



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE
SAN NICOLÁS DE HIDALGO**



FACULTAD DE QUÍMICO FARMACOBIOLOGÍA

**SÍNTESIS DE UN MORELIENO CLORADO
A TRAVÉS DE DOS RUTAS ALTERNAS
PARTIENDO DE RASTEVIONA.**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICO FARMACOBIOLOGO

P R E S E N T A :

DORIS BERENICE SÁNCHEZ PRIETO

ASESORES:

**D.C. JUAN DIEGO HERNÁNDEZ HERNÁNDEZ
+ D.C. LUISA URANIA ROMÁN MARÍN**

MORELIA, MICHOACÁN. FEBRERO DE 2018

EL PRESENTE TRABAJO SE REALIZÓ EN EL LABORATORIO DE QUÍMICA DE PRODUCTOS NATURALES DEL INSTITUTO DE INVESTIGACIONES QUÍMICO-BIOLÓGICAS, EN LA UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO, BAJO LA ASESORÍA DEL D.C. JUAN DIEGO HERNÁNDEZ HERNÁNDEZ Y DE LA D.C. LUISA URANIA ROMÁN MARÍN.

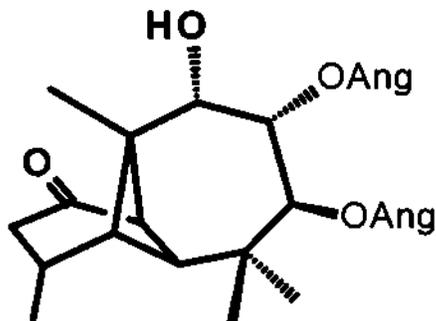
EL TEMA DE ESTA TESIS FORMA PARTE DE LOS PROYECTOS “FITOQUÍMICA DE BURSERACEAE Y ASTERACEAE DE LAS CUENCAS DEL BALSAS Y DEL PAPALOAPAN Y ESTADOS ADYACENTES”, APOYADO POR LA COORDINACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA DE LA U. M. S. N. H. EN 2017

Tabla de contenido

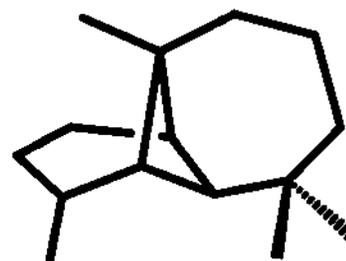
RESUMEN.....	4
ABSTRACT.....	5
INTRODUCCIÓN.....	6
PARTE TEÓRICA.....	29
JUSTIFICACIÓN.....	46
HIPÓTESIS.....	47
OBJETIVOS.....	48
OBJETIVO GENERAL:.....	48
OBJETIVOS ESPECÍFICOS:.....	48
PARTE EXPERIMENTAL.....	49
OBTENCIÓN DE LA LONGIPINANTRIOLONA (73):.....	59
OBTENCIÓN DEL TRIACETATO DE TRIOLONA.....	61
OBTENCION DE LA 2,2'-DICLORO-7,8,9-LONGIPINANTRIOLONA.....	63
OBTENCION DE UN PRODUCTO DE REARREGLO.....	67
CONCLUSIONES.....	78
BIBLIOGRAFÍA.....	79

RESUMEN

Para los fines de este trabajo se llevó a cabo la obtención de rasteviona¹ (f.m. C₂₅H₃₆O₆), en forma de cristales, a partir de los extractos hexánicos de las raíces secas de *Stevia serrata* Cav. La estructura de la rasteviona tiene un esqueleto de longipinano², posee un carbonilo en la posición 1. La rasteviona fue la materia prima para la secuencia de reacciones que se llevarían a cabo, tales como: hidrolisis de los esteres angélicos, acetilación en C-7, C-8 y C-9, cloración en la posición C-2 obteniéndose como resultado la longipinatriolona; el triacetato de la longipinatriolona y la 2,2'-diclorolongipinatriolona respectivamente, y en particular las reacciones que llevarían al reordenamiento del esqueleto de longipinano hacia el anillo de 7 miembros que comprende la formación de un derivado clorado del 4,8,8-trimetil-9-metilen-perhidro1-5-metano naftaleno o morelieno.



1. RASTEVIONA

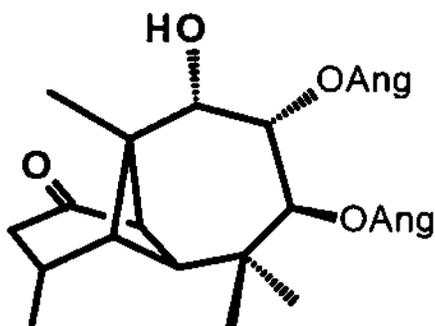


2. ESQUELETO DE LONGIPINANO

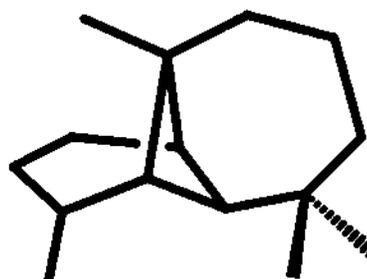
PALABRAS CLAVE: Rasteviona; 2,2'-dicloro-longipinatriolona; trifloruro de boro eterato; morelieno; 4,8,8-trimetil-9-metilen-perhidro1-5-metanaftaleno.

ABSTRACT

For the purposes of this work, we carried out the isolation of rastevione¹ (c.f. C₂₅H₃₆O₆), in the form of crystals, from hexanic extract of the dried roots of *Stevia serrata*. The structure of rastevione has a skeleton of longipinane², it has a carbonyl group in position 1. Rastevione was the prime material for the sequence of reactions that would be carried out, such as: hydrolysis of the angelic esters, later acetylation in C-7, C-8 and C-9 and chlorination at the C-2 position, resulting in the longipinantriolone; the triacetate of longipinantriolone and 2,2'-dichlorolongipinantriolone respectively, and in particular the reactions that would lead to the rearrangement of the longipinane skeleton towards the 7-membered ring, resulting in the formation of a derivative of 4,8,8-trimethyl-9-methylene-perhydro-1-5-methane naphthalene or moreliene.



1.-RASTEVIONE



2. LONGIPINANE SKELETON

1.- INTRODUCCIÓN

Muchos esfuerzos se han realizado a través de los años para el desarrollo de métodos novedosos que establezcan nuevas rutas de síntesis, en las cuales se proponen procedimientos, metodologías o secuencias de reacción a seguir, con la aplicación de nuevos reactivos o modificaciones en las condiciones de alguna reacción en las que se minimicen los inconvenientes que presentan y de esta manera sean óptimos los rendimientos en dichas transformaciones químicas.

La presencia de halógenos y en particular el cloro en metabolitos secundarios provenientes de la flora terrestre es inusual, ya que en las condiciones en las que se desarrollan estas plantas no se encuentran presentes los halógenos en concentraciones que propicien su incorporación en los procesos biosintéticos de cada individuo vegetal, no ocurre lo mismo para los metabolitos secundarios obtenidos de la flora marina en los que en el entorno de su crecimiento se desarrollan en un ambiente en donde la concentración de los halógenos cloro y bromo es tal que éstos juegan un importante papel en el rol biosintético.

Desafortunadamente un alto porcentaje de compuestos orgánicos sintéticos que contienen cloro se han usado a gran escala, han sido valorados y caracterizados como tóxicos, tal es el caso de los pesticidas, los cuales son sustancias que matan o controlan organismos no deseados, mediante el bloqueo de procesos metabólicos vitales. Los insecticidas, fungicidas y herbicidas, constituyen casi totalidad de los pesticidas sintéticos usados en la agricultura, todos ellos cobraron mucha importancia debido a que justificadamente reducen la incidencia de enfermedades transmitidas por insectos, parásitos y roedores, como en los casos de la malaria, fiebre amarilla, dengue, peste bubónica, enfermedad del sueño, etc., también son muy usados para reducir la presencia de insectos molestos como las moscas y mosquitos o para prevenir el ataque de

plagas a cultivos de interés o en su defecto, evitar daños a los alimentos almacenados.

El uso excesivo o inapropiado de los pesticidas ha conducido a la contaminación del medio ambiente, ocasionando daños severos para la salud.

Los pesticidas han sido clasificados; a) según su actividad; b) su toxicidad o (c) su estructura. En la **Tabla I** se muestra el tipo de pesticida relacionado con el organismo contra el que actúa.

TIPO DE PESTICIDA	ORGANISMO CONTRA LOS QUE ACTUA
ACARICIDA	ÁCAROS
ALGICIDA	ALGAS
AVICIDA	AVES
BACTERICIDA	BACTERIAS
FUNGICIDA	HONGOS
HERBICIDA	PLANTAS
INSECTICIDA	INSECTOS
LARVICIDA	LARVAS DE INSECTOS
MOLUSCOCIDA	CARACOLES
NEMATICIDA	GUSANOS
PISTICIDA	PECES
RODENTICIDA	ROEDORES

Los llamados pesticidas órgano clorados son estructuras orgánicas que por lo general son cíclicas y está prohibido su uso en la mayoría de los países, debido a que no se degradan, ocasionando su acumulación en los seres vivos, dando como resultado su potencialidad cancerígena.

Estos se dividen en 4 grupos en función de su estructura molecular:

1.-) El Grupo del DDT y análogos: Metoxicloro; DDD; Pertano.

El DDT es probablemente el producto químico mejor conocido y el más notable del Siglo XX, reconocido como el insecticida más útil que jamás se haya desarrollado, usado eficazmente para el control de la malaria, fiebre amarilla y muchas enfermedades transmitidas por una gran variedad de insectos.

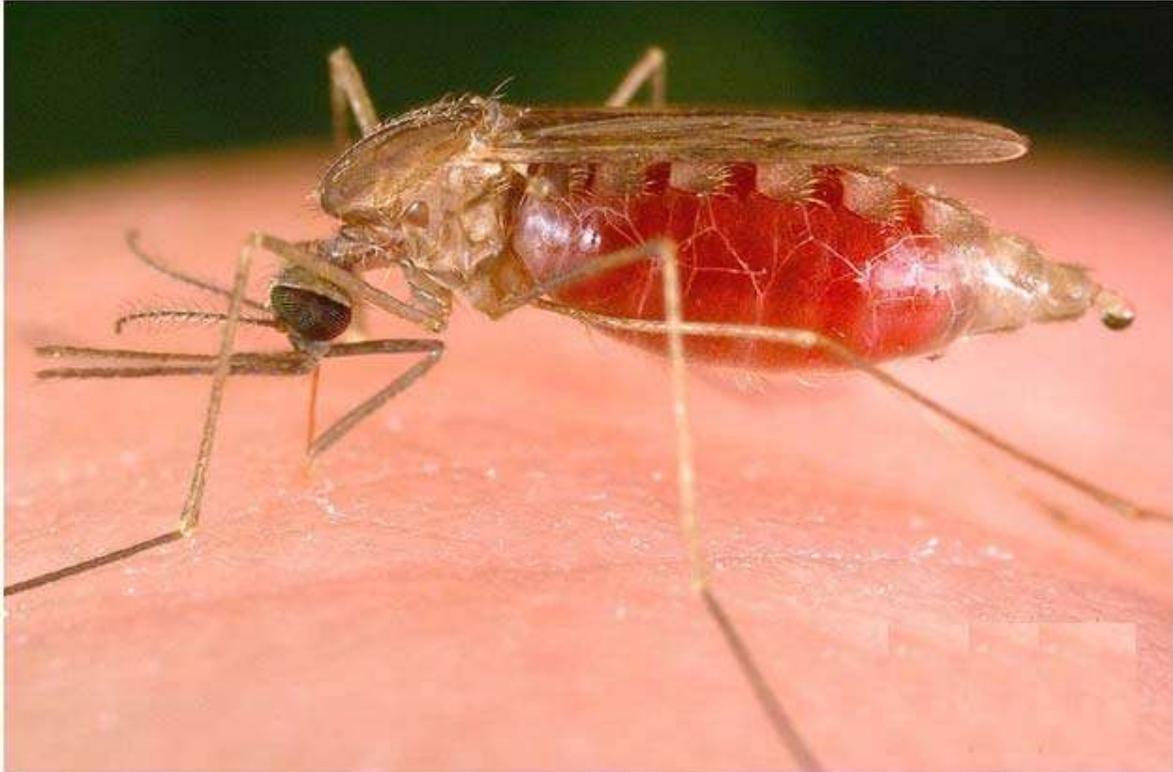
Las medidas de control de estos insectos, en particular los mosquitos son a base de insecticidas; por ejemplo, la fumigación de interiores y los mosquiteros tratados con insecticidas, son la principal forma de matar a los mosquitos que pican dentro de nuestras habitaciones, sin embargo, después de la exposición prolongada a un insecticida, los mosquitos, al igual que otros insectos, pueden desarrollar resistencia, que se traduce en la capacidad para sobrevivir al contacto con estos productos.

La malaria o paludismo es una enfermedad infecciosa o parasitaria que se transmite de un humano a otro por la picadura de mosquitos, específicamente del tipo anopheles^[1-3]; esta enfermedad al año cobra la vida de más de 600,000 personas en todo el mundo.

El mosquito Anópheles al picar al humano le inocula un parásito, que puede ser una de las cinco especies de parásitos de la enfermedad de la malaria, de los cuales *Plasmodium falciparum* es el más común en África. En los humanos, los parásitos (llamados esporozoítos) migran hacia el hígado, donde maduran y se convierten en merozoítos, los cuales penetran el torrente sanguíneo e infectan los glóbulos rojos. Los parásitos se multiplican dentro de estos glóbulos que, al cabo de 48 a 72 horas, se rompen e infectan aún más glóbulos rojos^[4].

Los primeros síntomas se presentan por lo general de 10 días a 4 semanas después de la infección, aunque en ocasiones se pueden

presentar en un lapso de 8 días hasta 1 año después. Los síntomas de la enfermedad ocurren en ciclos de 48 a 72 horas. La transmisión de la malaria también puede ser de forma congénita (de la madre al feto durante el embarazo) y por transfusiones sanguíneas.



ANOPHELES

La mayoría de los síntomas se originan por la liberación masiva de merozoítos en el torrente sanguíneo, por la anemia causada por la destrucción de glóbulos rojos y por los problemas debidos a las grandes cantidades de hemoglobina libre que invaden el torrente sanguíneo luego de la ruptura de los glóbulos rojos; sus principales síntomas son: escalofríos, fiebre y sudoración secuenciales, dolor de cabeza, náuseas, vómitos, dolor muscular, anemia, heces sanguinolentas, ictericia, convulsiones, entre otras.



Aedes aegypti

El virus zika es transmitido por la picadura del mosquito *Aedes aegypti* [5], el mismo que también transmite el dengue o la fiebre chikungunya.

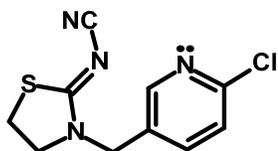
El dengue es una enfermedad causada por cualquiera de cuatro virus estrechamente relacionados (DEN-1, DEN-2, DEN-3 o DEN-4). Los virus son transmitidos a los humanos por la picadura de un mosquito infectado. El mosquito *Aedes aegypti* es el transmisor o vector de los virus de dengue más importante en el hemisferio occidental.

El dengue, especialmente el dengue hemorrágico, que es su forma más grave, es un problema que afecta gran parte del territorio mexicano, debido principalmente a factores geográficos y climáticos ya que los agentes causales se encuentran presentes en el medio ambiente.

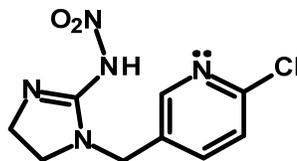
En México esta enfermedad suele incrementarse por un desastre natural y/o en temporadas de lluvias, más aún después de un huracán o norte. Hay múltiples factores que propician la reproducción del mosquito *Aedes aegypti* o el *Aedes albopictus* (más raro), los cuales son los responsables de ser los transmisores de dichas enfermedades. Estos brotes son cíclicos, que con el cambio climático se prevé un incremento en los indicadores de mortalidad asociado con el aumento del calor y las precipitaciones torrenciales, ya que los mosquitos portadores del virus podrán ampliar su ciclo vital y su reproducción la llevarán a cabo con mayor facilidad. El costo que esto implica repercute en muchos sectores, como el sector salud tanto por atención a pacientes como por campañas de emergencia; el sector turístico, afectando, a la economía familiar de los lugareños. El control del dengue, o fiebre del dengue hemorrágico (FDH), sólo se ha limitado al uso de insecticidas sintéticos y biológicos al no existir aun vacuna disponible.

En cualquier caso, el resultado final es que ya sea en el combate contra insectos causantes de severas enfermedades en humanos o en vegetales, sobre todo esto último, ha ocasionado que los agricultores se vean obligados a aplicar aún más y más productos químicos tóxicos en sus cultivos sólo para mantener el ritmo de la creciente resistencia química, resaltando los problemas graves que enfrentamos al seguir aumentando el uso de pesticidas en los cultivos transgénicos. El uso de insecticidas sistémicos, que cubren al maíz y la soya transgénica que está incorporado dentro de toda la planta, se ha disparado en los últimos diez años. Las empresas químicas que históricamente han producido DDT, PCBs, hormona de crecimiento bovino, agente naranja, productos de glifosato y más recientemente neonicotinoides (1 a 8), se han insertado directamente en la producción de cultivos de semillas del suministro alimentario del mundo. Además los problemas emergentes sobre la resistencia a los insectos como el uso de los neonicotinoides (neonics) que son neurotoxinas extremadamente poderosas que contaminan alimentos; agua, y que atacan de forma indeseable a los polinizadores y la vida silvestre, como las abejas [7,8], las mariposas y los pájaros.

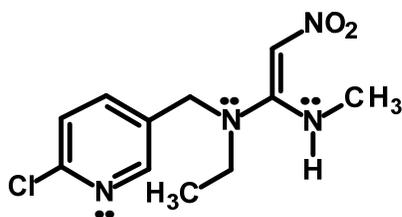
NEONICOTINOIDES



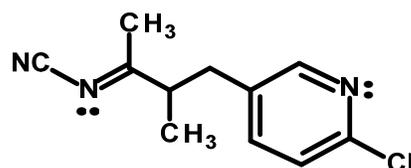
1.- Thiacloprid



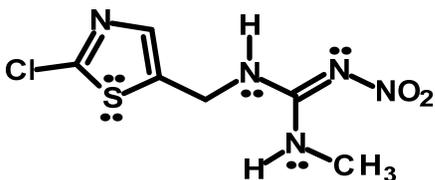
2.- Imidacloprid



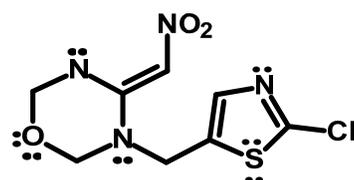
3.- Nitenpyram



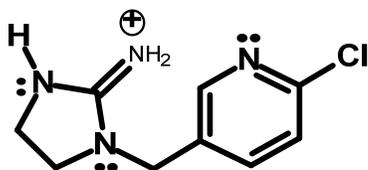
4.- Acetamiprid



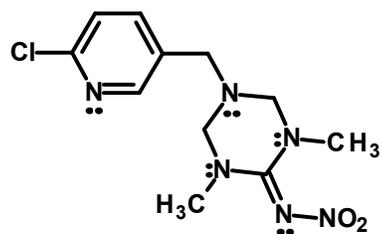
5.- Clotianidina



6.- Thiamethoxam

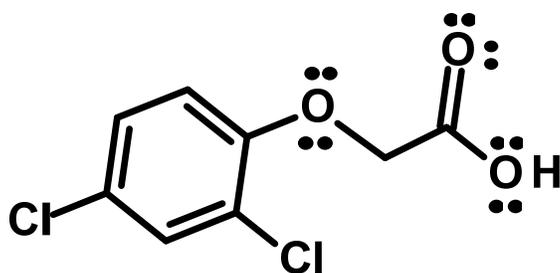


7.- Desnitro-Imidacloprid

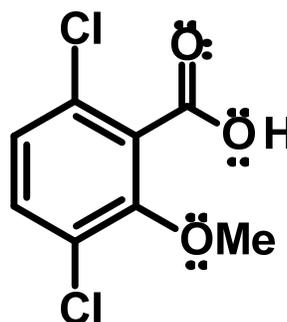


8.- NE-I

Es cada vez mayor la cantidad de herbicidas más tóxicos como 2,4 D (9) y Dicamba (10) que son fumigados junto con grandes volúmenes de glifosato para combatir las malas hierbas.



9.- 2,4 D



10.- Dicamba

El 2,4D (9) fue el primer herbicida "fenoxi" para controlar malezas de hoja ancha selectivas en granos pequeños, maíz y sorgo de grano, pero el cultivo debe tener al menos cuatro hojas para evitar la fitotoxicidad del herbicida. La Fitotoxicidad^[9,10] en el cultivo puede tener lugar con la aplicación de las dosis requeridas para controlar malezas de alto porte, anuales y perennes. Generalmente la actividad a través del suelo es menor que la que se logra mediante la aplicación foliar. El 2,4-D (9) se usa en pre-emergencia, después de la siembra y antes de la emergencia del maíz, en suelos de alto contenido de materia orgánica.

En el control sintético de larga trayectoria, desde comienzos del siglo pasado se usaron los insecticidas como remedio infalible, pero por su uso indiscriminado ha propiciado resistencia, además del daño ecológico generado, por lo que ha motivado la investigación científica hacia otras alternativas como es el control biológico, cuyo concepto fue definido por la FAO en 1967 como "un sistema de manejo de plagas que, en el contexto del medio ambiente asociado y las dinámicas de poblaciones de las especies plaga, utiliza todas las técnicas y métodos adecuados de la manera más compatible posible.

Se pueden distinguir tres tipos: el control biológico clásico comprende frecuentemente la importación y colonización de parasitoides o predadores. Las liberaciones se realizan con un pequeño número de insectos (inoculativas) como una medida de control a largo plazo. Un segundo tipo es el control biológico natural referido a la conservación de poblaciones de enemigos que ocurren naturalmente por medio de la manipulación favorable de su ambiente cultural. El tercer tipo es el control biológico.

Así por ejemplo no hay producto químico que controle la *diatraea saccharalis fabr.* ya que el uso de productos químicos (insecticidas) sólo puede hacerse efectivo en los primeros estadios larvales, es decir, antes de que la larva penetre los tallos, debido al hábito barrenador de esta larva que la protege de los controles químicos.

Con el uso de pesticidas las plagas se vuelven resistentes a ellos, mientras que con los controladores naturales sucede lo contrario. La *diatraea spp* es combatida mediante la liberación de dos parasitoides: la mosca amazónica, insecto que parasita las larvas y una avispa que ataca los huevos de la plaga. Los controladores ayudan a mantener los niveles bajos de infestación. Tanto secretaría como ICA esperan reducir la incidencia entre el 60% y el 70%. El control biológico ha evolucionado lentamente y existen productos comerciales que han demostrado buenos resultados como el uso biocida del *Bacillus thuringiensis* H-14 (BTI) ^[11], las hormonas miméticas y los peces larvivoros *Oreochromus spilurus*. Estos presentan la ventaja sobre los químicos de no ser tóxicos y tener una alta especificidad en el tratamiento de insectos. Sin embargo, presentan el enorme inconveniente de su producción, al ser necesario contar con tecnologías avanzadas.

Las plantas son una rica fuente de metabolitos bioactivos que poseen propiedades prometedoras en el tratamiento contra patógenos del medio ambiente, cuyos extractos vegetales obtenidos de la flora mexicana han sido evaluados como biocidas para el control del vector transmisor de dengue *Aedes aegypti*. Se ha estudiado un gran número de especies vegetales para esta finalidad como la *Argemone mexicana* la cual pertenece al género *Argemone* (Papaveraceae), conocida como Amapola montés, cardo, cardo santo y la *Tagetes lucida*, que es una Asteraceae^[13,14], conocida popularmente como hierba anís, hierba de nubes, hierba de San Juan, hierba santa, periquillo, Santa María. Las Asteraceae son una familia cosmopolita distribuída en casi todas las latitudes y en altitudes que van desde el

nivel del mar hasta las zonas alpinas, por lo que es posible encontrarlas en casi todos los tipos de vegetación y climas. Morfológicamente las hay desde diminutas plantas herbáceas; hierbas leñosas sólo en la base (*Conyza canadensis* (L.) Cronquist), herbáceas como el *Senecio sanguisorbae*; trepadoras (*Mikania cordifolia* (L. f.) Willd.), arbustos (*Baccharis genistelloides*), epífitas (*Nelsonianthus tapianus* (B.L. Turner) C. Jeffrey), suculentas (*Senecio praecox* (Cav.) DC.) y hasta arbóreas como la *Vernonia arborea* Buch.-Ham.



Tagetes lucida



Argemone mexicana



Conyza canadensis (L.) Cronquist)



Mikania cordifolia (L. f.) Willd.),



Vernonia arborea Buch.-Ham.



Baccharis genistelloides



Senecio sanguisorbae

Su diversidad puede atribuirse a sus excelentes mecanismos de dispersión y a su capacidad para adaptarse a diferentes condiciones ecológicas, muchas veces viéndose favorecidas por la perturbación, por lo que no es raro verlas dominando los medios arvenses, ruderales o en ocasiones compitiendo con los cultivos como malezas, como ocurre con la *Stevia serrata* Cav., la cual forma parte de grupos de plantas vasculares de las más abundantes, ya que a nivel mundial existen alrededor de 1535 géneros y de 23000 a 32000 especies [15-34].



Para México, se reportan alrededor de 362 géneros y 3351 especies. Ejemplos de algunas especies que habitan en México son la *Stevia ovata* Willd., cuya Etimología es derivada del vocablo latino *ovatus*, *-a*, *-um* = aovado; por la forma aovada de las hojas la cual es una herbácea de erecta a sufruticosa que mide entre 0.60-1.10 m de altura, de tallo cilíndrico o casi cilíndrico, hojoso hasta la inflorescencia, la corteza del tallo se encuentra teñida de púrpura, crispo-pubescente, sus foliolos son opuestos, a excepción de las más cercanas a la inflorescencia; la lámina, de 2-6 cm de largo y 1.5-2.5

cm de ancho, ovado-rómbica, subaguda a acuminada en el ápice, sésil o angostada hacia la base y provista de un corto pecíolo, margen crenado-aserrado en la mitad superior, tanto la haz como el envés pubescentes, inflorescencias multifloras, dispuestas en panículas o corimbos convexos; capítulos sésiles o cortamente pedunculados, de 6-9 mm de alto; involucre formado por cinco filarías angosto-oblongas cortamente acusadas, normalmente de color verde pálido, a veces teñido de púrpura, incurvadas, pubérulas en el dorso, indumento formado por pelos no glandulosos que alternan con glándulas sésiles dispersas; cinco flósculos por capítulo, corolas generalmente blancas, a veces rosadas o purpurinas, Aquenios provistos de un papo escamoso y con 1-4 aristas.



***Stevia serrata* Cav.**



***Stevia ovata* Willd.**



Stevia subpubesecens* var. *intermedia



***Stevia connata* Lag.**



Stevia salicifolia H.B.K.



Stevia eupatoria (Spreng.) Willd.



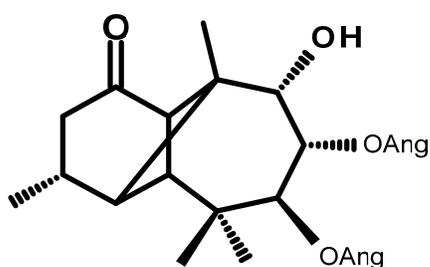
Stevia latifolia Benth.

Otros ejemplos son la *Stevia subpubescens* var. *intermedia*; la *Stevia connata* Lag.; la *Stevia salicifolia* H.B.K.; la *Stevia eupatoria* (Spreng.) Willd. ; *Stevia latifolia* Benth., entre las más conocidas y estudiadas en nuestro grupo de trabajo, aunque existen otras muchas que crecen en bosques de pino y encino y en terrenos ruderales en los Estados de Puebla, Guerrero y Oaxaca y que enlistamos algunos ejemplos adicionales de ellas, como :

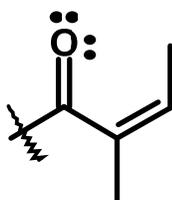
<i>Stevia caltepecana</i> B.L. Turner,	Pue.
<i>Stevia calzadana</i> B.L. Turner	Gro., Oax.
<i>Stevia crassifolia</i> Soejima & Yahara,	Oax.
<i>Stevia cruzii</i> Grashoff,	Oax., Pue.
<i>Stevia decumbens</i> (B.L. Rob. & Greenm.) Greene,	Oax., Pue.
<i>Stevia ecatepecana</i> Soejima, Yahara & K. Watanabe,	Oax.
<i>Stevia ephemera</i> Grashoff ,	Gro., Oax.
<i>Stevia oaxacana</i> Soejima & Yahara	Oax.
<i>Stevia liebmanni</i> Sch. Bip. ex Klatt,	Oax.
<i>Stevia perfoliata</i> Cronquist,	Gro., Oax.
<i>Stevia quiexobra</i> B.L. Turner,	Oax.
<i>Stevia revoluta</i> B.L. Rob.	Oax., Pue.

Por otro lado la, Química de los Productos Naturales, conduce a establecer una apertura metodológica para describir la reactividad de una gran diversidad de estructuras obtenidas de esta fuente para que puedan en su momento ser objeto de estudios desde el punto de vista químico, quimiotaxonómico o biológico, entre otros muchos, así por ejemplo tomando en consideración las propiedades biológicas de los metabolitos aislados, los cuales podrán ser en mayor o menor grado relevantes ya sea con los metabolitos naturales en sí mismos ó en su defecto derivados no naturales de ellos, con todo esto se hace necesario caracterizar, describir y comprobar plenamente las complejidades estructurales que provienen de las plantas y con ello los estudios fitoquímicos llevados a cabo describirán los alcances de la transformación que se deriven de ellos, en donde con el uso de las técnicas de transformación aplicando los reactivos y las condiciones de reacción necesarias, se proporcionará la reactividad que pueda presentar cada metabolito natural y de aquí el punto de partida para incorporar los diferentes estudios a que haya lugar, ya que se han llevado a cabo estudios de los metabolitos responsables de una gran

variedad de efectos biológicos que han sido ampliamente reconocidos, en los cuales, los estudios pueden enfocarse a que los grupos funcionales que se encuentran presentes en ellos, los cuales puedan jugar un papel importante en el comportamiento tanto químico como biológico, en particular el estudio del comportamiento químico del metabolito obtenido del extracto hexánico de las raíces de la *Stevia serrata* Cav. [35-37] y *Stevia rhombifolia* (Román et al. 1981), aislado con altos rendimientos de las raíces de la *Stevia serrata* en el que vale la pena mencionar que la estructura y la estereoquímica de la rasteviona (**11**) y los derivados con esqueleto de longipinanutriolona, se han revisado mediante su análisis de difracción de rayos X, además de sus transformaciones químicas, las cuales han tenido varias facetas que mencionar, en las que se ha reconocido la reactividad de los grupos funcionales que presenta la Rasteviona (**11**). [38]

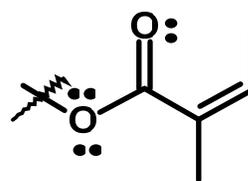


11.- Rasteviona



Ang

Angeliolo



OAng

Angelato

Ejemplo de estos ésteres naturales son los Angelatos, que en la Rasteviona (**11**) se encuentran colocados en el esqueleto de longipinano (**16**), en las posiciones C-7 y C-8.

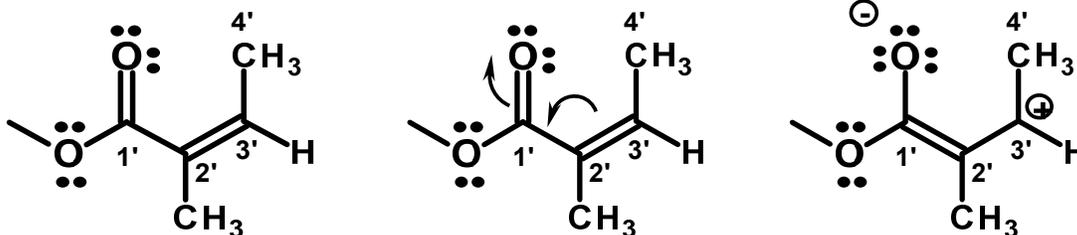


Figura 1

Estos ésteres, mediante hidrólisis, se han sometido a condiciones básicas no estándar ya que son α,β -insaturados y el carbono del grupo carbonilo del éster, presenta menos polaridad de carga positiva debido a que el par de electrones no compartido del oxígeno del grupo alcoxi del éster se promueve hacia el enlace C-1' - C-2' del éster angélico, con el consecuente desplazamiento del par de electrones del orbital molecular π del doble enlace del grupo carbonilo de dicho éster hacia el oxígeno como se encuentra representado en las Figuras 1 y 2.

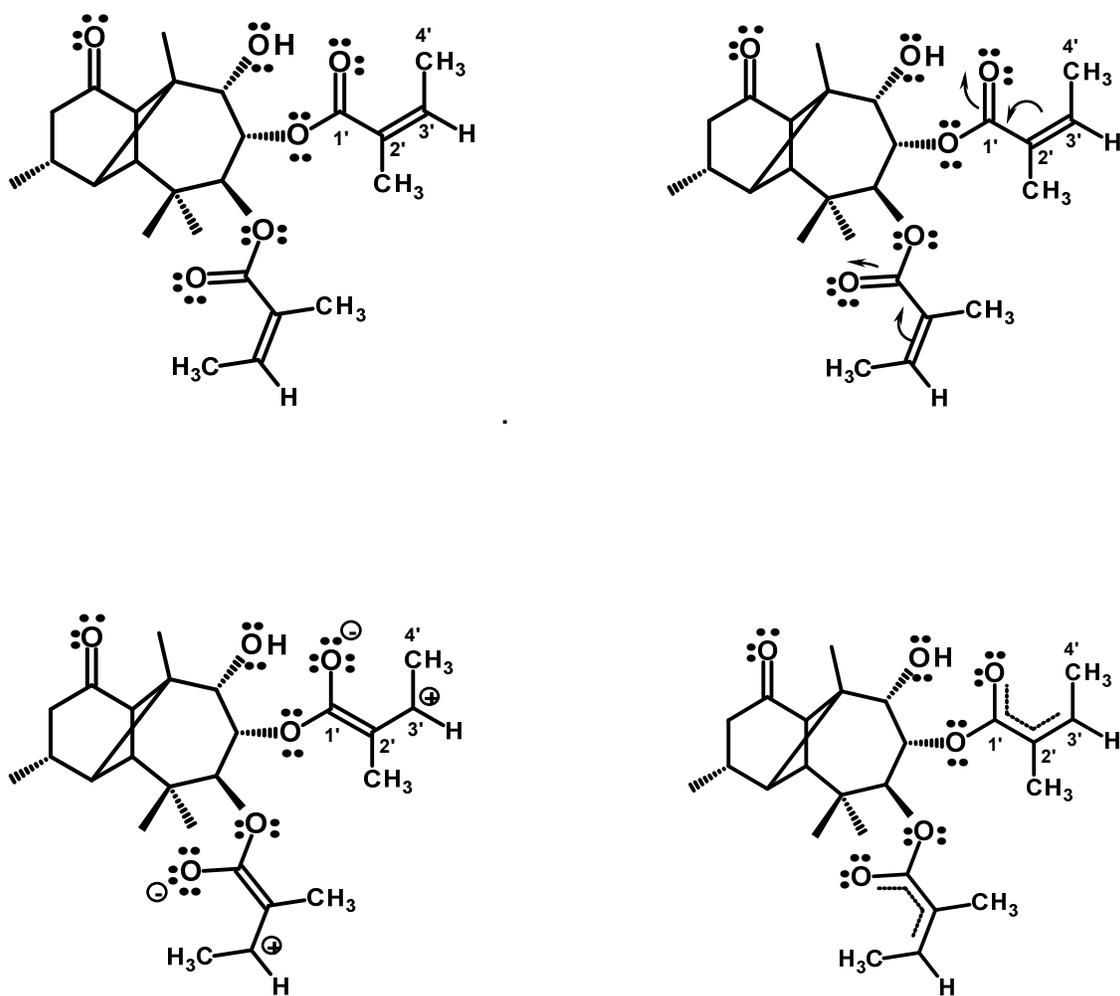
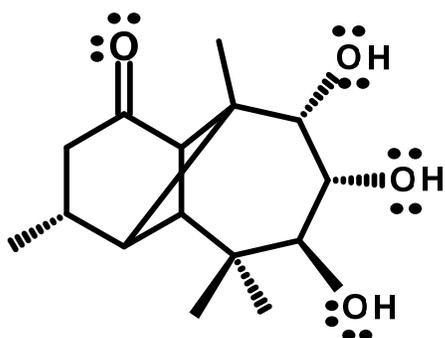
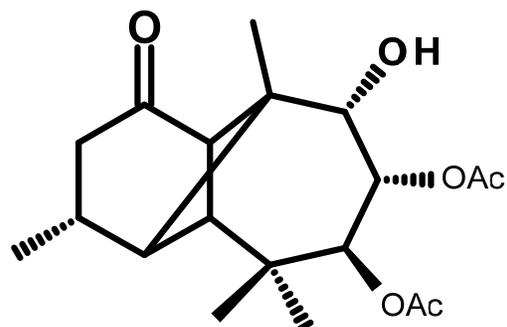


Figura 2

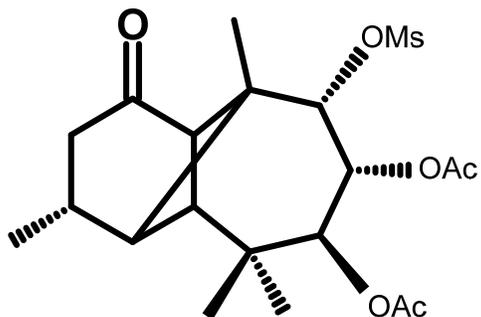
El producto de la hidrólisis básica es la longipinatriolona (**12**), a partir de la cual han sido obtenidos sus respectivos productos de acetilación selectiva (**13**); acetilación total; mesilación (**14**), cloración (**15**), entre otros muchos derivados esterificados e hidrolizados. [39-50]



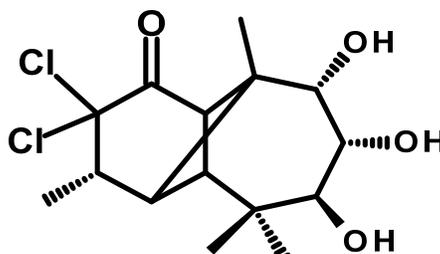
12.- LONGIPINAN-7,8,9-TRIOL-1-ONA



13.- 7,8-DIACETOXI-LONGIPINAN-9-OL-1-ONA

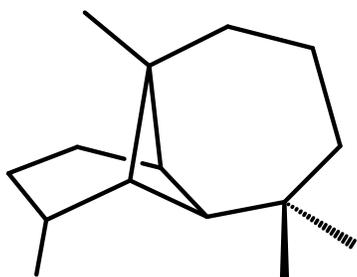


14.- 7,8-DIACETOXI-9-MESILOXI-LONGIPINAN-1-ONA

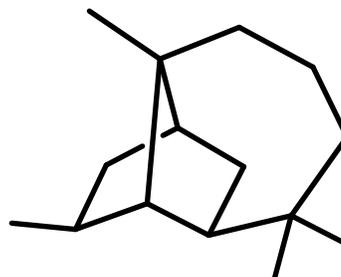


15.- 2,2'-DICLORO-7,8,9-LONGIPINAN-TRIOL-1-ONA

Asimismo, se han llevado a cabo una serie de reacciones encaminadas a la modificación del esqueleto de Longipinano (**16**)^[51], consistente en un sesquiterpeno tricíclico con un sistema anular de anillo de cuatro miembros;

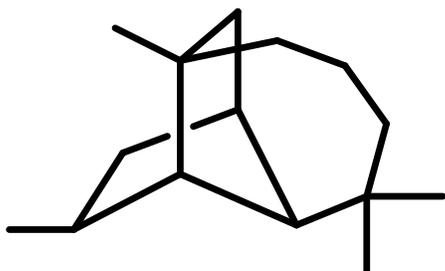


16.- ESQUELETO DE LONGIPINANO

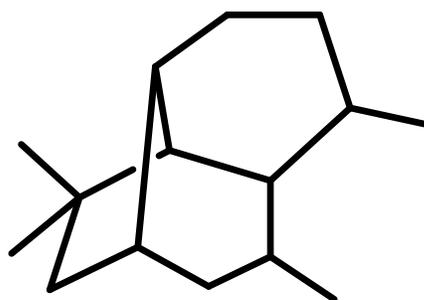


17.- ESQUELETO DE JIQUILPANO

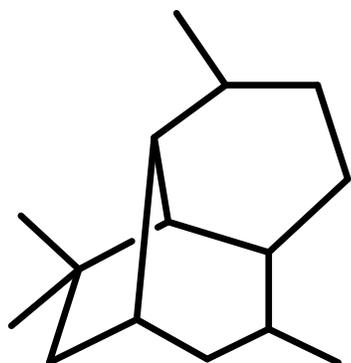
anillo de seis miembros y anillo de siete miembros, que han dado lugar a sistemas estructurales novedosos (**17-21**), todos ellos obtenidos a partir del producto natural Rasteviona (**11**) mediante tratamientos ácidos o básicos. Los experimentos originales se llevaron a cabo con TsOH en el que el rearrreglo original dio el producto de rearrreglo y adicionalmente la isomerización de los ésteres angélicos a tíglicos con un rendimiento global del 93%.



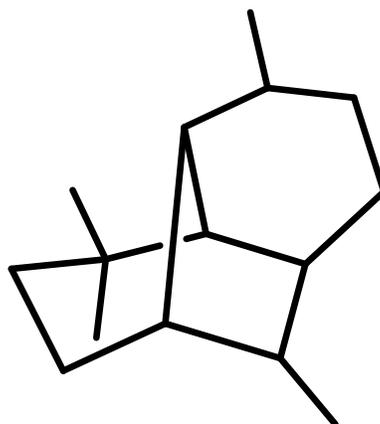
18.- ESQUELETO DE URUAPANO



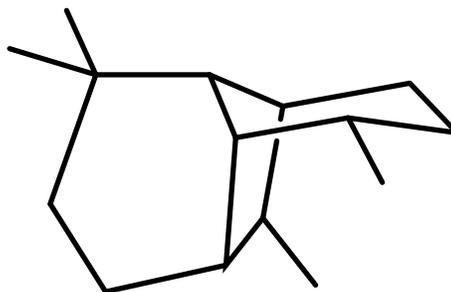
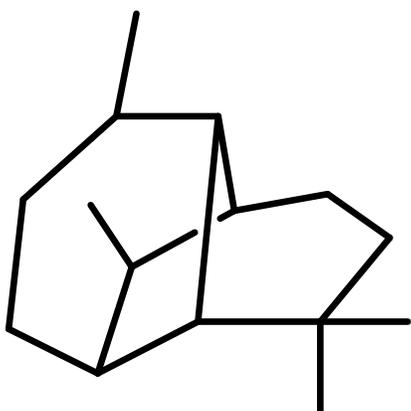
19.- ESQUELETO DE ARTEAGANO



20.- ESQUELETO DE QUIROGANO

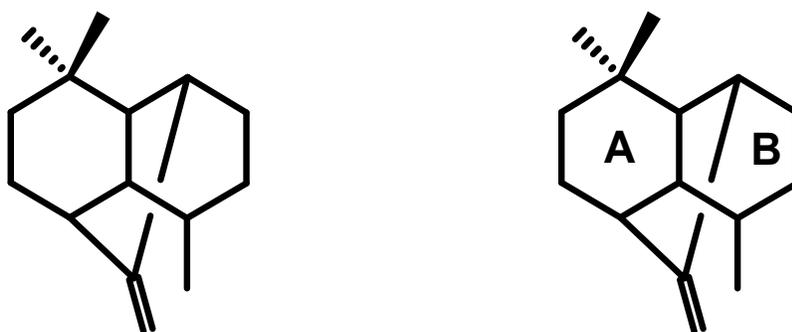


21.- ESQUELETO DE MORELIENO



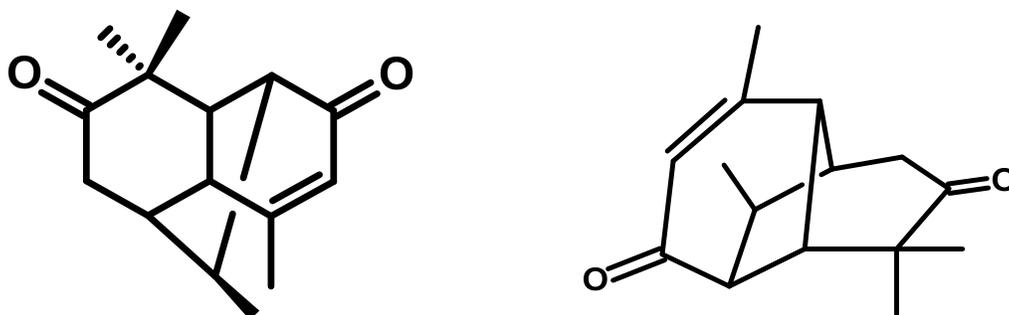
22 y 23.- ESQUELETOS DE MORELIENO

Se realizaron estudios conformacionales, en particular con una serie de derivados, cuya estructura es nombrada como 4,8,8-trimetil-9-metilen-perhidro1-5 -metano naftaleno (**24**), conocida como morelieno cuyas conformaciones fueron determinadas a partir de las constantes de acoplamiento obtenidas de los respectivos espectros de RMN-¹H en combinación con cálculos de modelado molecular, en los que la conformación del anillo A esencialmente se mantiene la misma en toda la serie de derivados, mientras que la conformación of anillo B es sensible a los cambios estereoquímicos de las posiciones C-4 o en C-9.



24

Adicionalmente también se ha reportado* el análisis por difracción de rayos-X de la dicetona (**25**) llamada Endiona.



25.- ESTRUCTURA DE LA ENDIONA

El presente trabajo realizado en esta tesis es una continuación a los estudios que se han llevado a cabo relativos a la fitoquímica del género stevia, a la reactividad de los grupos funcionales del metabolito mayoritario aislado de las raíces de la *Stevia serrata* Cav. como reacciones de hidrólisis, esterificación y cloración respectivos ^[74-77] y en particular los estudios que comprenden las reacciones de tratamientos ácidos conducentes a la modificación del esqueleto de longipinano y en particular la que comprende la formación del producto de rearreglo hacia el ciclo de siete miembros del sistema tricíclico del 4,8,8-trimetil-9-metilen-perhidro1-5-metano naftaleno o morelieno (**24**).

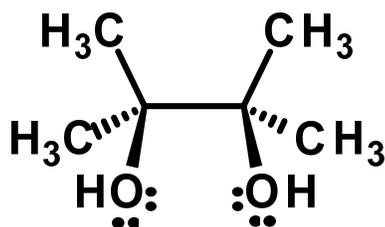
*

- “2,2'-Dicloro-Longipinatriolona obtenida a partir de Rasteviona y sus derivados esterificados”. Doris Berenice Sánchez-Prieto y Luisa Urania Román-Marín. 3er. Verano Nicolaíta de Investigación, 23 de junio al 15 de agosto del 2014, Morelia, Mich.
- “2,2'-Dicloro,-7,8-Acetónido derivado obtenido mediante dos etapas a partir del sesquiterpeno tricíclico Rasteviona aislada del extracto hexánico de la raíz de *Stevia serrata* Cav.”. Juan Diego Hernández-Hernández, Doris Berenice Sánchez-Prieto, Cintya Guadalupe Pérez-Tirado, Bryam Alexiz Esquivel-Ruiz y Luisa Urania Román-Marín. II Congreso Internacional y IV Nacional de Químicofarmacobiología. 28 de Noviembre al 1° de Diciembre del 2016, Morelia, Mich.
- “Caracterización de un producto de Rearreglo del 7,8-Diacetato del 2,2'-Dicloro de la Longipinatriolona con eterato de trifluoruro de Boro”. 12° Congreso Estatal de Ciencia y Tecnología e Innovación y 6° Encuentro de jóvenes Investigadores del Estado de Michoacán. Morelia, Michoacán, Centro de Convenciones y Exposiciones de Morelia, 5 y 6 de Octubre del 2017.

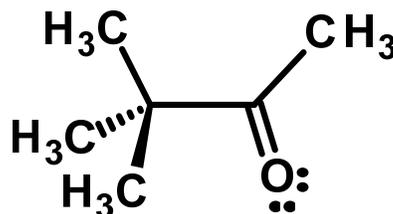
2.- PARTE TEÓRICA

En el período clásico de la Química Orgánica, el concepto guía general en el que se basó la determinación de la estructura de los compuestos orgánicos fue el Principio de Laurent que establecía el "Mínimo cambio estructural". Laurent formuló este principio de "mínimo cambio estructural", en el que las moléculas tienden a sufrir el menor número de cambios posibles en su estructura durante el transcurso de la reacción para llegar al producto químico de ésta. Como ejemplos, se tiene que en una reacción de sustitución, el nuevo sustituyente ocupa la posición que deja liberada el grupo que se va; en las eliminaciones, el esqueleto del hidrocarburo permanece sin cambios. El principio de Laurent se convirtió en una guía general de orientación para la determinación de las transformaciones estructurales de los compuestos orgánicos.

Sin embargo, solo unos años después de que se enunciara el principio, se descubrió una reacción que finalmente hizo añicos su infalibilidad. En 1860, Fittig publicó un documento sobre la eliminación del agua de un alcohol C₆, conocido hoy como pinacol (**26**), que había obtenido al calentar acetona con sodio.



26.- ESQUELETO DEL PINACOL



27.- ESQUELETO DE LA PINACOLONA

Fittig reconoció el producto como una cetona C-6 a la que llamó "pinacolina" actualmente pinacolona (**27**), pero no propuso estructuras para el alcohol inicial o para el producto. La estructura del pinacol fue inferida unos años más tarde por Linnemann de su oxidación a acetona, mientras que el de pinacolina finalmente se estableció como la metil terbutil cetona en 1874 por Butlerov, una confirmación adicional vino de la oxidación al ácido trimetilpirúvico y trimetilacético. Este principio perdió su validez en 1860 con el experimento que condujo al descubrimiento y esclarecimiento de la reorganización o rearrreglo del pinacol, una reacción que marcó el inicio del desarrollo de un área fascinante de investigación. Tomaron muchas décadas los estudios para dilucidar el mecanismo de los reordenamientos moleculares. La idea resultante revolucionó la teoría de la Química Orgánica. Este trabajo involucró a los mejores químicos de los siglos XIX y XX, entre los que se destacan principalmente dos nombres: Georg Wagner, quien fue el que mostró lo que sucede en estos extraños cambios de los agrupamientos entre los átomos y Hans Meerwein, quien fue el que demostró cómo sucede. Hay toda una historia que cuenta el largo y arduo viaje hacia la comprensión del mecanismo de los reordenamientos moleculares.

El rearrreglo del pinacol es una reacción que conduce a la formación de la pinacolona a partir del pinacol ó 2,3-dimetil-2,3-butanodiol, el cual es un glicol que claramente implica un cambio de posición de un grupo metilo del esqueleto de la molécula original, como queda de manifiesto al comparar las estructuras **26** y **27** de tal manera que así fue como quedó establecido ineludiblemente el cambio básico ocurrido en el esqueleto hidrocarbonado durante la pérdida de agua. Este "reordenamiento del pinacol" se convirtió en el primer ejemplo definitivo en la descripción de una reacción en la que se viola el principio de Laurent.

El primer intento de describir el mecanismo del reordenamiento del pinacol fue llevado a cabo por Erlenmeyer en 1881, para el desglose de los eventos durante la reacción de deshidratación catalizada por un ácido en el ácido glicérico (**28**), en el cual proponía que esta reacción ocurre con la formación de un intermediario ácido enol (**29**), con la pérdida de agua seguido de la migración de hidrógeno desde el oxígeno al carbono para producir el ceto ácido (**30**), el cual es mostrado en la **Figura 3**.

Posteriormente en 1899 Wagner y Brickner propusieron un reagrupamiento o rearrreglo al tratar α -pineno (**34**) con ácido clorhídrico como se aprecia en la **Figura 5**, ésta propuesta de (**35**) nuevamente contradecía la teoría clásica basada en la invarianza del esqueleto de una molécula.

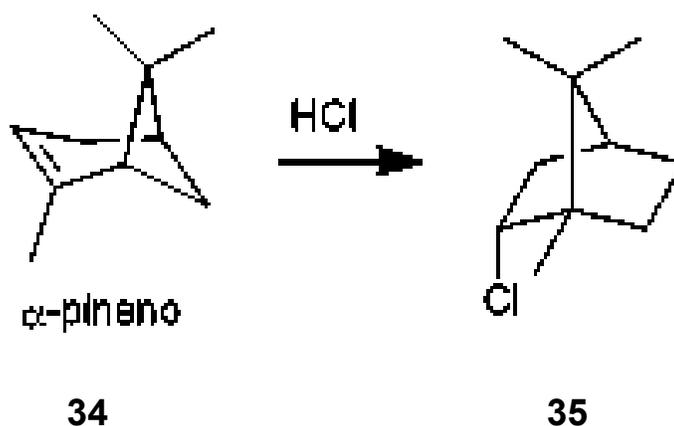


Figura 5

En 1922, H. Meerwein estableció un mecanismo catiónico que explicaba la reacción. La explicación de dicho mecanismo es que éste transcurre mediante la formación de un carbocatión, el cual se forma por la adición de un protón del medio ácido al doble enlace, en el que los átomos de carbono se encuentran enlazados con diferente número de átomos de hidrógeno, por lo que el evento de adición de un protón al doble enlace ocasiona que de las dos posibilidades de ocurrir ésta, den por un lado el ión carbonio terciario (**36**) y el ión carbonio secundario (**37**), mostrados en la **Figura 6**; ésta adición transcurrió aplicando la regla de Markownikoff, la cual establece que una adición de un ácido prótico a un doble enlace no simétrico en el que cada carbono que sostiene el doble enlace contiene diferente número de átomos de hidrógeno enlazados a él, la adición del protón a cualesquiera de los átomos de carbono del doble enlace transcurre principalmente hacia el átomo de carbono que contiene mayor número

de hidrógenos unidos a él, esto se debe fundamentalmente a la estabilidad relativa entre los dos carbocationes generados, es mayor la del carbocatión terciario (**36**) que la del carbocatión secundario (**37**),

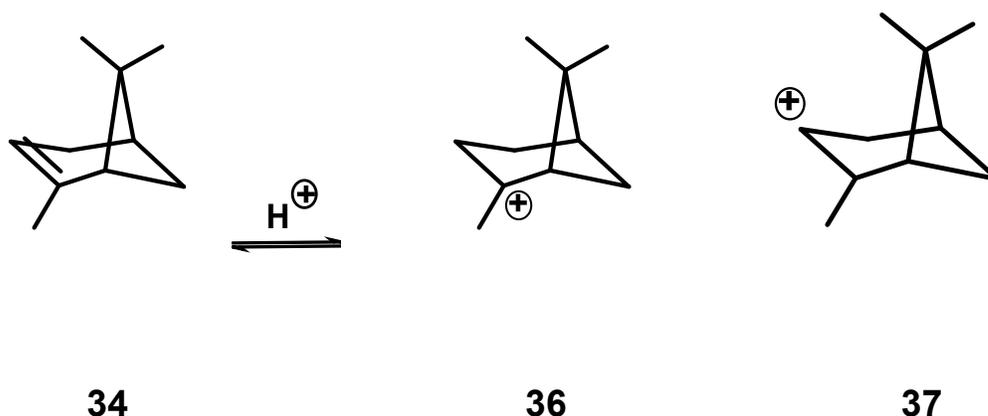


Figura 6

por lo que el carbocatión terciario (**36**), es el intermediario propuesto el cual es energéticamente favorecido y es el que sufre la transposición vecinal [1,2], llamada así porque el evento ocurre con la migración del enlace en las posiciones relativas vecinales, generando el intermediario catiónico (**36**) derivado de un nuevo acomodo entre los

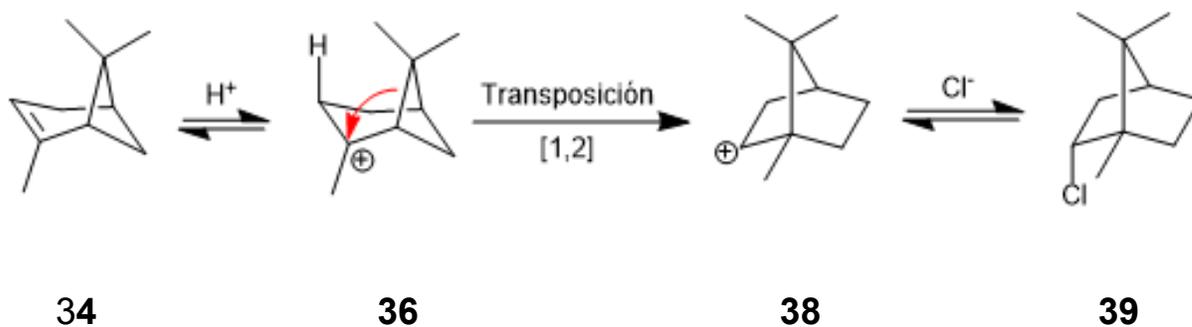


Figura 7

átomos que conforman el esqueleto original (**34**) al llevar a cabo una expansión del ciclo de cuatro miembros a uno de cinco miembros en el que no obstante que el carbocatión generado es secundario (**38**), la estabilidad de éste, aunque es menor, se encuentra compensada por la nueva dimensión anular, la cual presenta una menor energía debido a que en el proceso de interconversión desde un anillo tensionado a uno que no presenta dicha tensión, éste se ve favorecido por la liberación de la energía propiciada por la tensión angular ya que la desviación del ángulo normal del enlace desde 109.5° a 90° que origina esta energía acumulada ya no se manifiesta en el nuevo esqueleto obtenido (**38**) y el nuevo valor angular posee menor energía al no estar presente la tensión angular, y esto explica la estructura del producto de transposición obtenido (**39**) como resultado de la adición del anión cloruro mediante una etapa rápida al ión carbonio secundario que es el intermediario transpuesto (**38**), apreciado en la **Figura 7**.

Originalmente la reorganización o reordenamiento de Wagner-Meerwein era una reacción orgánica de eliminación, utilizada para convertir un alcohol por deshidratación, en una olefina, usando un catalizador ácido. La idea de transformación o el "mecanismo" propuesto comenzaba con la protonación del alcohol por el ácido, en el que el oxhidrilo protonado es liberado en forma de agua para proporcionar un carbocatión, a partir del cual ocurre el rearreglo o reordenamiento estructural mediante un desplazamiento 1,2 (vecinal), el carbocatión rearreglado, es el más sustituido y el más estable, que al desprotonarse da el producto deshidratado y rearreglado correspondiente a una olefina, regenerando el catalizador ácido.

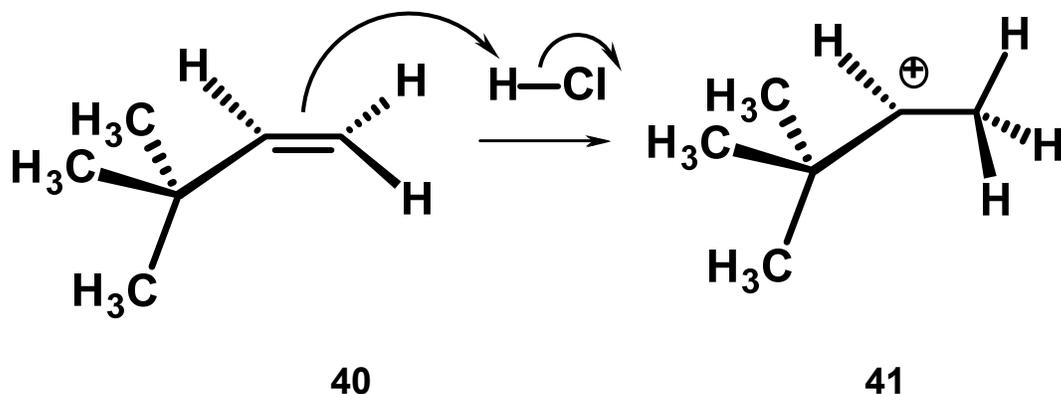


Figura 8

Al considerar un ejemplo en el que la transposición de Wagner-Meerwein contrariamente no ocurre en un alcohol sino un alqueno monosustituído como el 3,3-dimetil-1-buteno (**40**), ahora el proceso es una reacción de adición y el evento es también considerado como un tipo de transposición carbocatiónica 1,2, en donde la migración se lleva a cabo tanto con un hidruro, como también con un grupo alquilo o arilo, en el que éstos pueden transponerse también desde un carbono dado hasta otro vecino,* y en el que podemos aplicar nuevamente el criterio de que el aumento en la estabilidad de los intermediarios generados parece ser la fuerza impulsora de la reacción, formándose al inicio del proceso el intermediario carbocatiónico secundario (**41**) de la **Figura 8** siguiendo la Regla de Markownikoff y de esta manera es generado a partir de éste, el carbocatión terciario (**42**), como las estructuras mostradas en la **Figura 9** correspondiente a la interpretación de la migración [1,2] de un grupo metilo, el cual justifica la etapa en la cual se favorece el intermediario de transposición más estable (**42**) y a partir de los cuales se justifica la formación de los productos de adición obtenidos, considerando el minoritario (**43**) correspondiente al 2-cloro-3,3-dimetilbutano proveniente del ión carbonio secundario (**41**) y el producto mayoritario (**44**) derivado del ión carbonio transpuesto más estable (**42**) correspondiente al 2-cloro-2,3-dimetilbutano (**44**).

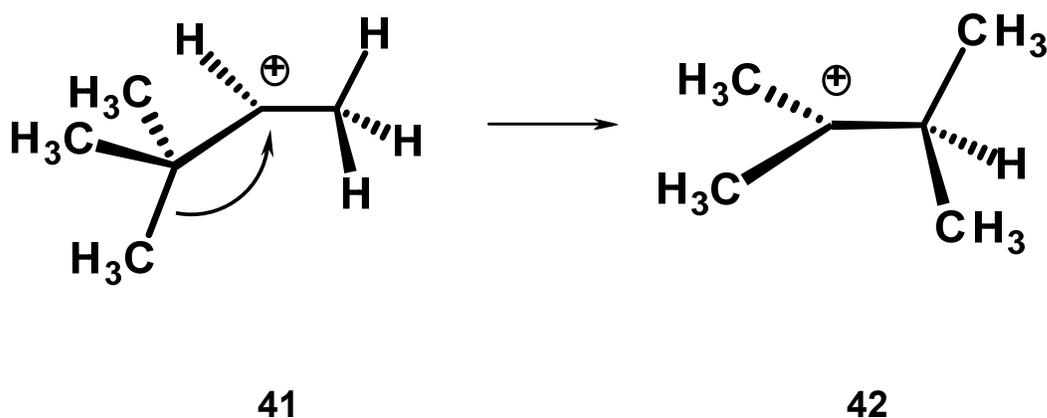
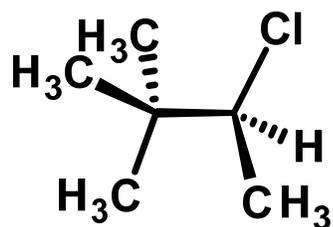
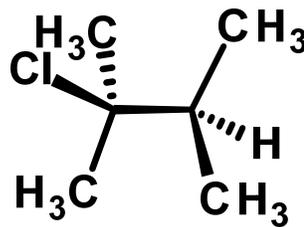


Figura 9

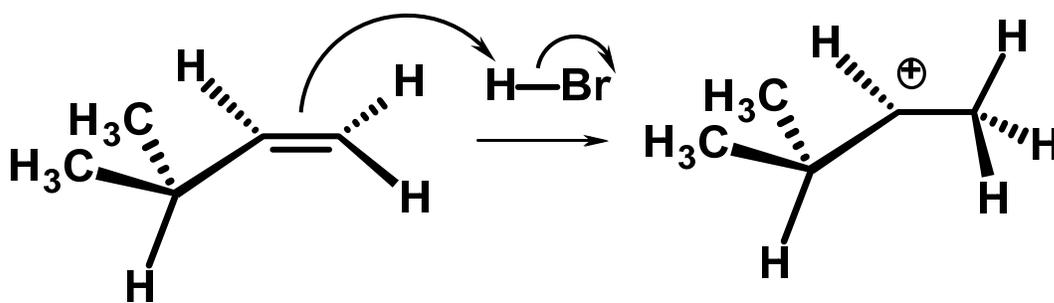


43



44

Cuando la adición es el HBr al 3-metil-1-buteno (**45**) que se ilustra en la **Figuras 10 y 11**, ésta ocurre de igual manera para la posibilidad de formación de los dos carbocationes, **46** secundario y a partir de éste, el **47** terciario transpuesto con la migración del hidruro.



45.- 3-METIL-1-BUTENO

46

Figura 10

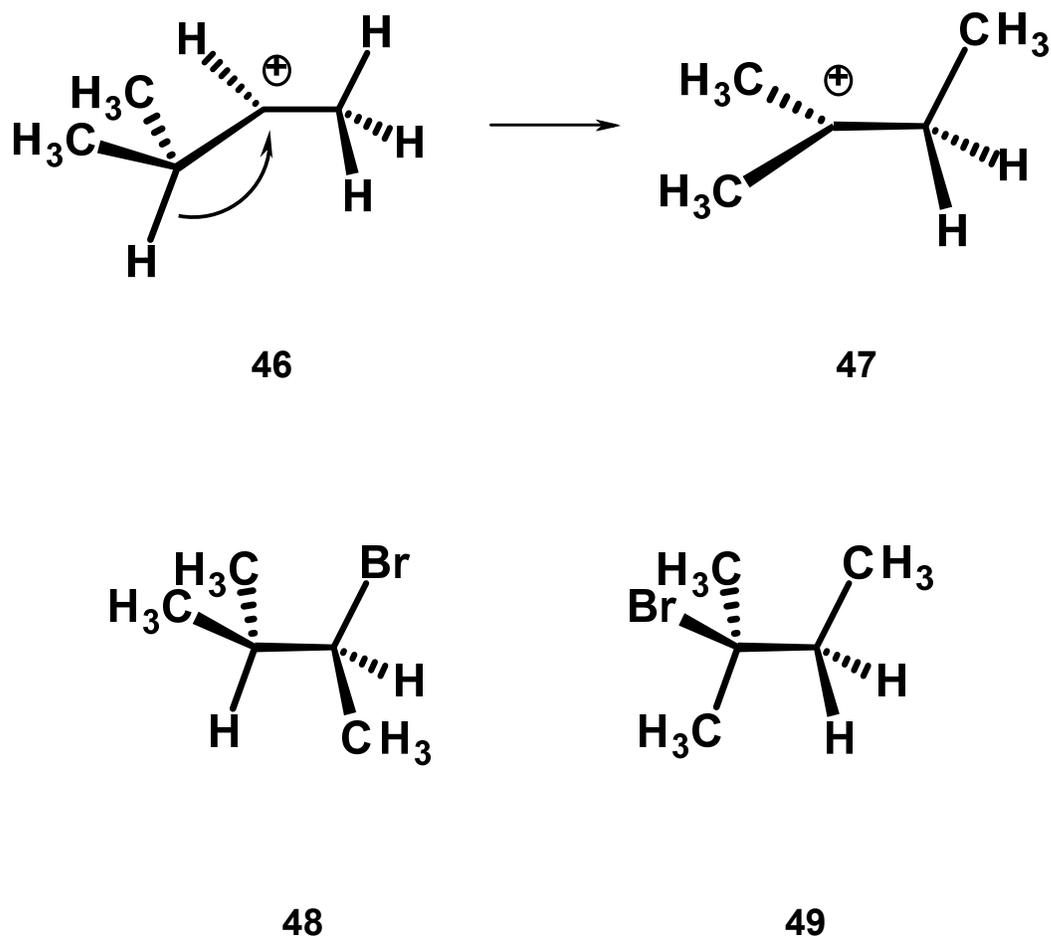
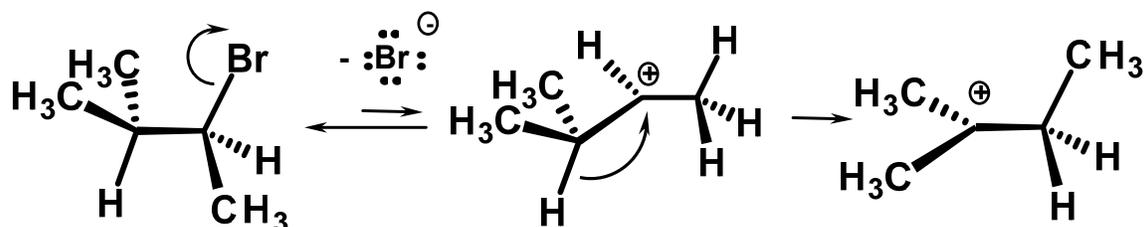


Figura 11

La interpretación de la migración [1,2] de un hidruro, justifica la etapa en la cual se favorece el intermediario de transposición más estable (**47**) y a partir de los cuales se justifica la formación de los productos de adición obtenidos considerando al minoritario (**48**) 2-bromo-3-metilbutano formado del ión carbonio secundario y el mayoritario (**49**) derivado del ión carbonio transpuesto terciario más estable (**47**) correspondiente al 2-bromo-2-metilbutano (**49**).

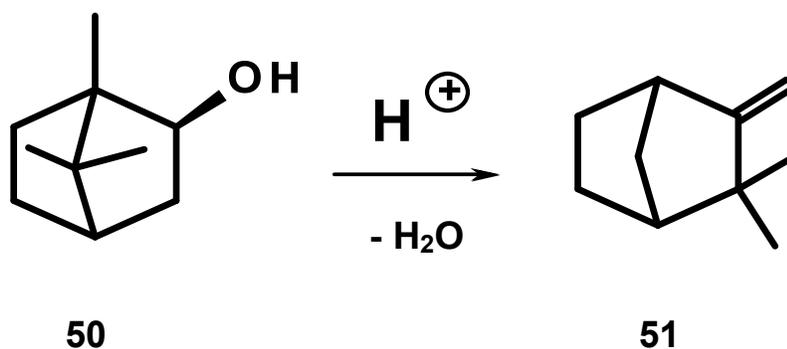
Asimismo la descripción del proceso inverso en la reacción de la deshidrobromación el 2-bromo-3-metilbutano (**48**), comportándose en este proceso de igual manera para la formación de los dos carbocationes probables y la consecuente interpretación de la

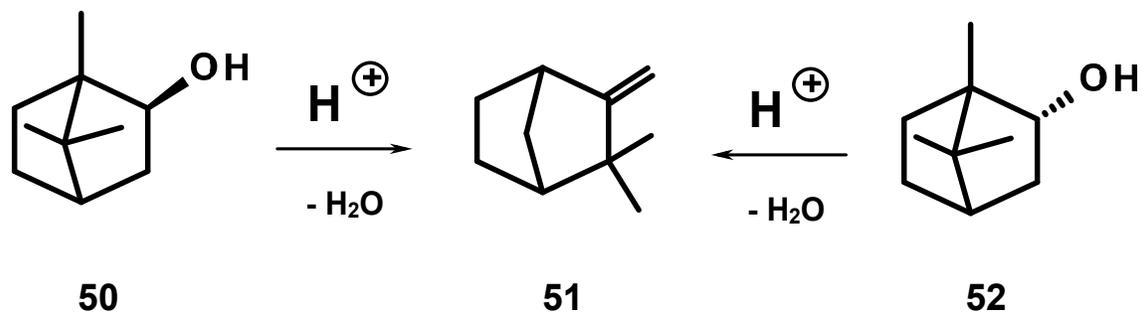
migración [1,2] del hidruro, que justifica la etapa en la cual se ve favorecido energéticamente el producto de transposición.



48

Cabe mencionar que esta transposición fue descubierta primero en terpenos bicíclicos, con la conversión de isoborneol (**50**) a canfeno (**51**), en donde Wagner desafió esta interpretación en 1899, en un documento notable titulado "La estructura del Canfeno", en el que Wagner hizo la sugerencia revolucionaria de que también el producto de la deshidratación del borneol (**52**) catalizada por ácido da el canfeno (**51**), en el que se considera secuenciadamente, la formación de un carbocatión común a ambos alcoholes isoméricos, posteriormente un rearrreglo o transposición molecular y finalmente un cambio en la estructura cíclica.





La propuesta mecanística del borneol (**52**) en medio ácido para obtener el canfeno (**51**) se muestra en la **Figura 12**, cabe hacer notar que este mecanismo es válido para los dos alcoholes isoméricos (**50** y **52**), ya que presentan el intermediario catiónico (**53**) común a ambos.

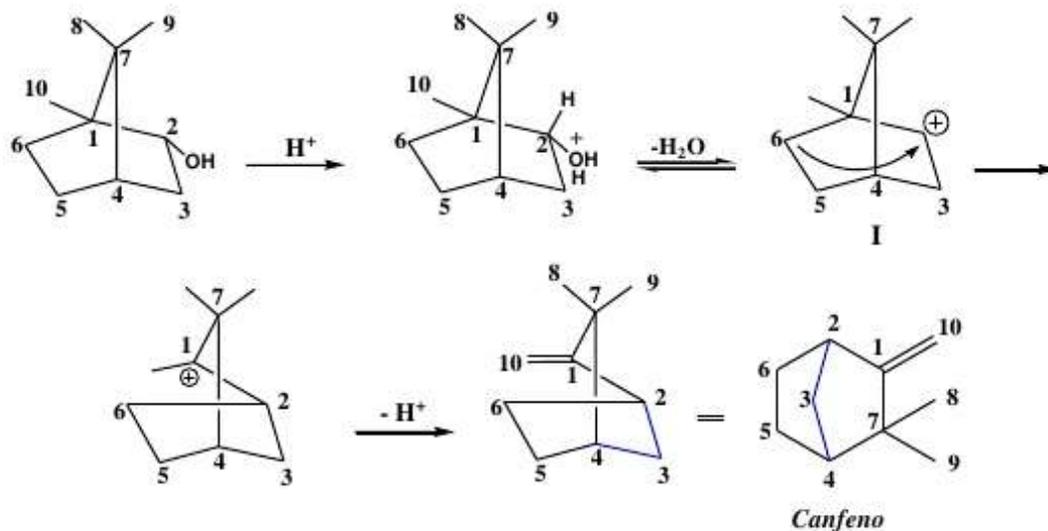
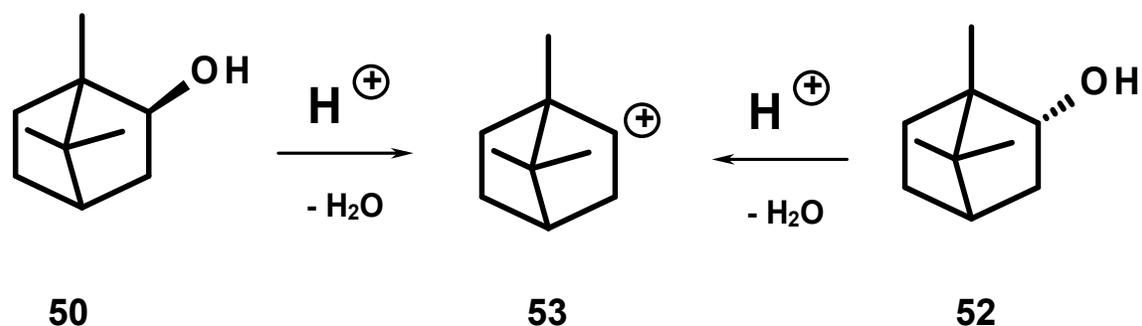
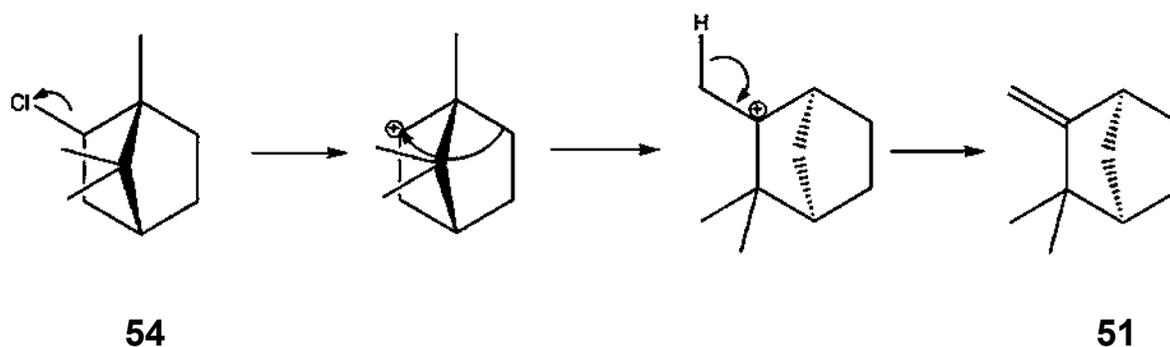


Figura 12

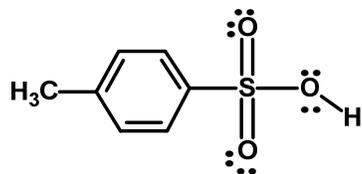


La deshidratación de borneol o isoborneol implica el desplazamiento del grupo metileno en C-2 desde C-1 hacia C-6 y el nuevo ión carbonio obtenido en C-1, el cual será estabilizado por la pérdida del hidrógeno como protón del grupo metilo C-10 para generar el doble enlace olefínico desde C-10 hacia C-1 del canfeno (**51**) producido. Bredt escribió: "Esto es provocado por el razonamiento basado en que el alcanfor y el canfeno no tienen el mismo esqueleto al reconocer que los resultados de la oxidación de canfeno y algunos de sus derivados son incompatibles". Además este mismo es producido durante la deshidrocloración del cloruro de isobornilo (**54**).

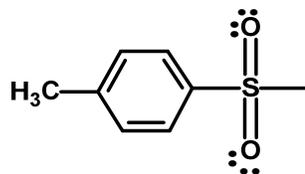


Uno de los ácidos más frecuentemente utilizados para promover los rearrreglos es el ácido orgánico *p*-toluen sulfónico (**55**), que se abrevia como TsOH, en el que Ts es la abreviación del grupo Tosilo (**56**) y es un ácido orgánico fuerte, aproximadamente un millón de veces más fuerte que el ácido benzoico, además es uno de los pocos ácidos fuertes que es sólido, a diferencia de algunos ácidos minerales fuertes como el ácido nítrico (**57**); el ácido sulfúrico (**58**), el ácido

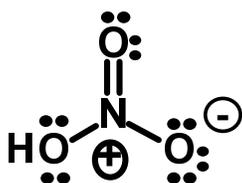
perclórico (**59**), HCl y HI, que son líquidos o gases. Además el TsOH es un ácido no oxidante como el ácido nítrico.



55.- ÁCIDO p-TOLUENSULFÓNICO

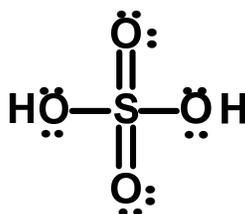


56.- p-TOLUENSULFÓNICO (TOSILO Ts)



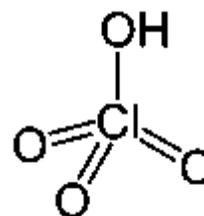
HNO₃

57



H₂SO₄

58

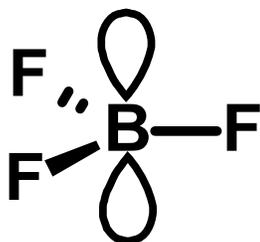


HClO₄

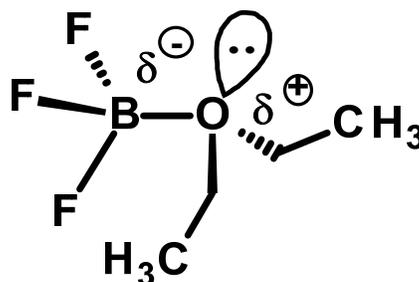
59

El catalizador homogéneo más comúnmente utilizado es el ácido sulfúrico debido a sus características altamente ácidas, sin embargo, presenta varios problemas por ser agente deshidratante y ser corrosivo. Se ha comprobado que los catalizadores homogéneos son más reactivos que los heterogéneos y por otro lado los ácidos no próticos como el trifluoruro de boro caracterizado como un ácido de Lewis, posee fórmula molecular BF₃ (**60**), es un gas incoloro, tóxico, pungente, forma humos blancos en el aire húmedo, su geometría es planar, trigonal y muestra tres enlaces covalentes polares, su momento dipolar $\mu = 0$ debido a su simetría, el BF₃; se usa en la química de productos naturales comúnmente como catalizador en una gran variedad de reacciones como: isomerizaciones, alquilaciones, acilaciones, esterificaciones, condensaciones, etc., en solución con el

éter etílico con el que forma un aducto (**61**), denominado eterato de trifluoruro de boro.

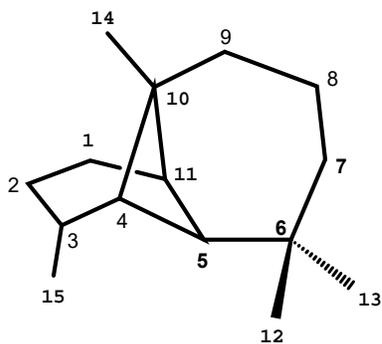


60

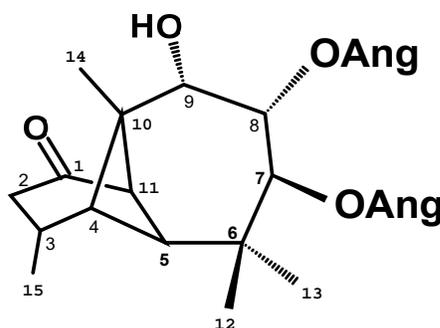


61

La Fitoquímica, abre la posibilidad de describir la reactividad de una gran diversidad de estructuras como en los estudios previos llevados a cabo con especies del género *Stevia* en la que ha sido una constante la descripción de metabolitos reportados en la literatura los cuales poseen el esqueleto básico del sistema de longipinano (**62**), este hecho es muy indicativo quimiotaxonómicamente, en el que además de establecer la variedad de diferentes grupos funcionales que cada especie del género tenga, como también la cantidad obtenida de los metabolitos secundarios aislados.



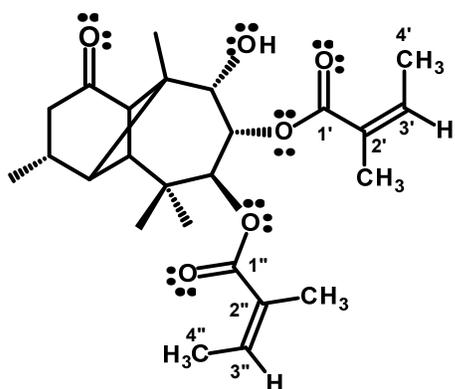
62



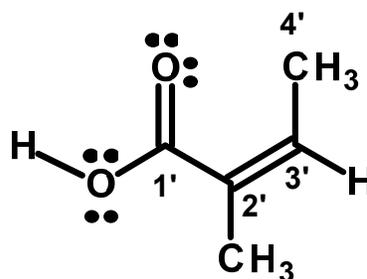
63

Los estudios desde 1978 provenientes de las asteraceae *Stevia serrata* Cav. y de la *Stevia rhombifolia* HBK., en el cual se aisló y caracterizó inequívocamente el metabolito, mayoritariamente proviene de la raíz de las especies mencionadas anteriormente, nombrado Rasteviona (**63**), el cual posee el esqueleto del longipinano como un sistema sesquiterpénico tricíclico, en donde los quince átomos de

carbono tienen hibridación sp^3 (tetrahédrica), en los que los tres anillos tienen diferente tamaño, dos de ellos son de tamaño mediano de seis y siete miembros, el tercero es un anillo pequeño tensionado de cuatro miembros; la estructura del metabolito cuenta con cuatro grupos funcionales, de los cuales el grupo carbonilo es de cetona colocado en la posición C-1, en el anillo de seis miembros y es el único carbono en el esqueleto que tiene hibridación sp^2 (planar trigonal) y es el grupo funcional más representativo, ya que caracteriza al nombre vernáculo con el que se registró (**64**).



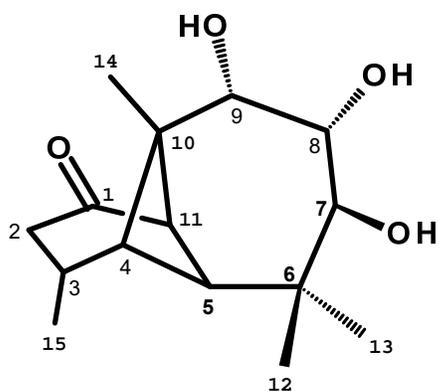
64



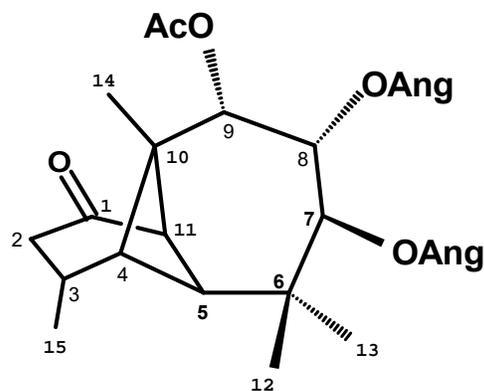
65

Además los dos ésteres α,β -no saturados derivados del ácido angélico (**65**) correspondientes a angelatos abreviados como OAng (**63**) colocados en las posiciones C-7 β y C-8 α , mostrados en forma desarrollada en la estructura (**65**), en la que se resalta la posición relativa en la que se encuentran enlazados los grupos metilo entre sí, en torno al doble enlace trisustituído en el que los carbonos C-2' y C-3', sostienen grupos diferentes, requisito indispensable para que se presente el isomerismo geométrico, en donde C-2', tiene al grupo carbonilo del carboxilo C-1' y un grupo metilo y el C-3' tiene al grupo metilo C-4' y al hidrógeno vinílico; la naturaleza de los sustituyentes en torno a C-2' y C-3' establece que se trata del isómero geométrico *cis* o *Z*; considerando las prioridades que tienen dichos grupos, no obstante que la colocación relativa de los grupos metilo en torno a éste doble enlace, se encuentran *trans* entre sí, se pone de manifiesto que la

asignación del isomerismo geométrico no se determina por la posición relativa que guardan grupos igualitarios vecinales, sino que hay que considerar reglas de prioridad entre los grupos geminales para cada carbono que forma parte del doble enlace, que en este caso los grupos prioritarios son el grupo metilo del C-3' y el grupo carbonilo del carboxilo o en su caso carboxilato en C-2', los cuales se encuentran *cis* entre sí.



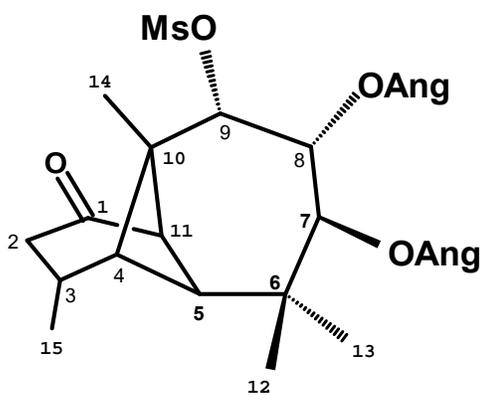
66



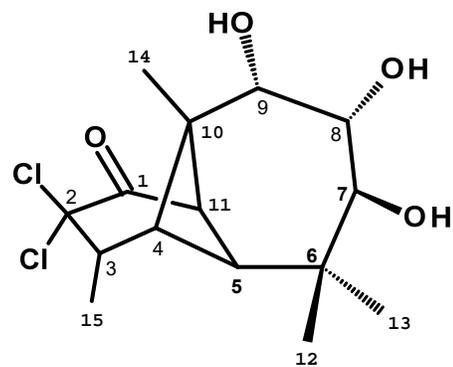
67

Debido a que la Rasteviona (**63**) es un metabolito secundario abundante presente en las raíces de *Stevia serrata* Cav., a los grupos funcionales que posee y a la colocación relativa entre ellos así como la estereoquímica que ocupan, así el grupo oxhidrilo libre secundario se encuentra en C-9 α colocado en el anillo de siete miembros, vecino a un grupo angelato de C-7 β y éste a otro en C-8 α que son las tres posiciones a ocupar en este anillo, las cuales han jugado un papel importante en los estudios fitoquímicos acerca de la reactividad del sistema del longipinano* entre los que destacan reacciones de hidrólisis y esterificaciones selectivas sin alterar el esqueleto de longipinano; así por ejemplo con la hidrólisis básica de los angelatos se obtuvo la triolona (**66**), y a partir de ésta, mediante reacciones de esterificación en diferentes condiciones selectivas, como el acetato de rasteviona (**67**); el mesilato de Rasteviona (**68**) y reacciones de cloración como para la obtención de la 2,2'-dicloro-7 β ,8 α ,9 α -Longipinatriolona (**69**), el cual es un derivado sólido cristalino obtenido a partir de la Rasteviona tanto de cristales como mieles, la

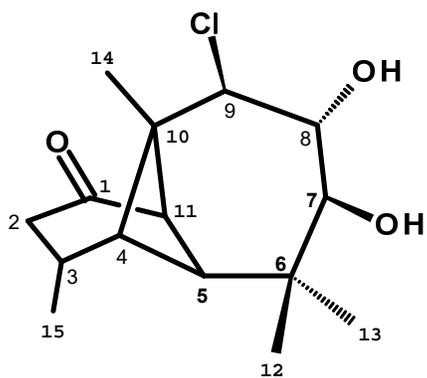
cual se utilizó para reacciones posteriores, en la que se obtuvieron los derivados clorados (**70** y **71**).



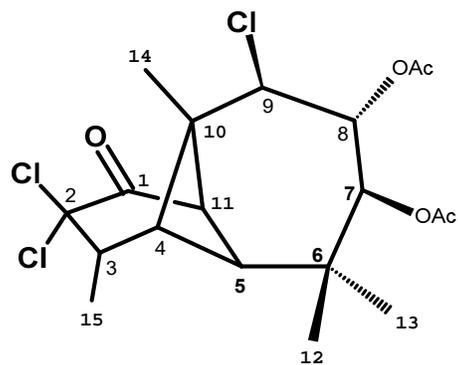
68



69



70



71

3.- JUSTIFICACIÓN

Los diferentes estudios fitoquímicos llevados a cabo desde 1978 provenientes de la asteraceae *Stevia serrata* Cav., en el que se aisló en muy buen rendimiento el metabolito mayoritario Rasteviona (**63**), proveniente de la raíz tanto en forma cristalizada como no cristalizada, ha permitido llevar a cabo estudios fitoquímicos muy amplios en donde una parte ha sido orientada a la reactividad de la posición alfa al grupo carbonilo C-1, en el esqueleto de longipinano, en donde dicha reactividad enfocada al único metileno de la estructura de la rasteviona correspondiente a la posición C-2, sometida a condiciones de halogenación tanto cloración, para obtener los 2,2'-dicloro; el 9-*epi*-cloro (**70**); 2,2',9-*epi*-triclora (**71**) derivados respectivos, como la bromación, en la que únicamente da el producto de sustitución monobromado; estos productos han sido obtenidos en varias condiciones de reacción en los que se ha mantenido el esqueleto de longipinano sin modificación alguna, en el que se hace notar que el proceso de cloración ocurre en medio básico, contrariamente al proceso de bromación desarrollado en medio ácido. Además la reactividad que presenta el centro estereogénico de C-9 α tanto en medios ácidos como básicos y en particular las reacciones en medios ácidos como el HCl; TsOH y el F₃B:OEt₂, esto hace que con el uso de las técnicas de transformación aplicando los reactivos y las condiciones de reacción necesarias, en las que se describa la reactividad que pueda presentar este metabolito natural tanto con o sin rearrreglo del esqueleto, permita ampliar el conocimiento sobre su comportamiento químico en la que se promueva la obtención de nuevos compuestos de interés químico y biológico.

4.- HIPÓTESIS

La reactividad presentada en el C-2 y en el centro estereogénico de C-9 α en el esqueleto de longipinano obtenido de especies del género *Stevia* y particularmente de la Rasteviona (**64**) aislada en buen rendimiento de las raíces de la *Stevia serrata* Cav. y haciendo uso de las técnicas de transformación en las que la búsqueda de las condiciones de reacción necesarias, en las que se describa la reactividad de estas posiciones, principalmente en las que se promueva un rearrreglo del esqueleto del metabolito natural Rasteviona (**64**), y así se compare esta reactividad, mediante el análisis de los productos de rearrreglo obtenidos con las condiciones de reacción llevadas a cabo entre los derivados de longipinano no clorados con los clorados.

5.- OBJETIVOS

5.1 OBJETIVO GENERAL:

Llevar a cabo reacciones de hidrólisis; esterificación; cloración y tratamientos ácidos, estos últimos que promuevan condiciones de rearreglo o reordenamiento en el sistema sesquiterpénico del longipinano del esqueleto de la Rasteviona proveniente de las raíces de *Stevia serrata* Cav.

5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

5.2.1 Obtener la Rasteviona a partir de extractos hexánicos de raíces de la *Stevia serrata* Cav.

5.2.2 Llevar a cabo reacciones de hidrólisis, esterificación y cloración que transformen a la Rasteviona en sus derivados clorados.

5.2.3 Realizar los experimentos que mediante pruebas de tratamientos ácidos, conduzcan a la optimización de las condiciones de reacción para obtener los productos de rearreglo clorados.

5.2.4 Llevar a cabo la caracterización de los productos mediante sus respectivos análisis físicos y espectroscópicos.

6.- PARTE EXPERIMENTAL

Las Asteraceae del género *Stevia* se encuentran clasificadas en su mayoría como herbáceas, las cuales son consideradas malezas, las que constituyen un elemento característico frecuentemente dominante e incluso, abundante en los bosques de pino y encino o en paisajes de encinares de la República Mexicana, donde crecen y se desarrollan preferentemente al abrigo de condiciones climáticas principalmente templadas y húmedas.



Antonio José Cavanilles y Palop (1745-1804), botánico de su tiempo, fue la Autoridad reconocida quien validó taxonómicamente la descripción de la *Stevia serrata*, que en esa época era Maestro en

Filosofía y Doctorado en Teología, y por consecuencia se le ha reconocido actualmente en la completa descripción de la especie como *Stevia serrata* Cav.

Esta planta pertenece al Reino: *Plantae*; al Phylum: *Magnoliophyta*; a la clase: *Magnoliopsida*; al Orden: *Asterales*; a la familia: *Asteraceae*; al género: *Stevia* y a la especie *serrata*, esto debido a la morfología del borde de sus hojas.



Muchas especies que pertenecen a este género, tienen en común su inflorescencia, típicamente como cabezuela o corimbo.



CORIMBO



UMBELA



El desarrollo óptimo de la *Stevia serrata* Cav., es muy indicativo ya que la inflorescencia, en su plenitud generalmente se da a fines del mes de septiembre y se prolonga hasta mediados del mes de octubre particularmente para las festividades del 15 de octubre, fecha en que se celebra el día de Santa Teresa y que precisamente en muchas comunidades Michoacanas a esta planta se le nombra o es mejor conocida como Santa Teresa.

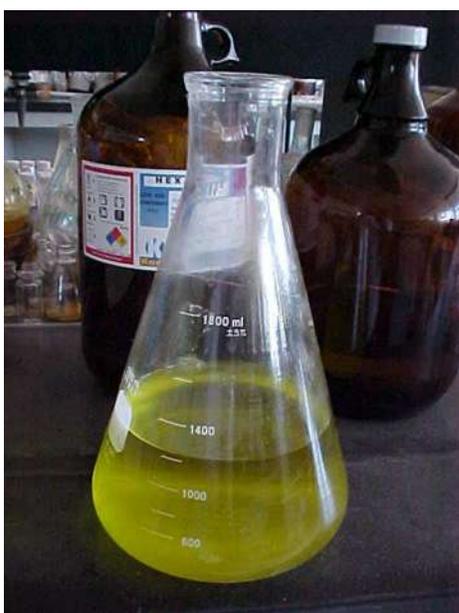


Muchas especies que pertenecen a este género, tienen en común su inflorescencia, típicamente como cabezuela o corimbo, que es variable el color de sus flores, que en la mayoría de las especies son flores blancas de cinco pétalos muy vistosas, que aparecen por lo general a fines de agosto y desaparecen a fines de noviembre, esto ocurre con la mayoría de las especies herbáceas las cuales su ciclo vital oscila entre junio-noviembre, ya que las arbustivas como la *Stevia salicifolia* o la *Stevia subpubescens* Lag. y la var. intermedia, sus inflorescencias llegan a durar hasta los meses de diciembre y enero dependiendo principalmente del desarrollo climático del ciclo anual.

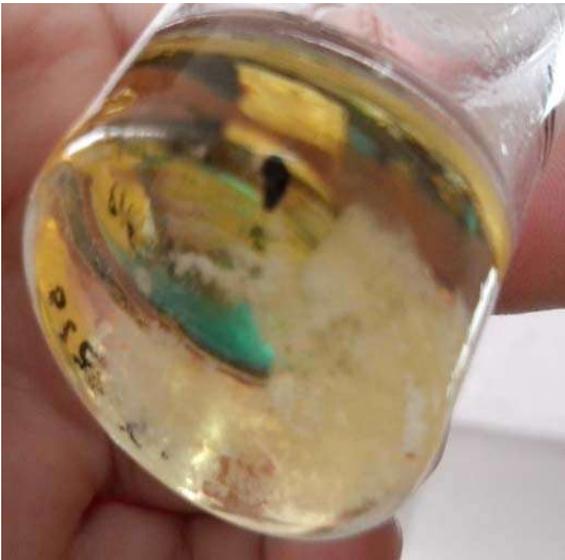


Debido a que la rasteviona (**63**), se extrae, de la raíz de la *Stevia serrata* Cav., esta herbacea en el ciclo de su desarrollo desaparece, por lo que se consideró realizar su colecta el ciclo anual de los años 2016-2017 durante los meses de agosto-octubre, tomando su desarrollo óptimo, indicativo principal para el aislamiento óptimo del metabolito principalmente como cristales, a partir de los cuales se llevó a cabo la secuencia de reacciones, objetivo fundamental del presente estudio.

Una vez realizado el proceso extractivo con los rizomas secos y molidos de la *Stevia serrata* Cav. en los que fueron sometidos a reflujo, 3 kg de ellos en un matraz balón de fondo redondo de 12 L, con aproximadamente entre 7 y 8 L de hexano, y se mantuvo este en reflujo durante un período de 4 a 5 h; transcurrido este tiempo, se dejó enfriar parcialmente la solución, que en algunas descripciones le nombran licor madre y que contiene los metabolitos extraídos por el hexano y en el que posteriormente se filtró; la solución filtrada se concentró sucesivamente en porciones de alrededor de 400 ml, mediante la evaporación del hexano usando un evaporador rotatorio.

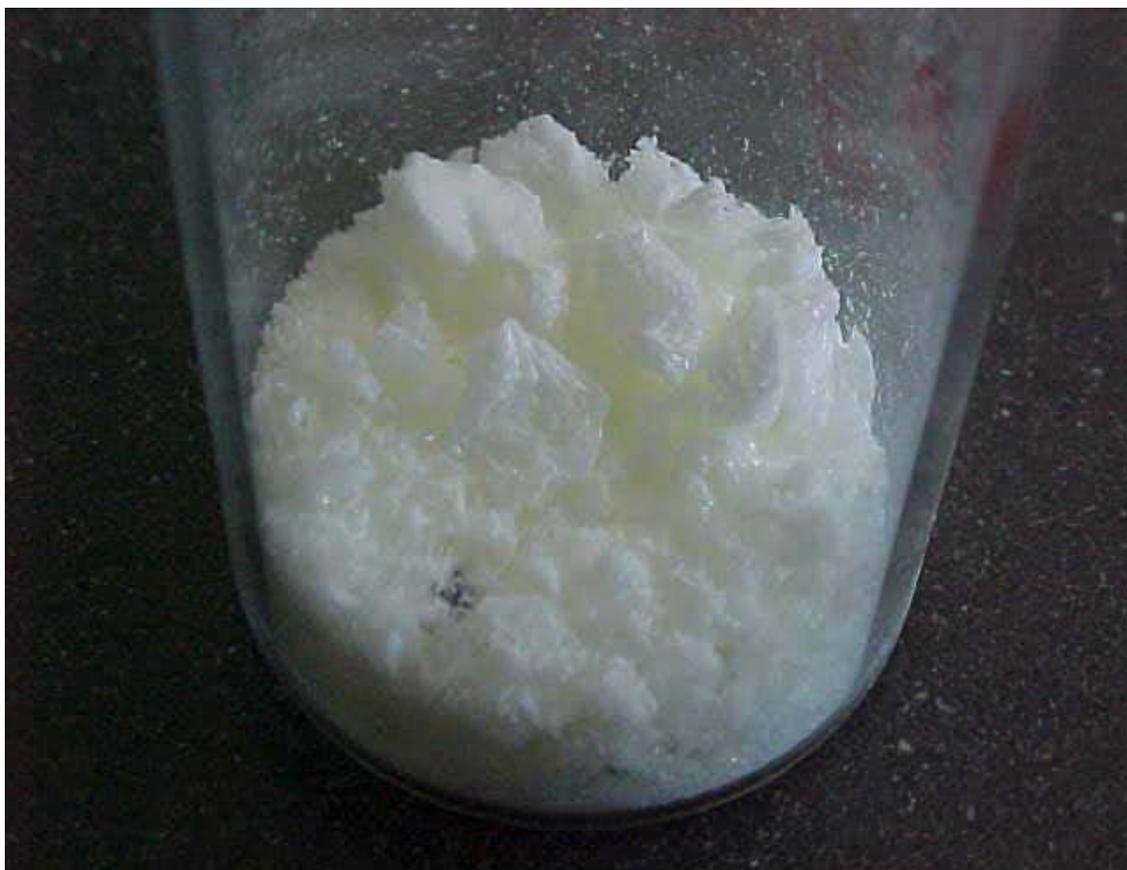


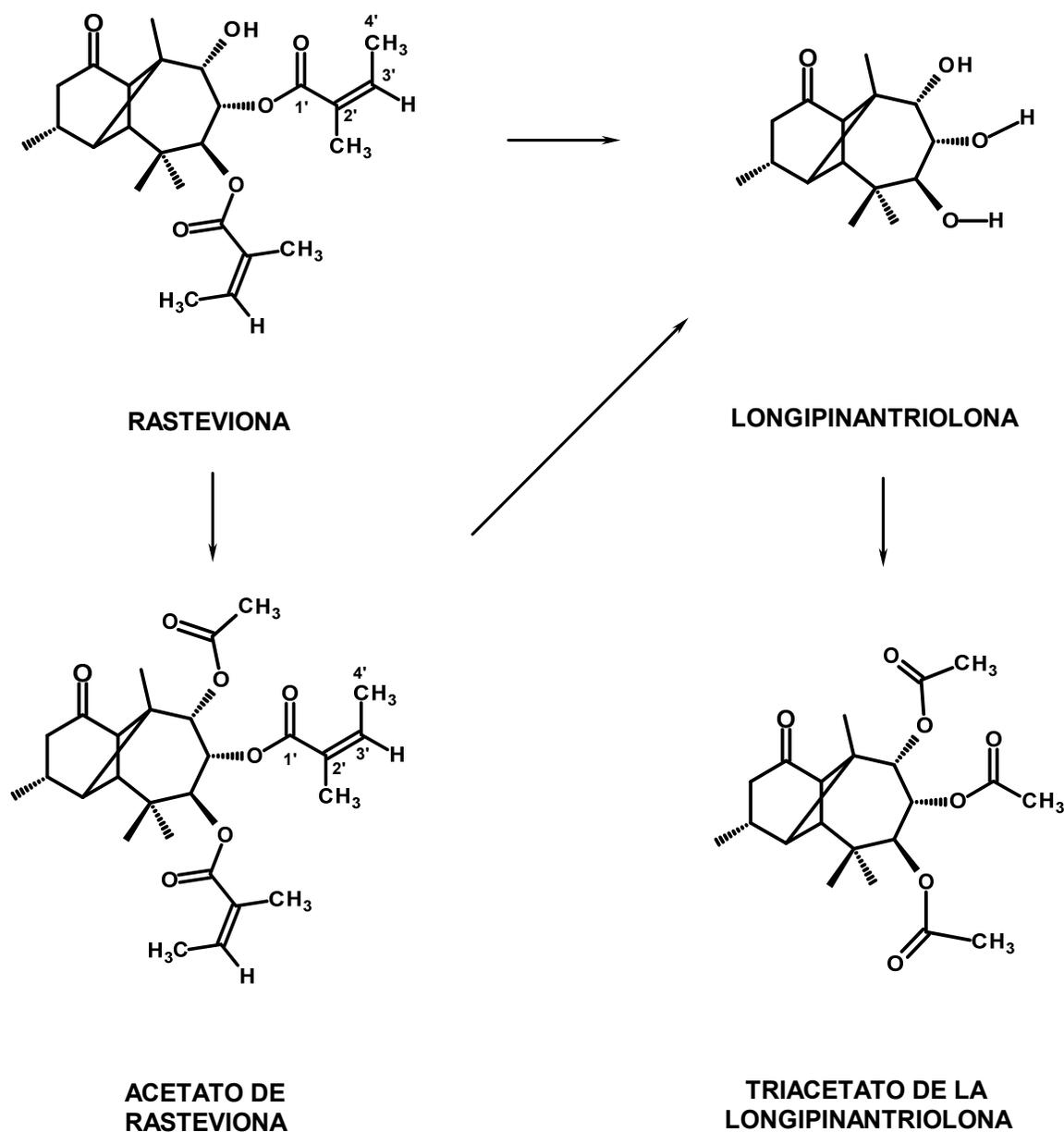
Una vez concentrada la totalidad de la solución, al concentrado se le deja en reposo y a este concentrado se le agrega metanol frío para precipitar las grasas extraídas, las cuales su cantidad es variable dependiendo de la localidad y período de recolección de la planta, posteriormente, una vez ya separadas las grasas por filtración, el líquido filtrado se concentró para obtener la Rasteviona (**63**); durante el mismo proceso se recuperó el hexano, todo este procedimiento extractivo se repitió las veces necesarias hasta agotar la cantidad del



metabolito extraído, es variable debido a que la Rasteviona se obtiene tanto en forma cristalina como no cristalizada, y esta proporción se debe a los factores antes mencionados; así los cristales de Rasteviona pueden cosecharse en lotes que varían desde únicamente Rasteviona no cristalizada de 15 a 60 g para la primera cosecha y mezcla de mieles con cristales, en los cuales se separaron los cristales por filtración los cuales para la primera cosecha puede variar desde 8 hasta 40 g.

La fórmula molecular de la Rasteviona es de F.M. $C_{25}H_{36}O_6$, y tiene un punto de fusión p.f. 130-131 °C, el cual se logró mediante cristalizaciones sucesivas partiendo del concentrado inicial libre de grasas, hasta obtener el punto de fusión óptimo y a partir de éste o en su caso las mieles que no cristalizaron, fueron con las que se inició la primera reacción al someter la Rasteviona (**63**) en lotes de 2 a 4 g a una acetilación estándar, en la cual se obtuvo el acetato de rasteviona (**72**), como un sólido blanco; la Rasteviona cristales y el acetato de la Rasteviona como sólido cristalino, fueron sometidos a una hidrólisis básica, ambos procesos por separado, los cuales dieron la longipinatriolona no cristalizada (**73**) y a partir de ésta se llevó a cabo la acetilación total para obtener el triacetato de la triolona (**74**), esta secuencia de reacciones es mostrada en el **ESQUEMA I**.





ESQUEMA I

El análisis espectroscópico de RMN de ^1H de la Rasteviona (**63**), mostró a campo bajo una señal desplazada en 6.11 ppm como cuarteto de cuartetos (qq), con constante de acoplamiento ($J = 6.0, 1.5$ Hz) que integró para un hidrógeno correspondiente a **3'**, de igual manera en 6.11 ppm como cuarteto de cuartetos (qq), con constante

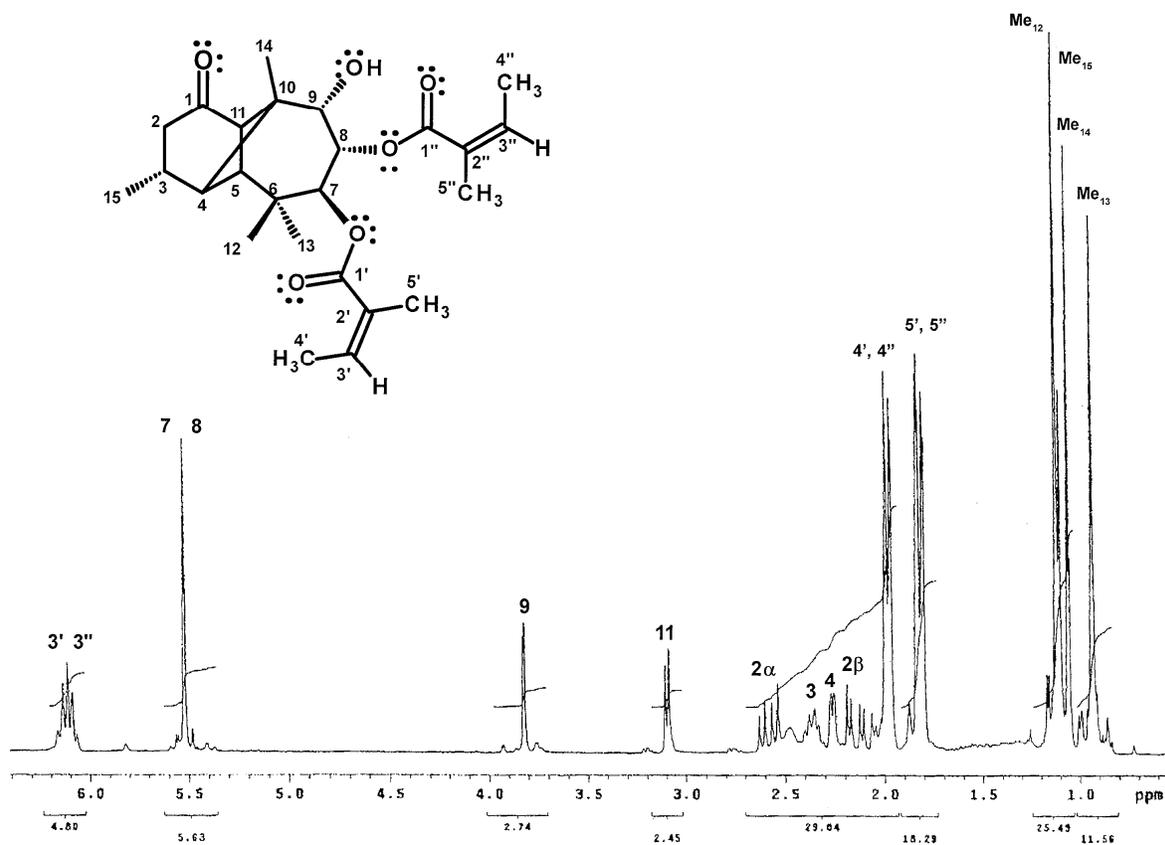


Figura 13.- Espectro de RMN¹H de Rasteviona (63), obtenida del extracto hexánico de raíces de la *Stevia serrata* Cav.

de acoplamiento ($J = 6.0, 1.5$ Hz) que integró para un hidrógeno correspondiente a $3''$; ambos hidrógenos vinílicos de los grupos angelóilo de los angelatos en C-7 y C-8 que además se corroboran con las señales desplazadas en 1.83 ppm como un doblete de cuartetos (dq) con constante de acoplamiento ($J = 6.0, 1.5$ Hz) que integró para tres hidrógenos correspondiente a $5'$, de igual manera en 1.81 ppm como doblete de cuartetos (dq), con constante de acoplamiento ($J = 6.0, 1.5$ Hz) que integró para tres hidrógenos correspondiente a $5''$, asimismo en 1.99 ppm, como un doblete de cuartetos (dq) con constante de acoplamiento ($J = 6.0, 1.5$ Hz) que integró para tres hidrógenos correspondiente a $4'$, de igual manera en 1.98 ppm como doblete de cuartetos (dq), con constante desacoplamiento ($J = 6.0, 1.5$ Hz) que integró para tres hidrógenos

correspondiente a **4"**, todo este conjunto de desplazamientos de entre 1.81 y 1.99 ppm correspondientes a las señales descritas que integraron para doce hidrógenos de los cuatro metilos de los dos grupos angelóilo que en su conjunto son características de los dos grupos angelatos, cada uno cada con un hidrógeno vinílico y dos grupos metilo *trans* entre sí, los cuales son mostrados en la **Figura 13**.

Adicionalmente se observan dos señales simples desplazadas en 5.55 y 5.54 ppm, que integraron cada una para un hidrógeno y que se asignaron a los hidrógenos base de los dos angelatos, sostenidos en las posiciones 7 y 8, respecto a la numeración correspondiente al anillo de siete miembros del esqueleto de longipinano; también aparece una señal doble aguda con una constante de acoplamiento $J = 1.2$ Hz, desplazada en 3.82 ppm, asignada al hidrógeno secundario H-9 de estereoquímica beta y base del único oxhidrilo libre secundario de orientación alfa, en tanto que la señal doble, desplazada en 3.09 ppm con constante de acoplamiento $J = 6.0$ Hz que integró para un hidrógeno fue asignada al protón H-11 *alfa* al grupo carbonilo, esta esta posición se encuentra adyacente a la función carbonílica y es un carbono común a los anillos de seis y de siete miembros del esqueleto de longipinano, conocidas estas posiciones como átomos de carbono cabeza de puente; las señales que aparecieron en 2.58 ppm, como dobles de dobles (dd, $J = 19.1, 8.6$ Hz) y 2.15 ppm (dd, $J = 19.1, 6.2$ Hz), ambas integraron para un protón cada una, fueron asignadas a los otros dos hidrógenos único del metileno que posee el esqueleto de longipinano de la rasteviona, éstos se encuentran colocados adyacentes a la función carbonílica en C-1, además una señal múltiple desplazada en 2.36 ppm que integró para un hidrógeno metínico base de un metilo secundario asignada al H-3 y la señal del H-4 metínico se encontró desplazada en 2.26 ppm como una señal doble ancha, las señales que aparecieron como señales simples agudas desplazadas en 1.13 ; 1.07 y 0.94 ppm que integraron para tres protones cada una fueron asignadas a los tres metilos terciarios, Me-12 ; Me-14 y Me-13 respectivamente, además en 1.11 ppm apareció una señal doble con una constante de acoplamiento de $J = 6$ Hz , la cual se encontró traslapada con la señal de uno de los metilos terciarios Me-12 asignada a uno de los metilos geminales sostenidos en C-6, del esqueleto de la Rasteviona.

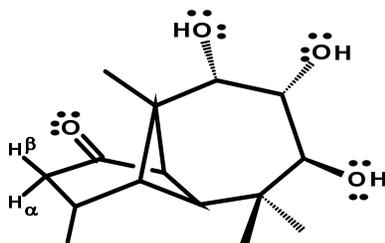
ESPECTRO DE RMN¹H (400 MHz, CDCl₃) DE LA RASTEVIONA (63):

δ 6.11 ppm (1H, qq, $J = 6.0, 1.5$ Hz, H-3'), 6.10 ppm (1H, qq, $J = 6.0, 1.5$ Hz, H-3''), 5.54 ppm (1H, s, H-8), 5.55 ppm (1H, s, H-7), 3.82 ppm (1H, d, $J = 1.2$ Hz, H-9), 3.09 ppm (1H, d, $J = 6.0$ Hz, H-11), 2.58 ppm (1H, dd, $J = 19.1, 8.6$ Hz, H-2 α), 2.36 ppm (1H, m, H-3), 2.26 ppm (1H, d, $J = 5.6$ Hz, H-4), 2.15 ppm (1H, dd, $J = 19.1, 6.2$ Hz, H-2 β), 1.99 ppm (2H, dq, $J = 6.0, 1.5$ Hz, Me-4'), 1.98 ppm (3H, dq, $J = 6.0, 1.5$ Hz, Me-4''), 1.84 ppm (1H, s, H-5), 1.83 ppm (3H, dq, $J = 6.0, 1.5$ Hz, Me-5'), 1.81 ppm (2H, dq, $J = 6.0, 1.5$ Hz, Me-5''), 1.11 ppm (3H, d, $J = 6.0$ Hz, Me-15), 1.13 ppm (3H, s, Me-12), 1.07 ppm (3H, s, Me-14), 0.94 (3H, s, Me-13).

OBTENCIÓN DE LA LONGIPINANTRIOLONA (73):

A 3 g de rasteviona no cristalizada (63) se le añadieron 40 ml de MeOH y 3 g de lentejas de KOH disueltas en la mínima cantidad de agua y la mezcla fue sometida bajo reflujo durante 2 h, posteriormente el MeOH fue evaporado las tres cuartas en rotavapor y el resto de la solución, se enfrió y se extrajo, mediante la adición de hielo y AcOEt, la fase orgánica se lavó con agua hasta neutralidad, separando la fase acuosa en cada lavado y finalmente la fase orgánica ya neutra se separó del resto acuoso, mediante un embudo de separación y se secó con Na₂SO₄ anhidro, posteriormente se filtró y se evaporó hasta sequedad, dando un aceite denso amarillento que pesó 1.38 g de la correspondiente longipinatriolona (73).

El espectro de RMN de ¹H de la Longipinatriolona (73) en CDCl₃, es mostrado en la **Figura 14**, en el que el campo de barrido espectral sólo comprende el rango de 0 a 4.0 ppm, ya que no se presentan señales que justifiquen valores de desplazamientos mayores por la ausencia de los protones vinílicos de los angelatos y de los protones base de los ésteres α,β -insaturados, además en el campo alto ya no aparecen las señales en 1.81; 1.83; 1.98 y 1.99 ppm correspondientes a los doce hidrógenos de los metilos vinílicos de los angelatos y el resto de los desplazamientos químicos de las señales de este producto de hidrólisis, así como también sus respectivas constantes de acoplamiento se pueden apreciar en la **TABLA II**.



H-1	-----	
H-2a	2.56 dd	$J = 19.1 \text{ Hz} ; J = 8.5 \text{ Hz}$
H-2b	2.15 dd	$J = 19.1 \text{ Hz} ; J = 6.2 \text{ Hz}$
H-3	2.34 m	
H-4	2.04 d	$J = 5.6 \text{ Hz}$
H-5	1.77 s	
H-6	-----	
H-7	3.66 d	$J = 10.4 \text{ Hz}$
H-8	3.81 m	
H-9	3.84 s	
H-10	-----	
H-11	2.90 d	$J = 5.6 \text{ Hz}$
Me-12	1.05 s	
Me-13	0.95 s	
Me-14	1.04 s	
Me-15	1.08 d	$J = 6.8 \text{ Hz}$

TABLA II.- Desplazamientos Químicos de las señales de RMN¹H de de la Longipinatriolona (**73**).

Espectro de RMN¹H (400 MHz, CDCl₃) de la Longipinatriolona (73**):**

δ 3.83 ppm (1H, m, H-8), 3.89 ppm (1H, d, $J = 5.6 \text{ Hz}$, H-9), 3.66 ppm (1H, dd, $J = 10.4, 4.3 \text{ Hz}$, H-7), 3.09 ppm (1H, d, $J = 3.5 \text{ Hz}$, OH), 2.89 ppm (1H, d, $J = 5.6 \text{ Hz}$, H-11), 2.64 ppm (1H, d, $J = 2.3 \text{ Hz}$, OH), 2.56 ppm (1H, dd, $J = 19.1, 8.6 \text{ Hz}$, H-2 α), 2.34 ppm (1H, m, H-3), 2.31 ppm (1H, d, $J = 4.3 \text{ Hz}$, OH), 2.14 ppm (1H, dd, $J = 19.1, 6.2 \text{ Hz}$, H-2 β), 2.05 ppm (1H, d, $J = 5.6 \text{ Hz}$, H-4), 1.77 ppm (1H, s, H-5), 1.08 ppm

(3H, d, $J = 6.8$, Me-15), 1.05 ppm (3H, s, Me-12), 1.04 ppm (3H, s, Me-14), 0.95 ppm (3H, s, Me-13).

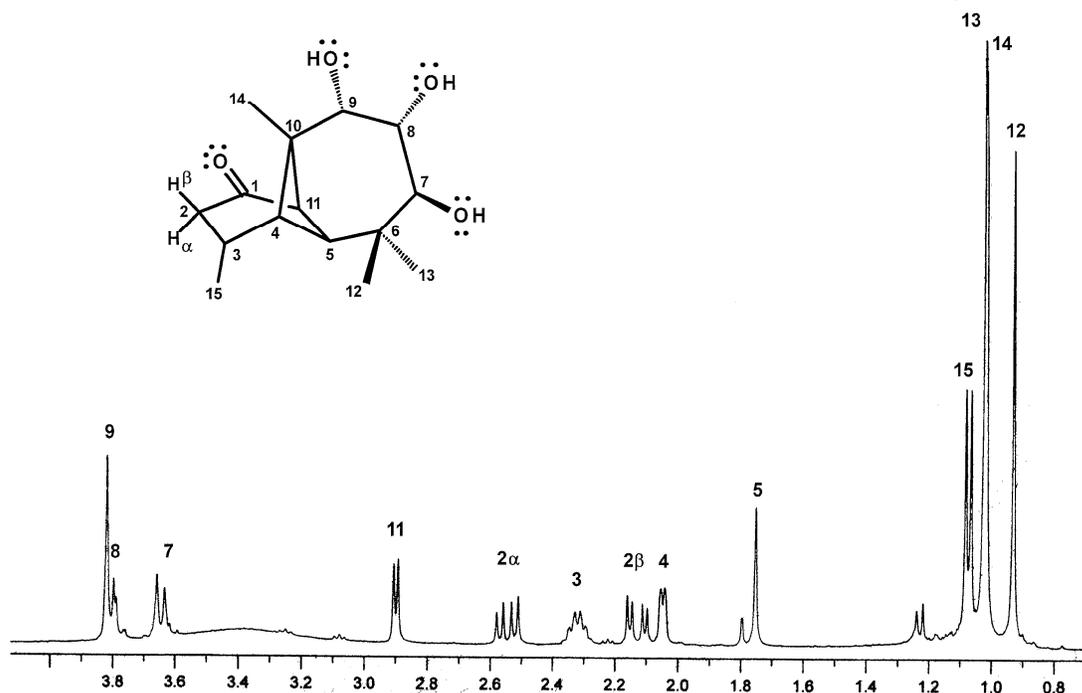


Figura 14.- Espectro de RMN¹H de la Longipinatriolona (73)

OBTENCIÓN DEL TRIACETATO DE TRIOLONA

El triacetato de triolona (74) se obtuvo mediante una acetilación estandar en la que fue pesado 1 g de mieles de la Longipinatriolona (73), el cual se disolvió en 6 ml de piridina y posteriormente fue agregado 6 ml de anhídrido acético. La mezcla homogénea de reacción se dejó reaccionar calentándola en baño de vapor durante 3 h, posteriormente, se enfrió y se vertió sobre hielo, luego se extrajo con acetato de etilo (AcOEt), del sistema de dos fases formado, la fase orgánica fue separada de la fase acuosa para luego ser lavada con una solución de HCl 10%, las veces necesarias para eliminar totalmente la piridina; ya la fase orgánica sin el olor nauseabundo de la

piridina, nuevamente se hicieron lavados ahora con solución saturada de NaHCO_3 hasta eliminar totalmente los residuos ácidos provenientes del subproducto de reacción del Ac_2O y finalmente la fase orgánica casi neutra, se lavó con agua hasta conseguir la total neutralidad.

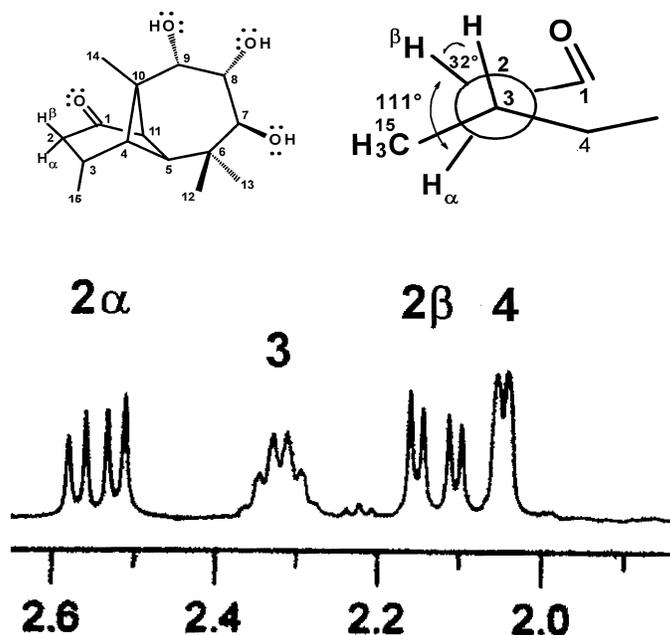


Figura 15.- Ampliación en la Región entre 2.0 y 2.6 ppm del Espectro de RMN^1H de la Longipinatriolona (73)

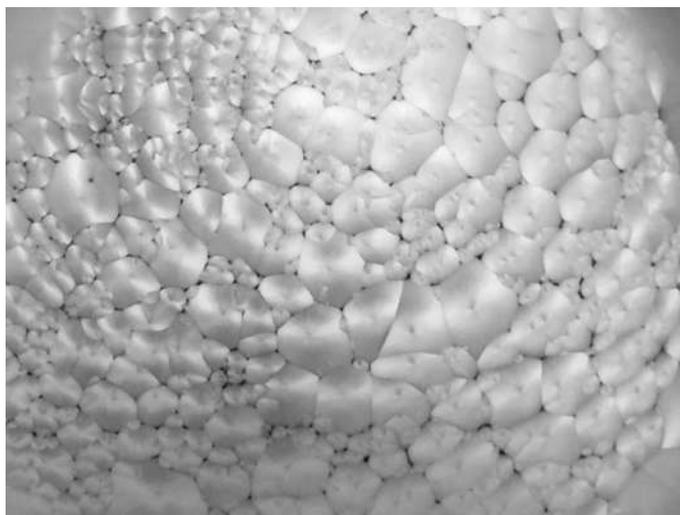
Una vez neutra, la fase orgánica se seca con Na_2SO_4 anhidro, se separa éste por filtración y la solución ya filtrada se evaporó hasta sequedad, dando un concentrado mieloso, ligeramente amarillento, del cual solidificaron 620 mg de un sólido cristalino que, mediante cristalizaciones sucesivas con cloroformo-hexano dieron cristales en forma de aguja, con punto de fusión óptimo de 150-152 °C, correspondientes al triacetato de triolona (74).

Espectro de RMN^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 5.35 ppm (1H, d, $J=11.3$ Hz, H-7), 5.29 (1H, dd, $J=11.3, 3.0$ Hz, H-8), 5.23 (1H, d, $J=3.0$ Hz, H-

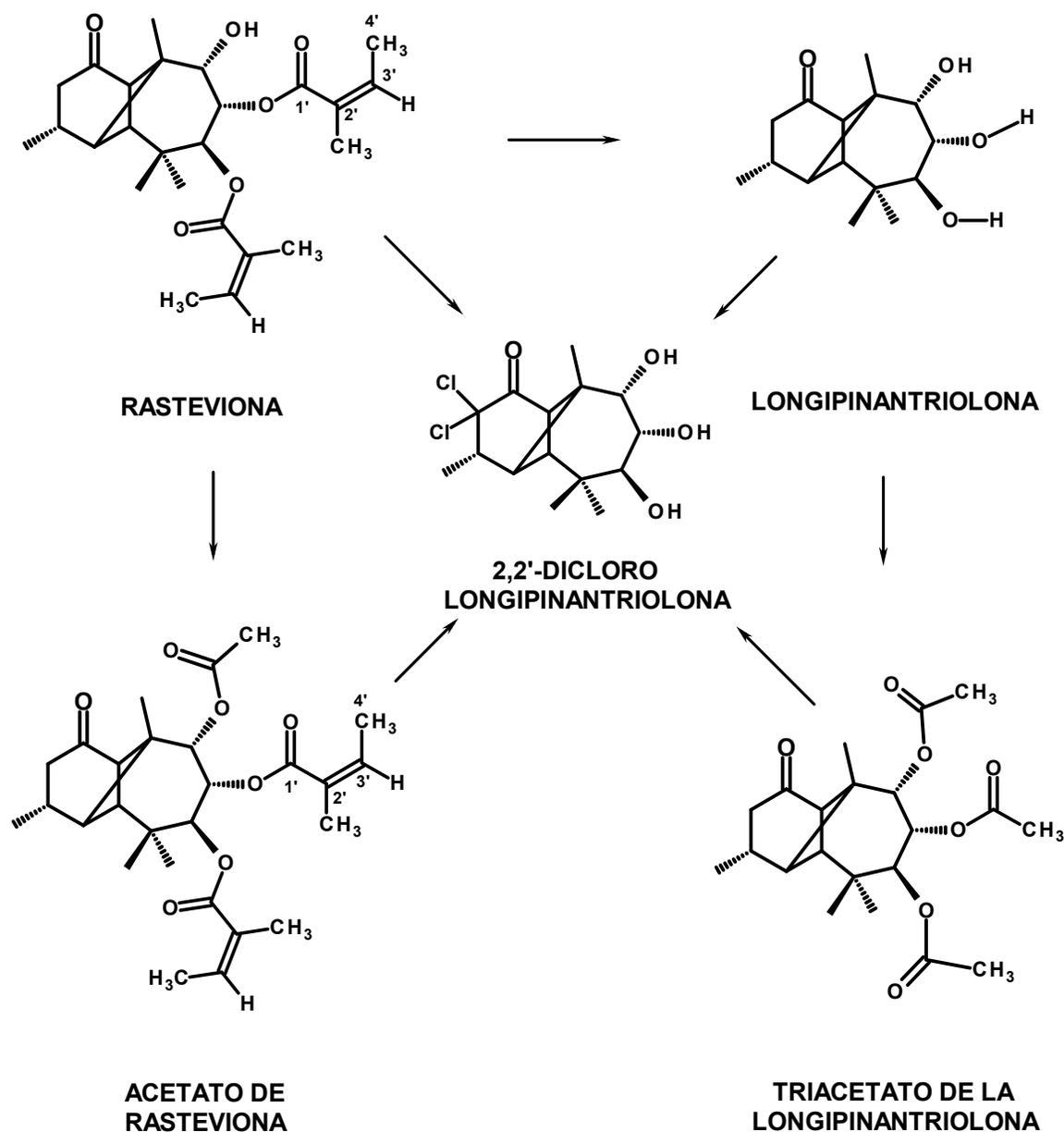
9), 3.03 (1H, d, $J=5.6$ Hz, H-11), 2.58 (1H, dd, $J=19.1, 8.6$ Hz, H-2 α), 2.14 (1H, dd, $J=19.1, 8.6$ Hz, H-2 β), 2.36 (1H, m, H-3), 2.28 (1H, d, $J=5.7$ Hz, H-4), 2.16 (3H, s, AcO-9), 2.07 (3H, s, AcO-8), 1.96 (3H, s, AcO-7), 1.84 (1H, s, H-5) 1.11 (3H, d, $J=6.8$ Hz, Me-15), 1.05 (3H, s, Me-12), 0.95 (3H, s, Me-14), 0.88 (3H, s, Me-13).

OBTENCION DE LA **2,2'-DICLORO-7 β ,8 α ,9 α -LONGIPINANTRIOLONA**

Tomando en consideración que partiendo de cualesquiera (**63**; **72** o **73**), en las condiciones de la reacción de cloración, estas condiciones llevan a cabo tanto el proceso de cloración, como la hidrólisis de los ésteres, ya sean angelatos o acetatos, por lo que con ellas ocurre la cloración en la posición alfa al carbonilo C-1 del anillo de seis miembros en el esqueleto de Longipinano y la hidrólisis de los ésteres dando sólo el producto de sustitución en la posición alfa o C-2 y la hidrólisis de los ésteres respectiva, con la que pudo obtenerse la 2,2'-dicloro-7 β ,8 α ,9 α -Longipinatriolona (**75**) como un sólido blanco cristalino de p.f. 194-197°C y que las reacciones efectuadas para obtenerla, ya optimizadas la secuencia es mostrada en el **ESQUEMA II**.



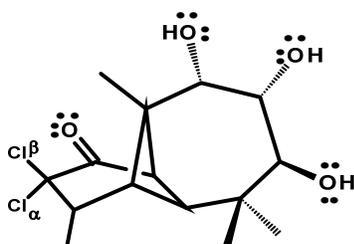
2,2'-dicloro-Longipinatriolona (75)



ESQUEMA II

El espectro de RMN de ^1H de la 2,2'-dicloro-7 β ,8 α ,9 α -Longipinatriolona (**75**) en CDCl_3 , es mostrado en la **Figura 16**, en el que queda el campo de barrido espectral también en el rango comprendido desde 0 a 4.0 ppm, por las mismas razones expuestas

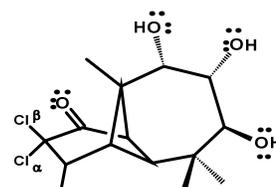
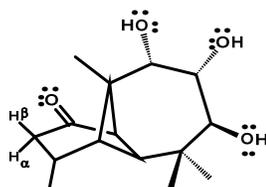
para la 7 β ,8 α ,9 α -Longipinatriolona (**73**), en el que además de la ausencia de los protones vinílicos de los angelatos; los protones base de los ésteres α,β -insaturados y también las señales desplazadas en la región de campo alto correspondientes a los doce hidrógenos de los cuatro metilos vinílicos de los angelatos y adicionalmente ahora las señales desplazadas en 2.56 ppm como una señal doble de dobles, con una constante de acoplamiento de 19.1 y 8.6 Hz que integró para un hidrógeno, asignada al hidrógeno alfa sostenido en C-2 (1H, dd, $J = 19.1, 8.6$ Hz, H-2 α) y la señal desplazada en 2.14 ppm como una señal doble de dobles, con una constante de acoplamiento de 19.1 y 6.2 Hz que integró para un hidrógeno, asignada al hidrógeno beta sostenido



H-1	-----	
H-2a	-----	
H-2b	-----	
H-3	3.02 dq	$J = 1.3$ Hz ; $J = 6.8$ Hz
H-4	2.11 d	$J = 6.1$ Hz
H-5	2.55 s	
H-6	-----	
H-7	3.68 d	$J = 10.7$ Hz
H-8	3.75 dd	$J = 3.1$ Hz ; $J = 10.7$ Hz
H-9	3.86 d	$J = 3.1$ Hz
H-10	-----	
H-11	3.27 d	$J = 6.1$ Hz
Me-12	1.14 s	
Me-13	0.94 s	
Me-14	1.05 s	
Me-15	1.38 d	$J = 6.8$ Hz

TABLA III.- Desplazamientos Químicos de las señales de RMN¹H de la 2,2'-dicloro-7 β ,8 α ,9 α -Longipinatriolona (**75**).

en C-2 (1H, dd, $J = 19.1, 6.2$ Hz, H-2 β) correspondientes al único metileno que posee esta estructura, el cual ya no aparecen estas señales por la ocupación de los cloros; el resto de las señales pueden ser apreciadas en la **TABLA III** y **TABLA IV**, en donde se muestran los valores de los desplazamientos químicos así como como también sus respectivas constantes de acoplamiento para los productos de hidrólisis 7 β ,8 α ,9 α - Longipinatriolona (**73**) y de hidrólisis y cloración 2,2'-dicloro-7 β ,8 α ,9 α -Longipinatriolona (**75**).



H-1	-----		H-1	-----	
H-2a	2.56 dd	$J = 19.1$ Hz ; $J = 8.5$ Hz	H-2a	-----	
H-2b	2.15 dd	$J = 19.1$ Hz ; $J = 6.2$ Hz	H-2b	-----	
H-3	2.34 m		H-3	3.02 dq	$J = 1.3$ Hz ; $J = 6.8$ Hz
H-4	2.04 d	$J = 5.6$ Hz	H-4	2.11 d	$J = 6.1$ Hz
H-5	1.77 s		H-5	2.55 s	
H-6	-----		H-6	-----	
H-7	3.66 d	$J = 10.4$ Hz	H-7	3.68 d	$J = 10.7$ Hz
H-8	3.81 m		H-8	3.75 dd	$J = 3.1$ Hz ; $J = 10.7$ Hz
H-9	3.84 s		H-9	3.86 d	$J = 3.1$ Hz
H-10	-----		H-10	-----	
H-11	2.90 d	$J = 5.6$ Hz	H-11	3.27 d	$J = 6.1$ Hz
Me-12	1.05 s		Me-12	1.14 s	
Me-13	0.95 s		Me-13	0.94 s	
Me-14	1.04 s		Me-14	1.05 s	
Me-15	1.08 d	$J = 6.8$ Hz	Me-15	1.38 d	$J = 6.8$ Hz

TABLA IV.- Comparación de los Desplazamientos Químicos de las señales de RMN¹H de la 7 β ,8 α ,9 α - Longipinatriolona (**73**) y de la 2,2'-dicloro-7 β ,8 α ,9 α -Longipinatriolona (**75**).

OBTENCION DE UN PRODUCTO DE REARREGLO

La continuación de los estudios relativos a la reactividad del esqueleto de longipinano, tomando como punto de partida a la rasteviona (**63**) y considerando los antecedentes relativos a las reacciones que conducen a la promoción de reordenamientos moleculares o rearreglos que dan nuevos sesquiterpenos tricíclicos ahora con sistemas carbocíclicos halogenados, nuestro interés particular es establecer la ruta de formación de un morelieno clorado para obtener nuevos derivados diclorados de este sesquiterpeno no natural rearreglado.

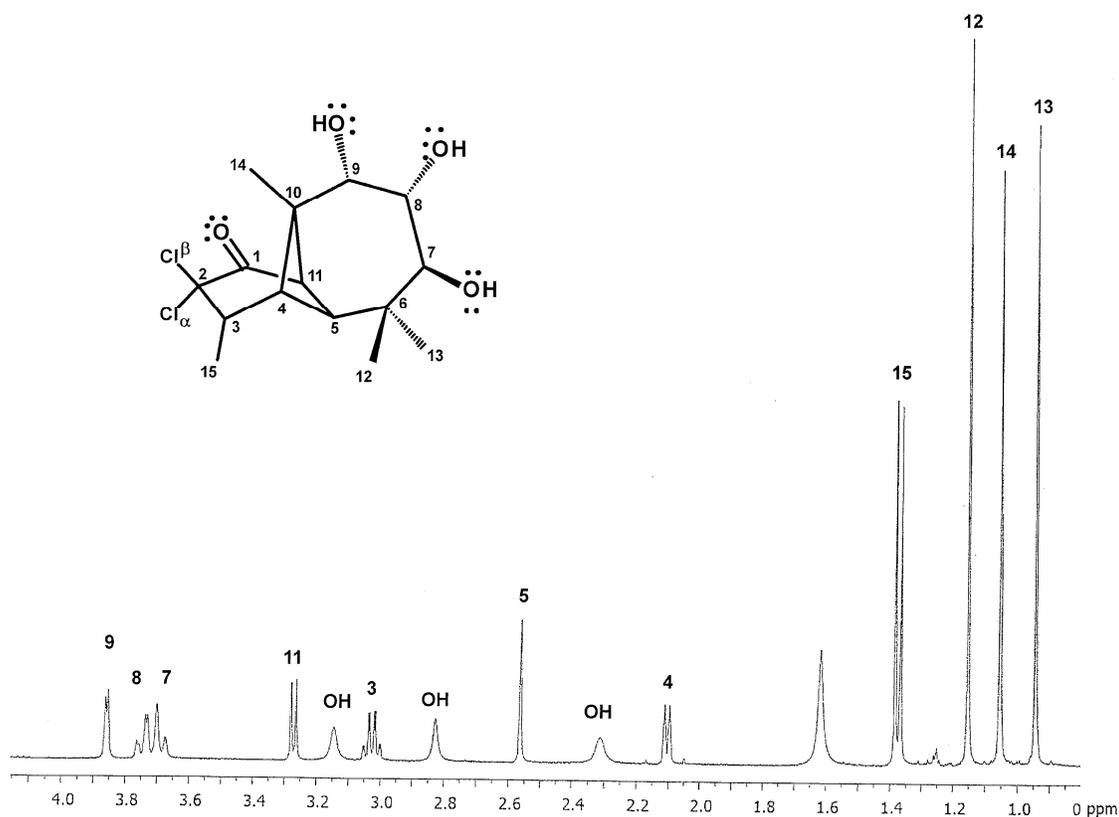
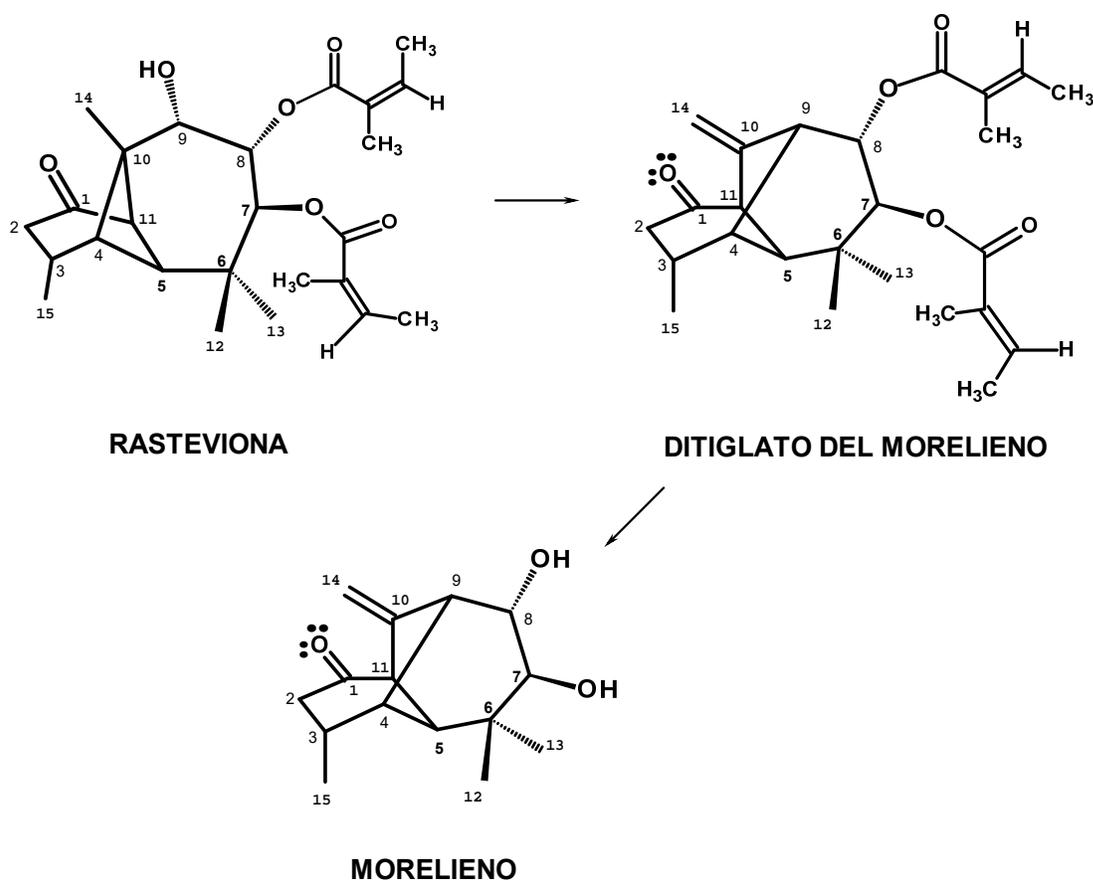


Figura 16.- Espectro de RM¹H de la 2,2'-dicloro-7β,8α,9α-Longipinatriolona (75).

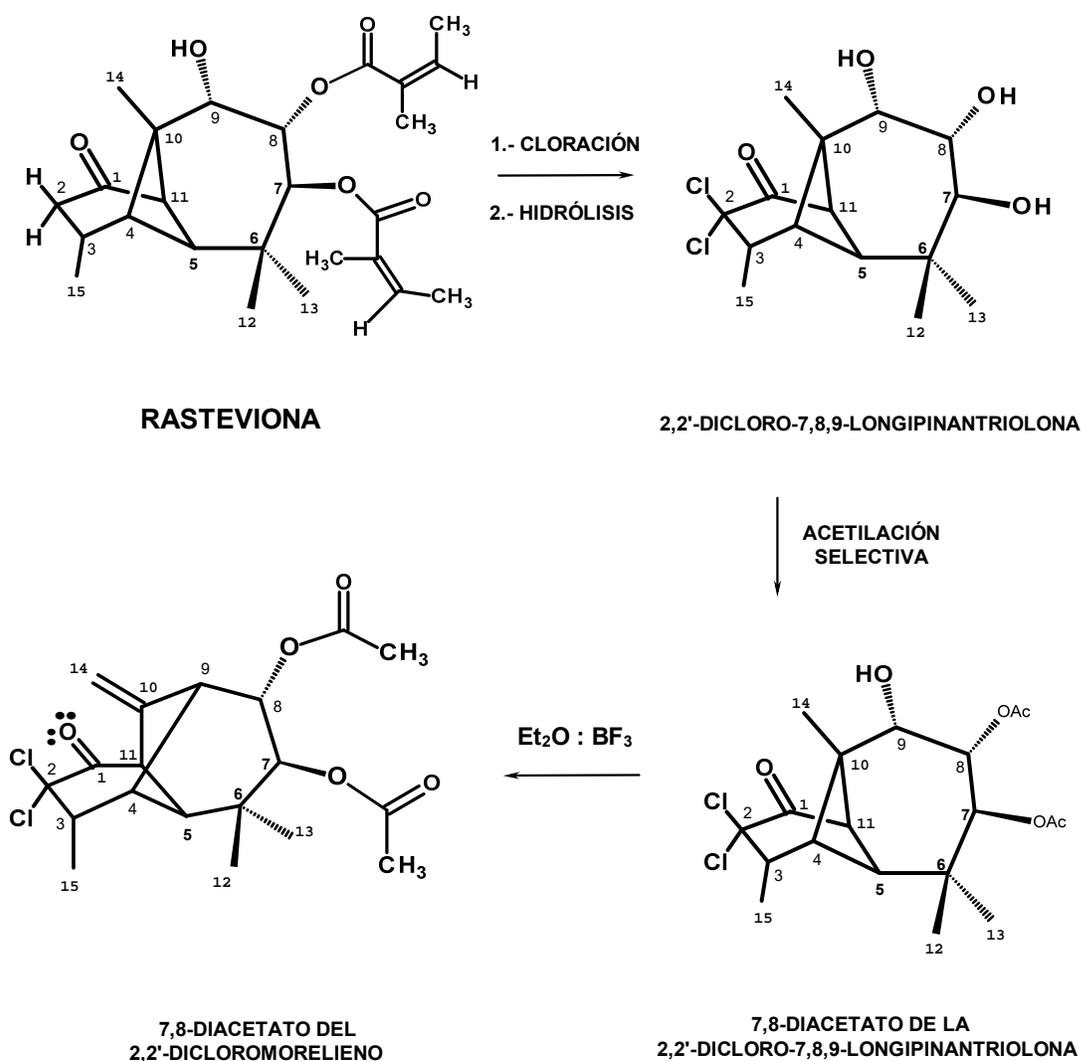
Los antecedentes para la obtención del morelieno (**77**) a partir de las reacciones desde la rasteviona (**63**), por su tratamiento con ácido *p*-toluensulfónico el cual promovió el rearrreglo de Wagner-Meerwein hacia el ciclo de siete miembros, dando el producto rearrreglado además de la isomerización de los ésteres angélicos a los tiglatos respectivos (**76**) como es mostrado en el **ESQUEMA III**, en estudios posteriores los rearrreglos de Wagner-Meerwein fueron promovidos cambiando tanto la naturaleza del ácido, como la estructura de la materia prima.

Ante los esquemas antes mencionados, el trabajo de la presente tesis consistió en el estudio de la obtención de un derivado diclorado rearrreglado a partir del metabolito natural rasteviona (**63**) mediante dos rutas alternas representadas en los **ESQUEMAS IV y V**.



ESQUEMA III

Se llevó a cabo la acetilación selectiva de la 7 β ,8 α ,9 α -Longipinatriolona (**73**) al someter 1 g disuelto en 4 ml de piridina y 4 ml de anhídrido acético, dejándolos reaccionar durante 24 h a 4 °C en el refrigerador y una vez transcurrido este tiempo, a la mezcla de reacción, se le hizo el tratamiento mediante lavados sucesivos, como en el caso de los lavados realizados para la obtención del triacetato de la 7 β ,8 α ,9 α -Longipinatriolona (**74**); el diacetato respectivo obtenido (**78**) fue un aceite ligeramente amarillento, que su espectro de RMN de ^1H en CDCl_3 , es mostrado en la **Figura 17**, y las asignaciones de todas y cada una de las señales se hicieron por la comparación con el espectro barrido de una muestra auténtica.



ESQUEMA IV

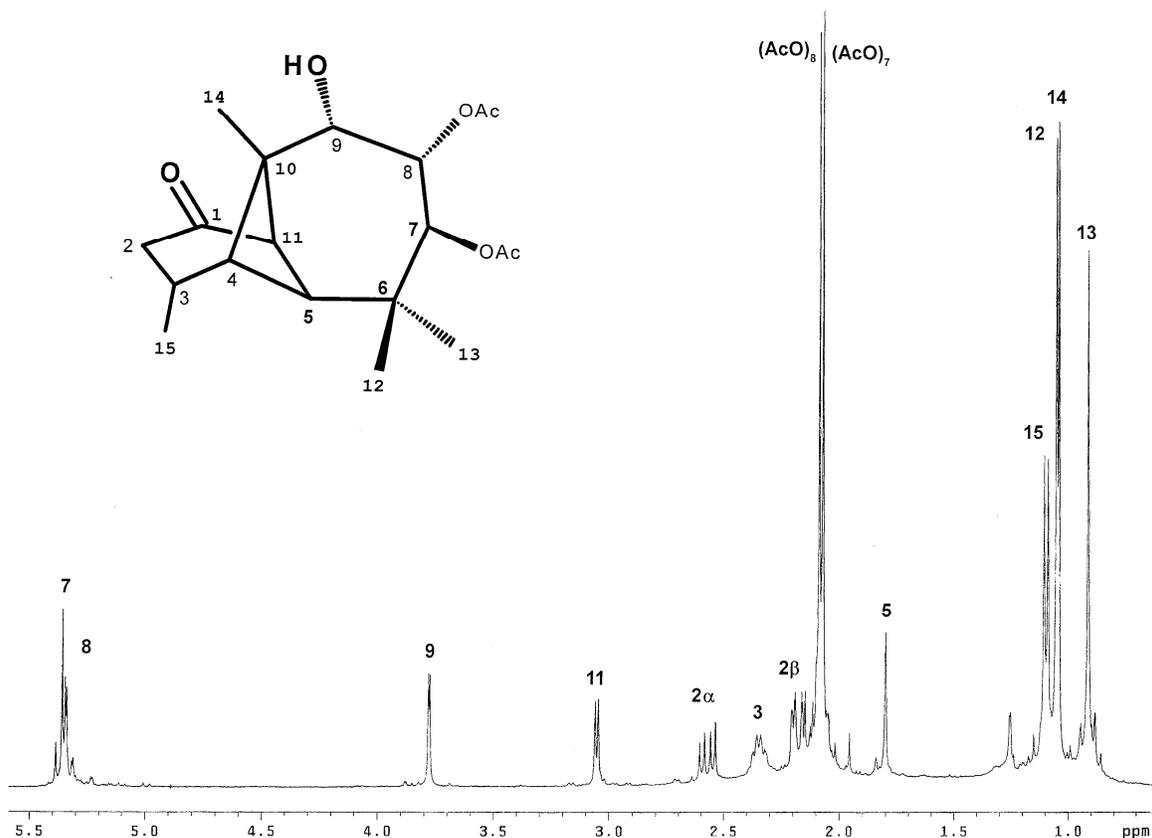


Figura 17.- Espectro de RM¹H del 7β,8α- Diacetato de la 7β,8α,9α-Longipinatriolona (78).

Similarmente la acetilación selectiva de la 2,2'-Dicloro-7β,8α,9α-Longipinatriolona (**75**) sometiendo 100 mg disueltos en 0.5 ml de piridina y 0.5 ml de anhídrido acético, y luego dejándolos reaccionar durante 4 h a 4°C en el refrigerador y una vez transcurrido este tiempo, a la mezcla de reacción, se le hizo el tratamiento mediante lavados sucesivos, como en el caso de los lavados realizados para la obtención del triacetato de la 7β,8α,9α-Longipinatriolona (**74**); en estas condiciones no se obtuvo el Diacetato de la 2,2'-Dicloro-7β,8α,9α-Longipinatriolona esperado (**79**), sino que dio principalmente el 2,2'-dicloro-7β,8α,9α-triacetato de la 7β,8α,9α-Longipinatriolona (**80**), como un aceite amarillento, que en su espectro de RMN de ¹H en CDCl₃, mostrado en la **Figura 18**.

Las condiciones de acetilación selectiva elegidas para la 2,2'-Dicloro-7 β ,8 α ,9 α -Longipinatriolona (**75**) resultaron excedidas por lo que se modificaron primero en tiempo, por lo que un nuevo lote fue sometido con 70 mg disueltos en 0.3 mL de piridina y 0.3 mL de anhídrido acético, y luego dejándolos reaccionar durante 2h a 4°C en el refrigerador y una vez transcurrido este tiempo, a la mezcla de reacción, se le hizo el tratamiento mediante

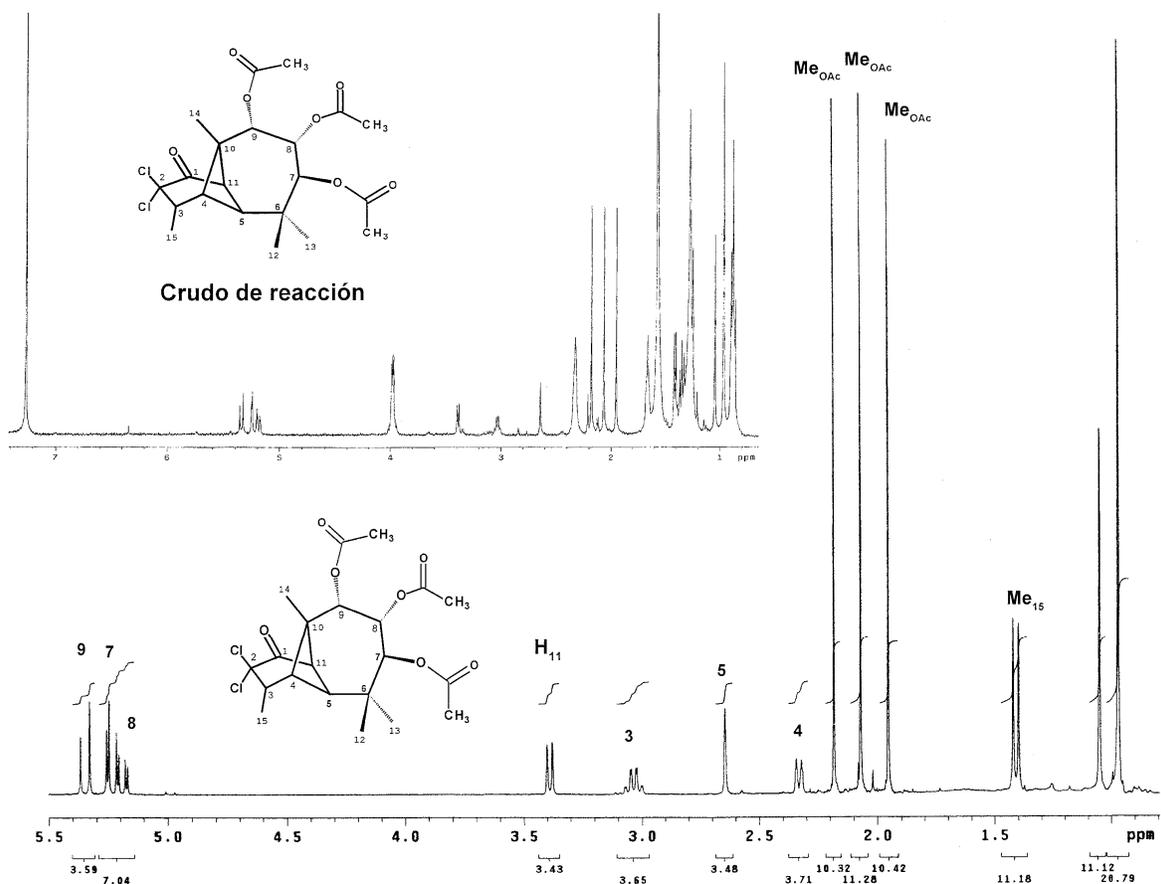
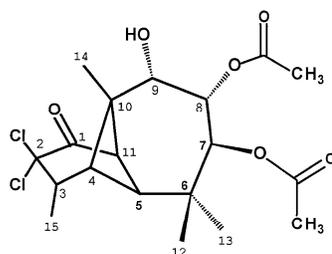
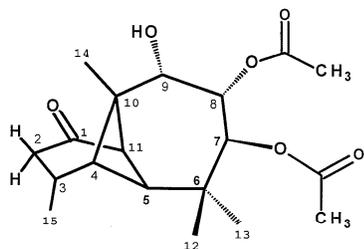


Figura 18.- Espectro de RMN¹H del 2,2'-Dicloro del 7 β ,8 α ,9 α -Triacetato de la 7 β ,8 α ,9 α -Longipinatriolona (**80**).

lavados sucesivos, como en los casos anteriores y ahora sí en estas condiciones se obtuvo el 7 β ,8 α -Diacetato de la 2,2'-Dicloro-7 β ,8 α -9 α -Longipinatriolona esperada (**79**), como un aceite amarillento, que en su espectro de RMN de ¹H en CDCl₃, es mostrado en la **Figura 19**, todas las asignaciones de cada una de las señales se hicieron por la comparación de los desplazamientos químicos ahora con el 7 β ,8 α -diacetato de la 7 β ,8 α ,9 α -Longipinatriolona (**78**). En un intento de

obtener un derivado mesilado en C-9, para tener un mejor grupo saliente es esta posición que pudiera facilitar el rearrreglo con el tratamiento ácido con el eterato de trifluoruro de boro, esto no pudo



H-1	-----	H-1	-----
H-2 α	2.57 dd J = 19.0 Hz ; J = 8.5 Hz	H-2 α	-----
H-2 β	2.16 dd J = 19.0 Hz ; J = 6.1 Hz	H-2 β	-----
H-3	2.35 m	H-3	3.04 dq J = 1.2 Hz ; J = 6.7 Hz
H-4	2.20 d J = 4.6 Hz	H-4	2.25 d J = 6.2 Hz
H-5	1.80 s	H-5	2.61 s
H-6	-----	H-6	-----
H-7	5.38 d J = 11.2 Hz	H-7	5.38 d J = 11.2 Hz
H-8	5.34 dd J = 11.2 Hz ; J = 2.4 Hz	H-8	5.24 dd J = 11.2 Hz ; J = 2.8 Hz
H-9	3.77 d J = 2.0 Hz	H-9	3.80 d J = 2.8 Hz
H-10	-----	H-10	-----
H-11	3.06 d J = 5.7 Hz	H-11	3.43 d J = 6.2 Hz
Me-12	1.05 s	H-12	1.14 s
Me-13	0.91 s	H-13	0.94 s
Me-14	1.05 s	H-14	1.15 s
Me-15	1.10 d J = 6.8 Hz	H-15	1.40 d J = 6.8 Hz
Me(AcO) ₈	2.09 s	Me(AcO) ₈	2.09 s
Me(AcO) ₇	2.07 s	Me(AcO) ₇	2.08 s

TABLA V.- Comparación de los Desplazamientos Químicos de las señales de RMN¹H de los 7 β ,8 α -Diacetatos las 7 β ,8 α ,9 α -Longipinatriolona (**78**) y de la 2,2'-dicloro-7 β ,8 α ,9 α -Longipinatriolona (**79**).

lograrse exitosamente, ya que la mesilación no ocurre completamente y la mezcla obtenida no se logró purificar al tratar de separar la materia prima del mesilato respectivo, el cual posiblemente se descompone, el espectro de RMN de ¹H es mostrado en la **Figura 20**, debido a este hecho se decidió llevar a cabo el rearrreglo mostrado en el **ESQUEMA V**, haciendo el tratamiento directo del 7 β ,8 α -Diacetato de la 2,2'-Dicloro-7 β ,8 α -9 α -Longipinatriolona (**79**) con el eterato de trifluoruro de boro para dar el producto transpuesto correspondiente al diacetato del morelieno clorado (**82**) como único producto y la segunda

ruta de obtención se llevó a cabo mediante la cloración directa del Morelieno obtenido a partir de la metodología tradicional y luego la acetilación del morelieno clorado mostrado en el **ESQUEMA V**.

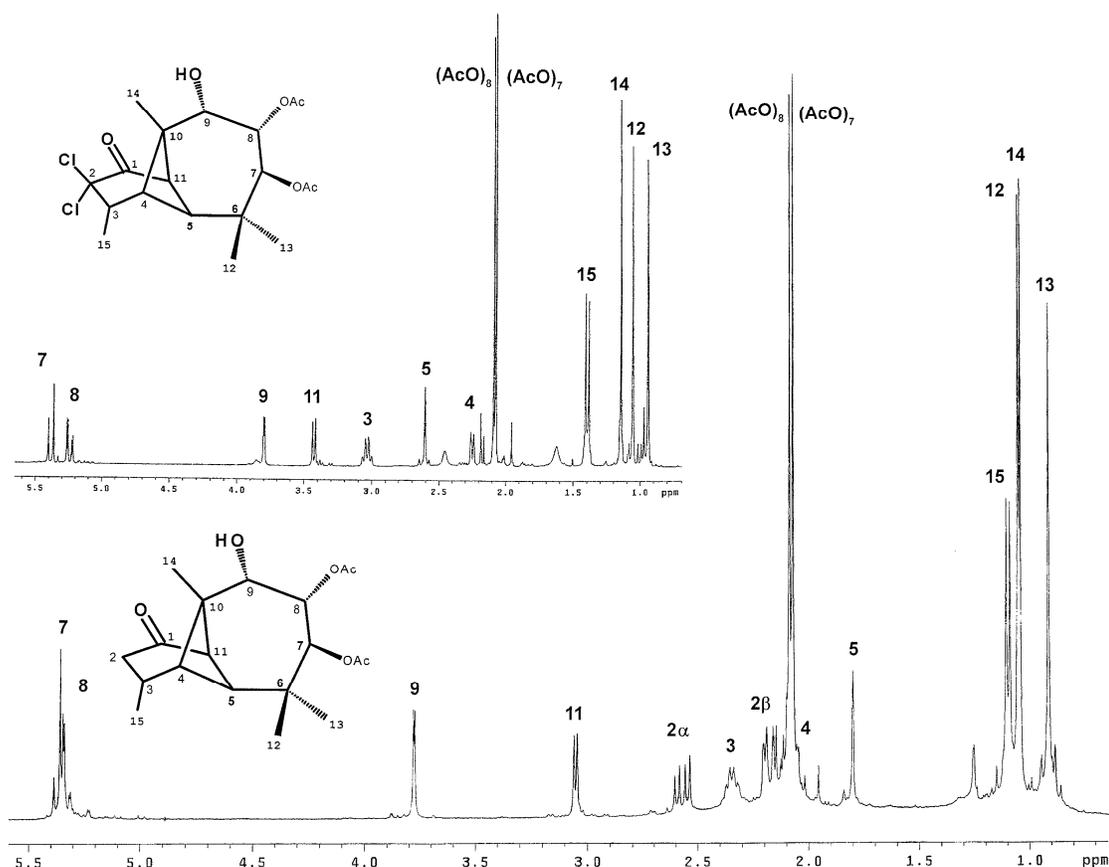


Figura 19.- Espectros de RMN¹H del 7 β ,8 α -Diacetato de la 7 β ,8 α ,9 α -Longipinatriolona (**78**) (Parte superior) y del 7 β ,8 α -Diacetato del 2,2'-Dicloro-7 β ,8 α ,9 α -Longipinatriolona (**79**) (Parte inferior).

Para la obtención del morelieno clorado (**83**), se propuso dos rutas alternas para llegar a él, desde Rasteviona (**63**), hasta la 7 β ,8 α -Diacetato del 2,2'-Dicloro-7 β ,8 α ,9 α -Longipinatriolona (**79**), y luego éste, fue sometido con eterato de trifloruro de boro para dar el producto transpuesto correspondiente al diacetato del morelieno

clorado (**82**), sin que los acetatos se hidrolizaran, dando únicamente un sólo producto y la segunda ruta de obtención se llevó a cabo mediante la cloración del Morelieno, el cual fue obtenido desde Rasteviona (**63**), posteriormente la hidrólisis de los tiglatos y finalmente la acetilación del morelieno clorado mostrado en el **ESQUEMA V**.

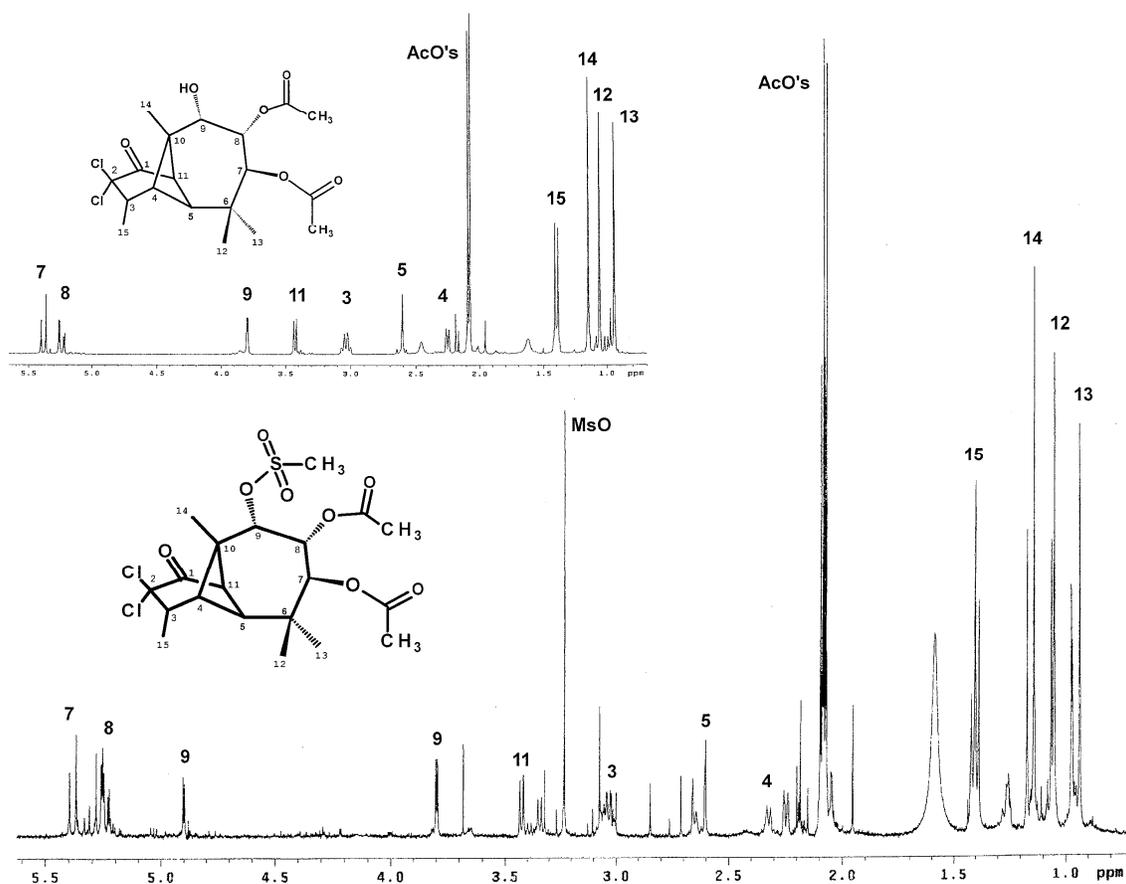
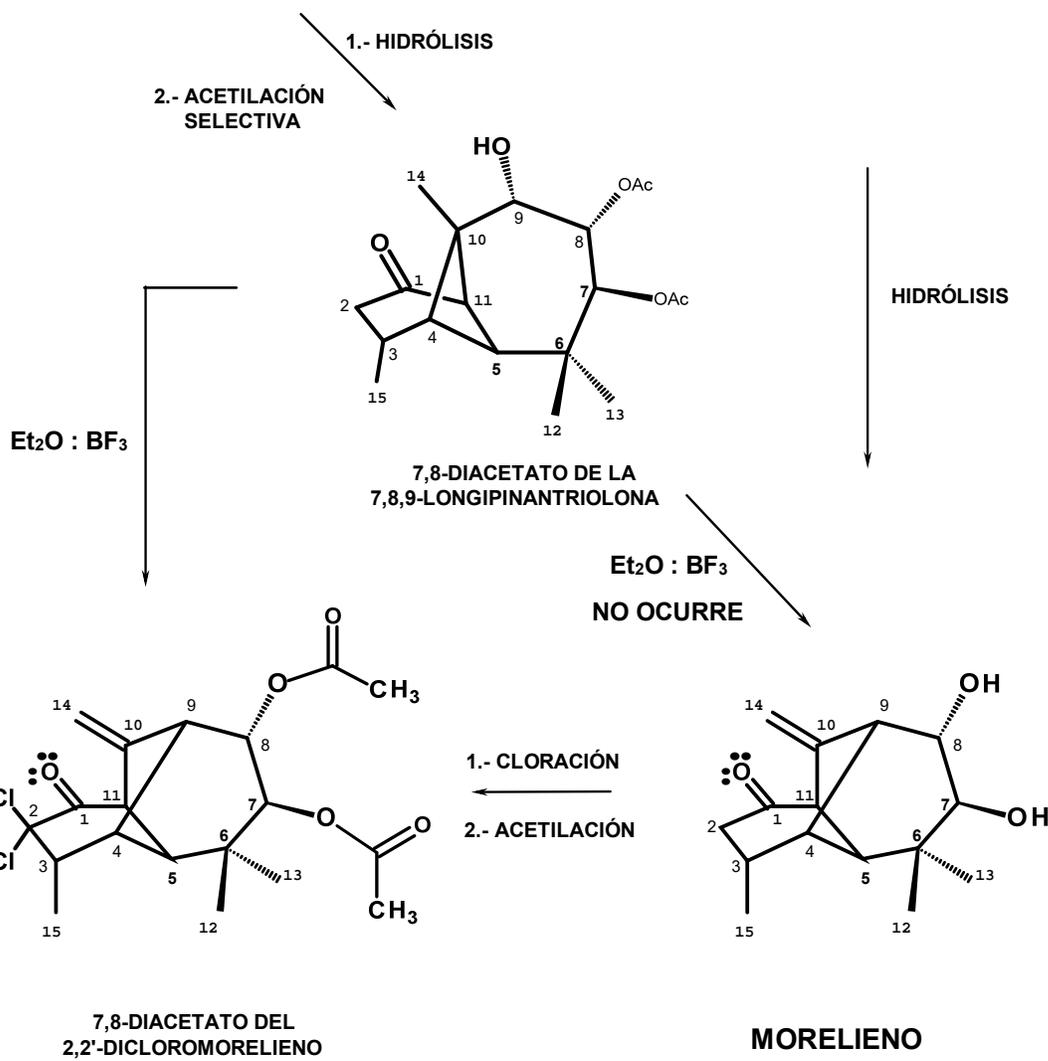
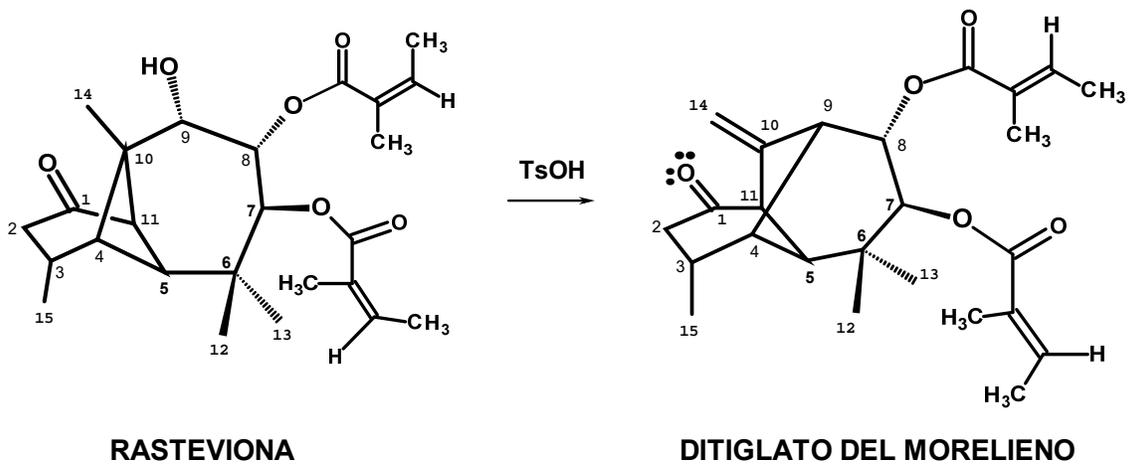


Figura 20.- Espectros de RMN¹H del 7 β ,8 α -Diacetato del 2,2'-Dicloro-7 β ,8 α ,9 α -Longipinatriolona (**79**) (Parte superior) y del 7 β ,8 α -Diacetoxi-9 α -mesiloxi de la 7 β ,8 α ,9 α -Longipinatriolona (**81**) (Parte inferior).



ESQUEMA V

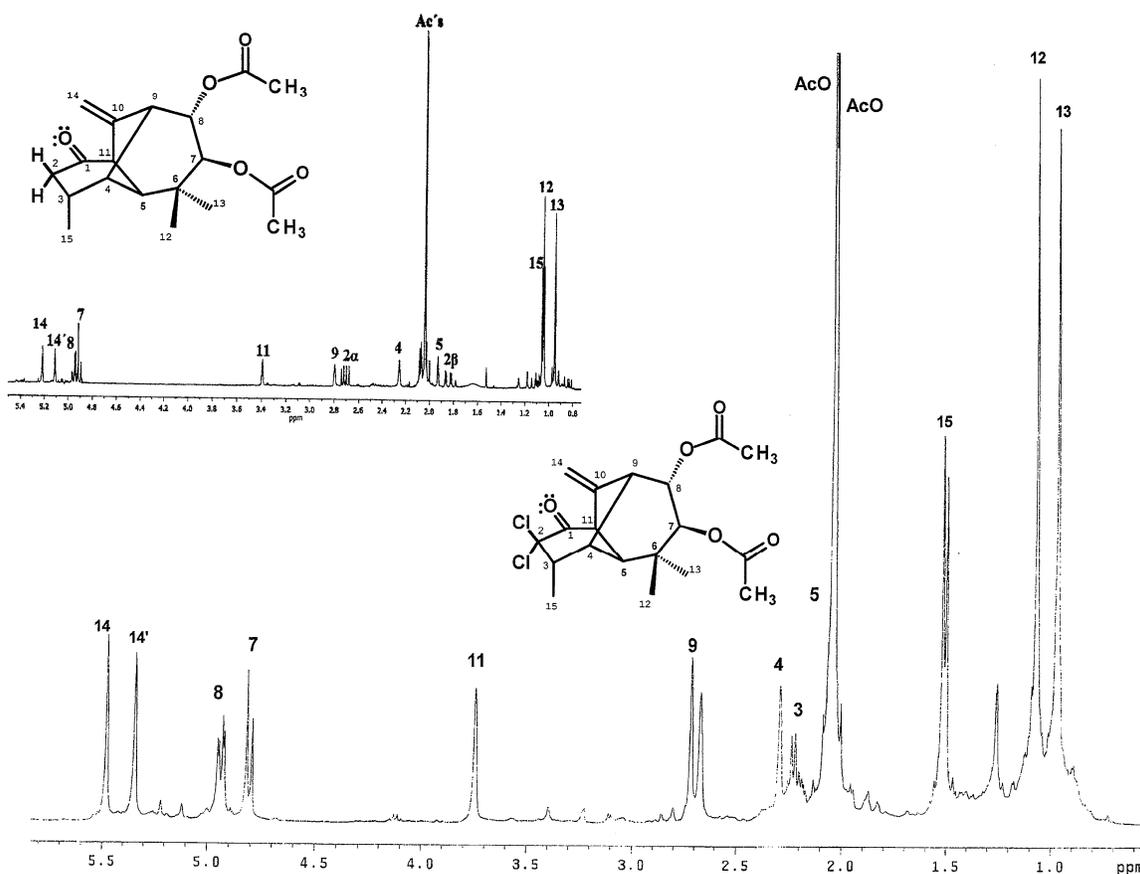


Figura 21.- Espectros de RMN¹H del 7 β ,8 α -Diacetato del 10(14) - Morelieno (**82**) (Parte superior) y 7 β ,8 α -Diacetato del 2,2'-Dicloro-10(14)-Morelieno (**83**) (Parte inferior)

En la **Figura 22** son mostrados los respectivos espectros de RMN de ¹H del Diacetato del Morelieno clorado (**82**) obtenido como un aceite. Las asignaciones de las señales se hicieron en base a los datos reportados en la literatura para el diacetato del morelieno no clorado y las asignaciones de los desplazamientos para el diacetato del morelieno clorado se llevaron a cabo por comparación con las señales del morelieno no clorado; el morelieno clorado es nuevo compuesto derivado de este esqueleto.

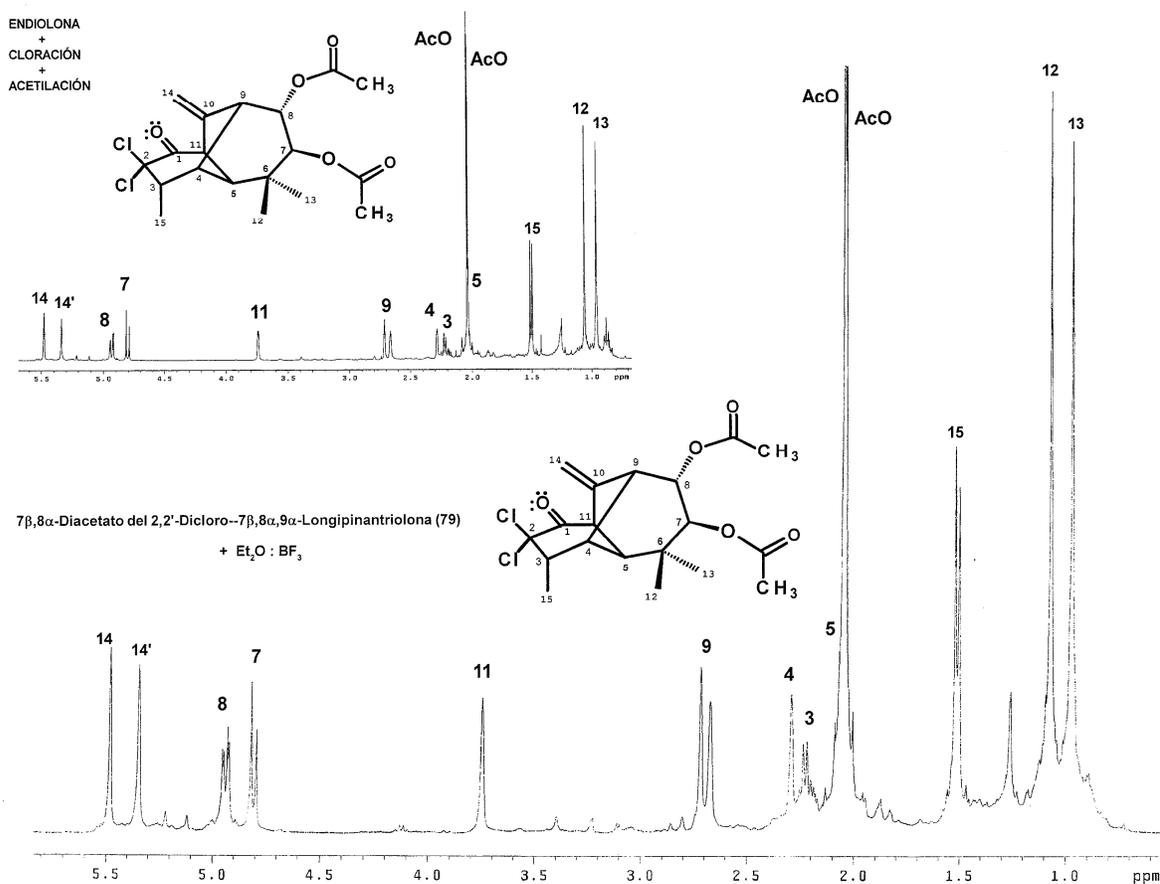


Figura 22.- Espectros de RMN¹H de las dos rutas de obtención del 7β,8α-Diacetato del 2,2'-Dicloro-10(14)-Morelieno (82) (Parte superior) y (Parte inferior).

CONCLUSIONES

La cloración se llevó a cabo en distintas condiciones de reacción.

- 1.- Se logró obtener los productos clorados de los derivados de longipineno a partir de la rasteviona aislada del extracto hexánico de las raíces de *Stevia serrata* Cav. en los que en las condiciones de cloración la rasteviona no experimentó reacciones de transposición.
- 2.- Las condiciones de cloración se llevaron a cabo con el hipoclorito de sodio en piridina e hidróxido de sodio en la que la rasteviona así como la longipinatriolona y los tri y diacetatos, de la longipinatriolona, todos ellos dieron la 2,2'-dicloro longipinatriolona como un sólido cristalino de p.f. 195-197°C, el cual fue caracterizado por sus propiedades espectroscópicas de RMN de ^1H y RMN de ^{13}C .
- 3.- La 2,2'-diclorolongipinatriolona al ser sometida en condiciones ácidas de transposición no fue exitosa la transformación.
- 4.- Se repitió el mismo tratamiento con el $7\beta,8\alpha$ -diacetato de la 2,2'-diclorolongipinatriolona el que generó el producto transpuesto sin la hidrólisis de los acetatos, correspondiente al diacetato de la endiolona ó Morelieno clorado.
- 5.- La ruta alterna para la obtención del Morelieno clorado consistió en obtener primero el morelieno en dos etapas y luego la cloración y posteriormente la acetilación respectiva, en el cual el primer tratamiento fue el eficaz.

BIBLIOGRAFÍA

1. Pittendrigh, C. S., The quantitative evaluation of *Kerteszia* breeding ground., *Amer. J. trop. Med.*, **30**:457-68, 1950.
2. Komp, W. H. W. & Osorno, M. E., The male and the larva of *Anopheles (Kerteszia) boliviensis* Theobald., *Ann. entomol. Soc. Amer.*, **29**:415-9, 1936.
3. Zavortink, T. J., Mosquitoes studies (Diptera: Culicidae)) XXXIX. A review of the subgenus *Kerteszia* of *Anopheles*. *Contr. Amer.Ent. Inst.*, **9**:1-59, 1973.
4. Fonseca, F. da & Correa, R. R. Infecção experimental de *Anopheles (Kerteszia) cruzi* pelo *Plasmodium vivax*. *Mem. Inst. Butantan*, **15**:91-9, 1941.
5. M. Womack (1993). «The yellow fever mosquito, *Aedes aegypti*». *Wing Beats* **5** (4): 4.
6. Alto, B.W.; Reiskind, M.H.; Lounibos, L.P. 2008: Size alters susceptibility of vectors to dengue virus infection and dissemination. *American journal of tropical medicine and hygiene*, 79(5): 688–695
7. Cresswell, J.E., A meta-analysis of experiments testing the effects of a neonicotoid insecticide (Imidacloprid) on honey bees., *Ecotoxicology* , **20**, 149-157 (2011)

8. Schneider, C.W., Tautz, J., GrÜ newald, B. & Fuchs, S., RFID tracking of sublethal effects of two neonicotinoids insecticides on the fraging behavior of *Apis mellifera*, PLoS ONE , 7, e30023 (2012).
9. Krogmeier, Michael J.; McCarty, Gregory W.; Bremner, John M. (1 de noviembre de 1989). «Phytotoxicity of foliar-applied urea». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United |States of America* **86** (21): 8189-8191 9.
10. Díaz M., Ronco A. y Pica Y. (2008). Ensayo de toxicidad aguda con bulbos de cebolla *Allium cepa* L. mediante la evaluación de la inhibición del crecimiento promedio de raíces En: Ensayos toxicológicos para la evaluación de sustancias químicas en agua y suelo, la experiencia en México (P. Ramírez y A. Mendoza Eds.). Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, Instituto Nacional de Ecología. México, pp. 33-40.
11. Betz, F.S.; Hammond, B.G.; Fuchs, R.L. (2000). "Safety and advantages of *Bacillus thuringiensis*-protected plants to control pests". *Regul. Toxicol. and Pharmacol.* **32**: 156–173 11.
12. Simpson, Michael G. «*Asteraceae (Compositae)*». *Plant Systematics*. Elsevier Inc. pp. 326-331, (2005).
13. Judd, W. S.; C. S. Campbell, E. A. Kellogg, P. F. Stevens, M. J. Donoghue «*Asteraceae*». *Plant Systematics: A Phylogenetic Approach*, Third edition. Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates. pp. 508-515, (2007).
14. Soltis, D. E.; Soltis, P. F., Endress, P. K., y Chase, M. W. «*Asterales*». *Phylogeny and evolution of angiosperms*. Sunderland, MA: Sinauer Associates. pp. 224-225, (2005).

15. Watson, L.; Dallwitz, M. J. "*Compositae*". The families of flowering plants: descriptions, illustrations, identification, and information retrieval. Version: 1st June 2007.
16. Jeffrey, C., *Compositae*: Introduction with key to tribes. Pages 61-87, 2007, in Families and Genera of Vascular Plants, vol. VIII, Flowering Plants, Eudicots, (J. W. Kadereit and C. Jeffrey, eds.). Springer-Verlag, Berlin.
17. Rzedowski, G. C. de y J. Rzedowski, 2008. *Compositae*. Tribu Heliantheae (I). En: Rzedowski, G. C. de y J. Rzedowski (eds.). Flora del Bajío y de regiones adyacentes. Fascículo 157. INECOL Centro Regional del Bajío. CONACYT y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Pátzcuaro, Michoacán, México.
18. Raven, Peter; Otto T. Solbrig, Donald W. Kyhos and Richard Snow. Chromosome numbers in *Compositae*. I. *Astereae*. *American Journal of Botany*, Vol. 47, No. 2 pp. 124-132, (1960).
19. Cronquist, A., «Phylogeny and taxonomy of the *Compositae*». *Amer. Midl. Nat.* 53:pp. 478-511, (1955).
20. McVaugh, R., 1984. *Compositae*. Flora Novo-Galiciana. A descriptive account of the vascular plants of Western Mexico, Vol. 12. The University of Michigan Press, Ann Arbor, Michigan.
21. Cronquist, A., «The *Compositae* revisited». *Brittonia* 19: pp. 137-153, (1977). Abrams, L. y R. S. Ferris, 1960. Bignonias to Sunflowers. *Illustrated Flora of the Pacific States* 4: 732.
22. Cronquist, A., 1980. *Asteraceae*. Vascular Flora of the Southeastern United States 1. The University of North Carolina Press, Chapel Hill, North Carolina.

23. Cronquist, A., A. H. Holmgren, N. H. Holmgren, J. L. Reveal, P.K. Holmgren (eds.), 1994. Vascular Plants of the Intermountain West, U.S.A. Intermountain Flora 5: 1-496.
24. Nesom, G. L., 2006. *Stevia*. En: Flora of North America Editorial Committee (eds.). Flora of North America. North of Mexico. Vol. 21. Oxford University Press. New York.
25. Espinosa, F. J. y J. Sarukhán, 1997. Manual de Malezas del Valle de México. Claves, descripciones e ilustraciones. UNAM, México. Fondo de Cultura Económica. México, D. F.
26. Martínez, M., 1979. Catálogo de nombres vulgares y científicos de plantas mexicanas. Fondo de Cultura Económica. México, D.F.
27. Villaseñor Ríos, J. L. y F. J. Espinosa García, 1998. Catálogo de malezas de México. Universidad Nacional Autónoma de México. Consejo Nacional Fitosanitario. Fondo de Cultura Económica. México, D.F.
28. Dávila, P. y V. Sosa. 1994. El conocimiento florístico de México. *Bol. Soc. Bot. Méx.* 55: 21–27.
29. Rzedowski, G. C. de y J. Rzedowski, 2001. Flora fanerogámica del Valle de México. 2a ed. INECOL y Comisión Nacional para el conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Pátzcuaro, Michoacán, México.
30. Gleason, H. A. y A. Cronquist, 1991. Manual of the vascular plants of northeastern United States and adjacent Canada. 2a. ed. The New York Botanical Garden. Bronx, New York, USA.
31. Hitchcock, C. L., A. Cronquist, M. Ownbey y J. W. Thompson, 1984. Compositae. Vascular Plants of the Pacific Northwest Part V. University of Washington Publications in Biology 17 (1): 1-914.

32. Felipe, G.M. *Stevia rebaudiana* Bert.: uma revisao. *Ciencia e Cultura* 29 (11) 1240-1248. 1977. II Seminario Brasileiro sobre *Stevia rebaudiana*.
33. Maki KC et al: Chronic Consumption of Rebaudioside A, a Steviol Glycoside, in Men and Women with Type 2 Diabetes Mellitus. *Food Chem Toxicol.*, 46(S7):S47S53, 2008.
34. Pruski, J. F. & G. Sancho. 2004. Asteraceae or Compositae (Aster or Sunflower Family). 33–39. In N. Smith & et al. (eds.) *Fl. Pl. Neotrop.* Princeton University Press, Princeton.
35. Bueno, Antonio. 2002. Antonio José Cavanilles (1745-1804). La pasión por la Ciencia. Madrid: Fundación Jorge Juan González Bueno, Antonio. 2002. Tres botánicos de la ilustración. Gómez Ortega, Cavanilles y Zea. Madrid: Nivola.
36. Laguna Lumbreras, Emilio. 2004. Sobre los géneros de plantas descritos por Cavanilles. En: «Flora Montiberica, vol. 28, p. 3-22.
37. Mateo Sanz, Gonzalo & Laguna Lumbreras, Emilio. 2004. Especies de la flora valenciana descritas por Cavanilles., «Flora Montiberica, 28, 23-28.
38. “Structure, Chemistry and Stereochemistry of Rastevione, a Sesquiterpenoid from the genus *Stevia*”. L.U. Román, R.E. Del Río, J.D. Hernández, P. Joseph-Nathan, V. Zabel y W.H. Watson, *Tetrahedron*, 37, 2769 (1981).
39. “Longipinene Derivatives from *Stevia serrata*”. E. Sánchez Arreola, C.M. Cerda-García-Rojas, P. Joseph-Nathan, L.U. Román y J.D. Hernández., *Phytochemistry*, 39, 853-857 (1995).
40. Hugo Alejandro García Gutiérrez “Preparación de Bases de Schiff y Reordenamiento de Beckmann de derivados del Longipinano”. Tesis de Licenciatura, Fecha de la presentación 6

de agosto del 2004, Escuela de Químico-Farmacobiología de la U.M.S.N.H.

41. "Preparación de 9-Deuterorasteviona". Tesis de Licenciatura presentada por Judit Araceli Aviña Verduzco a la Escuela de Químico-Farmacobiología de la U.M.S.N.H. 8 de agosto de 1997.
42. "Isolation and preparation of two longipinene derivatives from *Stevia Subpubescens*". L.U. Román, J.D. Hernández, R. Castañeda, C.M. Cerda y P. Joseph-Nathan. *Phytochemistry*, 28, 265 (1989).
43. "Preparación de bases de Schiff y transposición de Beckmann en derivados del longipinano" Hugo A. García-Gutiérrez, Luisa U. Román-Marín, Juan D. Hernández-Hernández, Carlos M. Cerda-García-Rojas. *Revista Latinoamericana de Química* Vol. 4 (3) 210-224, 2012.
44. "Absolute Configuration of Longipinenyl Epoxyangelates from three *Stevia* species". J. Martín Torres-Valencia, Carlos M. Cerda-García-Rojas, Pedro Joseph-Nathan, Luisa U. Román y Juan D. Hernández. *Phytochemistry*, 49, 2569-2572 (1998).
45. "First seco-C oleananes from nature". L. U. Román, D. Guerra-Ramírez, G. Morán, I. Martínez, J. D. Hernández, C. M. Cerda-García-Rojas, J. M. Torres-Valencia y P. Joseph-Nathan, *Organic Letters*, 6, 173-176 (2004).
46. "Longipinene Derivatives from *Stevia porphyrea*". Eugenio Sánchez-Arreola, Carlos M. Cerda-García-Rojas, Luisa U. Román, Juan D. Hernández y Pedro Joseph-Nathan *Phytochemistry*, 50, 2569-2572 (1999).
47. "Longipinene Derivatives from *Stevia connata*". Eugenio Sánchez-Arreola, Carlos M. Cerda-García-Rojas, Luisa U. Román, Juan

- D. Hernández y Pedro Joseph-Nathan. *Journal of Natural Products*, 63, 12-15 (2000).
48. "Grindelane Diterpenoids from *Stevia subpubescens*." Luisa U. Román, Jairo I. Cambrón, Rosa E. del Río, Juan D. Hernández, Carlos M. Cerda-García-Rojas y Pedro Joseph-Nathan. *Journal of Natural Products*, 63, 226-229 (2000).
49. "Absolute configuration of the allfa-methylbutyryl residue in longipinene derivatives from *Stevia pilosa*". R. Álvarez-García, J. M. Torres-Valencia, L. U. Román, J. D. Hernández, C. M. Cerda-García-Rojas y P. Joseph-Nathan, *Phytochemistry*, 66, 639-642 (2005).
50. "Preparación de deoxo-rasteviona, Sesquiterpeno de *Stevia serrata* Cav.". Tesis para obtener el Título de Químico Farmacobiólogo, presentada por Manuel Loeza Coria a la Escuela de Químico-Farmacobiología de la U.M.S.N.H. el 17 de febrero de 1993.
51. "9-Cloro derivados del Longipineno y Análisis Sesquiterpenos de *Stevia connata* mediante HPLC". Tesis para obtener el Título de Químico Farmacobiólogo, presentada por Nancy García Ayala, a la Escuela de Químico Farmacobiología de la U.M.S.N.H. el 5 de enero de 1996.
52. "Preparación de Derivados Clorados de Rasteviona y Análogos", Tesis de Licenciatura presentada por Cecilia Ruiz Ferrer a la Escuela de Químico-Farmacobiología de la U.M.S.N.H. 26 de junio de 2013.
53. "Molecular Rearrangement of Rastevione Mesylate into Arteagane Derivatives". Luisa U. Román, Gerardo Zepeda, N. Rebeca Morales, Juan D. Hernández, Carlos M. Cerda-García-

Rojas y Pedro Joseph-Nathan *Journal of Natural Products*, 58, 1808-1816 (1995).

54. "Mechanistic Studies of Longipinane to Arteagane Rearrangement". Luisa U. Román, Gerardo Zepeda, N. Rebeca Morales, Salvador Flores, Juan D. Hernández, C.M. Cerda-García-Rojas y Pedro Joseph-Nathan. *J. Nat. Prod.*, 59, 391-395 (1996).
55. "Reordenamientos Moleculares en el Sistema del Logipineno", Tesis Doctoral Presentada por Carlos Martín Cerda García Rojas al Departamento de química de CINVESTAV del IPN (1992).
56. "Transposición de Wagner-Meerwein en 7,8-diacetatos de longipinen y longipinan triolonas en presencia de trifloruro de boro eterato". Tesis para obtener el Título de Químico Farmacobiólogo, presentada por Ma. Alvina Bucio Vázquez a la Facultad de Químico-Farmacobiología de la U.M.S.N.H. el 31 de enero de 1987.
57. "Preparación y transposiciones moleculares de ésteres de longipinatriol". Tesis para obtener el Título de Químico Farmacobiólogo, presentada por Rosa María Domínguez López a la Facultad de Químico-Farmacobiología de la U.M.S.N.H. el 11 de diciembre de (1989).
58. "Wagner-Meerwein Rearrangements of Longipinene Derivatives". L.U. Román, J.D. Hernández, Rosa E. Del Río, M.A. Bucio, C.M. Cerda García-Rojas y P. Joseph-Nathan. *Journal of the Organic Chemistry*, 56, 1938 (1991).
59. "Molecular rearrangements in the Longipinene Series". L.U. Román, J.D. Hernández, C.M. Cerda-García-Rojas, R.M.

- Domínguez-López y P. Joseph-Nathan. *Journal of Natural Products*, 55, 577 (1992).
60. "Transposición de diésteres derivados de Longipineno". Tesis para obtener el Título de Químico Farmacobiólogo, presentada por Ramón Guzmán Mejía a la Facultad de Químico-Farmacobiología de la U.M.S.N.H. el 8 de enero de (1999).
 - 61, "Contracción del ciclo de siete por rearreglo pinacólico en el sistema [6.5.7] de la 7-hidroxi-8-tosiloxi-isolongipin-10-en-1-ona". Tesis para obtener el Título de Químico Farmacobiólogo, presentada por Isaías Tapia Quintero a la Facultad de Químico-Farmacobiología de la U.M.S.N.H. el 10 de noviembre de (1984).
 62. "Generation of the new quirogane skeleton by a vinylogous retro-Michael type rearrangement of longipinene derivatives", L. U. Román, N. R. Morales, J. D. Hernández, C. M. Cerda-García-Rojas, L. G. Zepeda, C. A. Flores-Sandoval y P. Joseph-Nathan, *Tetrahedron*, 57, 7269-7275 (2001).
 63. "A regioselective Wagner-Meerwein rearrangement directed towards the six-membered ring of the longipinane skeleton", C. M. Cerda-García-Rojas, C. A. Flores-Sandoval, L. U. Román, J. D. Hernández y P. Joseph-Nathan, *Tetrahedron*, 58, 1061-1068 (2002).
 64. "Jiquilpane hydrocarbon skeleton generated by two successive Wagner-Meerwein rearrangements of longipinane derivatives", L. U. Román, C. M. Cerda-García-Rojas, R. Guzmán, C. Armenta, J. D. Hernández y P. Joseph-Nathan, *Journal of Natural Products*, 65, 1540-1546 (2002).
 65. "Preparation of moreliane derived volatile sesquiterpenes". C. M. Cerda-García-Rojas, M. A. Bucio, L. U. Román, J. D. Hernández

- y P. Joseph-Nathan, *Journal of Natural Products*, 67, 189-193 (2004).
66. "DFT Molecular Modeling and NMR Conformational analysis of a new Longipinenetriolone diester". Carlos M. Cerda-García-Rojas, Diana Guerra-Ramírez, Luisa U. Román-Marín, Juan D. Hernández-Hernández y Pedro Joseph-Nathan. *Journal of Molecular Structure*, 789, Nos. 1-3, 37-42, (2006), Fecha de Publicación: 22 de mayo del 2006 (Ed. ELSEVIER, B.V.).
 67. "Reactividad diferencial de alcoholes derivados del longipineno con eterato de trifluoruro de boro". Q.F.B. Mariano Méndez Chávez , Fecha de la presentación 26 de febrero del 2007 Obtuvo Mención Honorífica Escuela de Químico-Farmacobiología de la U.M.S.N.H.
 68. "Nuevos Sesquiterpenos de la Transposición de Wagner-Meerwein de un derivado del Longipineno". Q.F.B. Luis Felipe Rangel Ramos , Fecha de la presentación 24 de agosto del 2007 Escuela de Químico-Farmacobiología de la U.M.S.N.H.
 69. "Nuevo Sesquiterpeno de la Transposición del Diacetato de Longipinatriolona en presencia de ácido p-Toluensulfónico". Q.F.B. Alejandro Valdez Calderón, Fecha de la presentación 3 de diciembre del 2008 en la Escuela de Químico-Farmacobiología de la U.M.S.N.H.
 70. "Nuevos Derivados del Sesquiterpeno Tetracíclico y su apertura con ácido p-Toluensulfónico". Q.F.B. Julio César Ontiveros Rodríguez, Fecha de la presentación 17 de agosto del 2012 Facultad de Químico-Farmacobiología de la U.M.S.N.H.
 71. "Transposiciones Moleculares de ésteres Mesílicos de Longipinandiolas". M.C.Q. Gerardo Morán López, Fecha de la

presentación 13 de diciembre del 2012 Instituto de Investigaciones Químico-Biológicas de la U.M.S.N.H.

72. "Longipinane Derivatives from *Stevia viscida*". Luisa U. Román, Gerardo Morán, Juan D. Hernández, M.A. Bucio, Carlos M. Cerda-García-Rojas y P. Joseph-Nathan. *Phytochemistry*, 39, 1437-1439 (1995).
73. "Obtención y Reactividad de Isómeros Posicionales del Diacetato de Longipinatriolona". Tesis para obtener el Título de Químico Farmacobiólogo, presentada por Graciela García-Morales, a la Facultad de Químico Farmacobiología de la U.M.S.N.H. el 10 de agosto del 2012.
74. "Dos Rutas de obtención del 9-*epi*-Clorodiacetato de Longipinatriolona.", Luisa U. Román-Marín, Belén de Jesús Rojas-Regalado, Yazmín Y. Araiza Cabrera, Doris B. Sánchez-Prieto, Cecilia Ruiz-Ferrer y Juan Diego Hernández-Hernández, 10a. Reunión Internacional de Investigación de Productos Naturales "Dr. Leovigildo Quijano" ,21-24 de Mayo, Mérida , Yuc. Suplemento Especial), QSE-254, 192 (2014), ISSN: 1870-1809.
75. W. Markovnikoff (1870). «Ueber die Abhängigkeit der verschiedenen Vertretbarkeit des Radicalwasserstoffs in den isomeren Buttersäuren». *Annalen der Pharmacie* 153 (1): pp. 228–259. doi:10.1002
76. Hughes, Peter (2006). "Was Markovnikov's Rule an Inspired Guess". *The Journal of Chemical Education* 83 (8): pp. 1152 – 1154. doi:10.1021/ed083 p1152.
77. Juan Diego Hernández Hernández, "Química Orgánica Experimental en Productos Naturales", Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Morelia, Mich. 2014.

78. Juan Diego Hernández Hernández, "Notas de Química Orgánica I", Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Morelia, Mich. 2017.
79. Juan Diego Hernández Hernández, "Notas de Química Orgánica II", Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Morelia, Mich. 2016.