



UNIVERSIDAD MICHUACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO

FACULTAD DE QUÍMICO
FARMACOBIOLOGÍA

"TRATAMIENTO ÁCIDO DE DERIVADOS DEL GÉNERO *EUPATORIUM*"

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICO FARMACOBIOLOGO

PRESENTA:

FANY ELISA ÁLVAREZ ESQUIVEL

ASESOR DE TESIS:

D. C. ROSA ELVA NORMA DEL RÍO TORRES

Morelia, Michoacán. Junio del 2010



ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. PARTE TEORICA.....	4
2.1 Deshidratación de alcoholes	4
2.2 Reordenamientos	9
3. OBJETIVO.....	19
4. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	19
5. PARTE EXPERIMENTAL.....	44
5.1 Aislamiento del ácido labdanólico (I) y ácido catívico (V).....	44
5.2 Reacción de deshidratación del ácido labdanólico (I).....	46
5.3 Isomerización del ácido labdanólico (I).....	47
6. CONCLUSIONES.....	49

1. INTRODUCCIÓN

El género *Eupatorium* (familia Asteraceae, tribu Eupatorieae, subtribu Eupatoriinae), representa el 10% de la familia Asteraceae y posee cerca de 2000 especies presentes en las regiones neotropicales¹. Generalmente éste género se encuentra en el centro de Europa, este de Asia y toda América².

Debido a su complejidad morfológica, la clasificación de muchas de ellas era muy ambigua, hasta que R.M. King y H. Robinson hicieron un estudio y las agruparon en nuevas taxonomías³, por lo que algunas de sus especies han sido reclasificadas en los siguientes géneros, *Ageratina*, *Brickellia*, *Chromolaena*, *Critonia*, *Dyscritogyne*, *Fleischmannia*, *Piptothrix*⁴.

Las plantas pertenecientes al género *Eupatorium* son hierbas generalmente perennes, arbustos o arbolitos bajos; hojas opuestas o en ocasiones alternadas; capítulos homógamos, generalmente pequeños, dispuestos en inflorescencias corimbiformes o paniculiformes, rara vez solitarios; involucre cilíndrico, turbinado, campanulado o hemisférico, sus brácteas en número variable, dispuestas en dos o más series, imbricadas, de longitud similar a menudo con cálculo, otras veces desiguales y graduadas; receptáculo plano, convexo o cónico, desnudo; flores pocas o numerosas, todas hermafroditas, blancas, rosadas, moradas o azulosas; corola tubulosa, tubo corto, limbo brevemente pentalobulado o pentadentado, anteras con la base obtusa y el apéndice del conectivo reducido o bien desarrollado; ramas del estilo largas y sobresalientes, lineares o claviformes, a veces coloreadas, su ápice obtuso, sin pelos y cubierto de numerosas papilas cortas; aquenios prismáticos de ápice truncado, con cuatro a seis costillas bien definidas, glabros o pilosos, vilano de pocas o numerosas cerdas capilares persistentes y libres de la base⁴.

¹ Torrenegra R.; Guzmán A. y Rodríguez O., *Scientia et Technica*, (2007) **33**, 271-273.

² King R. M. y Robinson H., *The Heneran of the Eupatorieae (Asteraceae) monographs in Sitemic Botany, Missouri Botanical garden; US*; (1987)**22**, (65).

³ King R. M. y Robinson H., *Phytología*, (1970) **20**, 196-209.

⁴ Rzedowski G. y Rzedowski J.; *Flora Fanerogámica del Valle de México*. Instituto de Ecología, A.C. CONABIO (2005).

Una de las especies de este género es *E. cardiophyllum*, un arbusto que mide de 1-2 m de altura, tallos duros de 6-8 mm de diámetro; presenta hojas opuestas ligeramente dentadas, acorazonadas, de 5-6 nervaduras; con pequeñas flores de cabezuela de color blanco, cada cabezuela consta de 23-28 flores simples¹.



Figura 1: Flor de *Eupatorium cardiophyllum*

De las plantas pertenecientes al género *Eupatorium* se han aislado numerosos compuestos con actividad biológica⁵, incluso algunos autores han desarrollado patentes para el tratamiento de diferentes enfermedades de metabolitos aislados de plantas pertenecientes a este género. De un estudio fitoquímico previo realizado a *E. cardiophyllum*⁶ se aislaron compuestos de tipo diterpeno que fueron identificados como ácido labdanólico (I) (Fig. 2) y ácido catívico⁷ (V) (Fig. 3). Como una continuación de este trabajo se llevo a cabo un estudio de la reactividad de estos diterpenos frente a un medio ácido (*p*-TsOH)*.

⁵ Zhang M. L., Wu M., Zhang J. J., Irwin D., Gu. Y.C. y Shi Q. W., *Chemistry & Biodiversity*, (2008), **5**, 40-55.

⁶ Roque Flores Mariela., "DITERPENOS DEL GÉNERO *EUPATORIUM*"; Tesis de licenciatura, Facultad de Químico Farmacobiología de la UMSNH (2008).

⁷ del Río R. E., García-Sánchez E., León Hernández A., Martínez-Pacheco M., López-Ramírez C.B., Raya-González D., Cerda-García-Rojas C. M. y Joseph-Nathan *P. Bol. Soc. Quím. Méx.* Número especial (2009), **3**, 119.

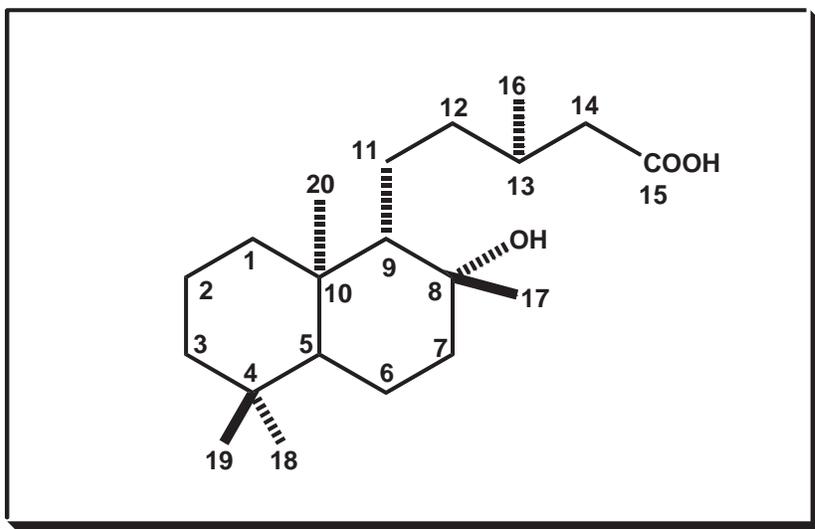


Figura 2: Estructura del ácido labdanólico (I)

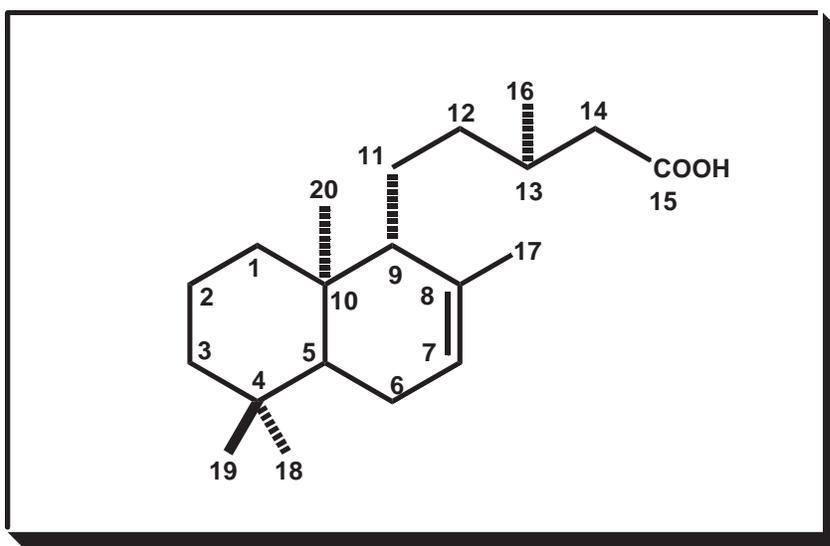


Figura 3: Estructura del ácido catívico (V)

*Álvarez Esquivel F. E., López Arias C. C., Tapia Quintero I., Armenta Salinas C., Hernández Hernández J. D., Román Marín L.U., Martínez Pacheco M. M., del Río Torres R.E., Cerda García Rojas C. M. y Joseph Nathan P., 5^{to} Congreso Estatal de Ciencia y Tecnología, 12 y 13 de Noviembre del 2009, Morelia, Michoacán.

García Sánchez E., Álvarez Esquivel F. E., Hernández Hernández J. D., Román Marín L.U., Martínez Pacheco M.M., del Río R.E., Cerda García Rojas C. M. y Joseph Nathan P., 6^a Reunión de la Academia Mexicana de Química Orgánica, 28-30 de Abril del 2010, Toluca, México.

2. PARTE TEÓRICA

Los alcoholes son compuestos de fórmula general R-OH, donde R es cualquier grupo alquilo⁸. Todos los alcoholes contienen el grupo hidroxilo (OH), el cual como su grupo funcional les da las características que distinguen a estos compuestos. Los alcoholes se clasifican con base al tipo de carbono unido al grupo hidroxilo, es decir, de acuerdo al grado de sustitución que presente el carbono que contiene el grupo hidroxilo como primarios, secundarios y terciarios.

Las reacciones de los alcoholes ocurren en base a su grupo funcional y pueden ocurrir en dos puntos; ya sea que ocurra una ruptura entre el enlace C-OH, o en el enlace O-H.

2.1. Deshidratación de alcoholes

Las reacciones de deshidratación son, como su nombre lo indica, reacciones en las que ocurre la pérdida de agua. Cuando un alcohol experimenta una reacción de deshidratación da la consecuente formación de un alqueno, para que se lleve a cabo es necesaria la presencia de un ácido y calor⁹, cabe destacar que de acuerdo a su estructura así mismo es la facilidad de sufrir una deshidratación, como marca la literatura los alcoholes primarios necesitan condiciones más drásticas de reacción, siguiendo los secundarios y los alcoholes terciarios necesitan condiciones menos severas¹⁰.

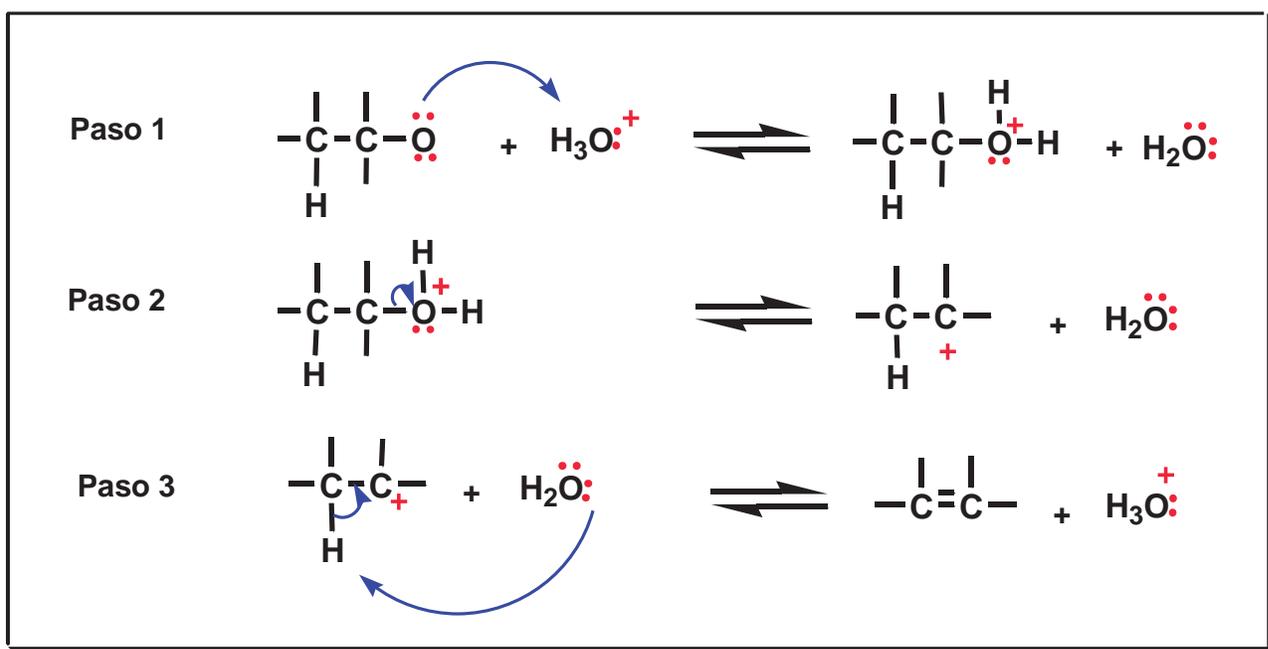
El comportamiento observado en la deshidratación de los alcoholes se debe en gran parte al mecanismo de reacción por el que esta se lleva a cabo (Esquema 1). El mecanismo es una reacción de eliminación unimolecular (E1). En el primer paso ocurre una reacción ácido-base rápida entre el alcohol y el ácido catalizador, en la que un protón se transfiere rápidamente del ácido a uno de los pares de electrones no compartidos del alcohol, protonando a este último. La presencia de la carga positiva en el oxígeno del alcohol protonado debilita todos los enlaces del oxígeno, incluyendo el

⁸Morrison y Boyd; *Química Orgánica*, Pearson Addison Wesley; quinta edición; (1998), 622-630

⁹Hart H., Craine E. L., Hart D. J., Hadad C. C., *Química Orgánica*, Mc Graw Hill, Decimosegunda edición; (2007), 210

¹⁰Solomons T. W. Graham, *Química orgánica*, Limusa Wiley, segunda edición, (2006),405

enlace carbono-oxígeno, y en el paso 2 se rompe el enlace carbono-oxígeno¹¹. El grupo saliente es una molécula de agua. El enlace carbono-oxígeno se rompe heterolicamente¹². Los electrones enlazantes se separan con la molécula de agua y dejan tras de ellos un carbocatión, el cual es muy reactivo, por lo que el átomo de carbono central tiene solamente seis electrones en su nivel de valencia, no ocho. En el tercer paso como el carbocatión necesita un par de electrones para completar su octeto, atrae los electrones del enlace C-H adyacente, se forma el doble enlace carbono-carbono y ocurre la liberación de un protón¹³.



Esquema 1: Mecanismo de reacción de la deshidratación de alcoholes en medio ácido¹¹

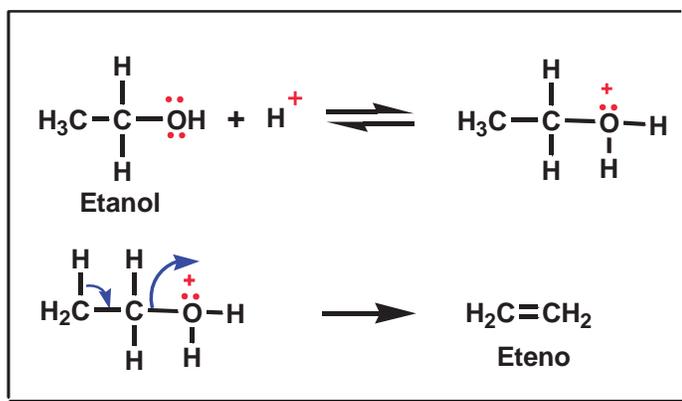
Los alcoholes primarios reaccionan mediante una eliminación bimolecular (E_2), la pérdida de agua y del protón adyacente tienen lugar simultáneamente¹⁴ como se muestra en el esquema 2.

¹¹ Solomons T. W. Graham, *Química orgánica*, Limusa Wiley, segunda edición, (2006), 406-408

¹² Morrison y Boyd; *Química Orgánica*, Pearson Addison Wesley; quinta edición, (1998), 286

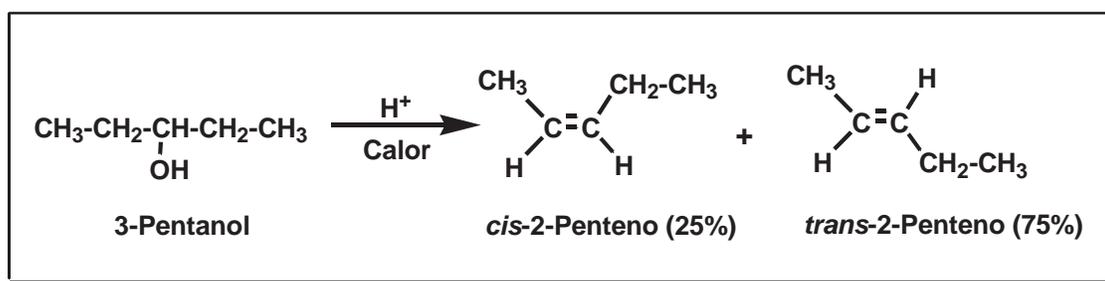
¹³ Wingrove S. Alan y Caret L. Robert, *Organic Chemistry*, Harper & Row, (1981), 274

¹⁴ Hart H., Craine E. L., Hart D. J., Hadad C. C., *Química Orgánica*, Mc Graw Hill, Decimosegunda edición; (2007), 216-217



Esquema 2: Mecanismo E₂ de los alcoholes primarios¹⁴

Cuando un alcohol al deshidratarse presenta la posibilidad de formar dos moléculas que difieren solo en el arreglo de sus átomos en el espacio (estereoisómeros) produce solo uno de ellos en mayor cantidad, dando lugar a reacciones estereoselectivas. La deshidratación de los alcoholes tiende a producir el estereoisómero más estable de un alqueno¹⁵. En el ejemplo del esquema 3 se observa que se produce un mayor rendimiento del estereoisómero *trans*-2-penteno, esto se debe a que en posición *trans* la molécula presenta una menor interacción ya que los grupos alquilo se encuentran distribuidos en distinto eje, esto le permite tener a la molécula un menor impedimento estérico.



Esquema 3: Estereoselectividad producida en la deshidratación del 3-Pentanol¹⁵

Las reacciones de deshidratación de alcoholes también experimentan reordenamientos del esqueleto carbonado siempre que le sea posible, esto se produce por la tendencia natural de formar el carbocatión más estable, a través de muchos estudios se ha establecido que la estabilidad de los carbocationes disminuye si

¹⁵ Carey A.; *Química Orgánica*, Mc Graw Hill; sexta edición; (2006), 209

presentan un menor número de radicales unidos a él¹⁶, como se ejemplifica en la figura 4 el carbocatión más estable es el terciario.

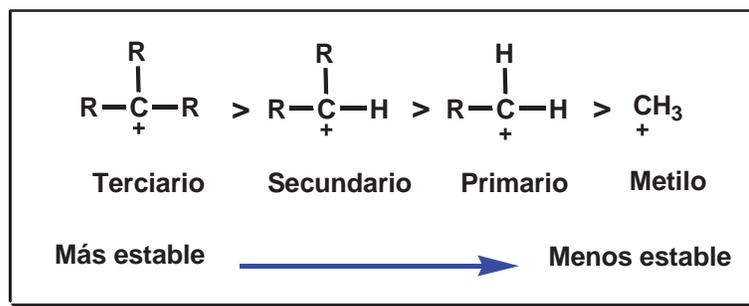
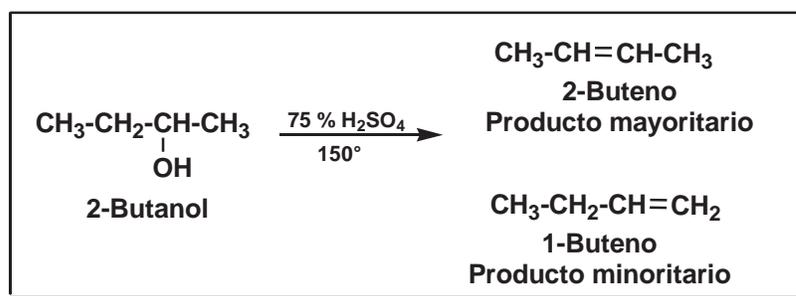


Figura 4: Estabilidad de los carbocationes ¹⁶

Los grupos alquilo tienen la característica de poder liberar electrones, esto confiere cierta dispersión de la carga parcial positiva del átomo de carbono en un carbocatión, por ende la formación del carbocatión terciario es más estable. Esta norma la observó por primera vez el químico ruso Alexander Zaitsev quien enunció una descripción general de la regioselectividad de las eliminaciones β : “las reacciones de eliminación β de los alcoholes producen el alqueno más sustituido como el producto principal, debido a que el alqueno más sustituido también es por lo normal el más estable”¹⁷. El esquema 4 es un ejemplo sencillo de la regla de Zaitsev donde se puede apreciar que el producto mayoritario de la deshidratación del 2-butanol es el 2-buteno, el cual es un alqueno disustituido mientras que el 1-buteno es un alqueno monosustituido.

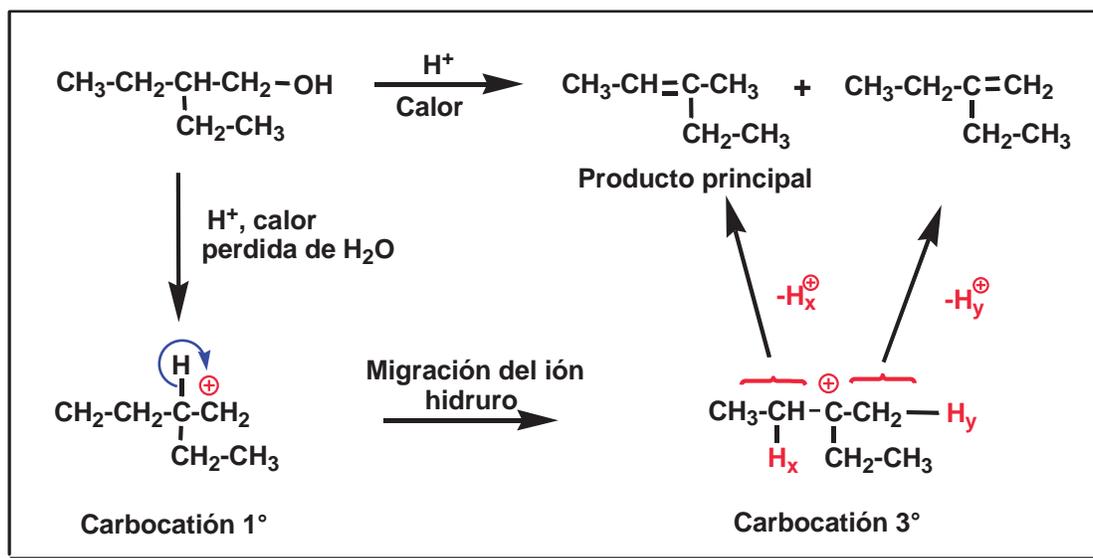


Esquema 4: Deshidratación del 2-butanol que sigue la regla de Zaitsev (Modificado¹⁸)

¹⁶ Hart H., Craine E. L., Hart D. J., Hadad C. C., *Química Orgánica*, Mc Graw Hill, Decimosegunda edición; (2007), 90

¹⁷ Carey A.; *Química Orgánica*, Mc Graw Hill; sexta edición; (2006), 206-208

El reordenamiento puede tener lugar mediante la migración de un ión hidruro (Esquema 5) o de un grupo alquilo (Esquema 6) que este adyacente al átomo de carbono deficiente de electrones. Cuando ocurre la migración el ion hidruro o el grupo alquilo, toman los electrones del enlace y se forma un nuevo carbocatión terciario¹⁸.

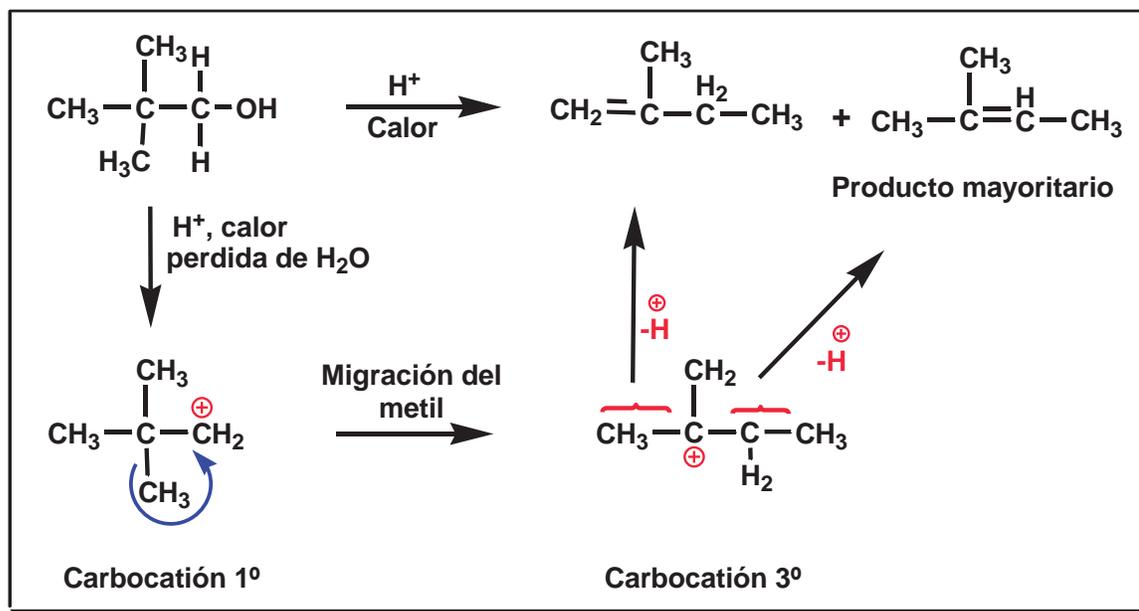


Esquema 5: Ejemplo de una migración del ión hidruro (Modificado¹⁸)

En el ejemplo del esquema 5 se observa que ocurre una migración del ión hidruro a pesar de que también tiene adyacente un grupo alquilo (etilo), sin embargo, si el grupo alquilo migrara el carbocatión resultante sería un carbocatión secundario menos estable.

En el ejemplo del esquema 6 se puede ver como la migración del grupo metil del 2,2-dimetil propanol si forma un carbocatión terciario, por tanto, esta migración es llevada a cabo con la subsecuente formación del carbocatión 2 metil butenil que presenta dos posibilidades de eliminación de hidrógenos β , pero se prefiere la que conduce a la formación del 2-metil-2-buteno como producto mayoritario por ser el alqueno más sustituido. Podemos deducir de estos dos ejemplos que una molécula siempre que le sea posible se va a reordenar hacia su forma más estable.

¹⁸ Wingrove S. Alan, Caret L. Robert, *Organic Chemistry*, Harper & Row, (1981), 279-281



Esquema 6: Ejemplo de una migración del grupo metil (Modificado¹⁸).

2.2 Reordenamientos

En la primera mitad del siglo XIX se creía que las reacciones de los compuestos orgánicos procedían con un cambio estructural mínimo¹⁹. Sin embargo, los descubrimientos posteriores demostraron que la naturaleza no actuaba de esta manera, obligando a los químicos a concebir la posibilidad de que ocurrieran profundos cambios estructurales en ciertas reacciones.

En la actualidad se sabe que un gran número de estos reordenamientos estructurales son provocados por intermediarios con carga positiva, o la incorporación de átomos deficientes de electrones, como los carbocationes.

En una reacción en la que ocurre un reordenamiento, un grupo migra de un átomo (origen de la migración) a otro átomo adyacente (terminal de la migración) en la misma molécula²⁰. La mayoría de las migraciones son de un átomo a otro adyacente, pero algunas son a distancias más largas. El grupo que migra puede migrar con su par de electrones a esto se le llama reordenamiento nucleofílico o anionotrópico, sin su par de electrones, reordenamientos electrofílicos o cationotrópicos, en el caso de la

¹⁹EN LÍNEA[<http://www.cem.msu.edu/~reusch/VirtualText/rearrang.htm#top1>] consultada el 15 de Enero del 2010.

²⁰March Jerry, *Advanced Organic Chemistry*, Wiley Interscience, fourth edition, (1992), 1051.

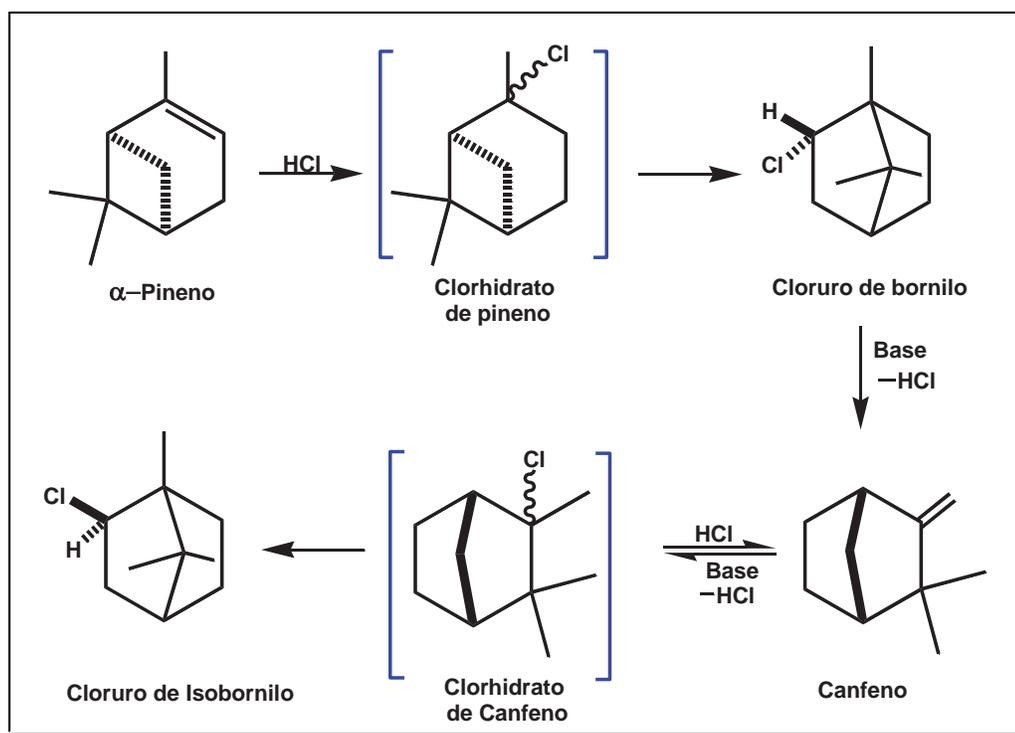
migración del hidrógeno se llama reordenamiento prototrópico o cuando el átomo migra sólo con un electrón, se le llama reordenamiento de radicales libres. El reordenamiento nucleofílico es el más común, y para que se lleve a cabo debe existir un sistema con un sexteto abierto. Estos sistemas se pueden obtener de varias maneras, pero una de las más importantes es la formación de un carbocatión. El carbocatión puede reaccionar en varias maneras, por ejemplo mediante la pérdida del enlace entre el carbono y el protón siguiendo la regla de Zaitsev y generando la olefina más estable (como sucede en la deshidratación de alcoholes) o mediante la desprotonación de un heteroátomo dando lugar a un enlace múltiple entre el heteroátomo y el carbono, por ejemplo cetonas o imidas²¹. Muchos de los reordenamientos más interesantes de este tipo fueron descubiertos durante los estudios estructurales de compuestos naturales, especialmente en los terpenos, en los que H. Meerwein y G. Wagner, descubrieron sus complejas transformaciones. El reordenamiento ahora llamado Wagner-Meerwein se informó por primera vez en 1899 cuando G. Wagner y W. Brickner observaron el reordenamiento del α -pineno a cloruro de bornilo en presencia de HCl¹⁸. Años más tarde, en 1922, H. Meerwein y sus colaboradores descubrieron la naturaleza iónica de la reacción en la conversión del canfeno en cloruro de isobornilo en presencia de HCl²².

La adición de HCl gaseoso a α -pineno resultó especialmente desconcertante para los primeros químicos. En condiciones normales, este componente líquido de la trementina dio un compuesto cristalino $C_{10}H_{17}Cl$, originalmente llamado "alcanfor artificial", ahora conocido como cloruro de bornilo. El clorhidrato de pineno es un isómero inestable que puede ser aislado en condiciones suaves, pero rápidamente isomeriza a cloruro de bornilo. Al ser tratado el cloruro de bornilo con una base dio un isómero cristalino del pineno llamado canfeno, junto con pequeñas cantidades de otros hidrocarburos insaturados. La adición de HCl a canfeno, de una manera similar, inicialmente produce un cloruro inestable (clorhidrato de canfeno) que rápidamente isomeriza al cloruro de isobornilo, que es un estereoisómero del cloruro de bornilo. Estos reordenamientos se ejemplifican en el esquema 7, sigue una cinética de segundo

²¹ Zodinpuia Pachuau, R. H. Duncan Lyngdoh, *J. Chem. Sci.*, (2004), **116**, (2) , 83–91.

²² Bartlett, P. D.; Pöckel, I. *J. Am. Chem. Soc.* (1937), **59**, 820-825.

orden y ocurre con una inversión de la configuración en el origen de la migración y en el término²³.



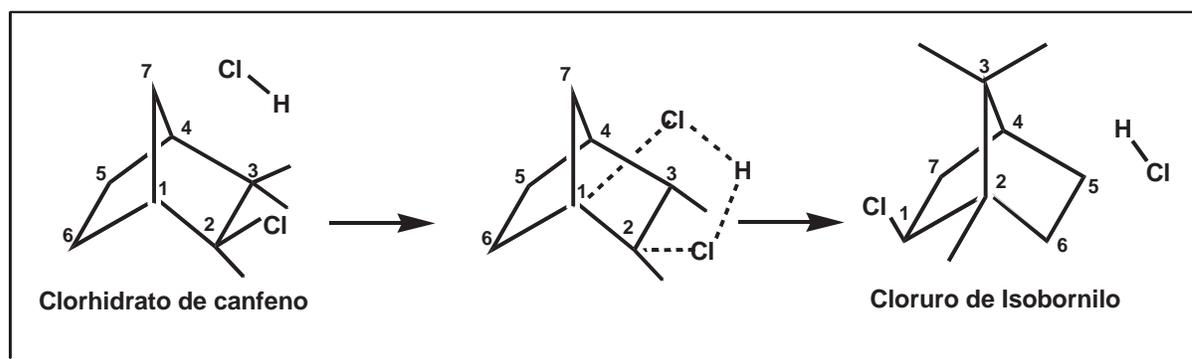
Esquema 7: Reordenamiento del α -Pineno y del canfeno (Modificado¹⁹)

El reordenamiento de canfeno en cloruro de isobornilo es uno de los menos comprendidos por lo que ha sido objeto de un escrutinio cuidadoso, superior al de cualquier otro en química orgánica²⁴. Los primeros estudios sobre este reordenamiento carecieron de las actuales herramientas que nos permiten esclarecer las estructuras de las moléculas como la RMN o los cálculos teóricos computacionales que permiten predecir el comportamiento. Es por esto que estudios posteriores ayudaron a determinar el mecanismo de reacción estableciendo que el estado de transición presenta un anillo de cinco centros que permite el ataque simultáneo del HCl sobre el C-1 mientras que ayuda a la salida del cloro original que se encontraba en el C-2, este

²³ Bartlett, P. D.; Pöckel, I. *J. Am. Chem. Soc.* (1938), **60**, 1585-1590.

²⁴ Morrison y Boyd; *Química Orgánica*, Pearson Addison Wesley; quinta edición; 1098 (1998).

mecanismo cumple con la cinética observada de segundo orden, la baja entalpía de activación y la alta estereoselectividad²⁵.



Esquema 8: Mecanismo de reacción del reordenamiento de clorhidrato de canfeno. (Modificado²⁵)

Anteriormente los reordenamientos tipo Wagner-Meerwein solo se utilizaban para denotar cambios en los compuestos bicíclicos. Hoy en día estos reordenamientos se usan para denotar cualquier cambio 1,2 de un hidrógeno, un grupo alquil o aril. La característica general de la reacción incluye la generación de un carbocatión seguido de un reordenamiento aniontrópico a un producto más estable termodinámicamente²⁶.

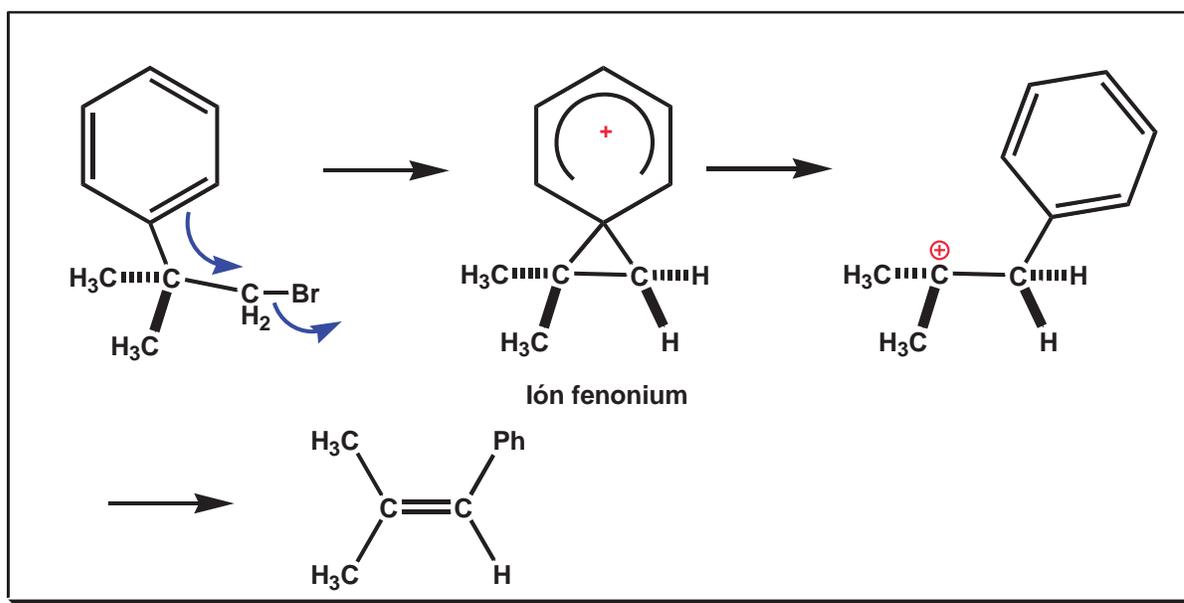
En algunas reacciones la molécula puede tener varios grupos que tengan geoméricamente las mismas posibilidades de migración. El grupo que migra depende de las condiciones de reacción. Sin embargo, se han hecho varios estudios para establecer lo que se conoce como “aptitud migratoria” que no es otra cosa si no la facilidad que presentan de migrar algunos átomos o grupos frente a otros. Se ha comprobado mediante numerosos experimentos que los grupos arilo tienen una mejor aptitud migratoria en los reordenamientos Wagner-Meerwein que los grupos alquil o el hidrógeno. Los grupos liberadores de electrones en los grupos aril incrementan la velocidad de migración mientras que los grupos atrayentes de electrones la decrecen²⁷. Cuando un grupo metilo es sustituido por un grupo fenil en el bromuro de neopentilo

²⁵ Smith B. William, *J. Org. Chem.* (1999), **64**, 60-64.

²⁶ EN LÍNEA[http://equinones.uprrp.edu/A_Cruz_Abst_08.pdf] Consultada el 10 de Marzo del 2010.

²⁷ V. K. Ahluwalia, Rakesh Kumar Parashar, *Organic Reaction Mechanisms*, Alpha Science, second edition, (2005), 399. Vista previa en línea: [<http://books.google.com.mx/books?id=w9ITxlaPCQIC&printsec=frontcover#v=onepage&q&f=false>], consultado el 25 de Marzo del 2010.

reacciona miles de veces más rápido que el bromuro de neopentilo, esto se debe a que en el bromuro de neopentilo se forma inicialmente un carbocatión primario con una alta energía y cuando presenta un grupo fenil se forma un puente de baja energía en el ión fenonium (Esquema 9). En esta migración 1,2 el grupo aril proporciona una asistencia anquimérica que hace a la reacción más rápida²⁸.



Esquema 9: Aptitud migratoria del ión fenonium (Modificado²⁸)

La mayoría de los reordenamientos Wagner-Meerwein son estereoespecíficos. El grupo migratorio se acerca al carbono catiónico del lado opuesto a la posición que fue ocupada por el grupo saliente, como en una sustitución S_N2 , la inversión de la configuración tiene lugar en el carbono unido al grupo saliente. Sin embargo, si el grupo migratorio es quiral, la configuración es retenida en el producto²⁹.

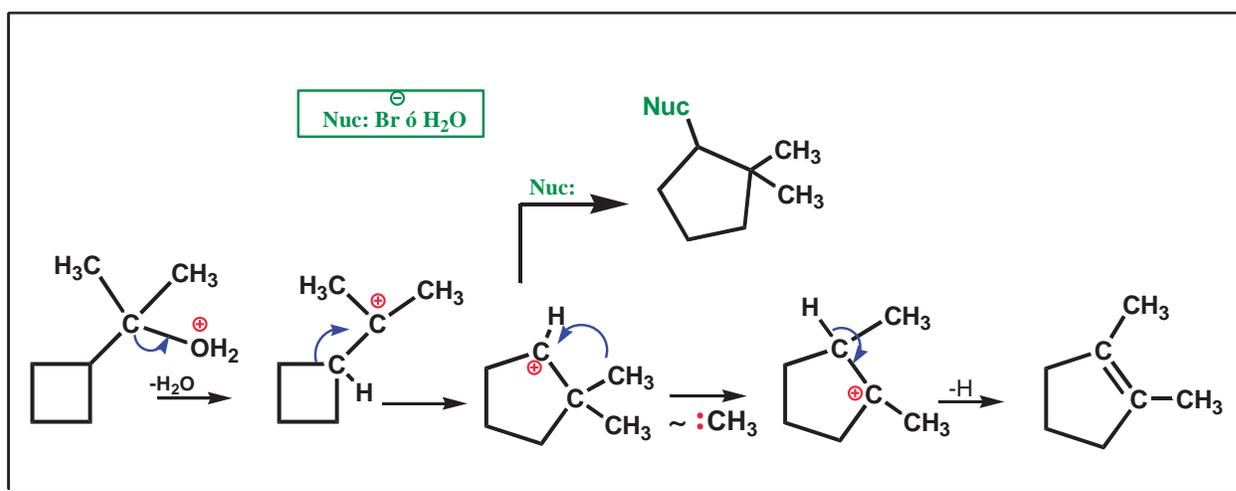
²⁸ P.S. Kalsi, *Organic Reactions and their Mechanisms*, New Age International Publishers, second edition, 499. Vista previa en línea:

[http://books.google.com.mx/books?id=Zr7algbSigoC&pg=PA503&dq=rearrangement+of+wagner-meerwein&hl=es&ei=_ZS9zQCcK78gaf2JWzAQ&sa=X&oi=book_result&ct=result&resnum=6&ved=0CEcQ6AEwBTg8#v=onepage&q=rearrangement%20of%20wagner-meerwein&f=false] Consultada el 28 de Marzo del 2010.

²⁹ V. K. Ahluwalia, Rakesh Kumar Parashar, *Organic Reactions Mechanisms*, Alpha Science, second edition, 402. Vista previa en línea:

[http://books.google.com.mx/books?id=w9ITxlaPCQIC&printsec=frontcover&dq=rearrangement+of+wagner-meerwein&source=gbs_similarbooks_s&cad=1#v=onepage&q=rearrangement%20of%20wagner-meerwein&f=false] Consultada el 29 de Marzo del 2010.

El aumento de la estabilidad de los carbocationes intermediarios no es el único factor que lleva al reordenamiento molecular. Si la tensión angular, tensión torsional o el impedimento estérico en la estructura de la molécula reaccionante puede ser mejorado, es muy probable que ocurra un reordenamiento. En el ejemplo que se muestra en el esquema 10 se puede observar como a pesar de la formación de un carbocatión terciario la molécula se reordena abriendo el anillo de cuatro miembros para formar uno de cinco que tiene una menor tensión angular debido a la geometría de la molécula que permite que los carbonos tetraédricos unidos entre sí tengan ángulos de enlace más próximos a los de sus orbitales enlazantes.

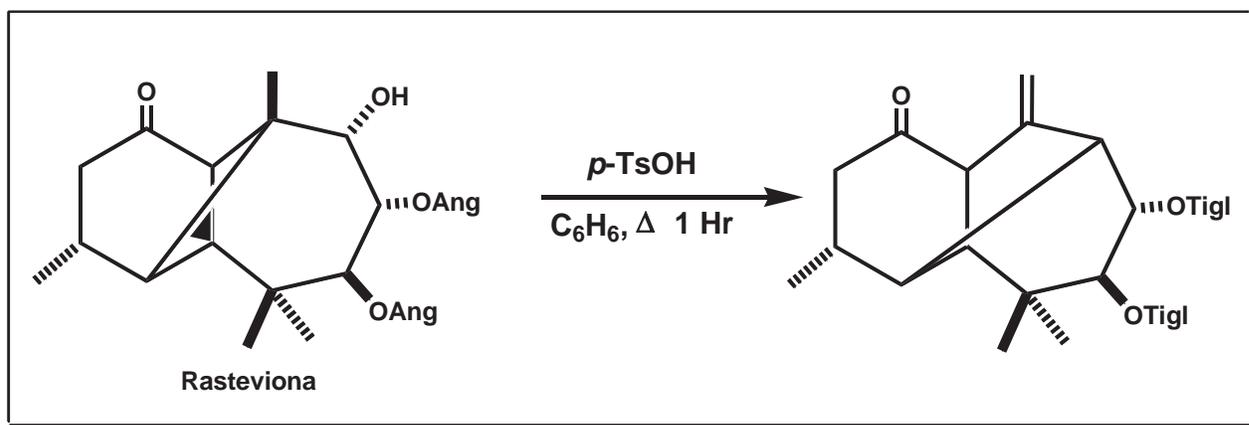


Esquema 10: Reordenamiento del anillo para disminuir la tensión angular (Modificado¹⁹)

Un claro ejemplo del estudio de los reordenamientos tipo Wagner-Meerwein son los trabajos publicados por L. U. Román y su equipo de colaboradores en derivados de longipineno encontrados de manera natural, principalmente de plantas pertenecientes al género *Stevia*. Realizando tratamientos con ácido *p*-toluensulfónico del longipineno altamente oxigenado llamado rasteviona³⁰, en el que el anillo original de cuatro miembros que se encuentra tensionado, se expande a un anillo de cinco miembros y los

³⁰Román L. U.; Hernández J. D.; del Río R.E.; Bucio M. A; Cerda-García-Rojas C.M. y Joseph-Nathan P.; *J. Org. Chem.* (1991) **56**, 1938 - 11940.

dos grupos angelato se isomerizan a grupos tiglato, que son termodinámicamente más estables. (Esquema 11)³¹.



Esquema 11: Reordenamiento de la Rasteviona al ser tratada en medio ácido³²

Se ha visto que al crear derivados de la rasteviona y someterlos a distintos tipos de reacción la molécula sigue reordenándose.^{32,33,34}

Además de los alcoholes, otros compuestos susceptibles a sufrir reordenamientos tipo Wagner-Meerwein son los alquenos cuando están en presencia de ácido de Lewis. Estas reacciones adquieren relevancia cuando se desea efectuar la hidratación de alcoholes catalizada por ácidos, puesto que pueden orientar la reacción hacia la obtención de mezclas difíciles de separar.³⁵

³¹ Joseph-Nathan, *Rev. Acad. Colomb. Cienc.* (1997) **21** (80), 321-334.

³² Román L. U.; Hernández J. D.; del Río R.E.; Bucio M. A; Cerda-García-Rojas C.M. y Joseph-Nathan P.; *J. Org. Chem.* (1991) **56**, 1938 – 11940

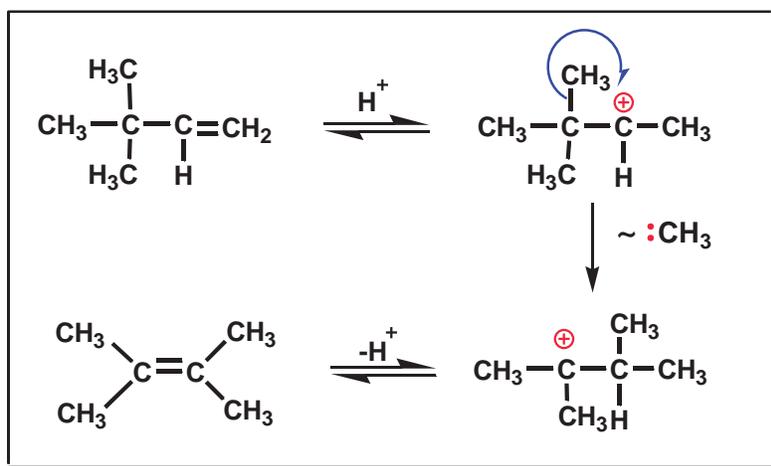
³³ Cerda-García-Rojas C.M, del Río R.E., Joseph-Nathan P., Román L.U. y Hernández J.D.; *J. Nat. Prod.* (1994) **57**, (3): 369-375.

³⁴ Román L.U., del Río R.E., Hernández J.D., Cerda-García-Rojas C.M., Cervantes D., Castañeda R., & Joseph-Nathan P.; *J. Org. Chem.* (1985) **50**, (21): 3965-3972.

³⁵ Peter Sykes, *Mecanismos de reacción en química orgánica*, editorial reverté, quinta edición, (2002), 112, Vista previa en línea,

[http://books.google.com.mx/books?id=NqiqQzIWNawC&pg=PA112&lpg=PA112&dq=WAGNER-MEERWEIN+DE+ALQUENOS&source=bl&ots=z4e6GOE3CO&sig=GXejdG6WRik1wC_suUq5be_Az78&hl=es&ei=QR8QTOf2OYSdIgfNsrSwCQ&sa=X&oi=book_result&ct=result&resnum=3&ved=0CBQ6AEwAg#v=onepage&q=WAGNER-MEERWEIN%20DE%20ALQUENOS&f=false] consultada el 15 de mayo del 2010

En el esquema 12 se observa como la adición de ácido al 3,3 dimetil 1-buteno produce inicialmente un carbocatión primario, el cual se reordena para formar el carbocatión terciario y finalmente se obtiene el 2,3 dimetil 2-buteno.



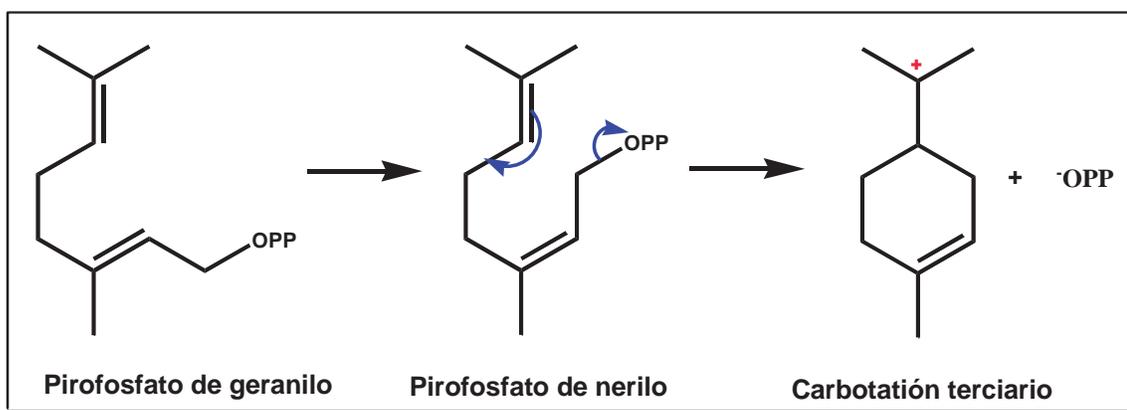
Esquema 12: Reordenamiento del 3,3-dimetil 1-buteno

En la naturaleza este tipo de reordenamientos se llevan a cabo gracias a una familia de enzimas denominadas terpen ciclasas que usan geranil pirofosfato (GPP), farnesil pirofosfato (FPP) o geranil geranil pirofosfato (GGPP) como sustrato y catalizan la formación de mono-, sesqui-, o diterpenos. Esta familia de enzimas cataliza una gran variedad de diferentes transformaciones, cuyos pasos incluyen la migración de hidruro, reordenamientos Wagner-Meerwein, entre otras³⁶.

Por ejemplo, como se puede ver en el esquema 13 en la formación de los monoterpenos cíclicos el pirofosfato de nerilo formado por una isomerización enzimática del doble enlace *trans* del pirofosfato de geranilo, tiene la geometría adecuada para formar un anillo con seis miembros a través del ataque intramolecular del doble enlace en la unidad del pirofosfato alílico³⁷.

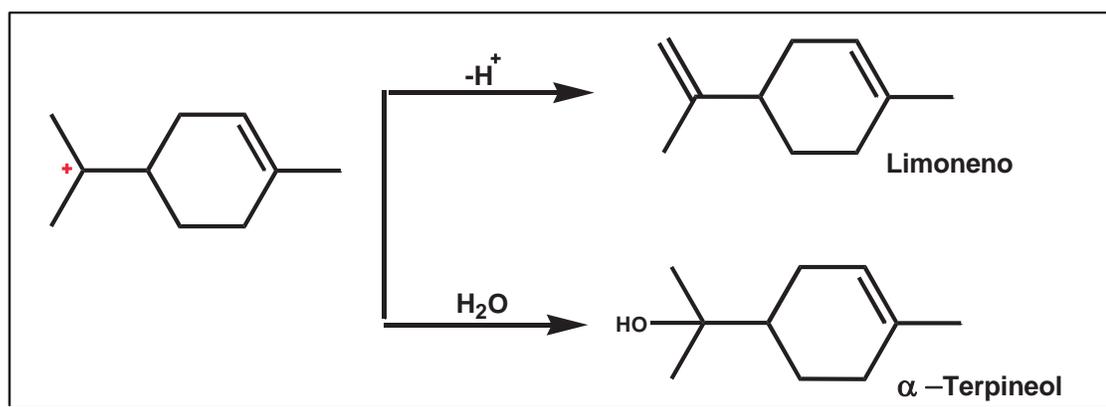
³⁶ EN LÍNEA[http://www.oci.uzh.ch/group.pages/robinson/lectures/OC_V/OC-V.p2.pdf] Consultada el 15 de Marzo del 2010.

³⁷ Carey A.; Química Orgánica, Mc Graw Hill; sexta edición; (2006), 1101.



Esquema 13: Ciclación del pirofosfato de geranilo catalizado enzimáticamente ³⁷

La pérdida de un protón del carbotación terciario que se formó en este proceso produce el limoneno (esquema 14), terpeno que se encuentra en muchos cítricos, así mismo si ocurre la captura del carbotación por agua forma el enlace α -terpineol también un producto natural conocido.³²

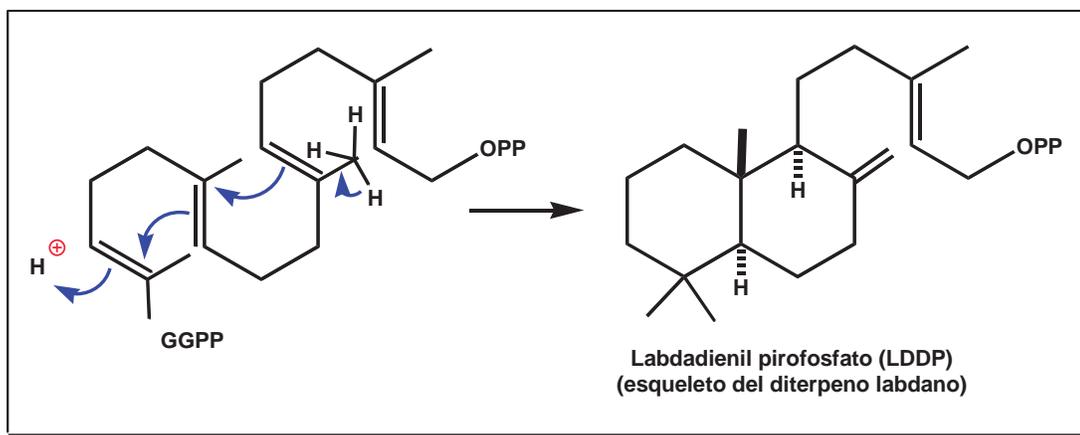


Esquema 14: Formación de Limoneno y α -Terpineol enzimáticamente ³⁷

Los diterpenos se originan del geranyl geranyl pirofosfato (GGPP), mediante reacciones de ciclación, en las que interviene la formación de un carbotación el cual puede sufrir reordenamientos tipo Wagner-Meerwein, lo que da lugar a la formación de muchas variantes estructurales en los diterpenos³⁸. En el esquema 15 se muestra como la pérdida de un protón de un metilo alílico del GGPP y la migración de los enlaces forman la estructura del biciclo conocida como labdadienil pirofosfato (LDPP) que es un

³⁸ Dewick M. Paul, *Medicinal Natural Products A Biosynthetic Approach*, John Wiley & Sons; (1997), 184.

miembro del tipo de los labdanos. Si el LDPP reacciona con un protón se forma un intermediario catiónico, el cual puede someterse a una serie de migraciones Wagner-Meerwein de hidruro y de metilo³⁹.



Esquema 15: Formación del Labdadienil pirofosfato mediante una serie de reordenamientos del GGPP ³⁸

La comprensión de la química orgánica requiere no solo de la observación de la naturaleza que nos brinda las pistas del comportamiento químico de las moléculas, si no también de un arduo trabajo de investigación en el laboratorio que nos permita experimentar y comprobar lo observado.

Es por ello que basándonos en lo anteriormente descrito y observando las características del ácido labdanólico (I) y el ácido catívico (V) como diterpenos con un gran potencial de reordenamiento, se procedió a someterlos en condiciones que favorecieran dichos reordenamientos.

³⁹ Heinrich Michael, Barnes Joanne, Gibbons Simon, M. Williamson Elizabeth, Fundamentals of Pharmacognosy and Phytoterapy, Churchill Livingstone, 83. Vista previa en línea: [http://books.google.com.mx/books?id=BEV_6SGtZJIC&printsec=frontcover&dq=rearrangement+of+wagner-meerwein&source=gbs_similarbooks_s&cad=1#v=onepage&q=wagner-meerwein&f=false] Consultada el 26 de marzo del 2010.

3. OBJETIVO:

Llevar a cabo un estudio químico de derivados diterpénicos aislados del género *Eupatorium* frente a un medio ácido e identificar los productos de reacción.

4. DISCUSIÓN DE RESULTADOS:

Se colectó en el Kilómetro 51 de la carretera Morelia-Zacapu, la planta identificada originalmente como *Eupatorium cardiophyllum* por el Dr. Jerzy Rzendoski del Instituto de Ecología A.C. del Centro Regional del Bajío, en Pátzcuaro Michoacán. (Recientemente fue reclasificada como *Ageratina jojotepecana* B.L. Turner por un grupo de taxónomos del herbario de Texas).

Se separaron 150 g de flores, se secaron a la sombra y se sometieron a maceración en frío por tres días, luego se filtraron y concentraron en un rotavapor, repitiendo el procedimiento tres veces con el mismo lote. El extracto obtenido se resuspendió en metanol para eliminar las grasas.

Una vez desengrasado el extracto hexánico, se tomó 1g del mismo para ser purificado por cromatografía en columna, utilizando Hexano-AcOEt como eluyente en un orden ascendente de polaridad. Se colectaron fracciones de 10 ml, de las cuales de la 27-40 eluidas con hexano acetato de etilo 9:1 respectivamente, se obtuvo un sólido blanco que al ser analizado por espectro de masas mostró un ión molecular de 306 uma, cuya fórmula molecular es $C_{20}H_{34}O_2$, al analizarlo mediante métodos de RMN de protón y de carbono 13, logramos dilucidar la estructura del ácido catívico (V), como se mencionó anteriormente este ya había sido previamente identificado⁶ por lo que no fue necesario realizar más experimentos de RMN.

En el espectro de ^1H -RMN a 400 MHz (Figura 5) se observa una señal simple ancha en 5.28 ppm correspondiente a un hidrógeno vinílico, en 2.39 se encuentra una señal doble de dobles con constantes de acoplamiento de $J_{14, 14'} = 15.01$ y $J_{14, 13} = 5.86$ Hz, identificada para uno de los hidrógenos 14, en 2.15 ppm se observa otra señal doble de dobles con constantes de acoplamiento de $J_{14', 14} = 15.01$ y $J_{14', 13} = 8.42$ Hz, correspondiente al H-14', que se encuentran en posición α a un grupo carboxilo.

En 1.65 ppm está presente una señal simple ancha que integra para 3 hidrógenos que corresponden a los hidrógenos del metilo vinílico 17, en la zona característica de metilos terciarios se observan 3 señales simples en 0.87, 0.85 y 0.75 correspondientes a los metilos terciarios 18,19 y 20 respectivamente.

En el espectro de resonancia magnética nuclear de ^{13}C (Fig. 6) se observaron 20 señales, características de un compuesto diterpénico. En 179.51 ppm se observa una señal correspondiente al carbono carbonilo del ácido carboxílico, en 135.26 y 122.20 ppm se encuentran dos señales correspondientes a carbonos vinílicos, identificados como los carbonos 8 y 7.

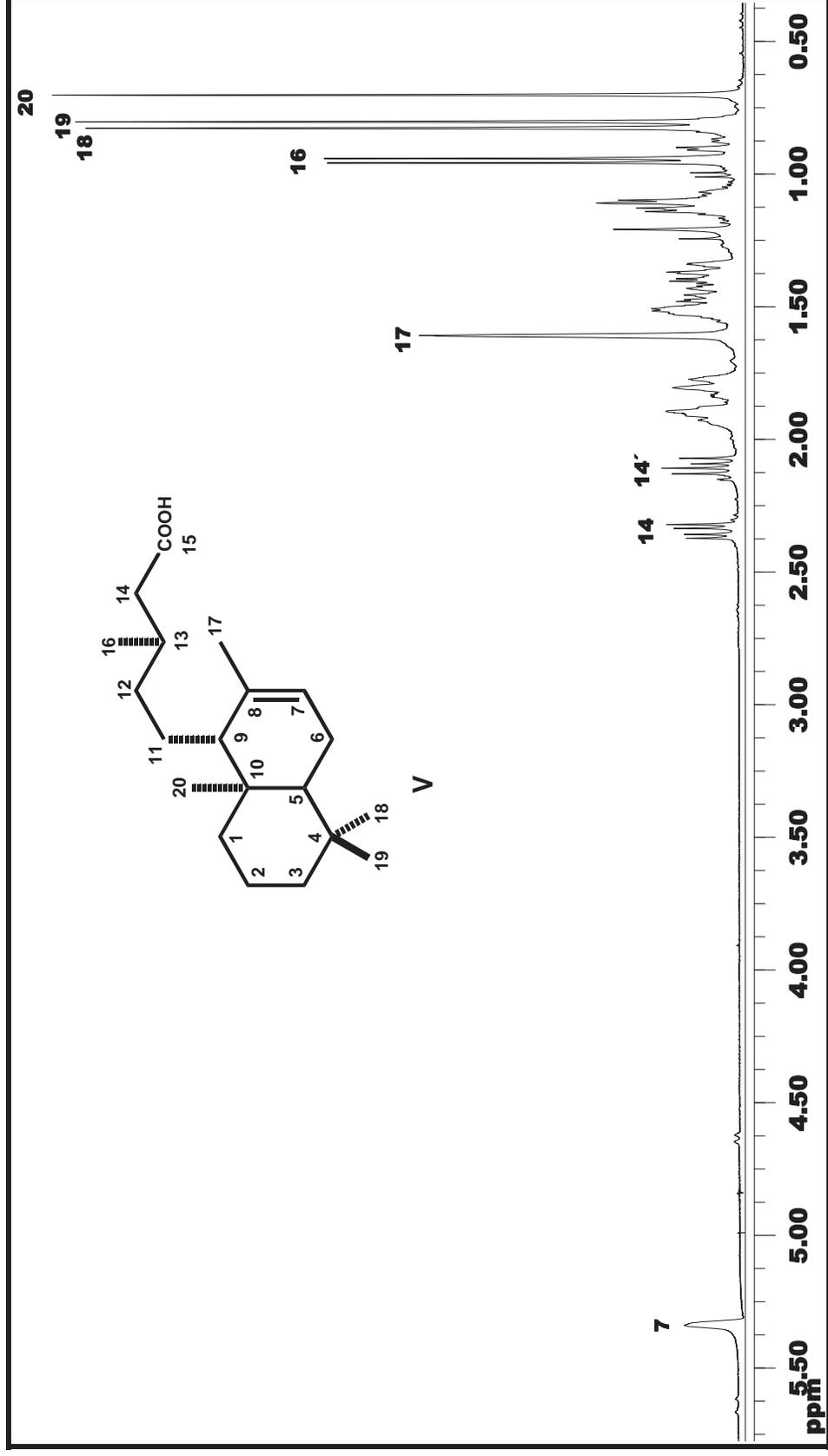


Figura 5: Espectro de RMN de ¹H a 400 MHz del Ácido catívico (V)

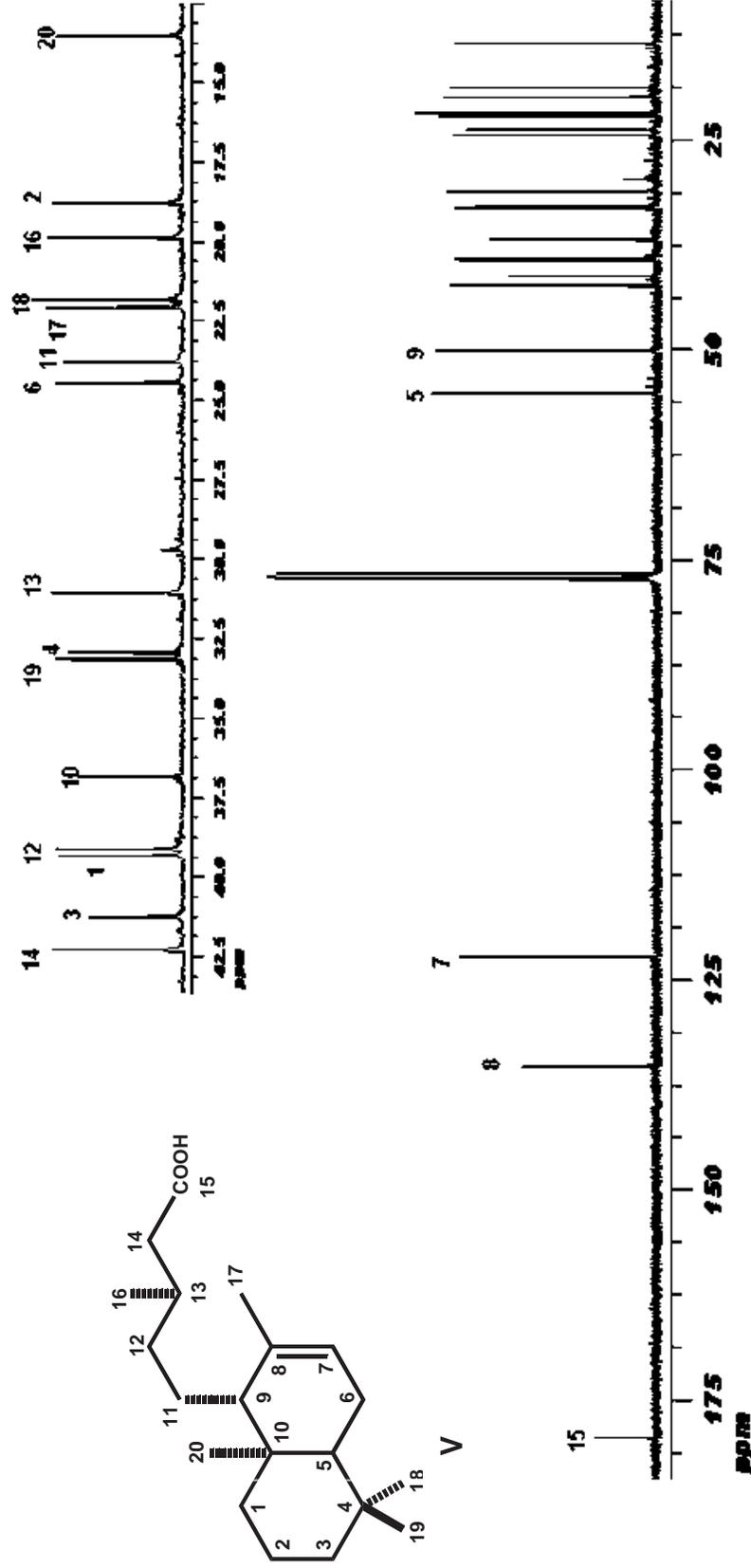


Figura 6: Espectro de RMN de ¹³C a 100 MHz del Ácido catiónico (V).

En las fracciones 102-165 eluidas con hexano-acetato de etilo 75:25 se obtuvo un segundo compuesto mayoritario, con un aspecto de aceite incoloro, cuyo espectro de masas mostró un ion molecular de 324 uma correspondiente al $C_{20}H_{36}O_3$ cuya formula molecular coincide con la del ácido labdanólico (I).

En el espectro de 1H -RMN a 400 MHz se observaron algunas señales similares a las del ácido catívico como la señal en 2.40 ppm doble de dobles con constantes de acoplamiento de $J_{14, 14'} = 14.64$ Hz y $J_{14, 13} = 6.60$ Hz, en 2.14 ppm se observó una señal doble de dobles con constante de acoplamiento de $J_{14', 14} = 14.64$ Hz y $J_{14', 13} = 7.87$ Hz señales correspondientes a los hidrógenos 14 y 14'; debe resaltarse el hecho de que no se observan señales de metilos vinílicos, y que la señal que se observa en 1.15 ppm corresponde a los hidrógenos del metilo 17 el cual como consecuencia sufre una variación en su desplazamiento químico recordando que en el ácido catívico formaba parte de uno de los carbonos vinílicos. En 0.98 ppm se encuentra una señal doble que integra para tres hidrógenos correspondiente al metilo secundario 16, en 0.86 ppm se localiza una señal simple correspondiente al metilo terciario 18, en 0.78 ppm se localiza una señal simple correspondiente a los metilos terciarios 19 y 20.

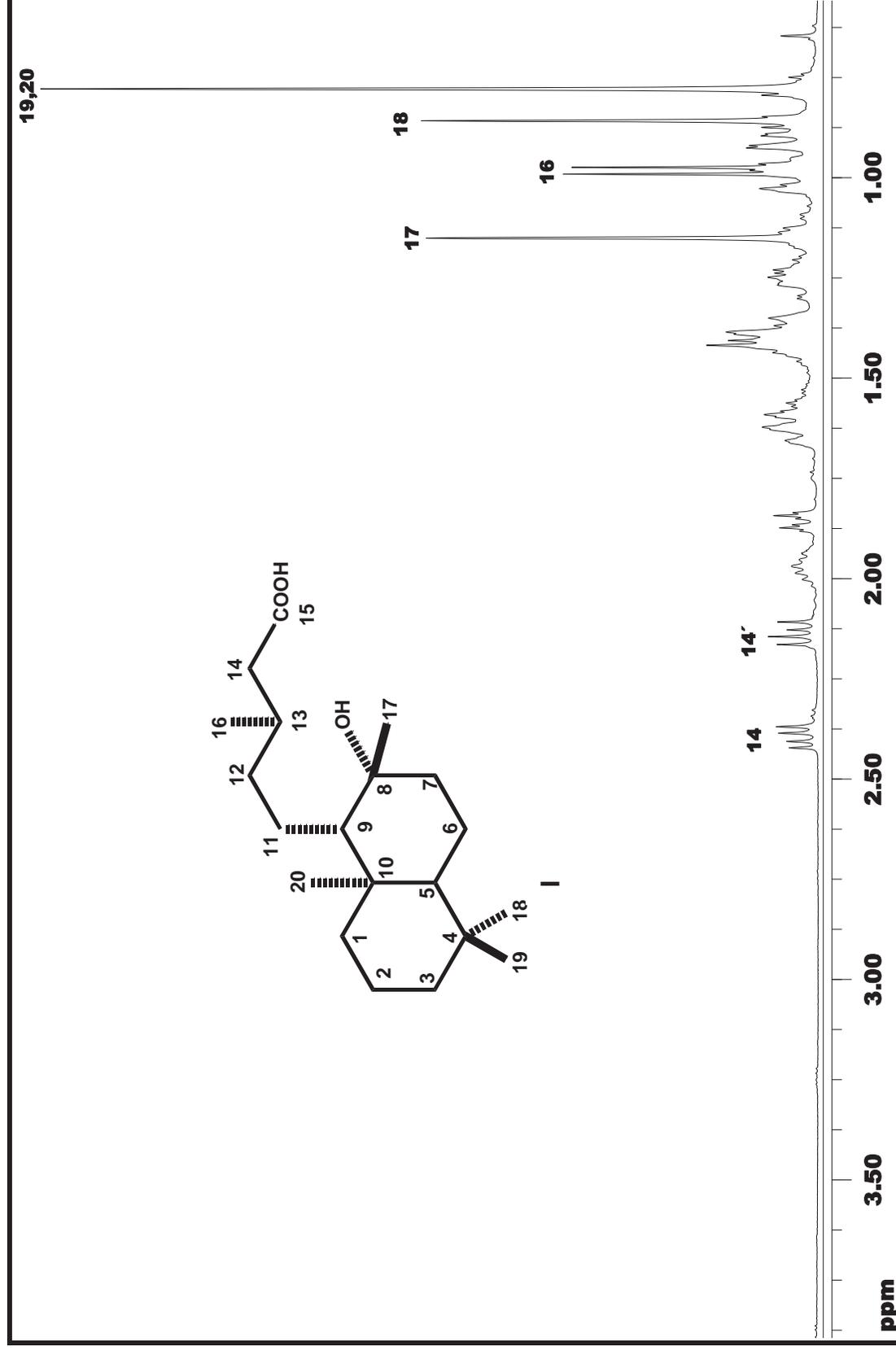


Figura 7: Espectro de RMN de ¹H a 400 MHz del Ácido labdanónico (I).

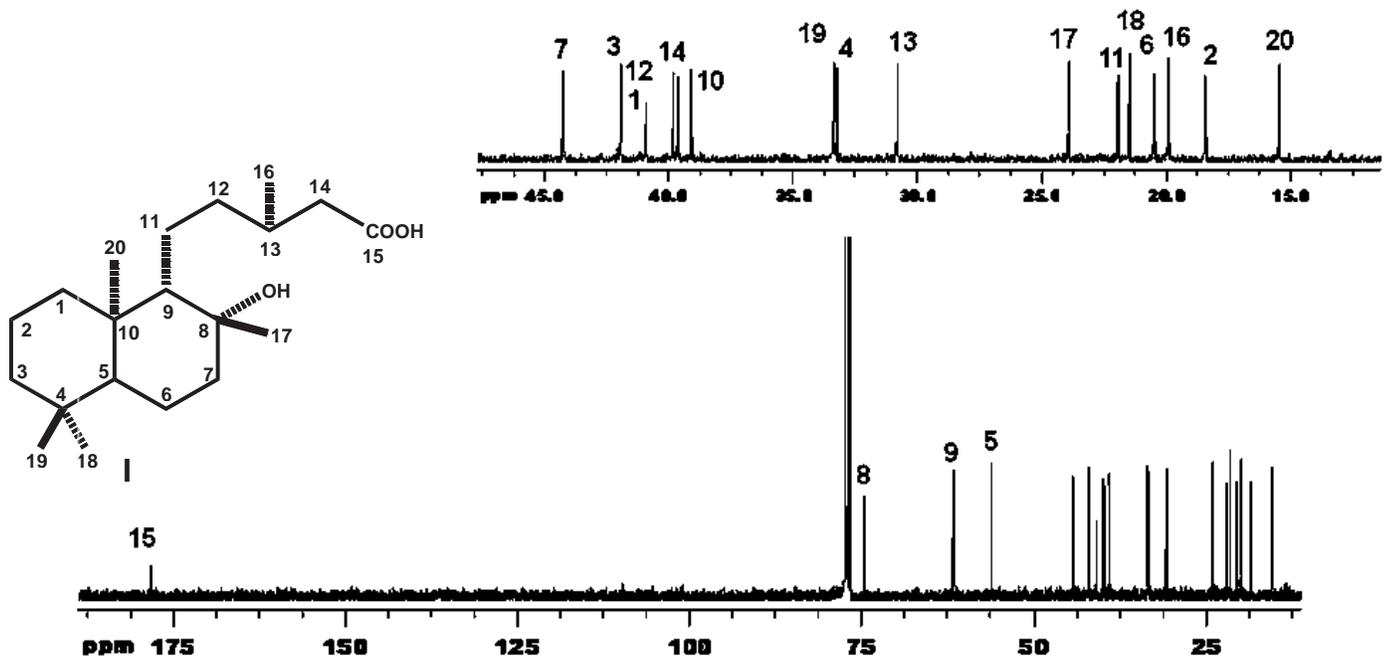
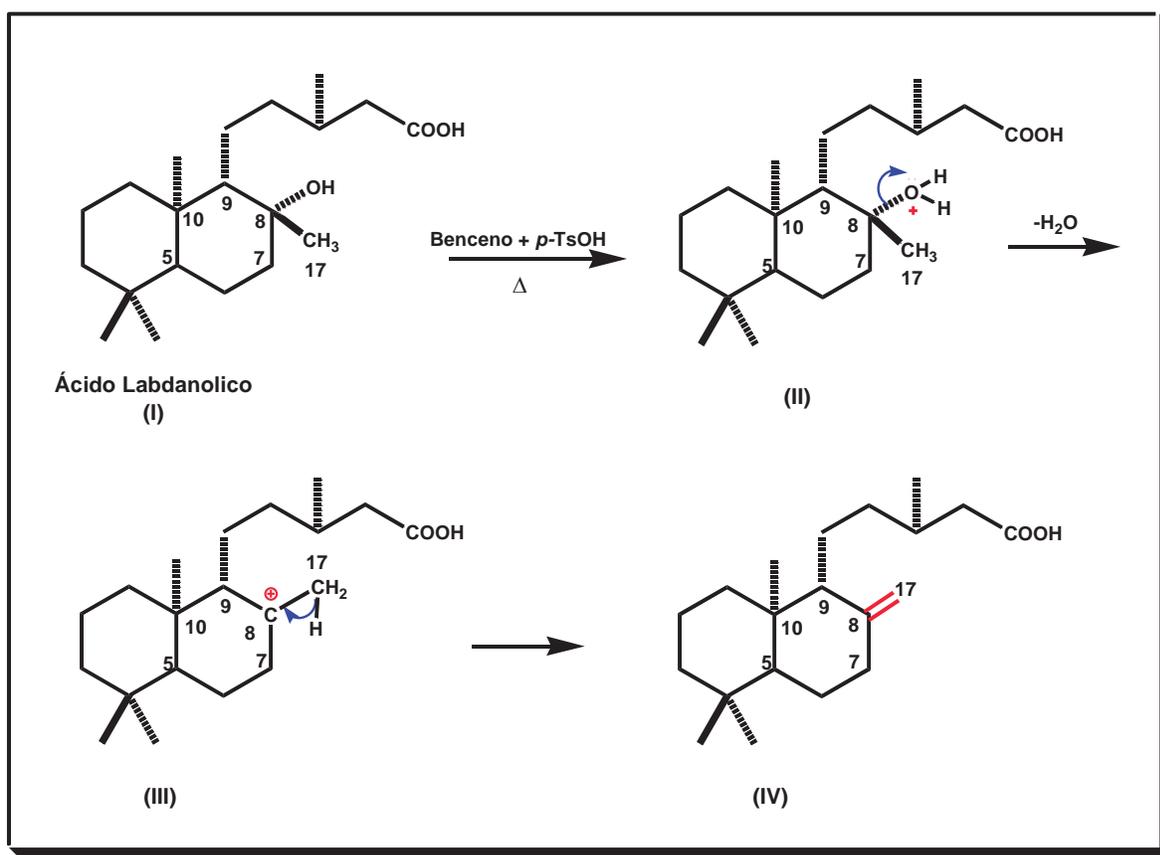


Figura 8: Espectro de RMN de ^{13}C a 100 MHz del Ácido labdanólico (I).

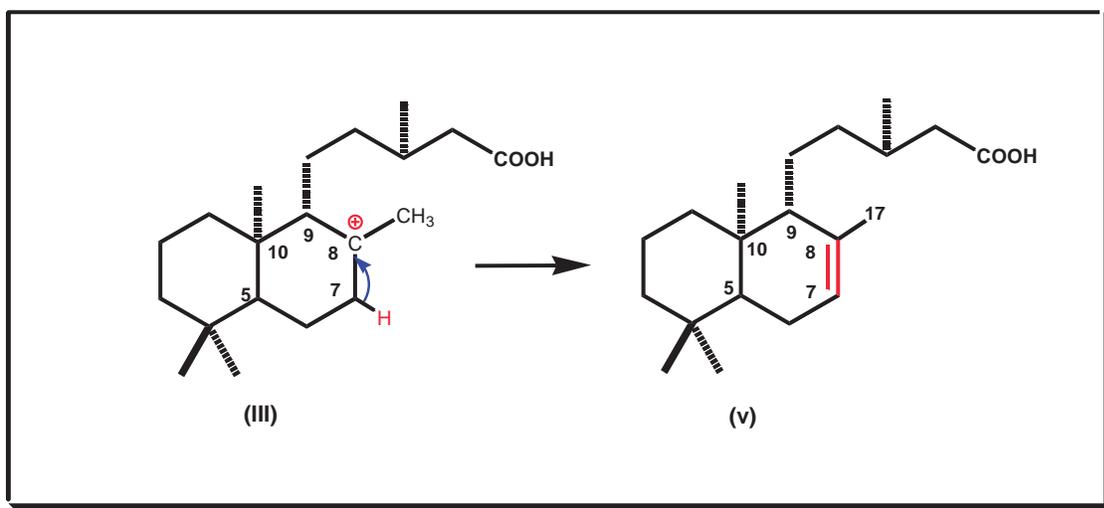
En el espectro de resonancia magnética nuclear de ^{13}C a 100 MHz (Fig. 8) se observaron 20 señales, esto nos dio la pauta para decir que obtuvimos el compuesto diterpénico que estábamos buscando, en 177.76 ppm se observa la señal correspondiente a un ácido carboxílico, en 74.70 ppm está presente la señal de un carbono cuaternario base de oxígeno, perteneciente al carbono 8. Estos datos nos confirmaron la presencia del ácido labdanólico (I)

Como ya habíamos mencionado el ácido labdanólico (I) presenta un grupo $-OH$ en el carbono 8, por lo que procedimos a realizarle un tratamiento ácido para deshidratarlo. Analizando nuestra molécula nos dimos cuenta que existían varias posibilidades de productos debido a que el carbono 8 que contiene el grupo OH presenta varios hidrógenos α vecinos. Si la eliminación ocurriese en un hidrógeno perteneciente al carbono 17, el producto esperado sería un doble enlace exocíclico entre el carbono 8 y el 17 (Esquema 16), formándose un alqueno disustituido.



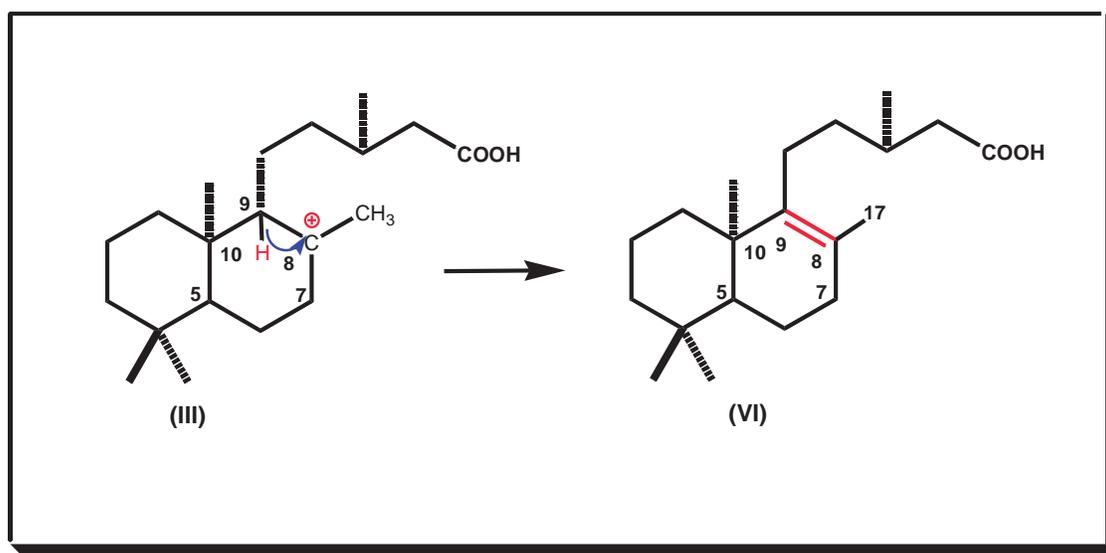
Esquema 16: Posible producto obtenido en la reacción de deshidratación si la eliminación ocurriese de un H del carbono 17.

Si el hidrógeno eliminado corresponde al carbono 7, nuestro producto de reacción esperado sería un alqueno con doble enlace entre el carbono 7 y el 8 (Esquema 17). Formándose el ácido catívico (V). Para este caso el doble enlace estaría sobre un carbono trisustituido.



Esquema 17: Posible producto obtenido en la reacción de deshidratación si la eliminación ocurriese de un H del carbono 7.

Otra posibilidad y la que obedece a la regla de Zaitsev por que daría lugar a la formación del alqueno más sustituido, es que se elimine el hidrógeno del carbono 9 y se forme el doble enlace entre este y el carbono 8, dando lugar a la formación de un doble enlace tetrasustituido (Esquema 18).



Esquema 18: Posible producto obtenido en la reacción de deshidratación si la eliminación ocurriese del H del carbono 9.

Para llevar a cabo la reacción de deshidratación se pesó 100 mg de ácido labdanólico (I), se disolvieron con 6 ml de Benceno en un matraz balón de 10 ml y se agregaron 40 mg de ácido *p*-toluensulfónico, se llevaron a reflujo durante una hora con una trampa de Dean-Stark. Pasado éste tiempo se vertió el producto de la reacción en un vial con hielo y una vez derretido el hielo, se colocó la muestra en un embudo de separación, se le agregó acetato de etilo para aumentar la fase orgánica y se lavó con agua. A la fase orgánica se le agregó Na₂SO₄ anhídrido para atrapar los residuos de agua, se filtró y se concentró.

Para purificar el crudo de reacción se montó una cromatografía en columna de 0.5 cm de ancho con 1,0 g. de sílice 70-230 mallas, y 5 cm de altura, utilizando hexano-acetato de etilo como fase móvil, en un orden ascendente de polaridad. Se colectaron fracciones de 10 ml, de las cuales las correspondientes a las fracciones 18-22 eluidas a una polaridad 98:2 Hex-AcOEt presentaron un compuesto de una miel transparente, el cual se analizó por ¹H-RMN a 400 MHz (Fig. 9). Se observó una señal doble de dobles en $\delta = 2.39$ ppm con constante de acoplamiento $J_{14, 14'} = 15.0$ y $J_{14, 13} = 5.9$ Hz, correspondiente a uno de los hidrógenos del carbono 14. El espectro presenta otra señal doble de dobles en $\delta = 2.16$ ppm con $J_{14', 14} = 15.0$ Hz y $J_{14', 13} = 8.4$ Hz, que pertenecen al otro hidrógeno del carbono 14 nombrado 14', señales análogas a las encontradas en el ácido labdanólico (I) y el ácido catívico (V). En 1.51 ppm se encuentra un singulete que corresponde al metilo 17 en el cual se vuelve a observar una modificación de su desplazamiento químico nuevamente hacia la región de metilos vinílicos, también se observa una señal doble en 0.97 ppm con una $J_{16, 13} = 6.7$ Hz correspondiente a los hidrógenos del metilo secundario 16, en campo alto se encuentran tres singuletes característicos de metilos terciarios, correspondientes a los metilos 18, 19 y 20 cuyos desplazamientos químicos son 0.91, 0.86 y 0.80 respectivamente.

El hecho de que en el espectro de RMN de hidrógeno no se observaran señales en la zona de hidrógenos vinílicos y que el patrón de desplazamientos químicos de los metilos fuera diferente a los de la materia prima, nos hizo suponer

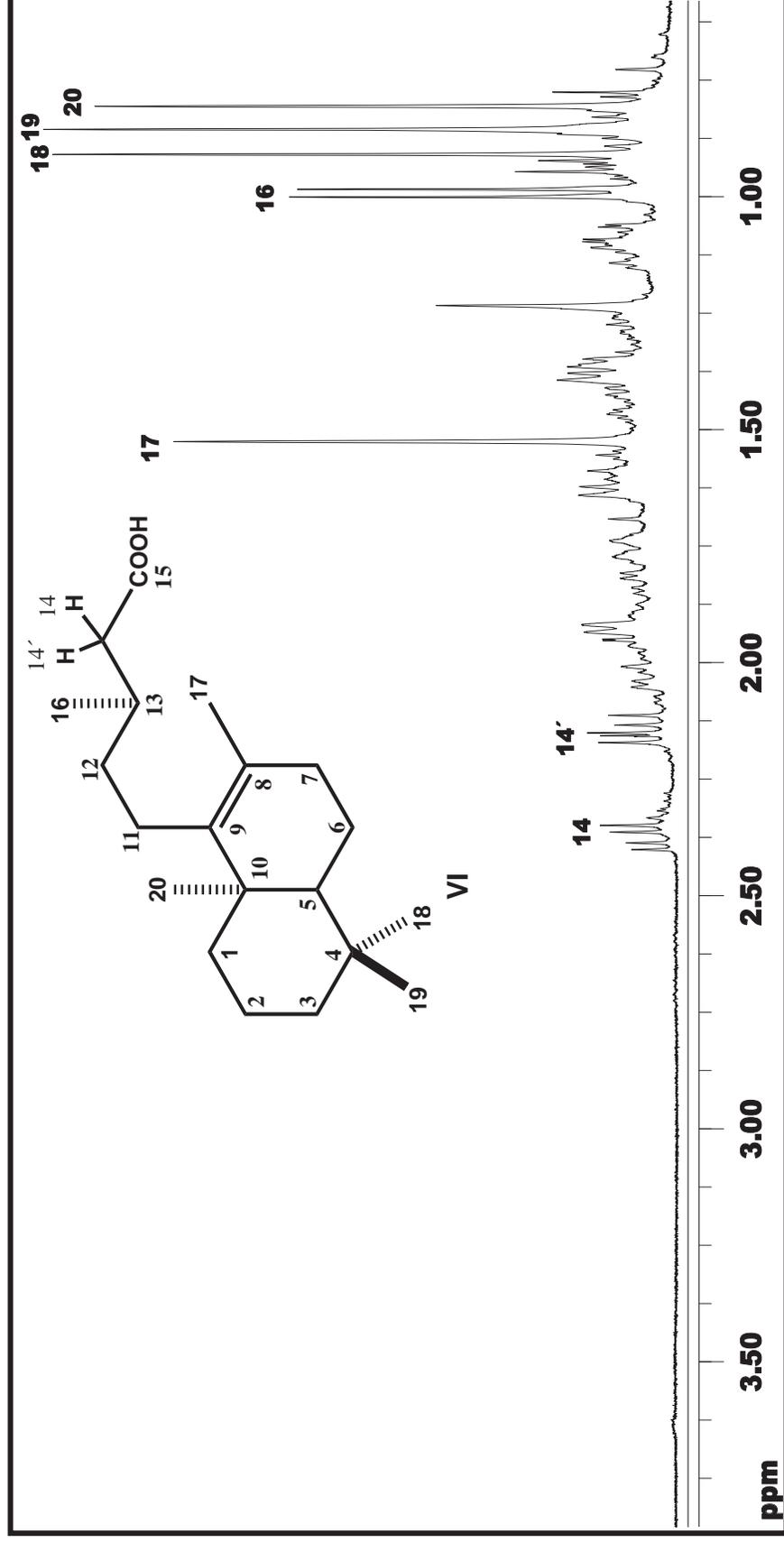


Figura 9: Espectro de RMN de ¹H a 400 MHz del Ácido labdan-8-en-15-oico (VI).

que la reacción se había llevado con la posible formación del doble enlace entre C-8 y C-9.

Mediante el experimento COSY (correlación homonuclear) que se muestra en la Figura 10, identificamos los hidrógenos que se encuentran vecinos en la molécula, así tenemos que la señal doble, que se encuentra en 0.97 ppm, asignada al metilo secundario 16, correlaciona con la señal múltiple en 1.94 ppm correspondiente al hidrógeno del carbono 13, base del metilo; en 2.16 ppm se encuentra una señal doble de dobles que corresponde a uno de los hidrógenos metilenos del carbono 14, la cual correlaciona con una señal en 2.39 ppm por lo tanto esta señal corresponde al otro hidrógeno del metileno 14.

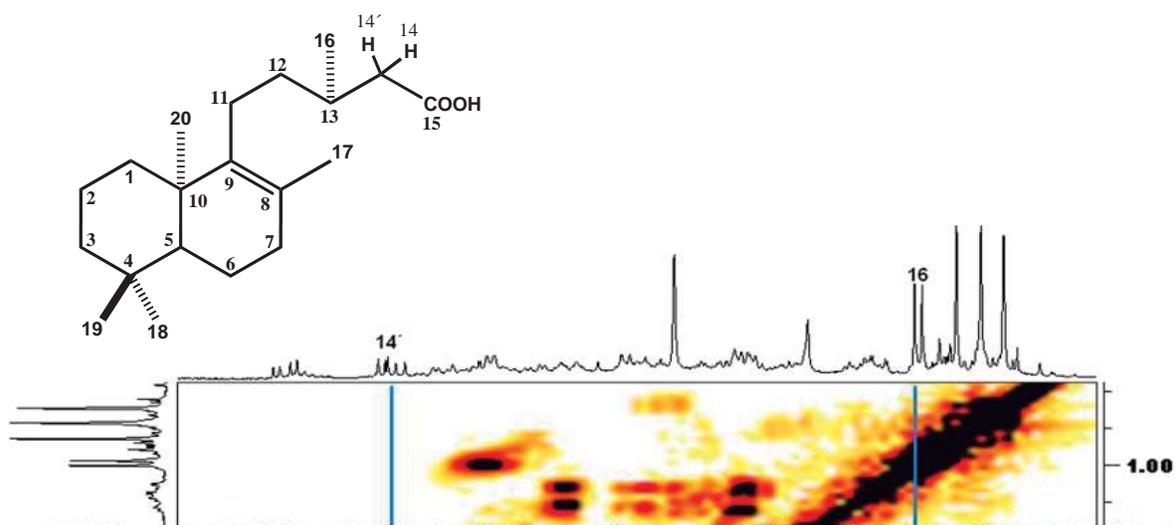


Figura 10: Experimento (COSY) del Ácido labdan-8- en-15- oico (VI).

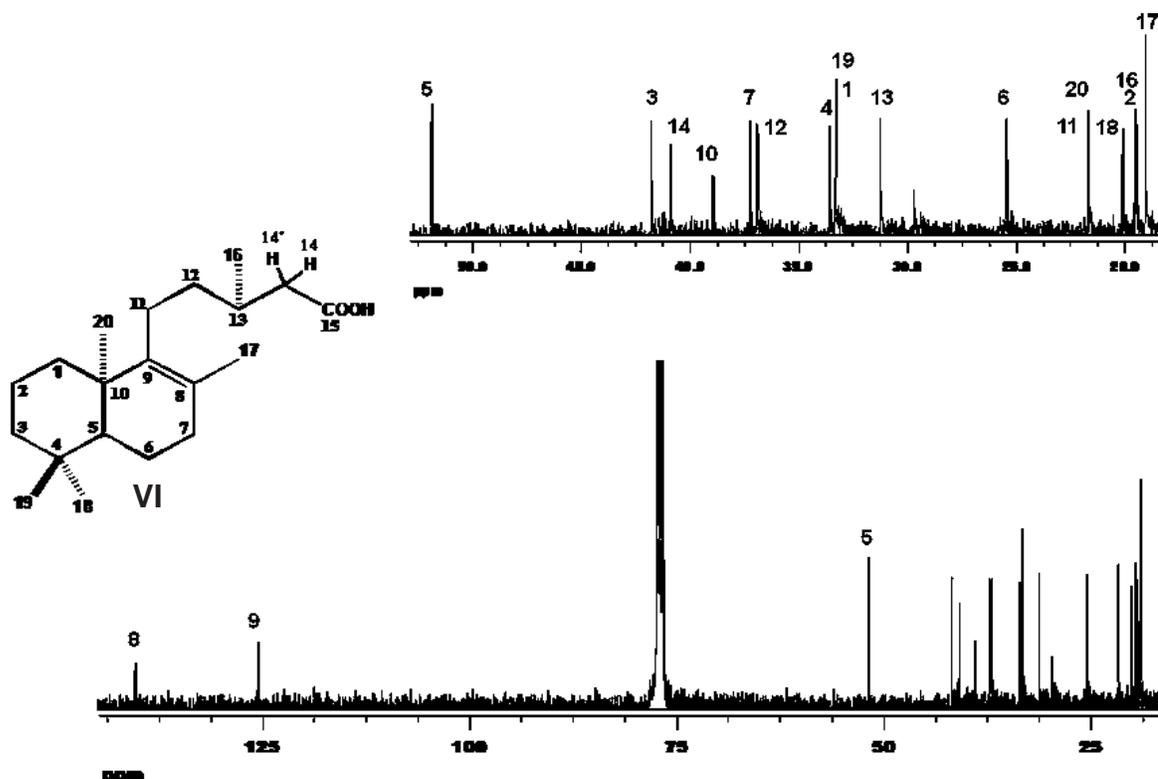


Figura 11: Espectro de RMN de ^{13}C a 100 MHz del Ácido labdan-8- en-15- oico (VI).

En el espectro de ^{13}C (Fig. 11) se encontró una señal en 178.61 ppm que corresponde al carbono 15 del ácido carboxílico, dos señales en 140.37 y 125.80 representativas de carbonos vinílicos los cuales se identificaron como los carbonos 8 y 9 respectivamente, lo que nos dio la pauta para establecer que entre estos dos carbonos se había formado el doble enlace, obteniendo el producto esperado de acuerdo a la regla de Zaitsev. El espectro de RMN de ^{13}C fue asignado en base al experimento DEPT y HETCOR. El experimento HECTCOR (Fig. 12) correlaciona las señales del espectro de ^1H con el de ^{13}C para establecer la relación de cada hidrógeno con su respectivo carbono, por ejemplo, se puede observar que la señal a 2.39 ppm en el espectro de ^1H correlaciona con una señal

en 41.78 ppm del espectro de ^{13}C por lo que se deduce que esta señal pertenece al carbono 14. La señal ubicada en 1.94 ppm correspondiente al hidrógeno 13 correlaciona con una señal en 31.25 ppm asignada como el carbono 13, en 1.51 ppm se encuentra la señal de un metilo vinílico que correlaciona con una señal en 19.06 ppm asignada como el carbono 17, en 0.97 ppm se encuentra una señal doble perteneciente a un metilo secundario que correlaciona con una señal en 19.56 ppm asignada como el carbono 16. De esta manera comparando los distintos espectros se confirmó la estructura del compuesto.

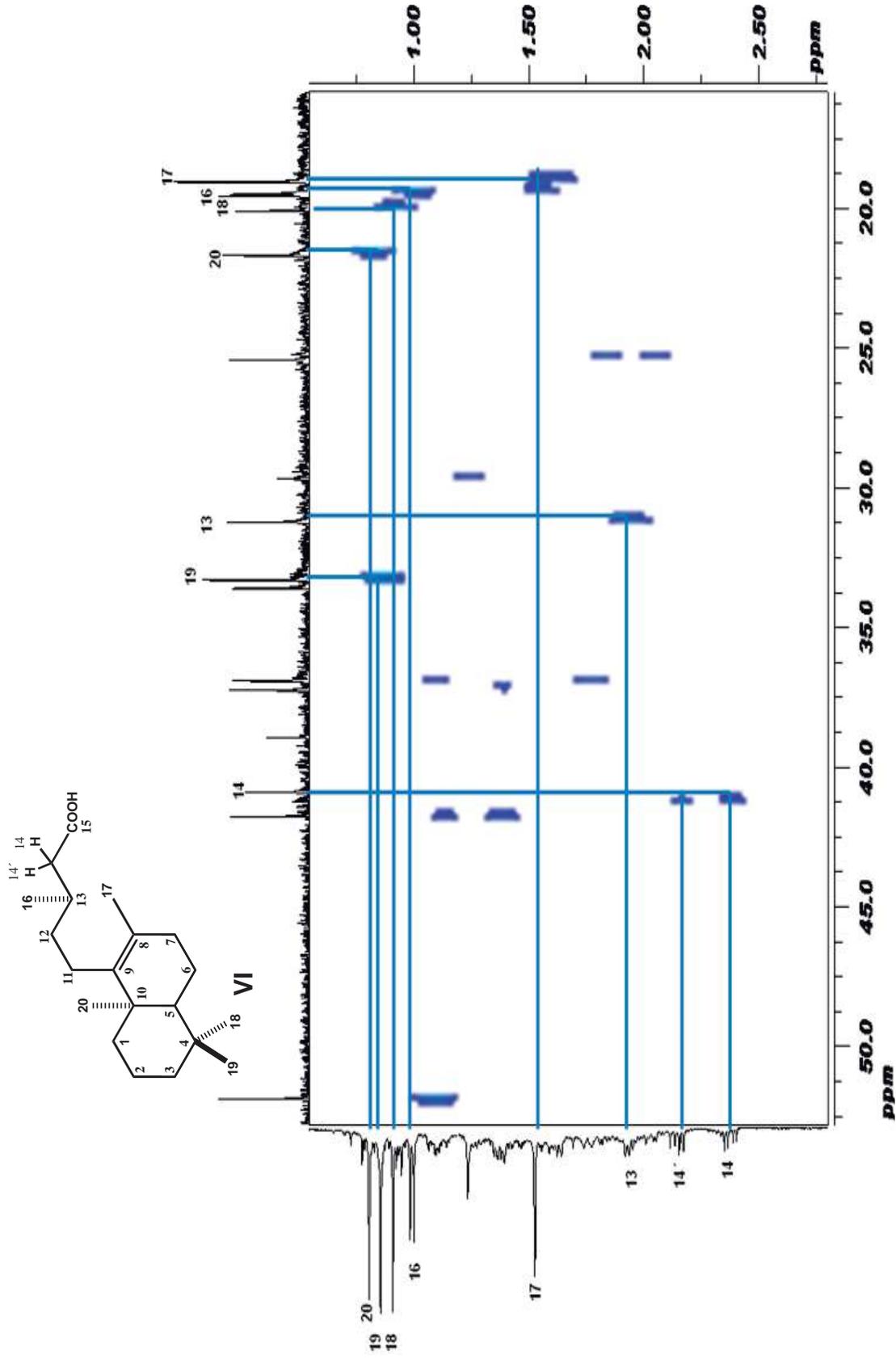
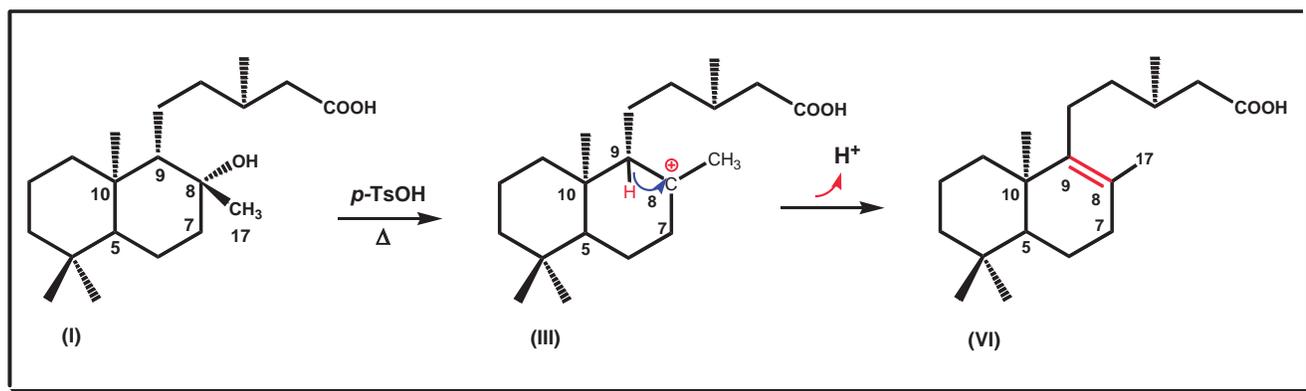


Figura 12: Experimento de correlación heteronuclear (HETCOR) del Ácido labdan-8- en-15- oico (VI).

El mecanismo de reacción propuesto para la formación del compuesto VI se describe en el esquema 19.

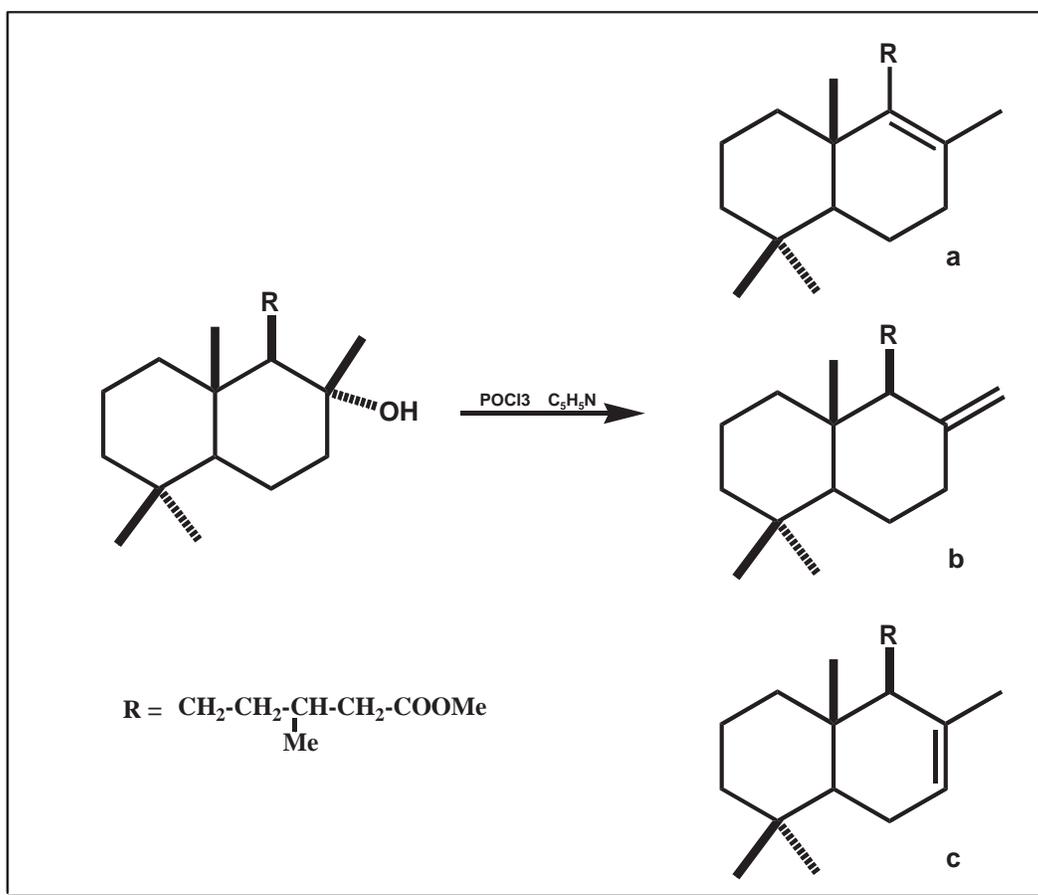


Esquema 19: Mecanismo de reacción propuesto para la formación del ácido labda-8-en-15-oico (VI).

Con objeto de fundamentar lo anteriormente descrito, se buscó en la bibliografía artículos referentes a deshidrataciones realizadas en compuestos con esqueleto de tipo labdano encontrando un estudio sobre reordenamientos de compuestos diterpénicos bicíclicos en las especies de plantas de *Cistus*, por ser estos unos de sus componentes mayoritarios. Entre algunas plantas de este género que se han estudiado podríamos citar a *Cistus ladaniferus*⁴⁰ y *Cistus laurifolius*⁴¹. De *C. ladaniferus* se aisló entre otros diterpenos el éster metílico del ácido labdanóico el cual al ser sometido a una deshidratación con POCl_3 y piridina dio la mezcla de tres compuestos (que se muestran en el esquema 20) con diferente posición del doble enlace. Puede observarse que estas estructuras son parecidas a las nuestras, aunque ellos reportan un mayor rendimiento de la estructura señalada como “c” a pesar de que esta no cumple la regla de Zaitsev, esto podría deberse a las distintas condiciones de reacción utilizadas.

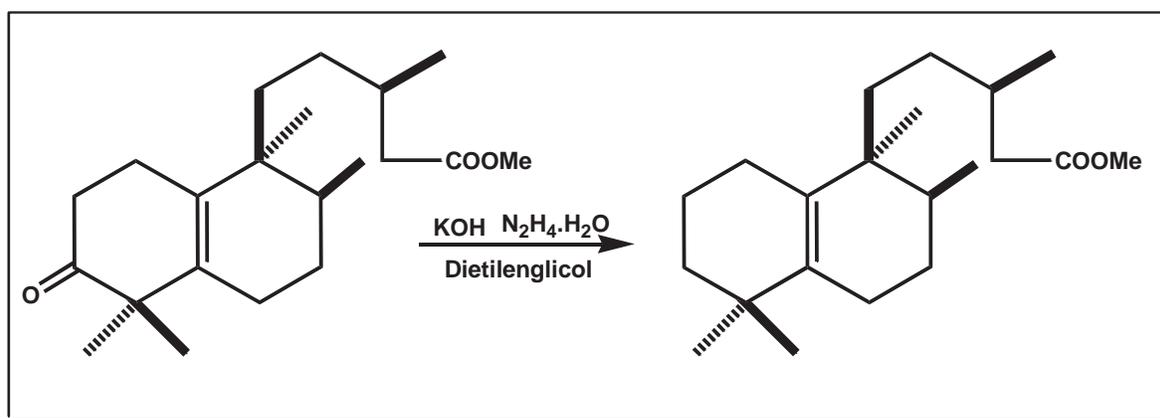
⁴⁰ J. de Pascual-T; I.S. Bellido; P. Basabe; I. S. Marcos, L.F. Ruano y J.G. Urones; *Phytochemistry*. (1982) **21** (4); 899-901.

⁴¹ J. De Pascual-T; J.G Urones, Marcos I.S; F. Bermejo y P. Basabe; *Phytochemistry*. (1983) **22** (12); 2783-2785.



Esquema 20: Deshidratación del éster metílico del ácido labdanólico

De *C. laurifolius* se han reportado nuevos reordenamientos del esqueleto *ent*-labdanos, del cual se aisló el ácido salmántico y su metil éster. Este último se le realizó una reacción de reducción por el método de Huang-Minlon como se muestra en el esquema 21.



Esquema 21: Reducción del metil éster del ácido salmántico.

Esta estructura análoga a la nuestra nos hizo suponer que era posible que la molécula se siguiera reordenando. Para confirmar nuestra hipótesis se realizó la reacción de deshidratación pero utilizando un exceso de ácido *p*-toluensulfónico (400 mg). Se siguió el mismo procedimiento descrito anteriormente. Para purificar el crudo de reacción se realizó una cromatografía en columna con 1 g de sílica gel de 230-400 mallas, de 5 cm de altura y 0.5 cm de ancho. Se utilizó hexano-AcOEt como fase móvil, se colectaron fracciones de 10 ml de las cuales de la 22-24 eluidas a una polaridad 99.5:1.5 de la mezcla hexano-acetato de etilo se obtuvo una miel incolora cuyo análisis por espectrometría de masas mostró un ion molecular de 306 uma, cuya fórmula molecular corresponde a $C_{20}H_{34}O_2$.

Al analizar la muestra por espectro de RMN de protón, (Fig. 13) se encontró una señal doble de dobles con $\delta = 2.33$ ppm, y una constante de acoplamiento $J_{14,14'} = 15.03$ Hz y $J_{14,13} = 7.5$ Hz; en 2.15 ppm se observó otra señal doble de dobles con una constante de acoplamiento de $J_{14',14} = 15.0$ Hz y $J_{14',13} = 7.5$ Hz, análogas a las características señales para los hidrógenos del carbono 14. En $\delta = 0.96$ ppm se observa una señal sobrepuesta que integra para 6 hidrógenos que corresponde a los metilos 18 y 16, en 0.94 se encuentra un singulete que integra para 3 hidrógenos correspondiente al metilo terciario 19; en 0.81 ppm se encuentra una señal doble con una constante de acoplamiento de $J_{17,8} = 6.9$ Hz, que corresponde a un nuevo metilo secundario 17, en 0.79 ppm se encuentra un singulete asignado como los hidrógenos del metilo 20.

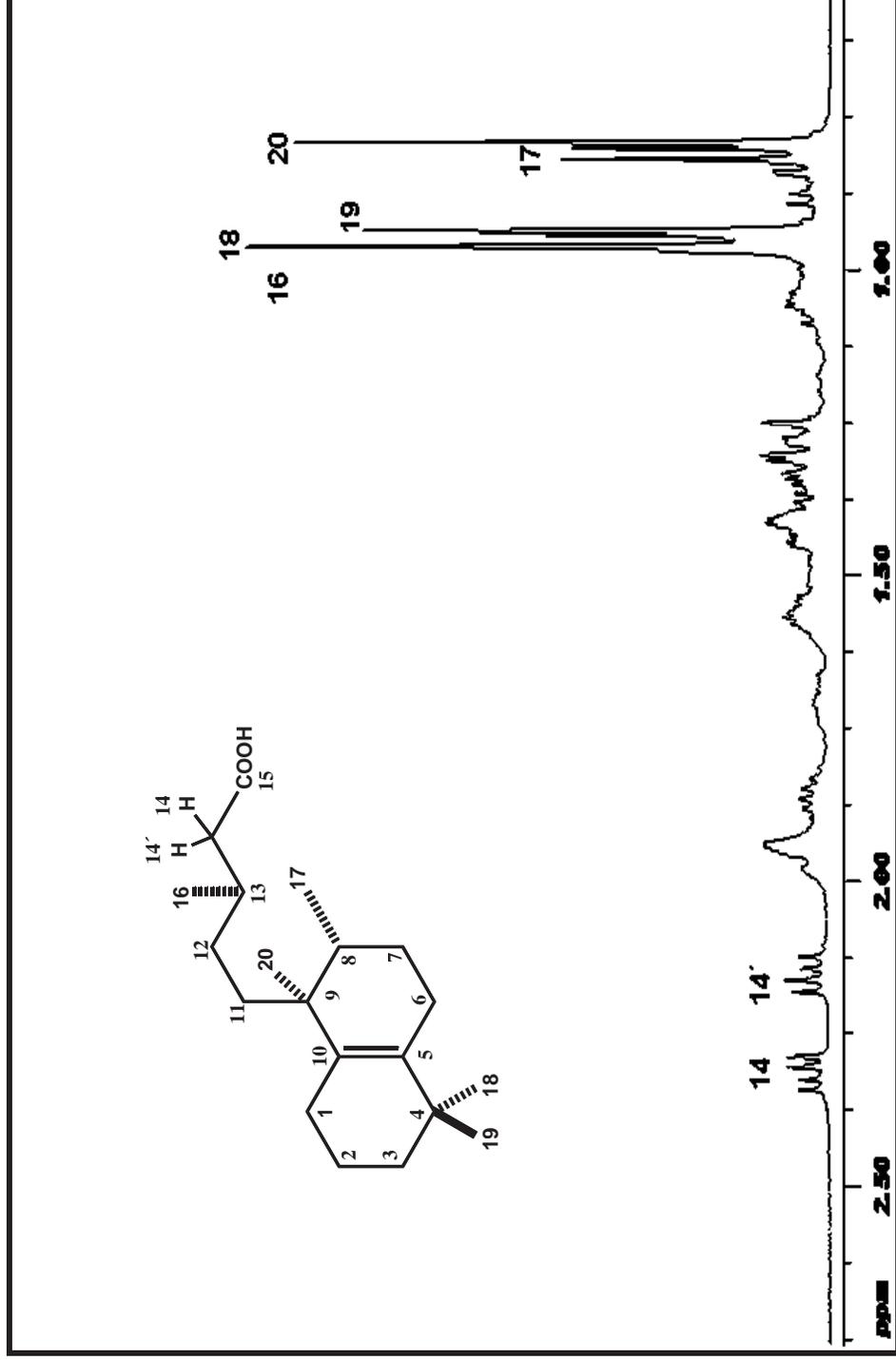


Figura 13: Espectro de RMN de ¹H a 400 MHz del Ácido labdan-5(10)-en-15- oico (IX).

Para determinar la estructura de la molécula se realizaron experimentos de RMN como el DEPT y de dos dimensiones como el COSY y HETCOR. En el experimento de correlación homonuclear (COSY) (Fig. 14) se observa la correlación de la señal en 2.33 ppm asignada para uno de los hidrógenos del carbono 14 con una señal en 2.15 ppm correspondiente al otro hidrógeno del metileno 14';

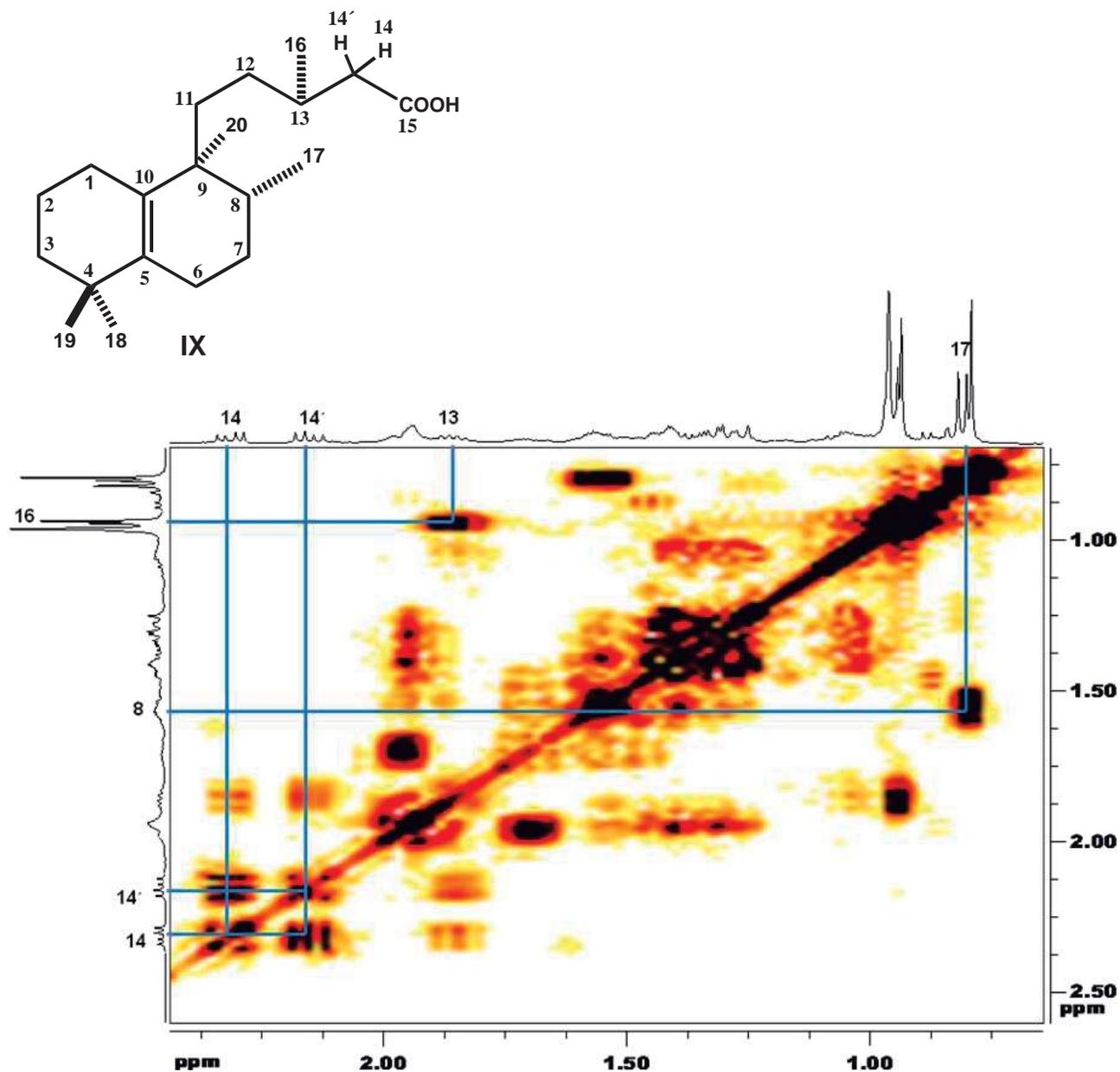


Figura 14: Experimento de correlación homonuclear (COSY) del Ácido labdan-5(10)-en-15- oico (IX).

la señal en 0.96 ppm correspondiente al metilo secundario 16 correlaciona con una señal en 1.87 ppm del hidrógeno 13, en 0.81 ppm se encuentra una señal asignada para los hidrógenos del metilo secundario 17 que correlaciona con una señal en 1.56 ppm perteneciente al hidrógeno del carbono 8, de esta manera se asignaron el resto de las señales.

En el análisis de RMN de ^{13}C (Fig. 15) se observa la señal característica para el carbono 15 del ácido en 178.85 ppm y la señal correspondiente a carbonos vinílicos en 136.2 y 131.9 ppm asignados para los carbonos 5 y 10, en 34.11 ppm se encuentra una señal de un carbono cuaternario asignado como el carbono 9, esto nos hace suponer que el metilo 20 ha migrado hacia el carbono 9 para que se pudiera llevar a cabo el doble enlace entre los carbonos 5 y 10

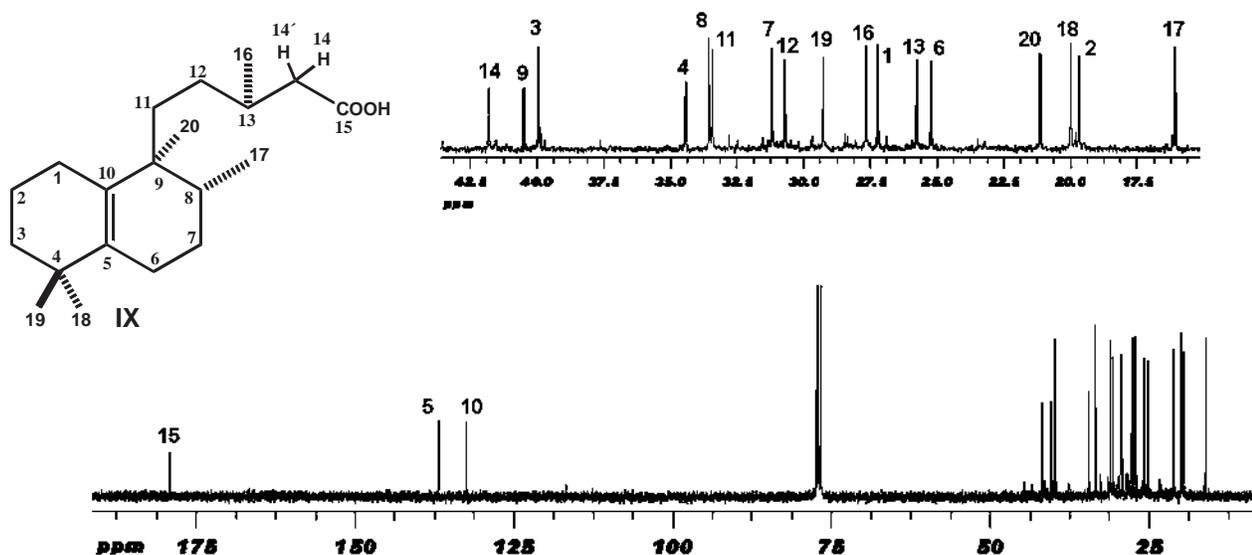


Figura 15: Espectro de RMN de ^{13}C a 100 MHz del Ácido labdan-5(10)-en-15-oico (IX).

De igual manera, para asignar las señales del ^{13}C se utilizaron los experimentos DEPT y HETCOR. En el experimento de correlación heteronuclear HETCOR (Fig.16) se puede observar la correlación de la señal en 2.15 ppm del espectro de ^1H con la señal en 41.49 ppm del espectro de carbono, por lo que esta señal se asignó para el carbono 14, la señal en 0.94 ppm del espectro de ^1H correlaciona con la señal en 15.77 ppm del espectro de ^{13}C .

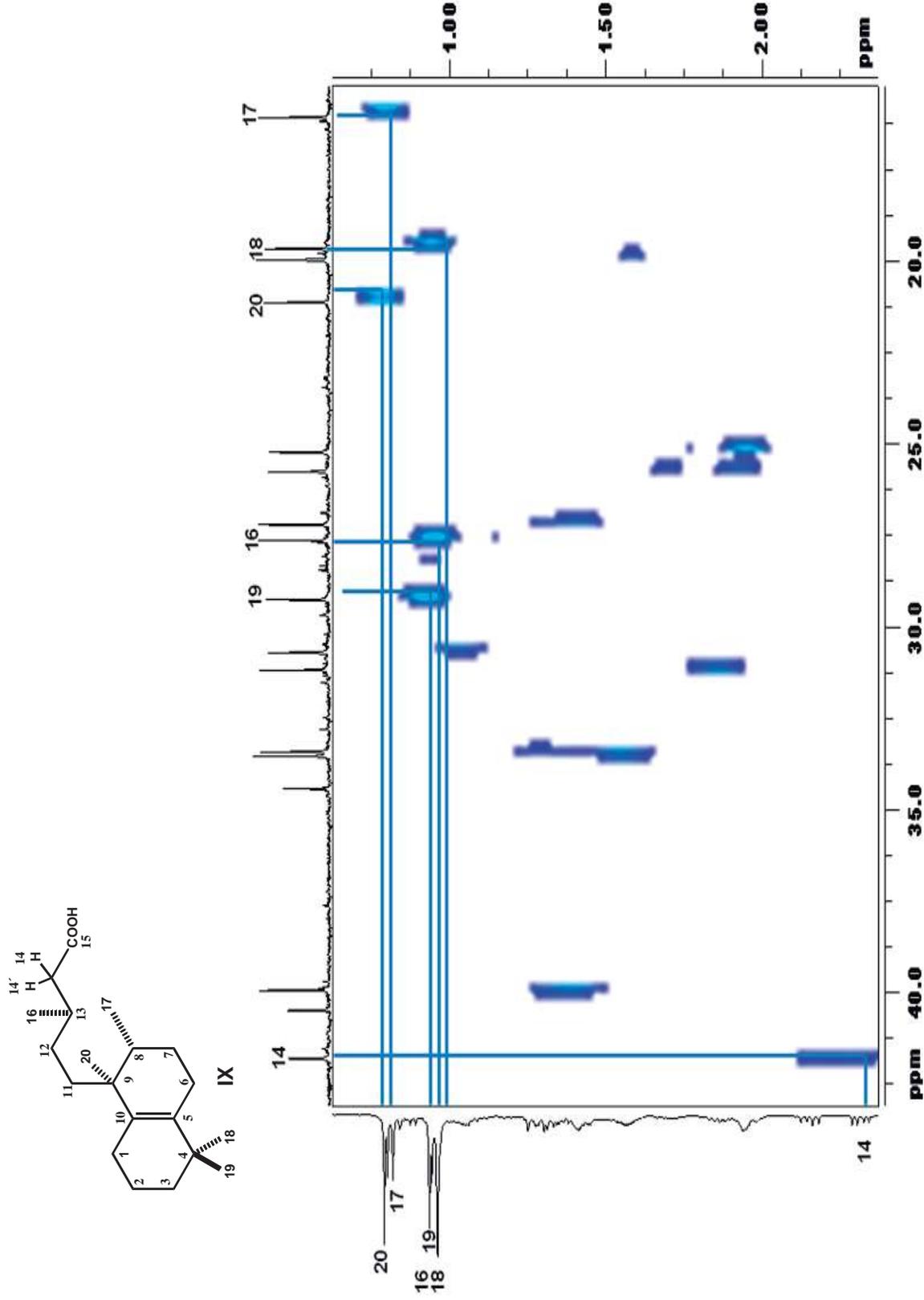
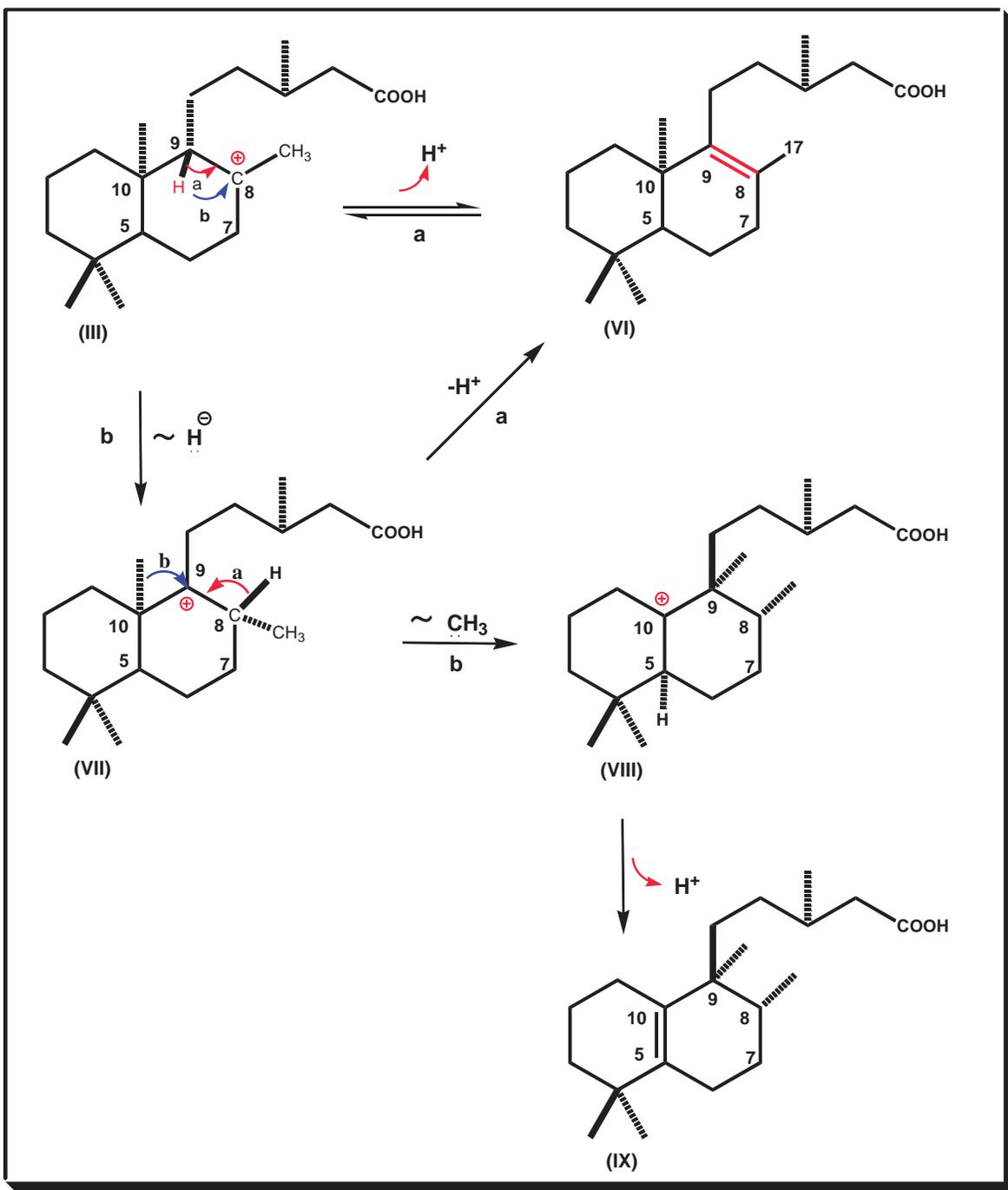


Figura 16: Experimento de correlación heteronuclear del Ácido labdan-5(10)- en-15- oico (IX)

El mecanismo de reacción propuesto para este compuesto (Esquema 22) sugiere que en el intermediario III pueden ocurrir dos posibilidades



Esquema 22: Mecanismo propuesto para la formación del derivado IX

La posibilidad designada como “a” sugiere que el protón del carbono 9 se elimine y se forme el doble enlace entre el carbono 8 y 9 dando como producto el ácido labda-8-en-15-oico (VI) y la otra posibilidad “b”, en lugar de perder el protón ocurre una migración tipo del ion hidruro hacia el carbono 8 formando el intermediario VII en el cual la carga positiva queda en el carbono 9, después de formarse este intermediario nuevamente tenemos dos posibilidades, marcadas como ruta a y ruta b, en la ruta a puede ocurrir la eliminación del hidrógeno del carbono 8 para regresarse a la estructura VI ó la ruta b en la cual ocurre la migración del radical metilo tipo Wagner-Meerwein del carbono 10 al carbono 9 dejando el carbocatión en el carbono 10, donde a partir del intermediario VIII ocurre la eliminación del hidrógeno del carbono 5 para formar el doble enlace entre el carbono 5 y el 10 dando lugar al compuesto ácido labda-5(10)-en-15-oico (IX).

Con la finalidad de comprobar que la primera etapa era reversible se procedió a aislar el derivado VI para someterlo a condiciones de un exceso de ácido *p*-TsOH, con lo cual también obtuvimos el derivado IX a partir de VI con lo que se demuestra el mecanismo propuesto.

Analizando la estructura del ácido catívico (V) vemos que contiene un doble enlace entre los carbonos 7 y 8, como se sabe los alquenos son susceptibles a sufrir reacciones de isomerización en un medio ácido por lo que lo sometimos a las mismas condiciones que al ácido labdanólico (I). Los espectros de RMN, nos indicaron que se obtenían los mismos productos de reacción, es decir, tanto el ácido catívico (V) como el ácido labdanólico (I) disueltos en benceno, al estar en presencia de ácido *p*-toluensulfónico a 40mg producen como producto de reacción el Ácido labdan-8- en-15- oico (VI) y al estar en presencia de 400mg de ácido *p*-toluensulfónico ambos dan como producto de reacción el Ácido labdan-5(10)- en-15- oico (IX).

El derivado IX no fue encontrado en la búsqueda bibliográfica, por lo que se concluye que corresponde a una estructura novedosa.

5. PARTE EXPERIMENTAL.

Los espectros de resonancia magnética nuclear de ^1H a 400 MHz y de ^{13}C a 100 MHz, así como los diagramas bi-dimENSIONAL de correlación $^{13}\text{C}/^1\text{H}$ (HETCOR), $^1\text{H}/^1\text{H}$ (COSY) se determinaron en un aparato Varian Mercury Plus-400. En todas las determinaciones se utilizó como disolvente cloroformo deuterado (CDCl_3) y como referencia se utilizó tetrametil silano (TMS).

Los espectros de masas se llevaron a cabo en un Cromatógrafo de Gases HP 5890 series II Plus, acoplado a un espectrómetro de Masas HP 5989-B.

La rotación óptica se determinó en un aparato Perkin Elmer 341 usando CHCl_3 como disolvente.

Para las separaciones cromatográficas se utilizó sílica gel de la marca Merck 230-400 mallas para la purificación del Ácido labdan-5(10)- en-15- oico, y sílice gel Aldrich 70-230 para la purificación del Ácido labdan-8- en-15- oico.

5.1 Aislamiento del ácido labdanólico (I) y ácido catívico (V).

Se colectó la planta identificada como *E. cardiophyllum* en el kilómetro 51 de la carretera Morelia-Zacapu, fue secada a la sombra y separada en sus partes (flor, hoja, tallo, raíz). Se tomaron 240 g de flor por contener esta un buen rendimiento de ácido catívico y ácido labdanólico, se les realizó maceración a temperatura ambiente con 1 litro de hexano durante 3 días, se filtraron y concentraron en el rotavapor; repitiendo el procedimiento 3 veces. El remanente fue resuspendido en metanol para eliminar las grasas, se filtró y evaporó quedando 12 g de extracto de aspecto poco denso color ámbar. Se tomó un gramo para purificarlo mediante una separación cromatográfica en columna, para lo cual se utilizó 30g de sílica gel 70-230 mallas, una columna de vidrio de 3 cm de diámetro y como fase móvil para el empacamiento se utilizó hexano. La elución se realizó en orden ascendente de polaridad, utilizándose como disolvente hexano y acetato de etilo en mezclas de distintas proporciones. Se colectaron fracciones de 10 ml cada una.

De las fracciones eluidas con hexano-AcOEt 90:10 se obtuvo un sólido ligeramente amarillo. Del análisis espectroscópico se determinó que correspondía al ácido catívico.

Ácido catívico (V). Sólido blanco, P.F 35-40 °C. $[\alpha]_D = +9.7$ ($c=0.11$, CHCl_3). IR $\lambda_{\text{máx}} = 3014$ (OH), 1706 (C=O), 1522 (C=C), 1208 (C-O), 850 (C=CH). EMIE m/z 306 [M^+] (18), 291 (16), 191 (44), 182 (80), 122 (84), 109 (100), 95 (62), 81 (50), 69 (55), 55 (84). $^1\text{H-RMN}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 5.38 (1H, sa, H-7), 2.39 (1H, dd, $J=15.01$ Hz, $J= 5.86$ Hz, CH_2 -14), 2.15 (1H, dd, $J=15.01$ Hz, $J= 8.42$ Hz, CH_2 -14'), 1.65 (3H, sa, CH_3 -17), 0.99 (3H, d, $J= 6.5$ Hz, CH_3 -16), 0.87 (3H, s, CH_3 -18), 0.85 (3H, s, CH_3 -19), 0.75 (3H, s, CH_3 -20). $^{13}\text{C-RMN}$ (100 MHz CDCl_3) δ 179.51 (C, C-15), 135 (C, C-8), 122.20 (CH, C-7), 55.20 (CH, C-5), 50.13 (CH, C-9), 42.29 (CH_2 , C-14), 41.26 (CH_2 , C-3), 39.33 (CH_2 , C-12), 39.12 (CH_2 , C-1), 36.83 (C, C-10), 33.15 (CH_3 , C-19), 32.94 (C, C-4), 31.05 (CH, C-13), 24.45 (CH_2 , C-6), 23.79 (CH_2 , C-11), 22.08 (CH_3 , C-17), 21.84 (CH_3 , C-18), 19.87 (CH_3 , C-16), 18.79 (CH_2 , C-2), 13.53 (CH_3 , C-20).

De las fracciones (102-165) eluidas con Hexano-AcOEt 75:25 se obtuvo un aceite ligeramente amarillo. Del análisis espectroscópico se confirmó que correspondía al ácido labdanólico.

Ácido labdanólico (I). Miel ligeramente amarilla. $[\alpha]_D = +22$ ($c=0.11$, CHCl_3). EMIE m/z 324 [M^+] (2), 306 (16), 291 (24), 191 (29), 177 (35), 153 (17), 137 (44), 123 (44), 109 (60), 81 (77), 69 (100), 55 (90). $^1\text{H-RMN}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 2.40 (1H, dd, $J= 14.64$ Hz, $J= 6.60$ Hz, CH_2 -14), 2.14 (1H, dd, $J= 14.64$ Hz, $J= 7.87$ Hz, CH_2 -14'), 1.15 (3H, s, CH_3 -17), 0.98 (3H, d, $J= 6.5$ Hz, CH_3 -16), 0.86 (3H, s, CH_3 -18), 0.78 (6H, s, CH_3 -19,20). $^{13}\text{C-RMN}$ (100 MHz CDCl_3) δ 177.76 (C, C-15), 74.70 (C, C-8), 61.74 (CH, C-9), 56.04 (CH, C-5), 44.22 (CH_2 , C-7), 41.92 (CH_2 , C-3), 40.84 (CH_2 , C-1), 39.77 (CH_2 , C-12), 39.63 (CH_2 , C-14), 39.10 (C, C-10), 33.37 (CH_3 , C-19), 33.22 (C, C-4), 30.75 (CH, C-13), 23.89 (CH_3 , C-17), 21.85 (CH_2 , C-11), 21.47 (CH_3 , C-18), 20.47 (CH_2 , C-6), 19.89 (CH_3 , C-16), 18.42 (CH_2 , C-2), 15.45 (CH_3 , C-20).

5.2 Reacción de deshidratación del ácido labdanólico (I).

Se pesaron 100 mg de ácido labdanólico (I), se disolvieron con 6 ml de Benceno en un matraz balón de 10 ml y se agregaron 40 mg de ácido *p*-toluensulfónico, se llevaron a reflujo durante una hora con una trampa de Dean-Stark (Fig.17) que contenía Benceno para eliminar el agua que se generó durante la reacción ya que ésta es reversible y así evitar que la reacción se desplace hacia la derecha. Pasado éste tiempo se vertió el producto de la reacción en un matraz con hielo, una vez que se derritió el hielo, se colocó la muestra en un embudo de separación y se extrajo con acetato de etilo, se lavó con agua 3 veces. A la fase orgánica se le agregó Na_2SO_4 anhídrido, se filtró y se concentró.

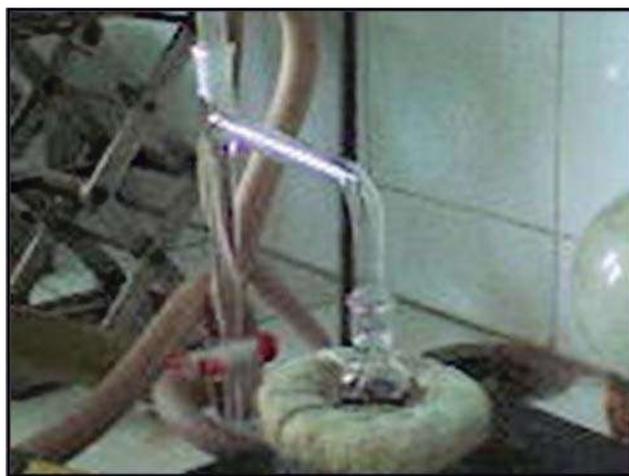


Figura 17: Dispositivo en el que se llevó a cabo la reacción de deshidratación

Purificación del crudo de reacción

Se utilizó 1 g de sílice gel 230-400 mallas, en una columna de vidrio de 0.5 cm de diámetro, una altura de 5 cm. Para empacar la sílice se utilizó hexano, y como fase móvil hexano: acetato de etilo en orden ascendente de polaridad, se colectaron fracciones de 10 ml.

Polaridad	Volumen (ml)	No. De fracciones
Hexano	150	1-20
Hexano 99.5:0.5 AcEtO	100	21-31
Hexano 99:1 AcEtO	100	32-44
Hexano 98:2 AcEtO	200	45-67

Tabla 1: Fracciones de la cromatografía para la purificación del Ácido labdan-8-en-15-oico (VI).

En las fracciones 8-11, obtenidas a una polaridad de 98:2 de hexano-AcOEt respectivamente, se observó una miel transparente la cual mediante análisis de RMN se determinó que se trataba del ácido labdan-8-en-15-oico (VI)

Ácido labdan-8-en-15-oico (VI). Miel transparente, $^1\text{H-RMN}$ (400 MHz CDCl_3) δ ppm: 2.39 (1H, dd, $J = 15.01\text{Hz}$, $J = 5.86\text{ Hz}$, CH_2 -14), 2.16 (1H, dd, $J = 15.0\text{ Hz}$, $J = 8.4\text{Hz}$, CH_2 -14) 1.53 (3H, s, CH_3 -17), 0.97 (3H, d, $J=6.7\text{ Hz}$, CH_3 -16), 0.91 (3H,s, CH_3 -18), 0.86 (3H,s, CH_3 -19), 0.80 (3H,s, CH_3 -20). $^{13}\text{C-RMN}$ (100 MHz CDCl_3) δ 178.61 (C, C-15), 140.37 (C, C-9), 125.80(C, C-8), 51.87(CH, C-5), 41.78 (CH_2 , C-3), 40.91 (CH_2 , C-14), 38.95 (C, C-10), 37.26 (CH_2 , C-7), 36.92 (CH_2 , C-12), 33.61 (C, C-4), 33.31 (CH_3 , C-19),33.31 (CH_2 , C-1), 31.25 (CH, C-13), , 25.44 (CH_2 , C-6), 21.69 (CH_2 , C-11), 21.69 (CH_3 , C-20), 20.10 (CH_3 , C-18), 19.56 (CH_3 , C-16),19.06 (CH_2 , C-2), 19.06 (CH_3 , C-17)

5.3 Isomerización del ácido labdanólico (I)

Se pesaron 100 mg de ácido labdanólico (I), se disolvieron con 6 ml de Benceno en un matraz balón de 10 ml y se agregaron 400 mg de ácido *p*-toluensulfónico, se llevaron a reflujo durante una hora con una trampa de Dean-Stark (Fig.17) que contenía Benceno para atrapar el agua que se generó durante la reacción ya que ésta es reversible y así procurar que la reacción se desplace hacia la derecha. Pasado éste tiempo se vertió el producto de la reacción en un matraz con hielo, una vez que se derritió el hielo, se colocó la muestra en un

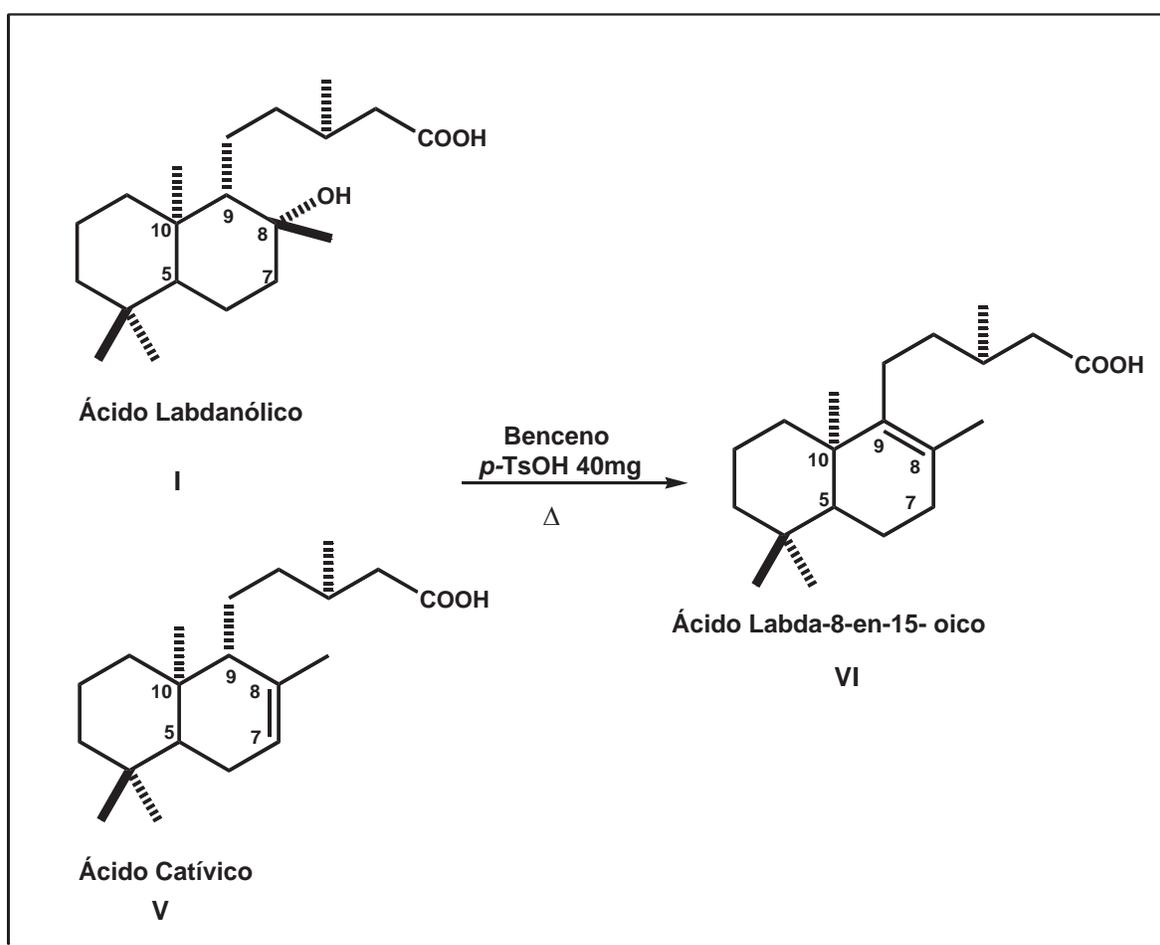
embudo de separación y se extrajo con acetato de etilo, se lavó con agua 3 veces. A la fase orgánica se le agregó Na_2SO_4 anhidrido, se filtró y se concentró.

Para purificar el crudo de reacción se realizó una cromatografía en columna con 1 g de sílica gel de 230-400 mallas, de 5 cm de altura y 0.5 cm de ancho. Se utilizó hexano-Acetato de etilo como fase móvil, se colectaron fracciones de 10 ml de las cuales de la 22-24 eluidas a una polaridad 99.5:1.5 de la mezcla hexano-acetato de etilo se obtuvo una miel incolora.

Ácido labdan-5(10)-en-15-oico (IX). Miel transparente. $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -3.2$. ($c = 0.09$, CHCl_3). EMIE m/z 306 $[\text{M}^+]$. $^1\text{H-RMN}$ (400 MHz CDCl_3) δ ppm: 2.33 (1H, dd, $J = 15.03\text{Hz}$, $J = 7.5\text{ Hz}$, CH_2 -14), 2.15 (1H, dd, $J = 15.0\text{ Hz}$, $J = 7.6\text{Hz}$, CH_2 -14'), 0.96 (3H, s, CH_3 -18), 0.95 (3H, d, $J = 6.5\text{ Hz}$, CH_3 -16) 0.94 (3H, s, CH_3 -19), 0.81 (3H, d, $J = 6.9\text{ Hz}$, CH_3 -17), 0.79 (3H, s, CH_3 -20). $^{13}\text{C-RMN}$ (100 MHz CDCl_3) δ 178.85 (C, C-15), 136.56 (C, C-5), 132.22 (C, C-10), 41.49 (CH_2 , C-14), 40.17 (C, C-9), 39.63 (CH_2 , C-3), 34.11 (C, C-4), 33.23 (CH, C-8), 33.10 (CH_2 , C-11), 30.87 (CH_2 , C-7), 30.39 (CH_2 , C-12), 29.28 (CH_3 , C-19), 27.64 (CH_3 , C-16), 27.33 (CH_2 , C-1), 25.45 (CH_2 , C-13), 24.92 (CH_2 , C-6), 21.14 (CH_3 , C-20), 19.98 (CH_3 , C-18), 19.67 (CH_2 , C-2), 16.08 (CH_3 , C-17)

6. CONCLUSIONES:

Al realizar la reacción de deshidratación en el ácido labdanólico (I) y de isomerización en el ácido catívico (V) a una concentración de trazas de catalizador (40 mg de ácido *p*-toluensulfónico), se obtuvo el producto esperado que seguía la regla de Zaitsev correspondiente al Ácido labdan-8-en-15-oico (VI), el cual fue purificado mediante métodos cromatográficos y caracterizado en base a sus datos físicos, espectroscópicos y bibliográficos^{42,43}.

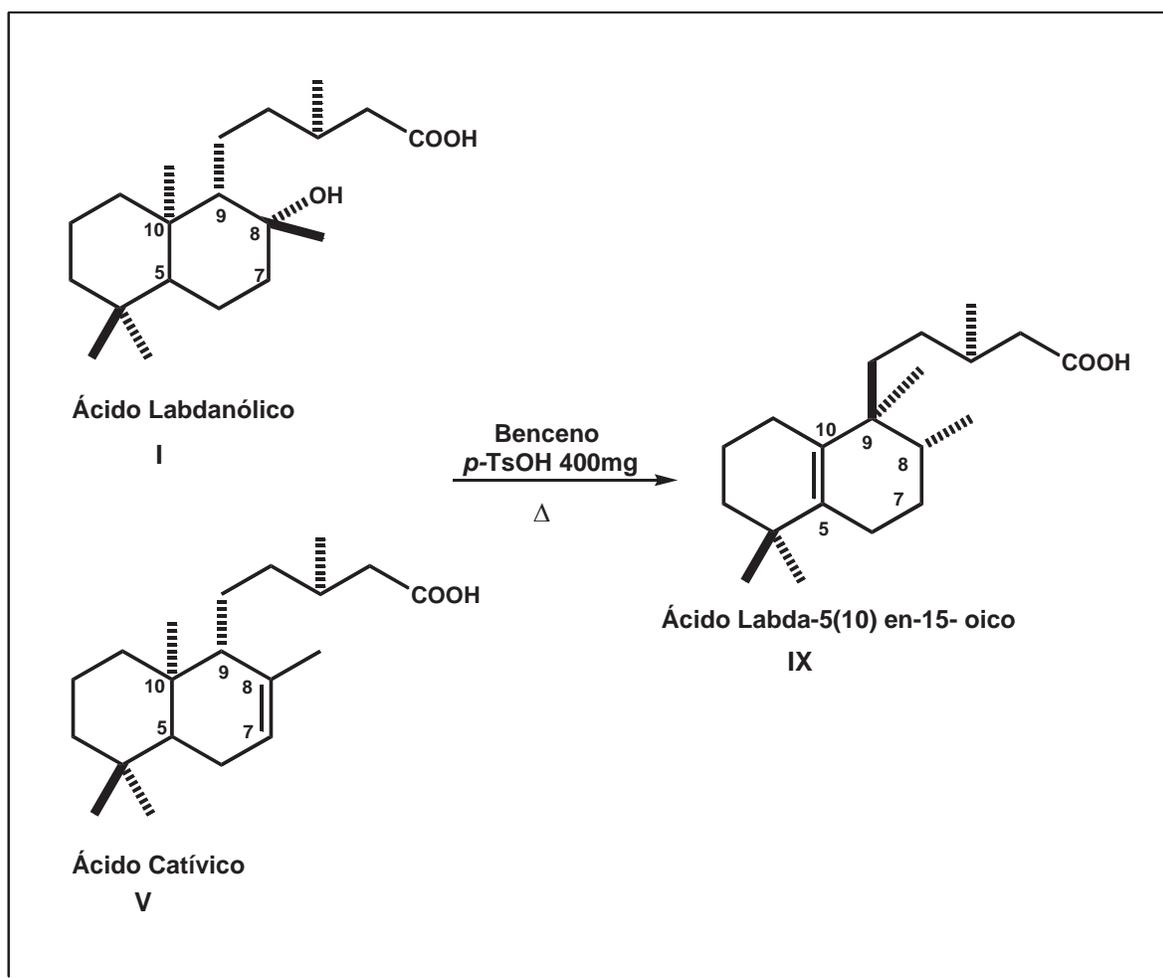


⁴² David, Juceni P.; Ferrari, Jailton; David, Jorge M.; Guimaraes, Alaise G.; Lima, Fernanda W. de M.; de Souza, Georgia L. S., *Journal of the Brazilian Chemical Society* (2007), **18** (8), 1585-1589.

⁴³ Uehara, Shizuka; Hoshino, Hiroshi; Muto, Masakazu; Kameyama, Kumi. *Jpn. Kokai Tokkyo Koho*, (2003), 23

Esquema 23: Reacción del ácido labdanólico y del ácido catívico con trazas de catalizador

Al llevar a cabo la reacción con un exceso de ácido *p*-toluensulfónico (400 mg) para ambas materias primas, se establecen condiciones de reordenamiento a una molécula más estable identificada mediante métodos espectroscópicos y en base a sus datos físicos como Ácido labdan-5(10)-en-15-oico (IX), el cual no ha sido reportado en la literatura.



Esquema 24: Reacción del ácido labdanólico y del ácido catívico con exceso de catalizador

Se propusieron mecanismos de reacción para la formación de ambos compuestos.

BIBLIOGRAFIA

- ¹ Torrenegra R.; Guzmán A. y Rodríguez O., *Scientia et Technica*, (2007) **33**, 271-273.
- ² King R. M. y Robinson H, *The Heneran of the Eupatoriae (Asteraceae) monographs in Sistemic Botany, Missouri Botanical garden; US*; (1987)**22**, (65).
- ³ King R. M. y Robinson H, *Phytología*, (1970) **20**, 196-209.
- ⁴ Rzedowski G. y Rzedowski J.; *Flora Fanerogámica del Valle de México*. Instituto de Ecología, A.C. CONABIO (2005).
- ⁵ Zhang M. L., Wu M., Zhang J. J., Irwin D., Gu. Y.C. y Shi Q. W., *Chemistry & Biodiversity*, (2008), **5**, 40-55.
- ⁶ Roque Flores Mariela., "DITERPENOS DEL GÉNERO *EUPATORIUM*"; Tesis de licenciatura, Facultad de Químico Farmacobiología de la UMSNH (2008).
- ⁷ del Río R. E., García-Sánchez E., León Hernández A., Martínez-Pacheco M., López-Ramírez C.B., Raya-González D., Cerda-García-Rojas C. M. y Joseph-Nathan P. *Bol. Soc. Quím. Méx.* Número especial (2009), **3**, 119.
- ⁸ Morrison y Boyd; *Química Orgánica*, Pearson Addison Wesley; quinta edición; (1998), 622-630.
- ⁹ Hart H., Craine E. L., Hart D. J., Hadad C. C., *Química Orgánica*, Mc Graw Hill, Decimosegunda edición; (2007), 210.
- ¹⁰ Solomons T. W. Graham, *Química orgánica*, Limusa Wiley, segunda edición, (2006),405.
- ¹¹ Solomons T. W. Graham, *Química orgánica*, Limusa Wiley, segunda edición, (2006),406-408
- ¹² Morrison y Boyd; *Química Orgánica*, Pearson Addison Wesley; quinta edición ,(1998), 286
- ¹³ Wingrove S. Alan y Caret L. Robert, *Organic Chemistry*, Harper & Row, (1981),274
- ¹⁴ Hart H., Craine E. L., Hart D. J., Hadad C. C., *Química Orgánica*, Mc Graw Hill, Decimosegunda edición; (2007), 216-217
- ¹⁵ Carey A.; *Química Orgánica*, Mc Graw Hill; sexta edición; (2006), 209
- ¹⁶ Hart H., Craine E. L., Hart D. J., Hadad C. C., *Química Orgánica*, Mc Graw Hill, Decimosegunda edición; (2007), 90
- ¹⁷ Carey A.; *Química Orgánica*, Mc Graw Hill; sexta edición; (2006), 206-208
- ¹⁸ Wingrove S. Alan, Caret L. Robert, *Organic Chemistry*, Harper & Row, (1981),279-281
- ¹⁹ EN LÍNEA[<http://www.cem.msu.edu/~reusch/VirtualText/rearrang.htm#top1>] consultada el 15 de Enero del 2010.
- ²⁰ March Jerry, *Advanced Organic Chemistry*, Wiley Interscience, fourth edition, (1992), 1051.
- ²¹ Zodinpuia Pachuau, R. H. Duncan Lyngdoh, *J. Chem. Sci.*, (2004), **116**, (2) , 83–91.
- ²² Bartlett, P. D.; Pöckel, I. *J. Am. Chem. Soc.* (1937), **59**, 820-825.
- ²³ Bartlett, P. D.; Pöckel, I. *J. Am. Chem. Soc.* (1938), **60**, 1585-1590.
- ²⁴ Morrison y Boyd; *Química Orgánica*, Pearson Addison Wesley; quinta edición; 1098 (1998).

- ²⁵ Smith B. William, *J. Org. Chem.* (1999), **64**, 60-64.
- ²⁶ EN LÍNEA[http://equinones.uprrp.edu/A_Cruz_Abst_08.pdf] Consultada el 10 de Marzo del 2010.
- ²⁷ V. K. Ahluwalia, Rakesh Kumar Parashar, *Organic Reaction Mechanisms*, Alpha Science, second edition, (2005), 399. Vista previa en línea: [<http://books.google.com.mx/books?id=w9ITxlaPCQIC&printsec=frontcover#v=onepage&q&f=false>], consultado el 25 de Marzo del 2010.
- ²⁸ P.S. Kalsi, *Organic Reactions and their Mechanisms*, New Age International Publishers, second edition, 499. Vista previa en línea: [http://books.google.com.mx/books?id=Zr7algbSigoC&pg=PA503&dq=rearrangement+of+wagner-meerwein&hl=es&ei=_ZS9zQCcK78gaf2JWzAQ&sa=X&oi=book_result&ct=result&resnum=6&ved=0CEcQ6AEwBTg8#v=onepage&q=rearrangement%20of%20wagner-meerwein&f=false] Consultada el 28 de Marzo del 2010.
- ²⁹ V. K. Ahluwalia, Rakesh Kumar Parashar, *Organic Reactions Mechanisms*, Alpha Science, second edition, 402. Vista previa en línea: [http://books.google.com.mx/books?id=w9ITxlaPCQIC&printsec=frontcover&dq=rearrangement+of+wagner-meerwein&source=gbs_similarbooks_s&cad=1#v=onepage&q=rearrangement%20of%20wagner-meerwein&f=false] Consultada el 29 de Marzo del 2010.
- ³⁰ Román L. U.; Hernández J. D.; del Río R.E.; Bucio M. A; Cerda-García-Rojas C.M. y Joseph-Nathan P.; *J. Org. Chem.* (1991) **56**, 1938 - 11940.
- ³¹ Joseph-Nathan, *Rev. Acad. Colomb. Cienc.* (1997) **21** (80), 321-334.
- ³² Román L. U.; Hernández J. D.; del Río R.E.; Bucio M. A; Cerda-García-Rojas C.M. y Joseph-Nathan P.; *J. Org. Chem.* (1991) **56**, 1938 – 11940
- ³³ Cerda-García-Rojas C.M, del Río R.E., Joseph-Nathan P., Román L.U. y Hernández J.D.; *J. Nat. Prod.* (1994) **57**, (3): 369-375.
- ³⁴ Román L.U., del Río R.E., Hernández J.D., Cerda-García-Rojas C.M., Cervantes D., Castañeda R., & Joseph-Nathan P.; *J. Org. Chem.* (1985) **50**, (21): 3965-3972.
- ³⁵ Peter Sykes, *Mecanismos de reacción en química orgánica*, editorial reverté, quinta edición, (2002), 112, Vista previa en línea, [http://books.google.com.mx/books?id=NqiqQzIWNawC&pg=PA112&lpg=PA112&dq=WAGNER MEERWEIN+DE+ALQUENOS&source=bl&ots=z4e6GOE3CO&sig=GXejdG6WRik1wC_suUq5be_Az78&hl=es&ei=QR8QTOf2OYSdlgfNsrSwCQ&sa=X&oi=book_result&ct=result&resnum=3&ved=0CBoQ6AEwAg#v=onepage&q=WAGNER-MEERWEIN%20DE%20ALQUENOS&f=false] consultada el 15 de mayo del 2010
- ³⁶ EN LÍNEA[http://www.oci.uzh.ch/group.pages/robinson/lectures/OC_V/OC-V.p2.pdf] Consultada el 15 de Marzo del 2010.
- ³⁷ Carey A.; *Química Orgánica*, Mc Graw Hill; sexta edición; (2006), 1101.
- ³⁸ Dewick M. Paul, *Medicinal Natural Products A Biosynthetic Approach*, John Wiley & Sons; (1997), 184.
- ³⁹ Heinrich Michael, Barnes Joanne, Gibbons Simon, M. Williamson Elizabeth, *Fundamentals of Pharmacognosy and Phytoterapy*, Churchill Livingstone, 83. Vista previa en línea: [http://books.google.com.mx/books?id=BEV_6SGtZJIC&printsec=frontcover&dq=rearrangement

+of+wagner-meerwein&source=gbs_similarbooks_s&cad=1#v=onepage&q=wagner-meerwein&f=false] Consultada el 26 de marzo del 2010.

⁴⁰J. de Pascual-T; I.S. Bellido; P. Basabe; I. S. Marcos, L.F. Ruano y J.G. Urones; *Phytochemistry*. (1982) **21** (4); 899-901.

⁴¹J. De Pascual-T; J.G Urones, Marcos I.S; F. Bermejo y P. Basabe; *Phytochemistry*. (1983) **22** (12); 2783-2785.

⁴²David, Juceni P.; Ferrari, Jailton; David, Jorge M.; Guimaraes, Alaise G.; Lima, Fernanda W. de M.; de Souza, Georgia L. S., *Journal of the Brazilian Chemical Society* (2007) ,**18** (8), 1585-1589.

⁴³Uehara, Shizuka; Hoshino, Hiroshi; Muto, Masakazu; Kameyama, Kumi. *Jpn. Kokai Tokkyo Koho*, (2003), 23