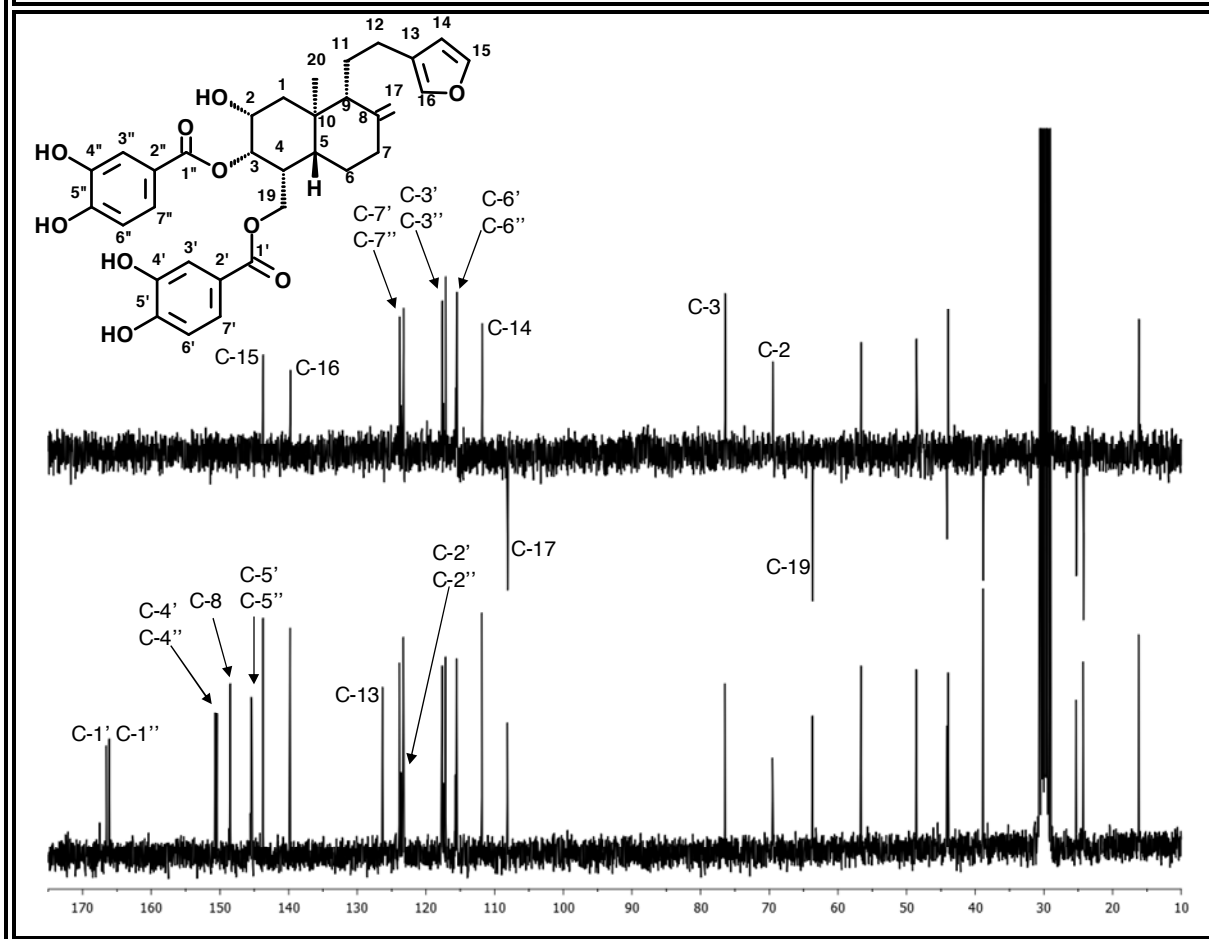


Tabla 18C: Desplazamientos Químicos (δ) en el Espectro de RMN-¹³C [(CD₃)₂CO, 75 MHz], del diéster [18]

C	C-2	C-3	C-19	C-1'	C-2'/C-2''	C-3'	C-4'	C-5'
δ (ppm)	69,4	76,4	63,6	166,5	123,5	117,2	150,3	145,5
Tipo	>CH-O-	>CH-O-	>CH ₂ -O	O-C=O	=C<	=CH	=C<	=C<
C	C-6'	C-7'	C-1''	C-3''	C-4''	C-5''	C-6''	C-7'
δ (ppm)	115,5	123,3	166,1	117,5	150,8	145,45	115,5	123,9
Tipo	=CH	=CH	O-C=O	=CH	=C<	=C<	=CH	=CH

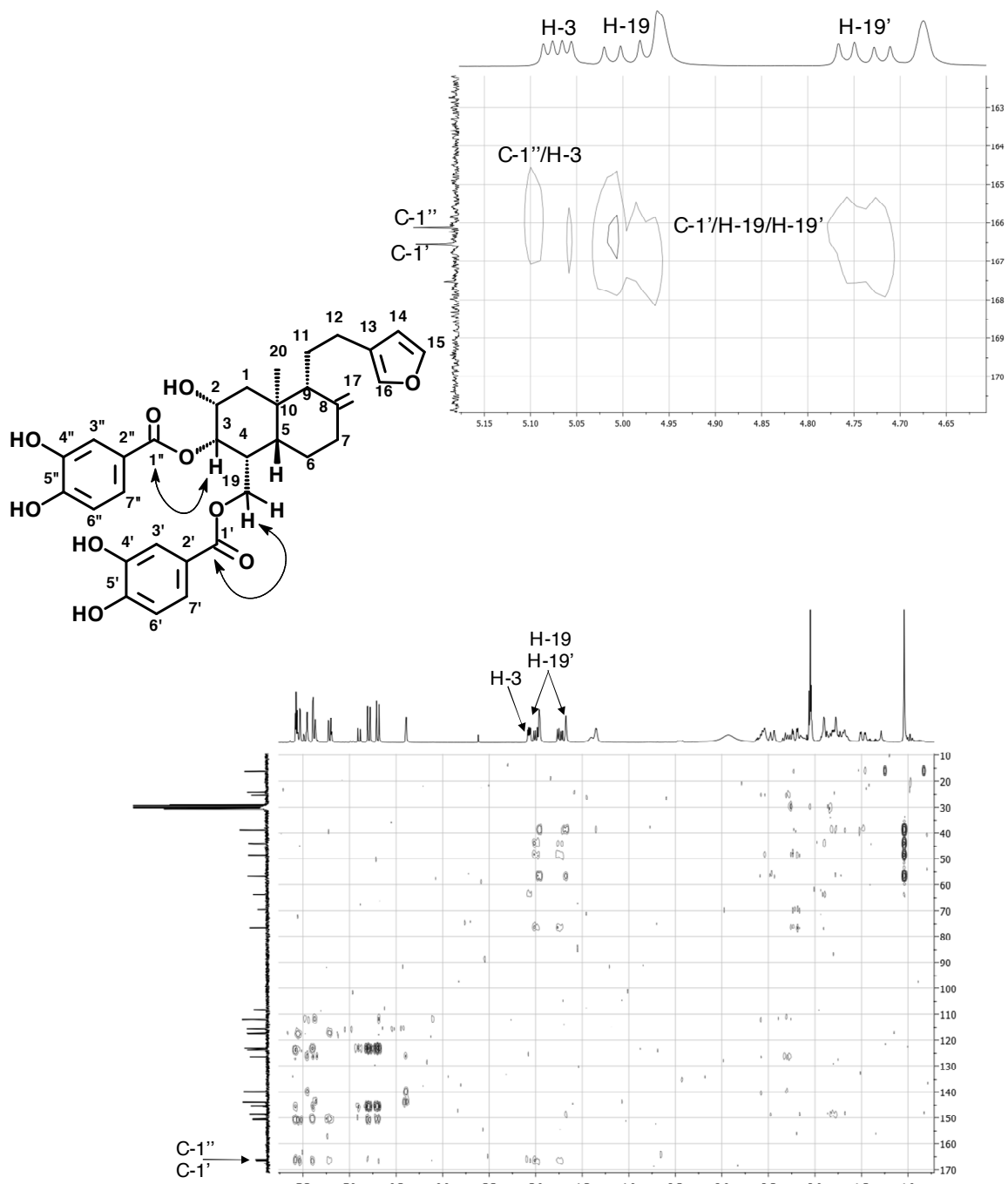
Figura 18F: Espectro HMBC [(CD₃)₂CO] del diéster [18]

Figura 19B: Espectro de RMN-¹H (300 MHz, (CDCl₃), del monoéster [19]

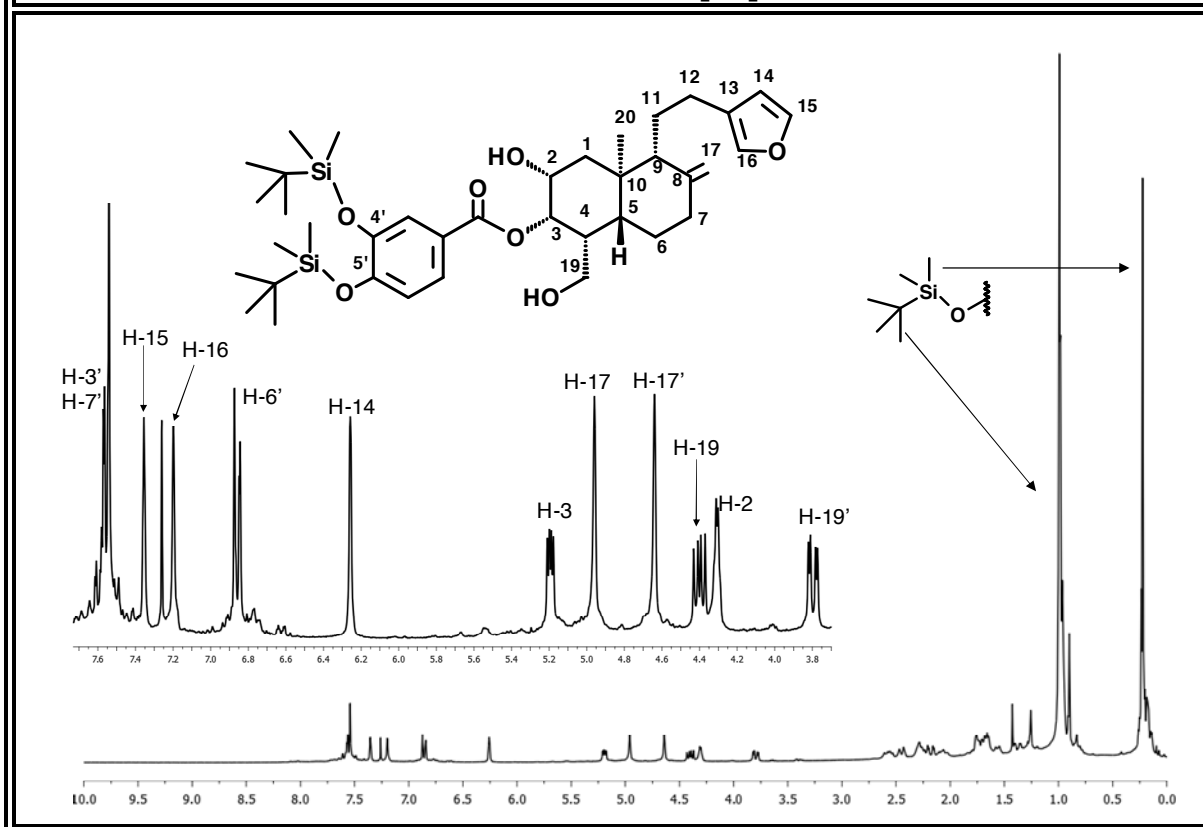


Tabla 19B: Desplazamientos Químicos (δ) en el Espectro de RMN-¹H (CDCl₃, 300 MHz), del monoéster [19]

H	H-2	H-3	H-14	H-15	H-16	H-17
δ (ppm)	4,31	5,19	6,26	7,36	7,20	4,96
M	<i>d</i>	<i>dd</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>s</i>
J(Hz)	3,1	6,4 y 3,3	-	-	-	-
H	H-17'	H-19	H-19'	H-3'	H-6'	H-7'
δ (ppm)	4,64	4,40	3,80	7,62-7,49	6,86	7,62-7,49
M	<i>s</i>	<i>dd</i>	<i>dd</i>	<i>m</i>	<i>d</i>	<i>m</i>
J(Hz)	-	11,4 y 6,8	11,4 y 3,2	-	9,3	-

Actividad Bactericida de los ésteres obtenidos a partir de [1] y [16]

La búsqueda de nuevos principios que sean potencialmente activos frente a microorganismos patógenos, ha sido uno de los principales objetivos planteados en el campo de los productos naturales (Mitscher *et al.*, 1972). Esta búsqueda encuentra su justificación en el hecho de que los extractos de ciertas plantas medicinales se han usado durante siglos en el tratamiento de las enfermedades infecciosas (Recio & Ríos, 1989). Como se puso de manifiesto en la introducción del Capítulo 2, los labdanos resultan particularmente interesantes debido a que para ellos se ha reportado un amplio rango de actividades biológicas y farmacológicas entre las que destacan: Actividad antibacterial, fungicida, antiviral, citotóxica, antitumoral e inmunosupresora. Dada, la gran cantidad obtenida de los productos naturales [1] y [16], se consideró adecuado realizar ensayos para evaluar su posible actividad bactericida, y también la de algunos derivados sintéticos.

La actividad bactericida fue evaluada directamente utilizando el método de las concentraciones inhibitorias mínimas (CIM) (Ríos *et al.*, 1988) y bactericidas mínimas (CBM), determinadas por el método de microdilución en medio líquido en placas de 96 pocillos (placas de ELISA) (Fig. 20), ensayando cada compuesto a una concentración máxima de 600 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Estas placas fueron inoculadas con 100 μL de una suspensión del microorganismo a ensayar, realizada a partir de pre-inóculos (preparados como se indica en la parte experimental), de modo que quedara a una densidad celular inicial de $1\text{-}5 \times 10^5$ u.f.c./mL. Cada ensayo fue realizado por duplicado y como control positivo se inocularon pocillos en las mismas condiciones pero carentes de producto y con DMSO a una concentración equivalente a la máxima utilizada en los cultivos problemas, en ningún caso la concentración de DMSO superó la máxima tolerable. El control negativo (blanco control), se preparó añadiendo 200 μL de medio a los pocillos de la columna 1. Luego de 24 horas de incubación a 37 °C en agitación orbital se observó la turbidez. De aquellos pocillos en los que no se observó crecimiento visible, se tomaron alícuotas (100 μL) para efectuar un recuento de viables en placas de agar nutritivo con el fin de establecer la CIM (mínima concentración de producto a la cual no hubo crecimiento) y CBM (mínima concentración de producto que produjo la muerte del 99,9% de la población inicial), empleando el método de microdilución y partiendo de una concentración de 600 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

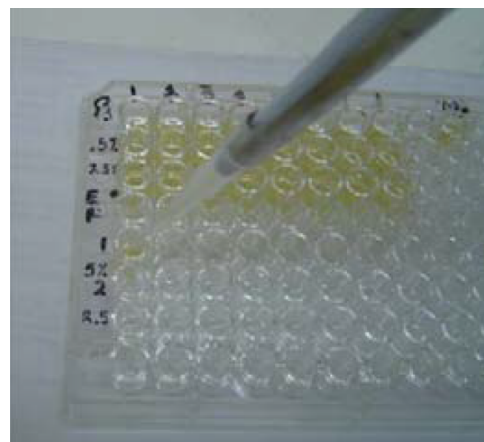


Figura 20. Placa de ELISA

PARTE EXPERIMENTAL

1. TÉCNICAS GENERALES APLICADAS

1.1. Cromatografía en Columna

Para la cromatografía en columna (húmeda, seca y al vacío) se utilizó gel de sílice 60 (63-200 μm ; 70-230 mesh) de la casa Merck. Las columnas se desarrollaron siguiendo técnicas convencionales descritas en la literatura (Coll & Bowden, 1986). Las cromatografías en columna de Sephadex LH-20 se realizaron según la metodología descrita en Henke (1995).

1.2. Cromatografía en Capa Fina

Para la cromatografía de capa fina analítica se utilizaron placas de gel sílice sobre soporte de aluminio de la casa Merck, HF 254 (0,25 mm de espesor). Las placas se desarrollaron en los sistemas de eluyentes adecuados y se revelaron sumergiéndolas en una solución reveladora que se componía de: agua (235 mL), molibdato de amonio (12 g), nitrato de cerio y amonio (0,5 g) y ácido sulfúrico conc. (15 mL) y luego calentándolas en corriente de aire a 100° C por varios minutos, hasta que aparecieron las manchas.

1.3. Cromatografía en Columna flash

La cromatografía en columna flash se llevo a cabo bajo presión positiva, se utilizó gel de sílice 40-63 μm de la casa Merck y se emplearon los sistemas de eluyentes previamente determinados en cromatografía en capa fina.

1.4. Espectros de Infrarrojo

Se realizaron en un espectrofotómetro infrarrojo-FT Perkin Elmer. Modelo FT-1725X, en film ó KBr, usando celdas de NaCl.

1.5. Espectros de RMN-¹H y de RMN-¹³C

Se corrieron en un equipo de Resonancia Magnética Nuclear Bruker-Avance DRX 300, a 300 y 75 MHz, respectivamente. Se utilizaron solventes deuterados.

1.6. Espectros Bidimensionales de RMN

Se tomaron en un equipo de Resonancia Magnética Nuclear Bruker-Avance DRX 300 y se procesaron mediante el programa computacional MestReNova.

1.7. Espectros de Masas

Se midieron en un Espectrofotómetro Hewlett Packard, modelo 5930A, a un potencial de 70eV.

2. RECOLECCIÓN, SECADO Y PREPARACIÓN DEL MATERIAL VEGETAL

El material vegetal, hojas y ramas del *Oxylobus glanduliferus* se colectó en noviembre de 2001 en el Páramo El Águila, Municipio Autónomo Rangel, Estado Mérida, a una altitud de 3.500 m. s. n. m. Se tomó una muestra adecuada para un *Voucher Specimen* (J. M. Amaro & D. Villalobos, N° 1642), la cual se depositó en el Herbario MERF, de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Los Andes. La determinación botánica de la especie fue confirmada por el Ing. For. Juan Carmona Arzola. El secado se realizó a temperatura ambiente y a la sombra, durante dos semanas.

Los ejemplares de *Austroeupatorium inulaefolium* fueron colectados en el sector el arenal, Municipio Libertador, Estado Mérida. La determinación botánica de la especie fue confirmada por el Ing. For. Juan Carmona Arzola. El secado se realizó a temperatura ambiente y a la sombra, durante dos semanas.

3. EXTRACCIÓN DEL MATERIAL VEGETAL

3.1. *Oxylobus glanduliferus*

El material vegetal sin moler ($\cong 8,7$ Kg) se extrajo con CH_2Cl_2 a temperatura ambiente durante 5 minutos. Posteriormente, dicho material se secó bajo campana y se extrajo con metanol. Las disoluciones procedentes de ambas extracciones fueron filtradas y luego concentradas al vacío en un rotavapor a temperaturas no mayores de 40 °C.

Los extractos obtenidos se mantuvieron por varios días en campana de vacío para asegurar la completa evaporación de los solventes. Luego se pesaron, el extracto de CH_2Cl_2 pesó $\cong 665$ g y el de metanol $\cong 2127$ g.

3.2. *Austroeupatorium inulaefolium*

El material vegetal sin moler ($\cong 6$ Kg) se extrajo con CH_2Cl_2 a temperatura ambiente durante 5 minutos. Posteriormente, dicho material se secó bajo campana y se extrajo con metanol. Las disoluciones procedentes de ambas extracciones fueron filtradas y luego concentradas al vacío en un rotavapor a temperaturas no mayores de 40 °C.

Los extractos obtenidos se mantuvieron por varios días en campana de vacío para asegurar la completa evaporación de los solventes. Luego se pesaron, el extracto de CH_2Cl_2 pesó $\cong 400$ g y el de metanol $\cong 1616$ g.

4. SEPARACIÓN DE LOS PRODUCTOS [1] Y [16]

4.1. *Oxylobus glanduliferus*

El extracto metanólico se sometió a una marcha simplificadora, para ello el extracto se redisolvió en hexano a 40°C, la solución obtenida contenía los productos de baja polaridad; el residuo insoluble en hexano fue disuelto en acetona a 40°C, esta solución contenía los productos de mediana polaridad y el residuo insoluble estaba constituido por productos de alta polaridad. En el extracto hexánico precipitó un sólido blanco el cual fue recristalizado en etanol repetidas veces. Se lograron recuperar aproximadamente 10,1 g del compuesto [1].

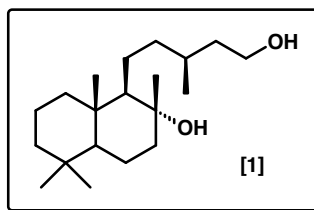
4.2. *Austroeupatorium inulaefolium*

El extracto metanólico se sometió a una marcha simplificadora, para ello el extracto se redisolvió en hexano a 40°C, la solución obtenida contenía los productos de baja polaridad; el residuo insoluble en hexano fue disuelto en acetona a 40°C, esta solución contenía los productos de mediana polaridad y el residuo insoluble estaba constituido por productos de alta polaridad.

El extracto acetónico se redisolvió en acetona, posteriormente se le añadió gel de sílice, se homogenizó, y luego, se eliminó el solvente en un rotavapor. El gel húmedo se extendió en una bandeja, y se mantuvo a la temperatura ambiente bajo campana, hasta que se eliminó por completo el solvente. La mezcla seca se homogenizó en un mortero y se pasó a través de un tamiz fino, quedando lista como cabeza para la cromatografía en columna.

La cabeza se colocó en la parte superior de una columna al vacío, la cual se preparó según la técnica de Coll & Bowden (1986). Dicha columna se eluyó con mezclas hexano-acetato de etilo en orden creciente de polaridad, y finalmente acetato de etilo 100% y metanol 100%. Se recogieron fracciones de 1 litro, las cuales se concentraron al vacío, se analizaron por capa fina y se reunieron adecuadamente.

Las fracciones eluidas con hexano 100% y 90% hexano : 10 acetato de etilo estaban constituidas fundamentalmente por ceras y alcoholes de cadena larga. En la fracción correspondiente a la mezcla 80 hexano : 20 acetato de etilo se recuperaron aproximadamente 9 g de un sólido blanco que fue identificado como el producto [16].

Labdan-8 α ,15-diol [1]

Datos: Compuesto [1]

Fórmula Molecular: C₂₀H₃₈O₂.

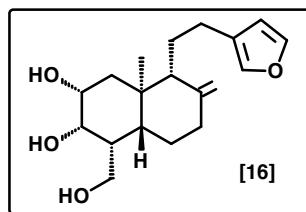
Masa Molecular: 310,5 g/mol.

Punto de Fusión: 81-83°C (diclorometano)

Rotación Específica: $[\alpha]_D$:-38,5° (CHCl₃; c, 0,13 g/mL).

Espectro IR: (KBr), Fig. 1A, Tabla 1A.....	..247
Espectro RMN- ¹ H: (CDCl ₃), Fig. 1B; Tabla 1B.....	..248
Espectro RMN- ¹³ C: (CDCl ₃), Fig. 1C; Tabla 1C.....	..249
Espectro de Masas: (70 eV), Fig. 1H; Tabla 1H.....	..250
Espectro ¹ H, ¹ H-COSY: (CDCl ₃), Fig. 1D.....	..254
Espectro HMQC: (CDCl ₃), Fig. 1E.....	..255
Espectro HMBC: (CDCl ₃), Fig. 1F.....	..256

Pág.

Austroepatol [16]

Datos: Compuesto [16]

Fórmula Molecular: C₁₉H₂₈O₄.

Masa Molecular: 320,4 g/mol.

Punto de Fusión: 116-118°C (hexano-acetato de etilo)

Rotación Específica: $[\alpha]_D$:-78,9° (CH₃OH; c, 0,99 g/mL).

Espectro IR: (KBr), Fig. 16A; Tabla 16B.....	..301
Espectro RMN- ¹ H: (CDCl ₃), Fig. 16B; Tabla 16B.....	..302
Espectro RMN- ¹³ C: (CDCl ₃), Fig. 16C; Tabla 16C.....	..303
Espectro ¹ H, ¹ H-COSY: (CDCl ₃), Fig. 16D.....	..306
Espectro HMQC: (CDCl ₃), Fig. 16E.....	..307
Espectro HMBC: (CDCl ₃), Fig. 16F.....	..308

Pág.

5. DERIVADOS DE LOS PRODUCTOS [1] Y [16]

5.1. General.

Todas las reacciones sensibles al oxígeno y la humedad fueron llevadas a cabo en material de vidrio previamente secado y bajo atmósfera de argón. En todas las reacciones se utilizó tetrahidrofuano (THF) y diclorometano (CH_2Cl_2) seco obtenido inmediatamente antes de un equipo MBRAUN Solvent Purification System. La dimetilformamida (DMF) fue secada con CaH_2 y destilada en atmósfera de argón antes de utilizarla. La concentración en rotavapor se llevo a cabo sin exceder 40°C .

5.1.1. Procedimiento general A

A una mezcla en agitación del ácido, 4-dimetilaminopiridina (DMAP) y el alcohol a esterificar disuelta en diclorometano fue colocada en un baño de agua/hielo y posteriormente se agregó *N,N'*-diisopropilcarbodiimida (DIC). Se permitió a la mezcla de reacción alcanzar temperatura ambiente. La reacción fue monitoreada mediante hasta observar la desaparición del sustrato. La solución fue lavada con solución de HCl 0,1 N, solución de bicarbonato de sodio al 5%, solución saturada de NaCl, secada sobre MgSO_4 anhidro, filtrada y concentrada en rotavapor. La purificación fue llevada a cabo mediante cromatografía de columna flash.

5.1.2. Procedimiento general B

A una mezcla en agitación del ácido, 4-dimetilaminopiridina (DMAP) y cloruro de *N*-(3-dimetilaminopropil)-*N'*-etilcarbodiimida (EDCI) disuelta en diclorometano fue añadido el alcohol a esterificar. La mezcla en agitación a temperatura ambiente fue monitoreada mediante hasta observar la desaparición del sustrato. La solución fue lavada con solución de HCl 0,1 N, solución de bicarbonato de sodio al 5%, solución saturada de NaCl, secada sobre MgSO_4 anhidro, filtrada y concentrada en rotavapor. La purificación fue llevada a cabo mediante cromatografía de columna flash.

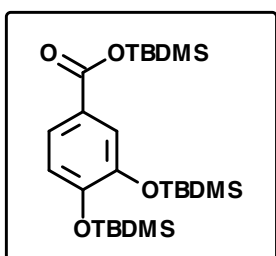
5.1.3. Procedimiento general C

El balón de reacción se lleno con argón y fue añadido Pd/C (10% en peso del sustrato a ser hidrogenado). Después se inyectó con una jeringa el bencil éster (compuesto a desproteger) disuelto en 10 mL de etanol (EtOH). Todo el argón fue removido y reemplazado por hidrógeno. Después de 12 horas en agitación bajo atmósfera de hidrógeno la muestra fue filtrada en una pequeña columna empacada con algodón/celita/algodón/celita/algodón bajo presión positiva. Finalmente la muestra fue concentrada en rotavapor.

5.1.4. Procedimiento general D

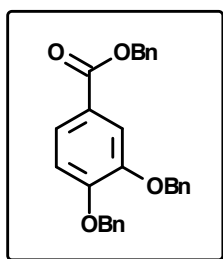
A una solución del éter de silicio (compuesto a desproteger) disuelto en tetrahidrofurano (en agitación constante) se añadió ácido acético y se colocó en un baño de agua/hielo. Posteriormente se agregó a la mezcla fluoruro de tetra *n*-butilamonio (TBAF). La solución en agitación alcanza la temperatura ambiente y se detuvo después de 4 horas. El solvente fue evaporado al vacío. El residuo fue diluido en diclorometano, lavado con 10 mL de agua/hielo, solución saturada de NaCl y secada sobre MgSO₄ y concentrado al vacío. El residuo fue purificado por columna flash.

5.1.5. Protección de los hidroxilos fenólicos *tert*-butildimetilsilil 3,4-bis (*tert*-butyldimethylsililoxi)benzoato



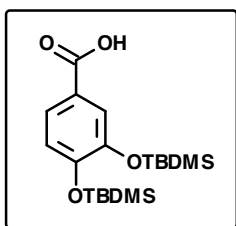
A una solución en agitación de ácido 3,4-dihidroxi benzoico comercial (ácido protocatecuico) (0,5 g; 3,2 mmol) disuelto en DMF (20 mL) fue añadido imidazol (1,5 g; 22, mmol) y cloruro de *tert*-butildimetilsililo (1,73 g, 11,4 mmol). Después de 24 horas en agitación a temperatura ambiente, la mezcla de reacción fue diluida en éter etílico (100 mL), la fase orgánica fue lavada con agua destilada (3x40 mL) y solución saturada de NaCl (50 mL), secada sobre MgSO₄, filtrada y evaporada para obtener *tert*-butildimetilsilil 3,4-bis (*tert*-butildimetilsililoxi)benzoato como sólido blanco amorfo (1.60 g, 100%).

5.1.6. Protección de los hidroxilos fenólicos Bencil 3,4-bis(benciloxi)benzoato



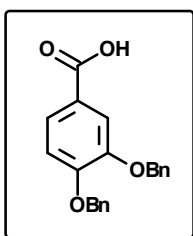
Se añadió bromuro de bencilo (352 mg, 0,224 mL) a una solución de ácido 3,4-dihidroxi benzoico comercial (ácido protocatecuico) (0,1 g; 0,64 mmol), carbonato de potasio (K₂CO₃) (1,6 g; 11,6 mmol) y yoduro de tetra *n*-butilamonio (TBAI) (76 mg, 0,2 mmol) disueltos en acetona (5 mL) bajo agitación constante durante 3 horas. La mezcla de reacción fue filtrada y lavada con acetona (5 mL). El solvente fue removido con un rotavapor. Luego se añadieron 5 g de hielo triturado y diclorometano (10 mL). La capa orgánica fue extraída, lavada con solución saturada de NaCl (5 mL), secada sobre MgSO₄, filtrada y concentrada a presión reducida. El producto crudo fue purificado mediante columna flash eluida con ciclohexano : acetato de etilo 6:1.

5.1.7. Desprotección del hidroxilo correspondiente a la función ácida del ácido 3,4-bis(*tert*-butildimetilsililoxi)benzoico



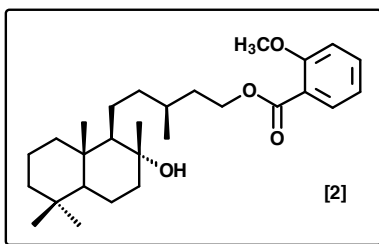
A una solución en agitación de *tert*-butildimetilsilil 3,4,-bis (*tert*-butildimetilsililoxi)benzoato (1,5 g; 3,0 mmol) disuelto en THF (10 mL) fue añadida una mezcla 4:1 AcOH / H₂O (100 mL). Después de 24 horas en agitación a temperatura ambiente, la mezcla de reacción fue vertida sobre agua/hielo (200 mL) y extraída con acetato de etilo (4 x 100 mL). Las fases orgánicas combinadas fueron lavadas con solución saturada de NaCl (2 x 100 mL) secada sobre MgSO₄ anhidro, filtrada y evaporada para obtener un sólido blanco identificado como el ácido 3,4-bis(*tert*-butildimetilsililoxi)benzoico (1.22 g, 100%).

5.1.8. Desprotección del hidroxilo correspondiente a la función ácida del ácido 3,4-bis(benciloxi)benzoico



A una solución en agitación de Bencil 3,4-bis(benciloxi)benzoato (0,16 g; 0,38 mmol) disuelto en una mezcla CH₃OH/H₂O (4 : 1; 5 mL) fue añadido KOH (0,1 g; 1,8 mmol) por 4 horas a temperatura ambiente. La mezcla de reacción fue concentrada en vacío para remover el CH₃OH. Bajo agitación constante fue añadido hielo triturado (4,0 g) y luego HCl 1.0 N hasta alcanzar un pH ácido. La solución acidificada fue extraída con diclorometano (3 x 40 mL) y lavada con solución saturada de NaCl (50 mL). El producto crudo fue purificado mediante columna flash eluida con ciclohexano : acetato de etilo (4:1→ AcOEt) para obtener un sólido blanco correspondiente al ácido 3,4-bis(benciloxi)benzoico (0,229 g; 83%).

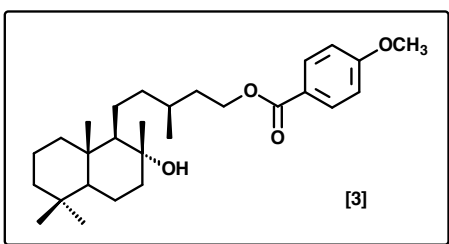
5.1.9. 2-metoxibenzoato de 8-hidroxi-15-labdaniol [2]



100 mg del diol [1] fueron tratados bajo las condiciones de reacción descritas en el procedimiento general A, en presencia de ácido 4-metoxibenzoico (100 mg), DMAP (120 mg) y DIC (0,1 mL) disueltos en 7 mL de diclorometano. Se obtuvo mediante purificación en columna flash (5 ciclohexano : 1 Acetato de etilo). Fueron recuperados en alta pureza 28 mg de un compuesto oleoso identificado como el producto [2]. Otros 126 mg de [2] se recuperaron como una mezcla con un subproducto producto de la condensación entre el DIC y el ácido.

Datos: Compuesto [2]	Pág.
Fórmula Molecular: C ₂₈ H ₄₄ O ₄ .	
Masa Molecular: 444,7 g/mol.	
Punto de Fusión: compuesto oleoso	
Espectro RMN- ¹ H: (CDCl ₃), Fig. 2B.....	..258
Espectro RMN- ¹³ C: (CDCl ₃), Fig. 2C; Tabla 2B/C.....	..259
Espectro HMBC: (CDCl ₃), Fig. 2F.....	..260

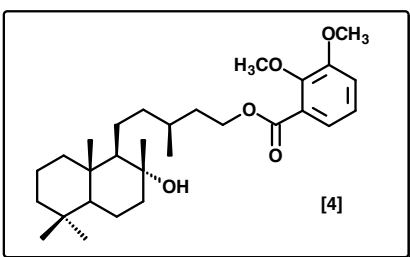
5.1.10. 4-metoxibenzoato de 8-hidroxi-15-labdaniolo **[3]**



100 mg del diol **[1]** fueron tratados bajo las condiciones de reacción descritas en el procedimiento general A, en presencia de ácido 2-metoxibenzoico (100 mg), DMAP (120 mg) y DIC (0,1 mL) disueltos en 7 mL de diclorometano. Se obtuvo mediante purificación en columna flash (4 ciclohexano : 1 Acetato de etilo). Fueron recuperados en alta pureza 149 mg de un compuesto oleoso identificado como el producto **[3]**.

Datos: Compuesto [3]	Pág.
Fórmula Molecular: C ₂₈ H ₄₄ O ₄ .	
Masa Molecular: 444,7 g/mol.	
Punto de Fusión: compuesto oleoso	
Espectro RMN- ¹ H: (CDCl ₃), Fig. 3B.....	..261
Espectro RMN- ¹³ C: (CDCl ₃), Fig. 3C; Tabla 3B/C.....	..262
Espectro HMBC: (CDCl ₃), Fig. 3F.....	..263

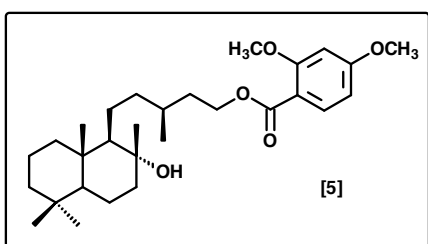
5.1.11. 2,3-dimetoxibenzoato de 8-hidroxi-15-labdaniolo **[4]**



100 mg del diol **[1]** fueron tratados bajo las condiciones de reacción descritas en el procedimiento general A, en presencia de ácido 2,3-dimetoxibenzoico (120 mg), DMAP (120 mg) y DIC (0,1 mL) disueltos en 7 mL de diclorometano. Se obtuvo mediante purificación en columna flash (4 ciclohexano : 1 Acetato de etilo). Fueron recuperados en alta pureza 64 mg de un compuesto oleoso identificado como el producto **[4]**.

Datos: Compuesto [4]	Pág.
Fórmula Molecular: C ₂₉ H ₄₆ O ₅ .	
Masa Molecular: 474,7 g/mol.	
Punto de Fusión: compuesto oleoso	
Espectro RMN- ¹ H: (CDCl ₃), Fig. 4B.....	..264
Espectro RMN- ¹³ C: (CDCl ₃), Fig. 4C; Tabla 4B/C.....	..265
Espectro HMBC: (CDCl ₃), Fig. 4F.....	..266

5.1.12. 2,4-dimetoxibenzoato de 8-hidroxi-15-labdaniilo [5]

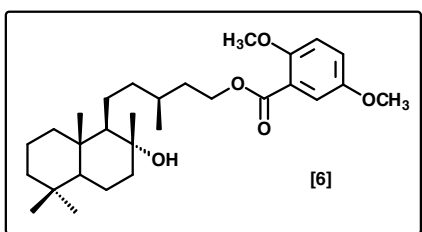


50 mg del diol [1] fueron tratados bajo las condiciones de reacción descritas en el procedimiento general B, en presencia de ácido 2,4-dimetoxibenzoico (60 mg), DMAP (30 mg) y EDCI (60 mg) disueltos en 5 mL de diclorometano. Se obtuvo mediante purificación en columna flash (3 ciclohexano : 1 Acetato de etilo → 2 ciclohexano : 1

Acetato de etilo). Fueron recuperados en alta pureza 53 mg de un compuesto oleoso identificado como el producto [5].

Datos: Compuesto [5]	Pág.
Fórmula Molecular: C ₂₉ H ₄₆ O ₅ .	
Masa Molecular: 474,7 g/mol.	
Punto de Fusión: compuesto oleoso	
Espectro RMN- ¹ H: (CDCl ₃), Fig. 5B.....	..267
Espectro RMN- ¹³ C: (CDCl ₃), Fig. 5C; Tabla 5B/C.....	..268
Espectro HMBC: (CDCl ₃), Fig. 5F.....	..269

5.1.13. 2,5-dimetoxibenzoato de 8-hidroxi-15-labdaniilo [6]

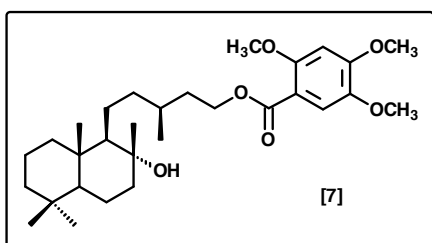


100 mg del diol [1] fueron tratados bajo las condiciones de reacción descritas en el procedimiento general A, en presencia de ácido 2,5-dimetoxibenzoico (120 mg), DMAP (120 mg) y DIC (0,1 mL) disueltos en 7 mL de diclorometano. Se obtuvo mediante purificación en columna flash (4

ciclohexano : 1 Acetato de etilo). Fueron recuperados en alta pureza 62 mg de un compuesto oleoso identificado como el producto [6].

Datos: Compuesto [6]	Pág.
Fórmula Molecular: $C_{29}H_{46}O_5$.	
Masa Molecular: 474,7 g/mol.	
Punto de Fusión: compuesto oleoso	
Espectro RMN- 1H : ($CDCl_3$), Fig. 6B.....	..270
Espectro RMN- ^{13}C : ($CDCl_3$), Fig. 6C; Tabla 6B/C.....	..271
Espectro HMBC: ($CDCl_3$), Fig. 6F.....	..272

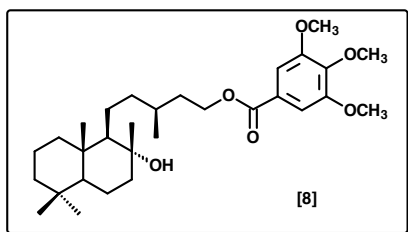
5.1.14. 2,4,5-trimetoxibenzoato de 8-hidroxi-15-labdaniilo [7]



100 mg del diol [1] fueron tratados bajo las condiciones de reacción descritas en el procedimiento general A, en presencia de ácido 2,4,5-trimetoxibenzoico (140 mg), DMAP (120 mg) y DIC (0,1 mL) disueltos en 7 mL de diclorometano. Se obtuvo mediante purificación en columna flash (2 ciclohexano : 1 Acetato de etilo). Fueron recuperados en alta pureza 36 mg de un compuesto oleoso identificado como el producto [7].

Datos: Compuesto [7]	Pág.
Fórmula Molecular: $C_{30}H_{48}O_6$.	
Masa Molecular: 504,7 g/mol.	
Punto de Fusión: compuesto oleoso	
Espectro RMN- 1H : ($CDCl_3$), Fig. 7B.....	..273
Espectro RMN- ^{13}C : ($CDCl_3$), Fig. 7C; Tabla 7B/C.....	..274
Espectro HMBC: ($CDCl_3$), Fig. 7F.....	..275

5.1.15. 3,4,5-trimetoxibenzoato de 8-hidroxi-15-labdaniilo [8]

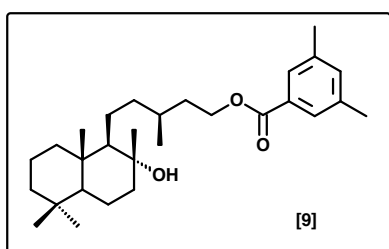


100 mg del diol [1] fueron tratados bajo las condiciones de reacción descritas en el procedimiento general A, en presencia de ácido 3,4,5-trimetoxibenzoico (140 mg), DMAP (120 mg) y DIC (0,1 mL) disueltos en 7 mL de diclorometano. Se obtuvo mediante purificación en columna flash (4 ciclohexano : 1 Acetato de etilo).

Fueron recuperados en alta pureza 183 mg de un compuesto oleoso identificado como el producto [8].

Datos: Compuesto [8]	Pág.
Fórmula Molecular: $C_{30}H_{48}O_6$.	
Masa Molecular: 504,7 g/mol.	
Punto de Fusión: compuesto oleoso	
Espectro RMN- 1H : ($CDCl_3$), Fig. 8B.....	..276
Espectro RMN- ^{13}C : ($CDCl_3$), Fig. 8C; Tabla 8B/C.....	..277
Espectro HMBC: ($CDCl_3$), Fig. 8F.....	..278

5.1.16. 3,5-dimetilbenzoato de 8-hidroxi-15-labdaniolo [9]

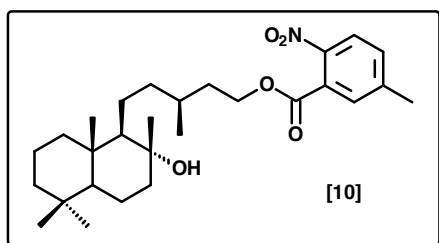


100 mg del diol [1] fueron tratados bajo las condiciones de reacción descritas en el procedimiento general A, en presencia de ácido 3,5-dimetilbenzoico (100 mg), DMAP (120 mg) y DIC (0,1 mL) disueltos en 7 mL de diclorometano. Se obtuvo mediante purificación en columna flash (7 ciclohexano : 1 Acetato de etilo).

Fueron recuperados en alta pureza 148 mg de un compuesto oleoso identificado como el producto [9].

Datos: Compuesto [9]	Pág.
Fórmula Molecular: $C_{29}H_{46}O_3$.	
Masa Molecular: 442,7 g/mol.	
Punto de Fusión: compuesto oleoso	
Espectro RMN- 1H : ($CDCl_3$), Fig. 9B.....	..279
Espectro RMN- ^{13}C : ($CDCl_3$), Fig. 9C; Tabla 9B/C.....	..280
Espectro HMBC: ($CDCl_3$), Fig. 9F.....	..281

5.1.16. 5-metil-2-nitrobenzoato de 8-hidroxi-15-labdaniolo [10]

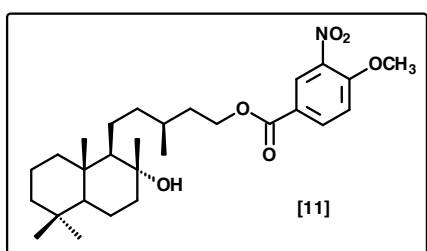


100 mg del diol [1] fueron tratados bajo las condiciones de reacción descritas en el procedimiento general A, en presencia de ácido 5-metil-2-nitrobenzoico (120 mg), DMAP (120 mg) y DIC (0,1 mL) disueltos en 7 mL de diclorometano. Se obtuvo mediante purificación en columna flash (4 ciclohexano : 1 Acetato de etilo).

Fueron recuperados en alta pureza 161 mg de un sólido blanco identificado como el producto [10].

Datos: Compuesto [10]	Pág.
Fórmula Molecular: C ₂₈ H ₄₃ NO ₅ .	
Masa Molecular: 473,7 g/mol.	
Espectro RMN- ¹ H: (CDCl ₃), Fig. 10B.....	..282
Espectro RMN- ¹³ C: (CDCl ₃), Fig. 10C; Tabla 10B/C.....	..283
Espectro HMBC: (CDCl ₃), Fig. 10F.....	..284

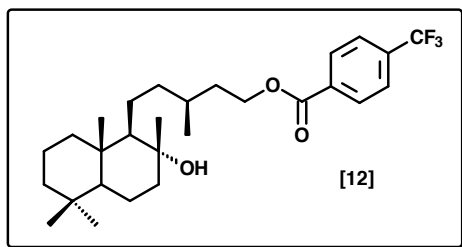
5.1.17. 4-metoxi-3-nitrobenzoato de 8-hidroxi-15-labdanilo [11]



100 mg del diol [1] fueron tratados bajo las condiciones de reacción descritas en el procedimiento general A, en presencia de ácido 4-metoxi-3-nitrobenzoico (120 mg), DMAP (120 mg) y DIC (0,1 mL) disueltos en 7 mL de diclorometano. Se obtuvo mediante purificación en columna flash (3 ciclohexano : 1 Acetato de etilo). Fueron recuperados en alta pureza 162 mg de un sólido blanco identificado como el producto [11].

Datos: Compuesto [11]	Pág.
Fórmula Molecular: C ₂₈ H ₄₃ NO ₆ .	
Masa Molecular: 489,7 g/mol.	
Espectro RMN- ¹ H: (CDCl ₃), Fig. 11B.....	..285
Espectro RMN- ¹³ C: (CDCl ₃), Fig. 11C; Tabla 11B/C.....	..286
Espectro HMBC: (CDCl ₃), Fig. 11F.....	..287

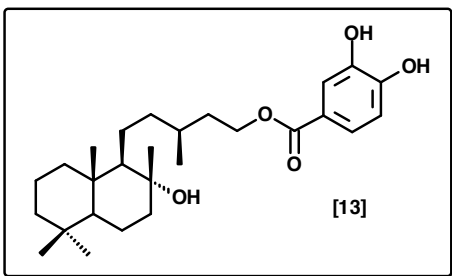
5.1.18. 4-trifluorometilbenzoato de 8-hidroxi-15-labdanilo [12]



100 mg del diol [1] fueron tratados bajo las condiciones de reacción descritas en el procedimiento general A, en presencia de ácido 4-trifluorometilbenzoico (120 mg), DMAP (120 mg) y DIC (0,1 mL) disueltos en 5 mL de diclorometano. Se obtuvo mediante purificación en columna flash (2 ciclohexano : 1 Acetato de etilo). Fueron recuperados en alta pureza 127 mg de un sólido blanco identificado como el producto [12].

Datos: Compuesto [12]	Pág.
Fórmula Molecular: $C_{28}H_{41}F_3O_3$.	
Masa Molecular: 482,7 g/mol.	
Espectro RMN- 1H : ($CDCl_3$), Fig. 12B.....	..288
Espectro RMN- ^{13}C : ($CDCl_3$), Fig. 12C; Tabla 12B/C.....	..289
Espectro HMBC: ($CDCl_3$), Fig. 12F.....	..290

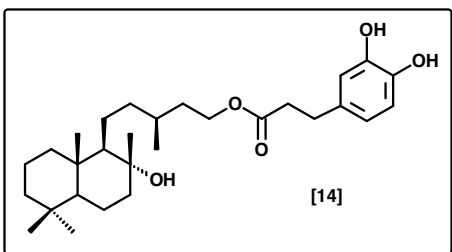
5.1.19. 3,4-dihidroxi benzoato de 8-hidroxi-15-labdaniilo [13]



46 mg del diol [1] fueron tratados bajo las condiciones de reacción descritas en el procedimiento general A, en presencia de ácido 3,4-bis(benciloxi)benzoico (50 mg), DMAP (40 mg) y DIC (0,025 mL) disueltos en 15 mL de diclorometano. Se obtuvieron mediante purificación en columna flash (6 ciclohexano : 1 Acetato de etilo) 69 mg del producto [13] con la protección bencílica sobre los hidroxilos fenólicos (Al final de la parte experimental se incluyen los espectros RMN- 1H y RMN- ^{13}C de este compuesto). El compuesto [13] fue desprotegido aplicando el procedimiento general C. Finalmente, fueron recuperados mediante cromatografía en columna flash (97 diclorometano : 2,9 metanol : 0,1 ácido fórmico) 24 mg de un sólido blanco identificado como el compuesto [13].

Datos: Compuesto [13]	Pág.
Fórmula Molecular: $C_{27}H_{42}O_5$.	
Masa Molecular: 446,6 g/mol.	
Espectro RMN- 1H : ($CDCl_3$), Fig. 13B.....	..291
Espectro RMN- ^{13}C : ($CDCl_3$), Fig. 13C; Tabla 13B/C.....	..292
Espectro HMBC: ($CDCl_3$), Fig. 13F.....	..293

5.1.20. 3-(3,4-dihidroxibencil)-propanoato de 8-hidroxi-15-labdaniolo [14]



100 mg del diol [1] fueron tratados bajo las condiciones de reacción descritas en el procedimiento general A, en presencia de ácido cafeico (con los hidroxilos fenólicos previamente protegidos con grupos bencilo según lo descrito en los procedimientos empleados para proteger el ácido 3,4-dihidroxibenzoico) (174 mg), DMAP (59 mg) y

DIC (0,075 mL) disueltos en 20 mL de diclorometano. Se obtuvieron mediante purificación en columna flash (4 ciclohexano : 1 Acetato de etilo) 195 mg del producto [14] con la protección bencílica sobre los hidroxilos fenólicos (Al final de la parte experimental se incluyen los espectros RMN-¹H y RMN-¹³C de este compuesto). El compuesto [14] fue desprotegido aplicando el procedimiento general C. Finalmente, fueron 79 mg de un compuesto oleoso identificado como el compuesto [14].

Datos: Compuesto [14]

Pág.

Fórmula Molecular: C₂₉H₄₆O₅.

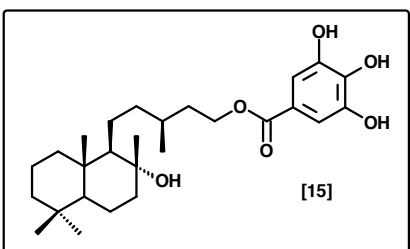
Masa Molecular: 474,7 g/mol.

Espectro RMN-¹H: (CDCl₃), Fig. 14B..... ..294

Espectro RMN-¹³C: (CDCl₃), Fig. 14C; Tabla 14B/C..... ..295

Espectro HMBC: (CDCl₃), Fig. 14F..... ..296

5.1.21. 3,4,5-trihidroxibenzoato de 8-hidroxi-15-labdaniolo [15]

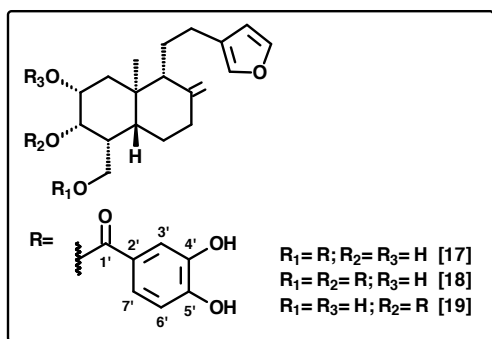


100 mg del diol [1] fueron tratados bajo las condiciones de reacción descritas en el procedimiento general A, en presencia de ácido gálico (con los hidroxilos fenólicos previamente protegidos con grupos bencilo según lo descrito en los procedimientos empleados para proteger el ácido 3,4-dihidroxibenzoico) (211 mg), DMAP (59 mg) y DIC (0,075 mL) disueltos en 20 mL de

diclorometano. Se obtuvieron mediante purificación en columna flash (4 ciclohexano : 1 Acetato de etilo) 114 mg del producto [15] con la protección bencílica sobre los hidroxilos fenólicos (Al final de la parte experimental se incluyen los espectros RMN-¹H y RMN-¹³C de este compuesto). El compuesto [15] fue desprotegido aplicando el procedimiento general C. Finalmente, fueron 54 mg de un compuesto oleoso identificado como el compuesto [15].

Datos: Compuesto [15]	Pág.
Fórmula Molecular: C ₂₇ H ₄₂ O ₆ .	
Masa Molecular: 462,6 g/mol.	
Espectro RMN- ¹ H: (CDCl ₃), Fig. 15B.....	..297
Espectro RMN- ¹³ C: (CDCl ₃), Fig. 15C; Tabla 15B/C.....	..298
Espectro HMBC: (CDCl ₃), Fig. 15F.....	..299

**5.1.22. 3,4 dihidrobenzoato de 2,3-dihidroxi-19-austroepatilo [17],
Bis (3,4 dihidrobenzoato) de 2-hidroxi-3,19-austroepatilo [18] y
3,4 dihidrobenzoato de 2,19-dihidroxi-3-austroepatilo [19]**



125 mg del triol **[1]** fueron tratados bajo las condiciones de reacción descritas en el procedimiento general B, en presencia de ácido 3,4-bis(*tert*-butildimetilsililo)benzoico [con los hidroxilos fenólicos previamente protegidos con grupos *tert*-butildimetilsililo (TBDMS) según lo descrito en los procedimientos empleados para proteger el ácido 3,4-dihidrobenzoico] (179 mg),

DMAP (57 mg) y EDCI (73 mg) disueltos en 10 mL de diclorometano. Se obtuvieron mediante purificación en columna flash (9 ciclohexano : 1 Acetato de etilo → 1 ciclohexano : 1 Acetato de etilo) 110 mg de **[17]**, 64 mg de **[18]** y 14 mg de **[19]** con la protección con TBDMS sobre los hidroxilos fenólicos (Al final de la parte experimental se incluyen los espectros RMN-¹H y RMN-¹³C de este compuesto). Los compuestos **[17]** y **[18]** fueron desprotegidos aplicando el procedimiento general D. Finalmente, cada uno fue purificado mediante cromatografía en columna flash (96 diclorometano: 3,9 metanol: 0,1 ácido fórmico). Se recuperaron 28 mg de **[17]** y 10 mg de **[18]**.

Datos: Compuesto [17]	Pág.
Fórmula Molecular: C ₂₆ H ₃₂ O ₇ .	
Masa Molecular: 456,5 g/mol.	
Espectro RMN- ¹ H: [(CD ₃) ₂ CO], Fig. 17B; Tabla 17B.....	..312
Espectro RMN- ¹³ C: [(CD ₃) ₂ CO], Fig. 17C; Tabla 17C.....	..313
Espectro HMBC: [(CD ₃) ₂ CO], Fig. 17F.....	..314

Datos: Compuesto [18]	Pág.
Fórmula Molecular: C ₃₃ H ₃₆ O ₁₀ .	
Masa Molecular: 592,6 g/mol.	
Espectro RMN- ¹ H: [(CD ₃) ₂ CO], Fig. 18B; Tabla 18B.....	..315
Espectro RMN- ¹³ C: [(CD ₃) ₂ CO], Fig. 18C; Tabla 18C.....	..316
Espectro HMBC: [(CD ₃) ₂ CO], Fig. 18F.....	..317

Datos: Compuesto [19]	Pág.
Fórmula Molecular: C ₃₈ H ₆₀ O ₇ Si ₂ .	
Masa Molecular: 685 g/mol.	
Espectro RMN- ¹ H: (CDCl ₃), Fig. 19B; Tabla 19B.....	..318

8. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD BACTERICIDA MEDIANTE LA DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIONES BACTERICIDA MÍNIMA E INHIBITORIA MÍNIMA, DE LOS LABDANOS NATURALES [1] Y [16] Y DE SUS DERIVADOS SINTÉTICOS.

8.1 Cepas Bacterianas

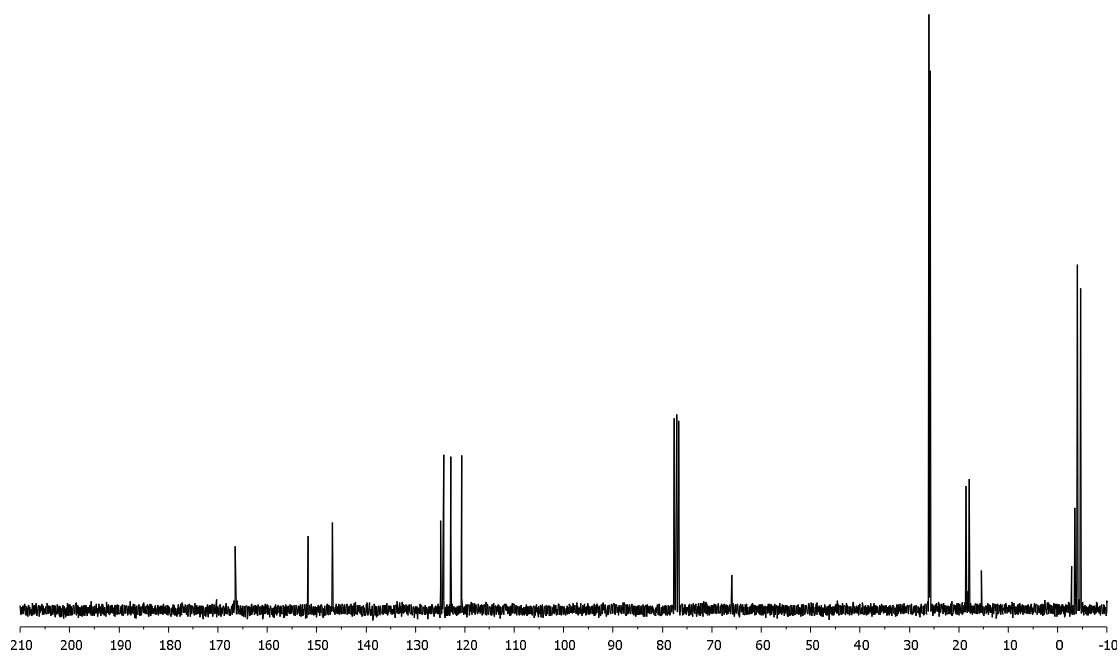
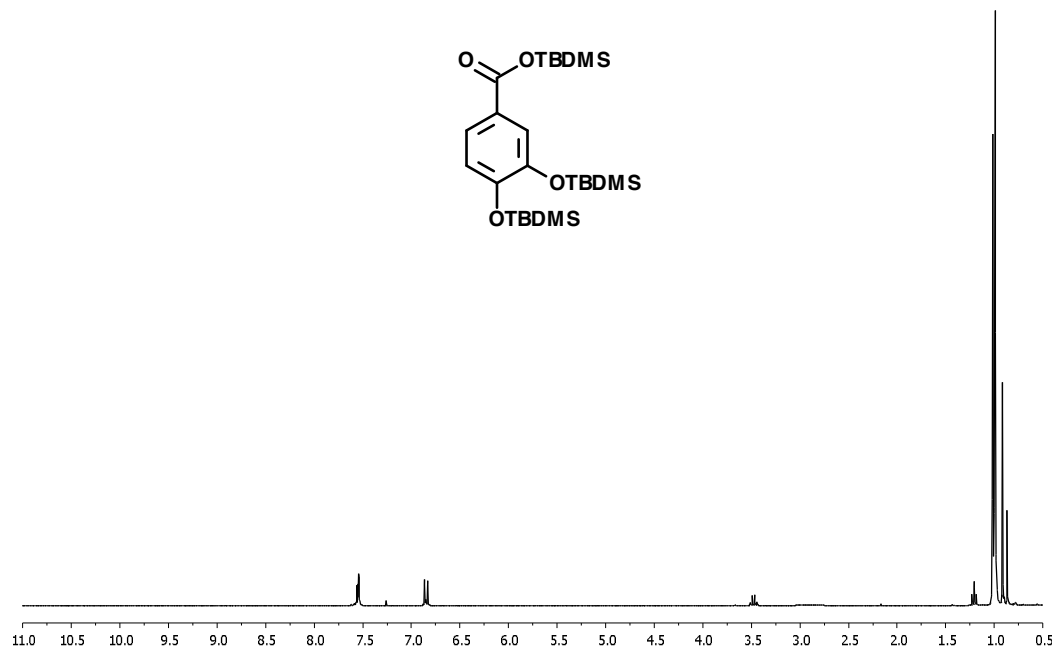
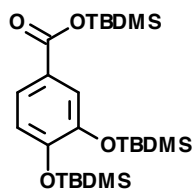
Para evaluar la actividad bactericida de los compuestos, se seleccionaron cuatro (4) cepas bacterianas (dos Gram positivas y dos Gram negativas) de referencia internacional y pertenecientes a la colección de cultivos tipo americano (ATCC): *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Escherichia coli* (ATCC 25922) y *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853).

8.2 Preparación de los Inóculos Bacterianos

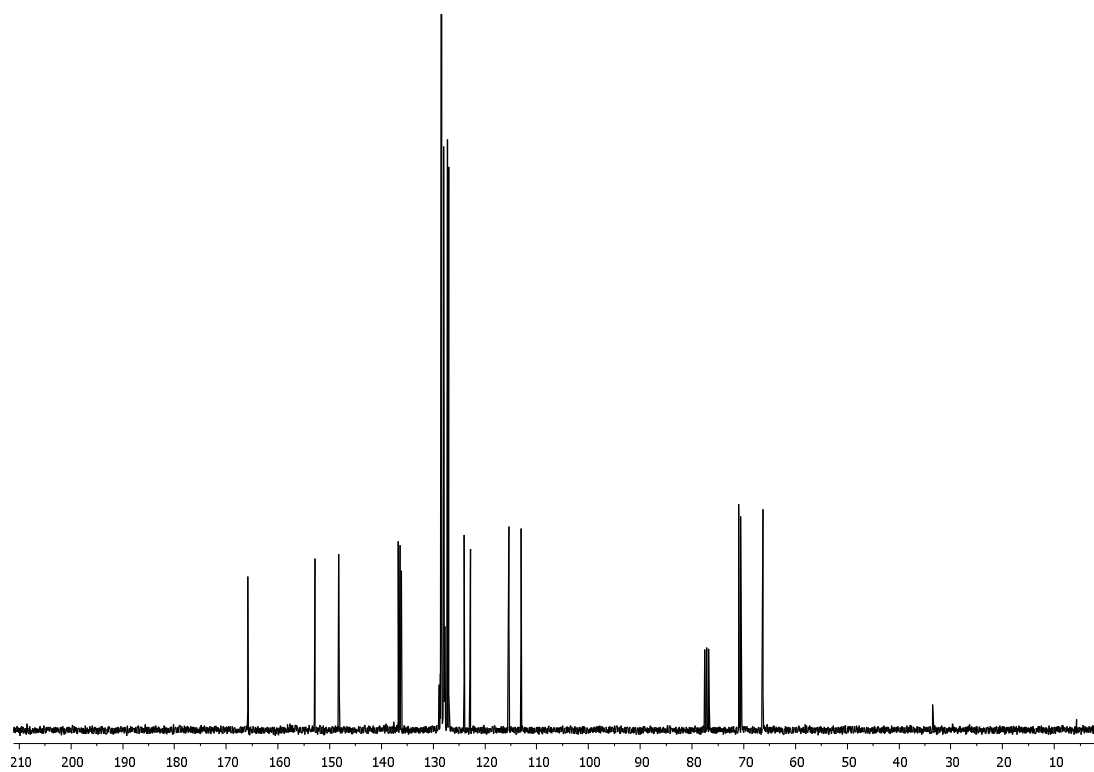
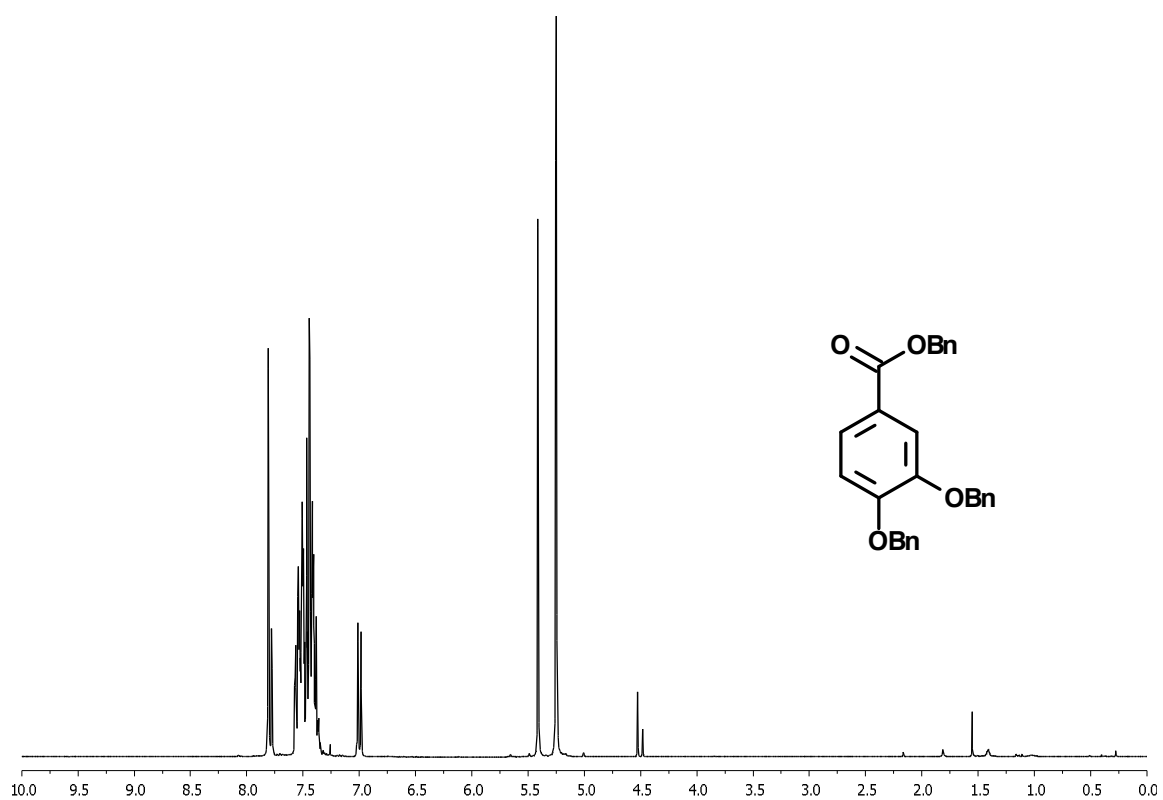
A partir de cultivos en medio sólido, se prepararon pre-inóculos en 20 mL de medio rico (YP) que fueron incubados a 37 °C durante 18 horas en agitación orbital. Estos cultivos fueron diluidos en suero fisiológico o en medio de cultivo, para ser utilizados como inóculos para llevar a cabo los ensayos a la densidad celular deseada.

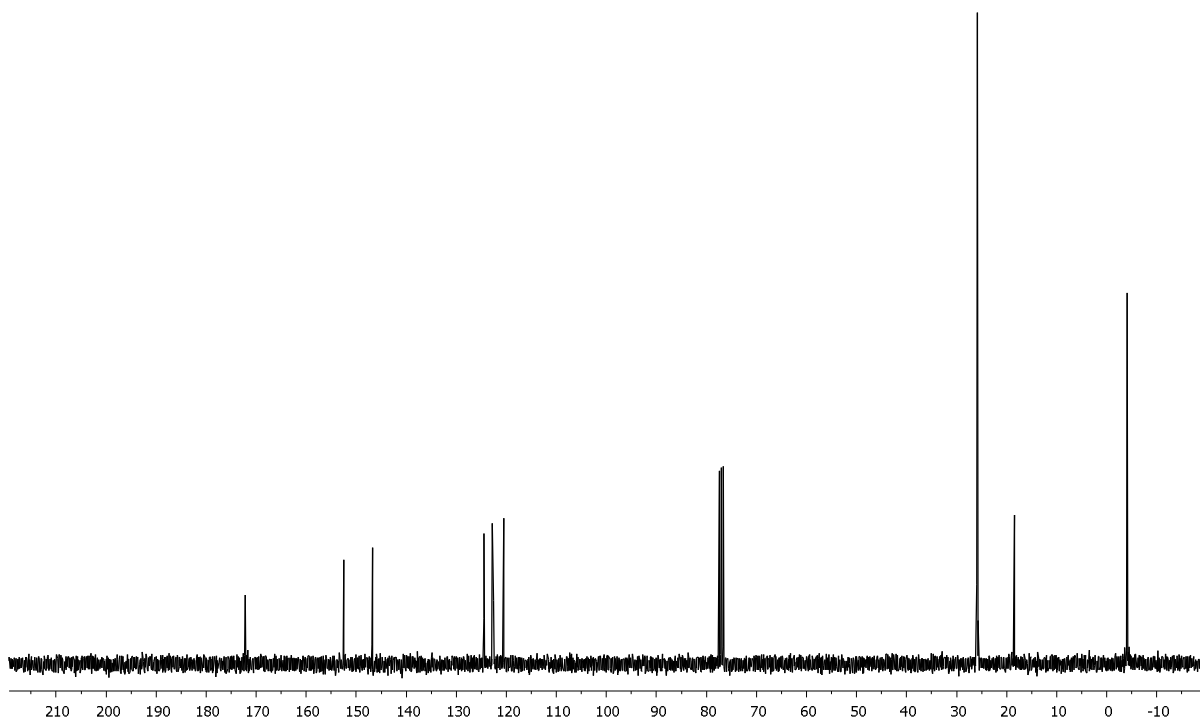
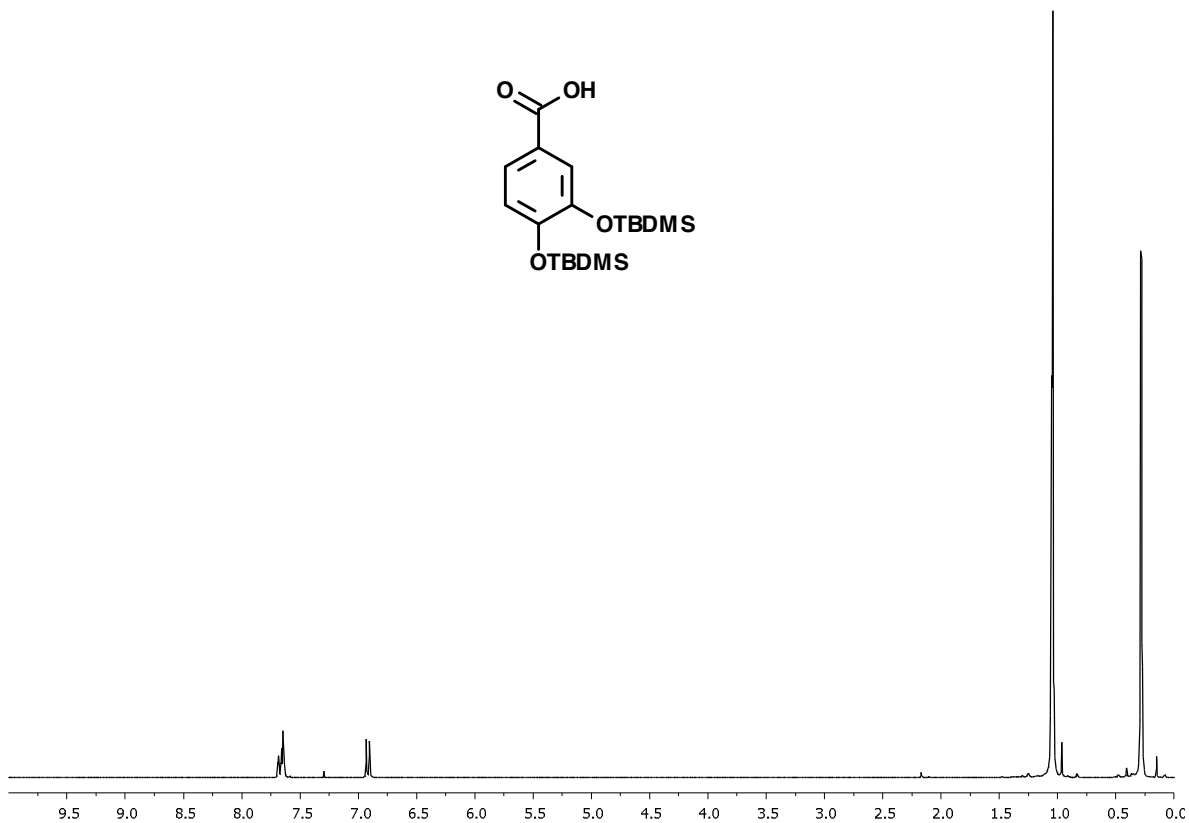
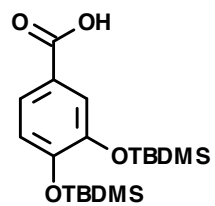
9. ESPECTROS RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) Y RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃) DE ALGUNOS INTERMEDIOS DE SÍNTESIS

9.1. *tert*-butildimetilsilil 3,4-bis(*tert*-butyldimethylsililoxi)benzoato



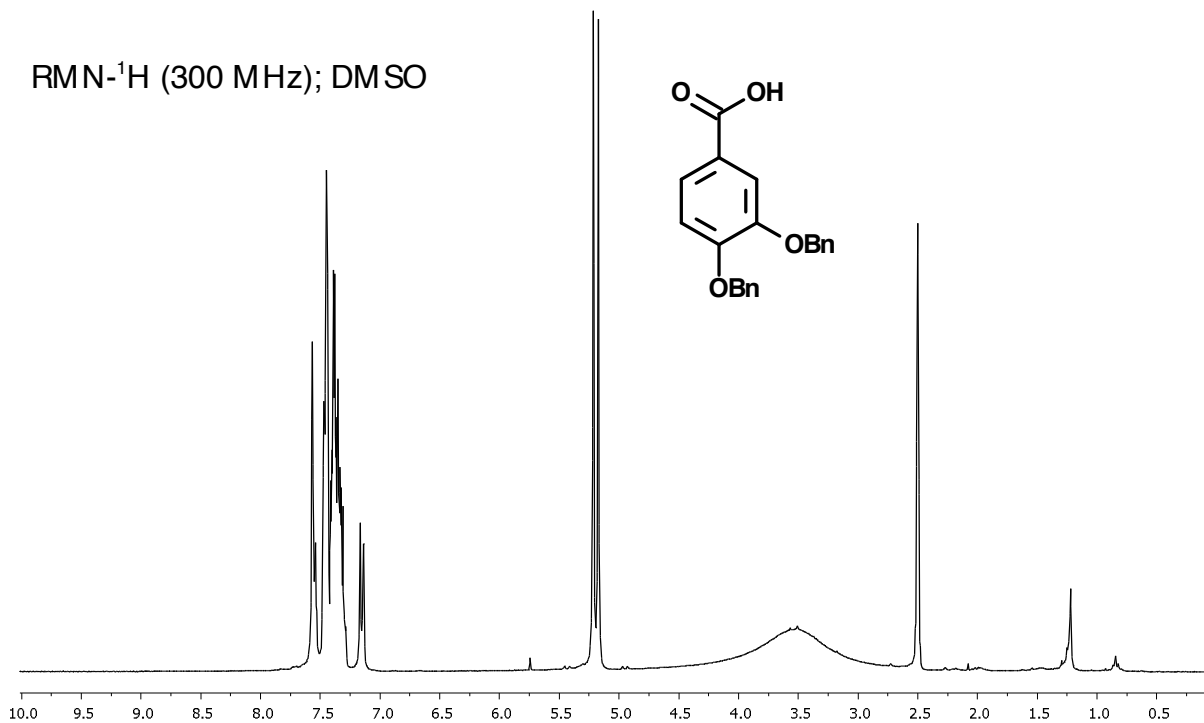
9.2. Bencil 3,4-bis(benciloxi)benzoato



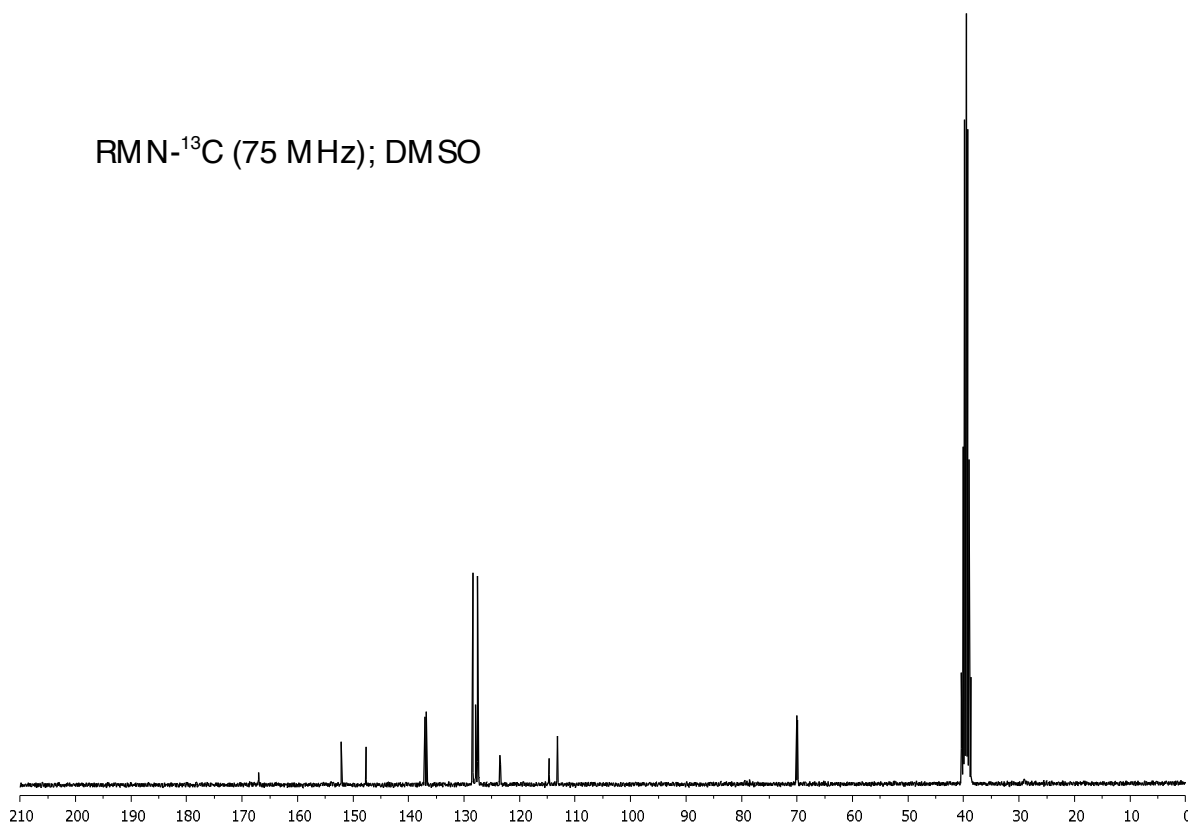
9.3. Ácido 3,4-bis(*tert*-butildimetilsililoxi)benzoico

9.4. Ácido 3,4-bis(benciloxi)benzoico

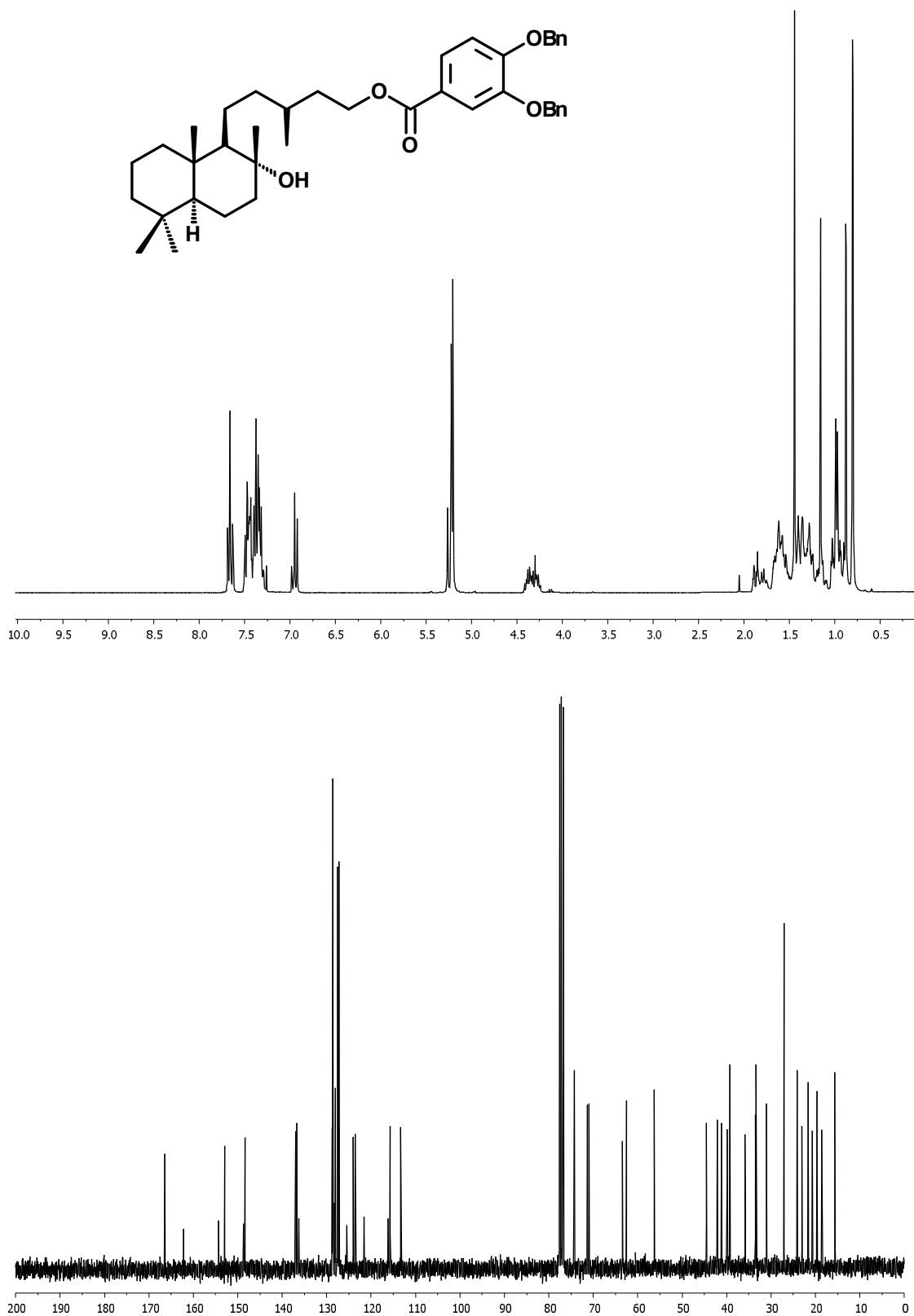
RMN-¹H (300 MHz); DMSO



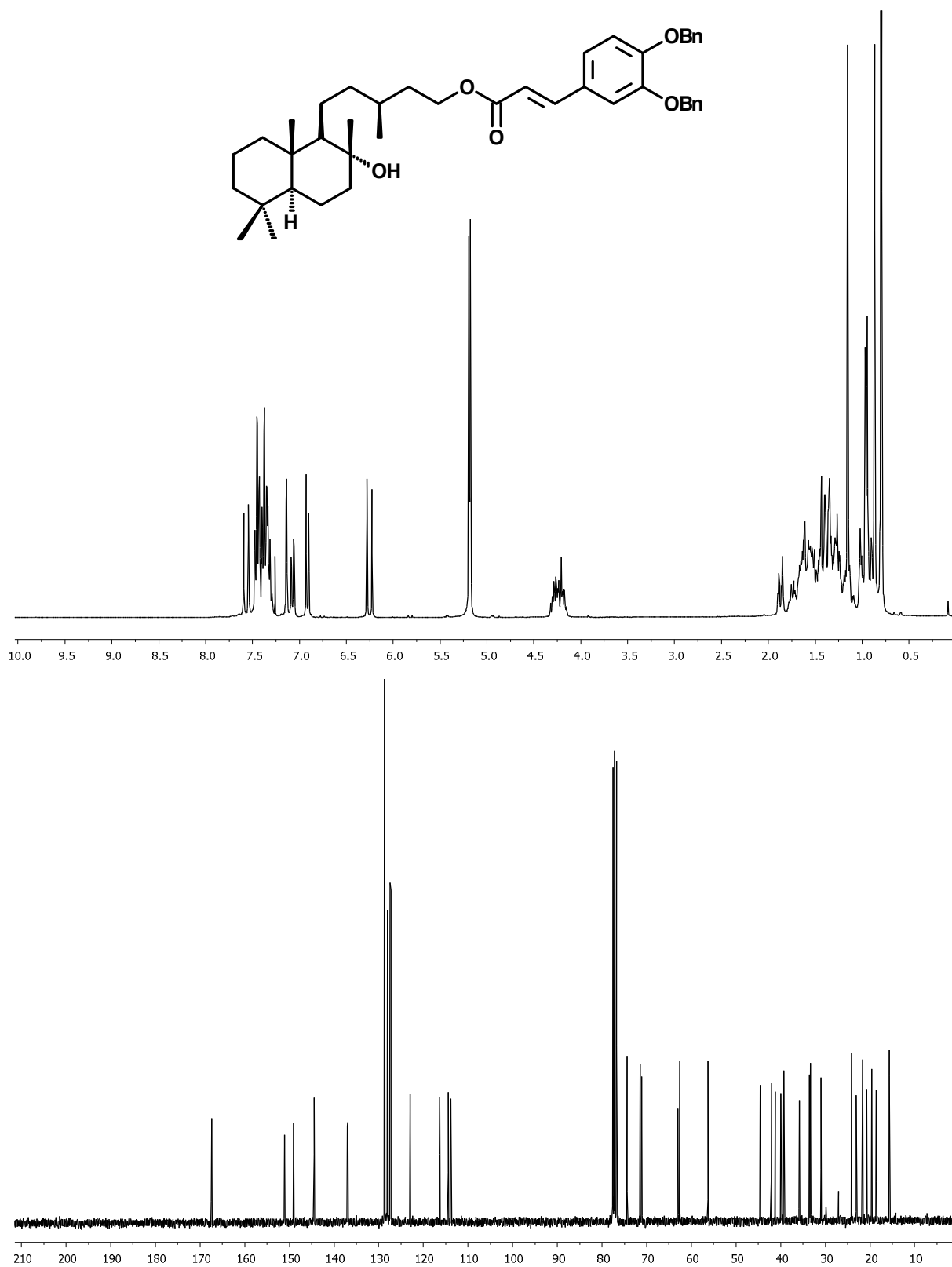
RMN-¹³C (75 MHz); DMSO



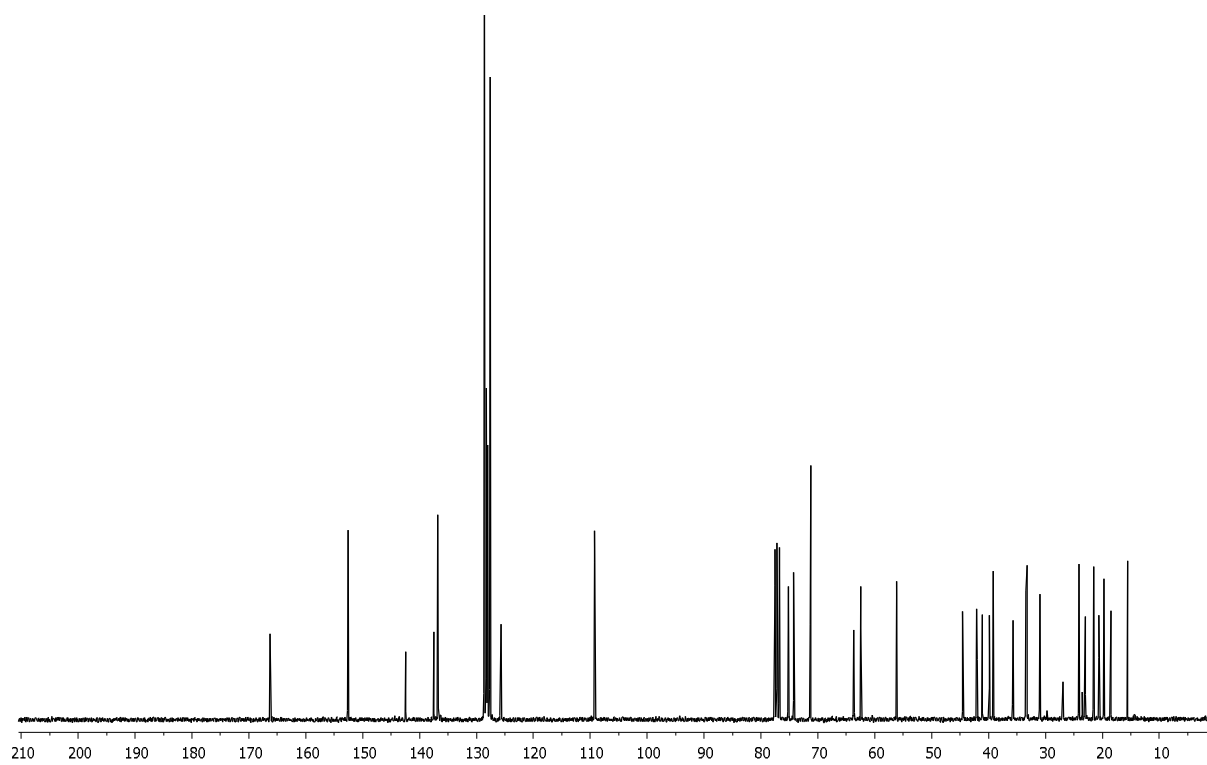
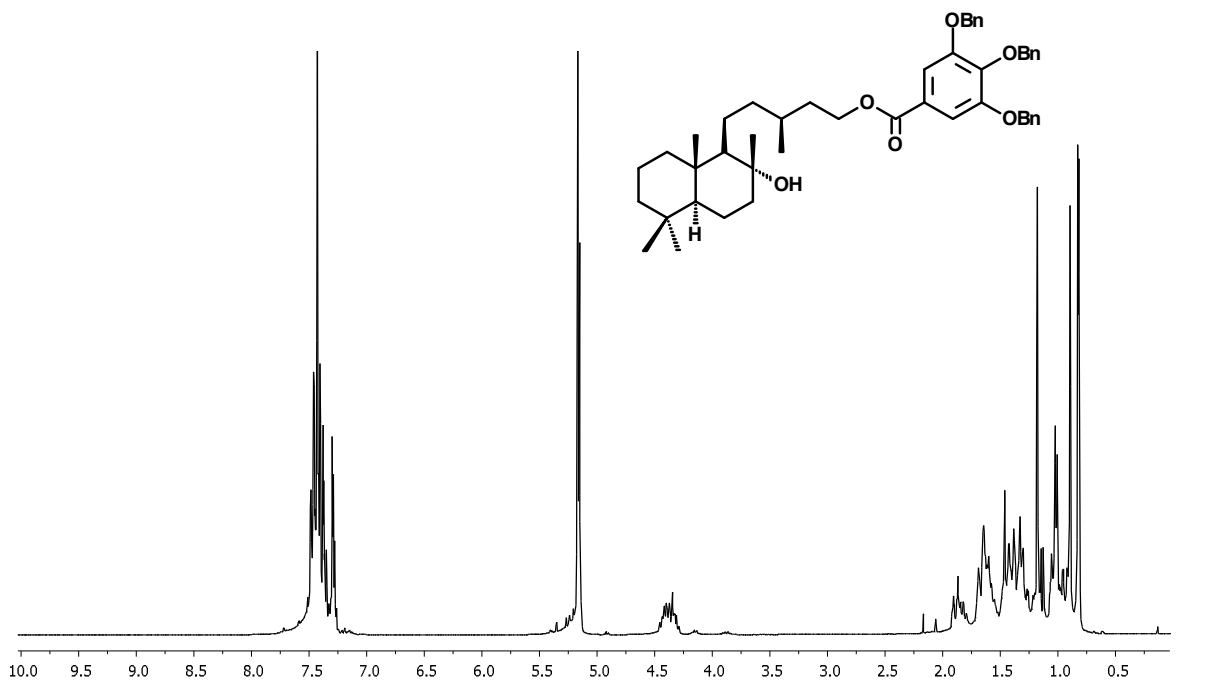
9.10. 3,4-dibenciloxibenzoato de 8-hidroxi-15-labdaniolo



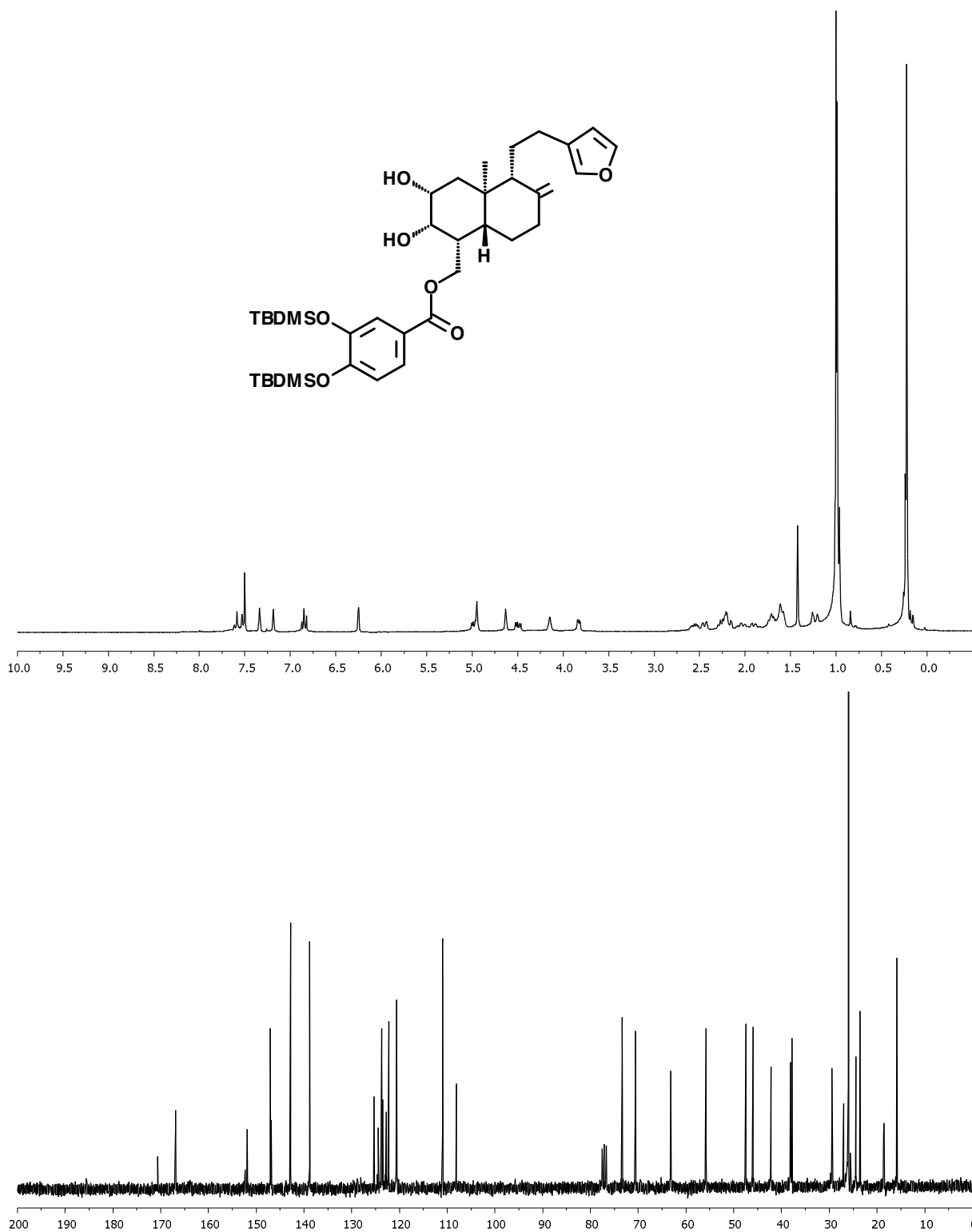
9.11. 3,4-dibenciloxicafeato de 8-hidroxi-15-labdaniilo



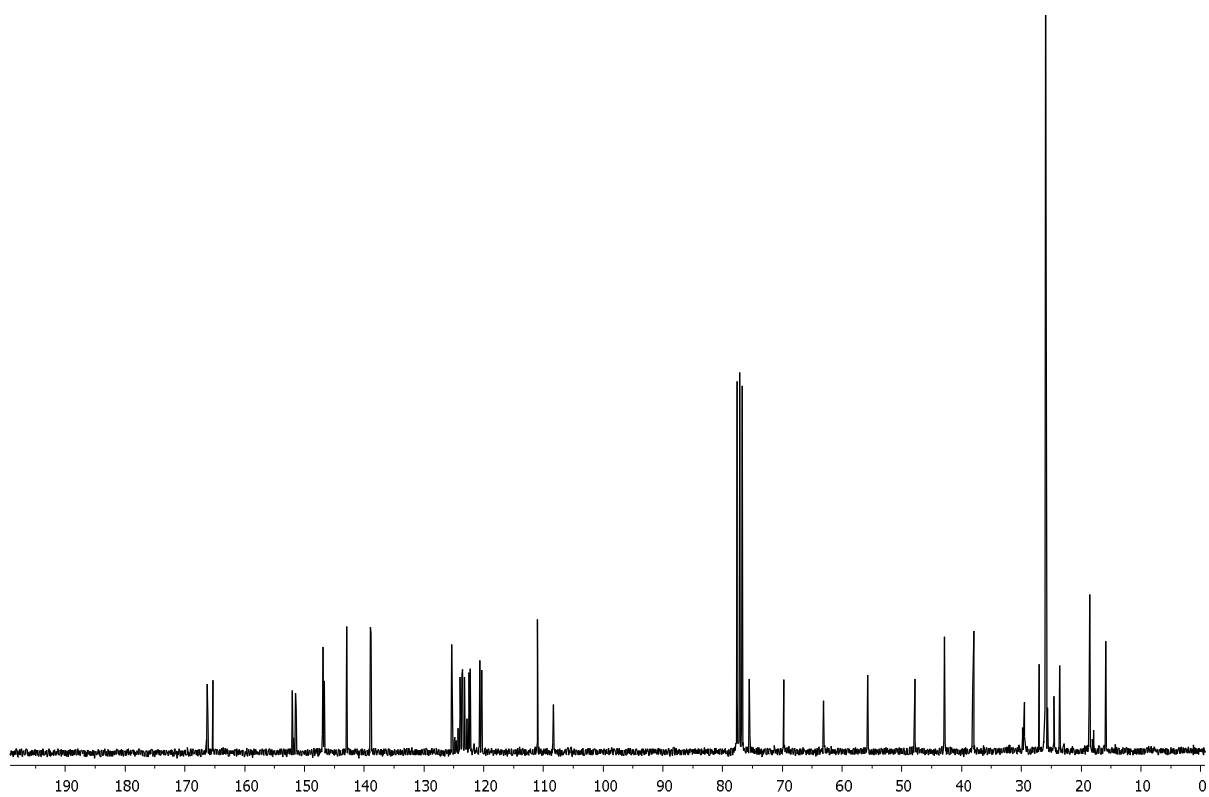
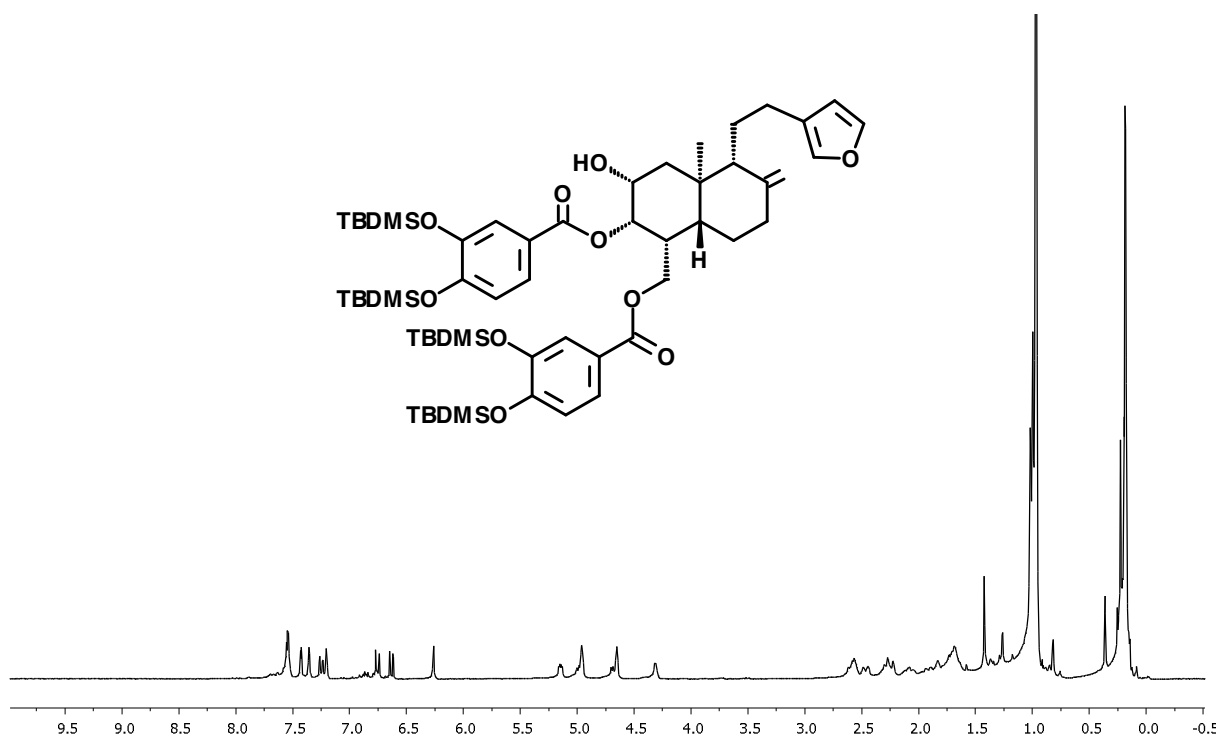
9.12. 3,4,5-tribenciloxibenzoato de 8-hidroxi-15-labdaniilo



9.13. 3,4 bis(*tert*-butildimetilsililoxi)benzoato de 2,3-dihidroxi-19-austroepatilo [17]



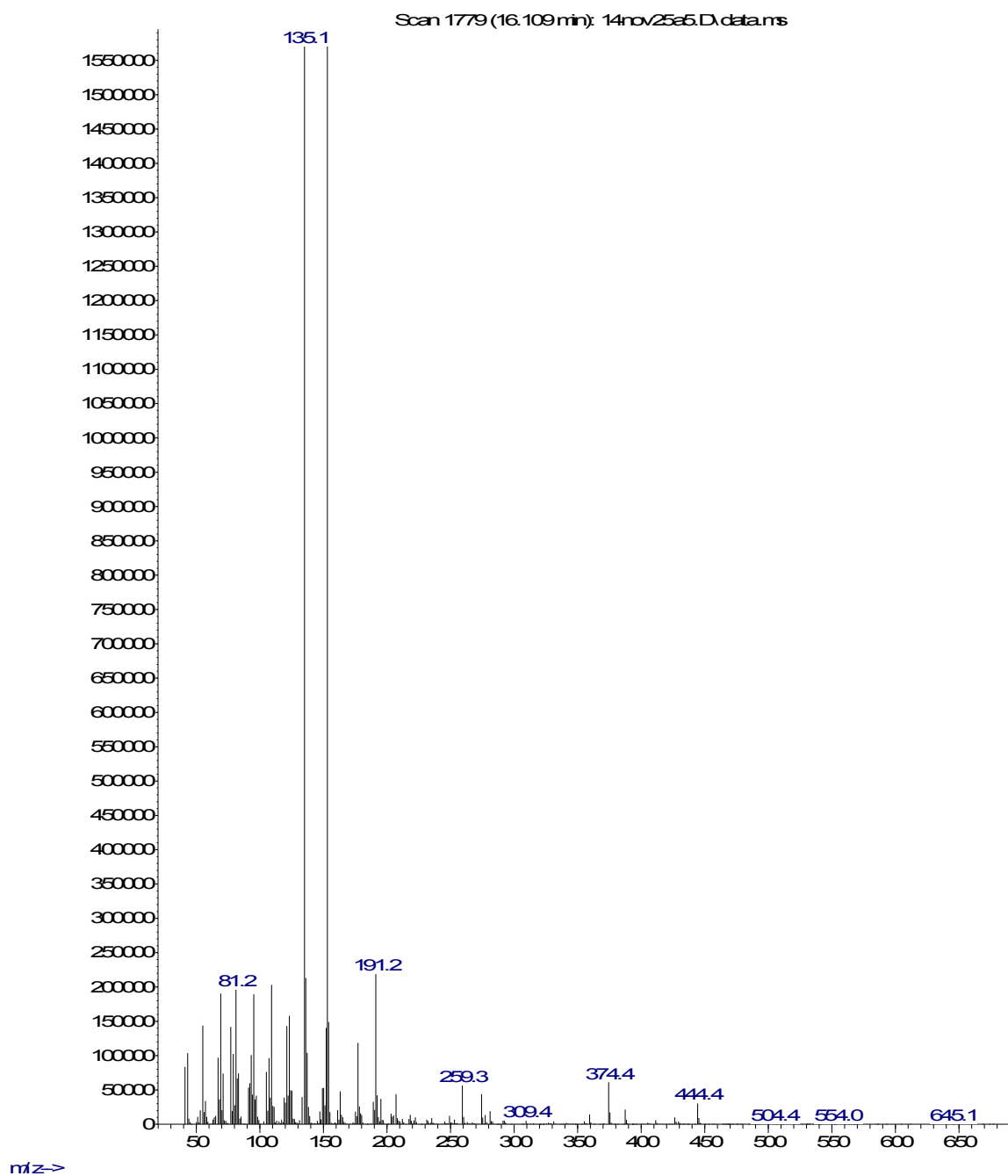
9.14. *Bis*[3,4 bis(*tert*-butildimetilsililoxi)benzoato] de 2-hidroxi-3,19-austroepatilo



ESPECTROS DE MASAS

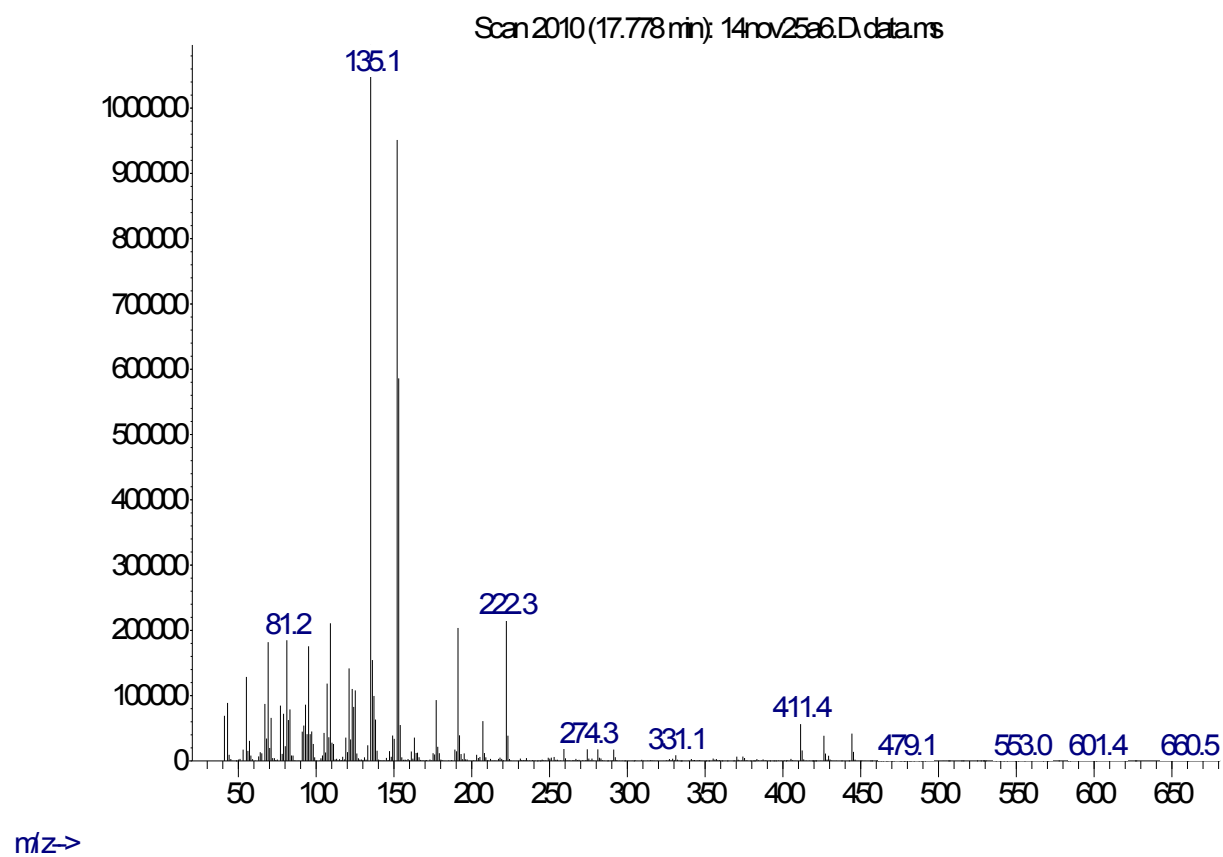
2-metoxibenzoato de 8-hidroxi-15-labdaniolo [2]

Abundance



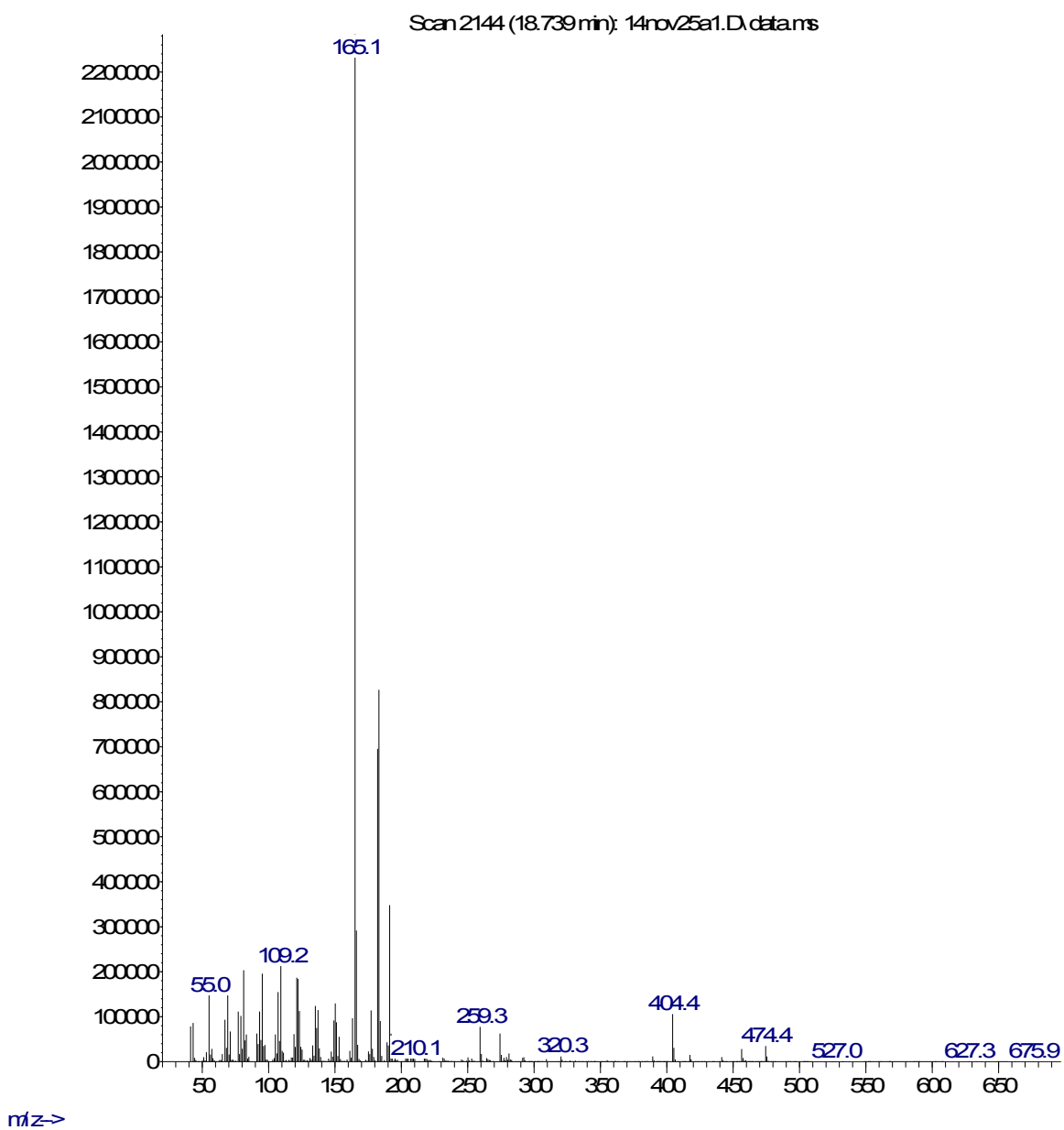
4-metoxibenzoato de 8-hidroxi-15-labdaniolo [3]

Abundance



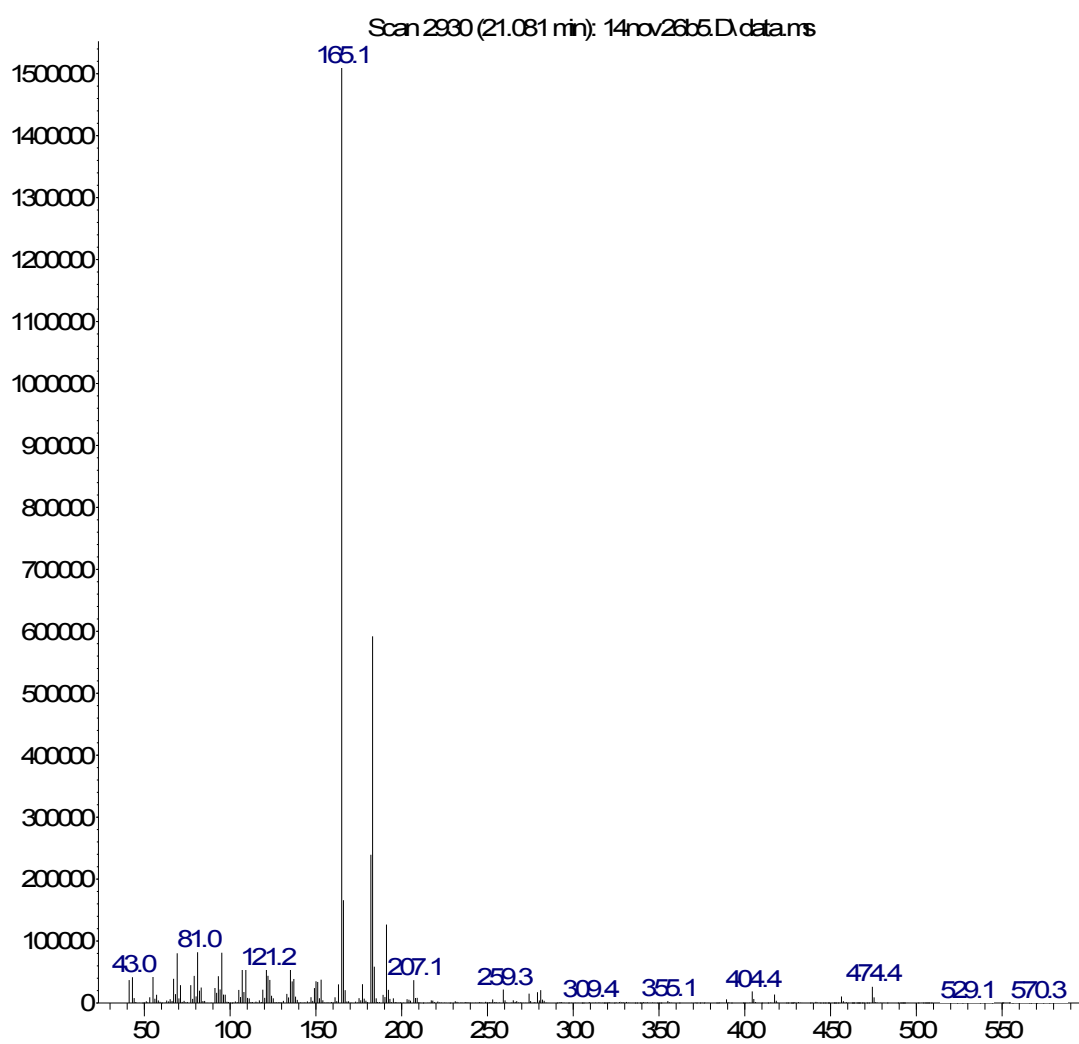
2,3-dimetoxibenzoato de 8-hidroxi-15-labdaniolo [4]

Abundance



2,4-dimetoxibenzoato de 8-hidroxi-15-labdaniolo [5]

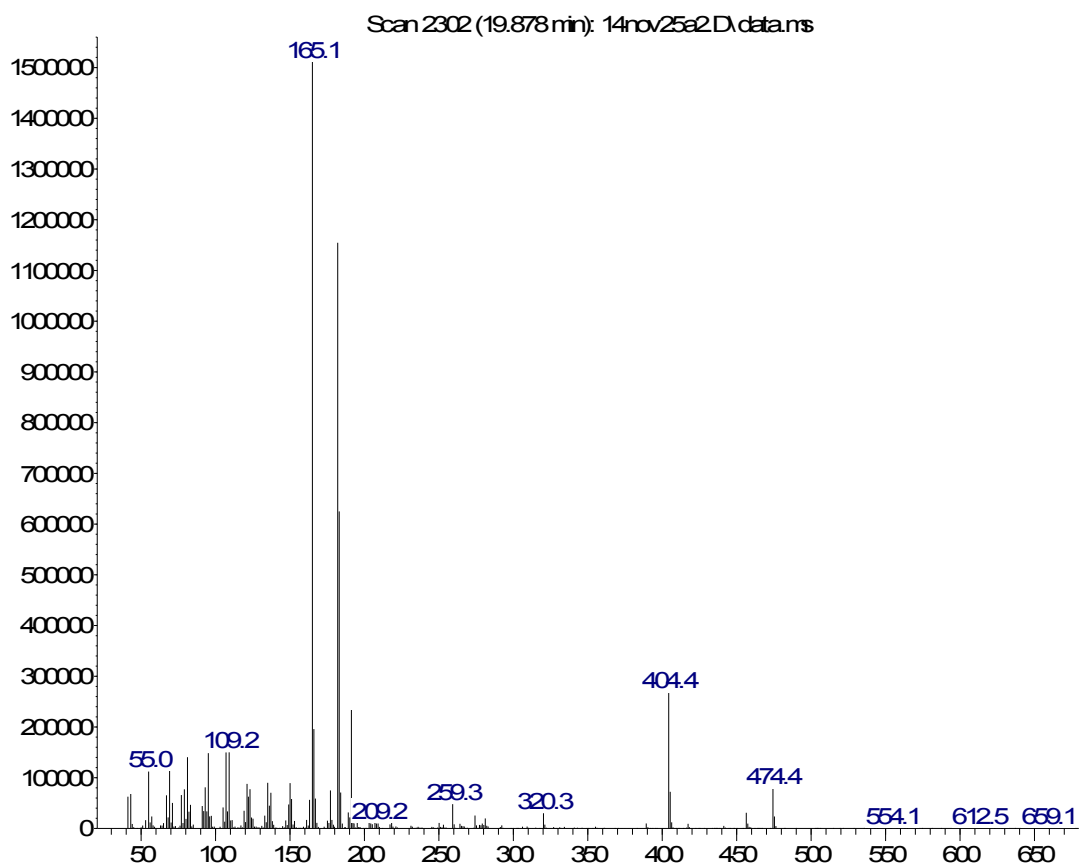
Abundance



m/z->

2,5-dimetoxibenzoato de 8-hidroxi-15-labdaniolo [6]

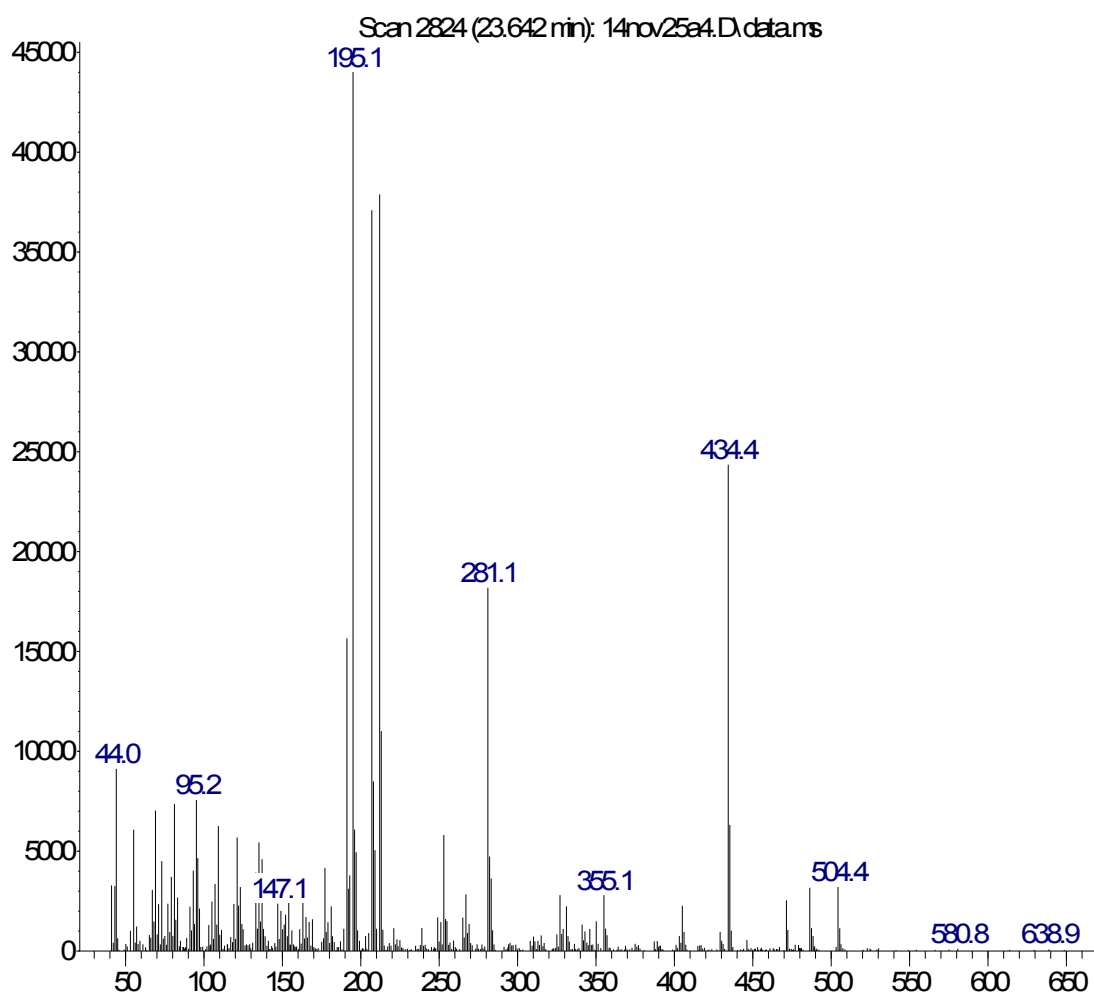
Abundance



m/z->

2,4,5-trimetoxibenzoato de 8-hidroxi-15-labdaniolo [7]

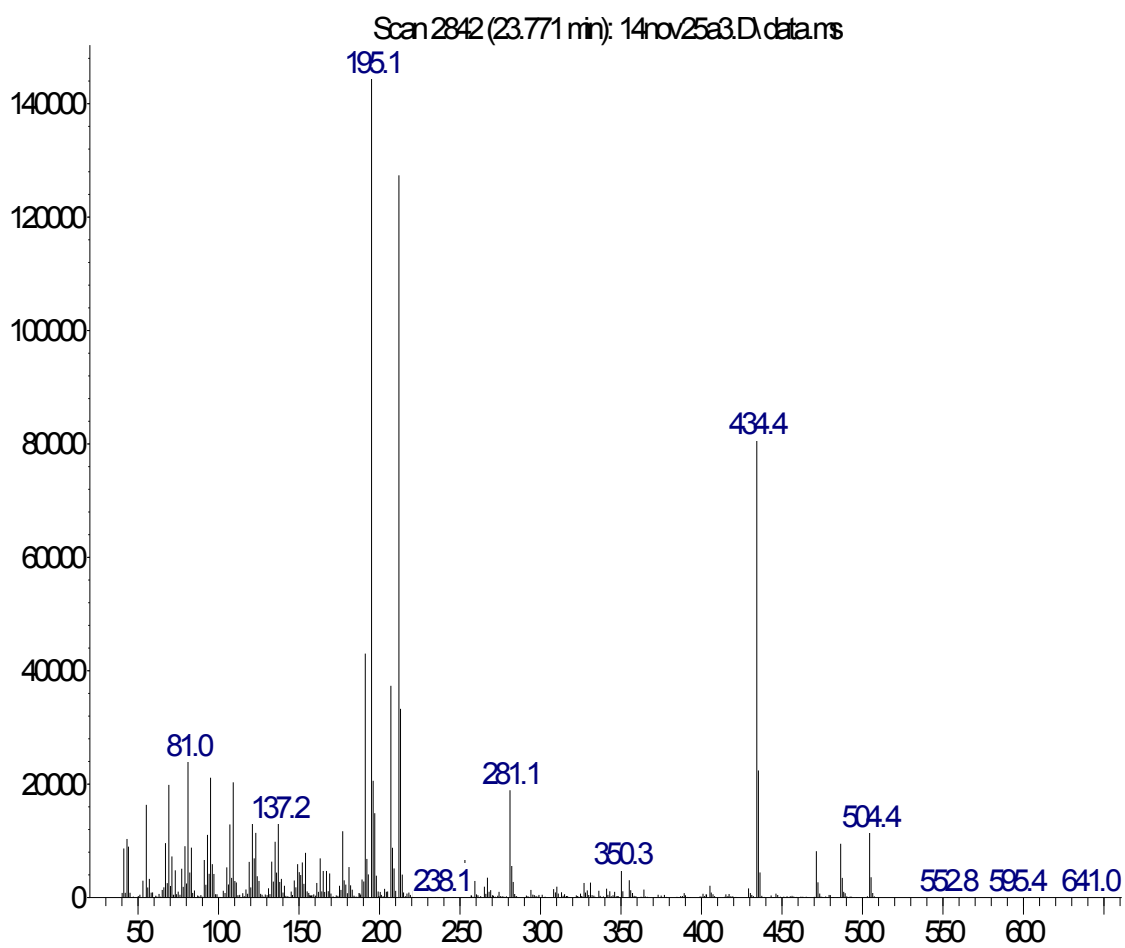
Abundance



m/z->

3,4,5-trimetoxibenzoato de 8-hidroxi-15-labdaniolo [8]

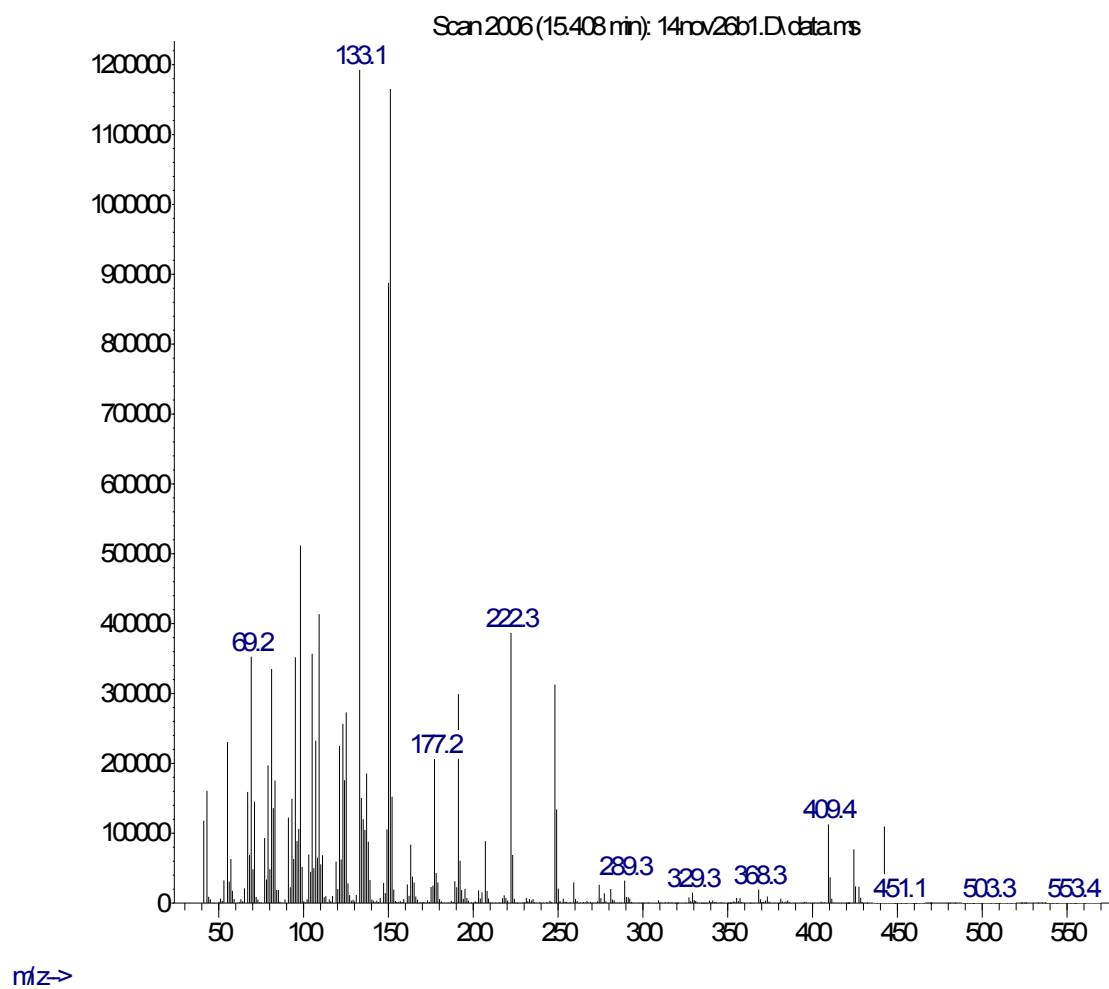
Abundance



m/z->

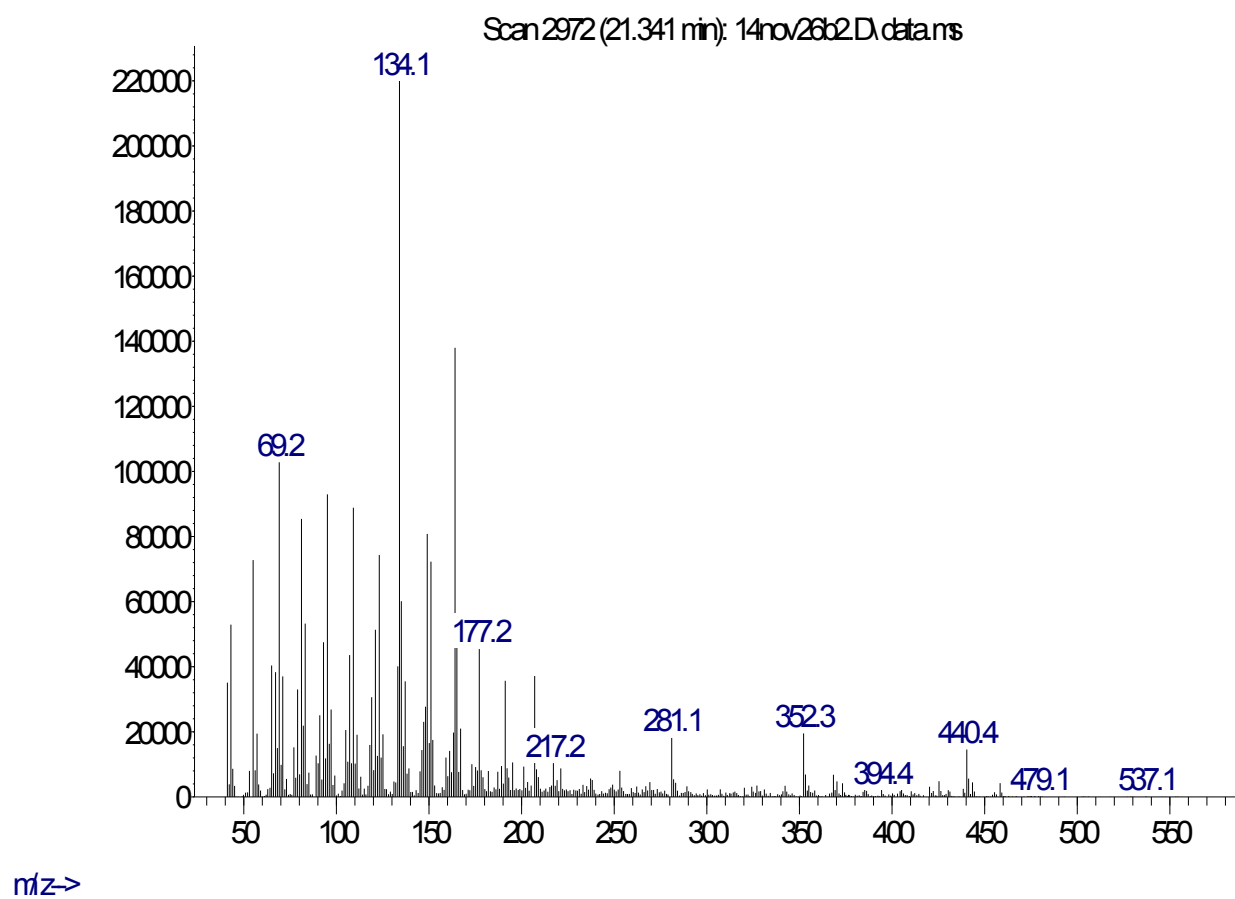
3,5-dimetilbenzoato de 8-hidroxi-15-labdaniolo [9]

Abundance



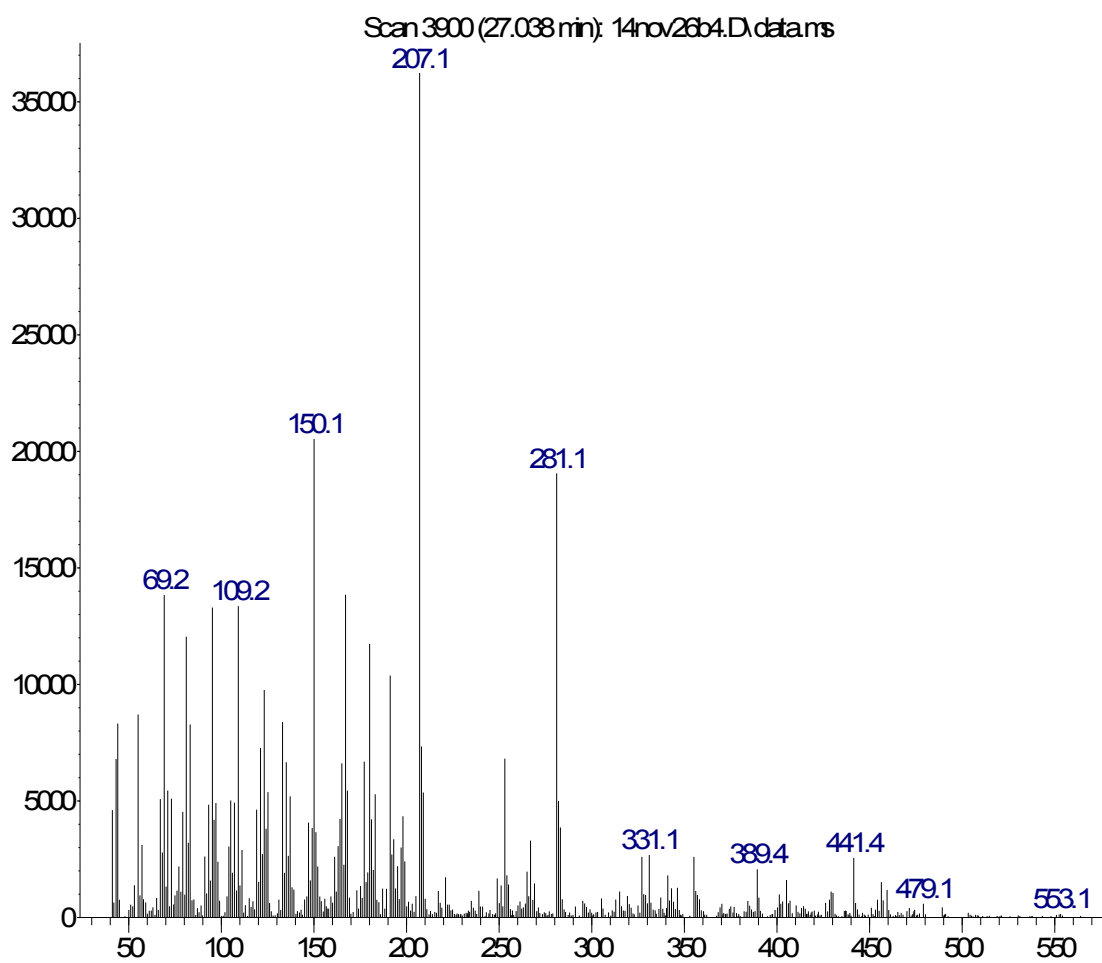
5-metil-2-nitrobenzoato de 8-hidroxi-15-labdaniolo [10]

Abundance



4-metoxi-3-nitrobenzoato de 8-hidroxi-15-labdaniolo [11]

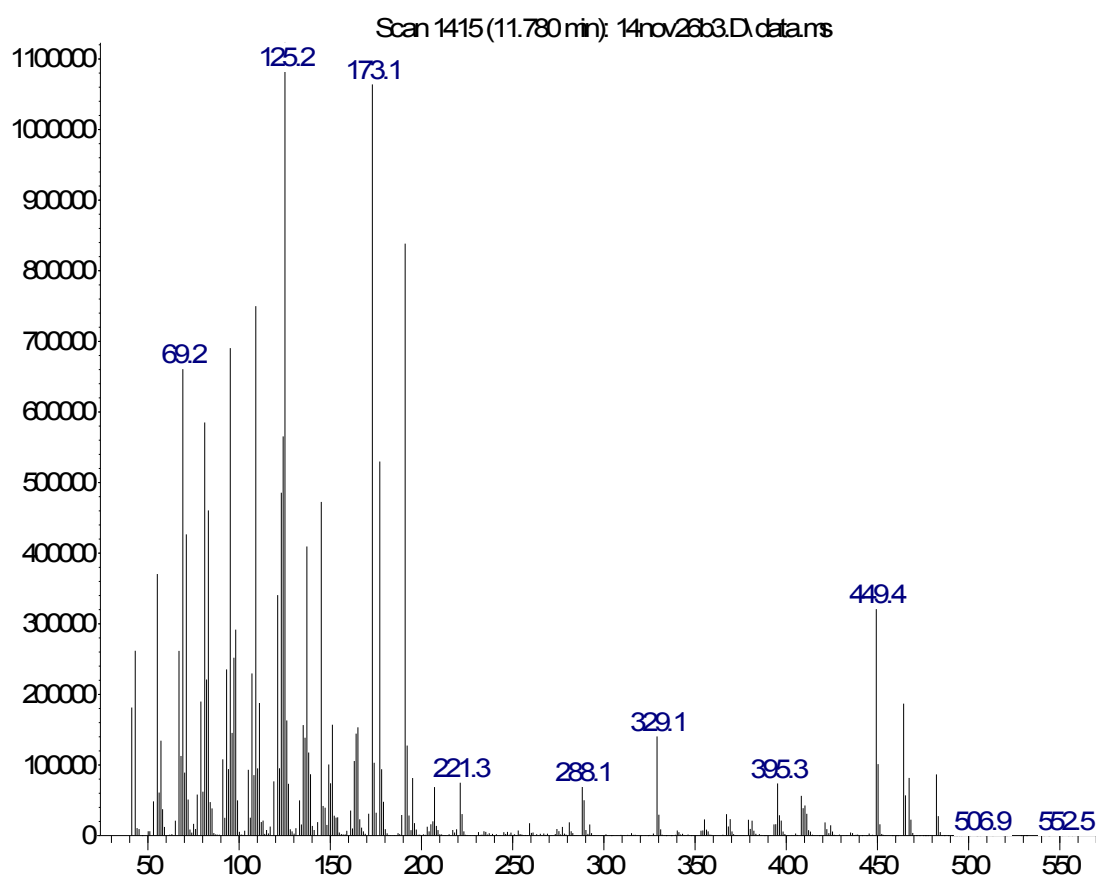
Abundance



m/z->

4-trifluorometilbenzoato de 8-hidroxi-15-labdanilo [12]

Abundance



m/z->

CONCLUSIONES

En el presente Capítulo se da cuenta de los resultados obtenidos en una serie de reacciones de esterificación efectuadas sobre Labdan-8 α ,15-diol **[1]** y Austroeupatol **[16]** aislados de *Oxylobus glanduliferus* y *Austroeupatorium inulaefolium* respectivamente y la actividad bactericida que presentaron los derivados obtenidos frente a *S. aureus*, *E. faecalis*, *E. coli* y *P. aeruginosa*. Así pues, con base en el análisis de lo anteriormente expuesto, se concluye lo siguiente:

- ◆ Las partes aéreas de *Oxylobus glanduliferus* y *Austroeupatorium inulaefolium* resultaron ser una fuente importante de Labdan-8 α ,15-diol **[1]** y Austroeupatol **[16]**.
- ◆ El hidroxilo terciario ubicado sobre C-8 en el compuesto **[1]** resultó ser inerte a efectos de esterificarse (empleando las metodologías de esterificación convencionales). Esto permitió esterificar en forma específica la posición C-15.
- ◆ En el austroeupatol **[16]**, el grupo hidroxilo menos reactivo (en cuanto a reacciones de esterificación) es el ubicado sobre C-2. A su vez, el grupo -OH más reactivo es el correspondiente al alcohol primario (ubicado en C-19).
- ◆ Los estudios de actividad bactericida indicaron que los derivados **[14]**, **[16]**, y **[18]** presentaron una CIM entre 600 y 300 $\mu\text{g/mL}$ frente a *S. aureus*, pero su capacidad para inhibir el crecimiento bacteriano, no alcanza los niveles mínimos requeridos para continuar realizando estudios, con vistas a explorar su interés terapéutico en este campo. El producto **[17]** presentó una CBM de 300 $\mu\text{g/mL}$ frente a *S. aureus* e inhibió el crecimiento de la cepa (CIM) entre 16 y 8 $\mu\text{g/mL}$. Los demás compuestos no fueron capaces de inhibir el crecimiento de ningún grupo de bacterias.
- ◆ Con las cantidades disponibles de los diterpenos **[1]** y **[16]** es procedente continuar realizando transformaciones químicas a los mismos. Estas transformaciones estarían dirigidas a la obtención de una amplia batería de derivados, con vistas a ensayar otras posibles actividades biológicas, tales como: Actividad leishmanicida, antimalárica, antichagásica, antiviral, fungicida, etc. De igual manera sería oportuno abordar estudios dirigidos a investigar el posible papel ecológico de estos compuestos en la planta.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALCARAZ M. J. and JMÉNEZ M. J., 1989. Anti-inflammatory Compounds from *Siderites javalambrensis* N-hexane Extract. **J Nat. Prod.**, **52**, 1088-91.
2. AMARO J. M. and ADRIÁN M., 1982. Diterpenoides del *Oxylobus glanduliferus* (Sch-Bip). Gray. **Rev. Latinoamer. Quím.**, **13**, 110-113.
3. AYAFOR J. F., TCHUENDEM M. H. and NYASSE B., 1994. Novel Bioactive Diterpenoids from *Afromomum aulacocarpos*. **J Nat. Prod.**, **57**, 917-23.
4. CHINOI I., DEMETZOS C., HARVALA C., ROUSSAKIS C. and VERBIST J., 1994. Cytotoxic and Antibacterial Labdane-Type Diterpenes from the Aerial Parts of *Cistus incanus* subsp. *Creticus*. **Planta Medica**, **60**, 34-36.
5. COLL J. C. and BOWDEN B. F., 1986. The Application of Vacuum Liquid Chromatography to the Separation of Terpenes Mixtures. **J Nat. Prod.**, **49**, 934-936.
6. DE JESUS R. A., CECHINEL-FILHO V., OLIVEIRA A. E. and SCHLEMPER V., 2000. Analysis of the Antinociceptive Properties of Marrubiin Isolated from *Marrubium vulgare*. **Phytomedicine**, **7**, 111-15.
7. DE LAS HERAS B. and HOULT J. R., 1994. Non-Cytotoxic Inhibition of Macrophage Eicosanoid Biosynthesis and Effects on Leukocyte Functions and Reactive Oxygen Species of Two Novel Anti-Inflammatory Plant Diterpenoids. **Planta Medica**, **60**, 501-06.
8. DELLA GRECA M., FIORENTINO A., ISIDORI M., MONACO P. and ZARELLI A., 2000. Antialgal *ent*-Labdane Diterpene from *Ruppia maritima*. **Phytochemistry**, **55**, 909-13.
9. DEMETZOS C., KOLOCOURIS A. and ANASTASAKI T., 2002. A simple and Rapid Method for the Differentiation of C-13 Manoyl Oxide Epimers in Biologically Important Samples using GC-MS Analysis with NMR Spectroscopy and Computational Chemistry Results. **BioOrg. Med. Chem. Letters**, **12**, 3605-09.
10. DEV S. and MISRA R. 1986. Diterpenoids. Vol 2. **En**, S. DEV (Ed.) "CRC Handbook of Terpenoids:" CRC Press. Boca Ratón. USA.

11. DUBEY M.P., SRIMAL R.C., PATNAIK G.K. and DHAWAN B.N., 1974. Blood pressure lowering and antispasmodic effects of *C. forskohlii* Briq. ***Indian J Pharm.*** **6**, 15.
12. DUKER-ESHUN G., JAROSZEWSKI J. W., ASOMANING W. A., BOACHIE-OPPONG F., OLSEN C. E. and CHRISTENSEN S. B., 2002. Antiplasmodial Activity of Labdanes from *Aframomun latifolium* and *Aframomun sceptrum*. ***Planta Medica***, **68**, 640-42.
13. EL BARDAI S., MOREL N., WIBO M., FABRE N., LLABRES G., LYOUSSI B. and QUETIN-LECLERCQ J., 2003. The Vasorelaxant Activity of Marrubenol and Marrubiin from *Marrubium vulgare*. ***Planta Medica***, **69**, 75-77.
14. FULLAS F., HUSSAIN R., BORDAS E., PEZZUTO J., SOEJARTO D. and KINGHORN A., 1991. Gaudichaudiosides A-E, Five Novel Diterpene Glycoside Constituents from the Sweet-Tasting Plant, *Baccharis gaudichaudiana*. ***Tetrahedron***, **47**, 8515-22.
15. HABIBI Z., EFTEKHAR F., SAMIEE K. and RUSTAIYAN A., 2000. Structure and Antibacterial Activity of a New Labdane Diterpenoid from *Salvia leriaefolia*. ***J Nat. Prod.***, **63**, 270-71.
16. HABTEMARIAM S., 2003. *In vitro* Antileishmanial Effects of Antibacterial Diterpenes from Two Ethiopian *Premna* Species: *P. schimperi* and *P. oligotricha*. ***BMC Pharmacology***, **3**, 6.
17. HABTEMARIAM S., GRAY A. and WATERMAN P., 1992. Antibacterial Diterpenes from the Aerial Parts of *Premna oligotricha*. ***Planta Medica***, **58**, 109-10.
18. HENKE H., 1995. "Preparative Gel Chromatography on Sephadex LH-20". Hüthig Verlag. Heidelberg.
19. ITOKAWA H., MORITA H., KATOU I., TAKEYA K., CAVALHEIRO A., OLIVEIRA R., ISHIGE M. and MOTIDOME M., 1988. Cytotoxic Diterpenes from the Rhizomes of *Hedychium coronarium*. ***Planta Medica***, **54**, 311-15.
20. IWAGAWA T., YAGUCHI S., HASE T., OKUBO T. and KIM M., 1992. Gomojosides, Labdane Diterpenoids from *Viburnum suspensum*. ***Phytochemistry***, **31**, 1311-15.
21. JASSBI A. R., ZAMANIZADEHNAJARI S., AZAR P. A. and TAHARA S., 2002. Antibacterial Diterpenoids from *Astragalus brachystachys* ***Z. Naturforsch. [C]***, **57c**, 1016-21.

22. KALPOUTZAKIS E., ALIGIANNIS N., MITAKU S., CHINOU I., CHARVALA C. and SKALTSOUNIS A. L., 2001. New Hemisynthetic Manoyl Oxide Derivatives with Antimicrobial Activity. **Chem. Pharm. Bull.**, **49**, 814-17.
23. KATAGIRI M., OHTANI K., KASAI R., YAMASAKI K., YANG C. R. and TANAKA O., 1994. Diterpenoid Glycosyl Esters from *Phlomis younghusbandii* and *P. medicinalis* Roots. **Phytochemistry**, **35**, 439-42.
24. KERNAN M. R. and FAULKNER D. J., 1988. Sesteterpene Sulfates from a Sponge of the Family Halichondriidae. **J Org. Chem.**, **53**, 4574-78.
25. KIM T. H. and ISOE S. 1983. Total Synthesis of (\pm)-(E)-8 β ,17-Epoxyabd-12-ene-15,16-dial. **J Chem. Soc., Chem. Commun.** 730-731.
26. KIMBU S. F., NGADJUI B., SONDEGAM L. B., NJIMI T. K., CONNOLLY J. D. and FAKUNLE C. O., 1987. A New Labdane Diterpenoid from the Seeds of *Aframomun danielli*. **J Nat. Prod.**, **50**, 230-31.
27. KITTAKOOP P., WANASITH S., WATTS P., KRAMYU J., TANTICHAROEN M. and THEBTARANONTH Y., 2001. Potent Antiviral Potamogetonyde and Potamogetonol, New Furanoid Labdane Diterpenes from *Potamogeton malaianus*. **J Nat. Prod.**, **64**, 385-88.
28. LINDNER E., DOHADWALLA A. N. and BHATTACHARYA B. Y., 1978. Positive Inotropic and Blood Pressure Lowering Activity of a Diterpene Derivative Isolated from *Coleus forskohli*: Forskolin. **Indian J Chem.**, **15B**, 880-83.
29. MENDOZA L., TAPIA L., WILKENS M. and URZUA A., 2002. Antibacterial Activity of 13-*epi*-Sclareol, a Labdane Type Diterpene Isolated from *Pseudognaphalium heterotrichium* and *P. cheiranthifolium* (Asteraceae). **Bol. Soc. Chil. Quim.**, **47**, 91-98.
30. MIKES O., 1979. "Laboratory Handbook of Chromatographic and Allied Methods". Ellis Horwood. Chichester.
31. MITSCHER L. A., LEU R-P., BATHALA M. S., WU W-N. and BEAL J. L., 1972. Antimicrobial Agents from Higher Plants. I. Introduction, Rationale, and Methodology. **Lloydia**, **35**, 157-66.
32. MORITA H. and ITOKAWA H., 1988. Cytotoxic and Antifungal Diterpenes from the Seeds of *Alpinia galanga*. **Planta Medica**, **54**, 117-20.
33. NATORI S., IKEKAWA N. and SUZUKI M., 1981. "Advances in Natural Products Chemistry. Extraction and Isolation of Biologically Active Compounds". Halstead Press Book. John Wiley. New York.

34. NAVARRO A., DE LAS HERAS B. and VILLAR A. M., 1997. Diterpenoid with Anti-Inflammatory Activity from *Sideritis foetens* Clemen. **Z. Naturforsch. [C]**, **52c**, 844-49.
35. NAVARRO A., DE LAS HERAS B. and VILLAR ANGEL., 2000. Immunomodulating Properties of the Diterpene Andalusol. **Planta Medica**, **66**, 289-91.
36. QAIS N., MANDAL R. M., RASHID M. A., JABBAR A., KOSHINO H., NAGASAWA K. and NAKATA T., 1998. A Furanoid Labdane Diterpene from *Potamogeton nodosus*. **J Nat. Prod.**, **61**, 156-57.
37. RECIO M. C. and RÍOS J. L., 1989. A Review of Some Antimicrobial Compounds Isolated from Medicinal Plants Reported in the Literature 1978-1988. **Phytother. Res.**, **3**, 117-25.
38. RICHOMME P., GODET M., FOUSSARD F., TOUPET L., SÉVENET T. and BRUNETON J., 1991. A Novel Leishmanicidal Labdane from *Polyalthia macropoda*. **Planta Medica**, **57**, 552-54.
39. RIJO P., GASPAR-MARQUEZ C., SIMOES M. F., DUARTE A., APREDA-ROJAS M. C., CANO F. H. and RODRÍGUEZ B., 2002. Neoclerodane and Labdane Diterpenoids from *Plectranthus ornatus*. **J Nat. Prod.**, **65**, 1387-90.
40. RÍOS J. L., RECIO M. C. and VILLAR A., 1988. Screening Methods for Natural Products with Antimicrobial Activity: A Review of the Literature. **J Ethnopharmacol.**, **23**, 127-49.
41. ROJAS A., CRUZ S., PONCE- MONTER H. and MATA R., 1996. Smooth Muscle Relaxing Compounds from *Dodonaea viscosa*. **Planta Medica**, **62**, 154-59.
42. SEKIGUCHI M., SHIGEMORI H., OHSAKI A. and KOBAYASHI J., 2001. Pacovatinins A-C, New Labdane Diterpenoids from the Seeds of *Renealmia exaltata*. **J Nat. Prod.**, **64**, 1102-106.
43. SETHI A., KHARE A. and KHARE M. P., 1988. A Labdane Diterpene and its Glycoside from *Melodinus monogynus*. **Phytochemistry**, **27**, 2255-59.
44. SHIMIZU M., TSUJI H., SHOGAWA H., FUKUMURA H., TANAAMI S., HAYASHI T., ARISAWA M. and MORITA N., 1988. Anti-inflammatory Constituents of Topically Applied Crude Drugs. II. Constituents and Anti-inflammatory Effect of *Cryptomeria japonica* D. Don. **Chem. Pharm. Bull.**, **36**, 3967-73.
45. SIMPSON C. F., 1976. "Practical High Performance Liquid Chromatography". Heyden & Sons. London.

46. SÖVALL J., NYSTRÖM E., HAAHTI E. and FROM E., 1968. Liquid Chromatography on Lipophilic Sephadex, **En**, J. C. GRINDINGS and R. A. KELLER (Eds.) “**Advances in Chromatography**”. Vol. 6, pág. 119-170. Marcel Dekker. New York.
47. SNYDER L. R. and KIRKLAND J. J., 1974. “**Introduction to Modern Liquid Chromatography**”. John Wiley. London.
48. SOUZA-FAGUNDES E., QUEIROZ A., MARTINS O. A., GAZZINELLI G., CORREA-OLIVEIRA R. and ZANI C. L., 2002. Screening and Fractionation of Plant Extracts with Antiproliferative Activity on Human Peripheral Blood Mononuclear Cells. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, **97**, 1207-12.
49. STAHL E., 1969. “**Thin-Layer Chromatography: Laboratory Handbook, 2nd Ed.**” Springer-Verlag. Berlín.
50. TANABE M., CHEN Y., SAITO K. and KANO Y., 1993. Cholesterol Biosynthesis Inhibitory Component from *Zingiber officinale*. **Chem. Pharm. Bull**, **41**, 710-13.
51. TANAKA J., HIGA T., SUWANBORIRUX K., KOKPOL U., BERNARDINELLI G. and JEFFORD C. W., 1993. Bioactive Norseserpene 1,2-Dioxanes from a Thai Sponge, *Mycale* sp. **J Org. Chem.**, **58**, 2999-3002.
52. TANAKA R., OHTSU H., IWAMOTO M., MINAMI T., TOKUDA H., NISHINO H., MATSUNAGA S. and YOSHITAKE A., 2000. Cancer Chemopreventive Agents, Labdane Diterpenoids from the Stem Bark of *Thuja standishii* (Gord.) Carr. **Cancer Lett.**, **161**, 165-70.
53. TANAKA R., OHTSU H., IWAMOTO M., MINAMI T., TOKUDA H., NISHINO H., MATSUNAGA S. and YOSHITAKE A., 2000. Cancer Chemopreventive Agents, Labdane Diterpenoids from the Stem Bark of *Thuja standishii* (Gord.) Carr. **Cancer Lett.**, **161**, 165-70.
54. TANAKA T., TANAKA O., LIN Z. W. and ZHOU J., 1985. Sweet and Bitter Principles of the Chinese Plant Drug, Bai-Yun-Shen: Revision of the Assignment of the Source Plant and Isolation of Two New Diterpene Glycosides. **Chem. Pharm. Bull.**, **33**, 4275-80.
55. TANAKA T., TANAKA O., LIN Z. W., ZHOU J. and AGETA H., 1983b. Sweet and Bitter Glycosides of the Chinese Plant Drug, Bai-Yun-Shen (Roots of *Salvia digitaloides*. **Chem. Pharm. Bull.**, **31**, 780-83.
56. TINCUSI B. M., JIMÉNEZ I. A., BAZZOCCHI I. L., MOUJI L. M., MAMANI Z. A., BARROSO J. P., RAVELO A. G. and HERNÁNDEZ B. V., 2002. Antimicrobial Terpenoids from the Oleoresin of the Peruvian Medicinal Plant *Copaifera paupera*. **Planta Medica**, **68**, 808-12.

57. TRIANA J, BAHAS A., DELGADO P., JAIMES R. and TREJO C. 1995. *Ent-Norlabdanes and Other Constituents of Four Venezuelan Species Previously Classified in the Genus Eupatorium*. **J Nat. Prod.**, **58**, 744-747.
58. VILA R., MUNDINA M., TOMI F., FURLÁN R., ZACCHINO S., CASANOVA J. and CAÑIGUERAL S., 2002. Composition and Antifungal Activity of the Essential Oil of *Solidago chilensis*. **Planta Medica**, **68**, 164-67.
59. VILLALOBOS OSORIO D. C. 2008. 1) Actividad Biológica y Farmacológica de Diterpenos del Labdano 2) Aislamiento, Caracterización Estructural y Actividad Biológica de Diterpenos del Labdano del *Oxylobus glanduliferus* Trabajo de Grado de Maestría en Química Aplicada (Opción Orgánica). Facultad de Ciencias. Universidad de Los Andes. Mérida, República Bolivariana de Venezuela.
60. YANG H. O and HAN B. H., 1998. Pinusolidic Acid: Platelet-Activating Factor Inhibitor from *Biota orientalis*. **Planta Medica**, **64**, 73-74.
61. YANG H. O., KANG Y. H., SUH D., KIM Y. C. and HAN B. H., 1995. Biological and Pharmacological Effects of Pinusolide, a Novel Platelet Activating Factor Antagonist. **Planta Medica**, **61**, 519-22.
62. ZHOU B., BAJ N. J., GLASS T. E., MALONE S., WERKHOVEN M. C., TROON F., WISSE J. H. and KINGSTON D. G., 1997. Bioactive Labdane Diterpenoids from *Renealmia alpinia* Collected in the Suriname Rainforest. **J Nat. Prod.**, **60**, 1287-93.