

MAESTRÍA EN CIENCIAS QUÍMICAS

**Reordenamientos moleculares de diterpenos del
género *Ageratina***

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRA EN CIENCIAS QUÍMICAS

PRESENTA:

Q.F.B. Araceli Álvarez Ruiz

DIRECTORES:

Doctora en Ciencias Químicas Rosa Elva Norma del Río Torres

Doctor en Química Mario Armando Gómez Hurtado

Morelia, Michoacán.

Noviembre de 2017

Dedicatoria

A:

***Mis padres**, por haberme apoyado en todo momento, por sus consejos, sus valores, por la motivación constante que me ha permitido ser una persona de bien, pero más que nada, por su amor.*

***Mi hermana Gaby**, por estar conmigo y apoyarme siempre, te quiero mucho.*

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por darme la oportunidad de vivir y por estar conmigo en cada paso que doy, por fortalecer mi corazón e iluminar mi mente y por haber puesto en mi camino a aquellas personas que han sido mi soporte y compañía durante todo el periodo de estudio.

A mis directores de tesis la D.C. Rosa Elva Norma del Río Torres y D.Q. Mario Armando Gómez Hurtado, por su apoyo incondicional, por darme oportunidad de formar parte de su equipo de trabajo, por su paciencia, confianza y comprensión brindada.

A mi comité tutorial: D.C. Juan Diego Hernández Hernández, D.C. Yliana López Castro, D.Q. Gabriela Rodríguez García por sus valiosas aportaciones en la revisión del manuscrito.

Al Dr. Pedro Joseph Nathan y al Dr. Carlos Martín Cerda García Rojas del Departamento de Química del CINVESTAV, por el apoyo y colaboración en la realización de este trabajo.

Al Dr. Jerzy Rzedowski, del Instituto de Ecología A.C. Pátzcuaro, Mich., por la autenticación de la planta.

A la M.C. Concepción Armenta Salinas y al Q.F.B. José Manuel Zaragoza Ríos del IIQB-UMSNH por la determinación de los espectros de RMN.

Al M.C. José Luis Salvador Hernández por los análisis de espectrometría de masas.

A mis amigos de generación: Jessi y Humberto gracias por su incondicional amistad y apoyo.

A mis compañeros de laboratorio que nos apoyamos mutuamente en nuestra formación profesional: Armando, Viri, Sinuhé, Rosalba, Ode, Moni, Eva, Rosi, Dalia, Dereck, Ángel, Luis, Cecy, Ana Karen, por su valiosa amistad y buenos consejos.

AGRADECIMIENTOS INSTITUCIONALES

Quiero agradecer a la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo por haberme aceptado ser parte de ella y abierto las puertas de su seno científico.

Al Instituto de Investigaciones Químico Biológicas de la UMSNH, gracias a los profesores que brindaron sus conocimientos y apoyo durante mi formación y a todas las personas que fueron partícipes de este proceso, ya sea de manera directa o indirecta.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por haberme otorgado una beca para realizar mis estudios de Maestría.

El presente trabajo se llevó a cabo en el Laboratorio de Química de Productos Naturales del Instituto de Investigaciones Químico Biológicas de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, bajo la dirección de la D.C. Rosa Elva Norma del Río Torres y el D.Q. Mario Armando Gómez Hurtado, con beca otorgada por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) con número de registro becario 584377.

Parte de los resultados de este trabajo de investigación se presentaron en los siguientes foros y congresos:

1. 12ª Reunión Internacional de Investigación en Productos Naturales “Dr. Miguel Ángel Domínguez Ortíz”, con el trabajo titulado: “Estudio de la reacción de deshidratación del ácido 13-*epi*-labdanólico”, celebrada del 18 al 20 de mayo de 2016 en Xalapa, Veracruz.
2. 3ª Semana del Posgrado en Ciencias Químicas en el marco de su 40 aniversario y el posgrado en ciencias químicas, con la ponencia del trabajo titulado: “Preparación del ácido 13-*epi*-catívico”, celebrada el 27 de junio de 2016 en Morelia, Michoacán.
3. 11º Congreso Estatal de Ciencia, Tecnología e Innovación. Con la ponencia del trabajo titulado: “Preparación de productos de deshidratación del ácido 13-*epi*-labdanólico”, celebrado los días 13 y 14 de octubre de 2016.
4. 13ª Reunión Internacional de Investigación en Productos Naturales “Dr. Juan Diego Hernández Hernández”, con el trabajo titulado: “Reordenamientos moleculares de diterpenos del género *Ageratina*”, celebrada del 17 al 20 de mayo de 2017 en Morelia, Michoacán.
5. 1º Foro del Posgrado en Ciencias Químicas del Instituto de Investigaciones Químico Biológicas, con la ponencia del trabajo titulado: “Productos de reordenamiento de labdanos en medio ácido”, celebrado del 31 de julio al 4 de agosto de 2017 en Morelia, Michoacán.

ÍNDICE

ÍNDICE DE FIGURAS.....	viii
ÍNDICE DE ESQUEMAS.....	x
ÍNDICE DE TABLAS.....	xi
SÍMBOLOS, ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS.....	xii
RESUMEN.....	xiv
ABSTRACT.....	xv
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Compuestos fenólicos.....	5
1.2 Alcaloides.....	5
1.3 Terpenos.....	5
2. ANTECEDENTES.....	9
3. JUSTIFICACIÓN.....	18
4. OBJETIVOS.....	19
4.1 Objetivo general.....	19
4.2 Objetivos específicos.....	19
5. HIPÓTESIS.....	20
6. PARTE EXPERIMENTAL.....	21
6.1 Datos de la planta.....	21
6.2 Obtención del extracto.....	21
6.3 Aislamiento del ácido labdan-7,13-dienoico (33), ácido catívico (29), y ácido 13- <i>epi</i> -labdanólico (31).....	22
6.4 Reacción general de reordenamiento en medio ácido.....	24
7. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	27
8. CONCLUSIONES.....	68
9. PERSPECTIVAS.....	70
10. BIBLIOGRAFÍA.....	71

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Eventos en los cuales, los metabolitos secundarios se inducen durante la respuesta de defensa de las plantas.....	3
Figura 2. Estructuras de terpenoides con actividad biológica.....	8
Figura 3. Diterpenos aislados y modificados de <i>Cistus ladaniferus</i>	15
Figura 4. Diterpenos aislados y preparados de <i>Ageratina jocotepecana</i>	17
Figura 5. Espectro de RMN de ^1H a 400 MHz del ácido labdan-7,13-dienoico (33).....	28
Figura 6. Espectro de RMN de ^{13}C a 100 MHz del ácido labdan-7,13-dienoico (33).....	29
Figura 7. Espectro de RMN de ^1H a 400 MHz del ácido catívico (29).....	31
Figura 8. Espectro de RMN de ^{13}C a 100 MHz del ácido catívico (29).....	32
Figura 9. Espectro de RMN de ^1H a 400 MHz del ácido 13- <i>epi</i> -labdanólico (31)..	34
Figura 10. Espectro de RMN de ^{13}C a 100 MHz del ácido 13- <i>epi</i> -labdanólico (31).....	35
Figura 11. Espectro de RMN de ^1H a 400 MHz del crudo de reacción del ácido 31 con ácido fórmico.....	39
Figura 12. Espectro de RMN de ^1H a 400 MHz del crudo de reacción de 31 con ácido <i>p</i> -TsOH en MeOH.....	41
Figura 13. Espectro de RMN de ^1H a 400 MHz del ácido 13- <i>epi</i> -labd-5(10)-en-15-oico (41).....	44
Figura 14. Experimento COSY del ácido 13- <i>epi</i> -labd-5(10)-en-15-oico (41).....	45
Figura 15. Espectro de RMN de ^{13}C a 100 MHz del ácido 13- <i>epi</i> -labd-5(10)-en-15-oico (41).....	46

Figura 16. Experimento HETCOR del ácido 13- <i>epi</i> -labd-5(10)-en-15-oico (41)...	47
Figura 17. Espectro de RMN de ¹ H del éster metílico del ácido-13- <i>epi</i> -labd-8-en-15-oico (35).....	50
Figura 18. Espectro de RMN de ¹ H a 400 MHz del 13- <i>epi</i> -labd-5(10)-en-15-oato de metilo (42).....	54
Figura 19. Experimento COSY del 13- <i>epi</i> -labd-5(10)-en-15-oato de metilo (42)...55	
Figura 20. Espectro de RMN de ¹³ C a 100 MHz del 13- <i>epi</i> -labd-5(10)-en-15-oato de metilo (42).....	56
Figura 21. Experimento HETCOR del 13- <i>epi</i> -labd-5(10)-en-15-oato de metilo (42).....	57
Figura 22. Espectro de RMN de ¹ H a 400 MHz del ácido labd-5(10)-en-15-oico (45).....	59
Figura 23. Experimento COSY del ácido labd-5(10)-en-15-oico (45).....	60
Figura 24. Espectro de RMN de ¹³ C a 100 MHz del ácido-labd-5(10)-en-15-oico (45).....	61
Figura 25. Labdano aislado naturalmente de <i>Polyalthia longifolia</i>	63
Figura 26. Espectro de RMN de ¹ H a 400 MHz del ácido labd-5(10)-13-dien-15-oico (46).....	64
Figura 27. Experimento COSY del ácido labd-5(10)-13-dien-15-oico (46).....	65
Figura 28. Espectro de RMN de ¹³ C a 100 MHz del ácido labd-5(10)-13-dien-15-oico (46).....	66
Figura 29. Experimento HETCOR del ácido labd-5(10)-13-dien-15-oico (46).....	67

ÍNDICE DE ESQUEMAS

Esquema 1. Biosíntesis de metabolitos secundarios.....	4
Esquema 2. Biosíntesis de terpenos y su clasificación.....	7
Esquema 3. Reordenamiento pinacólico.....	10
Esquema 4. Expansión del anillo por reordenamiento.....	10
Esquema 5. Ejemplo de transposición 1,3 hidruro.....	10
Esquema 6. Reordenamiento del isoborneol a canfeno.....	11
Esquema 7. Ejemplos de reordenamientos Wagner-Meerwein.....	11
Esquema 8. Reordenamiento tipo Wagner-Meerwein de rasteviona (3).....	12
Esquema 9. Reordenamiento del longipineno 5 a los derivados de morelieno 6 y 7.....	12
Esquema 10. Reordenamiento tipo Wagner-Meerwein del longipineno.....	13
Esquema 11. Reordenamiento de <i>ent</i> -labdano a <i>ent</i> -clerodano.....	13
Esquema 12. Reordenamiento de un <i>ent</i> -clerodano a <i>ent</i> -halimano.....	14
Esquema 13. Derivados de labdano preparados a partir del labdanodiol (10).....	15
Esquema 14. Reordenamiento con BF ₃ de labdanos 23 y 24.....	16
Esquema 15. Productos de deshidratación en medio ácido.....	37
Esquema 16. Producto de reordenamiento en medio ácido.....	42
Esquema 17. Propuesta mecanística para la formación del compuesto 41.....	48
Esquema 18. Producto de deshidratación en medio ácido.....	49
Esquema 19. Obtención del derivado reordenado 42.....	52
Esquema 20. Reacción Huang-Minlon para obtener 44.....	52

Esquema 21. Propuesta mecanística para la formación del derivado 42	53
Esquema 22. Reacción de reordenamiento de 29	58
Esquema 23. Reacción de reordenamiento de 33	62
Esquema 24. Propuesta mecanística para los compuestos 45 y 46	63

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Desplazamientos químicos de RMN de ^{13}C a 100 MHz en CDCl_3 de los compuestos 29 , 31 , y 33	28
---	----

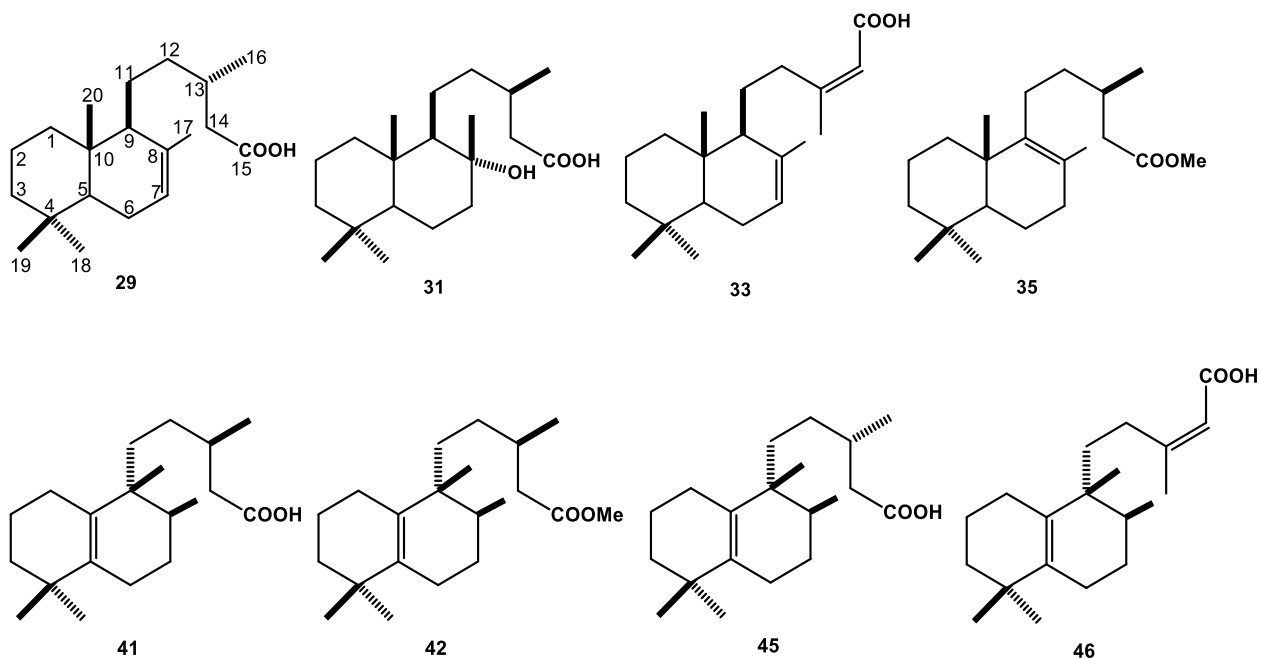
SÍMBOLOS, ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

WM	Wagner Meerwein
MEP	Metileritritol fosfato
UV	Ultravioleta
IPP	Isopentil pirofosfato
GGPP	Geranilgeranil pirofosfato
GPP	Geranil pirofosfato
DMAPP	Dimetilalilpirofosfato
FPP	Farnesil pirofosfato
a.C.	Antes de Cristo
AcOEt	Acetato de etilo
δ	Desplazamiento químico
°C	Grados Celsius
μL	Microlitros
d	Doble
dd	Doble de dobles
dt	Doble de triples
EMIE	Espectroscopía de Masas por Impacto Electrónico
eV	Electronvolts
g	Gramos
mg	Miligramos
Hz	Hertz
m	Múltiple
MHz	MegaHertz

min.	Minutos
mL	Mililitros
cm	Centímetros
L	Litros
TLC	Thin Layer Chromatography
ppm	Partes por millón
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
s	Simple
sa	Simple ancha
TMS	Tetrametil Silano
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
COSY	Correlation Spectroscopy
HETCOR	Heteronuclear Correlation Spectroscopy

RESUMEN

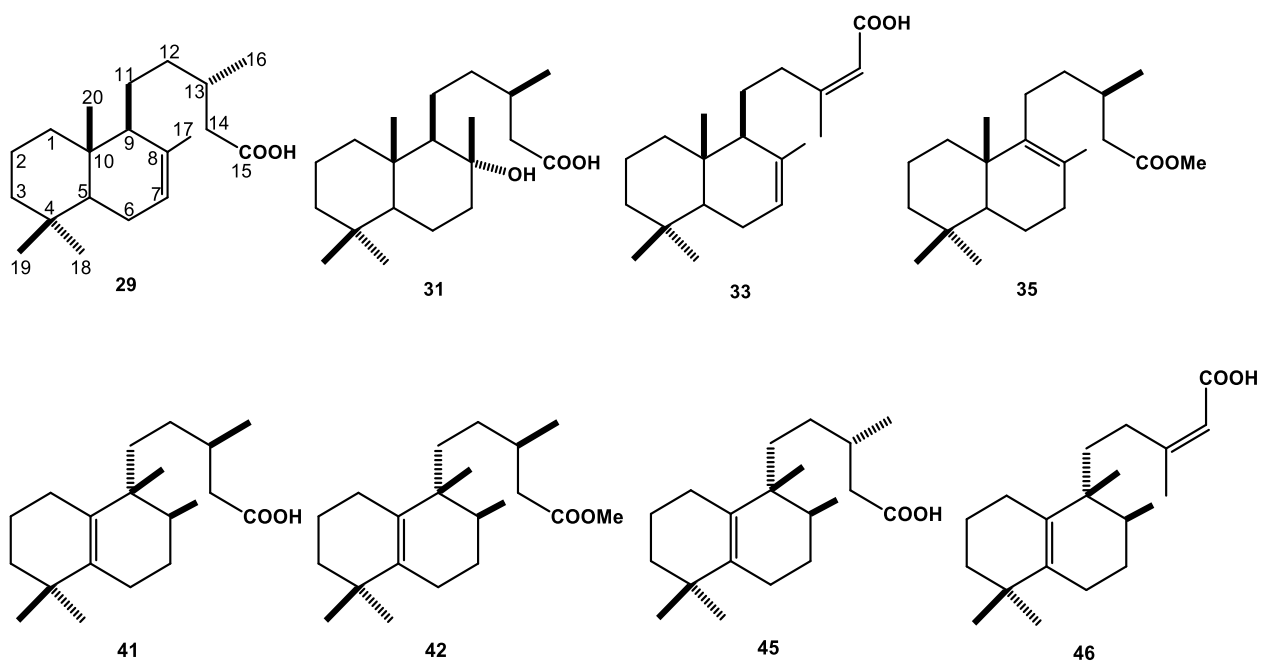
El reordenamiento molecular de los ácidos catívico (**29**), ácido 13-*epi*-labdanólico (**31**), ácido labdan-7,13-dien-15-oico (**33**) y 13-*epi*-labd-8-en-15-oato de metilo (**35**) con un exceso de medio ácido condujo a los derivados ácido labd-5(10)-en-15-oico (**45**), ácido 13-*epi*-labd-5(10)-en-15-oico (**41**), ácido labd-5(10)-13-dien-15-oico (**46**) y 13-*epi*-labd-5(10)-en-15-oato de metilo (**42**) respectivamente, por la migración de tipo 1,2 Wagner-Meerwein del CH₃-20 de C-10 a C-9, correspondiendo a estructuras novedosas.



Palabras clave: *Ageratina*, labdanos, reordenamientos Wagner-Meerwein

ABSTRACT

Molecular rearrangement of the cativic acids (**29**), 13-*epi*-labdanolic acid (**31**), labdan-7,13-dien-15-oic acid (**33**) and methyl-13-*epi*-labd-8-en-15-oate (**35**) with an excess of acid afforded the derivatives labd-5(10)-en-15-oic acid (**45**), 13-*epi*-labd-5(10)-en-15-oic acid (**41**), labd-5(10)-13-dien-15-oic acid (**46**) and methyl-13-*epi*-labd-5(10)-en-15-oate (**42**) respectively, by a migration 1,2 Wagner-Meerwein of CH₃-20 from C-10 to C-9, corresponding to novel structures.



Key words: *Ageratina*, labdanes, rearrangement Wagner-Meerwein

1. INTRODUCCIÓN

A lo largo de los siglos, la naturaleza, y en particular las plantas, han contribuido enormemente a la medicina. En Mesopotamia, alrededor del año 2600 a.C. se utilizaron unas 1,000 sustancias derivadas de plantas, y en el papiro de Ebers, escrito en el año 1500 a.C., se mencionan alrededor de 700 especies vegetales. Datos semejantes podemos encontrar en China e India. Los griegos y los romanos racionalizaron el uso de estas drogas, destacando entre ellos Dioscórides y Galeno. Estos conocimientos fueron preservados por los árabes en los siglos V-XII y actualmente estas sustancias continúan jugando un importante papel en la salud humana.^{1,2}

Los productos naturales históricamente han servido como la fuente más importante de nuevos compuestos para el desarrollo farmacéutico. A inicios del siglo XX, antes de la "Era sintética", el 80% de todos los medicamentos se obtenían a partir de material vegetal. El descubrimiento de fármacos de plantas medicinales condujo al aislamiento de drogas tempranas como cocaína, codeína, digitoxina, quinina y morfina.³

En los últimos tiempos, los productos naturales siguen siendo una significativa fuente de drogas. Su papel dominante es evidente, ya que aproximadamente el 60% de los compuestos contra el cáncer y el 75% de los medicamentos para enfermedades infecciosas son productos naturales o derivados de éstos.⁴ También, ésta clase de compuestos han servido como modelo para realizar modificaciones estructurales específicas y generar nuevos fármacos.⁵

En 2001 y 2002, aproximadamente una cuarta parte de las drogas mejor vendidas en el mundo eran productos naturales o derivados de productos naturales. Dentro de los medicamentos derivados de plantas medicinales que se han introducido al mercado de los Estados Unidos se encuentra el Arteether una potente droga antimalárica derivada de la artemisinina; la galantamina aislada de *Galanthus woronowii* Losinsk empleada para el tratamiento de la enfermedad de

Alzheimer, la sal de tiotropium un derivado de atropina aislado de *Atropa belladonna* L. para el tratamiento de la enfermedad pulmonar obstructiva, y morfina un metabolito de *Papaver somniferum* L. utilizada como medicamento para el dolor.⁶

Desde los años 40 hasta finales de 2014, aproximadamente la mitad de las 175 moléculas aprobadas para el cáncer, son productos naturales o derivados directamente de ellos, por ejemplo el cabazitaxel derivado del taxol ha sido utilizado contra el cáncer de próstata. En otras áreas, la influencia de las estructuras de productos naturales es bastante marcada, ya que el 68 % de los anti-infecciosos (antibacterianos, fúngicos, parásitos y virales) se clasificaron como de origen natural.^{7,8}

Los productos naturales tienen un importante y significativo valor medicinal y económico. Derivado éste último, por su uso en la industria cosmética, alimentaria y farmacéutica.

La química de los productos naturales se refiere a la investigación de los metabolitos secundarios presentes en especies vegetales, animales, marinas, fúngicas y bacterianas, algunos son generados como respuesta de la defensa química contra el daño que ocasionan insectos o microorganismos patógenos, para la atracción de insectos polinizadores, dispersores de semillas y frutos así como de protección UV de la planta (Figura 1), induciendo la síntesis y acumulación de compuestos de bajo peso molecular, conocidos también como metabolitos secundarios.⁹ Los metabolitos secundarios de origen vegetal se encuentran generalmente como mezclas de compuestos en compartimentos. Suelen variar en su concentración y presencia en las distintas partes de la planta, según la etapa de desarrollo y taxonomía.¹⁰

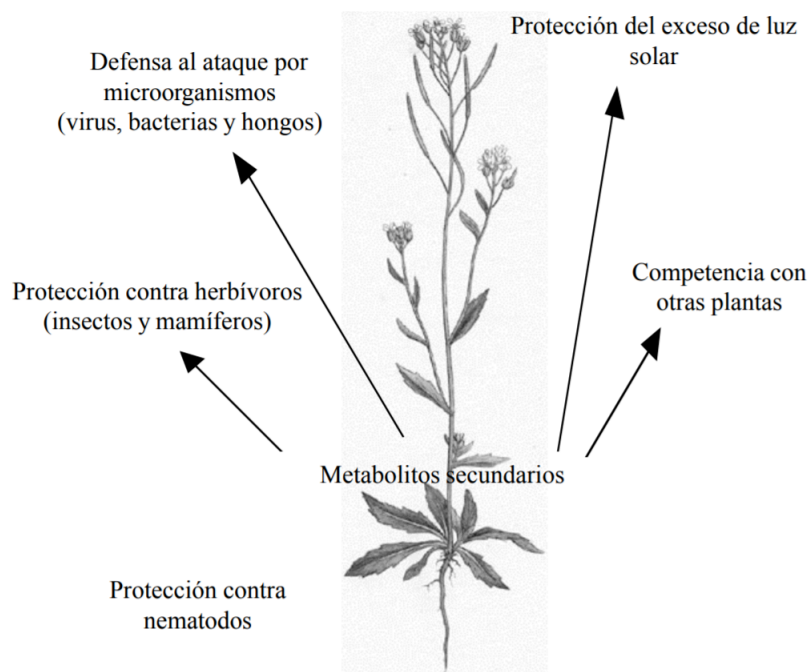
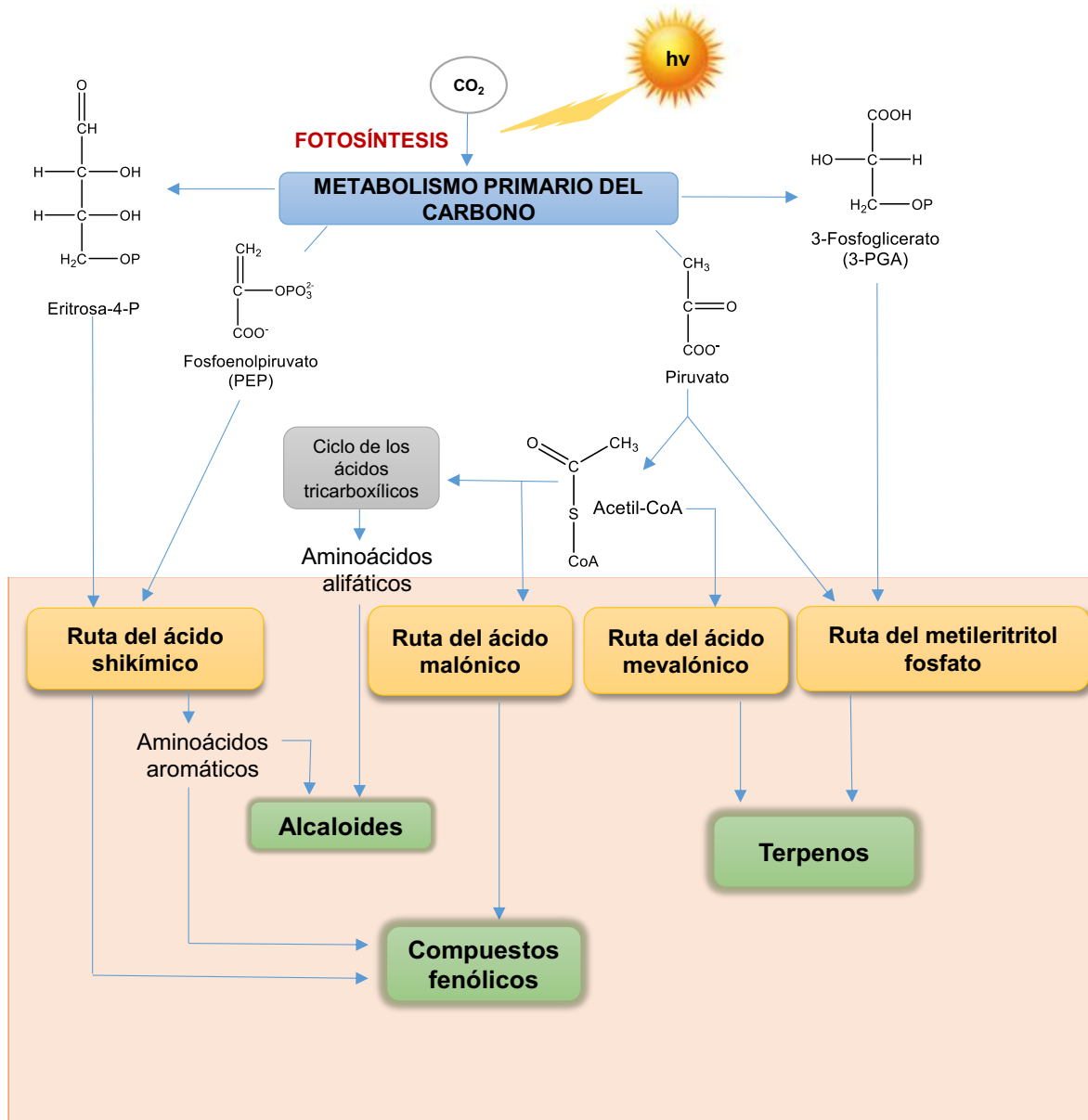


Figura 1. Eventos en los cuales, los metabolitos secundarios se inducen durante la respuesta de defensa de las plantas.⁹

En la actualidad, se conocen estructuras de metabolitos secundarios que por su composición química son clasificados en tres principales grupos: compuestos fenólicos, alcaloides y terpenos, los intermediarios de estos metabolitos se derivan de rutas del metabolismo primario, incluyendo el ácido shikímico, el ácido malónico, el ácido mevalónico, el metileritritol fosfato y aminoácidos (Esquema 1).¹¹



Esquema 1. Biosíntesis de metabolitos secundarios.¹¹

1.1 Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos, también llamados fenoles o polifenoles vegetales, son sustancias que poseen al menos un anillo aromático con un radical hidroxilo como sustituyente (grupo fenólico). De todos los metabolitos secundarios, los polifenoles son los más ampliamente distribuidos dentro del reino vegetal. Los compuestos fenólicos se originan de la ruta metabólica llamada de los compuestos aromáticos vegetales, formada de tres segmentos: el del shikimato, que produce los aminoácidos aromáticos fenilalanina, tirosina y triptofano; el de los feilpropanoides, que produce derivados del ácido cinámico, los cuales a su vez son precursores de los flavonoides y de las ligninas y; por último, el de los flavonoides, que produce toda la diversidad de compuestos de este último grupo.¹²

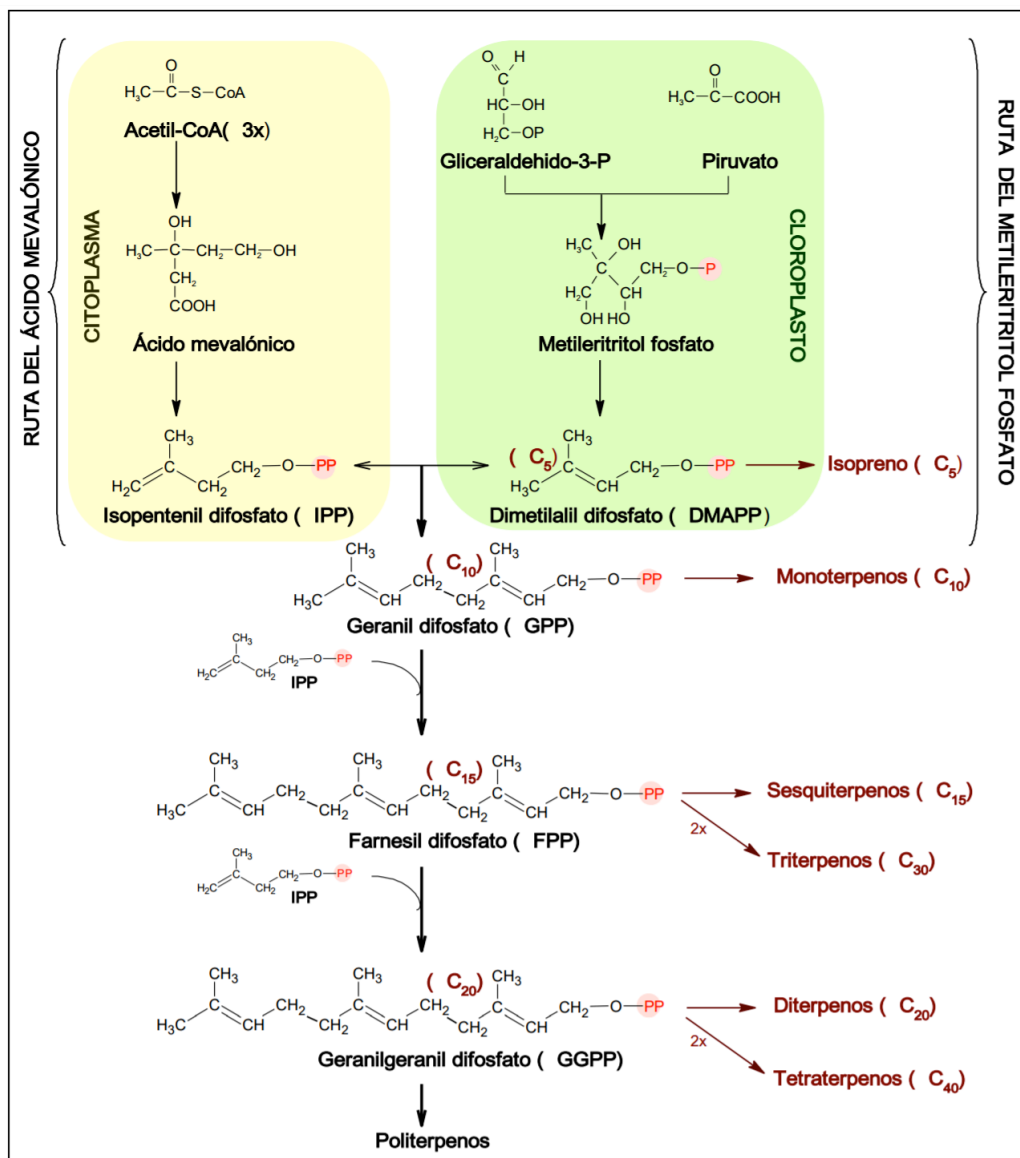
1.2 Alcaloides

La mayoría de ellos son sintetizados en las plantas a partir de aminoácidos comunes. Pertenecen a este grupo los glicósidos cianogénicos, los glucosinolatos o glicósidos y los aminoácidos no proteicos. Existen muchas clases de alcaloides según el precursor biosintético del cual provienen. De acuerdo a Kutchan (1995) los principales grupos de alcaloides son los alcaloides indolmonoterpénicos, que incluye ejemplos notables como la quinina y la estricnina; los alcaloides del tropano, representados por sustancias como la cocaína; los alcaloides tipo benzilisoquinolina, que dan cuenta de elementos tan importantes como la morfina; y los alcaloides tipo bisbenzilisoquinolina, grupo al que pertenece el curare.¹³

1.3 Terpenos

Los terpenos, también llamados terpenoides o isoprenoides, tienen como unidad estructural fundamental al compuesto de cinco átomos de carbono llamado isopentenil pirofosfato, el cual es rápidamente isomerizado a dimetilalil pirofosfato. Hasta hace poco tiempo se pensaba que la única ruta de síntesis del isopentenil pirofosfato era la ruta metabólica del ácido mevalónico, a partir de Acetil CoA; sin embargo, hace alrededor de 10 años se descubrió la ruta del metileritriol fosfato, a partir de piruvato y gliceraldehido-3-fosfato. El nombre de isoprenoides fue dado porque éstos compuestos se descomponen a altas temperaturas y producen isopreno.¹⁴

Los terpenos de acuerdo al número de unidades de isopreno se clasifican en monoterpenos, (dos unidades isoprenoides); sesquiterpenos, (tres unidades isoprenoides); diterpenos, (cuatro unidades isoprenoides); triterpenos (seis unidades de isopreno); tetraterpenos (ocho unidades isoprenoides) y politerpenos ($(C_5H_8)_n$), y pueden estar funcionalizados con grupos ácido carboxílico, hidroxilo, cetona, aldehído, ésteres, entre otros (Esquema 2). Son comercialmente interesantes por su uso como aromas y fragancias, en alimentación y cosmética, o por su importancia en la calidad de productos agrícolas. Otros compuestos terpenoides tienen importancia medicinal por sus propiedades anticancerosas, antiulcerosas, antimicrobianas (Figura 2).¹⁵

Esquema 2. Biosíntesis de terpenos y su clasificación.¹⁵

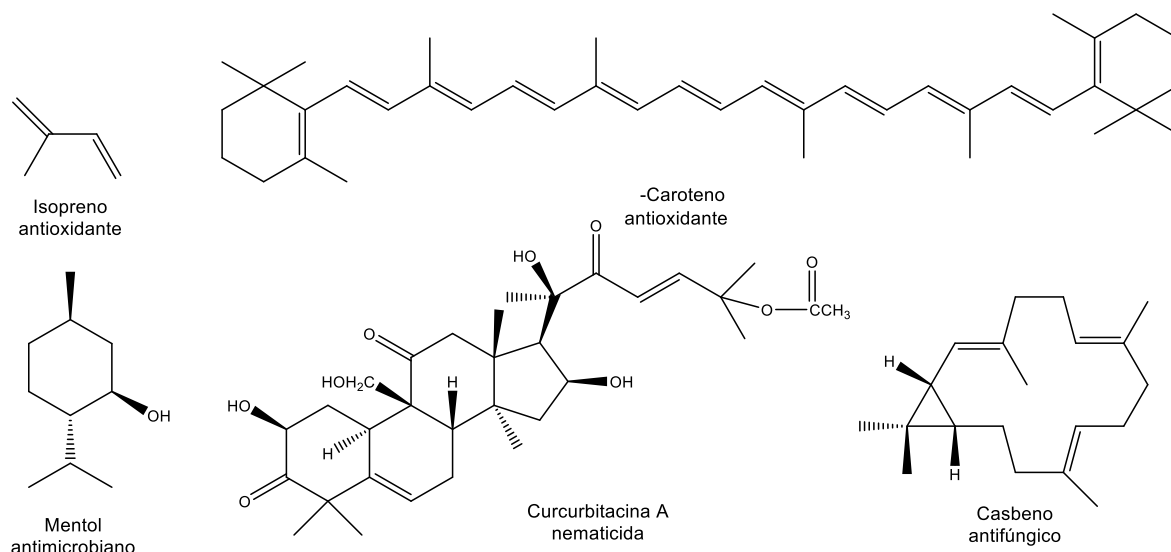


Figura 2. Estructuras de terpenoides con actividad biológica.

Dentro de los terpenos están los diterpenos bicíclicos de esqueleto tipo labdano los cuales resultan de importancia industrial, farmacológica y taxonómica, por su amplio rango de actividad biológica como antitumoral, antibiótico, antihipertensivos, antivirales, intermediarios de perfumería y edulcorantes,¹⁶ por lo que estas especies terpénicas resultan de interés en la exploración química tanto para la obtención de nuevos derivados como para el entendimiento de su reactividad. En el presente proyecto se promovieron reordenamientos moleculares de diterpenos aislados del género *Ageratina* para la generación de nuevas moléculas con potencial actividad biológica.

2. ANTECEDENTES

Las reacciones de reordenamiento o transposición son una clase interesante de reacciones en las que hay migración de un átomo o grupo funcional para generar isómeros, o bien, la pérdida de alguna molécula sencilla para generar otro compuesto; se produce en reacciones orgánicas y pueden propiciarse a través de la generación de iones carbonio o mediante procesos concertados. En este tipo de reacciones destacan las migraciones de grupo alquilo e hidruro.¹⁷ Estos reordenamientos pueden clasificarse en función de la naturaleza del grupo/átomo migratorio:

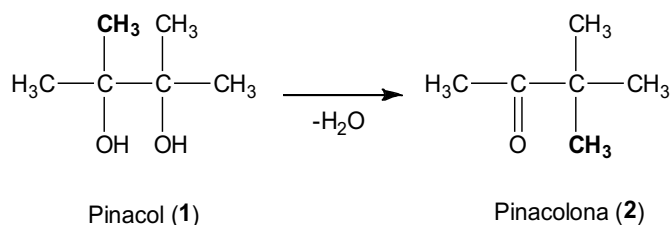
- Nucleófilo o anionotrópico: el grupo funcional migra con su par de electrones.
- Electrónico o catiónico: el grupo funcional migra sin su par de electrones.
- Radicales libres: el grupo funcional migra solo con un electrón.

Los reordenamientos más comúnmente encontrados son los nucleófilos¹⁸ y pueden tener lugar en dos modos posibles:

- Intramolecular: Los grupos de migración no se separan completamente del origen de la migración y se produce dentro de la misma molécula.
- Intermolecular: Los grupos migrantes se desprenden del origen migratorio. En este caso, la migración de un grupo/átomo puede tener lugar a una molécula diferente.¹⁹

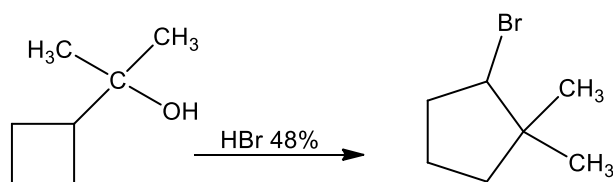
Las contribuciones en este campo, particularmente las dirigidas a la investigación de las reacciones que involucran especies catiónicas, han contribuido en gran medida al conocimiento general del mecanismo de reacción.²⁰

En 1860, Rudolph Fittig describió uno de los primeros reordenamientos en la química orgánica, denominado reordenamiento pinacólico. Consistía en la transformación de pinacol (**1**) a pinacolona (**2**) bajo tratamiento ácido, como se muestra en el esquema **3**. En este reordenamiento la fuerza motriz es la formación de carbonilo para estabilizar el carbocatión. Los reactivos electrófilos, como ácidos de Lewis también pueden promover este tipo de reordenamiento.²¹



Esquema 3. Reordenamiento pinacólico.

Se pueden llevar a cabo reordenamientos que permiten la expansión de un anillo, lo cual se favorece al disminuir la tensión angular, torsional y estérica de la estructura (Esquema 4).

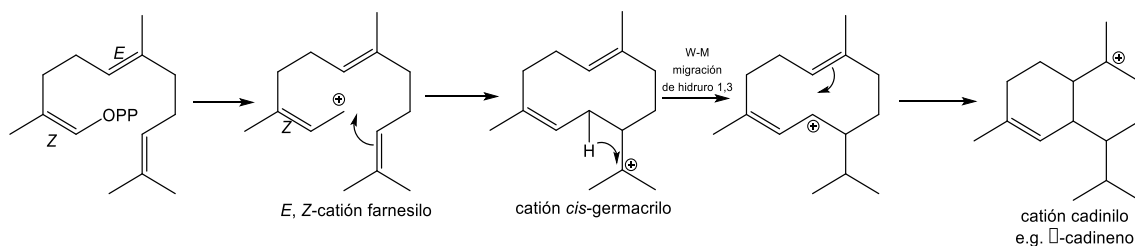


Esquema 4. Expansión del anillo por reordenamiento.

Diversos reordenamientos moleculares son conocidos en casi todo tipo de productos naturales, incluyendo alcaloides, terpenos, esteroides, aminoácidos. Los estudios de las estructuras y estereoquímica de estos productos de transposición y los mecanismos de formación han atraído el interés en la química de productos naturales.

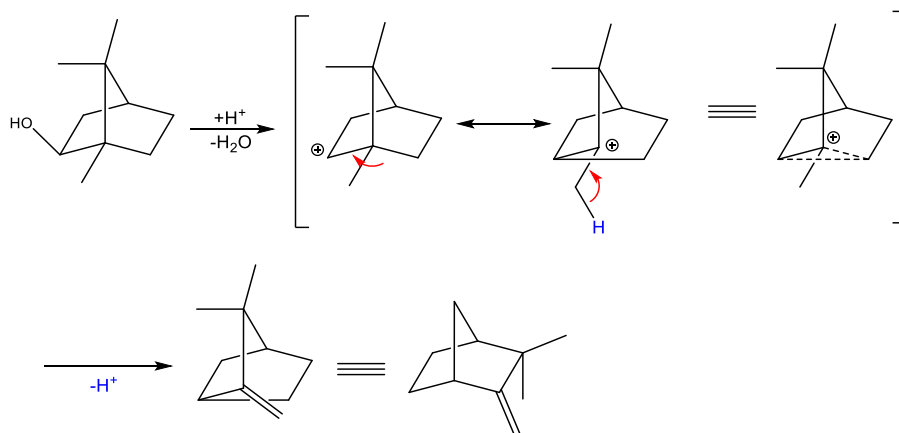
En la naturaleza algunos reordenamientos ocurren a través de enzimas denominadas terpenociclasas utilizando el geranyl pirofosfato (GPP), farnesil pirofosfato (FPP), o geranylgeranyl pirofosfato (GGPP) como sustrato y catalizan la formación de mono-, sesqui- o diterpenos, respectivamente.

Los pasos claves en la biosíntesis de terpenos, incluyen transposiciones de hidruro y/o metilo, como se ejemplifica en el esquema 5.²²



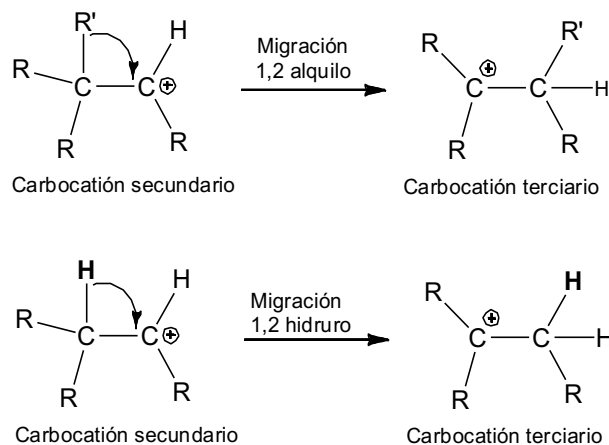
Esquema 5. Ejemplo de transposición 1,3 hidruro.

La conversión de isoborneol a canfeno es un ejemplo de un caso especial de reordenamiento en monoterpenos conocido como reordenamiento Nametkin o retropinacólico donde involucra la migración de un grupo metilo mediante tratamiento ácido (Esquema 6).²³



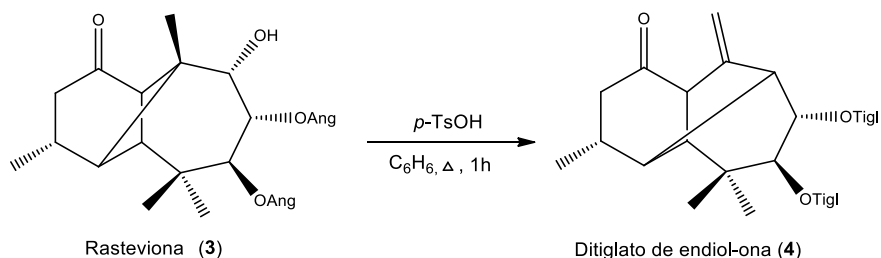
Esquema 6. Reordenamiento del isoborneol a canfeno.

El reordenamiento Wagner-Meerwein es, sin duda, el mejor ejemplo de este tipo de modificaciones químicas en moléculas terpénicas.²⁴ Éste reordenamiento siempre se lleva a cabo con la participación de intermediarios de carbocatión, los cuales están involucrados en reacciones SN_1 y E_1 . Dicho carbocatión puede promover migraciones tipo 1,2 de grupos hidruro, metilos o alquilos; también pueden ocurrir migraciones 1,3 o mayores y siempre proceden por el plano en el que se encuentra el grupo que migra (Esquema 7).²⁵



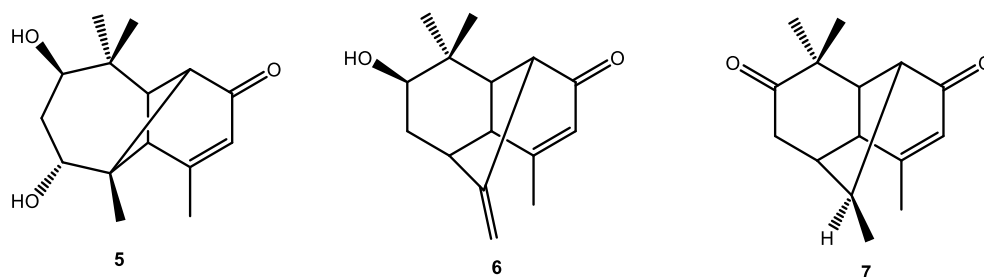
Esquema 7. Ejemplos de reordenamientos Wagner-Meerwein.

Un ejemplo de un reordenamiento tipo Wagner-Meerwein en un sesquiterpeno, fue el promovido en la rasteviona (**3**) por tratamiento con ácido *p*-toluensulfónico en benceno, que generó el en-ditiglato **4** (Esquema 8).²⁶



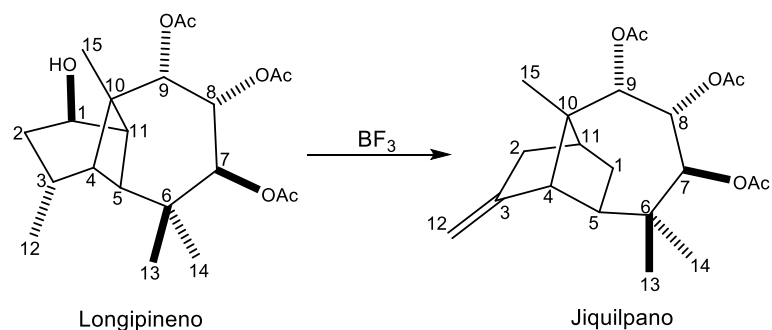
Esquema 8. Reordenamiento tipo Wagner-Meerwein de rasteviona (**3**).

Otro ejemplo de este tipo de reordenamiento fue el promovido en el longipineno **5** con tratamiento ácido para generar los derivados de morelieno **6** y **7**, el primero por transposición Wagner-Meerwein y el segundo por la migración de hidruro transanular (Esquema 9).²⁷



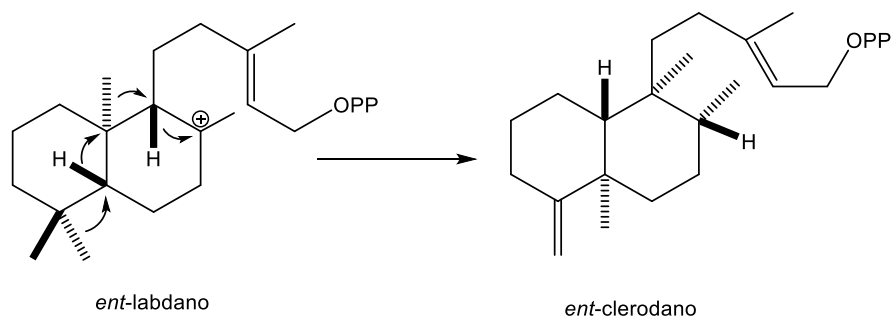
Esquema 9. Reordenamiento del longipineno **5** a los derivados de morelieno **6** y **7**.

Continuando la búsqueda en la literatura de los reordenamientos de tipo Wagner-Meerwein se encontró que al someter el longipineno en BF_3 como medio ácido, se promovió el reordenamiento para generar el jiquilpano (Esquema 10) que surge de dos migraciones consecutivas de enlace C-C seguido por dos migraciones de hidruro.²⁸



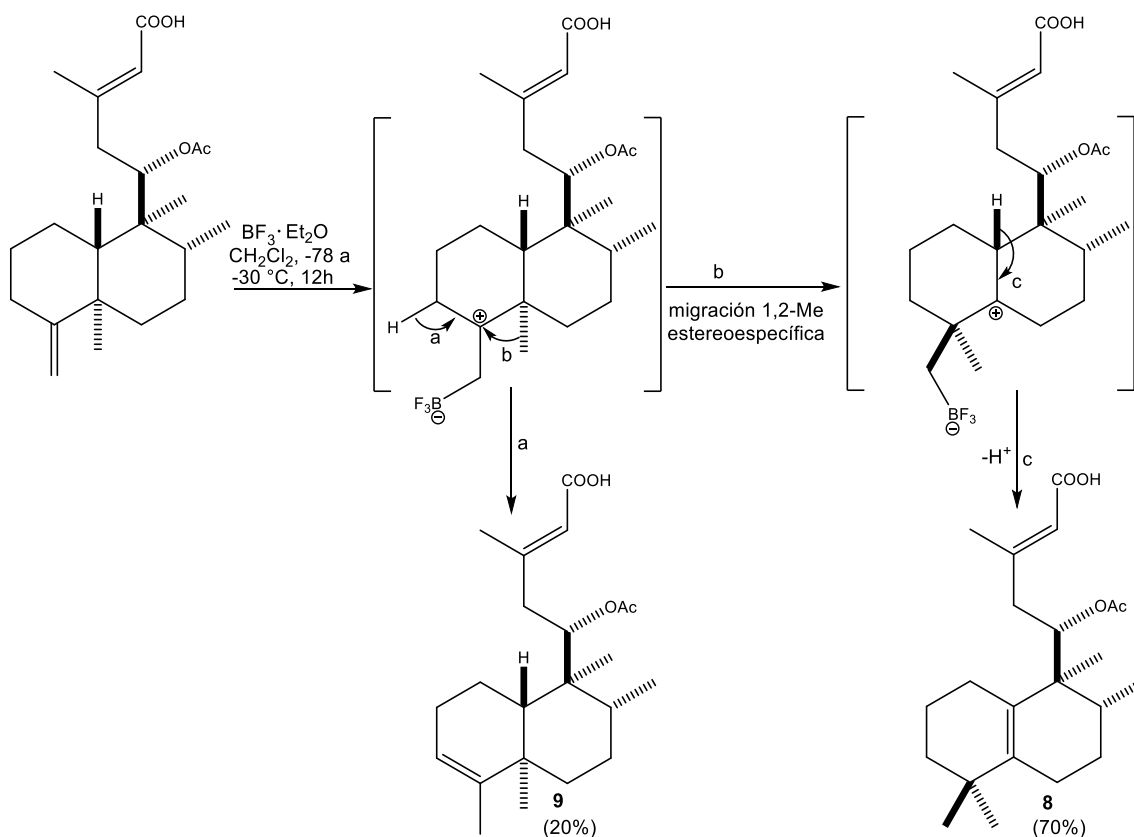
Esquema 10. Reordenamiento tipo Wagner-Meerwein del longipineno.

Por su parte, los labdanos, tras una cascada de migraciones favorecen la formación del esqueleto de clerodano (Esquema 11).²⁹ Cabe destacar que los clerodanos han mostrado actividades farmacológicas interesantes, como antitumorales, citotóxicas y antiinflamatorias.



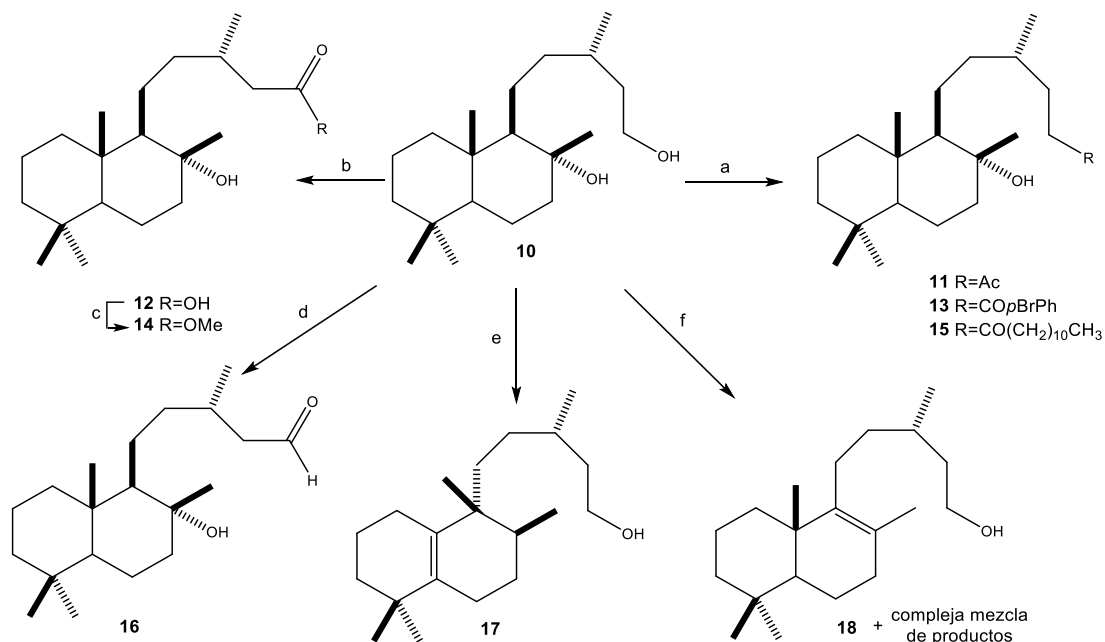
Esquema 11. Reordenamiento de *ent*-labdano a *ent*-clerodano.

A partir de *Isodon scoparius* aislaron un *ent*-clerodano insaturado, el cual se reordenó al ser tratado en medio ácido para dar al *ent*-halimano **8**. También fue reportado el producto de isomerización **9** (Esquema 12).³⁰



Esquema 12. Reordenamiento de un *ent*-clerodano a *ent*-halimanos.

Diversos diterpenos tipo labdano aislados de *Hedychium coronarium* y *Andrographis paniculata* presentaron propiedades antiinflamatorias por inhibición de la NOS-2 y COX-2. La evaluación farmacológica de la serie de derivados de labdano **10**, **11**, **14**, **17** y **18** preparados a partir del labdanodiol **10** (Esquema 13) aislado de *O. glanduliferus*, resultaron ser potentes inhibidores de la liberación de NO y de la producción de PGE₂. El derivado **17** corresponde a un producto de reordenamiento Wagner-Meerwein 1,2.³¹



Esquema 13. Derivados de labdano preparados a partir del labdanodiol (10).

Con las modificaciones químicas en derivados de labdano se obtuvieron sustancias novedosas con potencial aplicación biológica. La deshidratación de labdanoato de metilo **19** aislado de *Cistus ladaniferus*, catalizada con piridina generó la mezcla de los alquenos **20-22**,³² como resultado de la deshidratación y posterior isomerización del doble enlace (Figura 3).

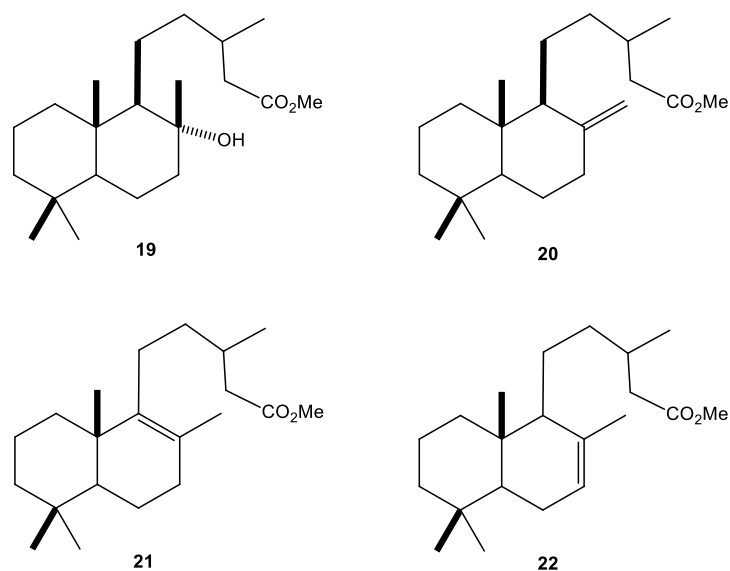
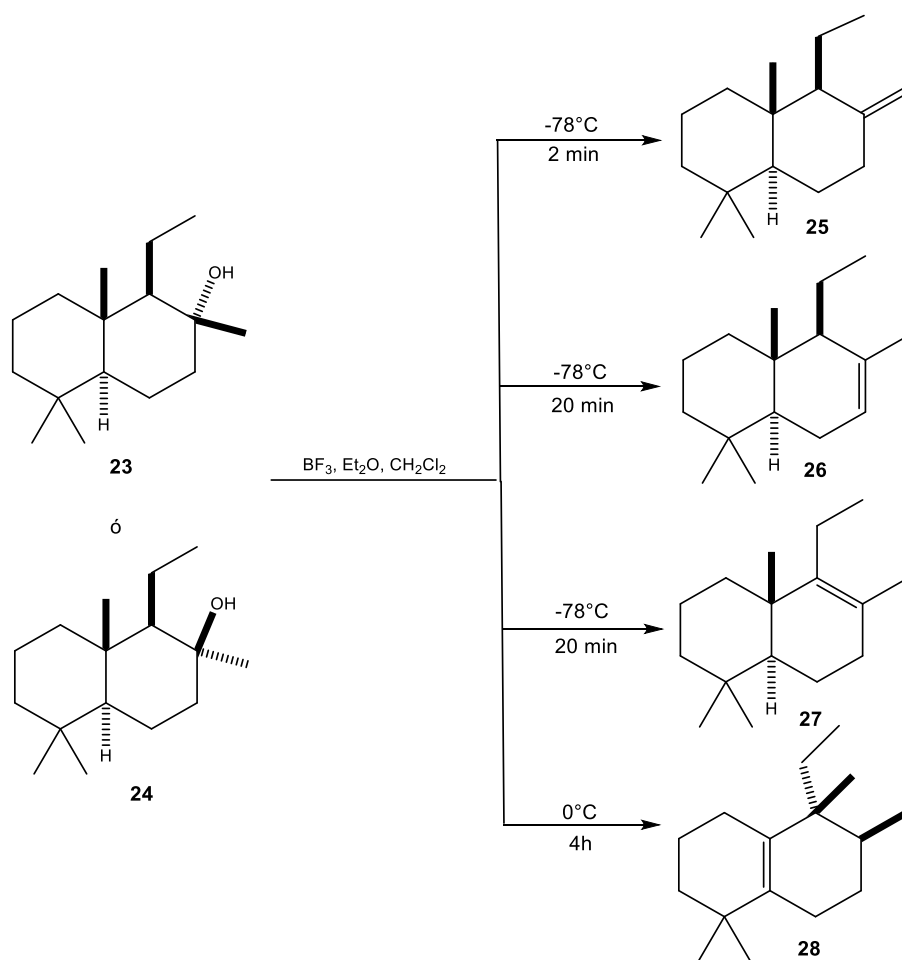


Figura 3. Diterpenos aislados y modificados de *Cistus ladaniferus*.

De igual manera, a partir de los tetranorlabdanos epiméricos **23** y **24**, cuando fueron tratados con BF_3 modificando la temperatura y tiempos de reacción, generaron además de los productos de deshidratación **25-27** el producto de reordenamiento **28**, como se observa en el esquema 14.³³



Esquema 14. Reordenamiento con BF_3 de labdanos **23** y **24**.

En una investigación química de los extractos hexánicos de *Ageratina jocotepecana* aislaron el ácido labd-7-en-15-oico conocido como ácido catívico (**29**), labd-7-en-15-oato de metilo (**30**), ácido 8-hidroxi-labdan-15-oico o ácido 13-*epi*-labdanólico (**31**), y el ácido labda-7,13-dien-15-oico (**33**). La coexistencia de (13*R*)- y (13*S*)-labdanos fue demostrada por mediciones de dicroísmo circular vibracional del éster **30** y 8-hidroxi-labdan-15-oato de metilo (**32**). Además, el tratamiento de **29** y **31** con HClO_4 en MeOH generó al labd-8-en-15-oato de metilo (**34**) y 13-*epi*-labd-8-en-15-oato de metilo (**35**), respectivamente, lo que confirmó la

presencia de epímeros en C-13 en esta planta (Figura 4). Cabe resaltar que los compuestos **29**, **31** y **33** correspondieron a los componentes mayoritarios en el extracto hexánico de flores y hojas.³⁴⁻³⁶

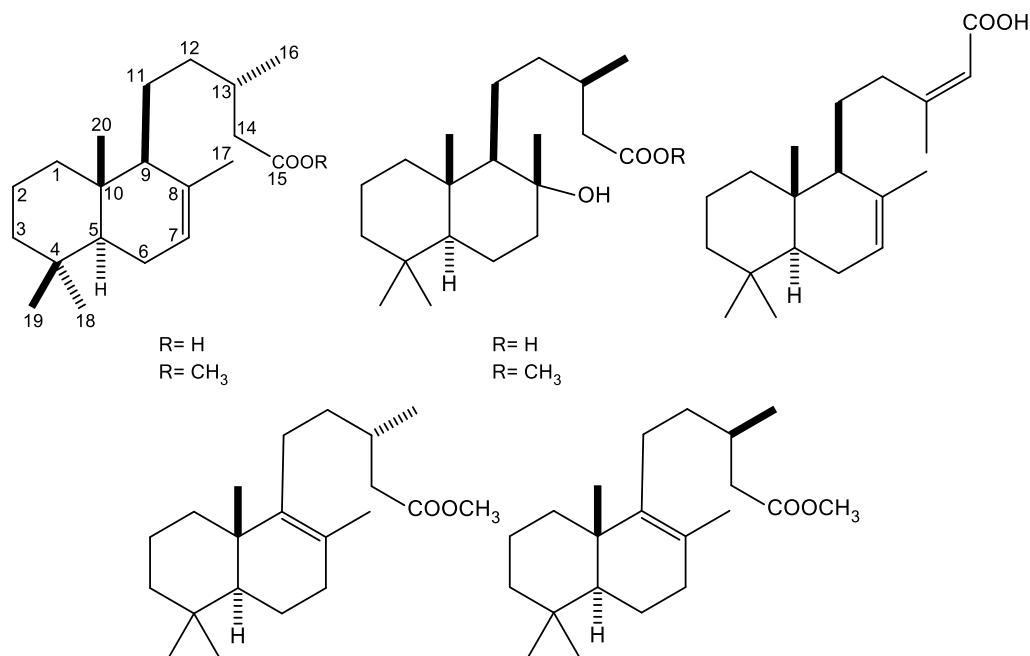


Figura 4. Diterpenos aislados y preparados de *Ageratina jocotepecana*.

En un estudio de la reactividad del labdano **31** en medios ácidos se obtuvo el producto de deshidratación **35**, utilizando concentraciones catalíticas de HClO₄ en MeOH.³⁶ El hallazgo de estos diterpenos en buenos rendimientos abre la posibilidad de realizar un estudio de reordenamientos moleculares para generar nuevos derivados con potencial actividad biológica.

3. JUSTIFICACIÓN

Los labdanos mayoritarios de *Ageratina jocotepecana* permiten realizar estudios para la generación de nuevos derivados mediante reacciones de reordenamiento molecular en medios ácidos, por lo que surge el interés de llevar a cabo la exploración de la reactividad de este tipo de compuestos, que permitan ampliar el conocimiento sobre su comportamiento químico y promover la generación de nuevos derivados con potencial biológico.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

Promover reacciones de reordenamientos moleculares en diterpenos de *Ageratina jocotepecana*.

4.2 Objetivos específicos

- Aislar al ácido catívico (**29**), ácido 13-*epi*-labdanólico (**31**) y ácido labdan-7,13-dienoico (**33**) de *Ageratina jocotepecana*.
- Promover las reacciones de reordenamiento en los labdanos modificando las condiciones de reacción.
- Caracterizar los productos obtenidos mediante métodos físicos y espectroscópicos.

5. HIPÓTESIS

Los grupos funcionales presentes en los ácidos catívico (**29**), ácido 13-*epi*-labdanólico (**31**) y ácido labdan-7,13-dienoico (**33**) de *Ageratina jocotepecana* al ser tratados en medio ácido generarán los respectivos productos de reordenamiento.

6. PARTE EXPERIMENTAL

Los espectros de RMN de ^1H a 400 MHz y de ^{13}C a 100 MHz, se midieron en un aparato Varian Mercury Plus-400. En todas las determinaciones se utilizó como disolvente deuteriocloroformo (CDCl_3) y como referencia interna tetrametil silano (TMS).

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

Para las separaciones cromatográficas en columna se utilizó sílica gel 230-400 mallas marca Merck.

6.1 Datos de la planta

Ageratina jocotepecana se colectó en el kilómetro 51 de la carretera Morelia-Zacapu, en el mes de febrero en 2015. Fue identificada por el Dr. Jerzy Rzedowski del Instituto de Ecología A.C. del Centro Regional del Bajío, en Pátzcuaro Michoacán.

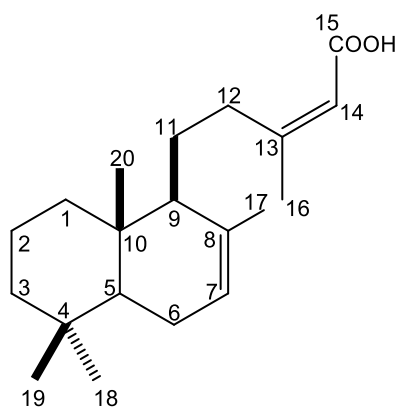
6.2 Obtención del extracto

La planta se secó a la sombra, un lote de 125 g de hojas y flores de *Ageratina jocotepecana*, se maceraron con 3.5 L de hexanos a temperatura ambiente por tres días, transcurrido este tiempo se filtró y evaporó el disolvente en un rotavapor. Este proceso se realizó tres veces para extraer la mayor cantidad posible de componentes no polares de la planta. El extracto obtenido se resuspendió en acetona para eliminar las grasas obteniendo un total de 6 g de extracto hexánico.

6.3 Aislamiento del ácido labdan-7,13-dienoico (**33**), ácido catívico (**29**) y ácido 13-*epi*-labdanólico (**31**)

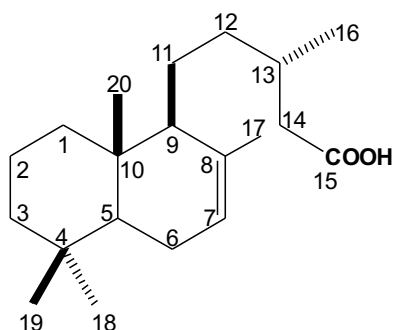
El total del extracto hexánico desengrasado fue llevado a cromatografía en columna usando mezclas de hexanos-AcOEt en polaridad ascendente, utilizando una columna de vidrio de 4 cm de diámetro, sílica gel 230-400 mallas como fase estacionaria y como fase móvil para el empacamiento se utilizó hexanos. Se colectaron fracciones de 20 mL.

Mediante sucesivas cromatografías en columna se obtuvo una miel incolora de las fracciones eluidas con hexanos-AcOEt (9:1). Del análisis espectroscópico se determinó que correspondía al ácido labdan-7,13-dienoico (**33**), comparando los datos con los reportados.^{34,37,38}



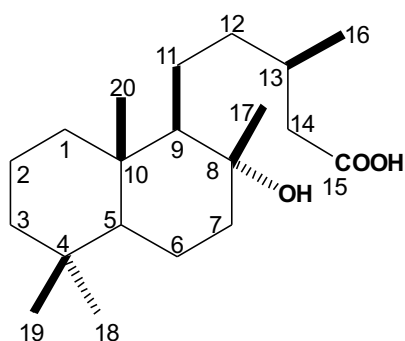
Ácido labdan-7,13-dienoico (33). Miel incolora. RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ : 5.66 (1H, s, H-14), 5.4 (1H, sa, H-7), 1.94 (3H, sa, H-16), 1.75 (3H, sa, H-17), 0.87 (3H, s, H-19), 0.85 (3H, s, H-18), 0.74 (3H, s, H-20); RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz) δ : 171.5 (C, C-15), 163.9 (C, C-13), 135.2 (C, C-8), 122.2 (CH, C-7), 115.3 (CH, C-14), 55.2 (CH, C-9), 50.1 (CH, C-5), 42.2 (CH_2 , C-3), 38.9 (CH_2 , C-1), 37.0 (C, C-10), 36.2 (CH_2 , C-12), 33.1 (C, C-4), 32.9 (CH_3 , C-18), 25.8 (CH_2 , C-11), 25.7 (CH_3 , C-16), 23.7 (CH_2 , C-6), 22.0 (CH_3 , C-19), 21.8 (CH_3 , C-17), 18.8 (CH_2 , C-2), 13.4 (CH_3 , C-20).

De las fracciones eluidas de las polaridades hexanos-AcOEt (8:2) se obtuvo una miel incolora, al ser analizado mediante RMN de ^1H y ^{13}C se identificaron señales correspondientes al ácido catívico (**29**), que fueron comparados con los reportados.^{34,35}



Ácido catívico (29). Miel incolora, RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ : 5.38 (1H, sa, H-7), 2.39 (1H, dd, $J=14.9, 5.8$ Hz, H-14), 2.14 (1H, dd, $J=14.9, 8.3$ Hz, H-14'), 1.94 (1H, m, H-13), 1.93 (1H, m, H-6), 1.89 (1H, m, H-6'), 1.83 (2H, m, H-1), 1.65 (3H, sa, H-17), 1.57 (1H, m, H-9), 1.56 (1H, m, H-12), 1.52 (1H, m, H-2), 1.49 (1H, m, H-11), 1.46 (1H, m, H-2'), 1.40 (1H, m, H-3), 1.18 (1H, m, H-12'), 1.17 (1H, m, H-5), 1.16 (1H, m, H-3'), 1.13 (1H, m, H-11'), 0.99 (3H, d, $J=6.6$ Hz, H-16), 0.94 (1H, m, H-1'), 0.87 (3H, s, H-19), 0.85 (3H, s, H-18), 0.75 (3H, s, H-20). RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ : 179.7 (C, C-15), 135.3 (C, C-8), 122.1 (CH, C-7), 55.2 (CH, C-9), 50.1 (CH, C-5), 42.3 (CH_2 , C-3), 41.3 (CH_2 , C-14), 39.3 (CH_2 , C-12), 39.1 (CH_2 , C-1), 36.8 (C, C-10), 33.2 (CH_3 , C-18), 32.9 (C, C-4), 31.1 (CH, C-13), 24.5 (CH_2 , C-11), 23.8 (CH_2 , C-6), 22.1 (CH_2 , C-17), 21.8 (CH_3 , C-19), 19.9 (CH_3 , C-16), 18.8 (CH_2 , C-2), 13.5 (CH_3 , C-20).

De las fracciones eluidas de las polaridades hexanos-AcOEt (7:3 a 3:2) se obtuvo un sólido blanco correspondiente al ácido 13-*epi*-labdanólico (**31**), al ser analizado mediante RMN de ^1H y ^{13}C se identificaron señales que fueron comparados con los reportados.^{34,35,36}



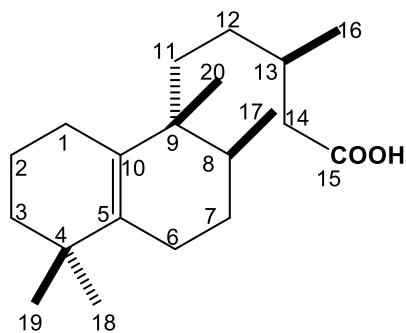
Ácido 13-*epi*-labdanólico (31). Cristales blancos en forma de aguja, RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ : 2.39 (1H, dd, $J=14.7, 6.4$ Hz, H-14), 2.13 (1H, dd, $J=14.7, 7.6$ Hz, H-14'), 1.97 (1H, m, H-13), 1.85 (1H, dt, $J=12.2, 2.9$ Hz, H-7), 1.64 (1H, m, H-6), 1.60 (1H, m, H-1), 1.58 (1H, m, H-2), 1.42 (2H, m, H-2' y H-11), 1.40 (2H, m, H-12 y H-12'), 1.35 (2H, m, H-3 y H-7'), 1.25 (1H, m, H-6'), 1.24 (1H, m, H-11'), 1.15 (3H, s, H-17), 1.13 (1H, m, H-3'), 1.03 (1H, m, H-9), 0.98 (3H, d, $J=6.5$ Hz, H-16), 0.93 (1H, m, H-1'), 0.91 (1H, m, H-5), 0.86 (3H, s, H-18), 0.78 (6H, s, H-19 y H-20). RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ : 178.4 (C, C-15), 74.6 (C, C-8), 61.7 (CH, C-9), 56.0 (CH, C-5),

44.2 (CH₂, C-7), 41.9 (CH₂, C-3), 40.9 (CH₂, C-14), 39.8 (CH₂, C-12), 39.6 (CH₂, C-1), 39.1 (C, C-10), 33.3 (CH₃, C-18), 33.2 (C, C-4), 30.7 (CH, C-13), 23.8 (CH₃, C-17), 21.9 (CH₂, C-11), 21.4 (CH₃, C-19), 20.4 (CH₂, C-6), 19.9 (CH₃, C-16), 18.4 (CH₂, C-2), 15.4 (CH₃, C-20).

6.4 Reacción general de reordenamiento en medio ácido

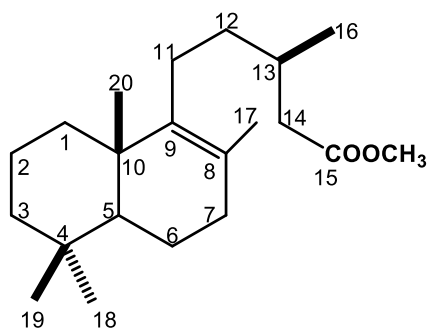
Preparación de los derivados **35**, **41**, **42**, **44** y **45**.

A una solución de 100 mg de **29**, **31**, **33** ó **37** en 3 mL de tolueno, se le adicionaron 3 mL de ácido fórmico. La mezcla de reacción se dejó a reflujo durante dos horas, transcurrido este tiempo la mezcla de reacción se vertió a un embudo de separación que contenía hielo y se extrajo con AcOEt, la fase orgánica se lavó con agua y solución saturada de bicarbonato de sodio. Se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y concentró para posteriormente determinar RMN de ¹H y ¹³C. Los crudos de reacción fueron purificados mediante cromatografía y TLC.



Ácido 13-epi-labd-5(10)-en-15-oico (**41**).

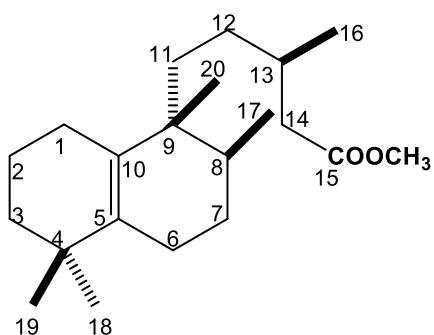
Miel incolora (64% rendimiento). RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 2.32 (1H, dd, *J* = 15.0, 6.6 Hz, H-14), 2.16 (1H, dd, *J* = 15.0, 7.7 Hz, H-14'), 0.97 (3H, s, H-18), 0.96 (3H, d, *J* = 7.3 Hz, H-16), 0.93 (1H, s, H-19), 0.81 (3H, d, *J* = 6.9 Hz, H-17), 0.79 (3H, s, H-20). RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ: 179.4 (C, C-15), 136.8 (C, C-5), 132.5 (C, C-10), 41.8 (CH₂, C-14), 40.5 (C, C-9), 39.9 (CH₂, C-3), 34.4 (C, C-4), 33.5 (CH, C-8), 33.4 (CH₂, C-1), 31.1 (CH, C-13), 30.7 (CH₂, C-12), 29.2 (CH₃, C-19), 27.6 (CH₃, C-16), 27.2 (CH₂, C-11), 25.7 (CH₂, C-7), 25.2 (CH₂, C-6), 21.1 (CH₃, C-20), 19.9 (CH₂, C-2), 19.6 (CH₃, C-18), 16.0 (CH₃, C-17). EMIE 70 eV *m/z* (Int. Rel.) C₂₀H₃₄O₂, [M-2]⁺ 304(2), 303(10), 302(43), 284(12), 205(20), 191(38), 187(27), 188(141), 185(50), 173(77), 171(104), 159(160), 143(125), 83(100), 73(82).



Éster metílico del ácido-13-*epi*-labd-8-en-

15-oico (35). Miel incolora (77% rendimiento).

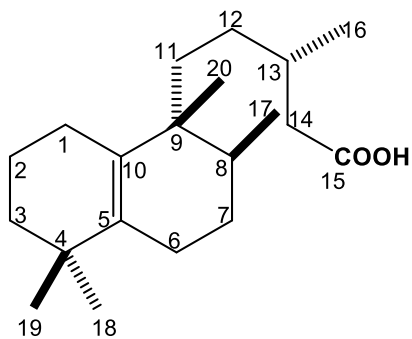
RMN de ^1H δ 3.66 (3H, s, OCH₃), 2.34 (1H, dd, J = 14.7, 5.9 Hz, H-14), 2.13 (1H, dd, J = 14.9, 8.5 Hz, H-14'), 2.05 (1H, m, H-11), 1.95 (2H, m, H-7), 1.93 (1H, m, H-13), 1.82 (1H, m, H-11'), 1.77 (1H, m, H-1), 1.62 (2H, m, H-6), 1.53 (3H, s, H-17), 1.45 (2H, m, H-2), 1.39 (1H, m, H-3), 1.34 (1H, m, H-12), 1.25 (1H, m, H-12'), 1.15 (1H, m, H-3'), 1.12 (1H, m, H-1'), 1.10 (1H, m, H-5), 0.97 (3H, d, J = 6.4 Hz, H-16), 0.93 (3H, s, H-20), 0.87 (3H, s, H-18), 0.82 (3H, s, H-19); RMN de ^{13}C δ 173.7 (C-15), 140.4 (C-9), 74.6 (C-8), 51.8 (C-5), 51.3 (OCH₃), 41.7 (C-3), 41.4 (C-14), 38.9 (C-10), 37.2 (C-12), 36.9 (C-1), 33.6 (C-7), 33.3 (C-18), 33.3 (C-4), 31.4 (C-13), 25.4 (C-11), 21.6 (C-19), 20.0 (C-20), 19.6 (C-16), 19.4 (C-17), 19.0 (C-6), 19.0 (C-2).



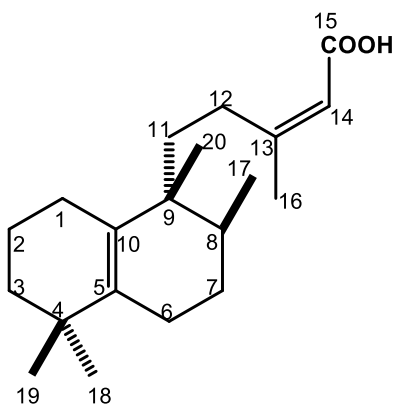
13-*epi*-labd-5(10)-en-15-oato de metilo

(42). Miel incolora (90% rendimiento). RMN de ^1H

(400 MHz, CDCl₃) δ : 3.65 (3H, s, OCH₃), 2.28 (1H, dd, J = 14.7, 6.6 Hz, H-14), 2.12 (1H, dd, J = 14.7, 7.7 Hz, H-14'), 0.96 (3H, s, H-18), 0.94 (3H, s, H-19), 0.92 (3H, d, J = 6.6 Hz, H-16), 0.81 (3H, d, J = 6.9 Hz, H-17), 0.79 (3H, s, H-20). RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl₃) δ : 173.7 (C, C-15), 136.7 (C, C-5), 132.5 (C, C-10), 51.3 (OCH₃), 41.9 (CH₂, C-14), 40.4 (C, C-9), 39.9 (CH₂, C-3), 34.4 (C, C-4), 33.5 (CH, C-8), 33.4 (CH₂, C-1), 31.3 (CH, C-13), 30.7 (CH₂, C-12), 29.2 (CH₃, C-16), 27.6 (CH₃, C-19), 27.2 (CH₂, C-11), 25.7 (CH₂, C-7), 25.2 (CH₂, C-6), 21.1 (CH₃, C-20), 19.9 (CH₂, C-2), 19.7 (CH₃, C-18), 16.0 (CH₃, C-17). EMIE 70 eV m/z (Int. Rel.) C₂₁H₃₆O₂, [M]⁺ 320(6), 312(4), 305(2), 296(9), 289(7), 192(48), 191(53), 190(100), 175(6), 161(6), 149(21), 147(5), 135(38), 121(26), 109(24), 107(20), 105(13), 95(31), 93(14), 91(13), 83(10), 81(12), 79(10), 69(28), 55(19).



Ácido labd-5(10)-en-15-oico (44). Miel incolora (88% rendimiento). RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ : 2.38 (1H, dd, $J = 14.9, 5.6$ Hz, H-14), 2.12 (1H, dd, $J = 14.9, 8.7$ Hz, H-14'), 0.97 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-16), 0.96 (3H, s, H-18), 0.95 (3H, s, H-19) 0.81 (3H, d, $J = 6.9$ Hz, H-17), 0.79 (3H, s, H-20). RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ : 179.2 (C, C-15), 136.8 (C, C-5), 132.4 (C, C-10), 40.9 (CH_2 , C-14), 40.4 (C, C-9), 39.9 (CH_2 , C-3), 34.4 (C, C-4), 33.5 (CH, C-8), 33.4 (CH_2 , C-11), 31.0 (CH, C-13), 30.8 (CH_2 , C-12), 29.2 (CH_3 , C-19), 27.7 (CH_3 , C-16), 27.2 (CH_2 , C-1), 25.8 (CH_2 , C-7), 25.1 (CH_2 , C-6), 21.2 (CH_3 , C-20), 20.0 (CH_3 , C-2), 19.9 (CH_2 , C-18), 16.0 (CH_3 - C-17).



Ácido-labd-5(10)-13-dien-15-oico (45). Miel incolora (89% rendimiento). RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ : 5.64 (1H, s, H-14), 1.91 (3H, s, H-16), 0.97 (3H, s, H-18), 0.95 (3H, s, H-19), 0.88 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H-17), 0.82 (3H, s, H-20). RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ : 171.3 (C, C-15), 164.9 (C, C-13), 137.1 (C, C-5), 132.1 (C, C-10), 114.9 (CH, C-14), 40.8 (C, C-9), 39.9 (CH_2 , C-3), 34.6 (C, C-4), 34.4 (CH_2 , C-11), 33.5 (CH, C-8), 29.1 (CH_3 , C-18), 28.7 (CH_2 , C-12), 27.7 (CH_3 , C-19), 27.2 (CH_2 , C-7), 25.7 (CH_3 , C-16), 25.6 (CH_2 , C-6), 25.0 (CH_2 , C-1), 21.0 (CH_3 , C-20), 19.9 (CH_2 , C-2), 16.0 (CH_3 , C-17). EMIE 70 eV m/z (Int. Rel.) $\text{C}_{20}\text{H}_{32}\text{O}_2$, $[\text{M}]^+$ 304(3), 193(2), 192(25), 191(100), 189(1), 187(2), 177(2), 175(3), 161(3), 150(1), 149(11), 147(3), 145(2), 136(3), 135(19), 133(4), 121(13), 119(6), 109(12), 107(10), 105(8), 95(16), 93(7), 91(7), 83(4), 81(5), 79(5), 69(9), 55(7).

7. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La especie de *Ageratina jocotepecana* se colectó a orilla de la carretera en el kilómetro 51 de la carretera Morelia-Zacapu, se utilizaron hojas y flores de la planta. Se realizó una maceración en hexanos por tres días y se concentró el extracto. El extracto hexánico total de hojas y flores fue disuelto en acetona, se dejó reposar a 5 °C por tres días con la finalidad de precipitar las grasas.

Un total de 6 g del extracto desengrasado fue purificado por cromatografía en columna, utilizando como eluyente mezclas de hexanos-AcOEt en polaridad ascendente, mediante sucesivas cromatografías en columna se obtuvo una miel incolora en las fracciones eluidas con hexanos-AcOEt (9:1). En su espectro de RMN de ^1H (Figura 5) se observa una señal simple ancha en 5.66 ppm correspondiente al hidrógeno vinílico H-14, en 5.40 ppm se observa una señal simple ancha correspondiente al hidrógeno vinílico H-7, en 1.94 ppm se encuentra una señal simple que integra para tres hidrógenos correspondiente a los hidrógenos del CH_3 -16, en 1.75 ppm se observa una señal simple que integra para tres hidrógenos que corresponden a los hidrógenos del metilo vinílico CH_3 -17, en 0.87, 0.85 y 0.74 ppm se aprecian 3 señales simples correspondientes a los metilos terciarios CH_3 -18, CH_3 -19 y CH_3 -20, respectivamente. En el espectro de RMN de ^{13}C (Figura 6), se aprecian 20 señales, características de un compuesto diterpénico. En 171.5 ppm se localiza una señal correspondiente al carbonilo del ácido carboxílico, en 163.9 ppm se aprecia la señal del carbono cuaternario vinílico C-13, en 135.2 y 122.2 ppm se localizan las señales correspondientes a carbonos vinílicos, identificados como C-8 y C-7, en 115.3 ppm se aprecia una señal correspondiente al carbono vinílico C-14. El resto de las señales se observan entre 55.2-13.4 ppm (Tabla 1). Estos datos fueron iguales a los descritos para el ácido labdan-7,13-dien-15-oico (**33**).^{34,37,38}

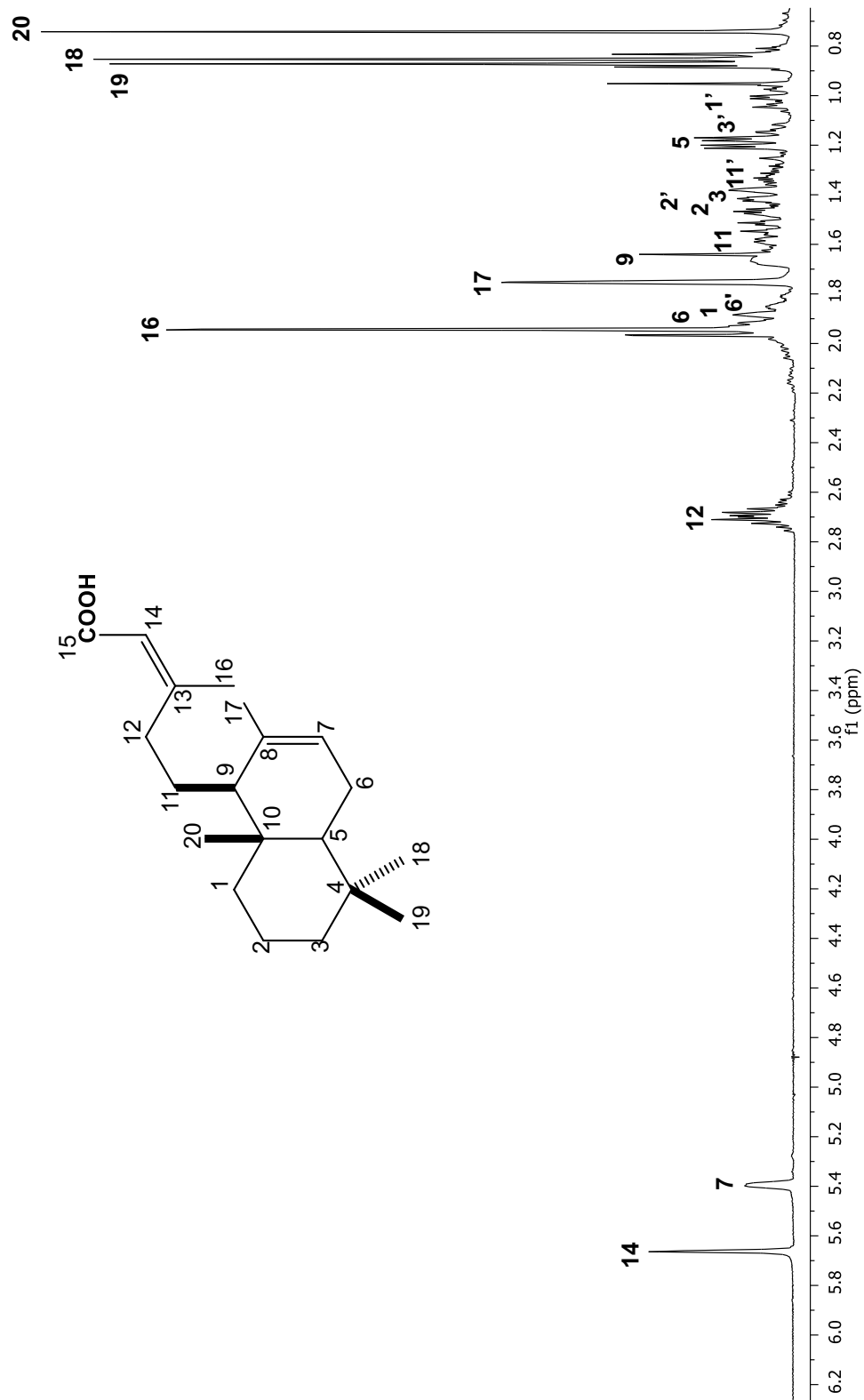


Figura 5. Espectro de RMN de ¹H a 400 MHz del ácido labdan-7,13-dienoico (33).

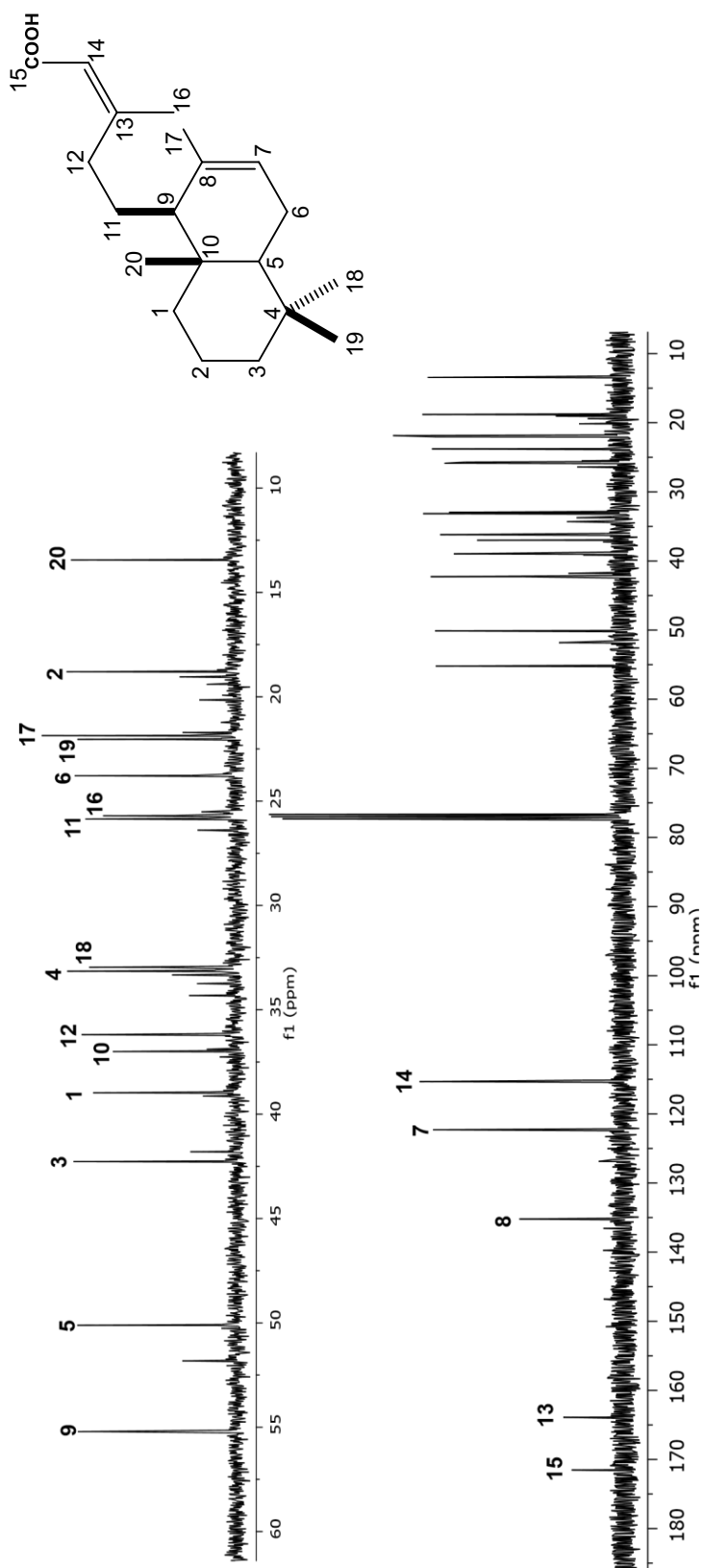


Figura 6. Espectro de RMN de ^{13}C a 100 MHz del ácido labdan-7,13-dienoico (33).

De las fracciones eluidas con hexanos-AcOEt (8:2) se obtuvo una miel incolora, en su espectro de RMN de ^1H (Figura 7) se observa una señal simple ancha en 5.38 ppm correspondiente al hidrógeno vinílico H-7, en 2.39 ppm se encuentra una señal doble de dobles con $J_{14,14'} = 14.9$ y $J_{14,13} = 5.8$ Hz, asignada a H-14, en 2.14 ppm se observa otra señal doble de dobles con $J_{14',14} = 14.9$ y $J_{14',13} = 8.3$ Hz correspondiente al H-14'. En 1.65 ppm está presente una señal simple que integra para tres hidrógenos correspondientes al metilo vinílico CH_3 -17, en 0.99 ppm se encuentra una señal doble con $J = 6.6$ Hz perteneciente al H-16, en la zona característica de metilos terciarios se observan tres señales simples en 0.87, 0.85 y 0.75 ppm, asignadas a los metilos terciarios CH_3 -19, CH_3 -18 y CH_3 -20, respectivamente. En el espectro de RMN de ^{13}C (Figura 8), se observan 20 señales principales, características de un compuesto diterpénico (Tabla 1). En 179.7 ppm se observa una señal correspondiente al carbonilo del ácido carboxílico, en 135.3 y 122.1 ppm se localizan dos señales correspondientes a carbonos vinílicos C-8 y C-7. El resto de las señales se ubican entre 55.2-13.5 ppm. Los datos de RMN fueron comparados con la literatura, se determinó que correspondía al ácido catívico (**29**).^{34,35}

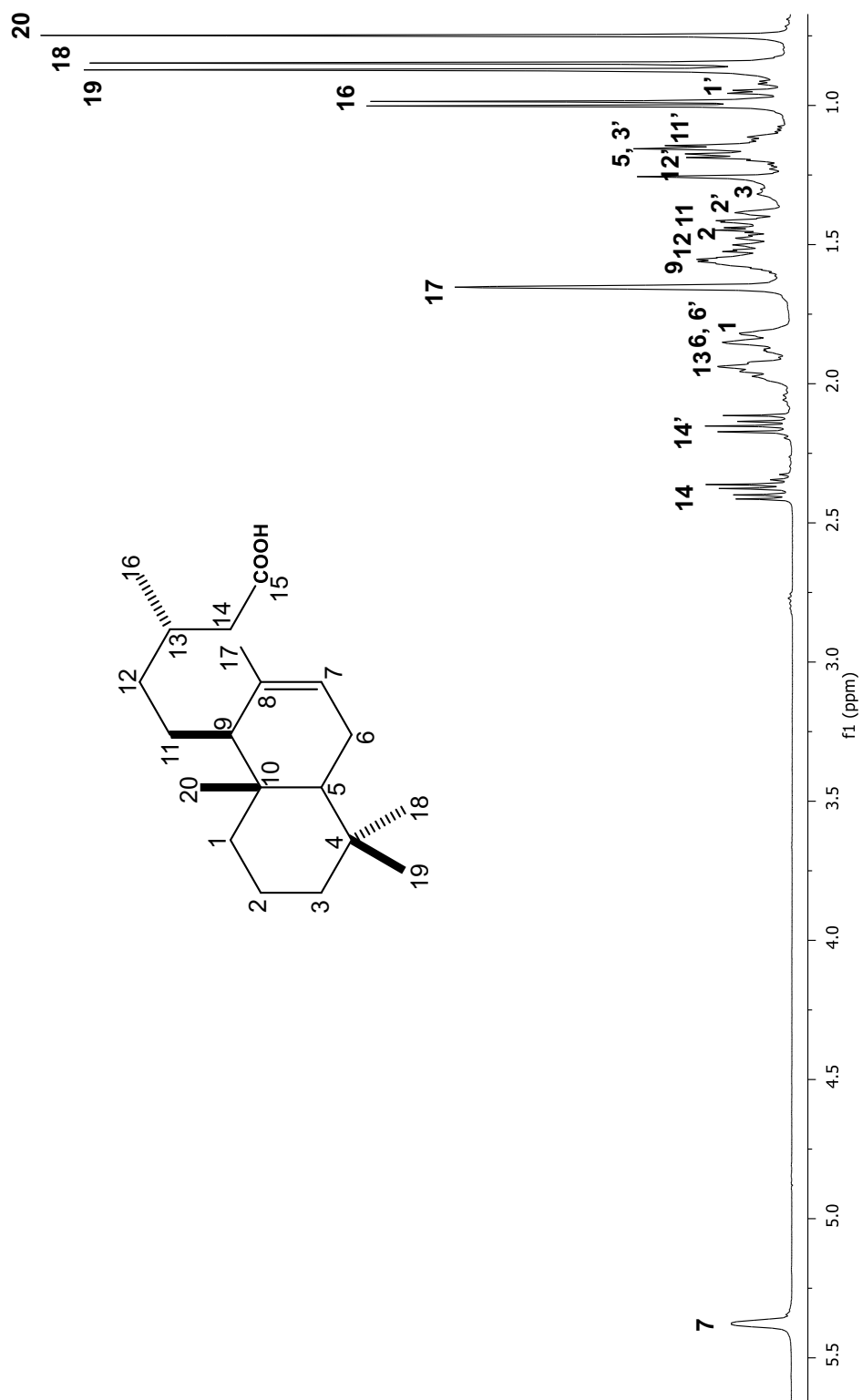


Figura 7. Espectro de RMN de ^1H a 400 MHz del ácido catiónico (29).

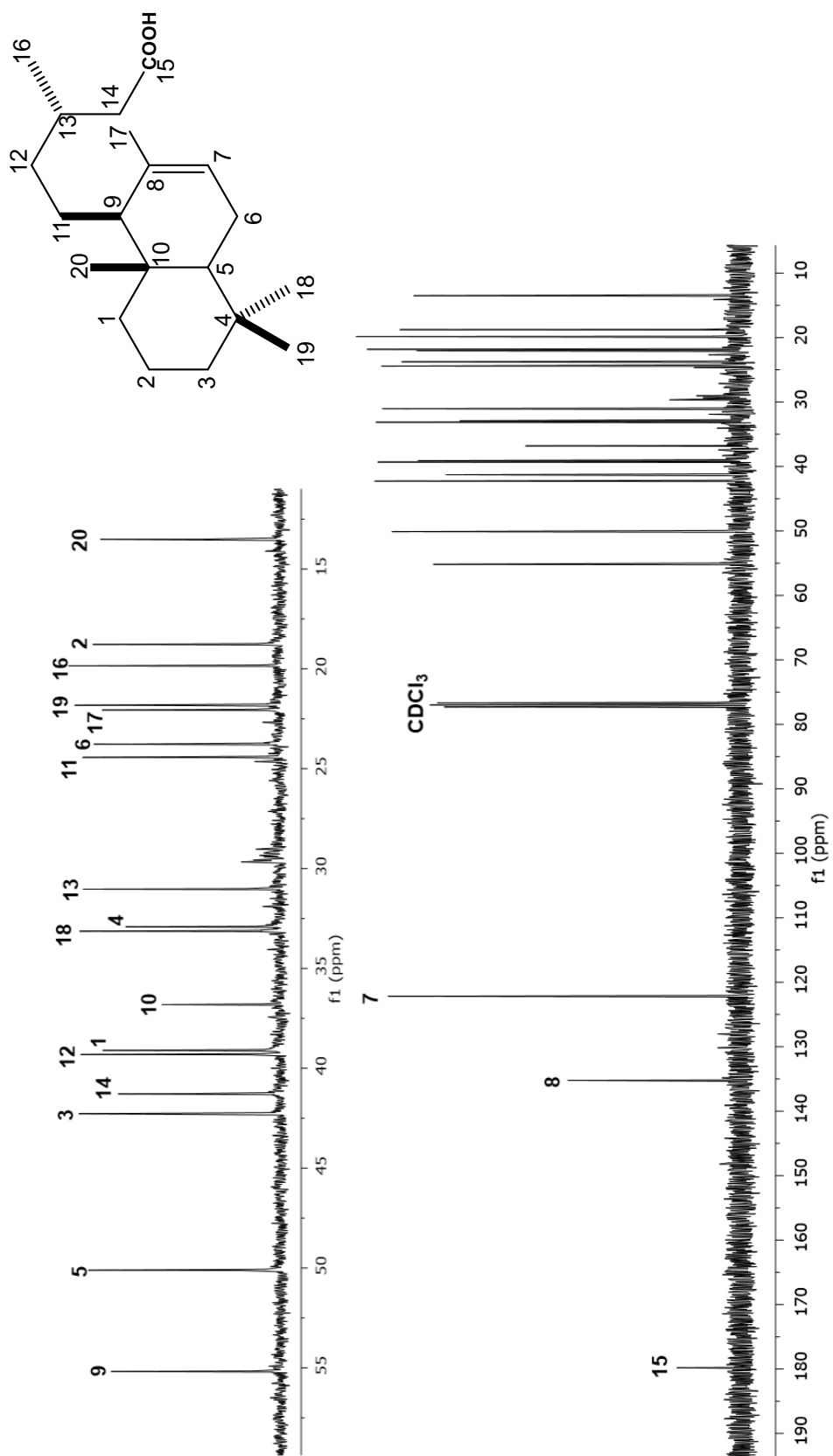


Figura 8. Espectro de RMN de ¹³C a 100 MHz del ácido catívico (29).

De las fracciones eluidas con hexanos-AcOEt (7:3) se obtuvo un sólido blanco. En su espectro de RMN de ^1H (Figura 9) se observan dos señales doble de dobles en 2.39 ppm ($J_{14,14'} = 14.7$ Hz y $J_{14,13} = 6.4$ Hz) y en 2.13 ppm ($J_{14',14} = 14.7$ Hz y $J_{14',13} = 7.6$ Hz) correspondientes a los hidrógenos del metileno CH_2 -14, la señal simple en 1.15 ppm es asignada al metilo CH_3 -17. En 0.98 ppm se encuentra una señal doble con $J_{16,13} = 6.5$ Hz correspondiente al metilo secundario CH_3 -16, en 0.86 ppm se localiza la señal simple del CH_3 -18, en 0.78 ppm se localiza una señal simple que integra para seis hidrógenos correspondiente a los metilos CH_3 -19 y CH_3 -20. En el espectro de RMN de ^{13}C (Figura 10) se observan 20 señales, en 178.4 ppm se observa la señal correspondiente al carbonilo del ácido carboxílico, en 74.6 ppm se encuentra la señal del carbono cuaternario base de oxígeno, C-8. El resto de los datos se pueden observar en la tabla 1, los cuales fueron iguales a los reportados para el ácido 13-*epi*-labdanólico (**31**).^{34,35,36}

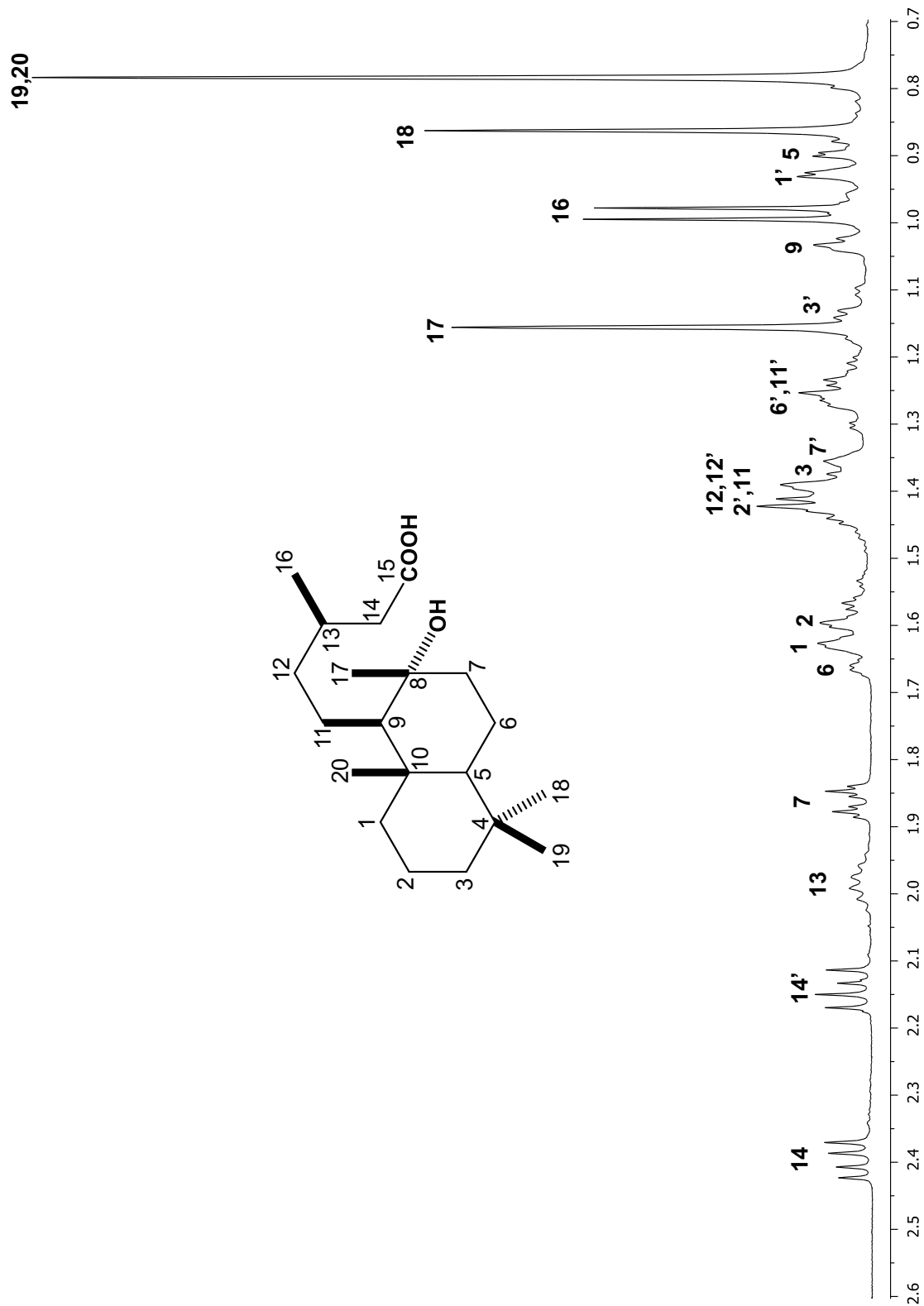


Figura 9. Espectro de RMN de ^1H a 400 MHz del ácido 13-epi-labdánico (31).

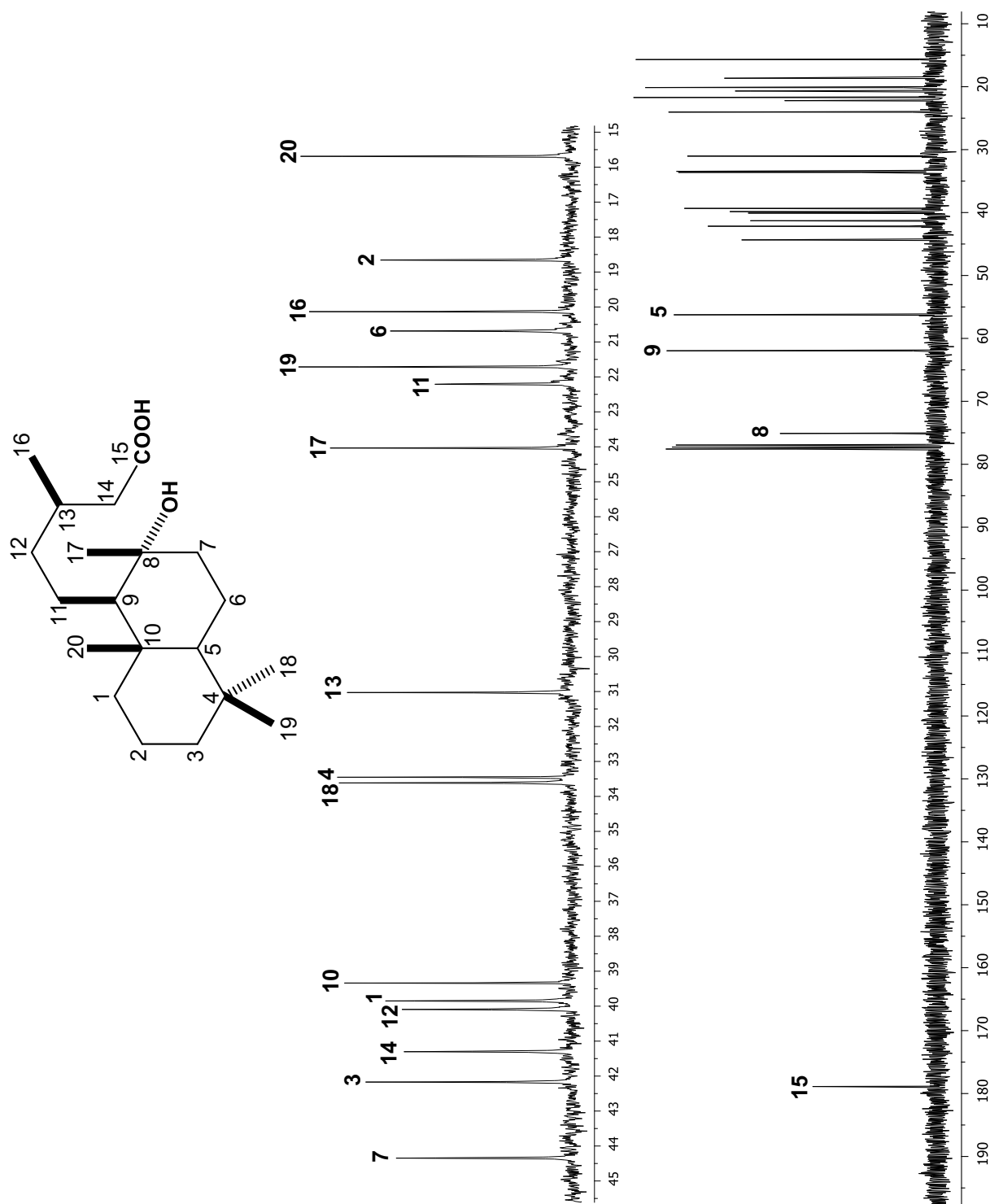
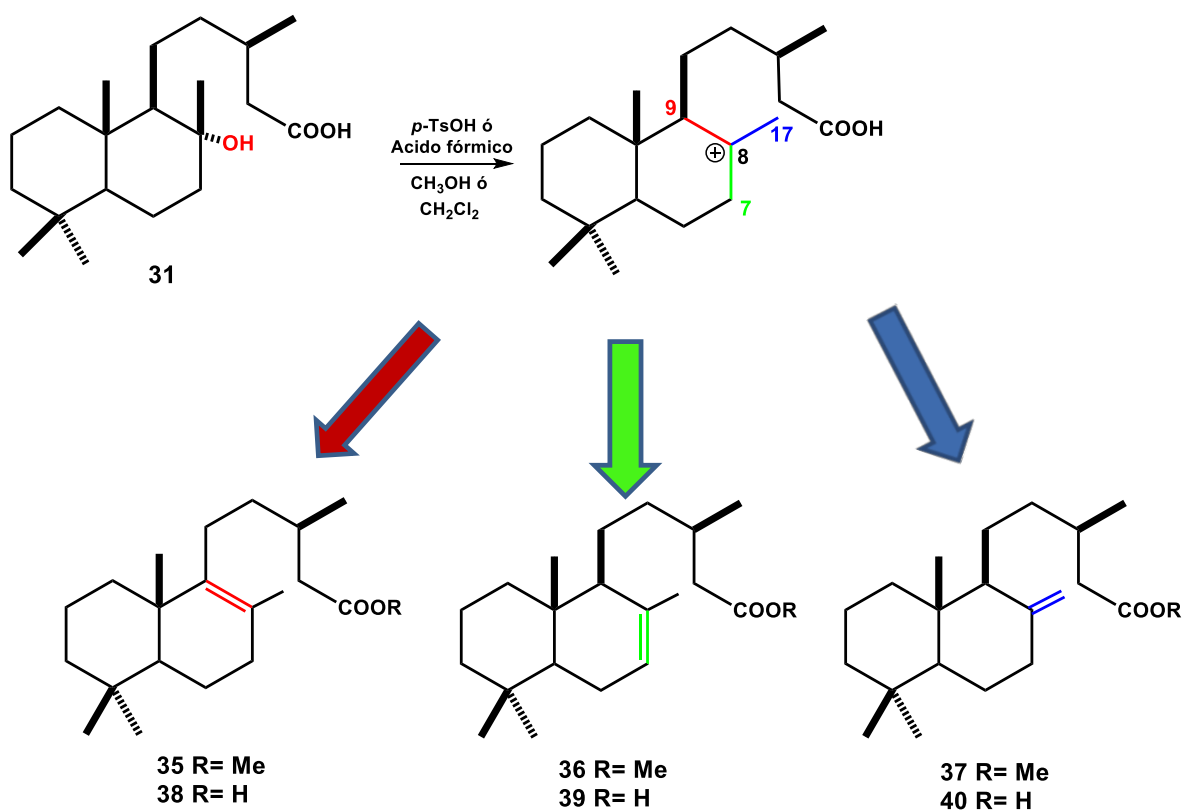


Figura 10. Espectro de RMN de ^{13}C a 100 MHz del ácido 13-*epi*-labdanónico (31).

Tabla 1. Desplazamientos químicos de RMN de ^{13}C a 100 MHz en CDCl_3 de los compuestos **29**, **31**, y **33**.

C	29	31	33
1	39.1	39.6	38.9
2	18.8	18.4	18.8
3	42.3	41.9	42.2
4	32.9	33.2	33.1
5	50.1	56.0	50.1
6	23.8	20.4	23.7
7	122.1	44.2	122.2
8	135.3	74.6	135.2
9	55.2	61.7	55.2
10	36.8	39.1	37.0
11	24.5	21.9	25.8
12	39.3	39.8	36.2
13	31.1	30.7	163.9
14	41.3	40.9	115.3
15	179.7	178.4	171.5
16	19.9	19.9	25.7
17	22.1	23.8	21.8
18	33.2	33.3	32.9
19	21.8	21.4	22.0
20	13.5	15.4	13.4

Una vez aislados los labdanos **29**, **31** y **33** se sometieron a reacción de manera independiente en ácido *p*-toluensulfónico y ácido fórmico para generar los posibles productos de reordenamiento. Analizando la estructura del ácido 13-*epi*-labdanólico (**31**) observamos que presenta un grupo hidroxilo en la posición 8, que al ser protonado por el medio ácido puede salir en forma de agua generando un carbocatión terciario en el C-8, el cual puede ser estabilizado mediante la eliminación de uno de los hidrógenos vecinos abriendo la posibilidad de obtener productos de deshidratación. Al eliminarse H-9 se generarían los alquenos **35** y **38** que serían los más estables de acuerdo a la regla de Zaitsev, si se eliminara H-7 daría origen a los alquenos **36** y **39**, mientras tanto si se eliminara H-17 se obtendría **37** y **40** respectivamente. Cabe mencionar que estas condiciones también favorecerían la esterificación del ácido carboxílico al usar MeOH como disolvente.



Esquema 15. Productos de deshidratación en medio ácido.

Los ensayos se iniciaron con un lote de 37 mg del ácido 13-*epi*-labdanólico (**31**) con 700 μL de ácido fórmico en 2 mL de CH_2Cl_2 como disolvente a reflujo por 4 h, obteniendo una miel amarilla. En su espectro de RMN de ^1H (Figura 11) se observa una señal simple ancha en 5.39 ppm, señal característica de un hidrógeno vinílico en la posición 7, además se observan dos señales simples ancha en 4.8 y 4.5 ppm indicando la presencia de un doble enlace exocíclico, así como la presencia de metilos vinílicos en 1.68 y 1.57 ppm y un cambio en el desplazamiento químico de los metilos terciarios 18, 19 y 20, lo que nos sugiere que el OH del C-8 ha sido deshidratado mediante la eliminación de los H-7, H-9 y H-17, para la generación de la mezcla de isómeros **38**, **39**, **40** (Esquema 15) de los cuales el diterpeno **40**, fue aislado de los tallos de *Moldenhawera nutans* y presentando una actividad antibacteriana,³⁹ el derivado **38** fue obtenido mediante deshidratación en medio ácido en un trabajo anterior.³⁶

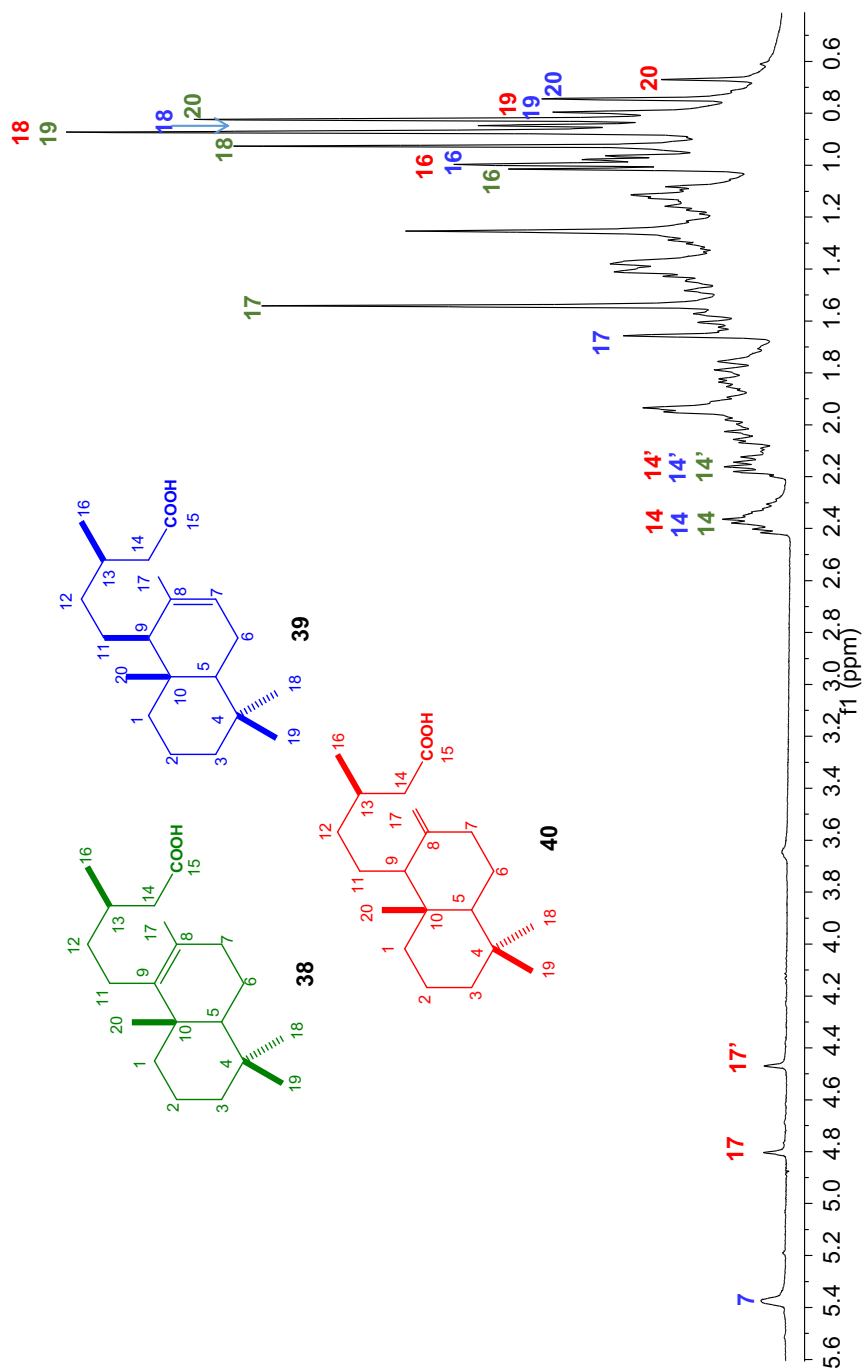


Figura 11. Espectro de RMN de ^1H a 400 MHz del crudo de reacción del ácido **31** con ácido fórmico.

De acuerdo con los resultados obtenidos se decidió modificar algunas condiciones de reacción química empleando 100 mg de **31**, utilizando ahora un ácido orgánico fuerte 415 mg de ácido *p*-TsOH en 6 mL de MeOH un disolvente polar a reflujo por 1 h y aumentando la temperatura a 65° C, el crudo de reacción fue analizado mediante RMN de ¹H (Figura 12), donde se observa una señal simple ancha en 5.38 ppm, señal característica de un hidrógeno vinílico en la posición 7, se aprecian también dos señales simples anchas en 4.8 y 4.5 ppm indicando la presencia de un doble enlace exocíclico, así como la presencia de metilos vinílicos en 1.69 y 1.58 ppm, se observa un cambio de desplazamiento de los metilos terciarios en comparación con la materia prima y la presencia de una nueva señal simple en 3.68 ppm característica de un metoxilo, lo cual sugiere una mezcla de isómeros **35**, **36**, **37**, productos de deshidratación del OH de la posición 8 por la eliminación de los hidrógenos vecinos H-7, H-9, H-17 (Esquema 15) que además del proceso de deshidratación se favoreció la formación del respectivo metil éster. Estos compuestos fueron comparados con los obtenidos por deshidratación en medio básico de *Cistus ladaniferus*,^{31,32} en medio ácido a partir de **40** aislado de *Moldenhawera nutans*³⁹ y en estudios previos realizados en nuestro grupo de investigación.^{34,36}

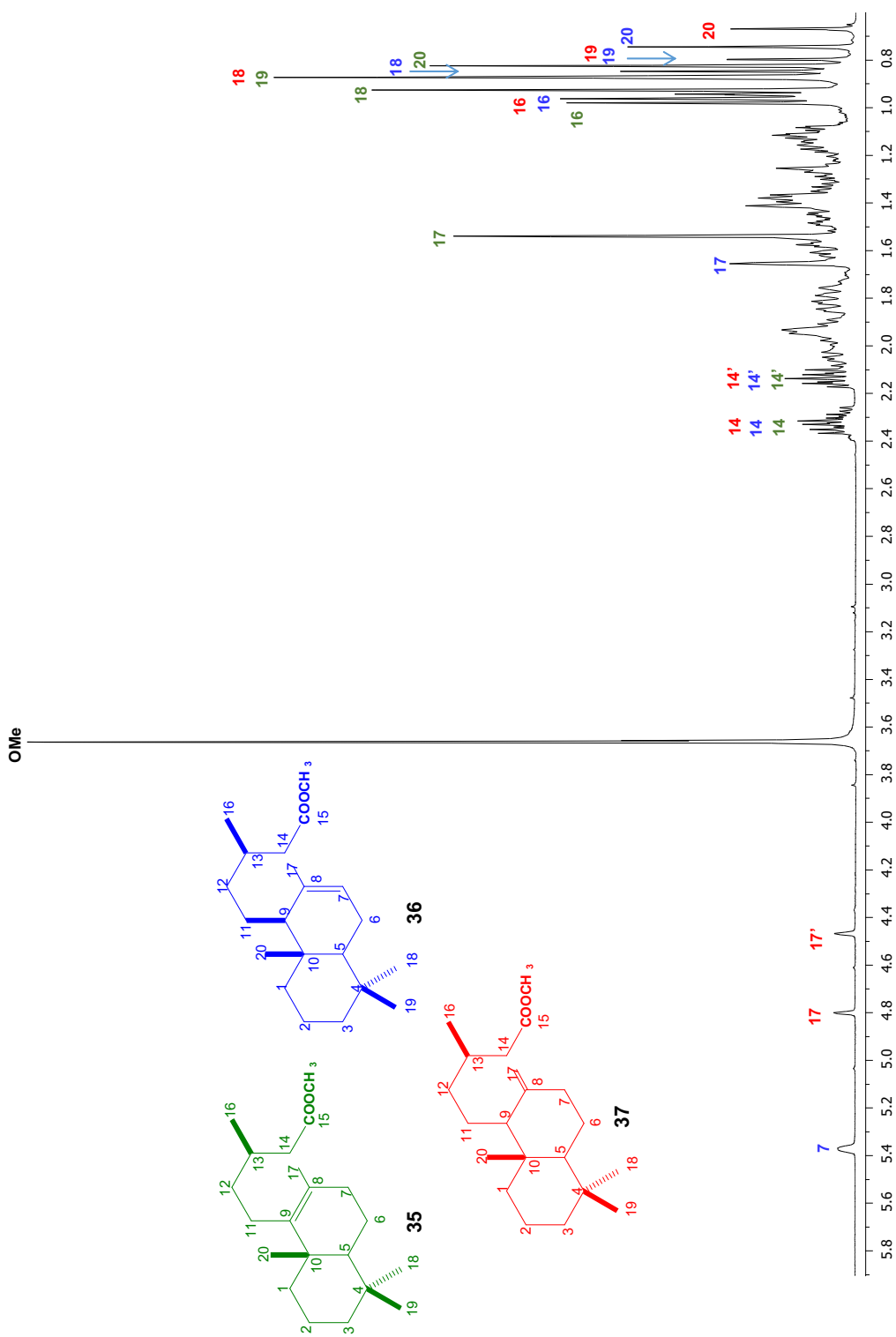
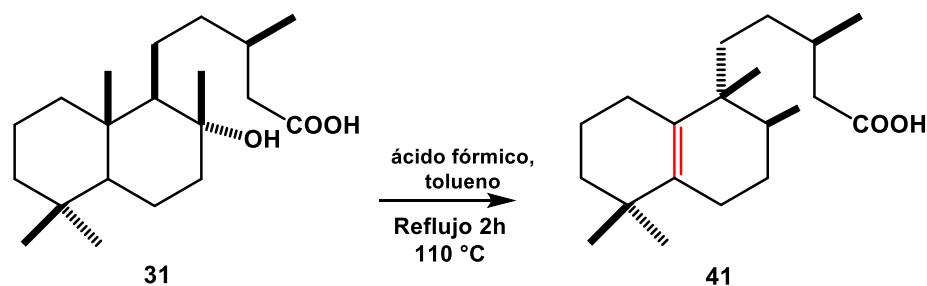


Figura 12. Espectro de RMN de ^1H a 400 MHz del crudo de reacción de **31** con ácido *p*-TsOH en MeOH.

Observando los resultados anteriores se decidió incrementar la concentración del ácido y la temperatura, empleando 50 mg de **31** adicionando 3 mL de ácido fórmico en 3 mL de tolueno a reflujo por 2 h, el crudo de reacción fue purificado por cromatografía en placa usando como eluyente mezcla de hexano-acetona (8:2) obteniendo una miel incolora, que al ser analizada mediante RMN de 1D y 2D se propone que corresponde al derivado reordenado **41** (Esquema 16).



Esquema 16. Producto de reordenamiento en medio ácido.

En su espectro de RMN de ^1H (Figura 13) se observan dos señales doble de dobles en 2.32 ppm ($J_{14, 14'} = 15.0$ Hz y $J_{14, 13} = 6.6$ Hz) y en 2.16 ppm ($J_{14, 14'} = 15.0$ Hz y $J_{14, 13} = 7.7$ Hz), correspondientes a los hidrógenos del metileno CH_2 -14. En 0.97 ppm se observa una señal simple que integra para tres hidrógenos que corresponde al metilo CH_3 -18, en 0.96 ppm se encuentra una señal doble con $J_{16, 13} = 7.3$ Hz que integra para tres hidrógenos, correspondiente al metilo secundario CH_3 -16; en 0.93 ppm aparece la señal simple asignada al metilo terciario CH_3 -19, en 0.81 ppm se observa la señal doble ($J_{17, 8} = 6.9$ Hz), del metilo secundario CH_3 -17, en 0.79 ppm se encuentra la señal simple del metilo terciario CH_3 -20. En el experimento COSY (Figura 14) se observa la correlación de la señal doble en 0.81 ppm asignada al metilo secundario CH_3 -17 con la señal múltiple en 1.56 ppm perteneciente al H-8, lo que sugiere la eliminación del grupo hidroxilo y la consecuente migración del hidruro H-9 al carbono C-8. En el análisis del espectro de RMN de ^{13}C (Figura 15) se observan las 20 señales esperadas para el diterpeno, entre las que se aprecian dos señales de carbonos vinílicos en 136.8 y 132.5 ppm asignados a los carbonos C-5 y C-10. La formación de este doble enlace deriva en el reordenamiento del metilo CH_3 -20 hacia el C-9. Estos cambios

se sustentan por el número de carbonos cuaternarios y carbonos protonados determinados mediante el experimento DEPT.

Las señales de RMN de ^{13}C se asignaron con ayuda del experimento HETCOR (Figura 16), Estos resultados permiten definir la formación del ácido 13-*epi*-labd-5(10)-en-15-oico (**41**), el cual corresponde a un compuesto novedoso.

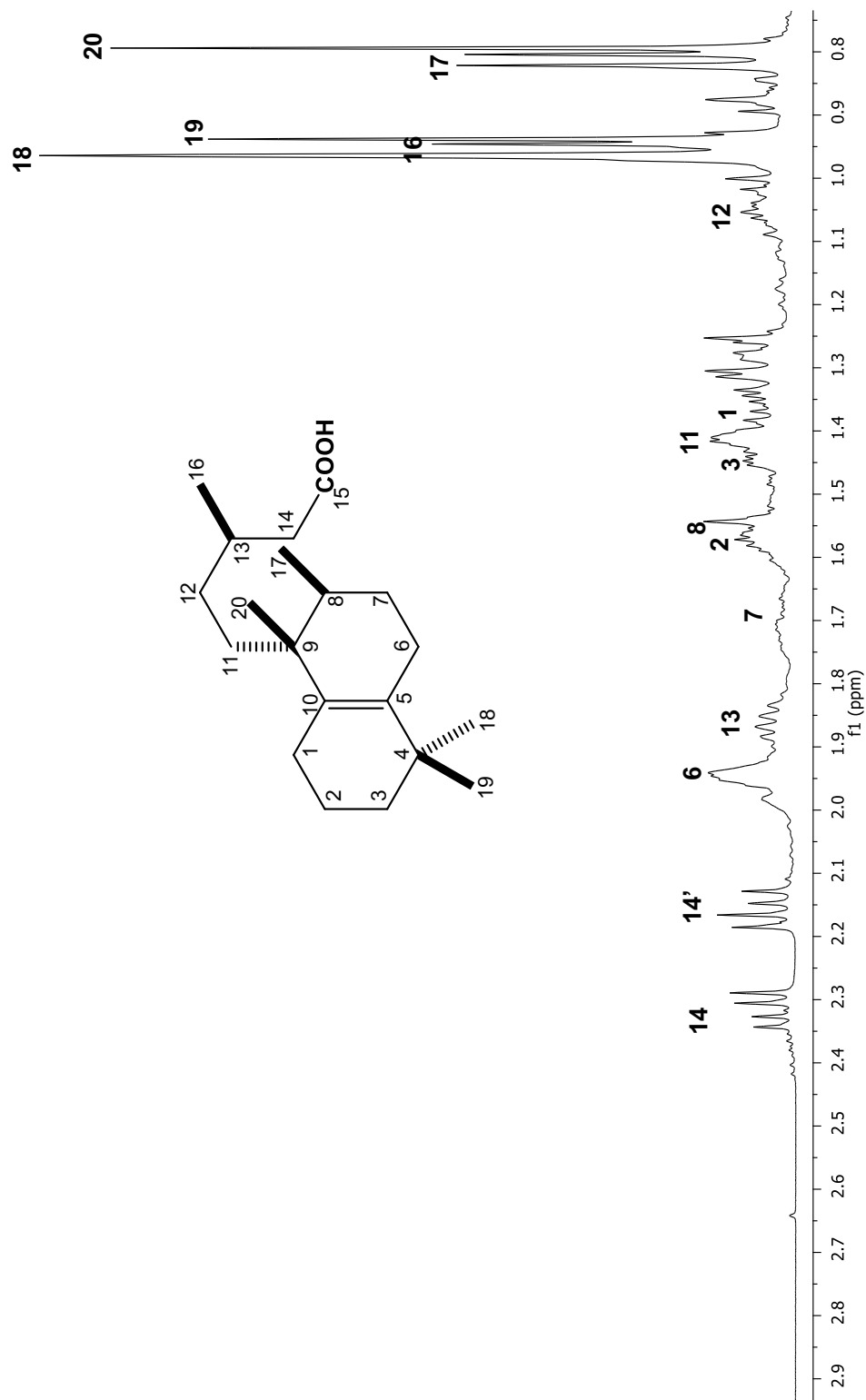


Figura 13. Espectro de RMN de ¹H a 400 MHz del ácido 13-epi-labd-5(10)-en-15-oico (41).

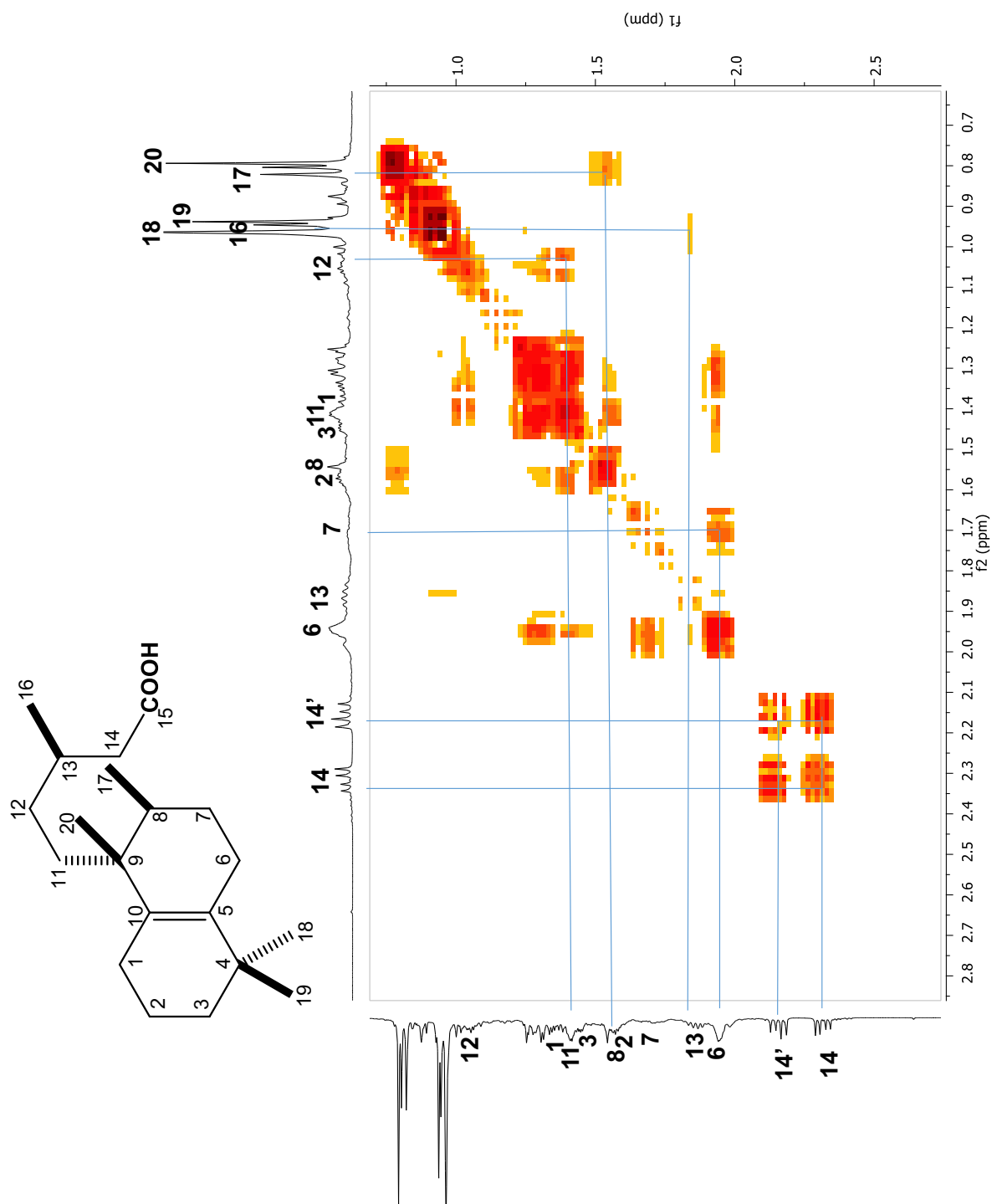


Figura 14. Experimento COSY del ácido 13-*epi*-labd-5(10)-en-15-oico (41).

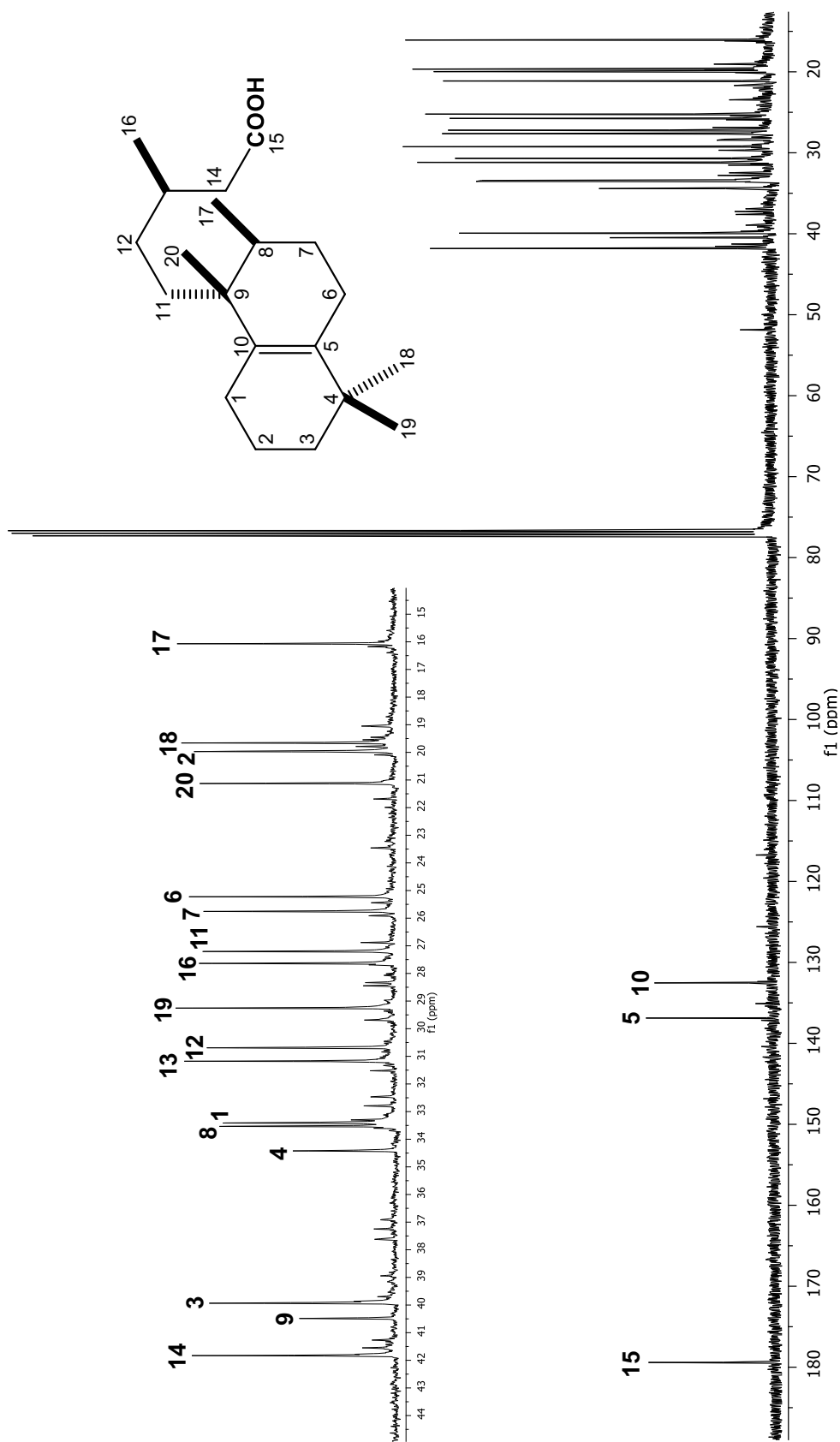


Figura 15. Espectro de RMN de ^{13}C a 100 MHz del ácido 13-epi-labd-5(10)-en-15-oico (41).

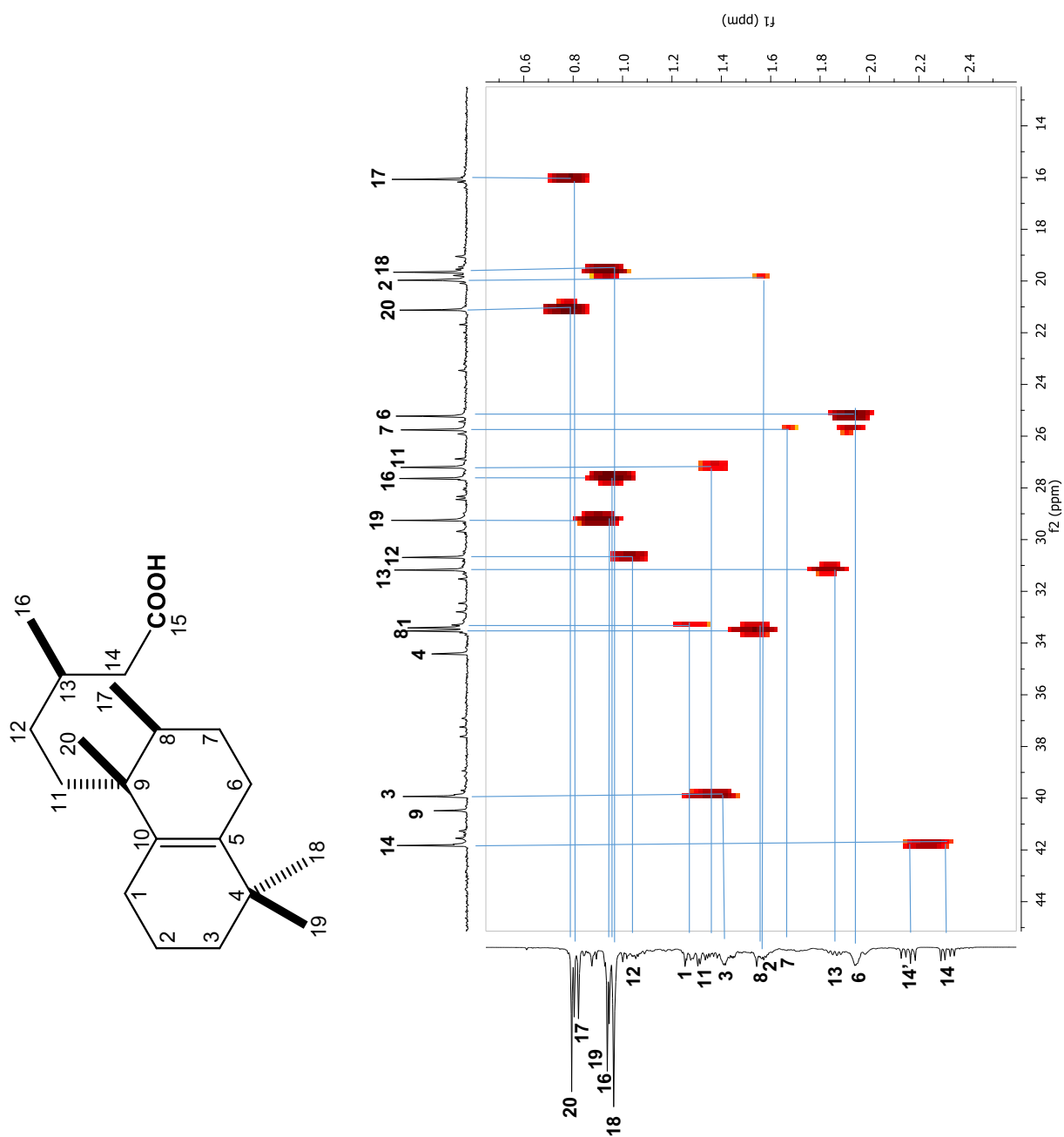
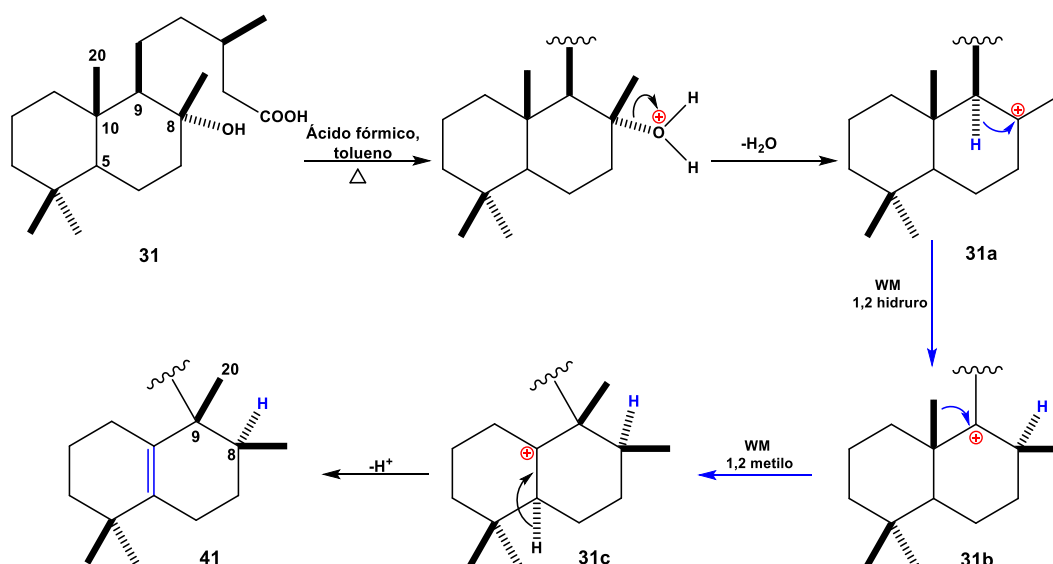


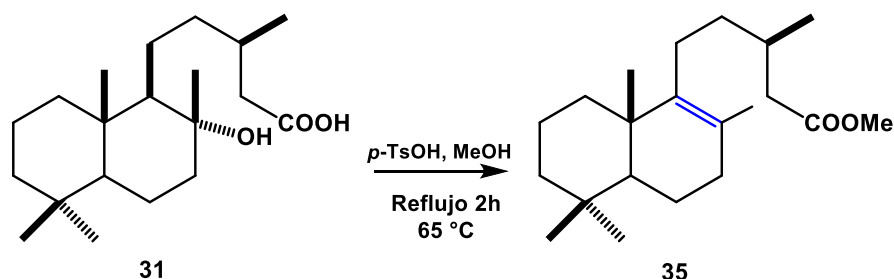
Figura 16. Experimento HETCOR del ácido 13-epi-labd-5(10)-en-15-oico (41).

Bajo las condiciones de reacción establecidas, y con base en los productos obtenidos, se sugiere un mecanismo que favorece la protonación del OH-8 y su consecuente eliminación para dar paso al intermediario catiónico **31a**, el cual puede promover un reordenamiento WM 1,2 de hidruro para generar a **31b**, a su vez, un reordenamiento WM 1,2 del metilo CH₃-20 es favorecido generando a **31c**, que después de la desprotonación del C-5 el carbocatión es neutralizado para formar al compuesto **41** (Esquema 17).



Esquema 17. Propuesta mecanística para la formación del compuesto **41**.

Continuando con la exploración de la reactividad de labdanos de *Ageratina jocosotepecana*, observando que al usar ácido *p*-toluensulfónico en MeOH se favorecía la esterificación del ácido carboxílico se decidió incrementar la concentración del ácido *p*-toluensulfónico esperando obtener un derivado reordenado con su respectivo metil éster con base en lo anterior. Se sometieron 150 mg de **31** con 840 mg de ácido *p*-toluensulfónico en 3 mL de MeOH a reflujo por una hora (Esquema 22), obteniendo una miel amarilla la cual fue analizada mediante RMN de ¹H observando señales correspondientes al derivado **35** como único producto de deshidratación que corresponde al más estable de acuerdo a la regla de Zaitsev el cual ya ha sido reportado^{34,36} (Esquema 18).



Esquema 18. Producto de deshidratación en medio ácido.

En su espectro de RMN de ^1H (Figura 17) se localiza una señal simple en 3.66 ppm que integra para tres protones, correspondientes al metoxilo del C-15, en 2.34 ppm se observa una señal doble de dobles que corresponde al H-14 con $J = 14.7$ y 5.9 Hz; en 2.13 ppm se localiza otra doble de dobles para el H-14' con $J = 14.9$ y 8.5 Hz, en 1.54 ppm se encuentra una señal simple que corresponde al metilo 17. En 0.97 ppm se localiza una señal doble que corresponde al metilo 16 con $J = 6.4$ Hz, en 0.93 ppm se encuentra una señal simple para el metilo 20, en 0.87 ppm se localiza una señal simple para el metilo 18 y en 0.82 ppm se encuentra otra señal simple para el metilo 19. Mientras que en el espectro de RMN de ^{13}C se observan dos nuevas señales en la región de los carbonos sp^2 en 140.4 y 125.5 ppm, así como la desaparición de la señal del carbono base de oxígeno en 74.6 ppm del carbono 8. La comparación de los datos espectroscópicos de **35** fueron idénticos a los reportados en la literatura.^{34,36}

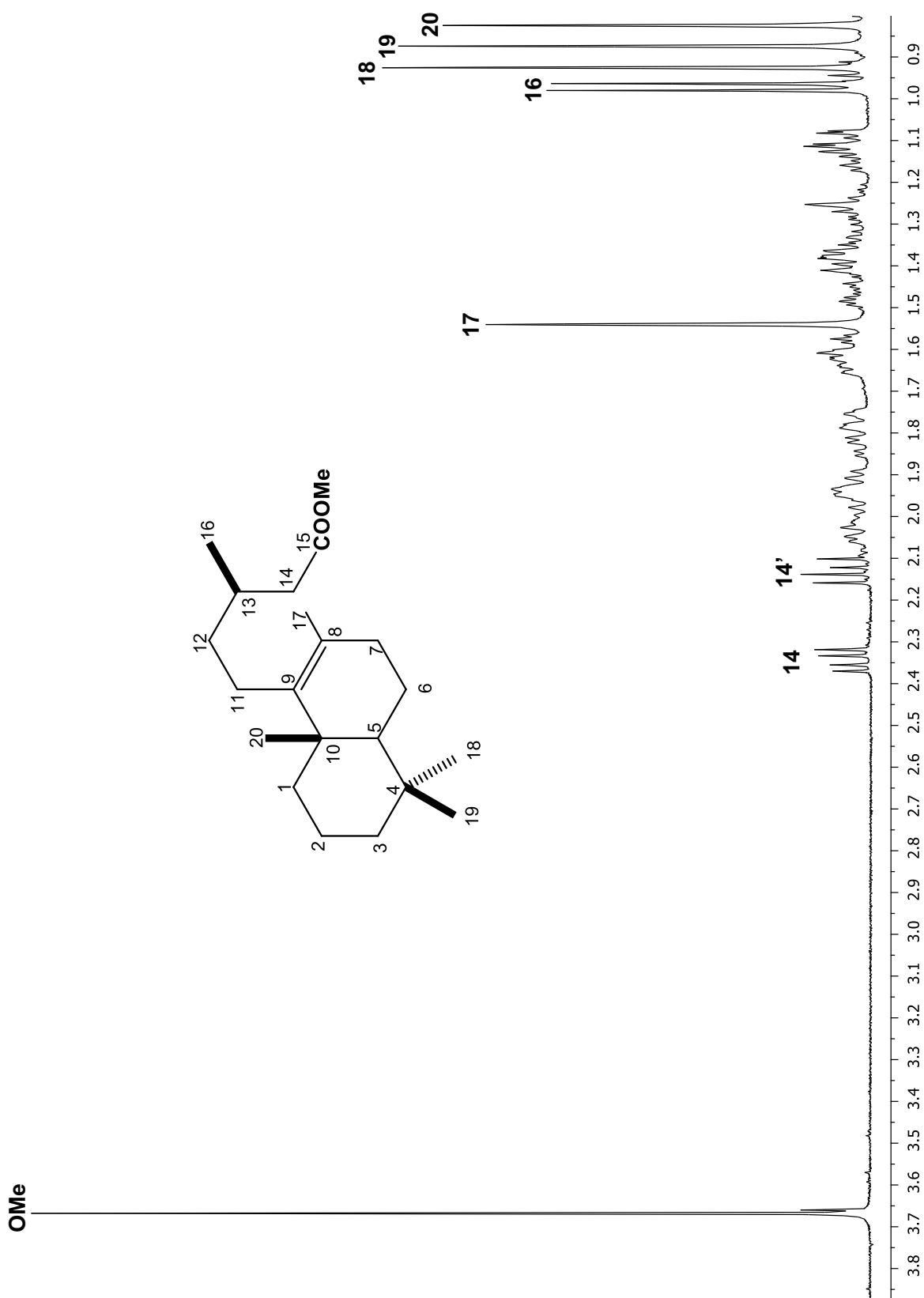
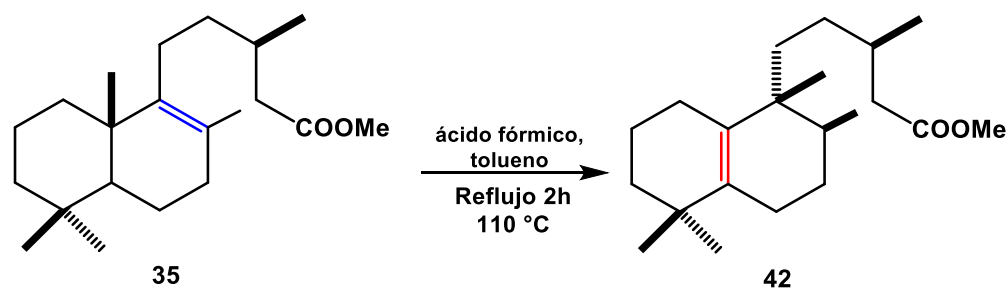
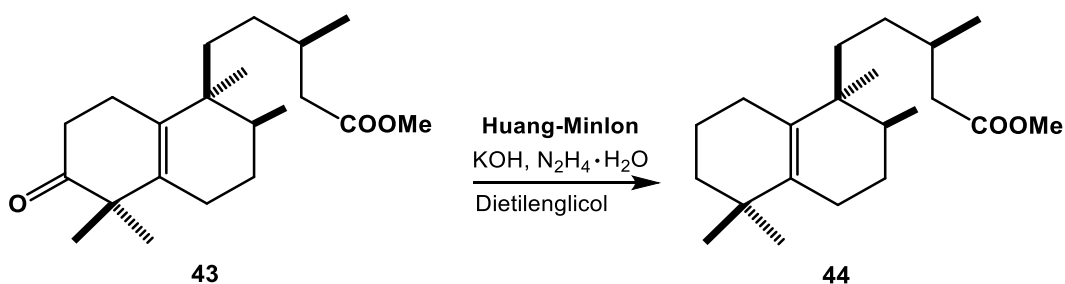


Figura 17. Espectro de RMN de ^1H del éster metílico del ácido-13-epi-labd-8-en-15-oico (35).

De acuerdo a los resultados anteriores se observa que para favorecer el reordenamiento es necesario incrementar la temperatura y el ácido por lo que posteriormente se hicieron reaccionar 140 mg de **35** con 3 mL de ácido fórmico en 3 mL de tolueno a reflujo por 2 h, obteniendo 125 mg de una miel amarilla la cual fue purificada mediante cromatografía en columna usando como eluyente mezclas de hexanos-AcOEt en polaridad ascendente obteniendo una miel incolora en las fracciones 5-12. En su espectro de RMN de ^1H (Figura 18) se observa la señal simple en 3.65 ppm que corresponde al metilo de éster, en 2.28 y 2.12 ppm se observan las señales doble de dobles correspondientes a los hidrógenos H-14 y H-14', respectivamente. En 0.96 ppm se observa una señal simple que integra para tres hidrógenos que corresponde al metilo CH_3 -18, en 0.94 ppm se observa una señal simple que integra para tres hidrógenos que corresponde al metilo terciario CH_3 -19. En 0.92 ppm se encuentra una señal doble que integra para tres hidrógenos con una $J = 6.6$ Hz que corresponde al metilo secundario CH_3 -16; en 0.81 ppm se observa una señal doble que integra para tres hidrógenos con constante de acoplamiento de $J_{17,8} = 6.9$ Hz, que corresponde al ahora metilo secundario CH_3 -17, en 0.79 ppm se encuentra una señal simple que integra para tres hidrógenos que corresponde al metilo reordenado CH_3 -20. En el análisis de RMN de ^{13}C (Figura 20) se observa en 173.7 ppm una señal característica para el C-15 del ácido carboxílico, en 136.7 y 132.5 ppm se observan dos señales características de carbonos vinílicos asignadas a C-5 y C-10, en 40.4 ppm se observa la señal del carbono cuaternario C-9. La asignación inequívoca de los espectros de RMN de ^1H y ^{13}C se confirmó mediante RMN de 2D, permitiendo establecer la presencia del 13-*epi*-labd-5(10)-en-15-oato de metilo (**42**), un novedoso producto de reordenamiento generado a partir de **35** (Esquema 19). Realizando una búsqueda en la literatura se encontró a **43** obtenido mediante esterificación con diazometano del extracto hexánico de las partes aéreas de *C. laurifolius*⁴¹ el cual posteriormente fue reducido por el método Huang-Minlon para dar el epímero **44** (Esquema 20).

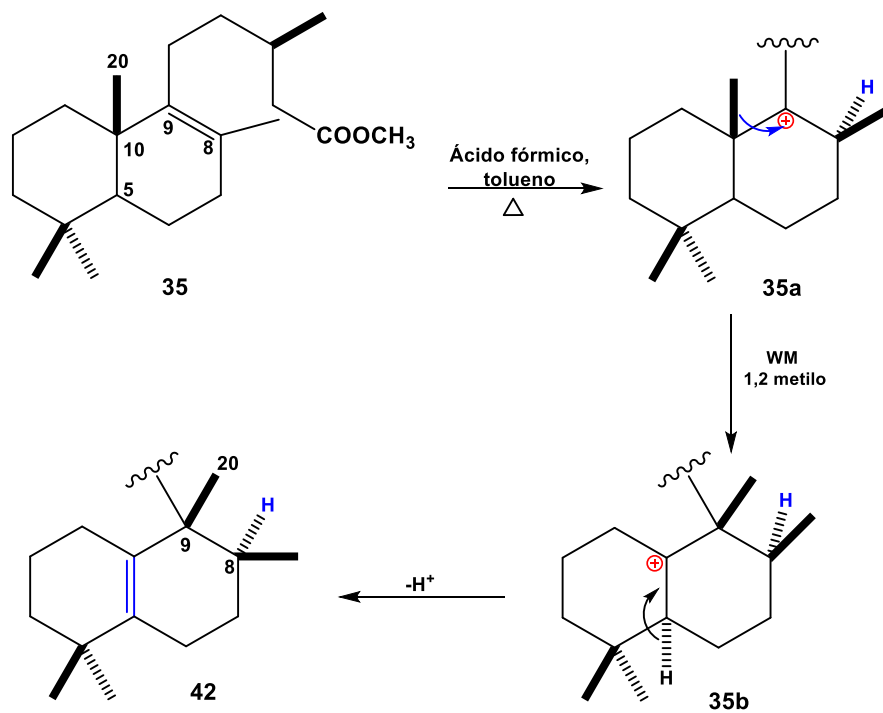


Esquema 19. Obtención del derivado reordenado **42**.



Esquema 20. Reacción Huang-Minlon para obtener **44**.

Con base en el producto obtenido **35**, se propone un mecanismo que favorece la ruptura del doble enlace, para dar paso al intermediario catiónico **35a** en el que la esteoquímica del CH_3 -17 se sugiere que se encuentra en posición β ya que la protonación se podría llevar a cabo por la cara anterior, generando un carbocatión terciario en el C-9 el cual puede promover un reordenamiento WM 1,2 del CH_3 -20 de C-10 a C-9 para generar **35b**, que mediante desprotonación del C-5, el carbocatión puede ser neutralizado formando el derivado **42** (Esquema 21).



Esquema 21. Propuesta mecanística para la formación del derivado 42.

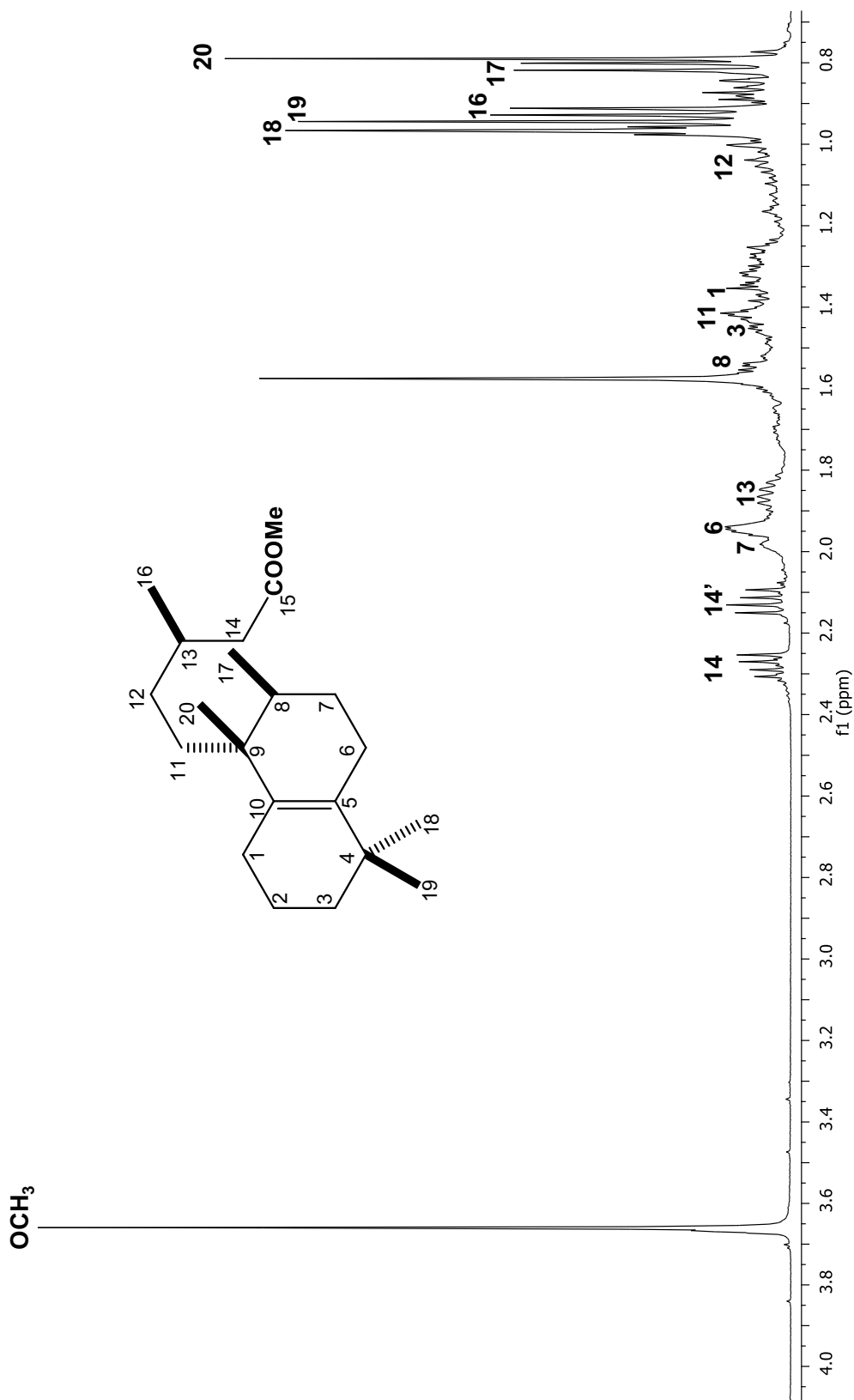


Figura 18. Espectro de RMN de ^1H a 400 MHz del 13-epi-labd-5(10)-en-15-oato de metilo (42).

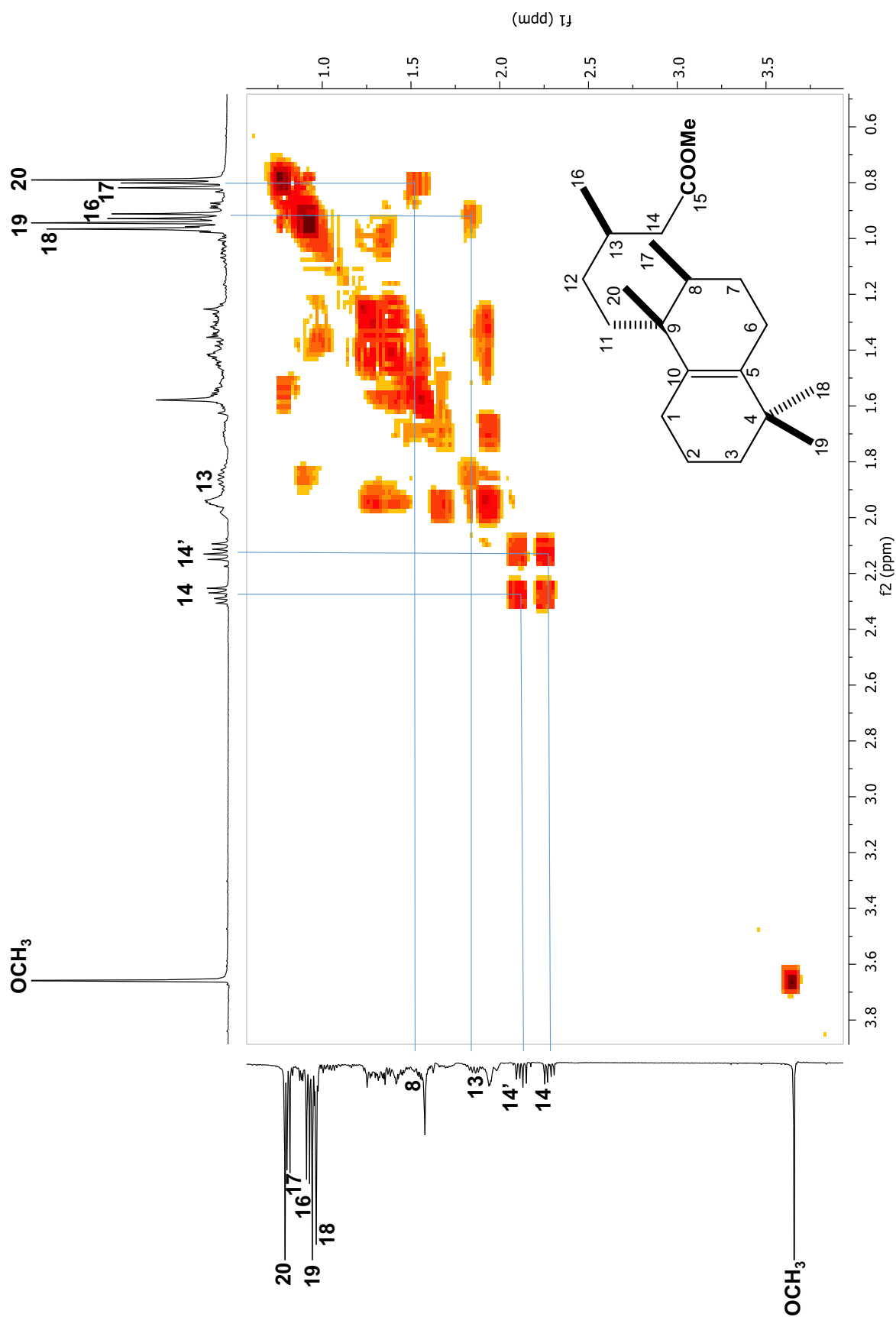


Figura 19. Experimento COSY del 13-epi-labd-5(10)-en-15-oato de metilo (42).

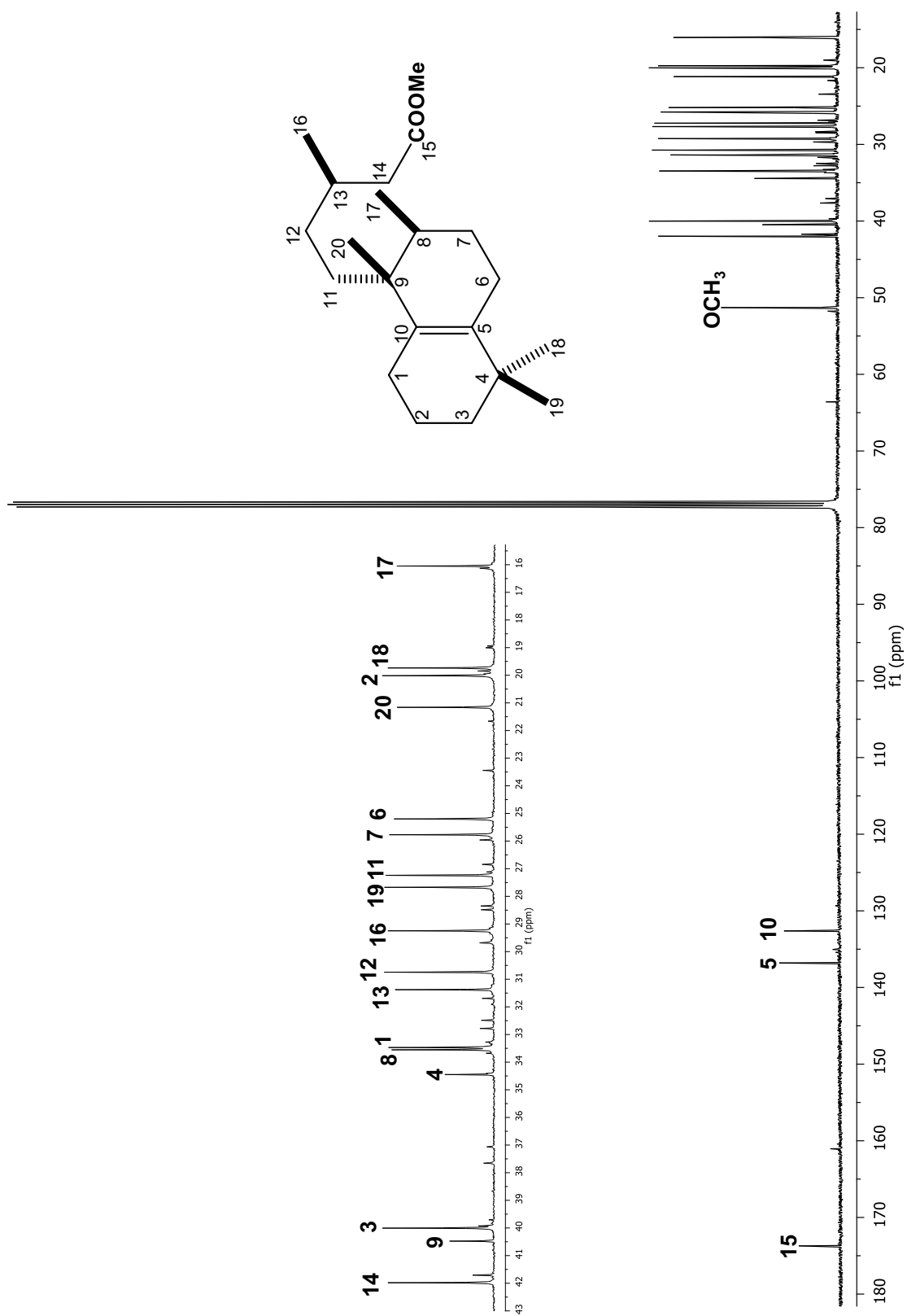


Figura 20. Espectro de RMN de ^{13}C a 100 MHz del 13-epi-labd-5(10)-en-15-oato de metilo (42).

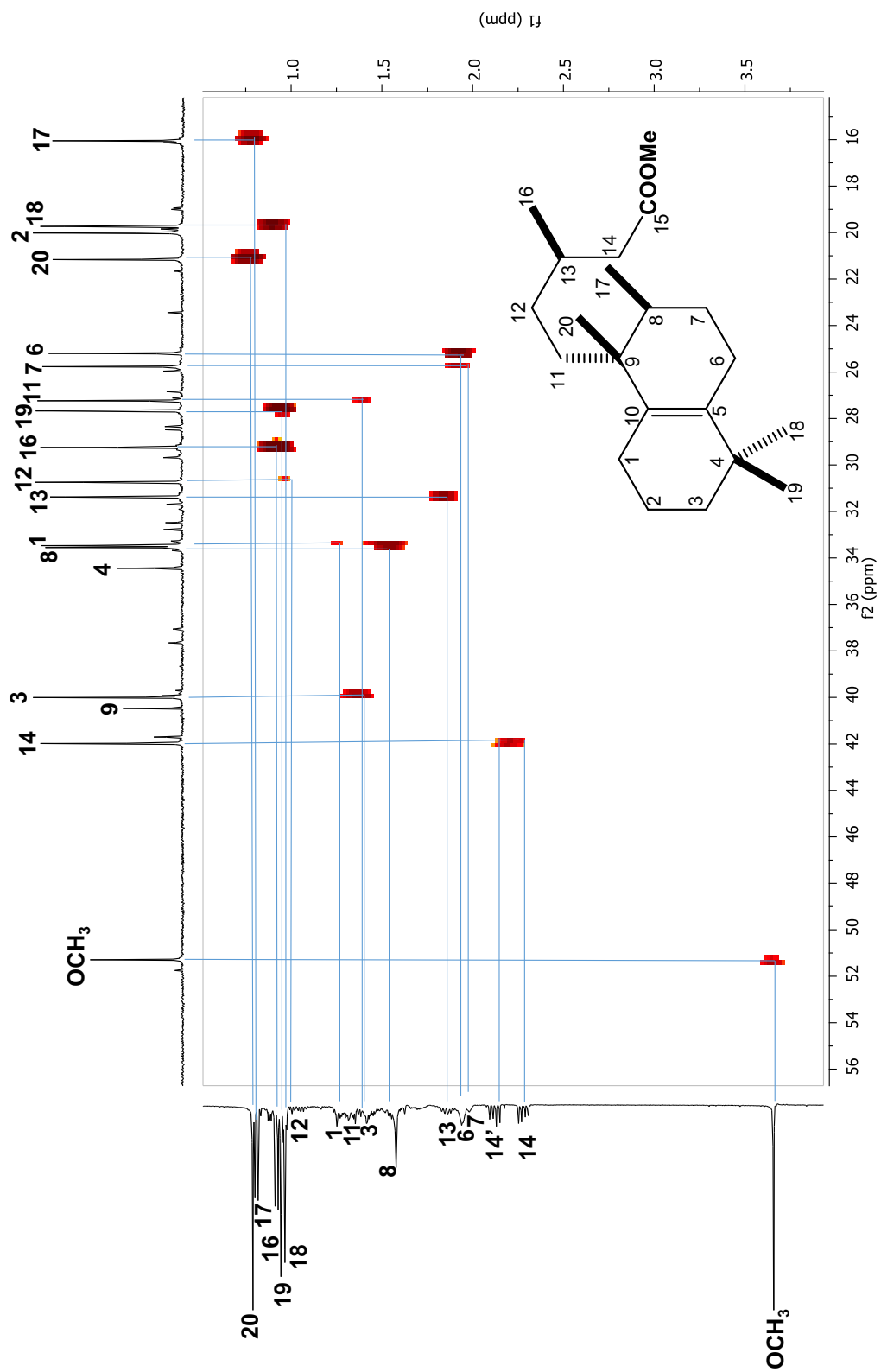
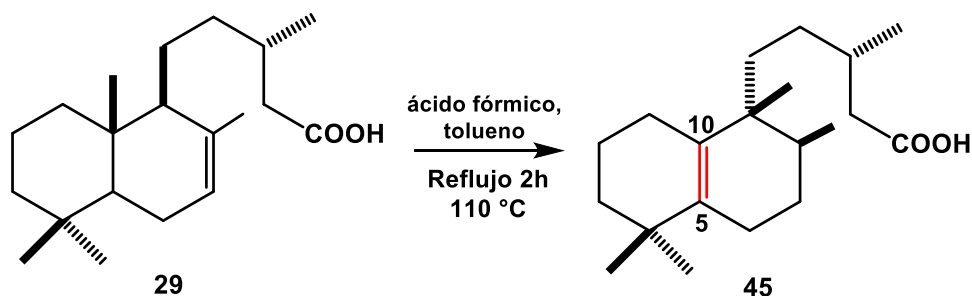


Figura 21. Experimento HETCOR del 13-epi-labd-5(10)-en-15-oato de metilo (42).

Una vez estandarizadas las condiciones de reacción para el reordenamiento se emplearon 106 mg de ácido catívico (**29**) con 3 mL de ácido fórmico en 3 mL de tolueno como disolvente a reflujo por 2 h (Esquema 22) obteniendo 94 mg de una miel amarilla la cual fue purificada mediante cromatografía en placa usando como eluyente mezcla de hexanos:Cl₂Cl₂:EtOH (8:1:1) obteniendo una miel incolora.



Esquema 22. Reacción de reordenamiento de **29**.

En su espectro de RMN de ¹H a 400 MHz (Figura 22) se observa en 0.97 ppm la señal doble que integra para tres hidrógenos con $J_{16,13} = 6.5$ Hz, que corresponde al metilo secundario CH₃-16, en 0.96 ppm se observa una señal simple que integra para tres hidrógenos que corresponde al metilo terciario CH₃-18, 0.95 ppm se localiza una señal simple que integra para tres hidrógenos correspondiente al metilo 19, en 0.81 ppm se observa una señal doble con $J = 6.9$ Hz que corresponde al metilo secundario CH₃-17, en 0.79 ppm se encuentra una señal simple del metilo terciario CH₃-20, los cuales indican que el reordenamiento se llevó a cabo. En el experimento de correlación homonuclear (COSY) (Figura 23) se observa la correlación de la señal múltiple en 1.57 ppm asignada para H-8 con la señal doble en 0.81 ppm correspondiente al CH₃-17. En el espectro de RMN de ¹³C (Figura 24) en 179.2 ppm se observa una señal característica del carbonilo del ácido carboxílico, en 136.8 y 132.4 ppm se observan las señales características de los carbonos vinílicos C-5 y C-10, respectivamente. En 40.4 ppm se aprecia la señal del C-9, que corresponde a un carbono cuaternario. Se realizó una búsqueda en la literatura del ácido labd-5(10)-en-15-oico (**45**) del cual no se encontraron reportes para este compuesto, por lo que resulta novedoso.

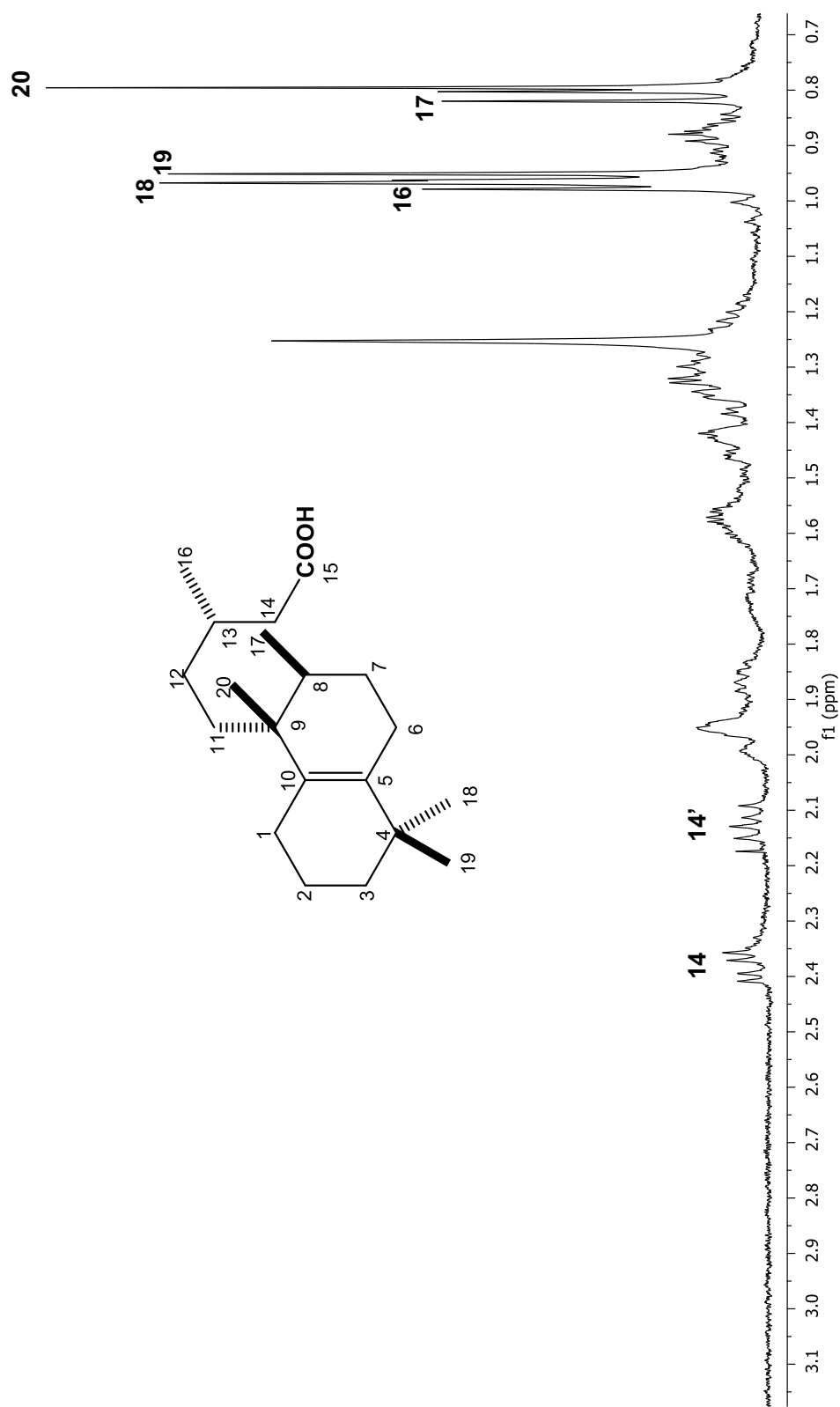


Figura 22. Espectro de RMN de ¹H a 400 MHz del ácido labd-5(10)-en-15-oico (45).

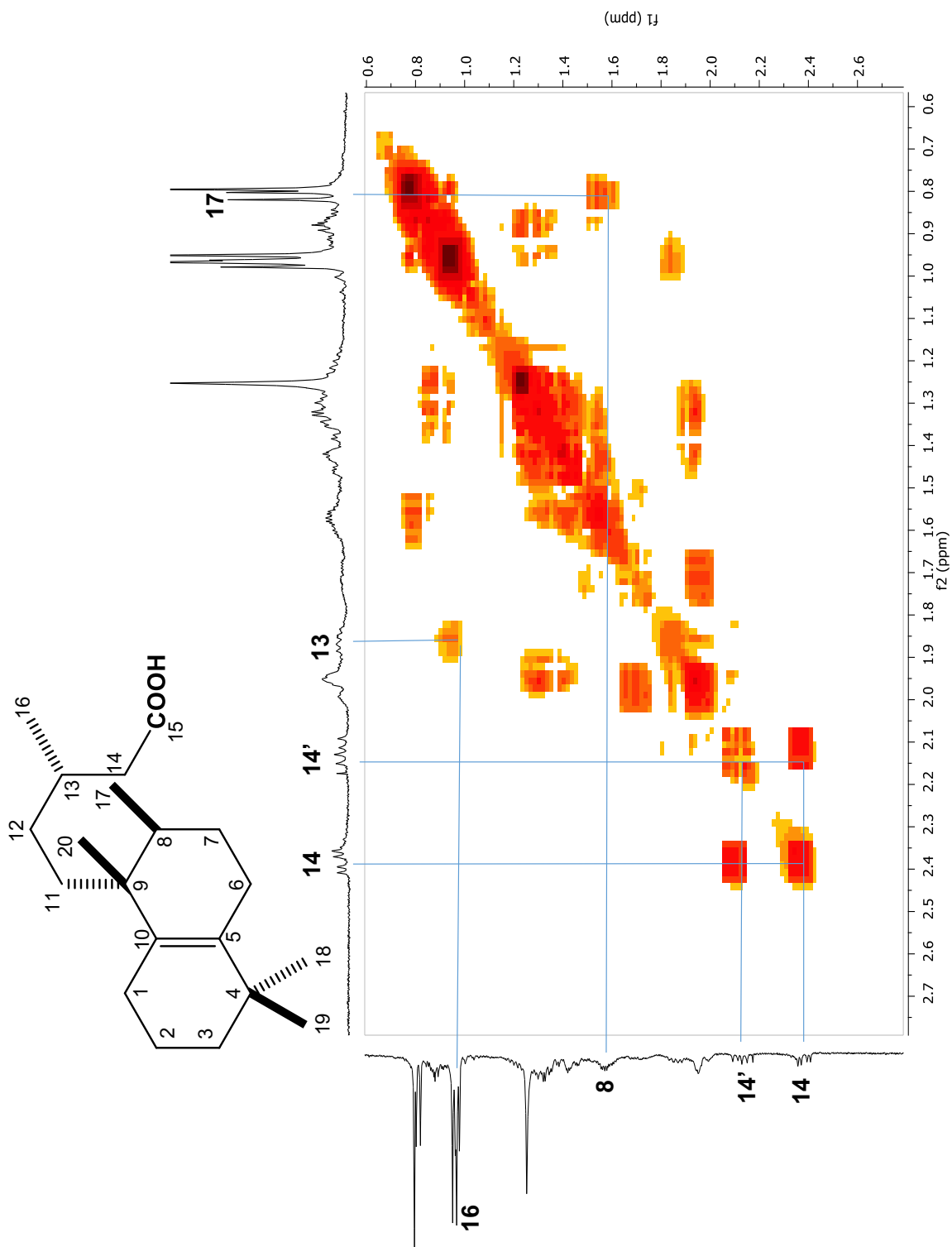


Figura 23. Experimento COSY del ácido labd-5(10)-en-15-oico (45).

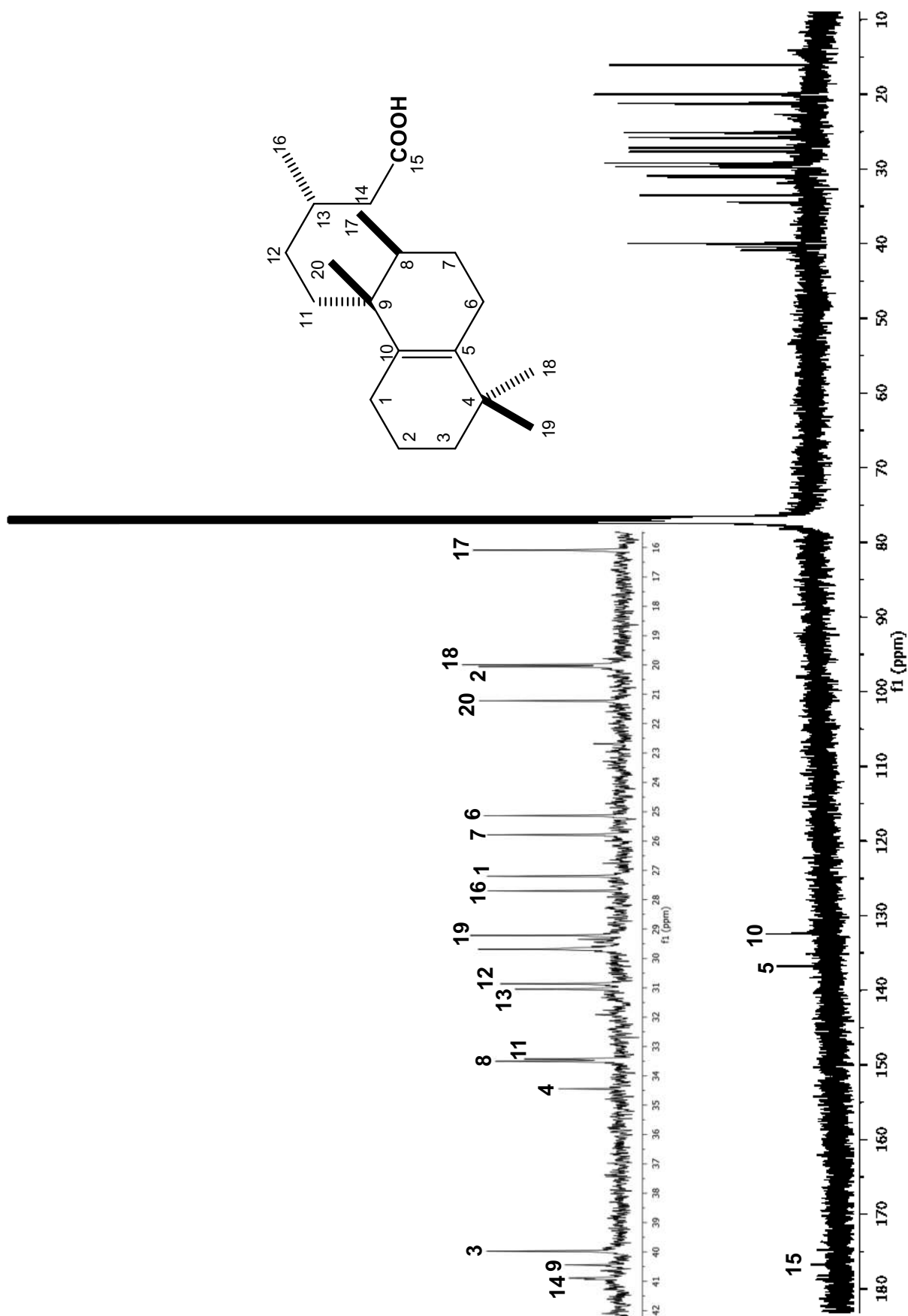
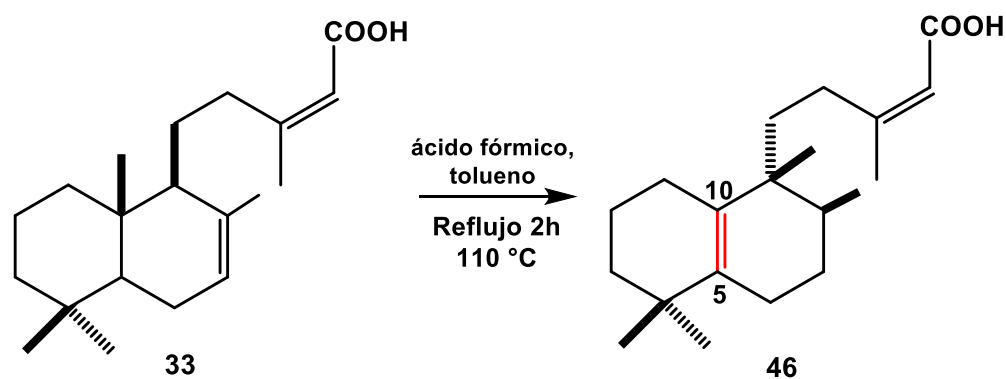


Figura 24. Espectro de RMN de ^{13}C a 100 MHz del ácido-labd-5(10)-en-15-oico (45).

Al reaccionar 100 mg de ácido labdan-7,13-dienoico (**33**) con 3 mL de ácido fórmico en 3 mL de tolueno a reflujo por 2 h se obtuvo 98 mg de una miel amarilla, la cual fue purificada mediante cromatografía en columna usando como eluyente mezclas de hexanos:AcOEt en polaridad ascendente; de la fracción 11-21 se obtuvo una miel incolora. En su espectro de RMN de ^1H (Figura 26) se observa la señal del metilo secundario CH_3 -17 en 0.88 ppm y el CH_3 -20 en 0.82 ppm. Estos desplazamientos indican que se llevó a cabo el reordenamiento de la materia de partida. Las correlaciones en el espectro COSY (Figura 27) confirman la presencia del metilo secundario CH_3 -17. En el espectro de RMN de ^{13}C (Figura 28) se observan las señales características del doble enlace endocíclico en 137.2 y 132.1 ppm. La asignación de las señales de RMN de ^{13}C se confirmó con los experimentos HETCOR (Figura 29), indicando que estos datos corresponden al ácido labd-5(10)-13-dien-15-oico (**46**) (Esquema 23). Realizando una búsqueda en la literatura se encontró un compuesto que corresponde al enantiómero **46**, el cual fue aislado de manera natural de la corteza del tallo de *Polyalthia longifolia* al que denominaron ácido *ent*-halima-5(10)-13*E*-dien-15-oico (**47**)⁴² (Figura 26). Con base en lo anterior se sugiere que **46** corresponde a una estructura novedosa.



Esquema 23. Reacción de reordenamiento de **33**.

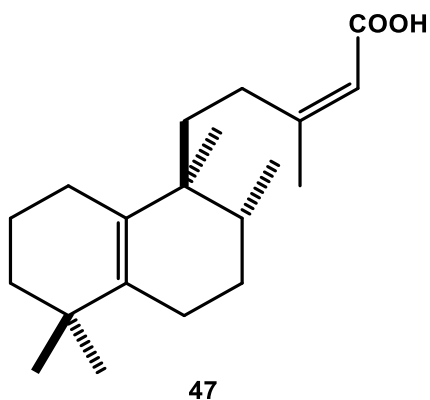
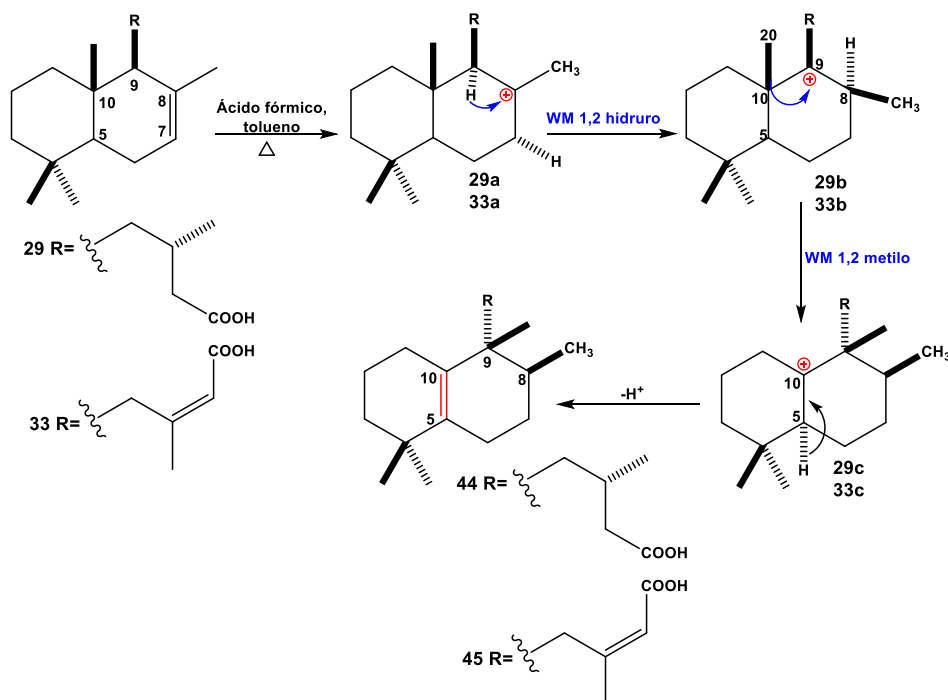


Figura 25. Labdano aislado naturalmente de *Polyalthia longifolia*.

En el mecanismo para los compuestos **45** y **46** se sugiere una ruptura del doble enlace para generar la especie **29a** y **33a** en la que se puede llevar a cabo una migración de WM 1,2 hidruro generando **29b** y **33b**, de esta manera promoviendo la migración WM 1,2 del CH₃-20 del C-10 a C-9 generando un carbocatión en el C-10 (**29c** y **33c**), seguido de la desprotonación del H-5 para generar los compuestos **45** y **46** (Esquema 24).



Esquema 24. Propuesta mecanística para los compuestos **45** y **46**.

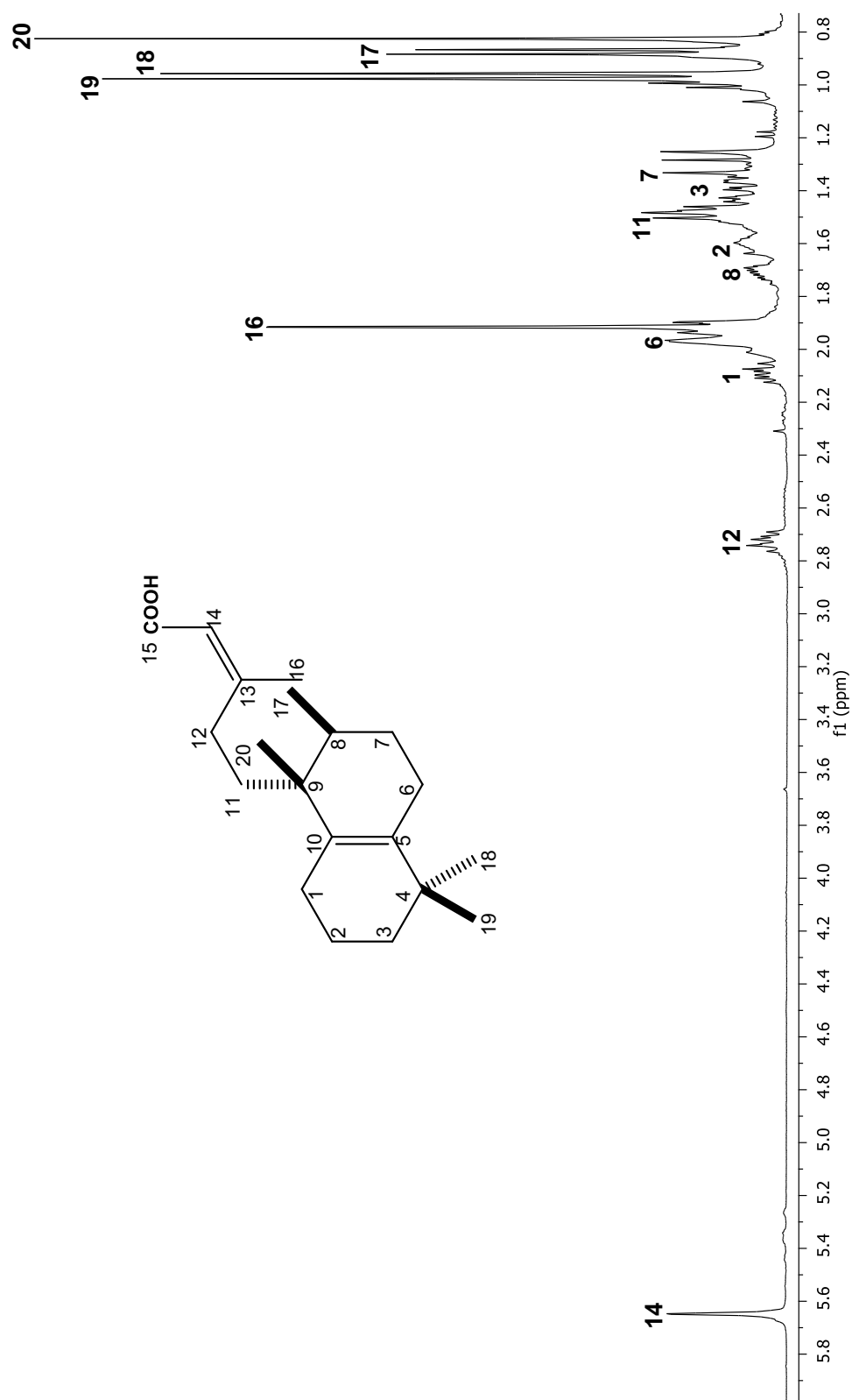


Figura 26. Espectro de RMN de ¹H a 400 MHz del ácido labd-5(10)-13-dien-15-oico (46).

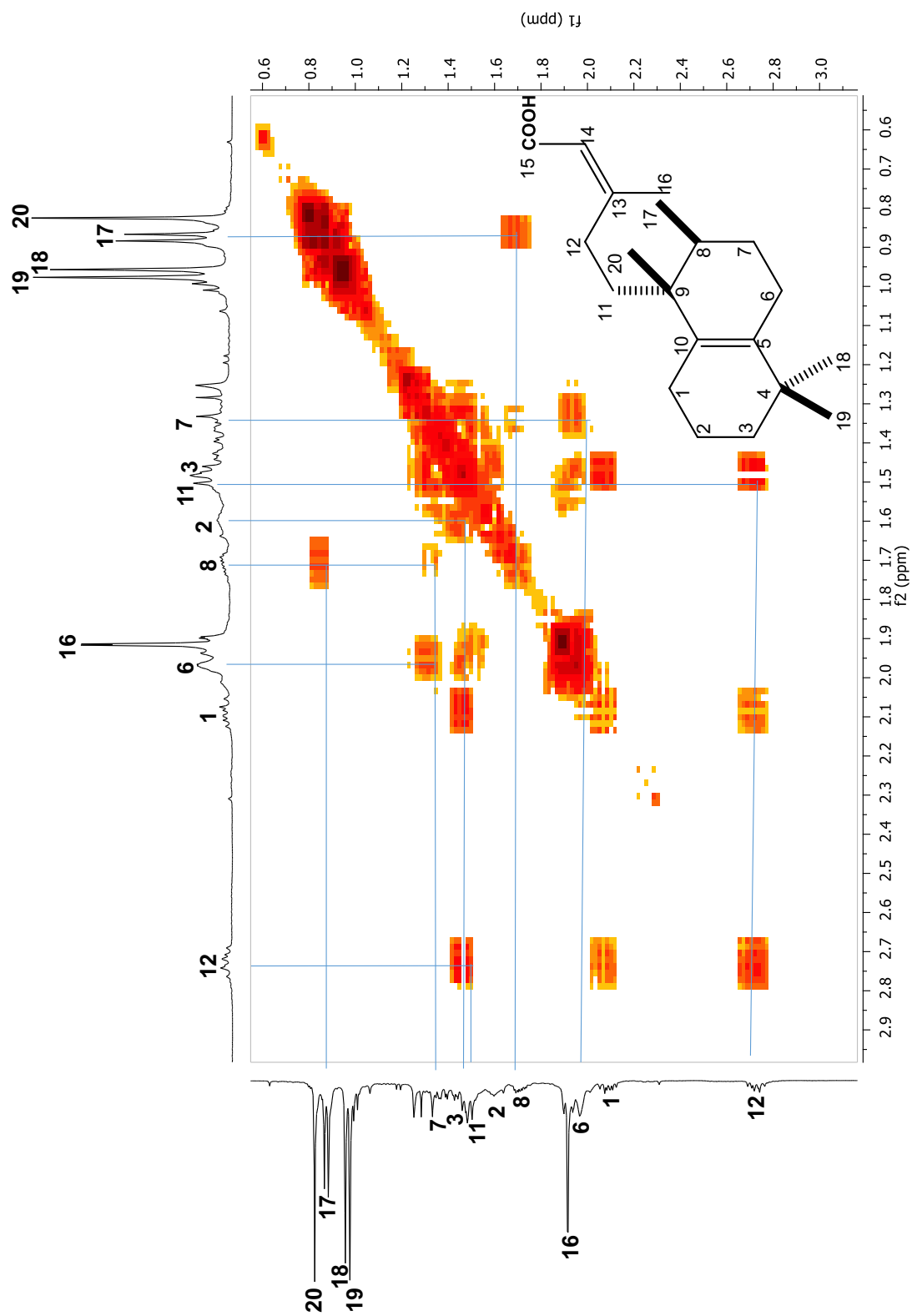


Figura 27. Experimento COSY del ácido labd-5(10)-13-dien-15-oico (46).

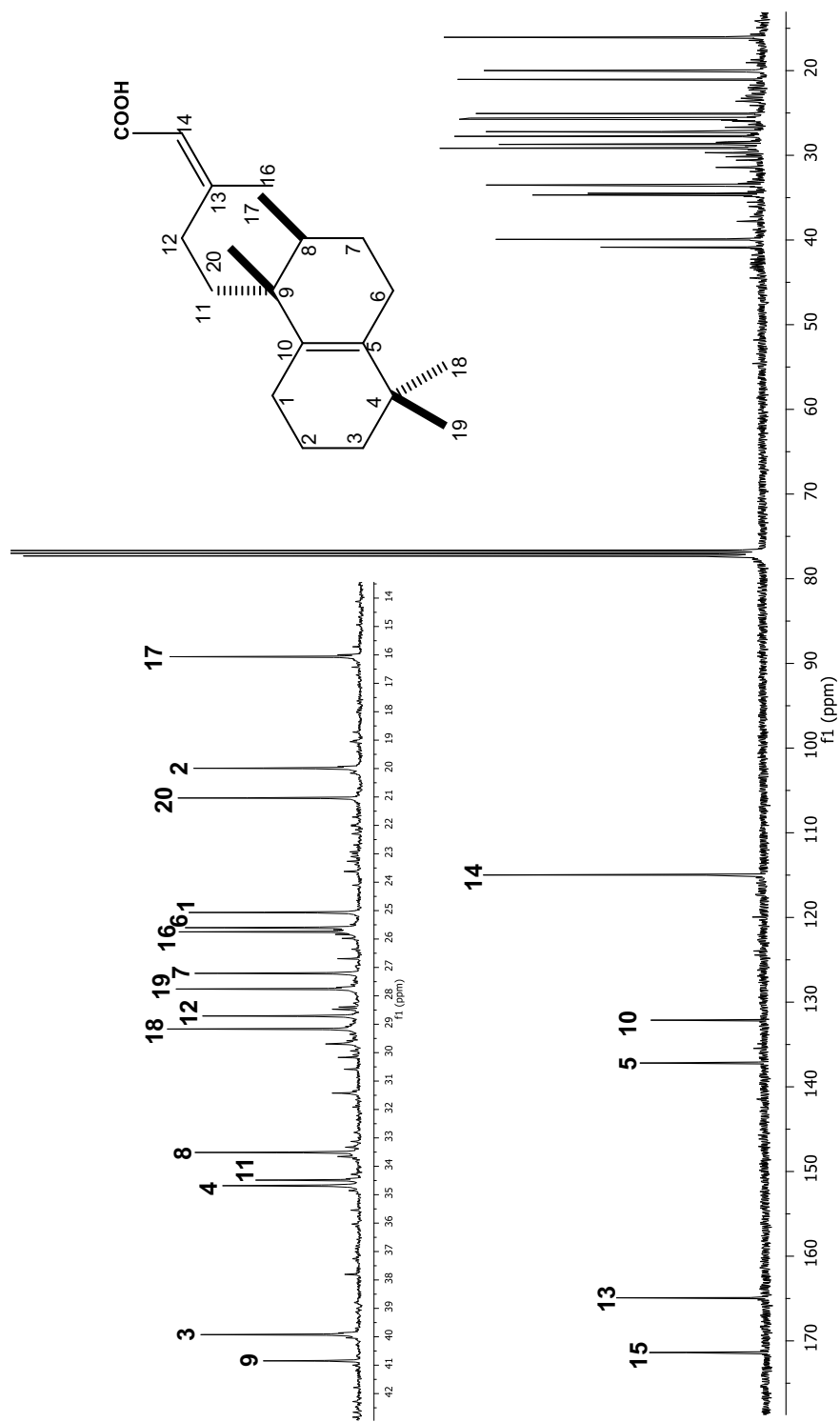


Figura 28. Espectro de RMN de ^{13}C a 100 MHz del ácido labd-5(10)-13-dien-15-oico (46).

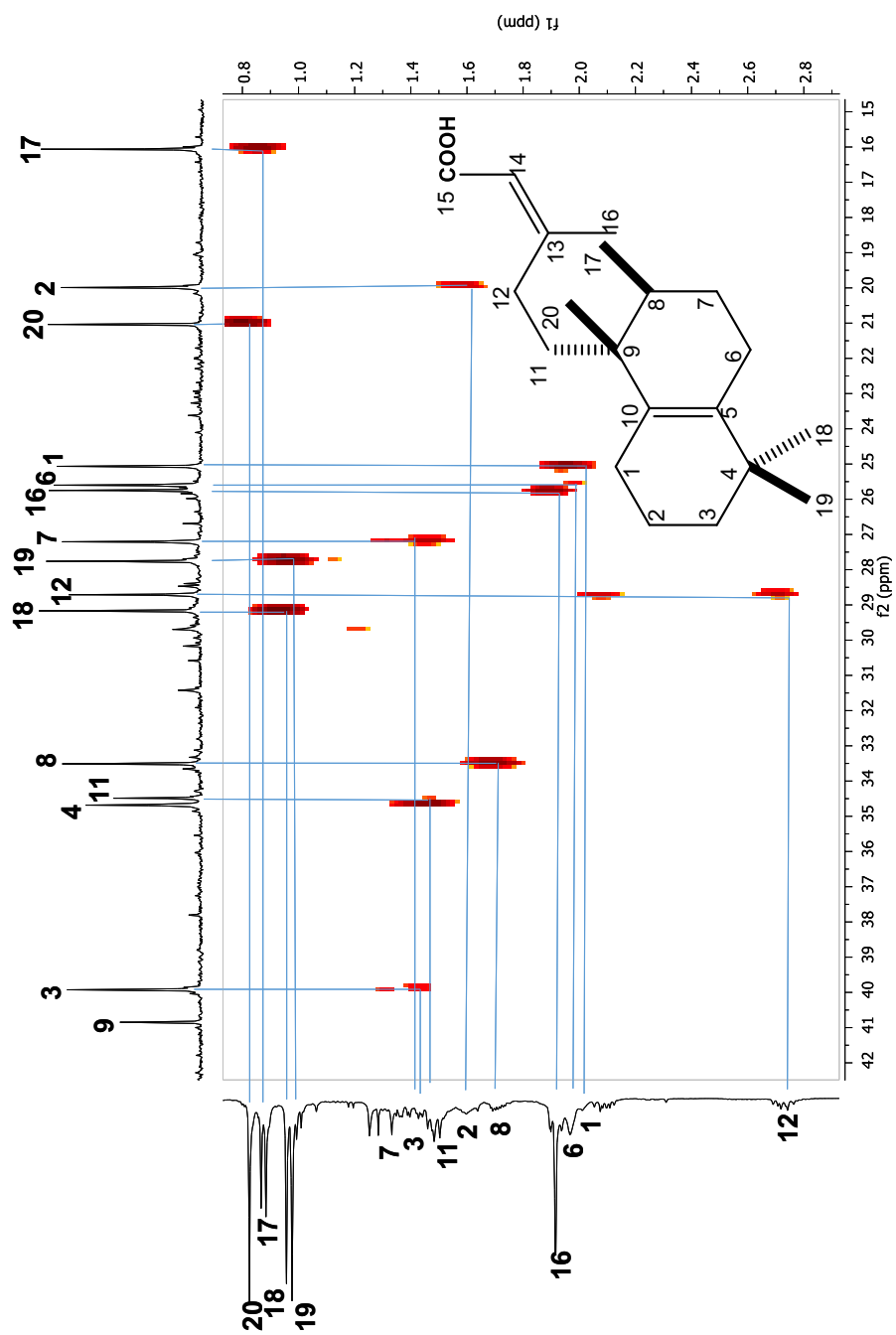
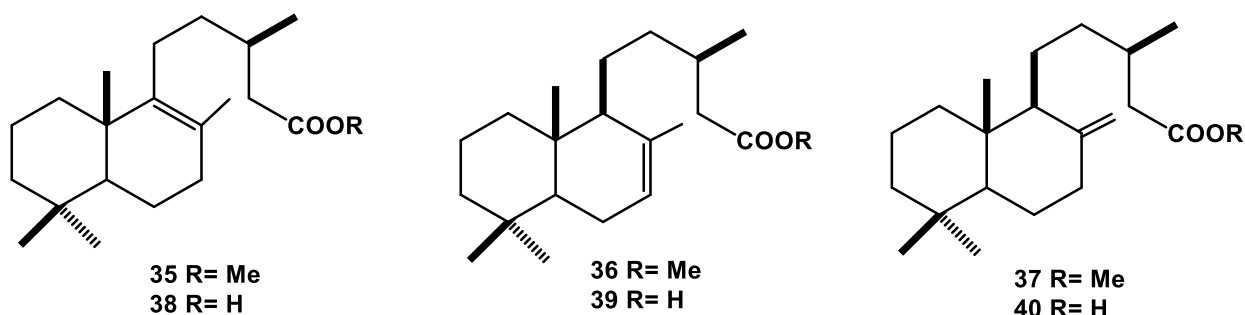


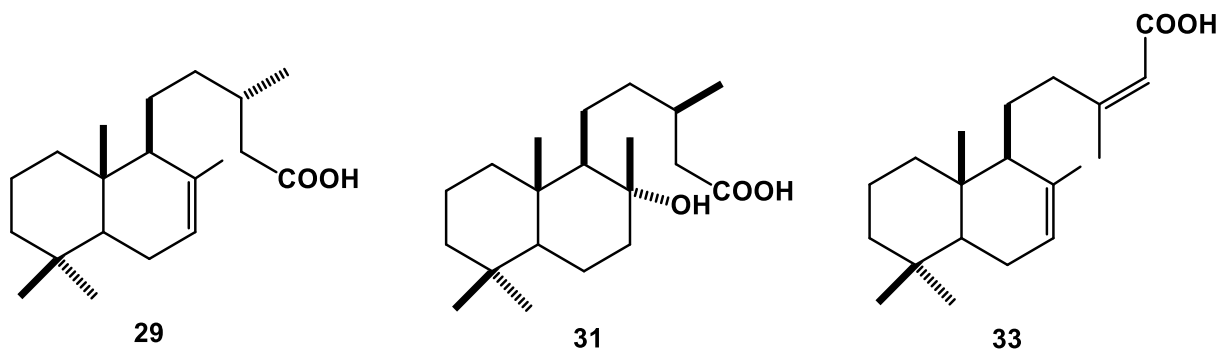
Figura 29. Experimento HETCOR del ácido labd-5(10)-13-dien-15-oico (46).

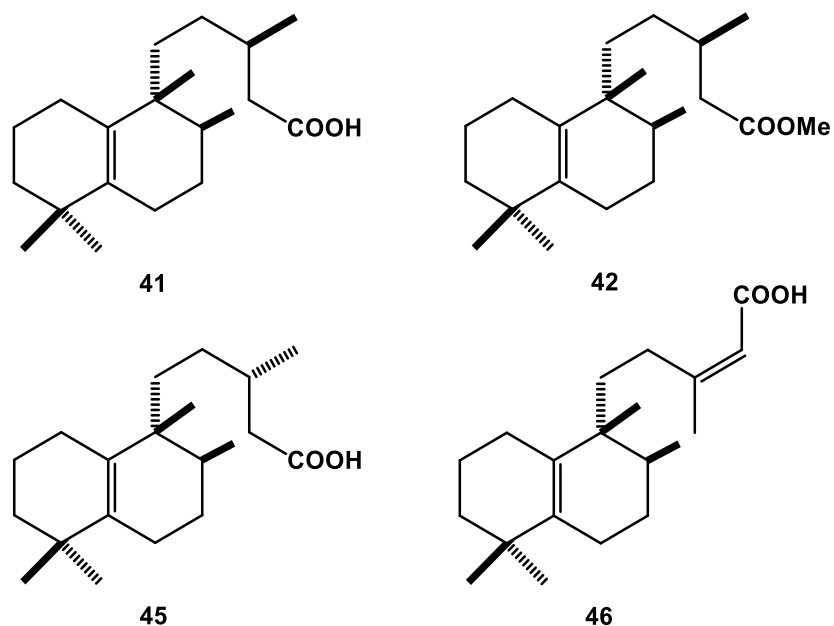
8. CONCLUSIONES

Los ensayos utilizando cantidades catalíticas de ácido fórmico en CH_2Cl_2 favorecieron la deshidratación de **31** generando los productos de deshidratación **38**, **39** y **40**. Al someter **31** con ácido *p*-toluensulfónico en MeOH como disolvente se generaron los productos de deshidratación **35**, **36** y **37**, que además del proceso de deshidratación se favoreció la formación del respectivo metil éster. El incremento de la concentración del ácido *p*-toluensulfónico usando MeOH como disolvente condujo únicamente al producto de deshidratación **35**.



Al incrementar la concentración del ácido fórmico y la temperatura, empleando tolueno como disolvente se favoreció la migración de tipo WM 1,2 del CH_3 -20 de C-10 a C-9 generándose los derivados reordenados **41**, **42**, **45** y **46**, respectivamente a partir de **31**, **35**, **29** y **33**, que corresponden a estructuras novedosas.





Los resultados obtenidos evidencian la susceptibilidad de éstos compuestos a reacciones de reordenamientos, en lo que se sugiere que la estereoquímica del CH₃-17 para el compuesto **41** tiene estereoquímica β ya que el hidruro migra por la misma cara, para los derivados **42**, **45** y **46** se propone la estereoquímica del CH₃-17 sea β , ya que la protonación del doble enlace de **29**, **33** y **35** puede ser por la cara anterior quedando el CH₃-17 en posición β . Analizando los desplazamientos químicos de RMN de ¹H de los compuestos **41** y **45** se observó una diferencia de 0.01 ppm del CH₃-16, a través de este reordenamiento se lograron obtener los epímeros ya que provienen de compuestos con estereoquímica diferente,³⁴ observando que la estereoquímica del centro quiral C-13 no se vió modificado.

9. PERSPECTIVAS

Determinar la configuración absoluta de los derivados reordenados **41**, **42**, **45** y **46** por Dicroísmo Circular Vibracional (DCV).

Determinar la actividad antibacteriana de los productos de reacción, para comparar su actividad contra los productos naturales **29**, **31** y **33**.

10. BIBLIOGRAFÍA

1. Lee K.H., *J. Nat. Prod.*, (2010), 73, 500-516.
2. Cragg G. M., Grothaus P. G., Newman D. J., *Chem. Rev.* (2009), 109, 3012-3043.
3. Newman D.J., Cragg G.M., Snader K.M., *Nat. Prod. Rep.* (2000), 17, 215-234.
4. McChesney J. D., Venkataraman S. K., Henri J. T., *Phytochemistry* (2007), 68, 2015-2022.
5. Newman D.J., Cragg, G.M., *J. Nat. Prod.* (2016), 79, 629-661.
6. Balunas M.J., Kinghorn A.D., *Life Sciences* (2005), 78, 431-441.
7. Zschäbitz S., Vallet S., Hadaschik B., Debatin D., Fuxius S., Karcher A., Pahernik S., Spath C., Duensing S., Jäger D., Hohenfellner M., Grüllich C., *J. Cancer* (2017), 8, 507-512.
8. Jiménez C., *An. Quím.* (2013), 109, 134-141.
9. Sepúlveda-Jiménez G., *Rev. Mex. Fitopatol.* (2003), 21, 355-363.
10. Pomilio A.B., *Acta Bioquím. Clín. Latinoam.* (2012), 46, 73-82.
11. Ávalos-García A., Pérez-Urria Carril, E., Reduca (Biología). (2009), 2, 119-145.
12. Porrás-Loaiza A.P., López-Malo A., *Temas selectos de Ingeniería de Alimentos* (2009), 3, 121-134.
13. Facchini, P.J., *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* (2001), 52, 29-66.
14. Dudareva N., Pchersky J.E., Gershenzon J., *Plant Physiology.* (2004) 135, 1893-1902.
15. Dewick M. P., *Medicinal Natural Products Biosynthetic Approach*, Wiley; Tercera edición, (2009).
16. Hanson J.R., *Nat. Prod. Rep.* (1992), 9, 139-151.
17. Wagner G., *J. Russ. Phys. Chem. Soc.* (1899), 31, 690.
18. Carey A., Sundberg R.J., "Advanced Organic Chemistry (Part A: Structure and Mechanisms)", Mc Graw Hill; Cuarta Edición; (2000).
19. Meerwein H., *Justus Liebig Ann Chem.* (1914), 405, 129-175.
20. Atta-ur-Rahman, *Studies in Natural Products Chemistry, Structure and Chemistry (Part E)*, Elsevier, (1997), 389-404.

21. Rojas C.M., *Molecular rearrangements in organic synthesis*, Ed. Wiley, (2016), 3-7.
22. Kuan K. W., Pepper H. P., Bloch W. M., George J. H., *Org. Lett.* (2012), 14, 4710-4713.
23. March, J., *Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure*, Wiley Interscience, Sexta Edición, (2007), 1580.
24. Wagner G., *J. Russ. Phys.Chem. Soc.*, (1899), 31, 690.
25. Birladeanu L., *J. Chem. Ed.* (2000), 77, 858-863.
26. Román L.U., Hernández J.D., del Río R.E., Bucio M.A., Cerda-García-Rojas C.M., Joseph-Nathan P., *J.Org. Chem.* (1991), 56, 1938-1940.
27. Román L.U., Hernández J.D., Cerda-García-Rojas C.M., Domínguez-López R.M., Joseph-Nathan P., *J. Nat. Prod.* (1992), 55, 577-588.
28. Román L.U., Cerda-García-Rojas C.M., Guzmán R., Armenta C., Hernández J.D., Joseph-Nathan P., *J. Nat. Prod.* (2002), 65, 1540-1546.
29. Gómez-Hurtado Mario. A., Torres-Valencia J. Martin, Manríquez-Torres Jesús, del Río Rosa E., Motilva Virginia, García-Mauriño, Sofía, Ávila Javier, Talero Elena, Cerda-García-Rojas, C. M., Joseph-Nathan, P., *Phytochemistry.* (2011), 72, 409-414.
30. Zhou M., Hui-Chun G., Hai-Bo Z., Dong, K., Wei-Guang W., Xue D., Xiao-Nian L., Fei H., Hong-Bo Q., Yan L., Jian-Xin P., Han-Dong S., *Org. Lett.*, (2013), 15, 314-317.
31. Girón N., Pérez-Sacau E., López-Fontal R., Amaro-Luis J.M., Sonsoles H., Estevez-Braun A., de las Heras B., *Eur. J. Med. Chem.* (2010), 45, 3155-3161
32. De Pascual T. J., Bellido I. S., Basabe P., Marcos I. S., Ruano L. F., Urones J. G., *Phytochemistry*, (1982), 21, 899-901
33. George Jonathan H., Mc Ardle M., Baldwin Jack E., Adlington Robert M., *Tetrahedron*, (2010), 66, 6321-6330.
34. García-Sánchez E., Ramírez-López C.B., Talavera-Alemán A., León-Hernández A., Martínez-Muñoz R. E., Martínez-Pacheco M. M., Gómez-Hurtado, Mario. A., Cerda-García-Rojas C. M., Joseph-Nathan P., del Río R. E., *J. Nat. Prod.* (2014), 77, 1005-1012.

35. Álvarez-Esquivel Fany. E., "Tratamiento ácido de derivados del género *Eupatorium*", Tesis de Licenciatura, Facultad de Químico Farmacobiología de la UMSNH, **2010**.
36. Álvarez-Ruiz A., "Reactividad del ácido (+)-13-*epi*-labdanólico en medios ácidos", Tesis de Licenciatura, Facultad de Químico Farmacobiología de la UMSNH, **2014**.
37. Monteiro- Afif F., Batista Jr. -João M., Machado-Michelle A., Severino-Richele P., Blanch-Ewan W., Bolzani-Vanderlan S., Vieira-Paulo C., Severino-Vanessa G. P., *J. Nat. Prod.* (**2015**), 26,1451-1455.
38. Tschritzis-F., Jakupovic-J., *Phytochemistry* (**1991**), 30, 211-213
39. David J. P., Ferrari J., David J. M., Guimarães A. G., de M. Lima F. W., de Souza G. L. S., *J. Braz. Chem. Soc* (**2007**), 18, 1585-1589.
41. De Pascual T. J., Urones G., Marcos I.S., Bermejo F., Basabe P., *Phytochemistry* (**1983**), 22, 2783-2785.
42. Hara-N., Asaki-H., Fujimoto-Y., Kumar-Gupta Y., Kumar-Singh A., Sahai-M., *Phytochemistry* (**1995**), 38, 189-194.