



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE
SAN NICOLÁS DE HIDALGO**

FACULTAD DE QUÍMICO FARMACOBIOLOGÍA



**DERIVADOS CLORADOS DE RASTEVIONA
Y ANÁLOGOS.**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICO FARMACOBIOLOGO

P R E S E N T A :

CECILIA RUIZ FERRER

ASESORES:

Dr. en Ciencias Químicas. JUAN DIEGO HERNÁNDEZ HERNÁNDEZ

Dra. en Ciencias Químicas. LUISA URANIA ROMÁN MARÍN

MORELIA, MICHOACÁN.

Junio 2013



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.





ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	1
PARTE TEÓRICA	32
DISCUSIÓN Y RESULTADOS	80
CONCLUSIONES	123
PARTE EXPERIMENTAL	124
BIBLIOGRAFÍA	128



AGRADECIMIENTOS

A Dios:

Por las infinitas bendiciones que me ha brindado, por poner en mi vida y mi camino a las personas y las oportunidades que me han permitido culminar esta etapa, por regalarme la salud, la capacidad y la paciencia para poder llegar a este día y lograr mis objetivos.

A mi madre, Adela:

Por estar a mi lado siempre que la he necesitado, por gozar mis triunfos y sufrir mis derrotas, por alentarme y motivarme a cada momento, por ser mi apoyo y comprensión, por cada sacrificio hecho y por su inmenso amor madre.

A mis hermanos:

Zeny, por brindarme su cariño y su apoyo incondicional, siempre y en todos los aspectos, por haber podido contar con ella en cada paso de mi vida, en buenos y malos momentos, y por sacrificar por mí tanto. José, por todo el apoyo que me ha brindado, por su cariño, su ejemplo y por alentarme a seguir superándome. Rosario, por el apoyo, la confianza y el cariño que he encontrado siempre en ella. Cruz, por apoyarme y ayudarme en lo posible y alentarme a salir adelante.

A la familia que Dios me ha dado la dicha de tener: mis sobrinos Juan y Alejandro, que quiero tanto y me llenan de orgullo; mis sobrinas Lili y Lizbeth, que llenan mi vida de cariño y ternura; mi abuelito Luis Ferrer, por su noble cariño, su sabiduría y protección, más que de abuelo, de padre. A Soly que tanto quiero, por acompañarme incondicionalmente en cada día y noche de desvelo. A cada miembro de mi familia y a cada ser querido, con cuyo cariño y apoyo he podido contar. A Iván, por su comprensión, apoyo y cariño, por confiar en mí y convencerme de que soy capaz de lograr cumplir mis objetivos.

Gracias por confiar en mis capacidades, por cada limitación y sacrificio que han hecho por darme la oportunidad de ser alguien preparada y una mejor persona. Porque ustedes son mi dicha e inspiración, son el soporte de mi vida y porque a ustedes debo lo que soy y lo que he logrado, este esfuerzo y esta dicha son tan suyos como míos.

A mis asesores y maestros:

D.C. Juan Diego Hernández Hernández y D.C. Luisa Urania Román Marín, por brindarme la oportunidad de laborar bajo su asesoría, para la elaboración de esta tesis y otros proyectos, me siento muy honrada por ello, por su tiempo y cada valioso conocimiento que me han compartido de los muchos que poseen, por despertar mi interés en la investigación y la química, por su apoyo y por su calidad humana y profesional; les estimo, admiro y respeto, pues son un ejemplo de dedicación y amor por el conocimiento y el trabajo.

A mis sinodales: D.C. Judith Araceli Aviña Verduzco, D.C. Rosa Elva Norma Del Río Torres, D.C. Yliana López Castro y D.C. Hugo Alejandro García Gutiérrez: por el interés y el tiempo que han dedicado a este trabajo, por cada consejo y corrección que aprecio y valoro para mi desarrollo personal y profesional.

Al Q.F.B. Isaías Tapia Quintero y al M.C. Gerardo Morán López, por sus valiosos consejos y su apoyo, por los conocimientos que me han compartido en base a su experiencia en el laboratorio y en la vida misma.

A mis amigos y compañeros:

Yesenia I., Edith, Francisco N., Pato, Felipe B., Arturo M., Cindy L., Alejandra C., Yazmín, Dante, Vianney, Judi, Isa, Mari, Melany, Antonio, Osvaldo, Fanny, Julio y todos mis compañeros y amigos, que por cuestiones de espacio no menciono, mas no por eso son menos importantes, por cada vivencia que compartimos juntos, por obsequiarme su valiosa amistad y su compañía en los buenos y malos momentos, por su apoyo, cariño y confianza, pero en especial, por hacer de mi paso por la facultad, el laboratorio y la vida, algo especial y único, lleno de hermosos recuerdos y de importantes momentos, por rodearme con su presencia y hacer de mis días algo mucho más alegre y ameno.

“La paciencia es la madre del éxito”



INTRODUCCIÓN

Las *Asteraceae* (del griego Aster = astro o estrella), llamadas anteriormente *Compositae*, son una familia de plantas de las más numerosas del reino vegetal que se encuentran distribuidas ampliamente a nivel mundial; a ella pertenecen alrededor de 20,000 especies;¹⁻¹² *Asteraceae singulares* son las que pertenecen a la tribu *Eupatoriaceae*, entre las cuales se encuentran los géneros de plantas fanerógamas *Eupatorium* y *Stevia*,¹³⁻²³ que son herbáceas o arbustivas que crecen principalmente en regiones tropicales o subtropicales, en los bosques de pino y encino, entre los 800 y 1800 m.s.n.m.



Eupatorium maculatum (Familia: *Asteraceae*)



Eupatorium serotinum



Eupatorium cannabinum

El género *Stevia* cuenta con aproximadamente 240 especies.^{3,5 y 7} Una de sus especies, *Stevia rebaudiana*, nombrada así por Moisés de Santiago Bertoni,¹² conocida en guaraní como ka'a he' «hierba dulce», o simplemente «estevia», se encuentra ampliamente cultivada por sus hojas dulces. Durante siglos, los nativos guaraníes del Paraguay usaron esta planta como un edulcorante natural.



Los crisantemos como la llamada margarita o margaritón (*Chrysanthemum leucanthemum*) son plantas nativas de Eurasia, naturalizadas en Norteamérica y Centroamérica,²⁴⁻³¹ principalmente en México, Guatemala y Costa Rica. Los crisantemos son herbáceas perennes que miden de 20 a 80 cm de altura; su hábitat es restringido, ya que también han sido declarados maleza nociva en varios Estados de la Unión Americana (*Crhysanthemum compositae*); crecen como arbustos salvajes en el suroeste de Brasil y Paraguay. Están estrechamente relacionados con el género *Stevia*, ya que pertenecen a la misma familia de las *Asteraceae*, y sus inflorescencias presentan una amplia gama de colores.

La *Stevia rebaudiana* es también una herbácea perenne con hojas simples, inflorescencia capitular y frutos denominados botánicamente “aquenios”; la especie es alógama, es decir, de fecundación cruzada,

siendo ésta una característica muy importante al momento de la multiplicación con fines comerciales, ya que la pueden fecundar variando en forma impredecible las características de la descendencia, sobre todo, con respecto al contenido del componente edulcorante.³²

Las hojas de las *Asteraceae*, en relación a su morfología, pueden ser: simples o compuestas, ocasionalmente peltadas, son usualmente alternas y espiraladas, menos frecuentemente opuestas, raramente verticiladas; con respecto a su consistencia, las hojas pueden ser: herbáceas, carnosas, coriáceas o membranosas y estar más o menos modificadas en espinas; pueden ser pecioladas o sésiles, con o sin glándulas, aromáticas, fétidas o sin olor marcado. Los aspectos que presentan las inflorescencias pueden ser morfológicamente semejantes, como es el caso de las inflorescencias de los *Eupatorios* con respecto a las *Stevias*, y en cambio muy diferentes respecto a los crisantemos o a los *Ílex*.



Inflorescencia *Ílex*



Hierba Mate (*Ilex paraguariensis*)

La Hierba Dulce (*Stevia rebaudiana*) tiene el mismo centro de origen que la Hierba Mate (*Ilex paraguariensis*),³³ con una importante concentración en el Noreste de la República del Paraguay, en la zona de Caballero en el Departamento de Amambay, en la zona con la frontera con Brasil; allí es una región climática con características tropicales donde llueven unos 800 mm.

Inflorescencia Eupatorium



Inflorescencia Stevia





Hierba Dulce (*Stevia rebaudiana*)

La *Stevia rebaudiana*, llamada ka'a he' o "hierba dulce", es una planta originaria de Paraguay y Brasil, usada desde la época precolombina por los guaraníes de la región como edulcorante para el mate y otras infusiones; esta planta cuya especie no llamó la atención de los colonizadores hasta que los nativos guaraníes la presentaran al científico suizo Moisés de Santiago Bertoni, en 1887, comenzó a ser estimada por la ciencia occidental.

Moisés Santiago Bertoni, naturalista, antropólogo y botánico,³⁴ nació en Lottigna, Cantón Ticino (Suiza), el 15 de junio de 1857; en 1875 ingresó a la Universidad de Ginebra donde estudió por algún tiempo la carrera de Derecho, para abandonarla en 1876, año en que ingresó en la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad de Zúrich.

En 1884 emigra con toda su familia y un grupo de coterráneos a Sudamérica, se instala en la Argentina hasta el año 1887 y comienza sus estudios botánicos y antropológicos. El abandono de sus compañeros, las dificultades económicas y las amenazas de terratenientes de la zona le inducen a buscar otras tierras para continuar con sus obras. Llega al Paraguay y funda una colonia a orillas del río Paraná, en la jurisdicción de Yaguarazapá. En 1894 se establece a 200 km al norte de Yaguarazapá y a 8 km de la desembocadura de Yguazú; aquí funda la Colonia Guillermo Tell, luego llamado Puerto Bertoni. En 1896, en reconocimiento a sus labores científicas, el

gobierno le llama para fundar la Escuela Nacional de Agricultura en Trinidad, cerca de Asunción, y asume la dirección de la misma hasta el año 1906, año en que es clausurada la escuela.



Asiste, en 1905, como Delegado del Paraguay, a la Tercera reunión del Congreso Científico Latinoamericano de Río de Janeiro, donde presenta varios trabajos. En 1907 crea la «Estación Agronómica Experimental de Puerto Bertoni», donde continúa las investigaciones iniciadas en la Escuela de Trinidad.

Bertoni dedicó sus esfuerzos, su inteligencia y su vida a las ciencias naturales, la agronomía, botánica, geología, arqueología, lingüística, meteorología, dendrología, geografía, antropología, astronomía y medicina. Fue el primero en describir científicamente la especie *Stevia rebaudiana*, en el Alto Paraná; posteriormente, el químico paraguayo Ovidio Rebaudi publicó, en 1900, el primer análisis químico que se había hecho de ella.



Ovidio Rebaudi Balestra

Ovidio Rebaudi Balestra ³⁵⁻³⁹ nació en Asunción, el 31 de diciembre de 1860; fue miembro de una de las principales familias asunceñas de mediados del siglo XIX.

Luego de realizar sus estudios básicos, ingresó a la Universidad de Pisa, Italia, de donde egresó como doctor en química. Desde joven se dedicó al estudio y a realizar varios trabajos científicos, que le valieron después para obtener el diploma de doctor en Ciencias, por la Universidad de Chicago.

Radicado en Buenos Aires, cursó estudios superiores en la Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales; trabajó como químico en reparticiones públicas y hospitales bonaerenses, y fue director del Museo del Círculo

Médico Argentino; además se dedicó a la docencia y a la cátedra universitaria y trabajó en la Oficina Química Nacional Argentina. Realizó importantes trabajos en química, biología y farmacología.

En 1905 fue designado profesor de la Universidad de la Plata, pero se retiró de su cátedra para regresar al Paraguay, donde ejerció el cargo de rector de la Universidad Nacional, el 10 de octubre de 1908; sin embargo, este cargo lo ejerció solo por un mes, hasta el 9 de noviembre de 1908, debido a la inestabilidad política imperante en el Paraguay, por lo que regresó a Buenos Aires.

En Paraguay, fue fundador y organizador de la Oficina Química y Bacteriología, y representó a dicho país en varios congresos internacionales, así como también a la Argentina; se dedicó a la enseñanza de la Biología y Química Médica, en la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Nacional de Asunción. En 1914, fue designado miembro de la comisión encargada de la celebración del Centenario de la Independencia Nacional.

Uno de los trabajos científicos de Ovidio Rebaudi fue el descubrimiento, en 1900, de un glucósido parecido a la sacarosa, que extrajo de la planta paraguaya descubierta por el naturalista Moisés S. Bertoni, y clasificada por él.

Los laboratorios de Berlín y Viena confirmaron el descubrimiento y denominaron *rebaudiana* al nuevo glucósido (ka'a he'è). La especie fue bautizada oficialmente por Bertoni en su honor como *Eupatorium rebaudiana*, o *Stevia rebaudiana*. A partir de 1905 la planta quedó registrada internacionalmente como *Stevia rebaudiana* Bert.

Los primeros en realizar un cultivo extensivo y exitoso fueron su hija, Vera, y su yerno, Juan Bautista Aranda Jiménez, en 1908, en Puerto Bertoni. Las propiedades químicas del ka'a he'è se registraron en la Unión Química Internacional en 1921; a partir de 1945, se consideró apropiado para el consumo de diabéticos y 14 años después se cultivaba en Brasil y otros países, inclusive en Japón.

Rebaudi se destacó como un gran científico. Algunas de sus obras son:

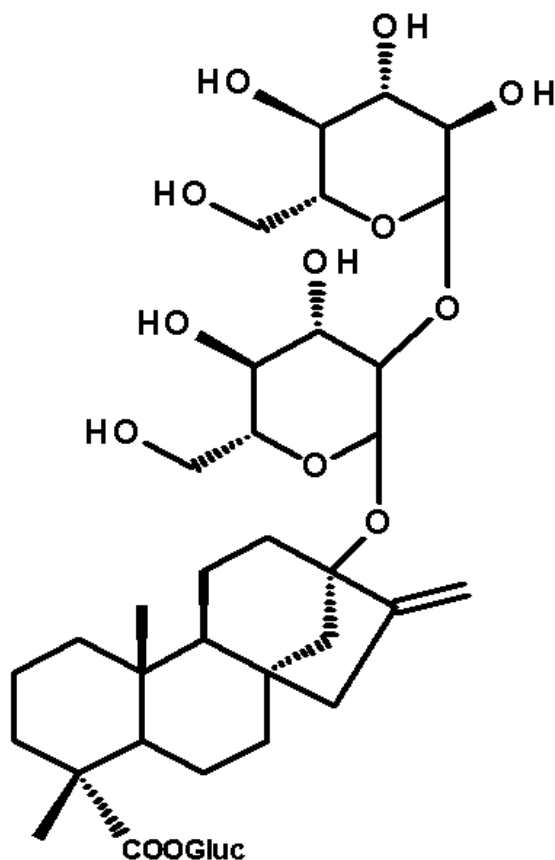
- 1) La presencia del ácido nitroso en las aguas potables no es siempre sinónimo de contaminación.
- 2) La goma de la palma negra.
- 3) El mechoacá y su principio activo.
- 4) Las aguas del río Paraguay.
- 5) Las aguas de consumo de la ciudad de Asunción.
- 6) Depuración biológica de las basuras.
- 7) La materia es un estado transitorio de la energía, confirmado medio siglo después por la energía atómica y Minería paraguaya.
- 8) El extracto de carne y la industria de la refrigeración., entre otras.

Rebaudi descubrió que el glucósido edulcorante era capaz de endulzar 200 veces más que el azúcar refinado, pero sin los efectos tan contraproducentes que ésta produce en el organismo humano.

Tras los primeros estudios sobre sus principios y características químicas, consiguió aislar los dos principios activos, conocidos como el "steviósido" (1) y el "rebaudiósido" (2).¹

Sin embargo, las dificultades para hacer germinar las semillas hicieron que el intento de exportarlas a Gran Bretaña, para cultivarlas y llevarlas a una escala comercial durante la Segunda Guerra Mundial, resultara infructuoso.

Fueron la hija y el yerno de Bertoni, quienes comenzaron con éxito la domesticación del cultivo, alrededor de 1964, mientras el botánico japonés Tetsuya Sumida la introdujo cuatro años más tarde en Japón, que es hoy uno de los mercados principales del producto.



Stevióside

1

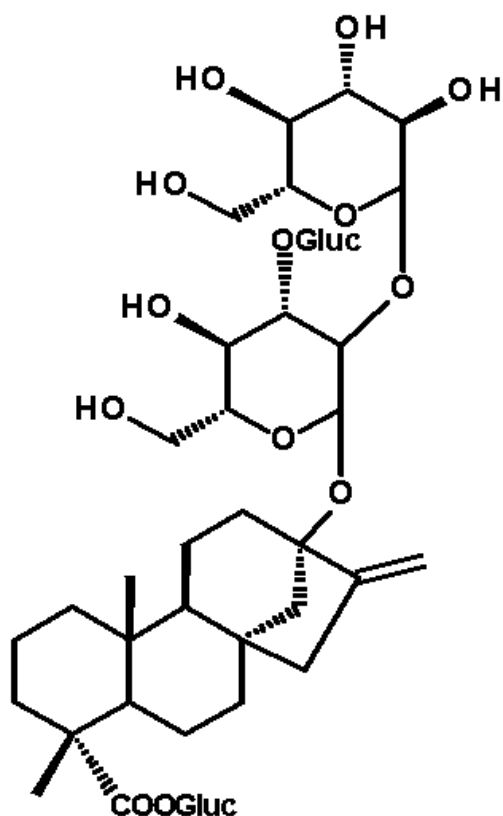
En Paraguay, el cultivo a gran escala comenzó alrededor de 1970, y desde entonces se ha introducido en Argentina, Francia, España, Colombia, Bolivia, Perú, Corea, Brasil, México, Estados Unidos, Canadá y, sobre todo, en China, que hoy en día es el principal productor.

Entre sus numerosas propiedades, destacan los efectos positivos que tiene para la calidad de vida de los diabéticos, pues posee propiedades reguladoras de los niveles de azúcar en sangre.

Sus principios activos inducen a las células beta del páncreas a reducir la glucosa en sangre, causante de la diabetes mellitus II; también se han demostrado sus beneficios en el tratamiento de la obesidad y la hipertensión arterial, gracias a que tiene un efecto insignificante en el nivel de la glucosa sanguínea, aportando cero calorías, por lo que es considerado acalórico.⁴⁰⁻⁴²

Un modo de uso alternativo, es la ingesta de la cocción de cuatro hojas tiernas, antes o durante el almuerzo, y cuatro hojas más, antes o durante la cena; también se puede preparar una infusión de hoja seca (una cucharadita por taza), una por la mañana y otra por la tarde.

Otra aplicación de la *Stevia*, son los enjuagues bucales con la infusión, aportando un efecto similar a otros antisépticos químicos como la clorhexidina (**3**) o Bis[5-(p-clorofenil)-biguanidinio]hexano, antiséptico y desinfectante biguanidínico, con acción frente a una amplia gama de bacterias gram positivas y gram negativas, previniendo de forma importante las caries bucales. Esta propiedad es la razón por la que algunas pastas dentífricas poseen esta planta.



Rebaudiósido

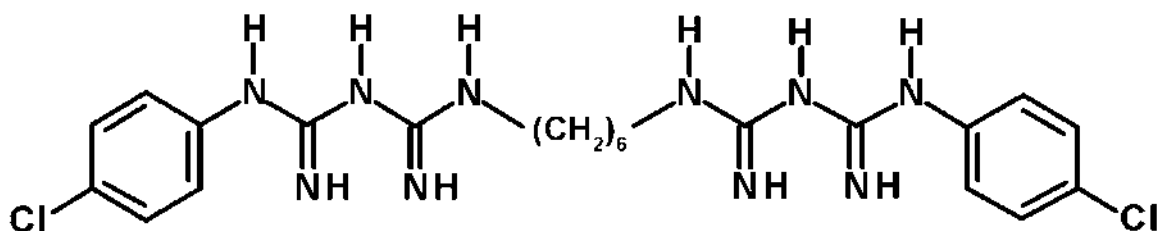
2

(carboxilo) de las proteínas.

La presentación comercial del Clorexil[®] 2%, es el gluconato de clorhexidina (4), utilizado como un antiséptico químico, que tiene un comportamiento bactericida para bacterias gram negativas y gram positivas y actúa también sobre *Candida albicans*.

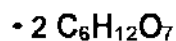
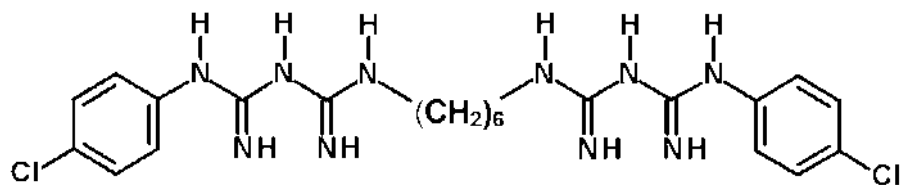
El gluconato de clorhexidina es una sal de clorhexidina y ácido glucónico. Siendo que la sal de clorhexidina (gluconato) simple es insoluble en agua, se emplea la sal doble o sea el digluconato de clorhexidina, que es altamente soluble en agua; esta característica estructural se representa con la fórmula (4), la cual se forma con 2 moléculas de gluconato.⁴³⁻⁴⁵

La clorhexidina posee un sistema biguanidínico que, por un lado, está unido al residuo de una *p*-cloroanilina, y por el otro, al residuo de la 1,6-hexametilen diamina; posee carga positiva en los nitrógenos. Esta estructura tiende a unirse a grupos funcionales negativos, particularmente a grupos fosfato de los lipopolisacáridos y a los grupos COOH



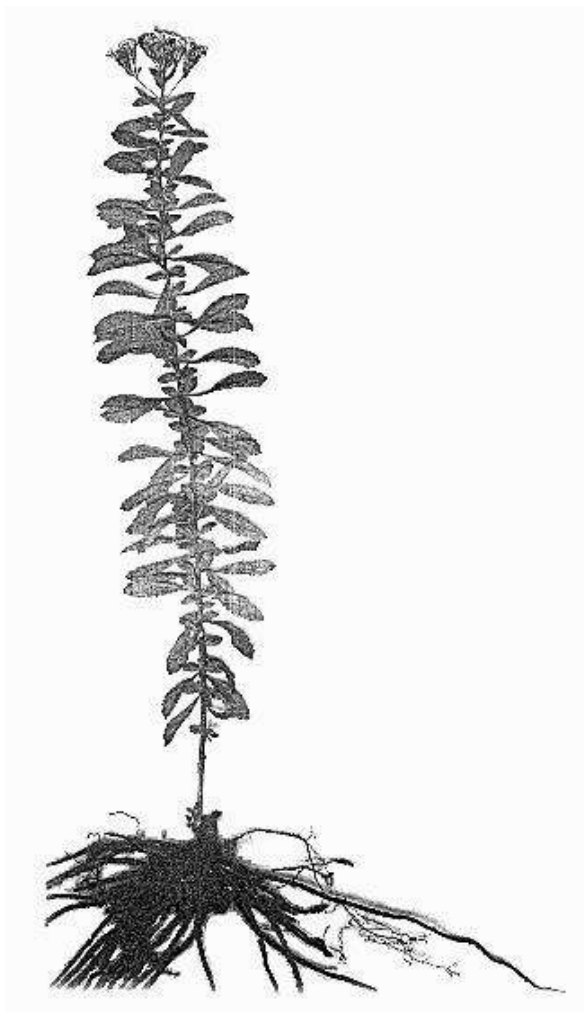
CLORHEXIDINA

3



CLORHEXIL 2

4



La *Stevia rebaudiana* es el edulcorante natural más utilizado en los mercados Coreano y Japonés, donde los gigantes fabricantes de refrescos, utilizan sus extractos para endulzar sus productos.

Todos los resultados anteriores han conducido al estudio de otras especies y, en particular, las que crecen en las regiones boscosas del Estado de Michoacán, que albergan una buena cantidad de especies diferentes conviviendo en el mismo hábitat.

Cabe destacar los estudios fitoquímicos llevados a cabo con la especie de la *Stevia serrata* Cav., cuya clasificación se debió a Antonio José Cavanilles y Palop.⁴⁶⁻⁵¹ Botánico y Naturalista español. Cavanilles estudió en la Universidad de Valencia, donde obtuvo los títulos de maestro en Filosofía, en 1762, y de doctor en Teología, en 1766, y se ordenó sacerdote en Oviedo, en 1772.

Entregado a la docencia, marchó a París, en 1777, como preceptor de los hijos del Duque del Infantado, donde entraría en contacto con la botánica, bajo la tutela de André Thouin y Antoine Laurent de Jussieu.

Especies de *Stevia*.





Impregnado de enciclopedismo, fue de los primeros científicos españoles en utilizar los nuevos procedimientos taxonómicos de Carlos Linneo y una de las figuras más importantes de la ciencia ilustrada en España. Entre sus publicaciones iniciales, destaca la serie dedicada a las Monadelfias.

A su regreso de París, en 1789, a causa de los desórdenes producidos por la Revolución Francesa, entabló una relación epistolar, en 1790, con el librero parisino Jean-Baptiste Fournier, a fin de llevar un negocio de introducción en España de libros prohibidos, hasta su muerte, en 1804, gracias al cual llegaron alrededor de setecientas de estas obras, muchas de ellas revolucionarias, como ha descubierto el historiador valenciano Nicolás Bas, que halló ese epistolario inédito.

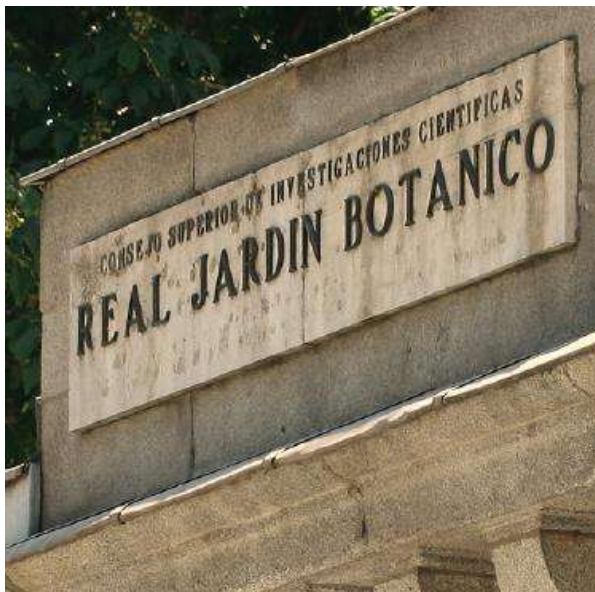


También siguió con sus labores botánicas y describió plantas peruanas y chilenas, procedentes de la Expedición Botánica al Virreinato de Perú (1777-1788) de Ruiz y Pavón, y otras de la Expedición Botánica a Nueva España, entre las que destaca la Dahlia, cuya primera descripción fue hecha por Cavanilles, sobre plantas cultivadas en el Jardín Botánico de Madrid, enviadas por esta Expedición.

Recorrió parte de la Península Ibérica clasificando e inventariando la flora autóctona y, en el curso de tales investigaciones, descubrió nuevas especies y elaboró un tratado en seis volúmenes *Icones et descriptiones plantarum quae aut sponte in Hispaniae crescunt, aut in hortis hospitantur* (1791-1804); también investigó la flora sudamericana y compuso un Glosario de botánica en cuatro lenguas (1795-1798).



En 1801 es nombrado director del Real Jardín Botánico de Madrid, en el que sustituyó a Casimiro Gómez Ortega, cargo que ejercería hasta su muerte, en 1804.



Cavanilles reorganizó la institución: sistematizó y acrecentó los herbarios, las colecciones de plantas vivas, semilleros y biblioteca, y gracias a sus numerosos e importantes contactos con científicos internacionales de la talla de Alexander von Humboldt, Aimé Bonpland y Carl Ludwig Willdenow, el centro adquirió gran relevancia en la escena científica europea.

A su muerte, legaría su herbario, dibujos originales, biblioteca y manuscritos, al Real Jardín Botánico de Madrid, donde actualmente se conservan.

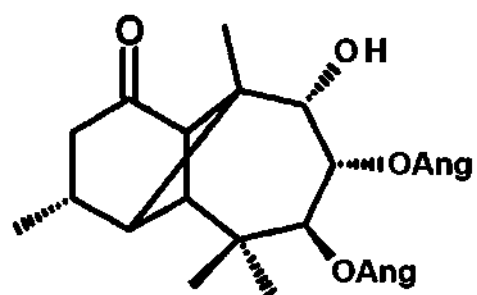
Entre sus discípulos, destacan Mariano Lagasca y Segura,⁵²⁻⁵⁴ quien en 1815 sería nombrado director del Jardín Botánico de Madrid, y Simón de Rojas Clemente y Rubio.



Se conserva un retrato al óleo del famoso botánico en el Museo Nacional de Bogotá.

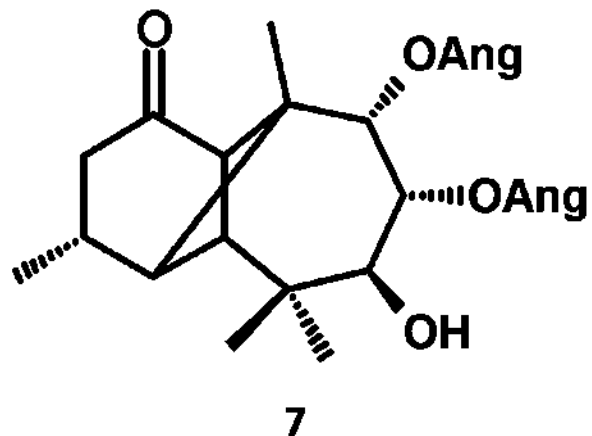
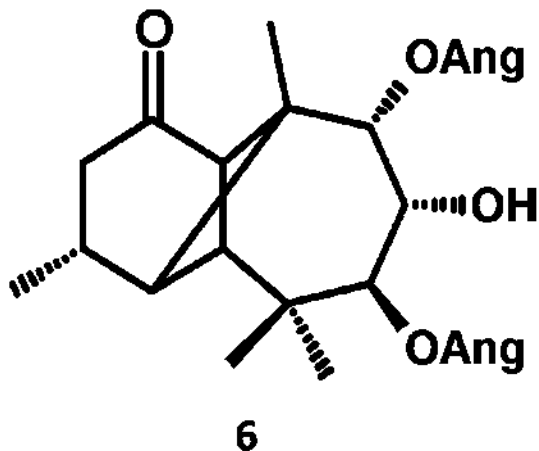
Un metabolito aislado mayoritariamente de la raíz de *Stevia serrata* Cav., es la Rasteviona (**5**),⁵⁵⁻⁵⁷ obtenida en 1978, a partir de los extractos hexánicos, cuyos concentrados dieron mieles cristalinas amarillentas; de éstos se obtuvo como un sólido cristalino y, posteriormente, en cantidades apreciablemente menores (1999), las Isorastevionas (**6** y **7**), compuestos isoméricos, cuya diferencia fundamentalmente es la posición que guarda el grupo oxhidrilo en el anillo de siete miembros, de precisamente las tres posiciones probables a ocupar en el sistema del longipinano, obviamente sin considerar las estereoquímicas que oferta cada posición, sino que son las favorecidas biogenéticamente.

La estructura base del longipineno consta de un sistema tricíclico (8), cuyos anillos, dos son de tamaño mediano: uno de seis miembros y uno de siete miembros, mientras el tercer anillo es pequeño: de cuatro miembros. El sistema de la rasteviona posee cuatro grupos funcionales: un grupo carbonilo de cetona en la posición C-1, dos

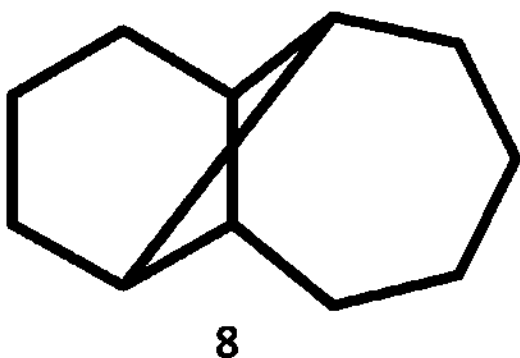


RASTEVIONA

5

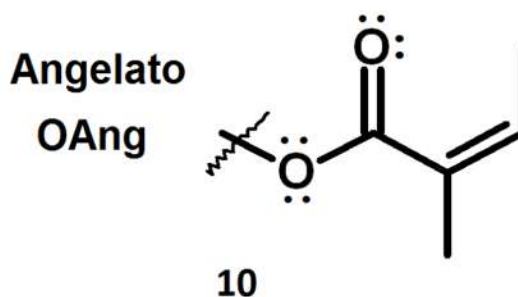
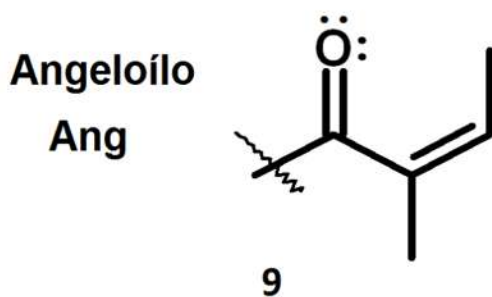


ISORASTEVIONAS

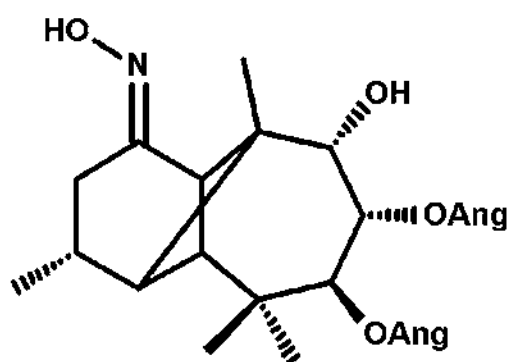


grupos angelato en la posición C-7 y C-8; éstos son ésteres α,β - insaturados, cuya posición relativa entre los metilos es *trans* o *E*; aunque el isomerismo geométrico en torno al doble enlace, nos indica que es un éster *cis*, pues los grupos prioritarios metilo y carbonilo se encuentran *cis* entre sí. Es importante hacer notar la diferencia de abreviaciones entre lo que significa un grupo

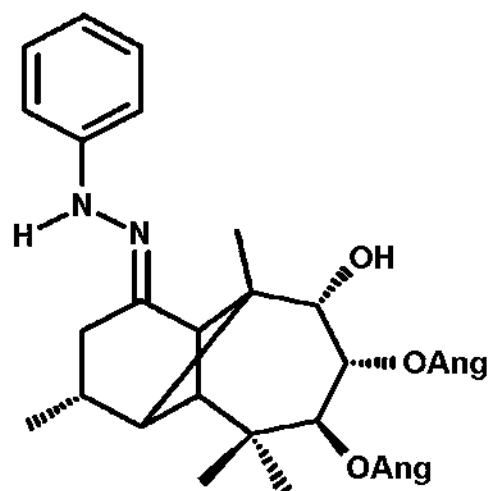
angeloílo (9) y un grupo angelato (10). La estructura también cuenta con un oxhidrilo secundario en la posición C-9, y su estereoquímica es alfa, y cuatro grupos metilo, de los cuales, uno está sostenido en un carbono terciario C-3, y su estereoquímica es alfa; los otros tres se encuentran unidos a los carbonos cuaternarios C-6 y C-10, respectivamente.



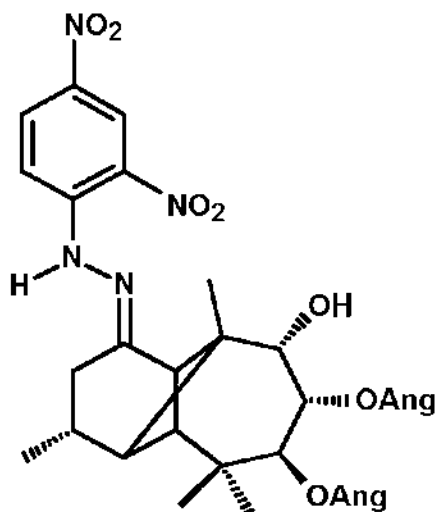
Entre los estudios posteriores relacionados con la química de la rasteviona, en los que se ha mantenido el esqueleto tricíclico (**8**) básico del longipineno,⁵⁷⁻⁶⁹ destacan la reactividad del grupo carbonilo en C-1, mediante las reacciones de adición al mismo con los derivados del amoniac, para formar las respectivas bases de Schiff, como son la oxima (**11**), la fenilhidrazona (**12**), la 2,4-dinitrofenilhidrazona (**13**) y la semicarbazona (**14**), todas ellas caracterizadas mediante sus propiedades físicas y espectroscópicas.



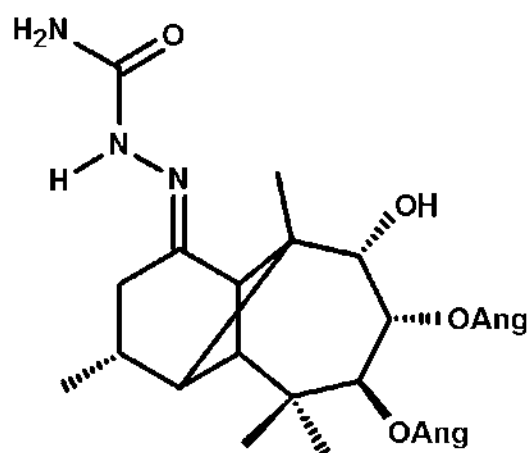
11



12

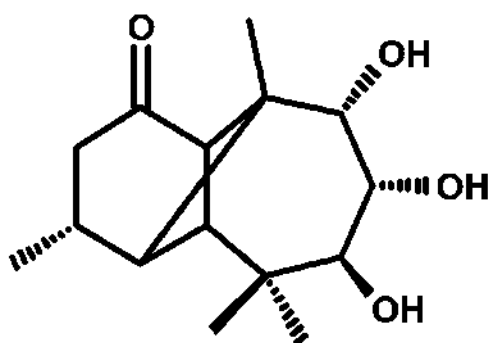


13

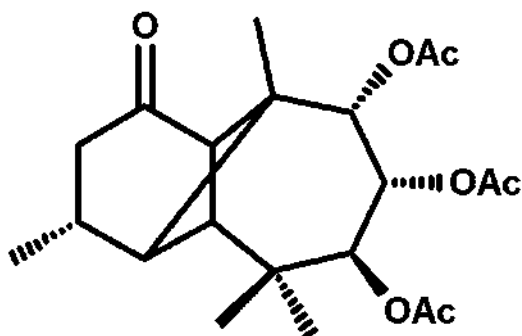


14

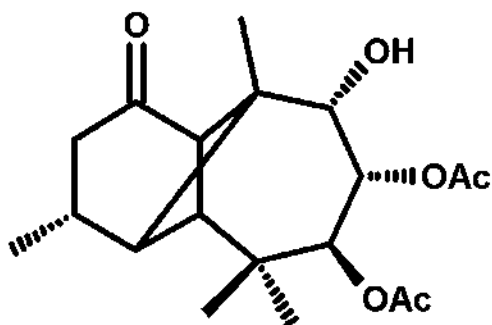
Además, hay estudios relacionados con la química de la rasteviona, en los que se ha mantenido el esqueleto tricíclico (**8**) básico del longipineno y se han modificado las funciones químicas, como son las reacciones de los grupos funcionales angelatos (**10**), que mediante las condiciones de hidrólisis básica producen la triolona (**15**), y a partir de ésta, mediante diferentes condiciones de acetilación, se obtuvo el triacetato derivado respectivo (**16**), y el diacetato selectivamente diacetilado en las posiciones C-7 y C-8 (**17**); así como también la acetilación de la rasteviona para dar el acetato de rasteviona (**18**), el que, por medio de procesos de purificación, se puede cristalizar aún cuando se parta de la materia prima de la rasteviona (**5**) como mieles no cristalizables, ya que es el derivado utilizado para obtener la triolona (**15**) como sólido cristalino, que por hidrólisis simple de la rasteviona (**5**) mieles no puede cristalizar.



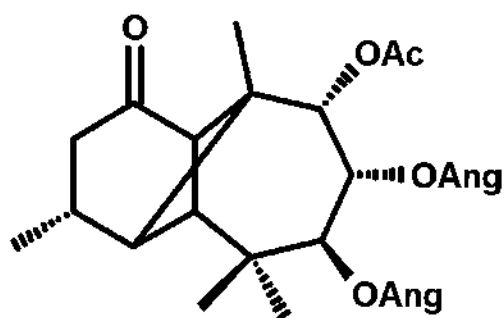
15



16

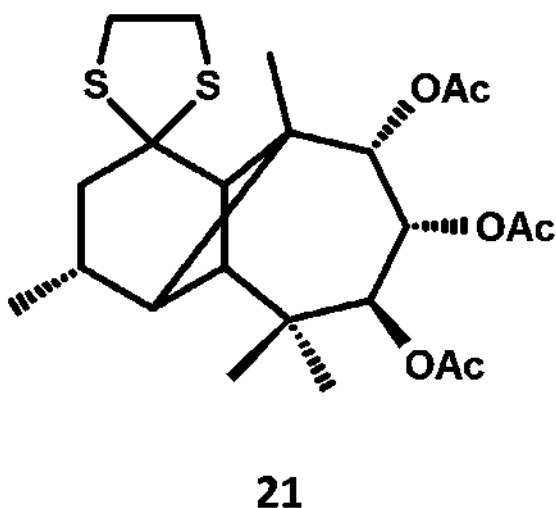
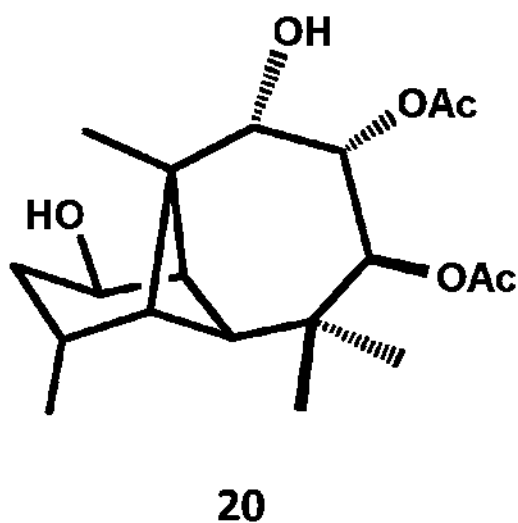
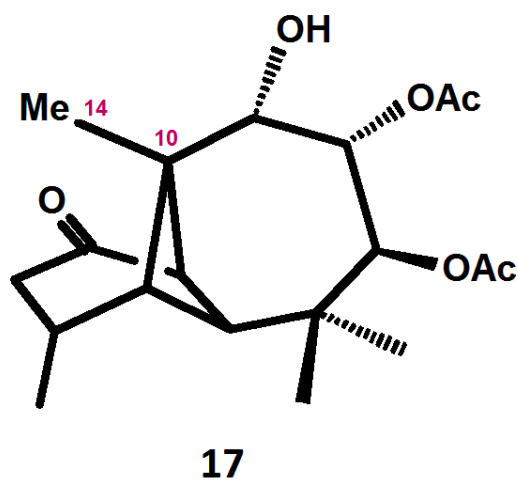
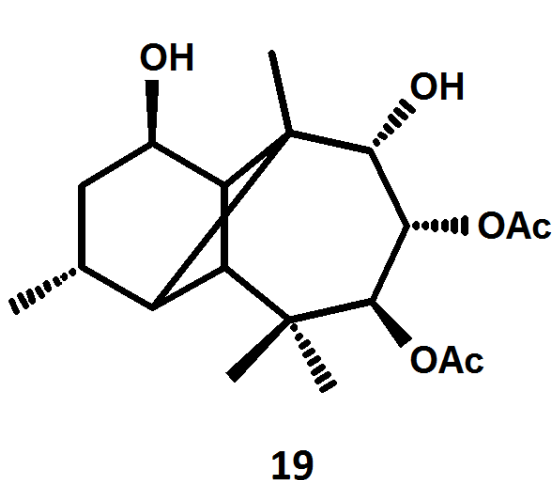


17

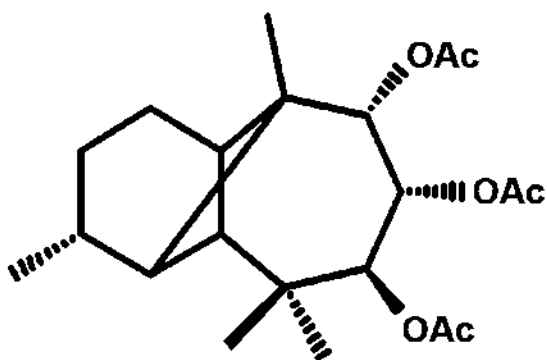


18

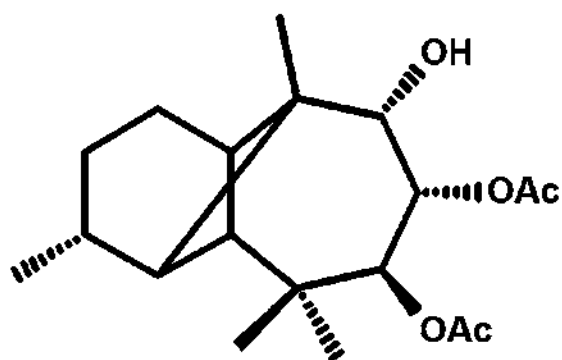
Al grupo carbonilo, que en el esqueleto de longipinano tiene la posición C-1, se le ha sometido a condiciones de reducción estereoselectivas con el borohidruro de sodio NaBH_4 en MeOH , como en la reacción llevada a cabo con los cristales del $7\beta,8\alpha$ -diacetiloxilongipinan- 9α -ol-1-ona (**17**), en la que se obtuvo estereoselectivamente el $7\beta,8\alpha$ -diacetiloxilongipinan- $1\beta,9\alpha$ -diol (**19**), como un aceite denso incoloro. La colocación del oxhidrilo en el producto, se explica en base al impedimento estérico que ocasiona del metilo en C-10, correspondiente al Me-14, con orientación beta, lo que ocasiona que el reductor atacante encuentre un espacio más propicio de ataque en la orientación alfa. Esto redunda en la colocación del oxígeno generador del oxhidrilo en la orientación beta, como lo muestra su estereoestructura (**17**) y la estereoestructura del producto de reducción (**20**).



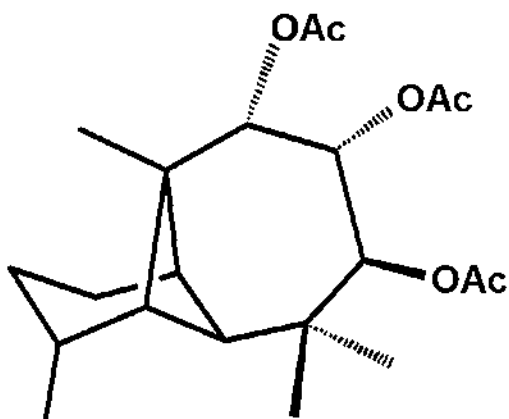
Al grupo carbonilo, se le ha sometido a condiciones reductivas para convertirlo en metileno, primero, transformando éste en su respectivo etilentiocetal, y luego sometiendo al producto con Níquel Raney en EtOH absoluto, como en la reacción llevada a cabo con los cristales del 7,8,9-triacetiloxilongipinan-9 α -ol-1-ona (**16**), en el que se obtuvo el etilentiocetal respectivo, derivado de la 7,8,9-triacetiloxilongipinan-9 α -ol-1-ona (**21**), como agujas blancas de p.f. 201-203 °C, y el tratamiento de éste con el Níquel Raney en EtOH absoluto dio **22**, como agujas blancas de p.f. 85-87°C, del que también se ha obtenido su análogo diacetilado (**23**), igualmente como agujas blancas de p.f. 175-178°C. Las estereoestructuras correspondientes son mostradas en **24** y **25**.



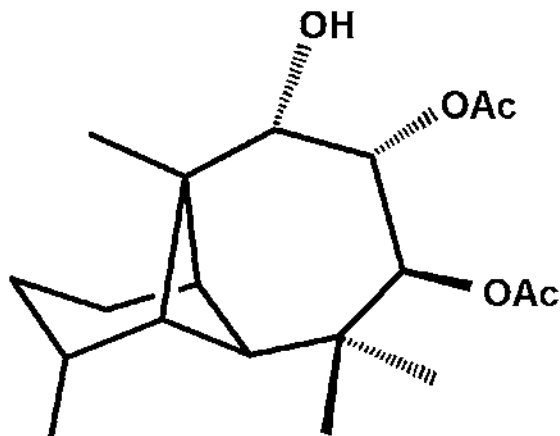
22



23



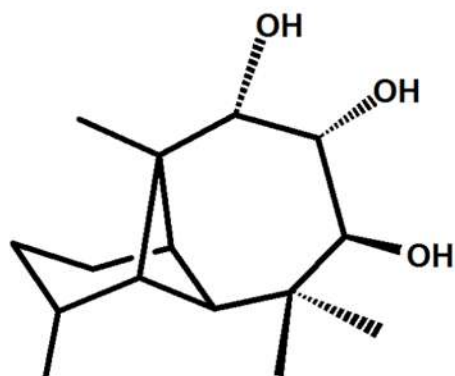
24



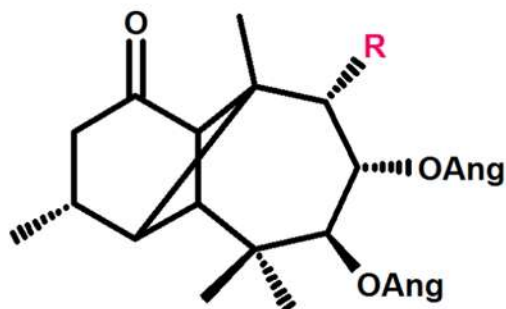
25

Además, a partir del deoxo-diacetato (**25**), mediante una hidrólisis básica a reflujo, durante dos horas, se obtuvo 7 β ,8 α ,9 α -trihidroxi-longipinano (**26**), como hojuelas blancas de p.f. 133-135 °C.

También se ha logrado obtener los derivados esterificados de la rasteviona, como una comprobación de la facilidad de reaccionar del grupo oxhidrilo hacia las condiciones de esterificación respectivas, para dar el acetato (**18**), el mesilato (**27**) y el tosilato (**28**), y adicionalmente las condiciones de oxidación estándar de la rasteviona, condujeron a la diona (**29**) respectiva.



26



ESTRUCTURA SUSTITUYENTE

(18) **R** = OAc

(27) **R** = OMs

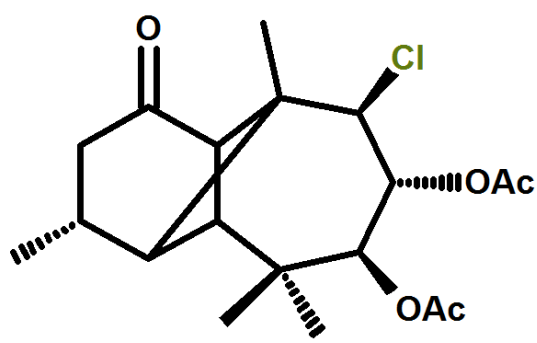
(28) **R** = OTs

(29) **R** = =O

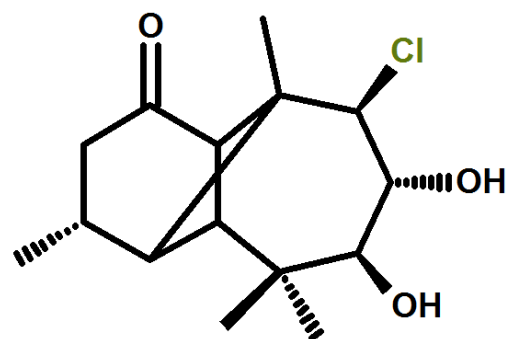
Debido a la presencia de los grupos angelato en las posiciones C-7 y C-8 en la estructura de la rasteviona, y a que estos ésteres son insaturados, funcionalizar el esqueleto de la rasteviona con halógenos no es posible, ya que las condiciones estándar de reacción de incorporación de halógenos a sistemas cíclicos saturados, darían mezclas de productos, a causa de que la rasteviona se encuentra ya muy funcionalizada.

Las reacciones para incorporar halógenos, en particular cloro y bromo, se dificultan por la presencia de estos ésteres, y para poderlas llevar a cabo, se han usado los di o triacetatos respectivos como materia prima para incorporar éstos halógenos, propiciando las transformaciones de los grupos funcionales con los que cuenta la rasteviona (**5**) para dar una serie de derivados que, en muchos casos, son sólidos cristalinos, como los representados en las moléculas **30** a **33**, en los que se representan algunos 9-cloroderivados de la rasteviona (**5**); se han obtenido a partir de ella, como

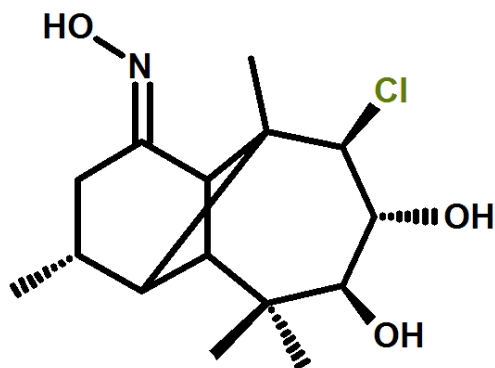
es mostrado en el **ESQUEMA I**, en el que se revela que el derivado **30** se obtiene por dos rutas: una en la cual el 7,8-diacetiloxilongipinan-9 α -ol-1-ona (**17**) se transforma directamente al 7,8-diacetiloxilongipinan-9 α -cloro-1-ona (**30**), mediante la reacción con el cloruro de tionilo (SOCl_2) o con el oxiclورو de fósforo (POCl_3); en tanto que en la otra, el 7,8-diacetiloxilongipinan-9 α -ol-1-ona (**17**), se mesila con el cloruro de metansulfonilo en piridina, y en frío durante 24 h, para dar el 7,8-diacetiloxilongipinan-9 α -mesiloxi-1-ona (**34**), que es tratado con HCl para dar 7,8-diacetiloxilongipinan-9 α -cloro-1-ona (**30**). La serie de todos estos derivados fue caracterizada e identificada mediante sus respectivos espectros de RMN de ^1H y ^{13}C .



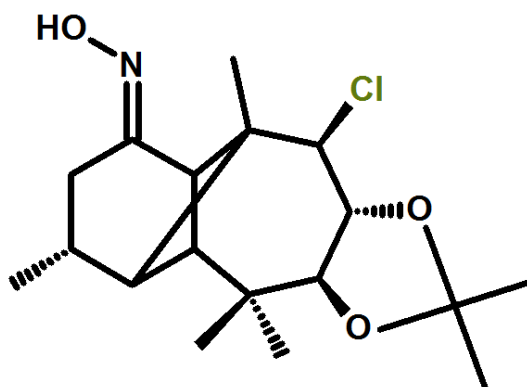
30



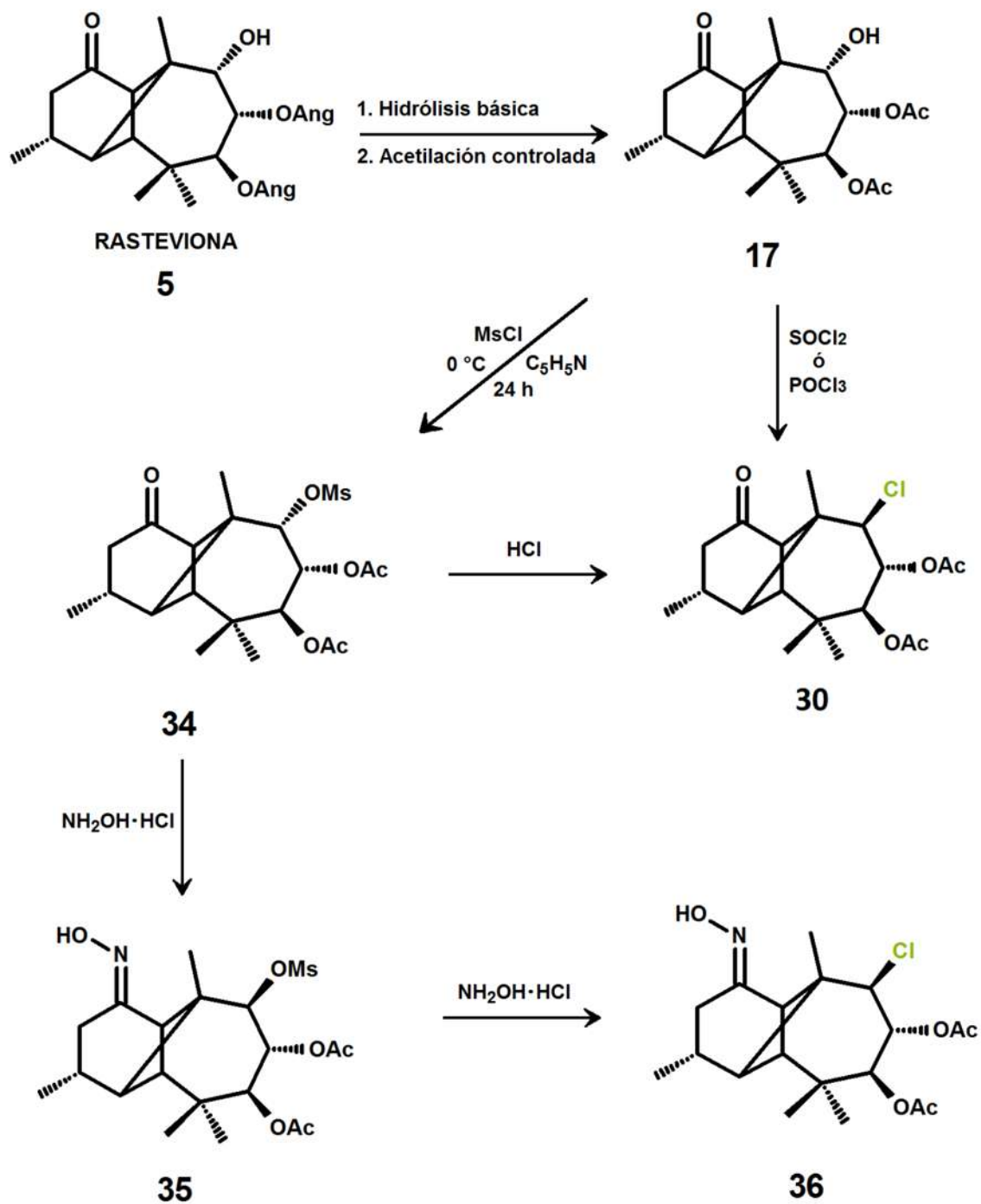
31



32



33

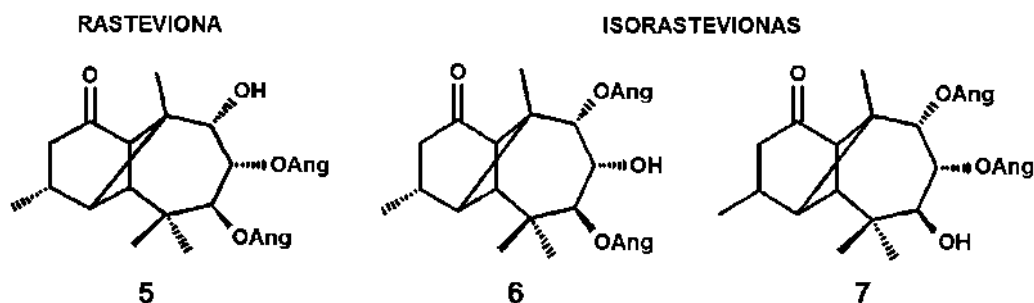


ESQUEMA I



27

Como el grupo mesilato es un buen grupo saliente, la reacción de **38** con el clorhidrato de la hidroxilamina, no dio la oxima esperada, sino que ocurrió la formación de la oxima y la sustitución del oxhidrilo en C-9 por el cloro, dando la oxima clorada (**33**).



También se ha logrado obtener isómeros posicionales derivados de la rasteviona (**5**), en los que la posición relativa de los angelatos varía mediante reacciones que propicien la transesterificación intramolecular de estos ésteres (**6** y **7**); además, ellos se han obtenido como componentes minoritarios de la raíz de *Stevia serrata* Cav.

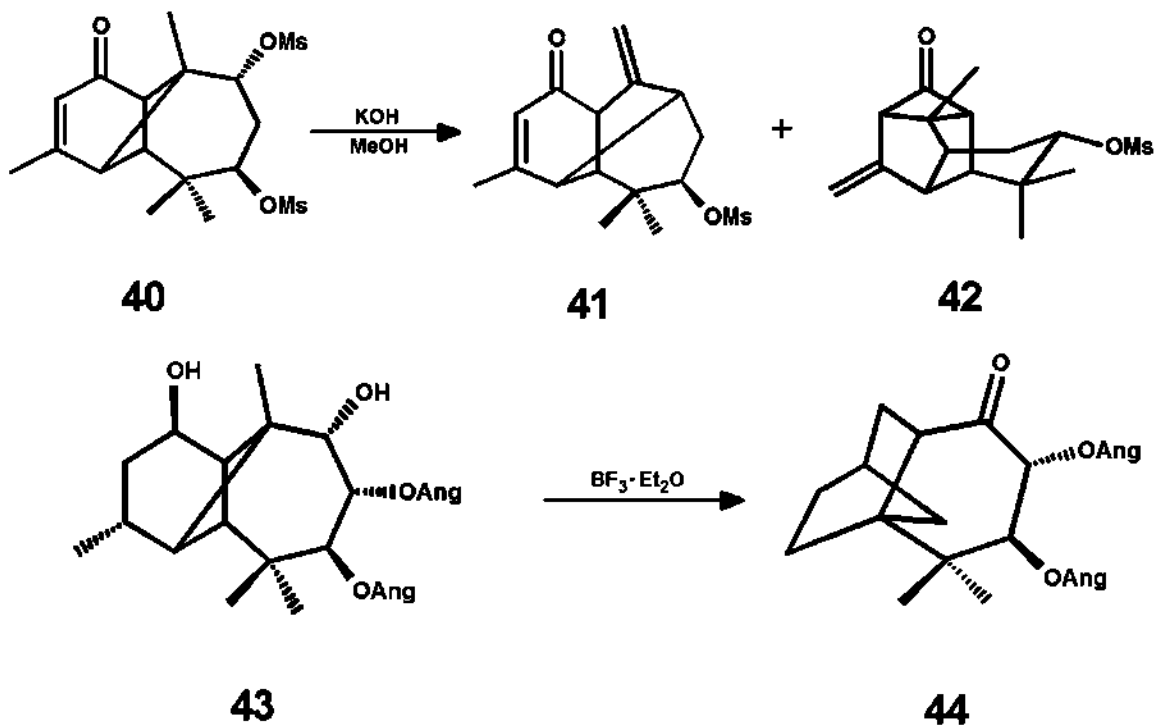
Todos estos ejemplos de reacciones, han propiciado las transformaciones de los grupos funcionales con los que cuenta la rasteviona (**5**), para dar una serie de derivados, en los que se ha mantenido el esqueleto de longipinano (**8**) inalterado.



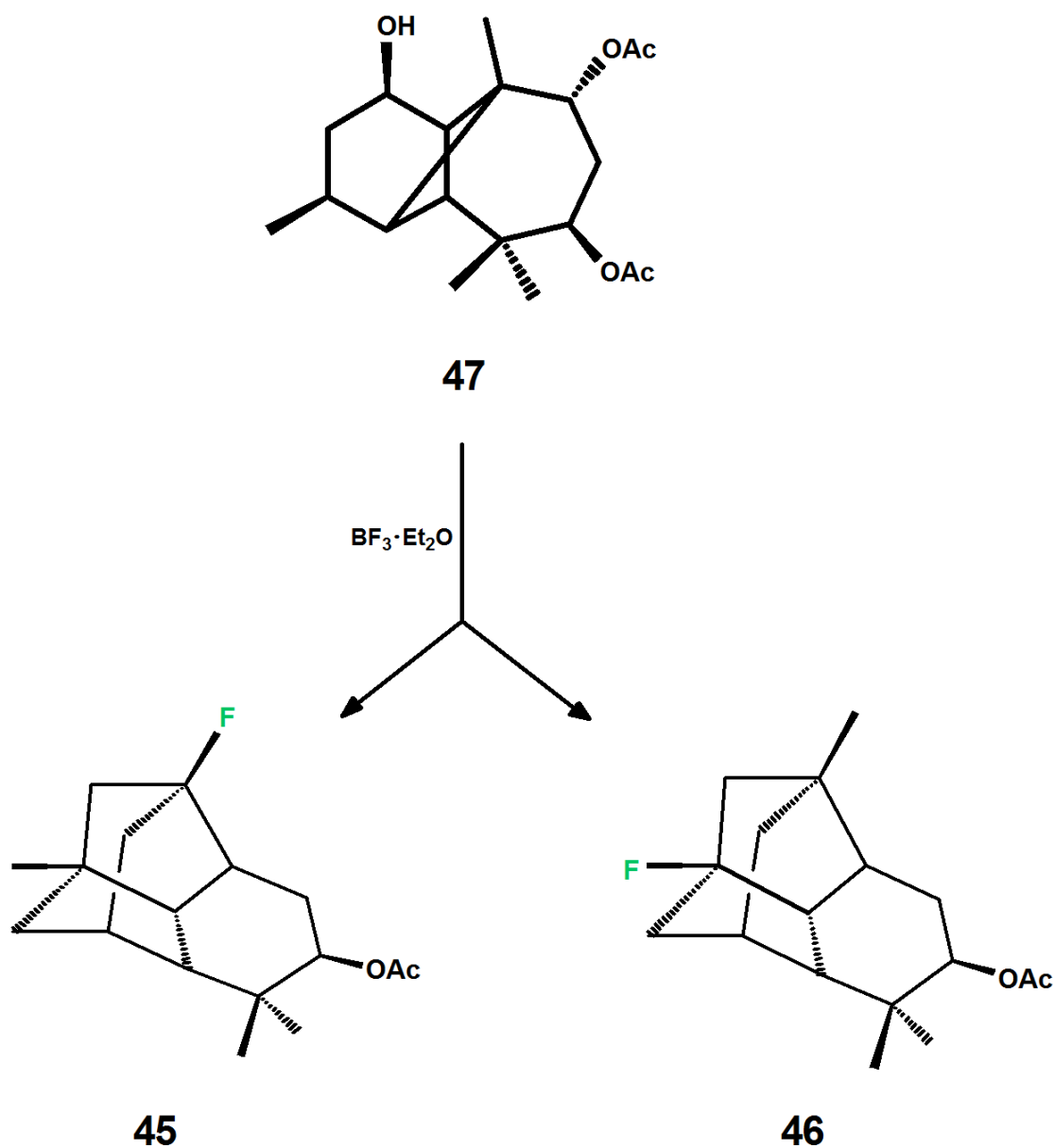
Como la rasteviona (**5**) es un sesquiterpeno tricíclico y posee en su esqueleto tres anillos: uno de siete miembros, uno de seis miembros y un anillo pequeño de cuatro miembros, que por encontrarse tensionado, es susceptible a la apertura, se pueden generar diferentes estructuras respecto al esqueleto básico del longipinano, dando diferentes tipos de anillaciones,⁷⁰⁻⁸⁷ como sucede con los tratamientos con diferentes ácidos, de los derivados de la rasteviona (**5**), que han generado nuevas anillaciones. Así,

por ejemplo, se obtuvo una mezcla de dos productos, mediante el tratamiento básico del 7 β ,9 α -dimesilato del dehidrodil (**40**), compuesto obtenido de un producto natural procedente del extracto hexánico de la raíz de *Stevia salicifolia* Cav. Uno de los productos dio el nuevo esqueleto tricíclico nombrado morelieno (**41**), el cual está conformado por un un anillo de siete miembros, uno de seis miembros y el tercero de cinco miembros. El segundo consistió en un estructura tetracíclica (**42**), obtenida como producto minoritario.

Otro ejemplo fue el tratamiento con el eterato de trifluoruro de boro del 7 β ,8 α -diangeloiloxilongipinan-1 β ,9 α -diol (**43**), para dar el producto de rearrreglo de un sesquiterpeno tricíclico, cuya anillación nueva se llamó iratzianoy; el producto correspondió a una nueva sustancia llamada iratziona (**44**), consistente en dos anillos de seis miembros y un tercer anillo de cinco miembros.



Como una continuación de los estudios de los reordenamientos moleculares, promovidos por el eterato de trifluoruro de boro BF₃·Et₂O, la reacción con el 7 β ,8 α -diangeloiloxi-longipinan-1 β ,9 α -diol (**43**), dio una mezcla de dos productos, a los cuales, además del rearrreglo ocurrido, se les incorporó a la estructura rearrreglada un flúor, originando dos esqueletos tetracíclicos, los cuales son nuevos sesquiterpenos tetracíclicos fluorados (**45** y **46**), y además, tienen esqueletos carbocíclicos nuevos.



En el marco de los antecedentes mencionados, el trabajo de la presente Tesis consistió en el estudio de la reactividad de derivados de la rasteviona (5) ante el hipoclorito de sodio*.

* "Reactividad de la Rasteviona (1) con Hipoclorito de sodio."
 Juan Diego Hernández-Hernández, Cecilia Ruiz-Ferrer, Isaías Tapia Quintero, Muriel Magali Pérez-Vallejo y Luisa Urania Román-Marín.
Boletín de la Sociedad Química de México, Vol. 4 (Número Especial), C/33, 115 (2010), ISSN: 1870-1809.
 45° Congreso Mexicano de Química, Riviera Maya, Quintana Roo.

C/33 REACTIVIDAD DE RASTEYONA (I) CON HIPOCLORITO DE SODIO

Juan Diego Hernández-Hernández, Cecilia Ruiz-Felipe, Ismael Trejo-Ojeda,
 Mitzi Selene Medrano-González, Muriel Magali Pérez-Muñoz y José María Benito-Marín
 Instituto de Investigaciones Químico-Biológicas de la UMSNH, Ed. 8-1-C, Universidad Michoacana, Michoacán, México. 58010, México. jdiego@umich.mx

RESUMEN

La Rasteviona es un sesquiterpeno que ha sido estudiado desde un punto de vista de la conservación de la biodiversidad, como también de las propiedades físicas y químicas. En este trabajo se presentan los resultados de la reactividad de la Rasteviona (I) con hipoclorito de sodio (NaOCl) en medio ácido, obteniendo nuevos productos de reacción.

REACCIÓN DE LA RASTEYONA (I) CON EL CLORATO DE TRIFLUORURO DE BORO

REACCIONES DE LA RASTEYONA (I) EN MODIFICAR EL ESQUELETO DE LINDOPHENO

REACCIÓN DE LA RASTEYONA (I) CON DIACETATO DE TRINOLONA CON ÁCIDO p-TOLUENSULFÓNICO

BIBLIOGRAFÍA

DE BROMACIÓN EN MEDIO ÁCIDO Y DE CLORACIÓN EN MEDIO ÁCIDO DE LA RASTEYONA (I)

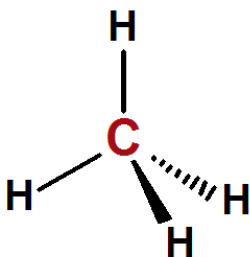
Compuesto	Yield (%)	mp (°C)	bp (°C)	IR (cm ⁻¹)	¹ H NMR (ppm)	¹³ C NMR (ppm)
Rasteviona (I)	100	100-102	180-182	1710, 1610, 1510, 1410, 1310, 1210, 1110, 1010, 910, 810, 710, 610, 510, 410, 310, 210, 110	7.1, 6.1, 5.1, 4.1, 3.1, 2.1, 1.1, 0.1	171.0, 161.0, 151.0, 141.0, 131.0, 121.0, 111.0, 101.0, 91.0, 81.0, 71.0, 61.0, 51.0, 41.0, 31.0, 21.0, 11.0
Producto 1	15	105-107	185-187	1710, 1610, 1510, 1410, 1310, 1210, 1110, 1010, 910, 810, 710, 610, 510, 410, 310, 210, 110	7.1, 6.1, 5.1, 4.1, 3.1, 2.1, 1.1, 0.1	171.0, 161.0, 151.0, 141.0, 131.0, 121.0, 111.0, 101.0, 91.0, 81.0, 71.0, 61.0, 51.0, 41.0, 31.0, 21.0, 11.0
Producto 2	10	108-110	188-190	1710, 1610, 1510, 1410, 1310, 1210, 1110, 1010, 910, 810, 710, 610, 510, 410, 310, 210, 110	7.1, 6.1, 5.1, 4.1, 3.1, 2.1, 1.1, 0.1	171.0, 161.0, 151.0, 141.0, 131.0, 121.0, 111.0, 101.0, 91.0, 81.0, 71.0, 61.0, 51.0, 41.0, 31.0, 21.0, 11.0
Producto 3	5	110-112	190-192	1710, 1610, 1510, 1410, 1310, 1210, 1110, 1010, 910, 810, 710, 610, 510, 410, 310, 210, 110	7.1, 6.1, 5.1, 4.1, 3.1, 2.1, 1.1, 0.1	171.0, 161.0, 151.0, 141.0, 131.0, 121.0, 111.0, 101.0, 91.0, 81.0, 71.0, 61.0, 51.0, 41.0, 31.0, 21.0, 11.0

PARTE TEÓRICA

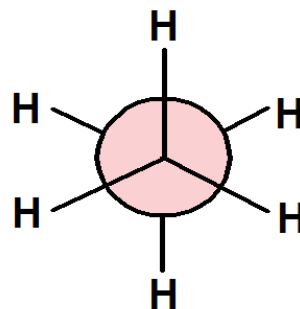
El cloro o el bromo pueden ser incorporados a una estructura química orgánica, mediante reacciones de sustitución de un hidrógeno bajo condiciones en las que se generen radicales libres. Estas reacciones son útiles cuando se trata de compuestos altamente simétricos o en compuestos que contengan sitios especialmente favorecidos para la formación de radicales libres,⁸⁸⁻⁹¹ de otro modo, se formarían mezclas complejas de isómeros. Un ejemplo típico es la cloración o bromación del metano (**48**), que posee cuatro hidrógenos químicamente equivalentes, o para el caso del etano (**49**), quien cuenta con seis hidrógenos químicamente equivalentes.



48

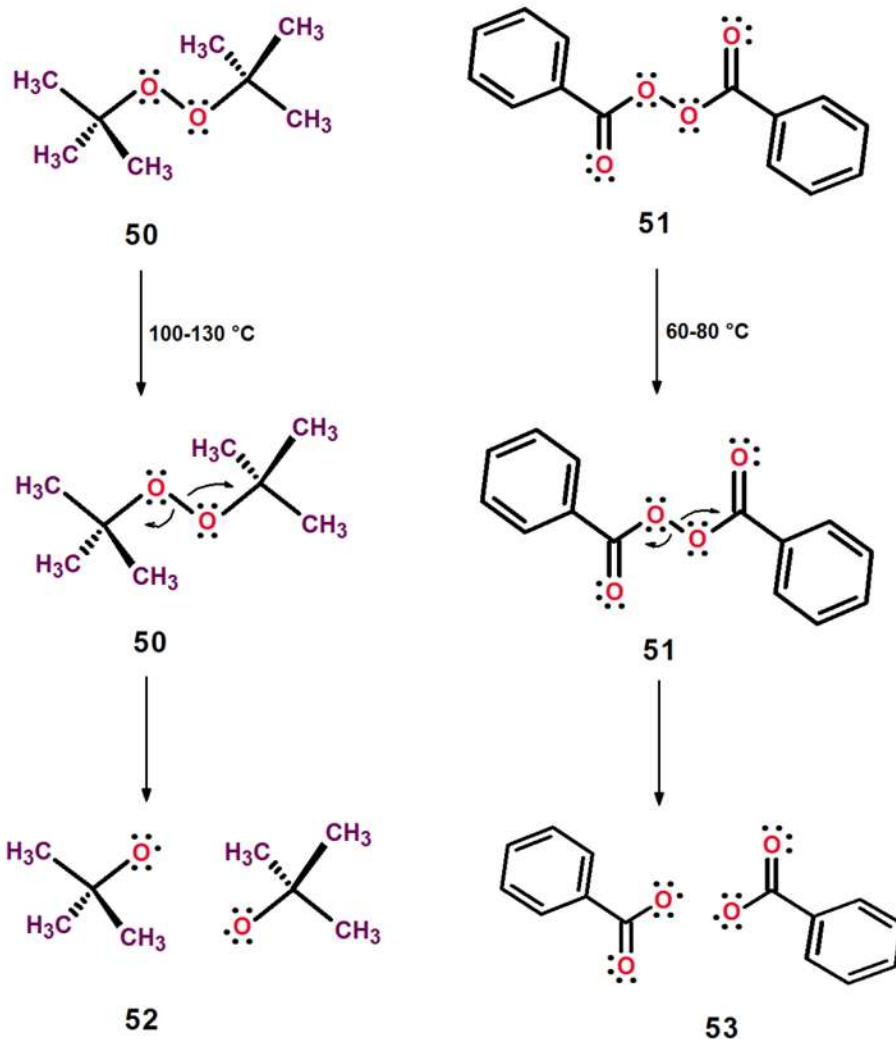


48



49

Los radicales libres pueden ser generados mediante rupturas homolíticas, que pueden ser inducidas por sustancias químicas llamadas promotores de radicales libres, por ejemplo: el peróxido de dterbutilo (**50**) y el peróxido de dibenzoílo (**51**), cuyas rupturas homolíticas se promueven térmicamente, como se muestra en el **Esquema III**, en el cual el efecto térmico para que se lleve a cabo dicha ruptura homolítica (**52** y **53**) varía, dependiendo de la naturaleza estructural del peróxido de que se trate.⁸¹⁻⁸⁴



ESQUEMA III RUPTURA HOMOLÍTICA DE PERÓXIDOS, PROMOVIDA TÉRMICAMENTE.

La ruptura homolítica, promovida térmicamente, del peróxido de terbutilo, genera dos radicales libres terbutoxilo (**52**); lo mismo ocurre con el peróxido de dibenzoílo (**51**), que produce dos radicales libres benzoíloxi (**53**). En el **Esquema IV** se muestran las etapas del mecanismo de la cloración del metano (**48**), inducido por la acción de la luz o del calor, en donde ocurre la reacción de uno de ellos mediante una reacción en cadena, en la que el paso iniciador es promovido por la acción de la luz o del calor,

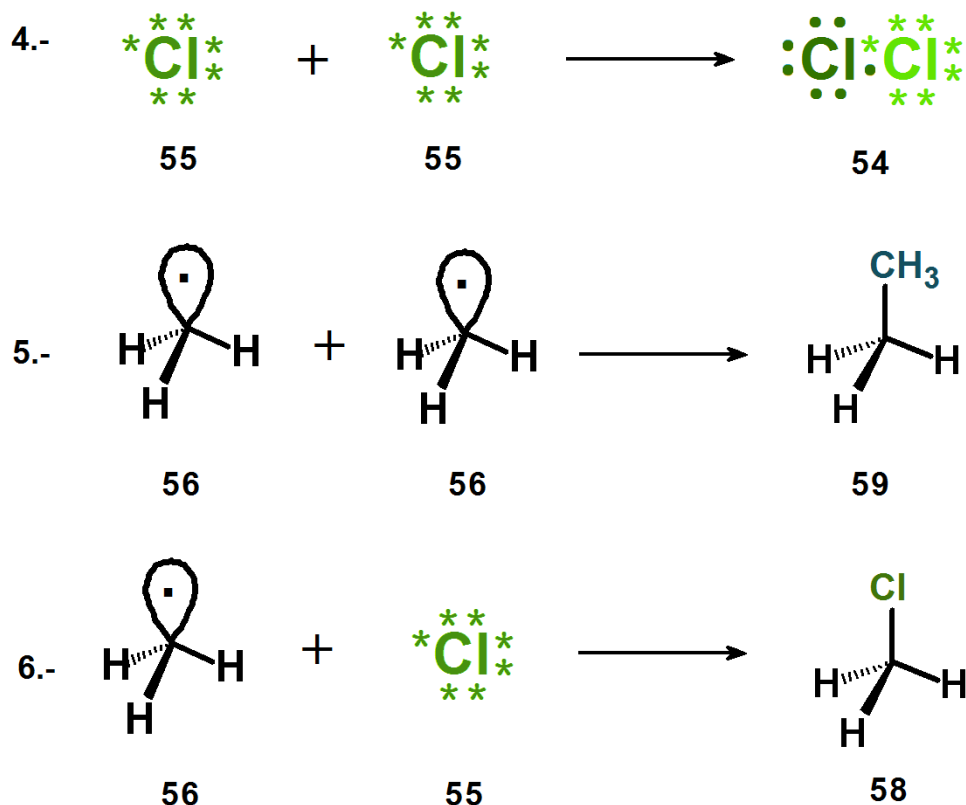
ESQUEMA IV MECANISMO DE CLORACIÓN DEL METANO, PROMOVIDA POR LUZ O CALOR.

1.-

2.-

3.-

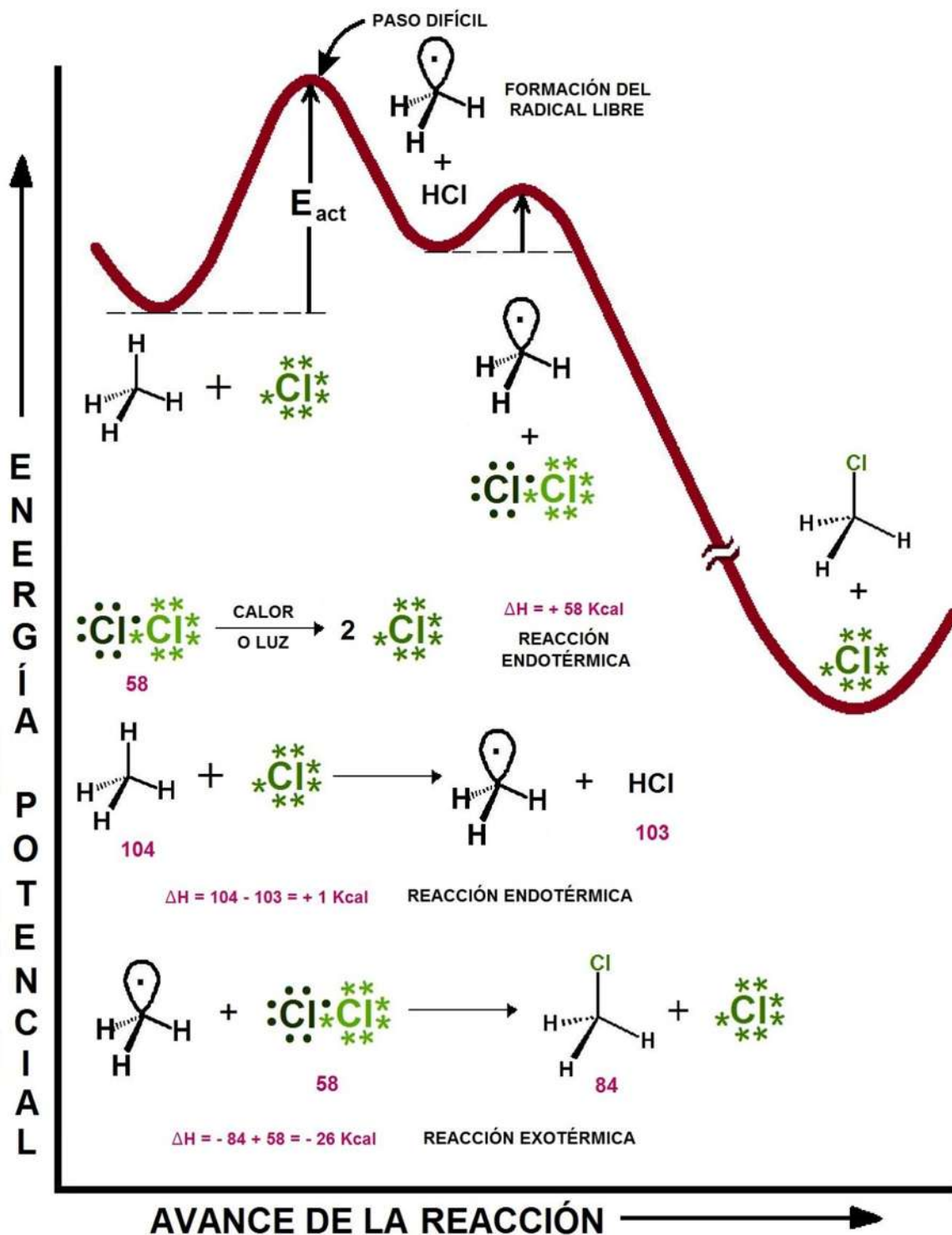
34



(4), (5) Y (6) PASOS FINALIZADORES DE LA CADENA

ESQUEMA V ETAPAS DEL MECANISMO DE CLORACIÓN DEL METANO, PROMOVIDA POR LUZ O CALOR QUE NO GENERA ESPECIES REACTIVAS.

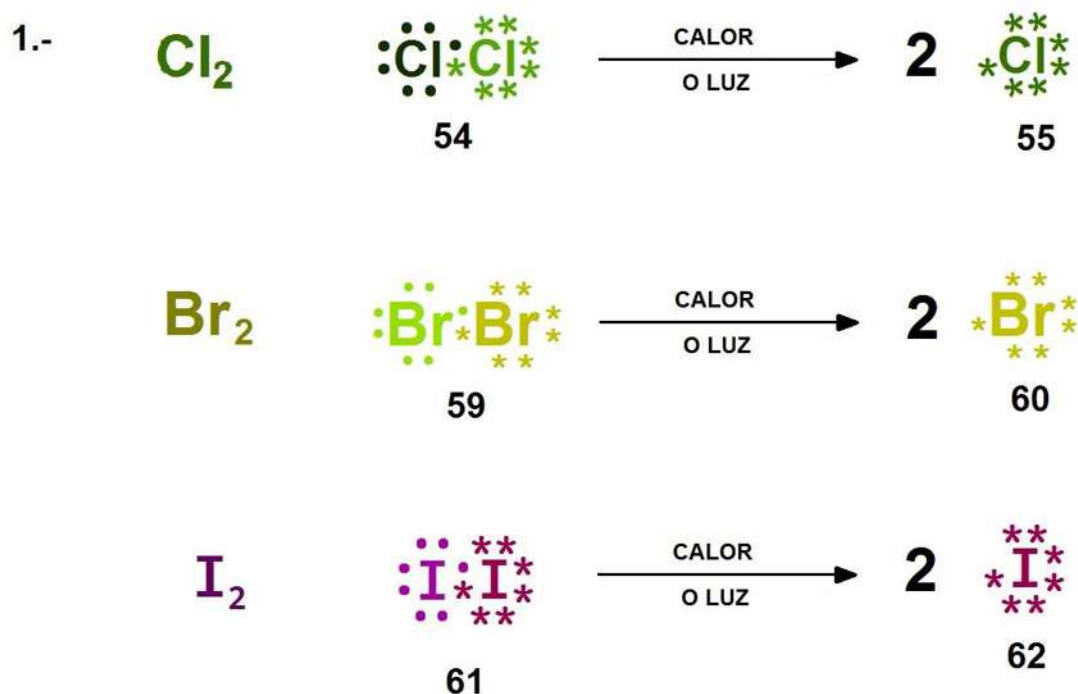
molécula del cloruro de metilo (**58**), y nuevamente el átomo de cloro (**55**), como la especie reactiva. Es notorio que las tres etapas se caracterizan porque siempre se genera una especie reactiva. En el **Esquema V** son mostrados los tres eventos probables que pueden ocurrir, y se caracterizan porque no generan especies reactivas. En la etapa 4 se describe el choque probable, pero improductivo, de dos átomos de cloro (**55**) para dar la molécula de cloro (**54**), en tanto que la etapa 5 muestra el choque probable de dos radicales libres metilo (**56**), que producen la molécula del etano (**49**), especie no reactiva; y finalmente, en la etapa 6 se muestra el choque probable del radical libre metilo (**56**) con un átomo de cloro (**55**), para dar el cloruro de metilo (**58**). También es notorio que en estos tres últimos eventos, tanto la molécula de cloro (**54**), obtenida en la etapa 4, como la molécula del etano (**49**) y la del cloruro de metilo (**58**), producidas en las etapas 5 y 6, respectivamente, son especies no reactivas, debido a que todos los enlaces de los átomos que las conforman, tienen sus pares de electrones de enlace apareados y, por lo tanto, su nivel energético es bajo.



ESQUEMA VI PERFIL DE ENERGÍA DEL MECANISMO DE CLORACIÓN DEL METANO, PROMOVIDA POR LUZ O CALOR.

En el **Esquema VI** es mostrado el perfil de energía del avance de la reacción de la cloración del metano (**48**), donde la curva de la barrera de energía indica que se tiene que considerar que no basta con los costos energéticos de las rupturas y formaciones de los enlaces involucrados en el proceso, que nos indican que la reacción es exotérmica, por lo que aparentemente el evento no podría llevarse a cabo espontáneamente, sino que el avance de la reacción muestra que en cada etapa existe una barrera de energía a vencer, llamada energía de activación, que impide la espontaneidad del proceso.

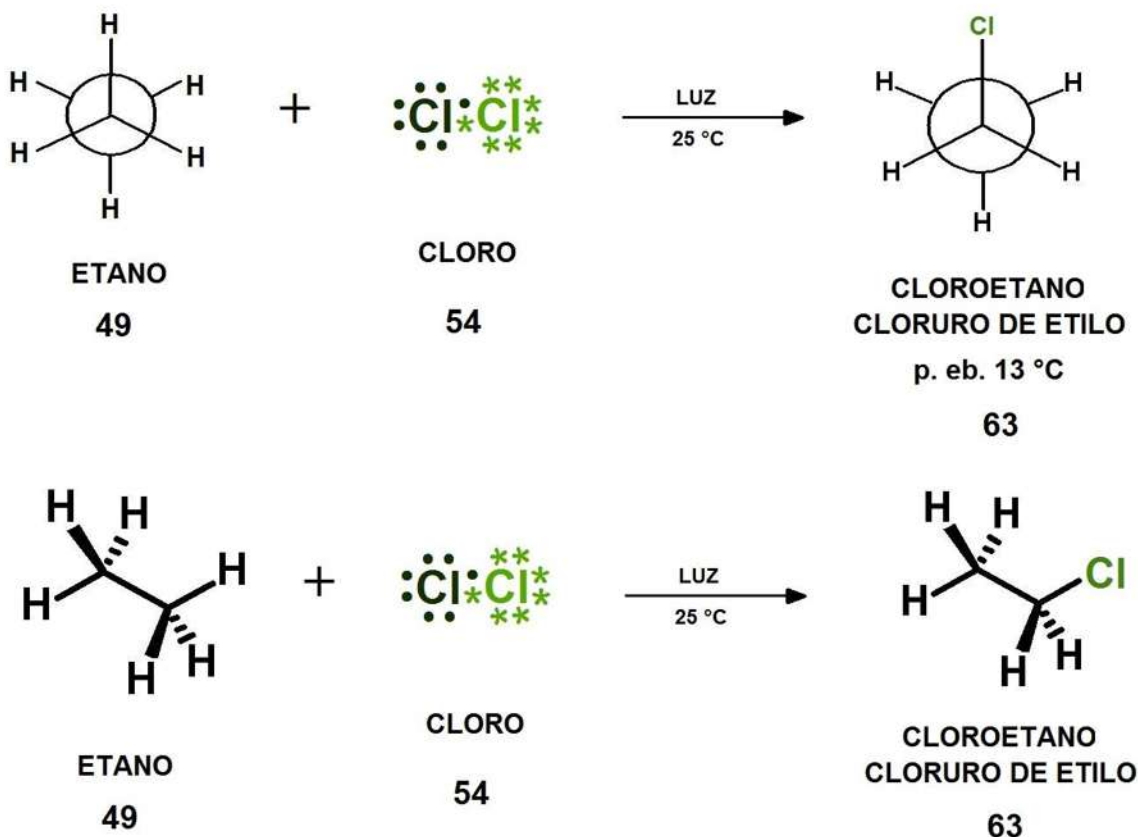
PASO INICIADOR DE LA CADENA



ESQUEMA VII RUPTURAS HOMOLÍTICAS DE LOS HALÓGENOS, PROMOVIDAS POR LUZ O CALOR.

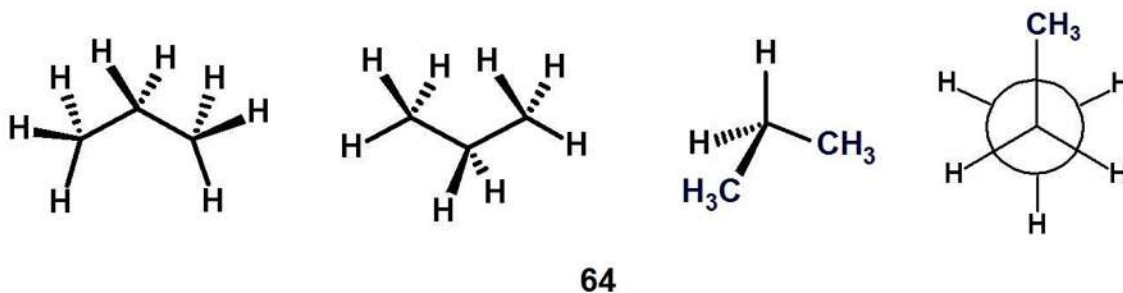
En el **Esquema VII** se observa que en la primera etapa del mecanismo de la reacción de la cloración del metano, conocida como el paso iniciador, se puede hacer extensivo el comportamiento con los halógenos bromo o yodo, de tal suerte que la diferencia entre estos procesos sólo es de tipo energético, pero en todos ellos ocurre la ruptura homolítica del halógeno para dar lugar a la formación de las respectivas especies reactivas atómicas (**55**, **60** y **62**).

Las consideraciones de equivalencia y probabilidad de choque para que se lleve a cabo la ruptura del enlace C-H no son las mismas, como se llevaron a cabo con la molécula simétrica del metano (**48**), el cual tiene cuatro enlaces C-H, energética y químicamente equivalentes, por lo se obtiene el único producto cloruro de metilo (**58**). Además, en la misma circunstancia de equivalencia química y energética, se encuentra la molécula del etano (**49**), sólo que esta estructura posee seis enlaces C-H energética y químicamente equivalentes, que dan el cloruro de etilo (**63**) como se muestra en el

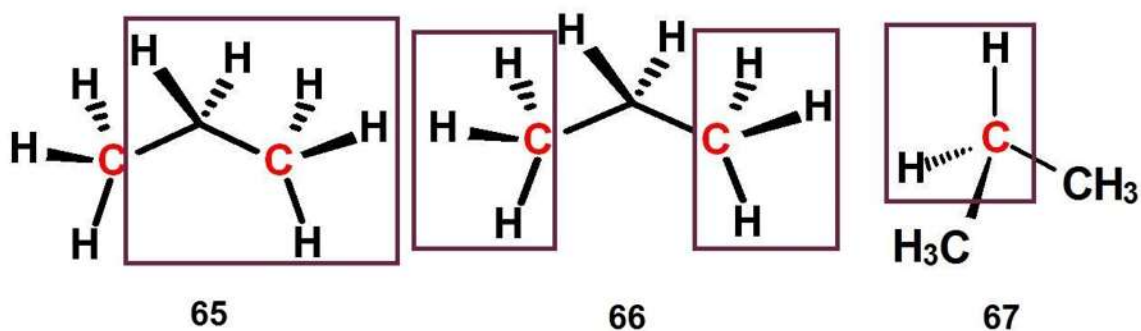


ESQUEMA VIII CLORACIÓN DEL ETANO PROMOVIDA POR LA ACCIÓN DE LA LUZ, A 25°C.

Esquema VIII; sin embargo, esto no ocurre con la molécula del propano (**64**), ya que esta estructura posee ocho enlaces C-H, y no son todos energética y químicamente equivalentes. Para establecer la diferencia entre los enlaces C-H en molécula del propano (**64**), existe una clasificación de los carbonos y de los hidrógenos implicados en el enlace.



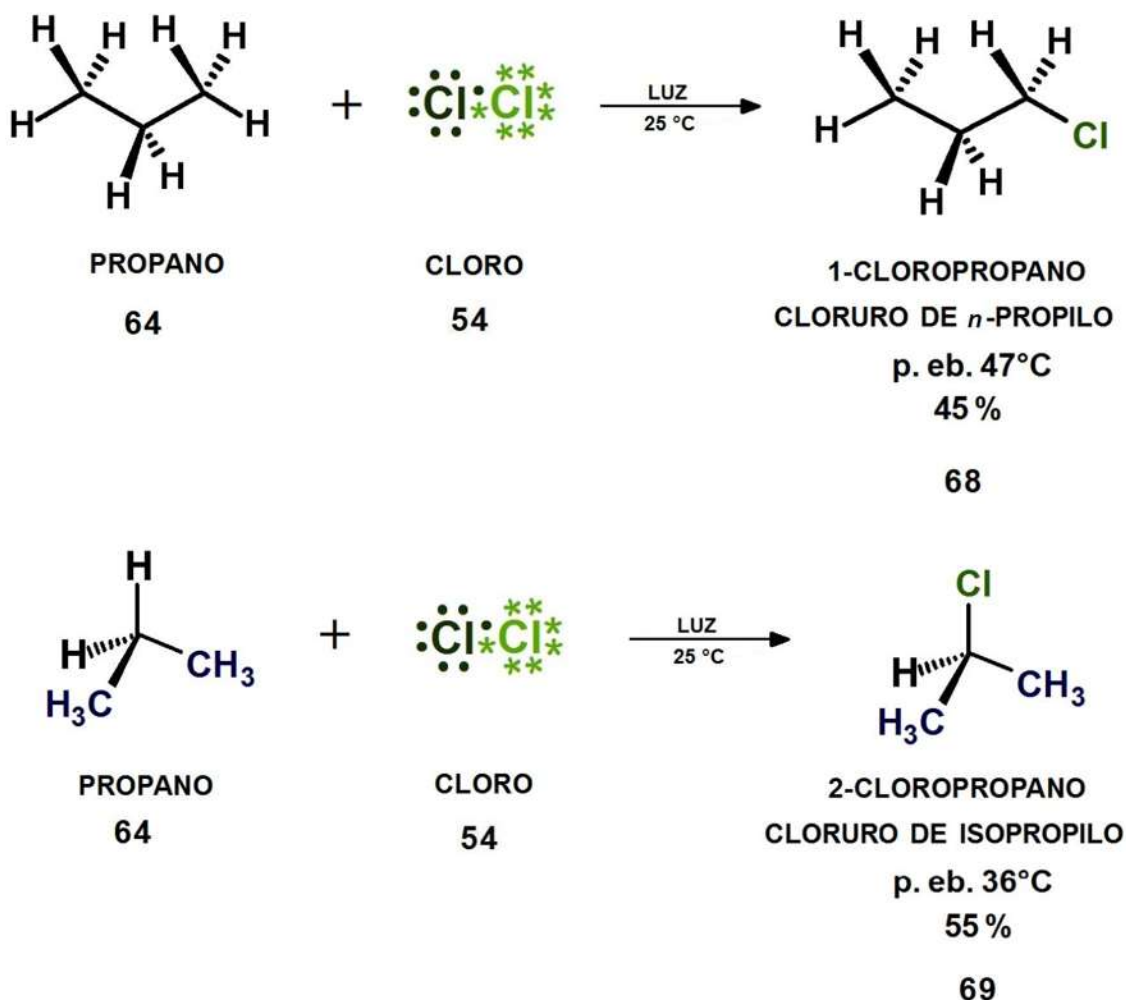
Así se cuenta con: carbonos primarios, carbonos secundarios, carbonos terciarios y carbonos cuaternarios. Los carbonos primarios son aquellos que se encuentran unidos sólo a un grupo, radical o residuo de la estructura (**65**); en el hidrocarburo saturado propano se cuenta con dos carbonos primarios, correspondientes a los carbonos de los grupos metilo de los extremos de la estructura (**66**), por lo que esta estructura posee seis enlaces C-H, los cuales dan un total de seis hidrógenos primarios energética y químicamente equivalentes.



La estructura **67** posee un solo carbono secundario, que por definición se encuentra unido a dos radicales o grupos, y por lo tanto, también a dos hidrógenos, correspondiendo a un metileno, que posee dos enlaces C-H, energética y químicamente equivalentes, pero de diferencia energética con respecto a los seis hidrógenos primarios.

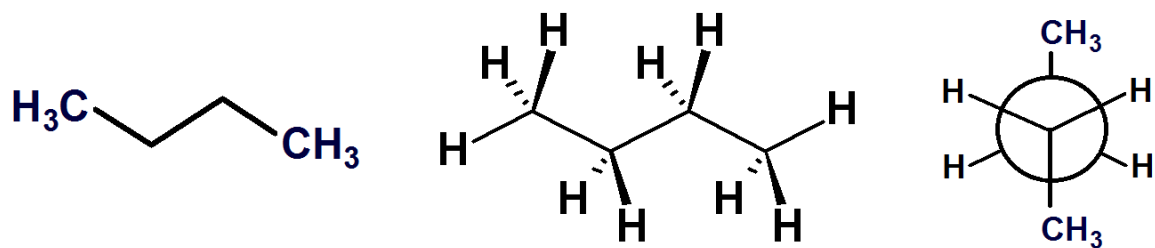
En el **Esquema IX**, se muestra la reacción del propano (**64**) con cloro para la obtención de los dos posibles productos, por la diferencia entre los enlaces C-H en molécula **64**, dado la clasificación de los carbonos y de los hidrógenos implicados en el enlace. Como la estructura tiene dos carbonos primarios y un carbono secundario, existe la competencia de seis hidrógenos primarios contra dos hidrógenos secundarios

y quien domina en esta competencia es el factor energético y no el probabilístico; debido a esto, de los dos productos posibles (**68** y **69**), el cloruro de isopropilo (**69**) es el que se obtiene en mayor proporción, aunque provenga de dos posibles enlaces C-H contra las seis posibilidades de los grupos metilo.



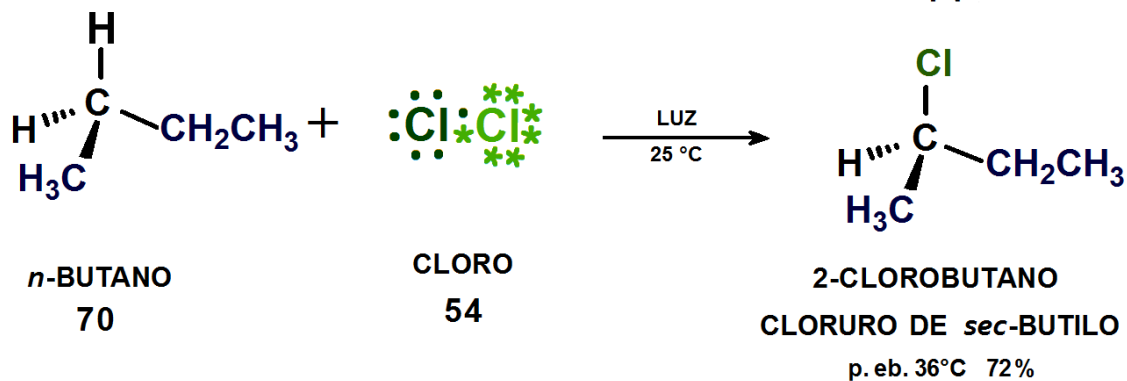
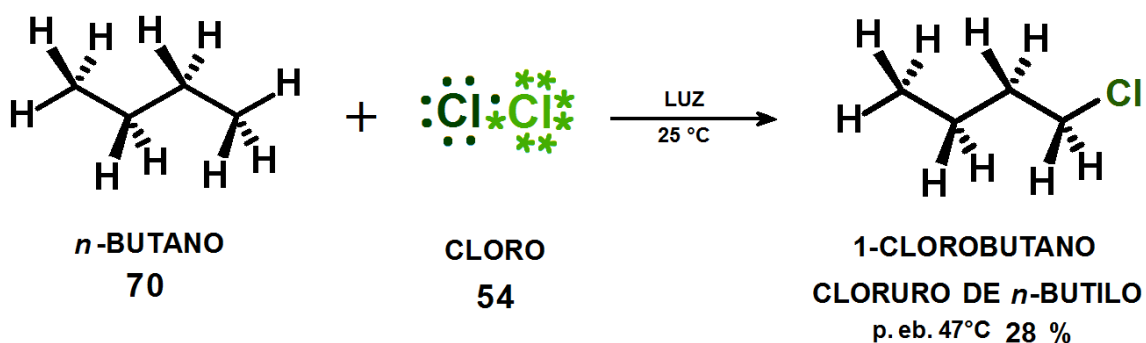
ESQUEMA IX CLORACIÓN DEL PROPANO, PROMOVIDA POR LA ACCIÓN DE LA LUZ, A 25°C.

La molécula del *n*-butano (**70**), de fórmula molecular C₄H₁₀, posee diez enlaces C-H, seis de ellos son energética y químicamente equivalentes, correspondientes a los dos carbonos primarios de los grupos metilo, y cuatro son energética y químicamente equivalentes, correspondientes a los dos carbonos secundarios de los grupos metileno. De los dos productos posibles (**71** y **72**), el cloruro de *sec*-butilo (**72**) es el producto mayoritario.



70

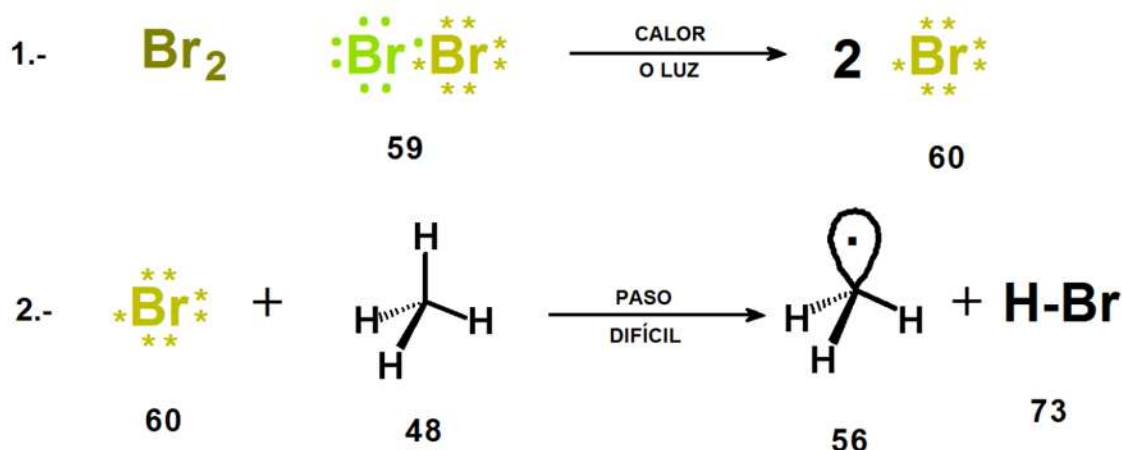
En el **Esquema X**, se muestra la reacción del *n*-butano (70) con cloro (54) para obtener los dos posibles productos.



ESQUEMA X CLORACIÓN DEL *n*-BUTANO, PROMOVIDA POR LA ACCIÓN DE LA LUZ, A 25 °C.

Para la bromación del metano, mostrada en el **Esquema XI**, en las etapas del mecanismo de la bromación, inducido por la acción de la luz o del calor, en el que ocurre la acción de uno de ellos, se promueve una reacción en cadena, de la misma manera como ocurre en la cloración, sólo que en el paso iniciador en el que la acción de la luz o del calor propicia la ruptura homolítica de la molécula de bromo (**59**), se generan dos átomos de bromo (**60**) como especies reactivas y el resto de las etapas es semejante, la única diferencia es la naturaleza de los productos, ya que se produce el ácido bromhídrico (**73**) y el bromuro de metilo (**74**).

PASO INICIADOR DE LA CADENA



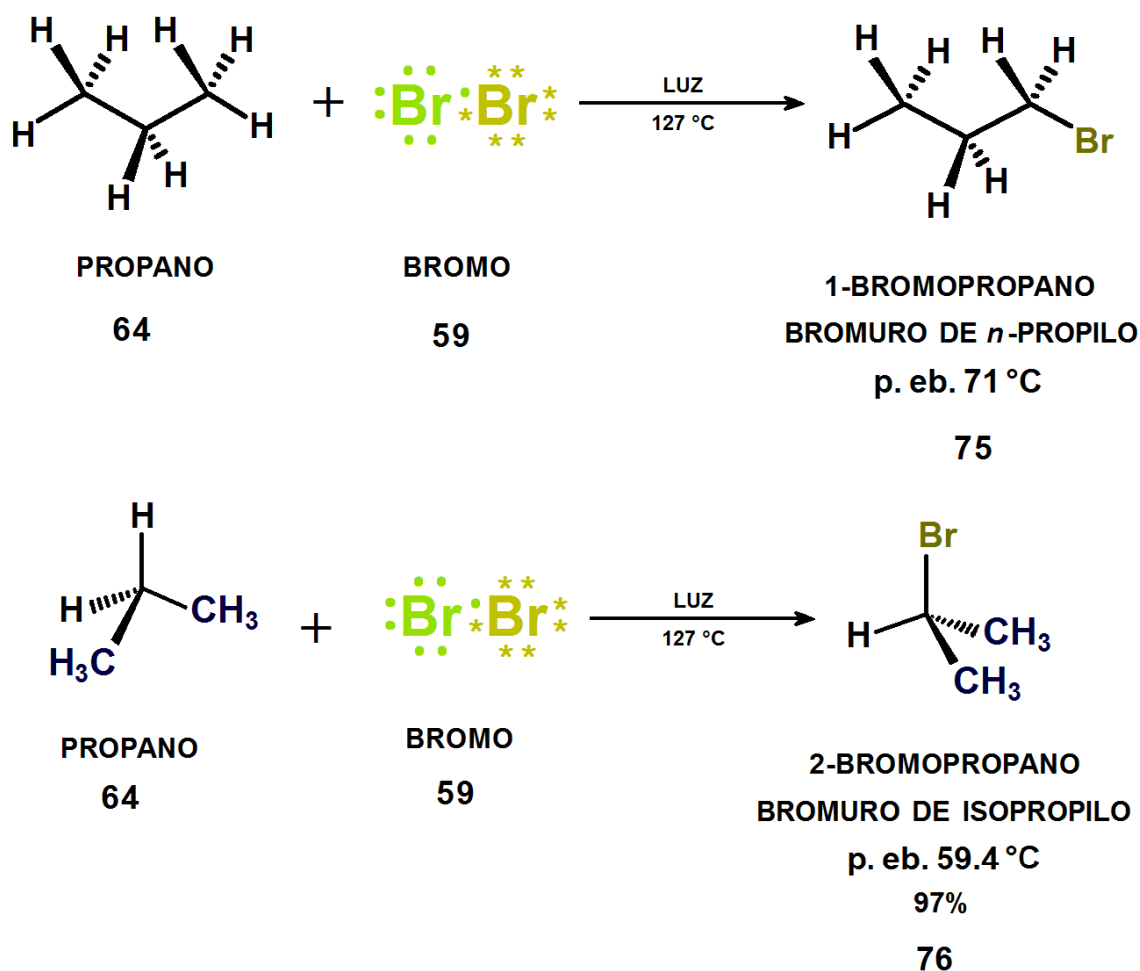
(2) CONTROLA LA VELOCIDAD DE LA REACCIÓN



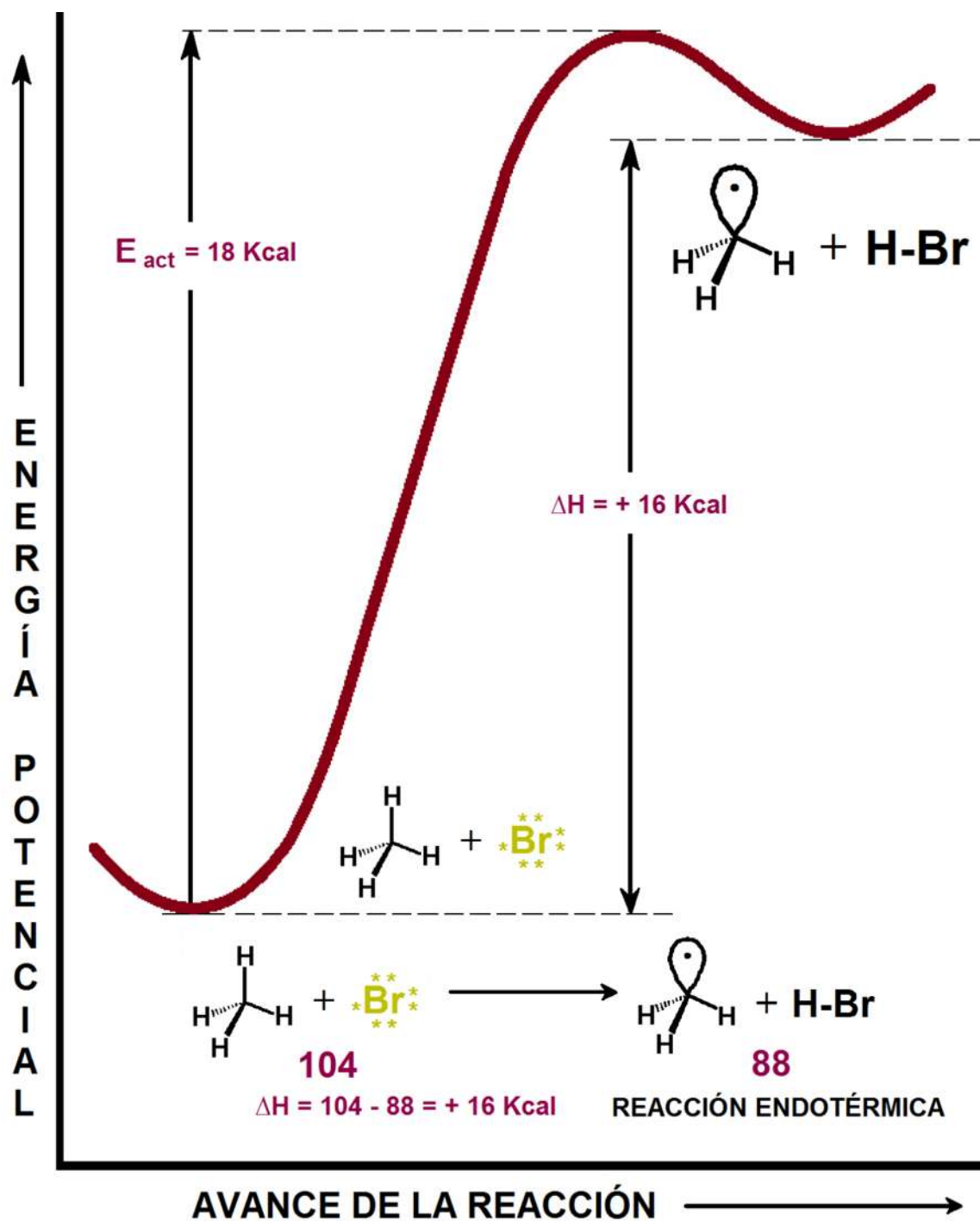
(2) Y (3) PASOS PROPAGADORES DE LA CADENA
SE REPITEN MUCHAS VECES

**ESQUEMA XI MECANISMO DE BROMACIÓN DEL METANO,
PROMOVIDA POR LUZ O CALOR.**

En el **Esquema XIII** es mostrado el perfil de energía del avance de la reacción de la bromación del metano. La energía de activación, comparada con la cloración, es muy diferente, ya que en la bromación se requiere 18 veces más energía para llegar a que el evento se vea energéticamente favorecido, convirtiendo a este proceso aproximadamente 18 veces más lento que una cloración. Además, en tanto que el proceso de cloración es un evento exotérmico, el de la bromación es endotérmico, por esto la reacción de cloración es más reactiva y la reacción de bromación más selectiva. En el **Esquema XII** se muestra esta evidencia, ya que la bromación requiere mayor temperatura.

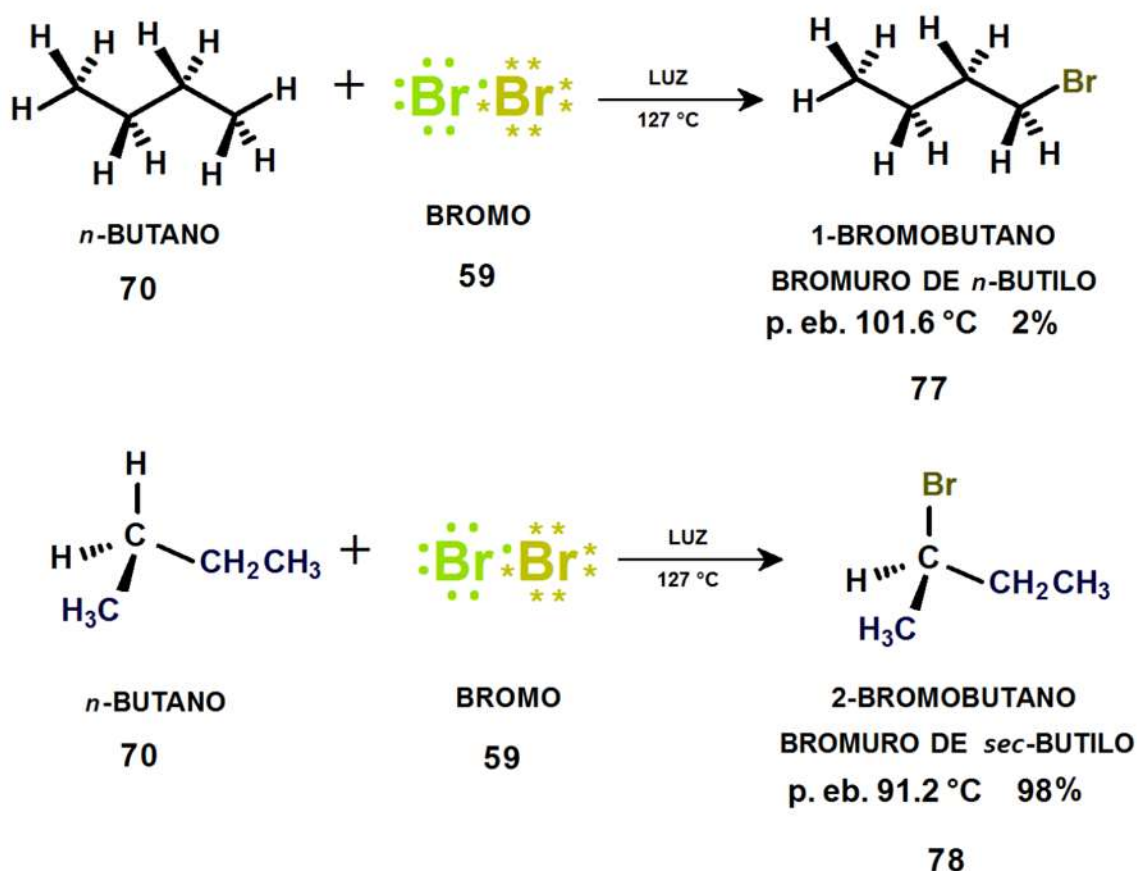


ESQUEMA XII BROMACIÓN DEL PROPANO, PROMOVIDA POR LA ACCIÓN DE LA LUZ, A 127 °C.



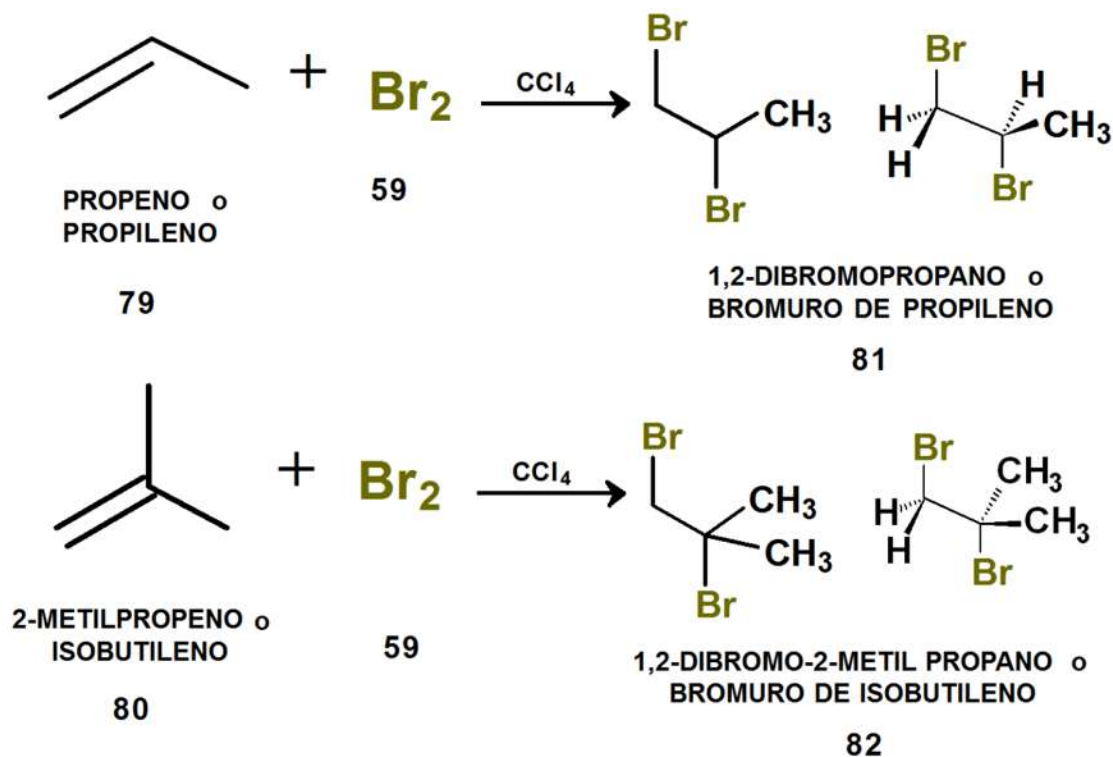
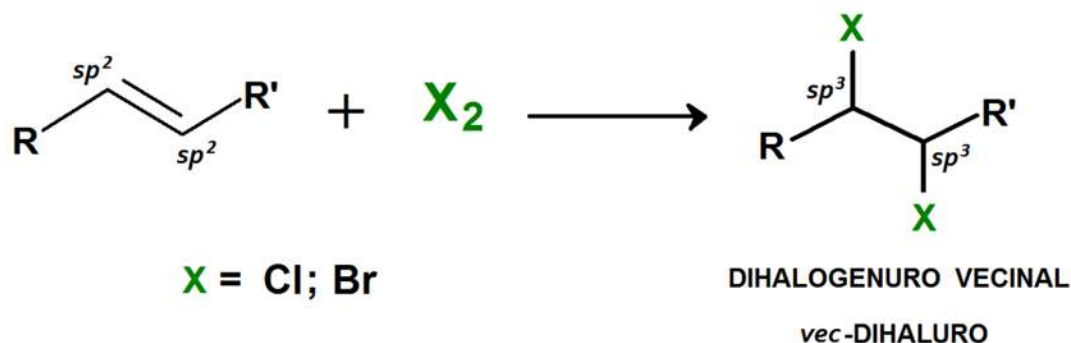
ESQUEMA XIII PERFIL DE ENERGÍA DEL MECANISMO DE BROMACIÓN DEL METANO, PROMOVIDA POR LUZ O CALOR.

El **Esquema XIV** muestra la reacción del *n*-butano (**70**) con bromo (**59**), y se resalta la proporción de los dos productos probables. El producto minoritario es el bromuro de *n*-butilo (**77**), obtenido en un 2% de rendimiento, mientras que el producto principal es el bromuro de *sec*-butilo (**78**) y se obtiene en un 98% de rendimiento. Estos rendimientos comparados con los de la cloración del *n*-butano, dieron 28% de rendimiento para el cloruro de *n*-butilo (**71**), mientras que el producto principal cloruro de *sec*-butilo (**72**), dio un 72%; estos resultados indicaron la mayor selectividad del producto mayoritario en la reacción de la bromación que en el de la reacción de la cloración, y de acuerdo a las condiciones para que las reacciones se lleven a cabo, la cloración ocurre a 25 °C en tanto que la bromación a 127 °C, con lo que se confirma que la reacción de la cloración es más reactiva que selectiva.



ESQUEMA XIV BROMACIÓN DEL *n*-BUTANO, PROMOVIDA POR LA ACCIÓN DE LA LUZ, A 127 °C.

Otras reacciones que incorporan los halógenos cloro o bromo (Cl_2 , Br_2) a las estructuras orgánicas, son las adiciones de éstos a una doble ligadura, como se muestran en el **Esquema XV**, en donde se resaltan los ejemplos de adición de la molécula bromo (**59**) en CCl_4 , al alqueno monosustituído propeno o propileno (**79**) y al alqueno *gem*-disustituído 2-metilpropeno o isobutileno (**80**) dando los respectivos productos de adición (**81** y **82**).



ESQUEMA XV ADICIÓN DE BROMO A UNA DOBLE LIGADURA.

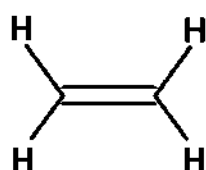
Las reacciones de adición, ya sea de halógenos (Cl_2 , Br_2) o de ácidos halogenados (HCl ; HBr ; HI) a las estructuras orgánicas, y la manera en la que se llevan a cabo, implica el análisis estructural de ambas especies en cuanto a su simetría; así, las moléculas diatómicas como H_2 ; Cl_2 o Br_2 son ejemplos de moléculas simétricas, en tanto que los ácidos halogenados H-Cl (**57**), H-Br (**73**) y H-I (**83**) son ejemplos de estructuras no simétricas. Estas estructuras son mostradas en el **Esquema XVI**.

MOLECULAS SIMÉTRICAS		MOLECULAS NO SIMÉTRICAS
Cl_2	$:\ddot{\text{Cl}}-\ddot{\text{Cl}}:$	H-Cl
CLORO		57
2	$:\ddot{\text{Br}}-\ddot{\text{Br}}:$	H-Br
BROMO		73
H_2	H-H	H-I
HIDRÓGENO		83

ESQUEMA XVI EJEMPLOS DE MOLECULAS SIMÉTRICAS Y MOLECULAS NO SIMÉTRICAS.

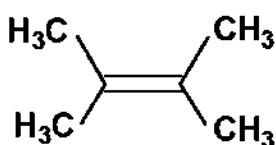
Por lo que respecta al análisis estructural de las olefinas en cuanto a su simetría, los ejemplos de alquenos simétricos son: el etileno (**84**), 2,3-dimetil-2-buteno (**85**) y 2,3-dimetilciclopenteno (**86**), representados en el **Esquema XVII**; y los alquenos, como ejemplos de moléculas no simétricas son: el propeno (**79**) y el isobutileno (**80**). Entre los alquenos clasificados por su grado de sustitución, referidos a la estructura del etileno (**84**), se tienen los alquenos monosustituídos (**87**),⁸⁸⁻⁹¹ los alquenos *gem*-disustituídos (**88**), los alquenos *vec*-disustituídos (**89**), los alquenos trisustituídos (**90**) y los alquenos tetrasustituídos (**91**); todos estos ejemplos se encuentran mostrados en el **Esquema XVII**.

ESTRUCTURAS DE ALQUENOS SIMÉTRICOS Y NO SIMÉTRICOS



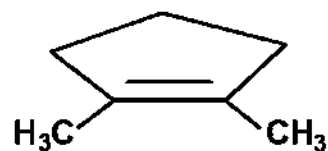
ETILENO

84



2,3-DIMETIL-2-BUTENO

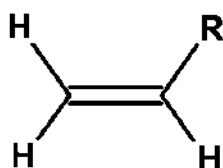
85



2,3-DIMETILCICLOPENTENO

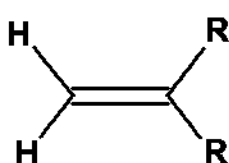
86

GRADO DE SUSTITUCIÓN DE LOS ALQUENOS



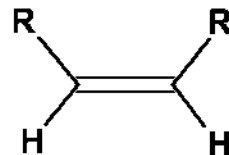
ALQUENOS
MONOSUSTITUIDOS

87



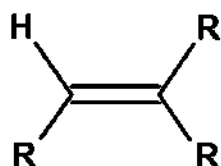
ALQUENOS
gem-DISUSTITUIDOS

88



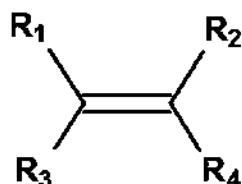
ALQUENOS
vec-DISUSTITUIDOS

89



ALQUENOS
TRISUSTITUIDOS

90



ALQUENOS
TETRASUSTITUIDOS

91

ESQUEMA XVII ESTRUCTURAS DE ALQUENOS SUSTITUIDOS.

En cuanto al análisis estructural de las reacciones de adición de ácidos halogenados frente a olefinas simétricas (**84** y **85**), cuyos ejemplos vienen dados precisamente por las estructuras correspondientes a los números anteriores, las orientaciones que pueden tener las olefinas simétricas durante una reacción de adición en la que va adicionarse un ácido halogenado, molécula no simétrica, utilizando en el caso particular HCl, como gas seco (**57**) orientado frente al etileno (**84**) y al 2,3-dimetil-2-buteno (**85**), como es mostrado en el **Esquema XVIII**, puede apreciarse que, debido a la simetría del alqueno en cualquiera de los dos ejemplos, de las dos posibles orientaciones que puede tener el ácido clorhídrico frente al alqueno simétrico, ambas son equivalentes, dando como resultado un solo producto de adición, correspondiente al 1-cloroetano o cloruro de etilo (**63**), el cual es un líquido de bajo punto de ebullición (12.3 °C), altamente inflamable y 2.2 veces más denso que el aire, muy utilizado como disolvente de aceites, grasas, ceras y resinas, se usa como materia prima para la fabricación de tintes, medicamentos y perfumes. En tanto que el 2-cloro-2,3-dimetilbutano (**92**), es el único producto obtenido correspondiente a la adición del ácido clorhídrico al 2,3-dimetil-2-buteno (**85**). En ambos ejemplos de las reacciones de adición, se representan las estructuras de los productos correspondientes en proyecciones de Cram y Newman.

Respecto al análisis estructural de las reacciones de adición de ácidos halogenados frente a olefinas no simétricas (**97**), en el **Esquema XIX** puede apreciarse que, cuando se presenta un alqueno no simétrico con un reactivo no simétrico, surge la competencia entre las dos probables orientaciones del reactivo no simétrico frente a la olefina no simétrica, lo que origina dos productos diferentes, debido a la no simetría de ambos: el alqueno y el reactivo.⁸⁸⁻⁹¹

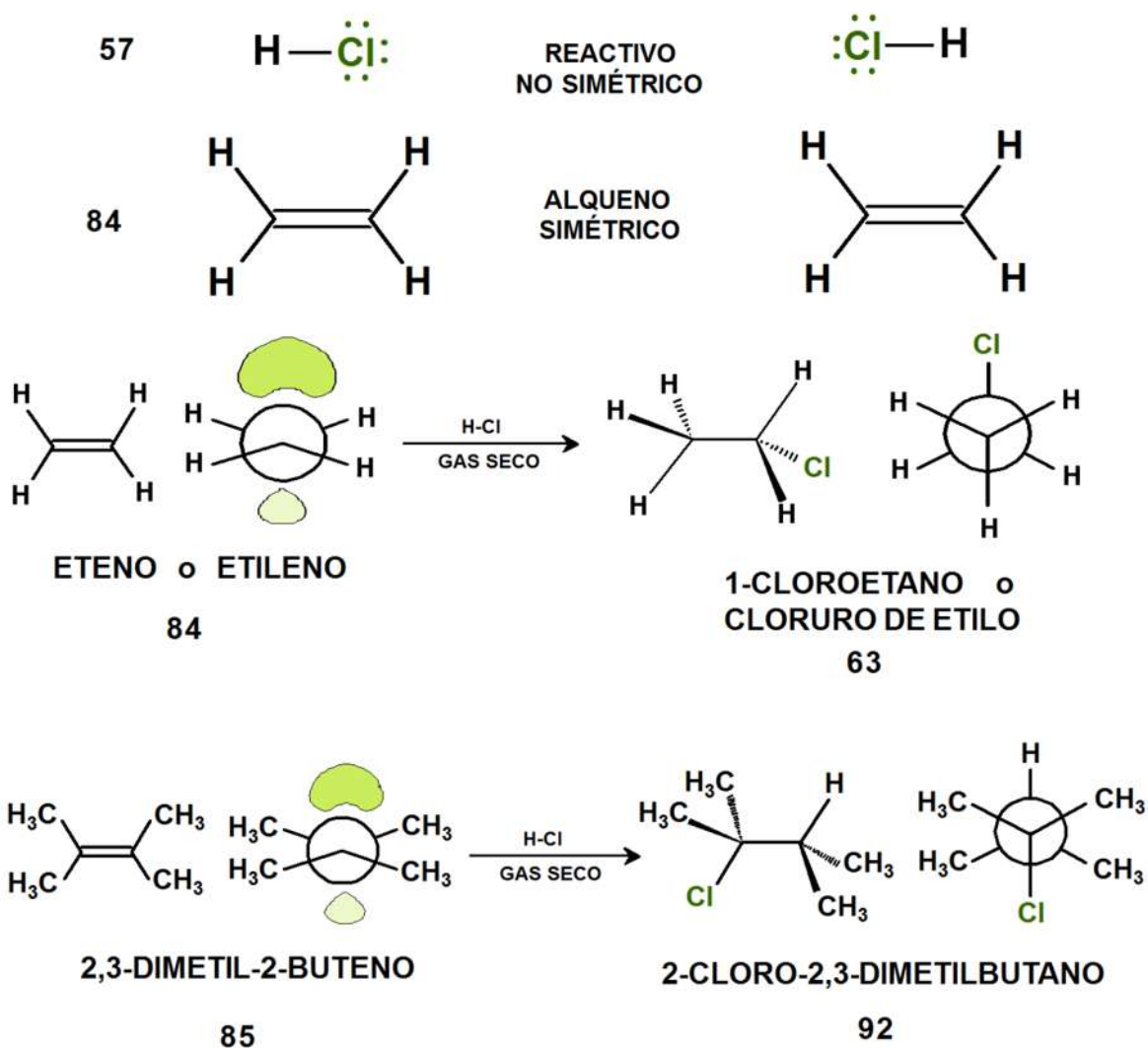
De las dos posibles orientaciones no equivalentes que tienen puede tomarse como un alqueno en general (**97**) frente al ácido clorhídrico (**57**), o el alqueno específico propeno (**79**), al cual se le somete con el ácido yodhídrico (**83**), dando como resultado los dos productos de adición probables correspondientes al 1-yodopropano o yoduro de *n*-propilo (**96**) y el 2-yodopropano o yoduro de isopropilo (**94**), de los cuales el producto favorecido es éste último; en la descripción del mecanismo por el cual se lleva a cabo la reacción, por un lado se obtiene la formación de un ión carbonio primario (**95**), ya que el hidrógeno del ácido yodhídrico (**83**) se añadió al átomo de carbono con menos hidrógenos del propeno (**79**), que es el carbono metínico sp^2 ; en tanto que la otra posibilidad de reaccionar es que el hidrógeno del ácido yodhídrico (**83**) se añada al átomo de carbono con más hidrógenos del propeno (**79**), dando el ión carbonio secundario (**93**), que es más estable y que requiere menos energía para formarse que el de la otra posibilidad. Esto viene respaldado por la Regla de Markownikoff, y por lo tanto el 2-yodopropano o yoduro de isopropilo (**94**) es el producto principal.

ADICIÓN DE ÁCIDOS HALOGENADOS

ALQUENOS SIMÉTRICOS

UN SOLO PRODUCTO

ORIENTACIÓN DE LOS REACTIVOS



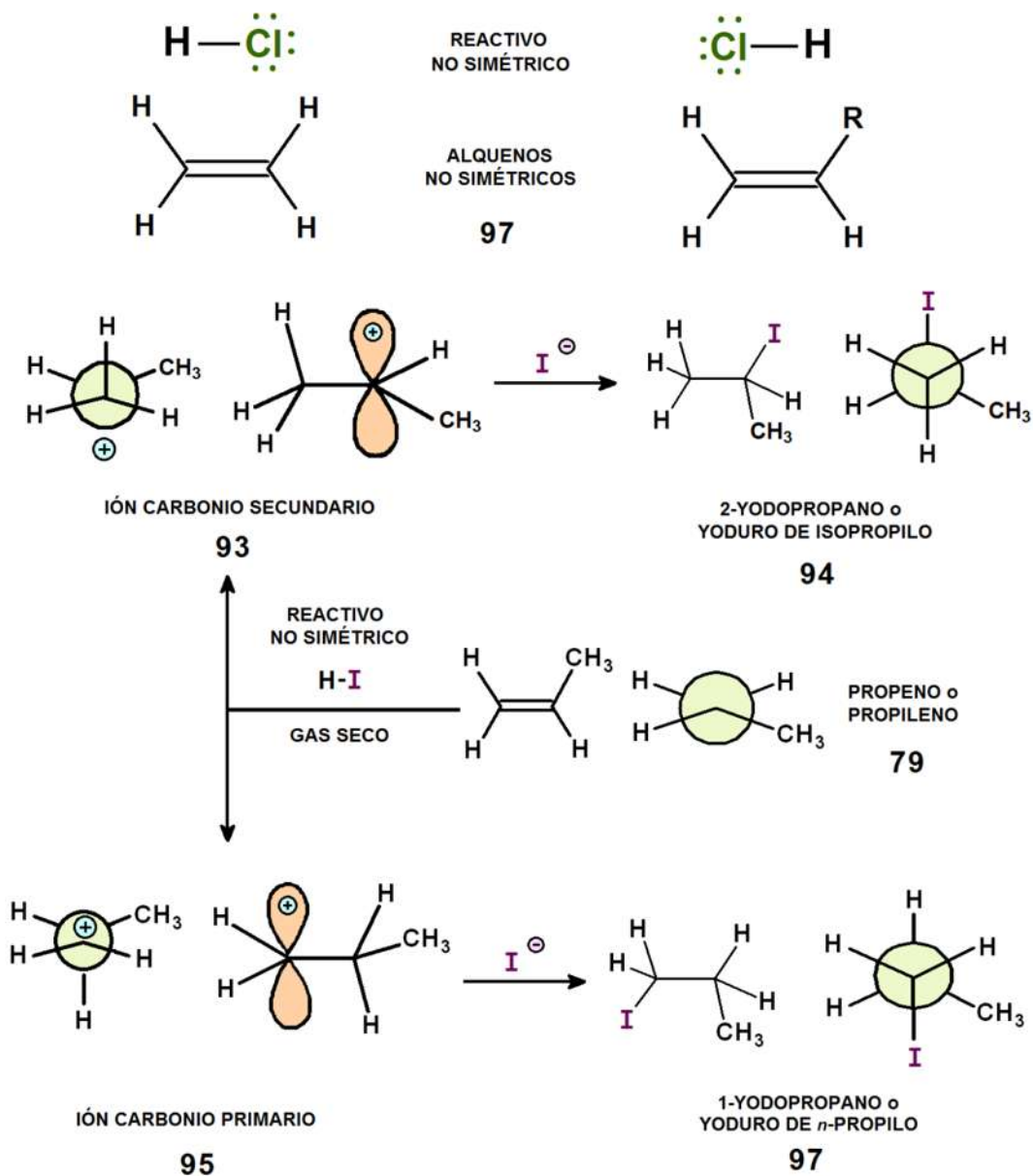
ESQUEMA XVIII ORIENTACIÓN DE ÁCIDOS HALOGENADOS EN LA ADICIÓN DE ALQUENOS SIMÉTRICOS.



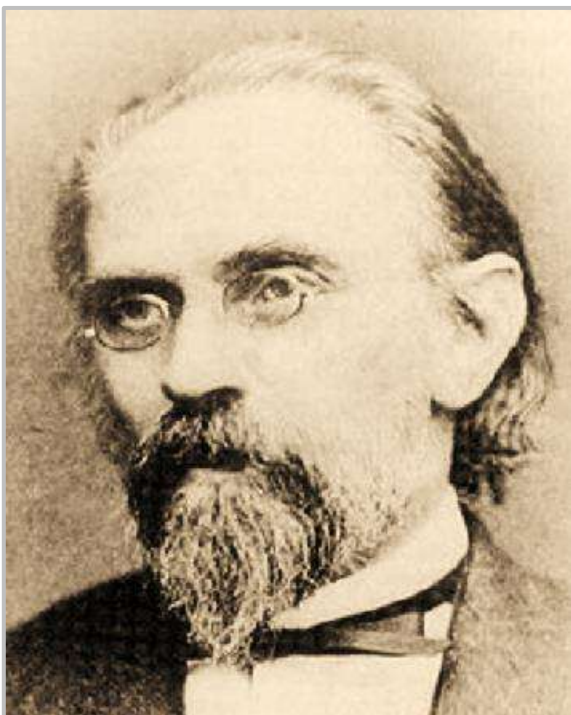
Vladimir Vasilievich Markovnikov, nació en San Petersburgo el 22 de diciembre de 1838 y murió el 11 de febrero de 1904. Fue un químico ruso que se destacó por su contribución a la química orgánica y fue conocido especialmente por enunciar la regla que lleva su nombre: la regla de Markovnikov.^{92,93}

Markovnikov estudió economía, convirtiéndose después de su graduación en asistente de Aleksandr Butlerov. En 1860 viajó a Alemania y ahí radicó dos años, donde estudió bajo la tutela de Richard August Carl Emil Erlenmeyer (1825-1909) y Hermann Kolbe (1818-1884).⁹⁴⁻⁹⁶

ORIENTACIÓN DE LOS REACTIVOS



ESQUEMA XIX ORIENTACIÓN DE ÁCIDOS HALOGENADOS EN LA ADICIÓN A ALQUENOS NO SIMÉTRICOS.



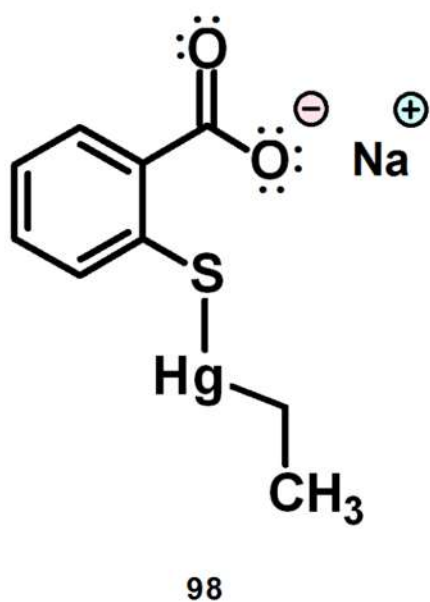
Tras regresar a Rusia, obtuvo el doctorado en 1869 y consiguió una plaza de profesor en la Universidad de Kazan. Fue nombrado profesor en 1871 y dos años más tarde, en 1873, se instaló en la Universidad de Moscú donde permanecería el resto de su carrera.

El **Esquema XX** muestra la orientación en la adición de un alqueno no simétrico con un reactivo no simétrico donde se logra invertir esta orientación mediante la adición de peróxidos, ocasionando que ya no opere la Regla de Markownikoff.

Estos estudios fueron llevados a cabo por Morris Selig Kharasch, que fue un químico orgánico que nació el 24 de agosto de 1895 y falleció el 9 de octubre de 1957.

Fue un pionero, conocido por su trabajo con adiciones de radicales libres y estudios de su aplicación en las polimerizaciones; definió además el efecto peróxido, que explica cómo una orientación anti-Markovnikov se podría lograr mediante la adición de radicales libres.

Morris S. Kharasch^{97,98} nació en el Imperio ruso en 1895 y emigró a los Estados Unidos a la edad de 13 años, en 1919; terminó su doctorado en química en la Universidad de Chicago y pasó la mayor parte de su carrera profesional allí.



Gran parte de su investigación la llevó a cabo en la década de 1920, período durante el cual se centró en estudios de organometálicos, en particular los organomercuriales y derivados.

Sintetizó un compuesto de mercurio y azufre, llamado timerosal (**98**),⁹⁹ de fórmula molecular ($C_9H_9HgNaO_2S$), el cual ha adoptado diversos nombres comerciales: thiomersal, metorgán, mertorgán, mertiolato; es un compuesto organomercúrico (aproximadamente 49% de mercurio en peso).

Los nombres más usados derivan de su denominación química original, como mercuriothiosalicilato sódico. Es utilizado en medicina como antiséptico y agente antifúngico y es conocido comercialmente como Merthiolate. Fue patentado en 1928 y asignado a la compañía farmacéutica Eli Lilly; no hay que confundirlo con el mercurocromo o merbromina. El Merthiolate fue introducido como un conservador de vacunas en 1931, y por la década de 1980 el timerosal fue utilizado en todas las vacunas de células enteras DPT.



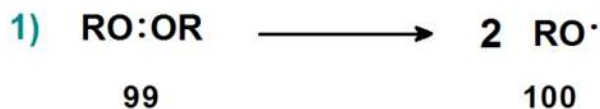
Se usó como conservador en vacunas para evitar el sobrecrecimiento bacteriano, especialmente en frascos multidosis. Desde fines de la década de 1990 su uso ha sido cuestionado en

Estados Unidos y Europa por el riesgo teórico de exposición en niños pequeños, con sus potenciales efectos en el desarrollo neurológico; este cuestionamiento motivó a que en las organizaciones internacionales, gubernamentales y no gubernamentales, entre ellas, grupos de asesores de la OMS, a que desde el año 2001 se revisara toda la información disponible hasta la fecha; estos grupos de expertos concluyeron que actualmente no existe evidencia del daño por exposición al mercurio en niños y adultos que reciben vacunas con timerosal y, en consecuencia, no existe razón para cambiar las actuales prácticas de inmunización con vacunas que contienen timerosal.

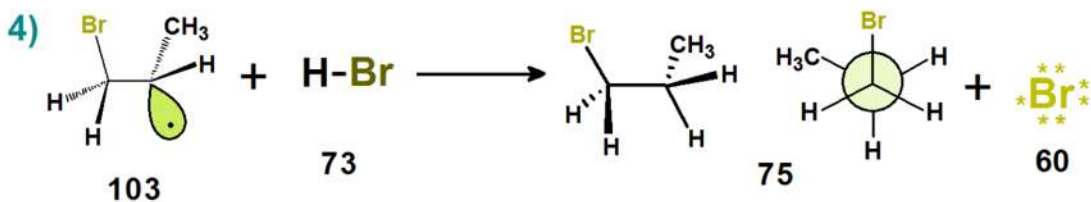
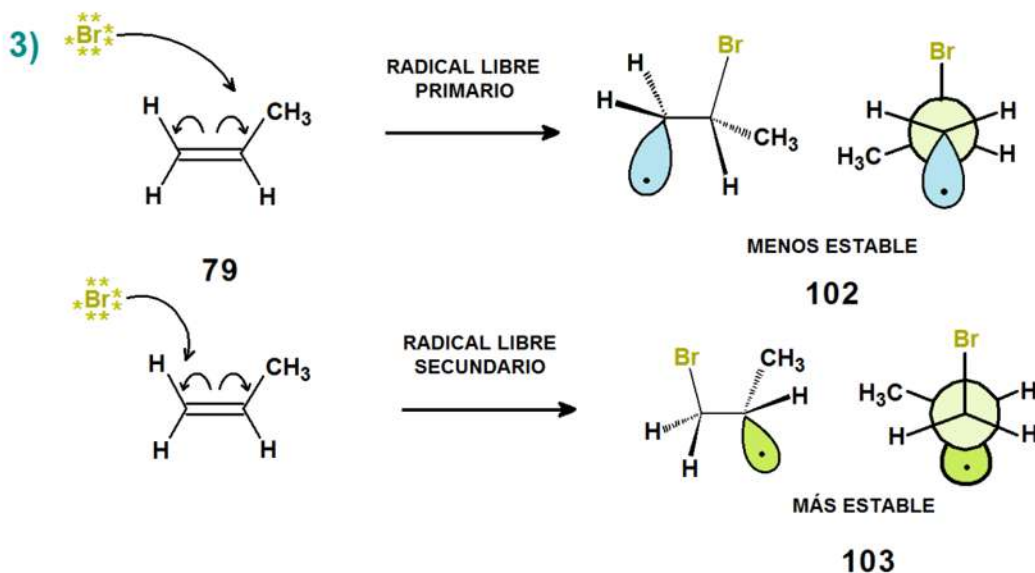
MECANISMO DE REACCIÓN : (1933) KHARASCH Y MAYO.

EFFECTO PERÓXIDO: INVERSIÓN EN LA ORIENTACIÓN CAUSADA POR PERÓXIDOS.

PASOS INICIADORES



PASOS PROPAGADORES

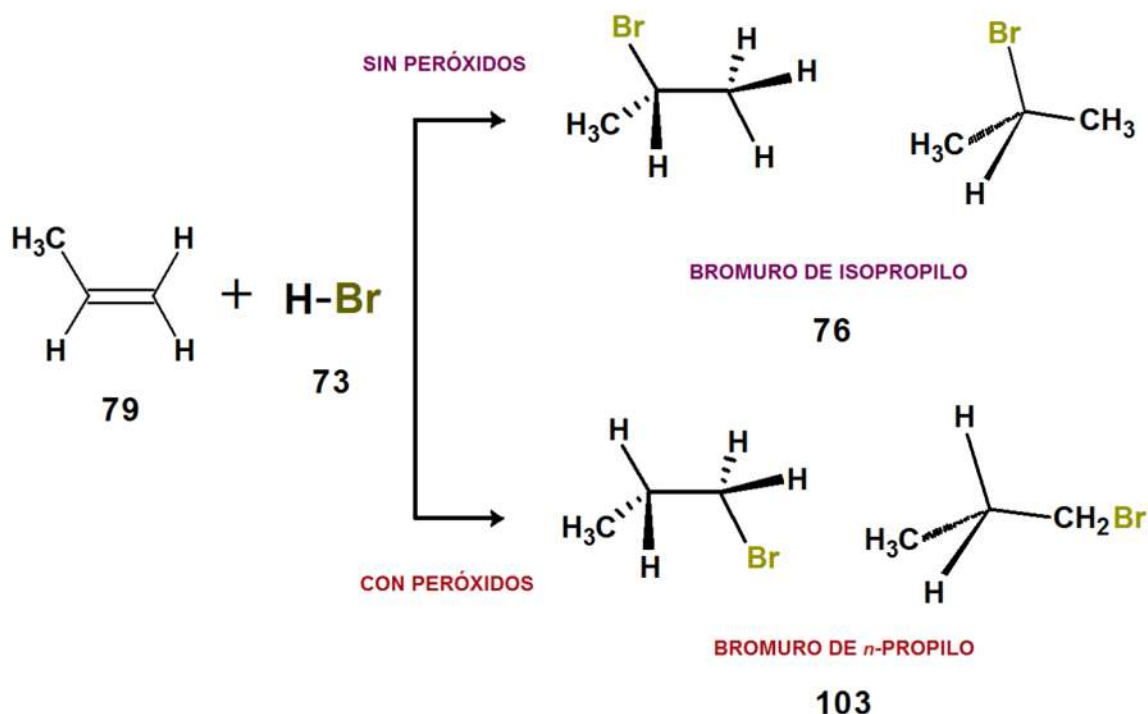


ESQUEMA XX ADICIÓN DE ÁCIDOS HALOGENADOS A LOS ALQUENOS NO SIMÉTRICOS EN PRESENCIA DE PERÓXIDOS.

El premio Nobel Herbert C. Brown¹⁰⁰ fue uno de sus alumnos durante la década de 1930. A inicios de la Segunda Guerra Mundial, el gobierno de EE.UU. reconoció la necesidad de elaborar un caucho sintético y empleó a los mejores químicos de todo el país. En 1942 se unió a la American Kharasch, Programa de Investigación de la goma sintética y la aplicación del conocimiento de las reacciones de radicales para ayudar en la polimerización del estireno sintético. Sus últimos años, Kharasch dedicó su atención al estudio de las reacciones de Grignard.

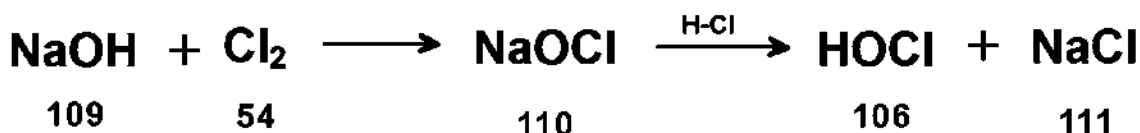
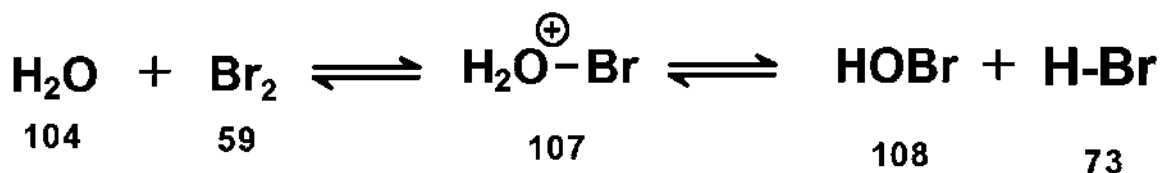
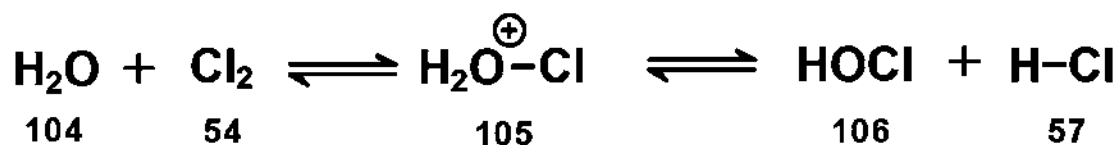
En el proceso descrito en el **Esquema XX**, se somete el ácido bromhídrico (**73**) y el propeno (**79**), agregando además el peróxido de dialquilo (**99**). El mecanismo de la reacción fue descrito mediante un proceso por etapas definidas, principalmente como pasos iniciadores, en los que primeramente se produce la ruptura homolítica del enlace peróxido del peróxido de dialquilo (**99**), para dar dos fragmentos neutros alquilo-oxígeno con un electrón desapareado que soporta el átomo de oxígeno (**100**), los cuales son la especie reactiva; uno de ellos, en una segunda etapa, propicia la ruptura homolítica del ácido bromhídrico (**73**), generando una molécula de alcohol (**101**) y el átomo de bromo (**60**), siendo éste último la especie reactiva, que es la que va a propiciar la ruptura homolítica del orbital molecular π del propileno (**79**), iniciando las etapas denominadas pasos propagadores, que son las que se van a repetir constantemente, pues su característica es que siempre van a originar las especies reactivas que dan la continuidad de la repetición de los pasos; así que en este tercer paso, el átomo de bromo se puede unir con el carbono que posee menos hidrógenos para dar el radical libre primario (**102**) menos estable y que requiere mayor energía para su formación, siendo éste la especie reactiva; la otra posibilidad es cuando el átomo de bromo (**60**) se une con el carbono que posee más hidrógenos, originando el radical libre secundario (**103**), más estable, que requiere menos energía para su formación y es la especie reactiva; en un cuarto evento, va a reaccionar con el ácido bromhídrico (**73**) y, mediante las rupturas homolíticas respectivas, da el bromuro de *n*-propilo (**103**) y el átomo de bromo (**60**), que es la especie reactiva que continuará repitiendo las etapas 3 y 4 hasta que se agoten las especies reactivas, mediante procedimientos de terminación.

El **Esquema XXI** muestra la comparación de las orientaciones en la adición de un alqueno no simétrico con un reactivo no simétrico: una, en donde se aplica la regla de Markovnikov y en la que el producto principal favorecido es el bromuro de isopropilo (**76**), obtenido preferentemente mediante el mecanismo que involucra rupturas heterolíticas, originando especies intermedias iónicas, de las cuales el ión carbonio más estable es el que da el producto mayoritario; la otra, en la que se logra invertir esta orientación adicionando peróxidos para dar el producto mayoritario, que en este caso es el bromuro de *n*-propilo (**103**) llamado generalmente producto Kharasch o anti-Markovnikov.



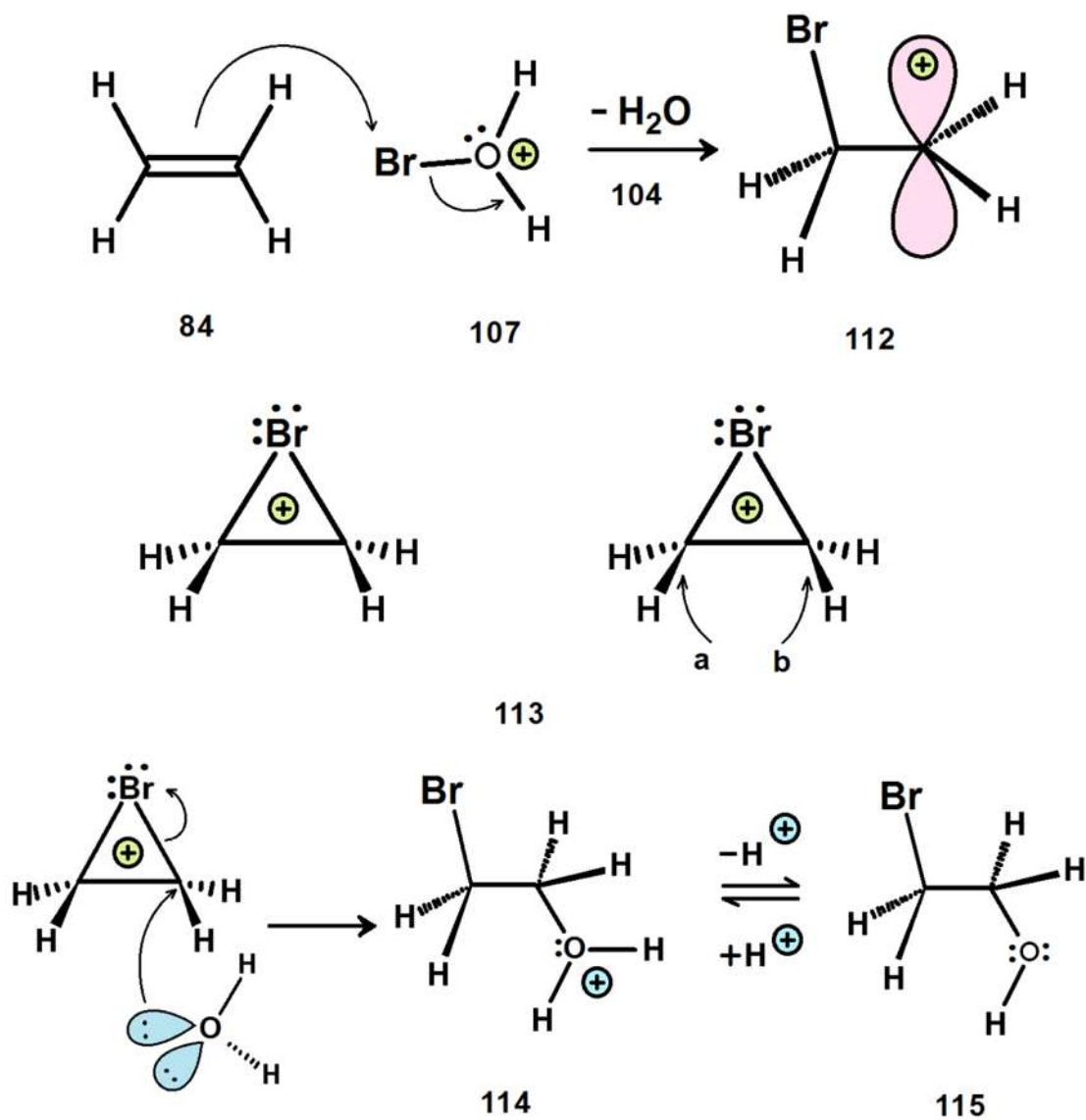
ESQUEMA XXI COMPARACIÓN DURANTE LA ADICIÓN DE ÁCIDOS HALOGENADOS SIN Y CON LA PRESENCIA DE PERÓXIDOS.

Otra metodología utilizada para incorporar cloro (55) o bromo (60) a una estructura es la que se muestra en el **ESQUEMA XXII** mediante la acción del Cl_2 (54) con agua (104) o con una solución básica y el bromo acuoso. Puede apreciarse en estos ejemplos que dos de ellos se llevan a cabo en procesos reversibles, en los que la acción del cloro con el agua forma el ácido hipocloroso protonado (105) que genera a su vez una mezcla en equilibrio del ácido hipocloroso (106) y el ácido clorhídrico (57). De igual manera en los que la acción del bromo (59) con el agua (104) forma el ácido hipobromoso protonado (107), y éste genera a su vez una mezcla en equilibrio del ácido hipobromoso (108) y el ácido bromhídrico (73). De estas dos reacciones en equilibrio, las especies reactivas son los ácidos hipocloroso protonado (105) y el ácido hipobromoso protonado (107), y si la reacción se lleva a cabo en medio básico, la reacción entre el hidróxido de sodio (109), mediante una reacción irreversible con el cloro (54), origina el hipoclorito de sodio (110) y éste, por la acción de un ácido, produce el ácido hipocloroso (106) y el cloruro de sodio (111).



ESQUEMA XXII REACCIONES DE LOS HALÓGENOS Cl_2 o Br_2 CON LA PRESENCIA DE H_2O , Y LA DEL Cl_2 EN SOLUCIÓN BÁSICA.

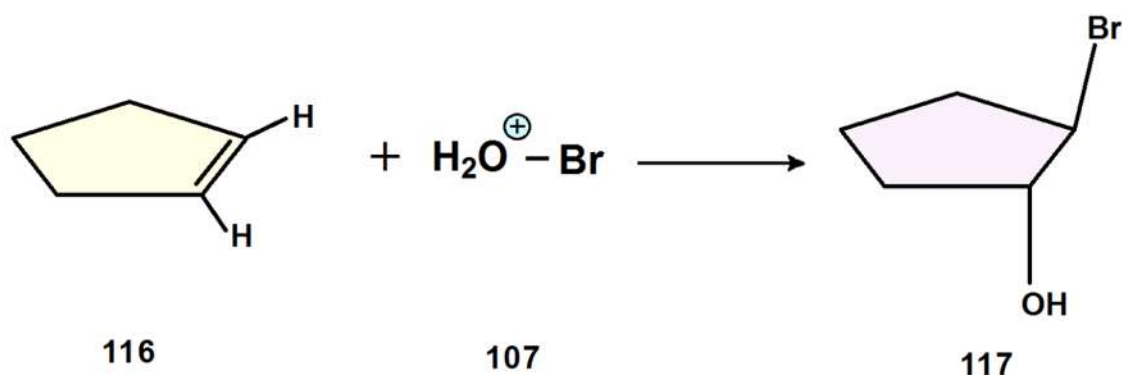
En el **ESQUEMA XXIII** se muestra parte del mecanismo de adición del ácido hipobromoso protonado (**107**) al doble enlace del etileno (**84**), en el que el ácido hipobromoso protonado (**107**) es el reactivo que le proporciona el bromo al alqueno, y al romperse heterolíticamente el enlace bromo-oxígeno, está éste último con deficiencia de carga, que es recuperada mediante esta ruptura, cediendo el oxígeno positivo al bromo como forma catiónica; el bromo, al integrarse al etileno (**84**) mediante la ruptura heterolítica del orbital molecular π , genera el ión carbonio primario (**112**), al que puede estabilizarlo el bromo que se encuentra en la posición vecina, mediante la formación del ión carbonio "no clásico" llamado ión bromonio (**113**); este ión se conoce generalmente como un intermediario cíclico de tres centros, que al ser atacado nucleofílicamente por el agua, tiene dos posibilidades de ataque (a y b), debido a las orientaciones en las que puede tener el ataque del agua (**104**) al ión bromonio, que es un intermediario simétrico. Ambas orientaciones de ataque son equivalentes, dando como resultado un solo producto de adición que, primeramente, da la bromhidrina protonada (**114**) de la cual, mediante un proceso en equilibrio por una transferencia de un protón, se obtiene el producto que es una sola bromhidrina, llamada bromhidrina etilénica o 2-bromoetanol (**115**).

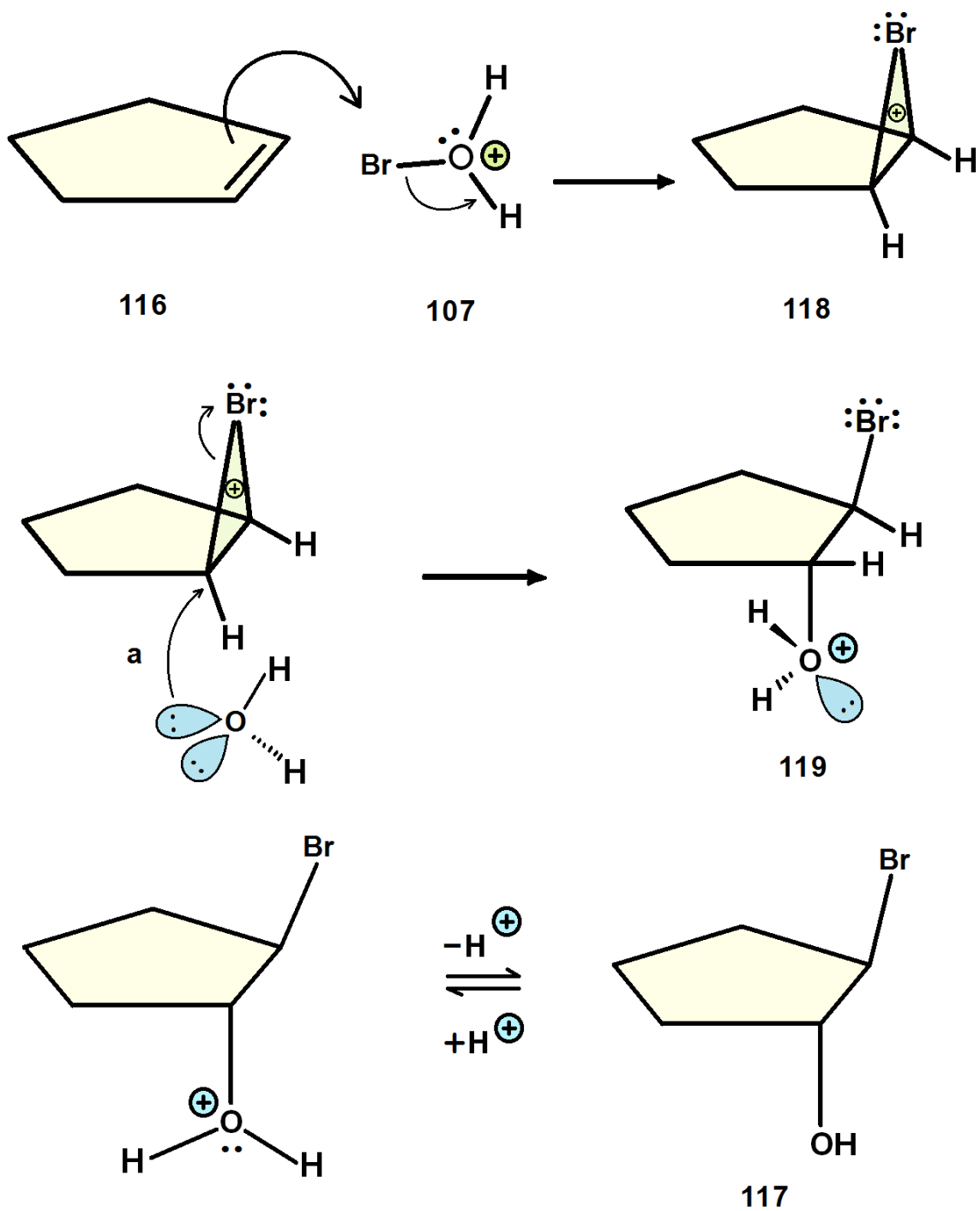


ESQUEMA XXIII ADICIÓN DEL ÁCIDO HIPOBROMOSO
PROTONADO AL DOBLE ENLACE
DEL ETILENO.

Hay un experimento que nos indica la estereoquímica en la que entraron tanto el bromo como el oxhidrilo y que demuestra la orientación de cómo entran. Para esto, la estructura del alqueno utilizada es un compuesto cíclico,⁸⁸⁻⁹¹ ya que el ciclo no permite la formación de rotámeros; así pues, la colocación en el espacio en el que quedan el bromo y el oxhidrilo en el producto de adición (**119**) es en la que se ubicaron durante el proceso mecanístico de la reacción, como se muestra en el **ESQUEMA XXIV**. En dicho esquema, el alqueno usado como materia prima es el ciclopenteno (**116**) y se muestra la parte del mecanismo de adición del ácido hipobromoso protonado (**107**) al doble enlace del ciclopenteno (**116**); aquí el ácido hipobromoso protonado (**107**) es el reactivo que le proporciona el bromo al alqueno, por lo que ahora es importante la colocación en el espacio de éste frente al orbital molecular π ; el bromo aquí se puede colocar de dos maneras: una en la que se acerque por la cara superior del ciclo, y la otra por la cara inferior del mismo.

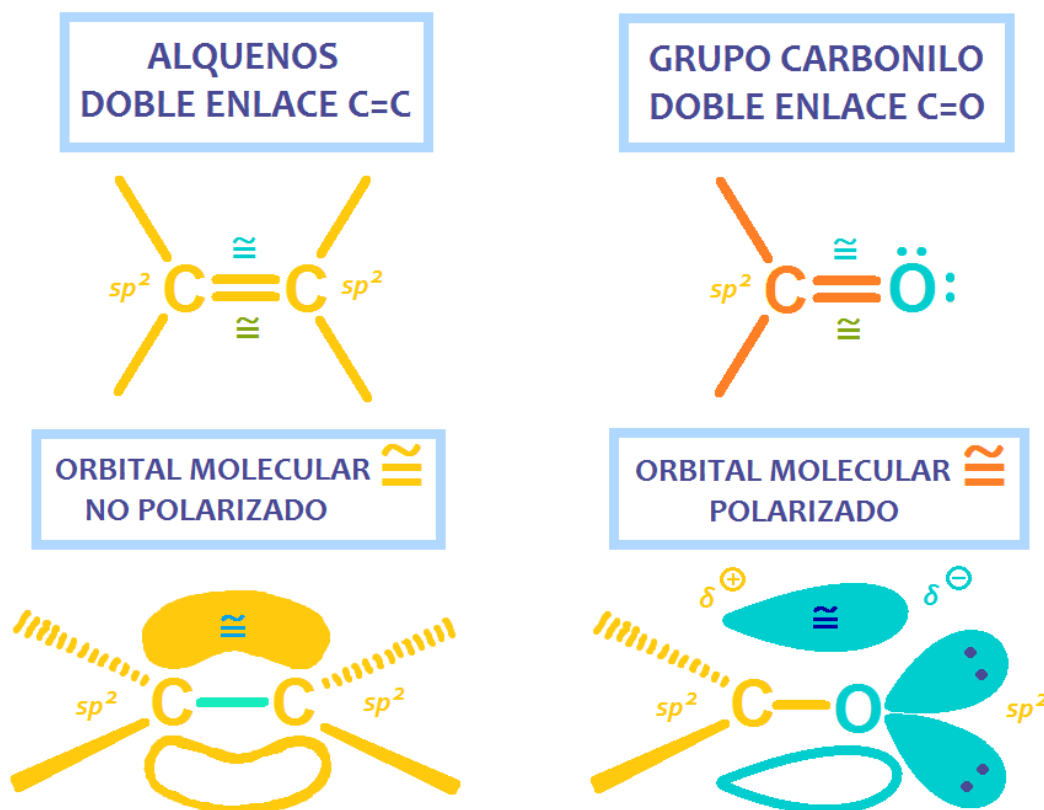
En el proceso mostrado en el esquema, éste se llevó a cabo con el acercamiento en la cara superior, y al romperse heterolíticamente el enlace bromo-oxígeno, genera el ión carbonio primario, que se estabiliza formando el ión carbonio "no clásico" o ión bromonio. El intermediario cíclico de tres centros es orientado en la cara superior del ahora derivado de un ciclopentano (**118**), y éste al ser atacado nucleofílicamente por el agua, de las dos posibilidades de ser atacado (a y b), únicamente lo puede hacer por la cara inferior del sistema cíclico, dando un solo intermediario de adición (**119**), que mediante la transferencia de un protón origina el producto con la estereoquímica *trans*, el cual es un derivado de un ciclopentanol, llamado la *trans*-bromhidrina derivada del ciclopenteno o el *trans*-2-bromociclopentanol (**117**).



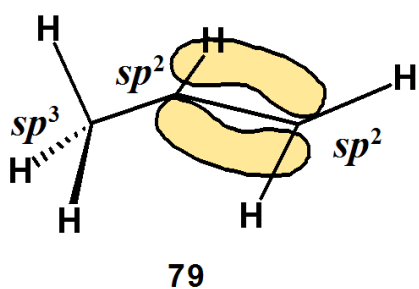


ESQUEMA XXIV ADICIÓN DEL ÁCIDO HIPOBROMOSO
PROTONADO AL DOBLE ENLACE DEL
CICLOPENTENO.

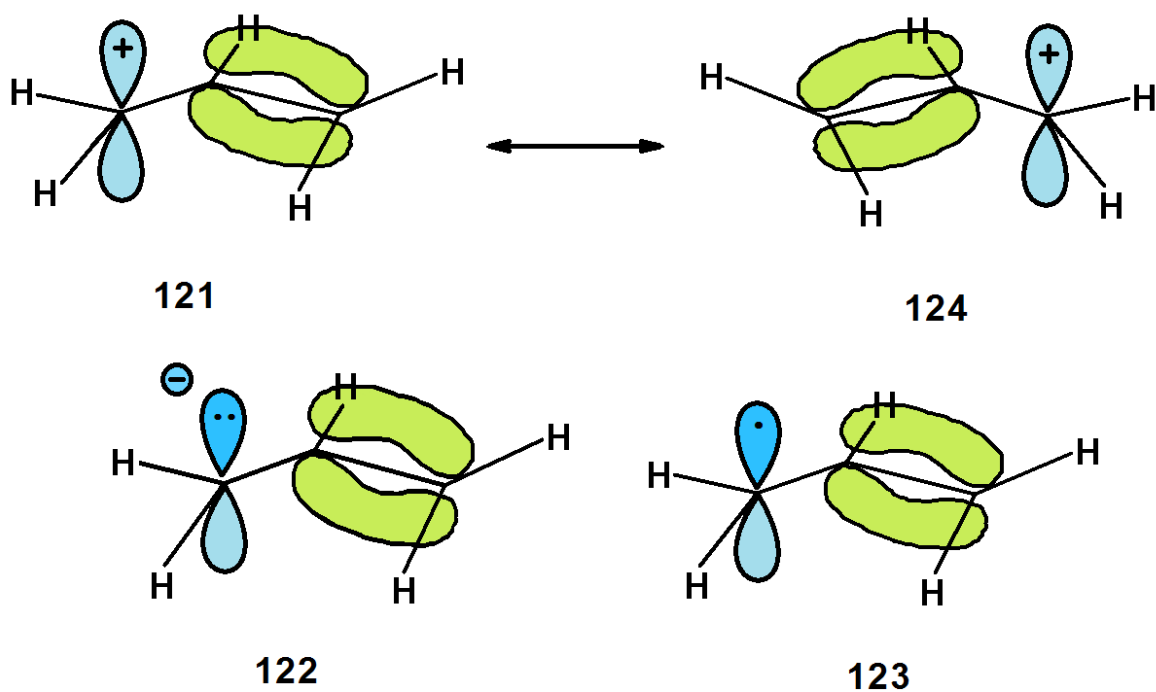
Las características de los dobles enlaces varían al considerar que un doble enlace, como el que presentan los alquenos $C=C$, no se encuentra polarizado, mientras que el doble enlace $C=O$ de las funciones aldehído o de cetona, se encuentra polarizado, como se muestra en la **Figura I**.



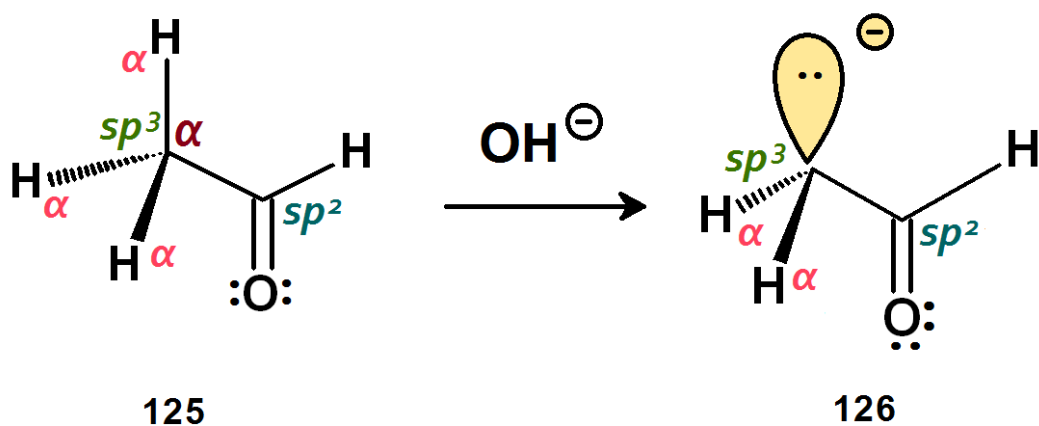
IGURA I ADICIÓN DEL ÁCIDO HIPOBROMOSO PROTONADO AL DOBLE ENLACE DEL CICLOPENTENO.

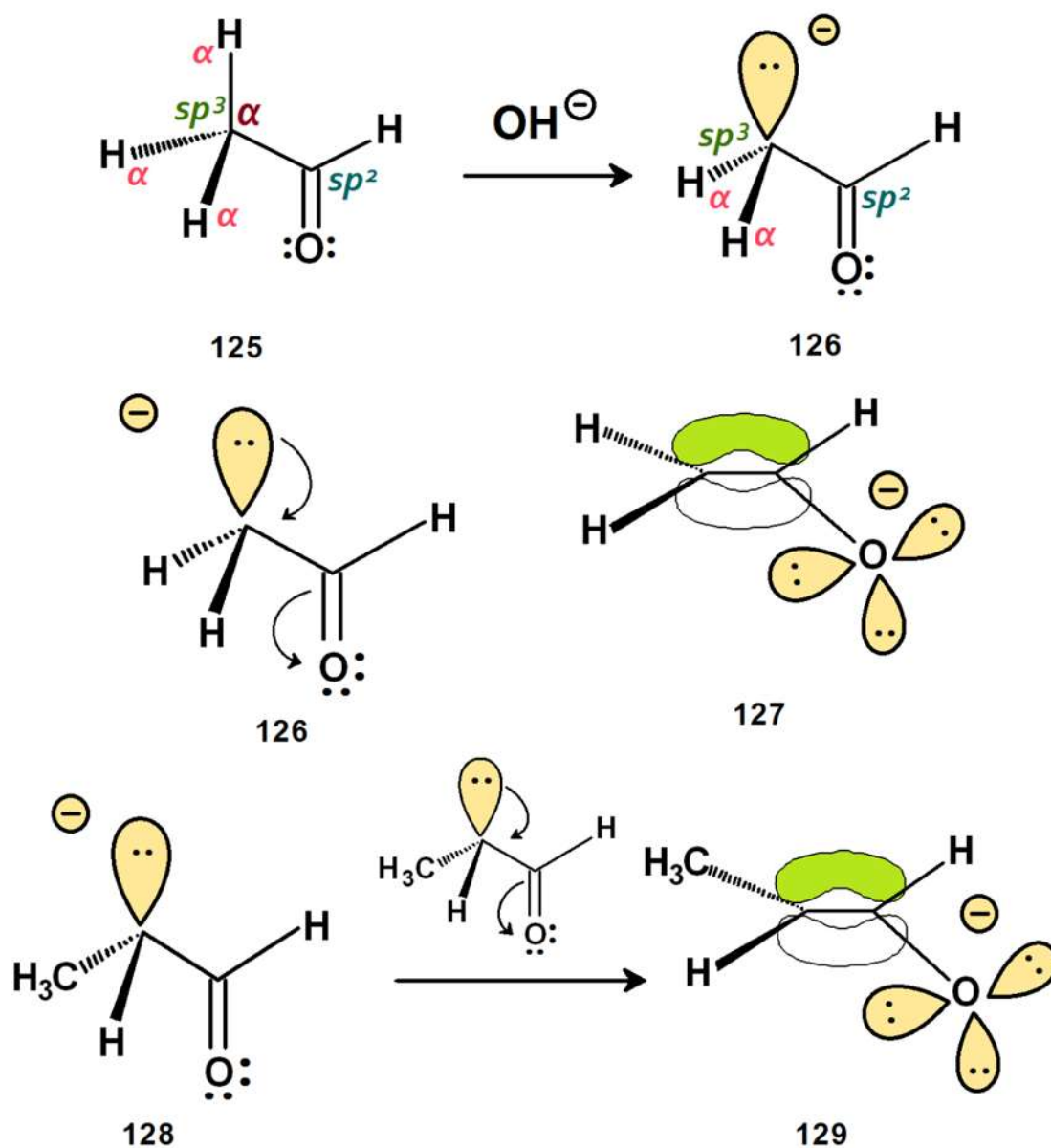


Al analizar las posiciones adyacentes a estos dobles enlaces, en el caso del alqueno, a la posición adyacente se le conoce como "alílica" y en la estructura del propeno se dice que hay un carbono alílico y tres hidrógenos alílicos.⁸⁸⁻⁹¹ Y así por ejemplo, si sacamos de la molécula cualquiera de los tres hidrógenos equivalentes que presenta el metilo en el propeno (**79**), dependiendo de cómo salgan éstos, se obtendrán los respectivos: ión carbonio alilo (**121**), carbanión alilo (**122**) y radical libre alilo (**123**), los cuales serán más estables que los respectivos terciarios.



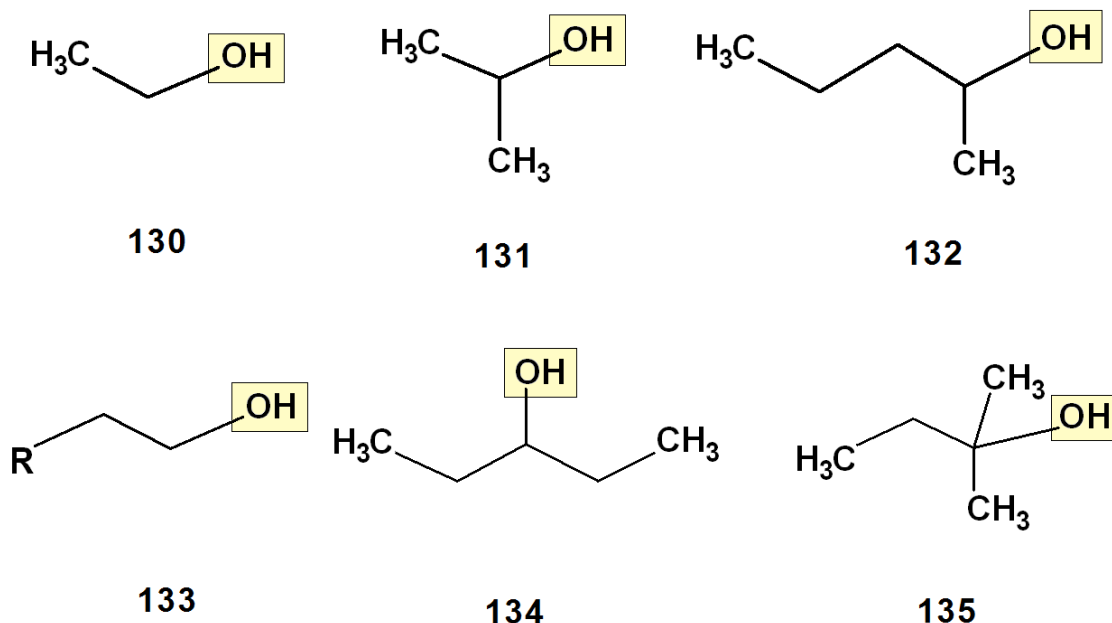
Así, tenemos que la estructura canónica de resonancia del ión carbonio alilo (**121**) es **124**, y lo mismo ocurre con los respectivos anión y radical libre. Si vemos a la posición adyacente a un doble enlace de un grupo carbonilo, al carbono se le llama carbono α al grupo carbonilo¹⁰¹ y a los hidrógenos que sostiene se les conoce como hidrógenos α al grupo carbonilo, como en el caso del acetaldehído (**125**); éste únicamente tiene un carbono α y tres hidrógenos α , los cuales tienen características ácidas, por lo que pueden reaccionar con medios básicos y así producir el anión respectivo (**126**); éste puede ser estabilizado por resonancia, ya que el exceso de carga negativa en el carbono se comparte ahora con el átomo de oxígeno del grupo carbonilo, como en la estructura canónica de resonancia **127**, que se puede apreciar en el **ESQUEMA XXV**.



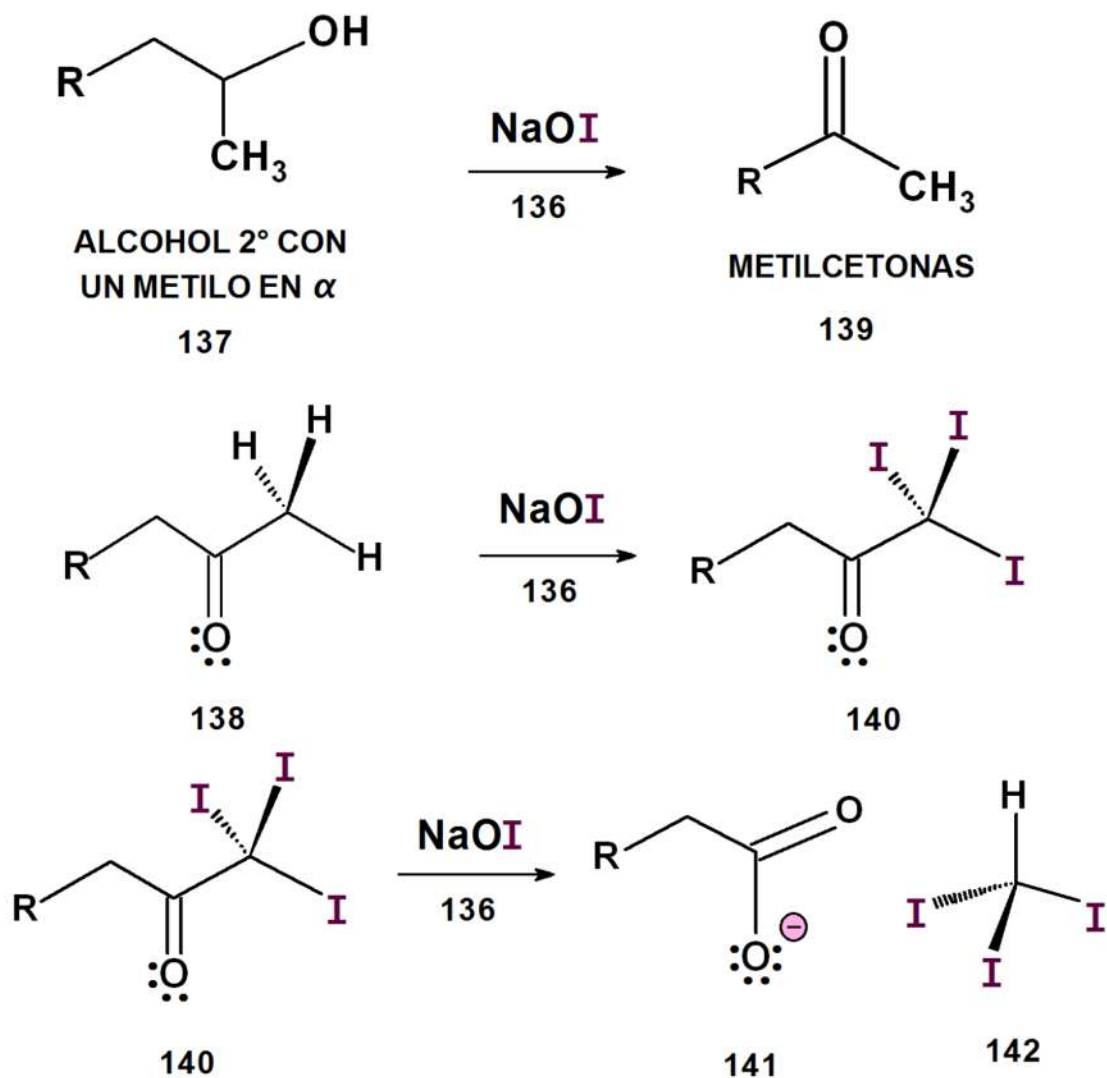


ESQUEMA XXV ANIONES DEL ACETALDEHÍDO Y DEL PROPIONALDEHÍDO Y SUS RESPECTIVAS ESTRUCTURAS CANÓNICAS DE RESONANCIA.

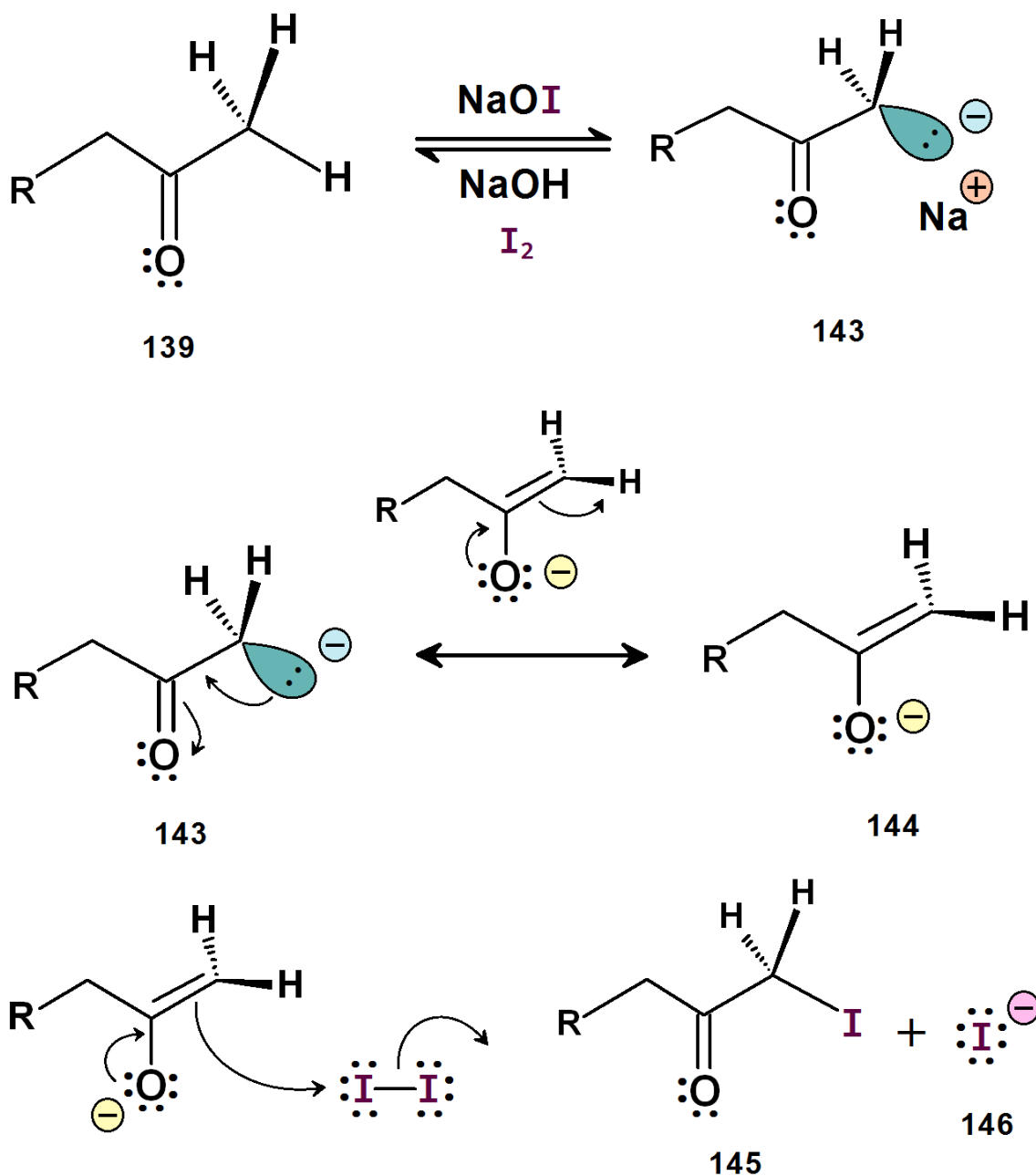
Además, se representa la estructura del anión del propionaldehído (**128**) con su respectiva estructura canónica de resonancia (**129**). La formación de los aniones respectivos, derivados de compuestos carbonílicos que contengan en sus posiciones adyacentes hidrógenos α , se corrobora en la prueba química para detectar metilcetonas, denominada prueba del haloformo. Cabe mencionar que también se utiliza esta prueba para el etanol (**130**) y los alcoholes secundarios con grupos metilo en la posición adyacente como en el isopropanol (**131**) y el 2-pentanol (**132**). Las estructuras que dan la prueba negativa son los alcoholes primarios (**133**), ya que no tienen ningún grupo metilo adyacente al carbono que sostiene la función, excepto el caso del etanol (**130**), los alcoholes secundarios que no tengan grupos metilo en la posición adyacente (**134**) y los alcoholes terciarios como en **135**.



La prueba del haloformo, mostrada en el **ESQUEMA XXVI**, es una reacción de oxidación en la que la materia prima a reaccionar es una metilcetona o, en su defecto, un alcohol secundario con un grupo metilo en la posición adyacente, y el producto final es un ácido carboxílico con un átomo de carbono menos; como subproducto se obtiene el haloformo. Cuando se usa I_2 y NaOH, se obtiene el NaOI (hipoyodito de sodio) (**136**), que es el que actúa como agente oxidante; cuando se parte del alcohol secundario con un grupo metilo en la posición adyacente (**137**); al reaccionar da la metilcetona respectiva (**138**), y al final la metilcetona (**139**), mediante etapas sucesivas de sustitución de hidrógenos por yodos,¹⁰¹ se transforma en la triyodimetilcetona

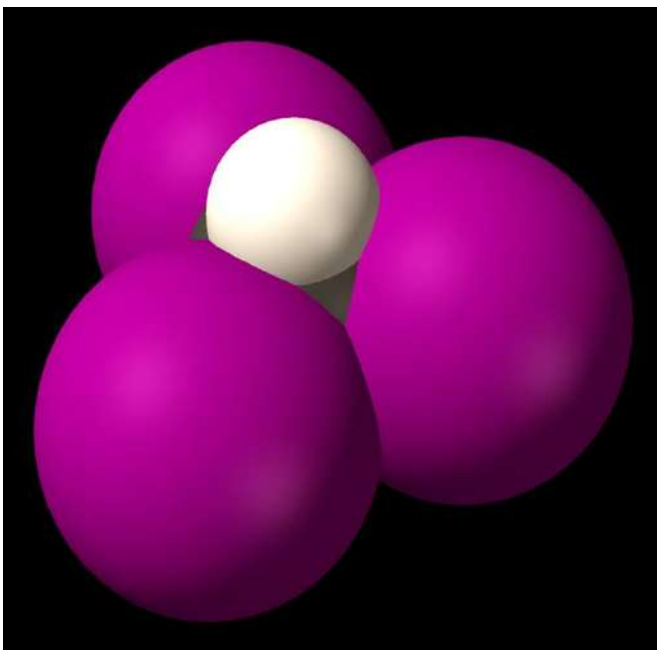


ESQUEMA. XXVI PRUEBA DEL HALOFORMO PARA METILCETONAS O ALCOHOLES SECUNDARIOS CON UN GRUPO METILO ADYACENTE, EN EL QUE SE UTILIZÓ EL YODO CON HIDRÓXIDO DE SODIO.



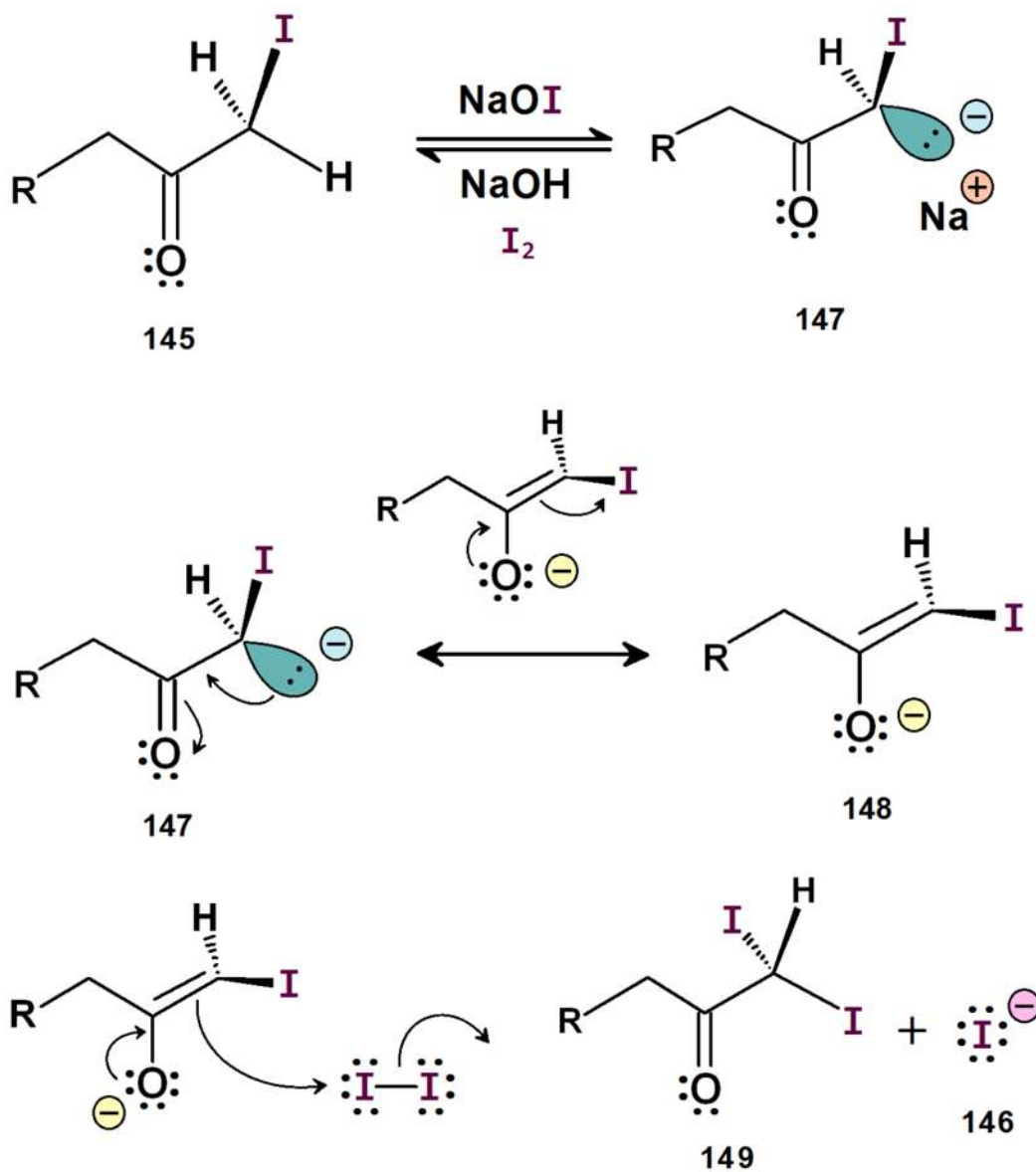
ESQUEMA XXVII MECANISMO DE REACCIÓN PARA LA OBTENCIÓN DE LA MONOYODOMETILCETONA EN LA PRUEBA DEL HALOFORMO.

(140), que produce el anión carboxilato (141) con un átomo de carbono menos con respecto a la metilcetona de la cual se partió, y el yodoformo (142), que es un sólido cristalino de color amarillo y de punto de fusión de 123 °C, es el que le da el color característico a la solución cuando la prueba es positiva.



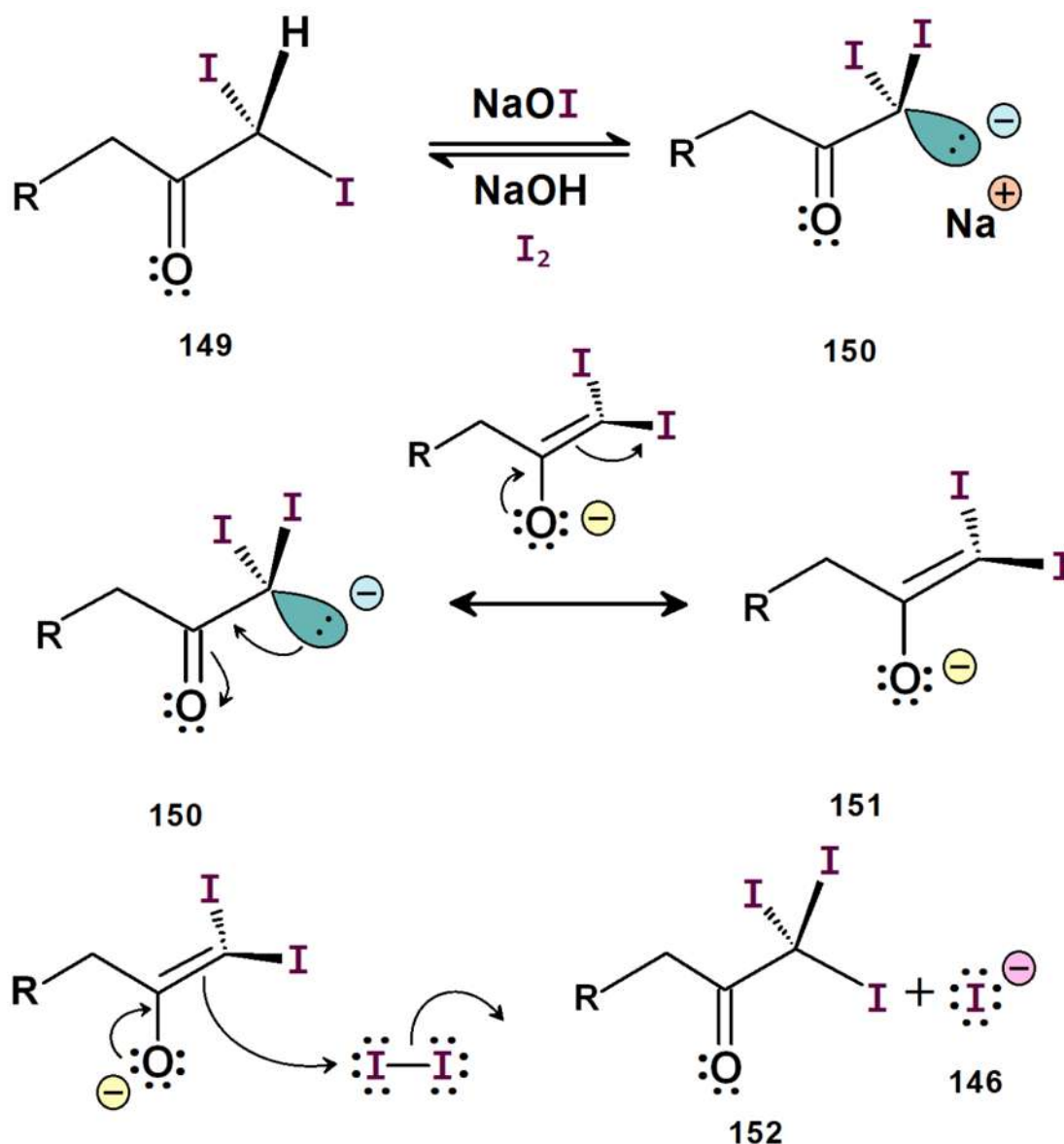
En el **ESQUEMA XXVII** se muestra la primera etapa del mecanismo de la reacción para obtener la monoyodometilcetona, en la que la metilcetona (**139**), en el medio básico en que se encuentra, da su respectivo anión de la metilcetona (**143**), estabilizado por el carbonilo vecino, dando la estructura canónica de resonancia (**144**); una de ellas, mediante una reacción de desplazamiento frente al yodo, incorpora el yodo a la estructura para dar la monoyodometilcetona respectiva (**145**) y el anión yoduro (**146**).

En una siguiente etapa secuenciada, ahora la monoyodometilcetona (**145**), en el mismo medio básico, da su respectivo anión (**147**), que también se encuentra estabilizado por resonancia con la ayuda del grupo carbonilo vecino y, además, por el efecto inductivo del yodo, por lo que este anión es más estable que el que se formó primero, procedente de la formación de la metilcetona en medio básico; esta segunda etapa se muestra en el **ESQUEMA XXVIII**.



ESQUEMA XXVIII MECANISMO DE REACCIÓN DE LA OBTENCIÓN DE LA DIYODOMETILCETONA EN LA PRUEBA DEL HALOFORMO.

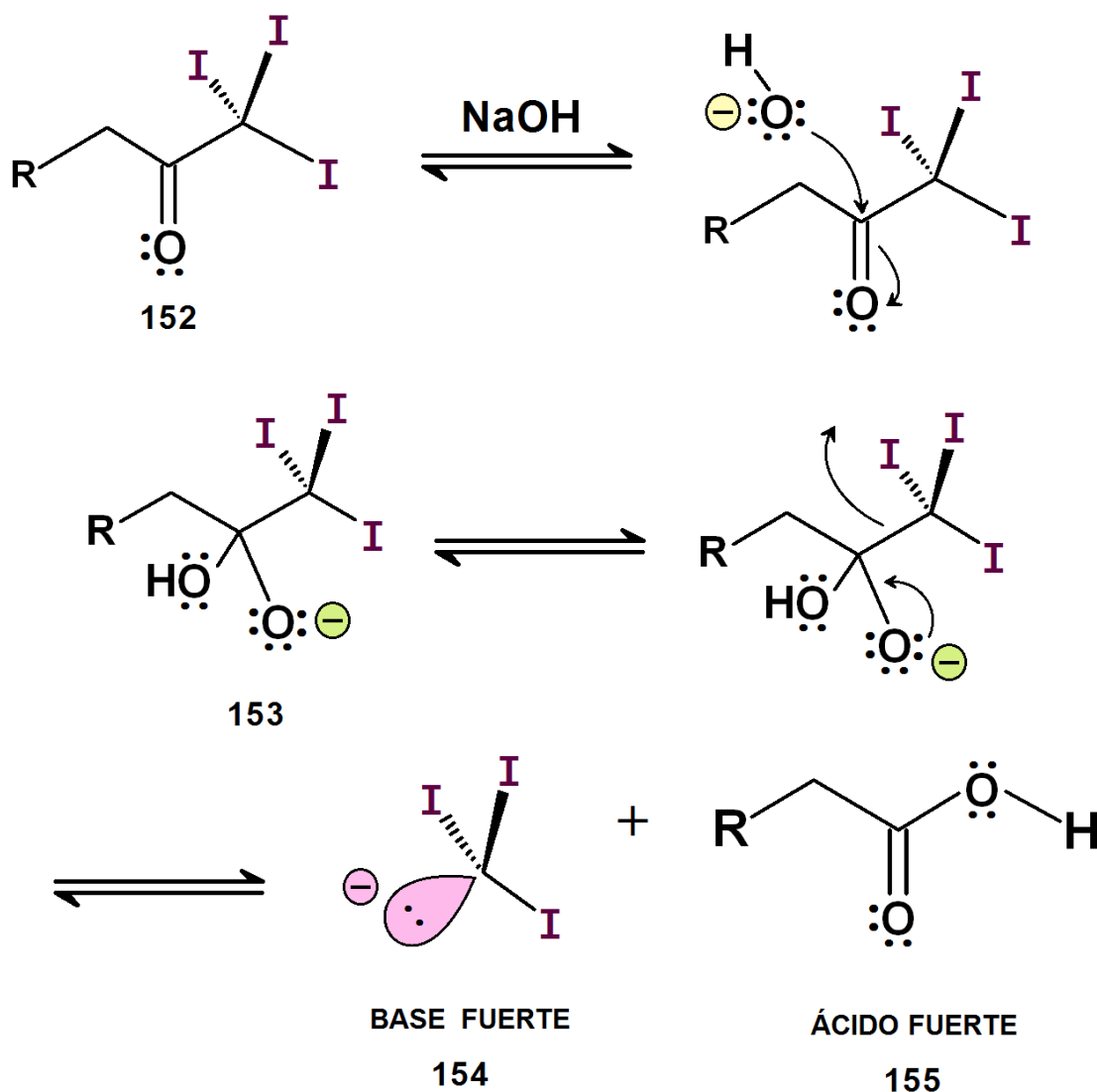
El anión **147**, por desplazamiento frente al yodo, incorpora el segundo yodo a la estructura para dar la diyodometilcetona respectiva (**149**) y el anión yoduro (**146**).



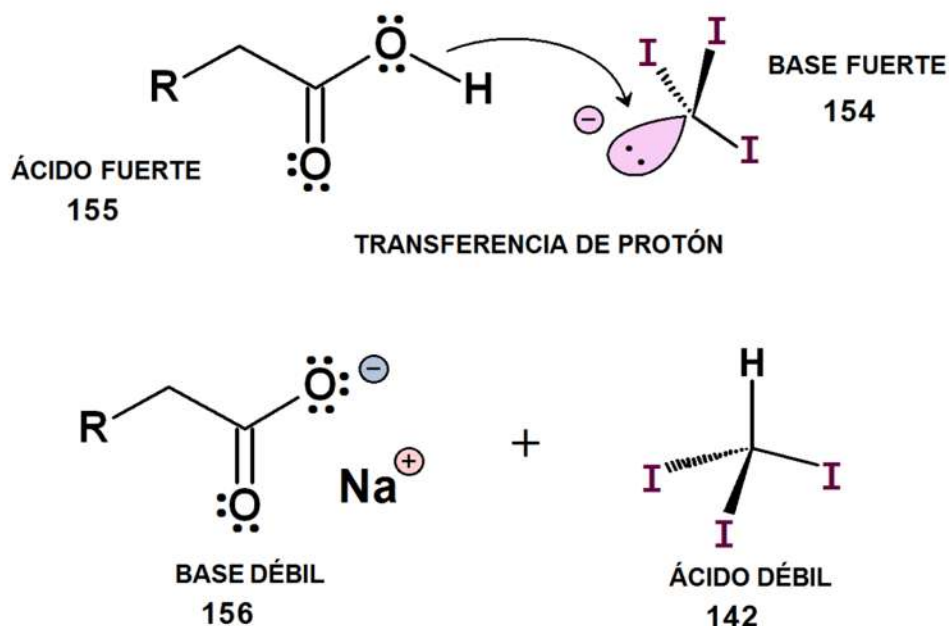
ESQUEMA XXIX MECANISMO DE REACCIÓN DE LA OBTENCIÓN DE LA TRIYODOMETILCETONA EN LA PRUEBA DEL HALOFORMO.

Esta estructura diyodada continuará reaccionando sucesivamente, como es mostrado en el mecanismo del transcurso de la reacción en el **ESQUEMA XXIX**, en el que la diyodometilcetona (**149**), en el medio básico en el que se encuentra, da su

respectivo anión de la diyodometilcetona (**150**), el cual se encuentra estabilizado por el carbonilo vecino, dando la estructura canónica de resonancia **151**, una de las cuales, mediante una reacción de desplazamiento frente al yodo, incorpora el tercer yodo a la estructura para dar la triyodometilcetona respectiva (**152**), en la que se sustituyeron todos los hidrógenos del grupo metilo por yodos; este grupo triyodometilo sensibiliza más el ataque nucleofílico del oxhidrilo al carbonilo de la triyodometilcetona (**152**) como se muestra en el **ESQUEMA XXX**.



ESQUEMA XXX MECANISMO DE REACCIÓN DE LA FORMACIÓN DEL ANIÓN DEL YODOFORMO Y EL ÁCIDO CARBOXÍLICO.

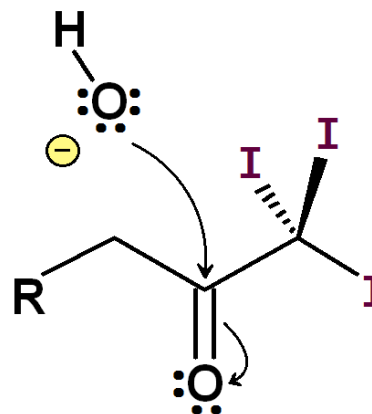
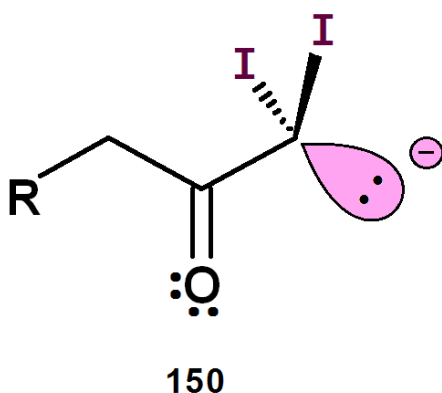
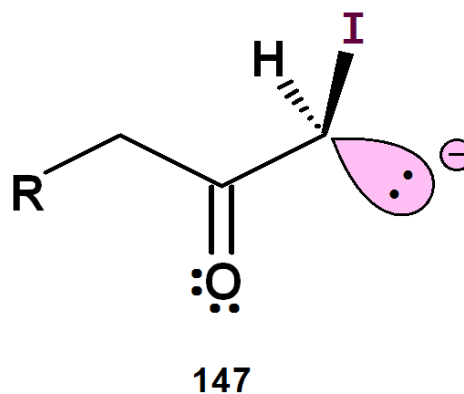
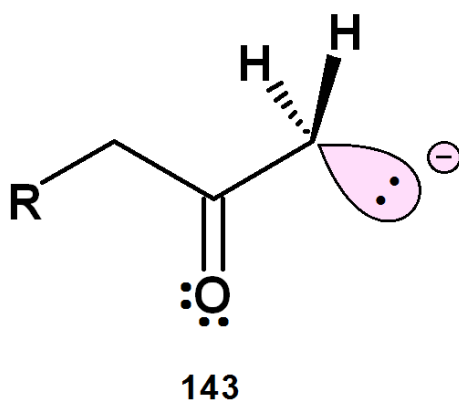


ESQUEMA XXXI FORMACIÓN DE LAS ESPECIES DÉBILES.

Aquí el intermediario (153), al regresar el par de electrones que tiene en exceso el oxígeno para formar nuevamente un grupo carbonilo, se desplaza al grupo triyodometilo como anión (154), dando también a su vez el ácido carboxílico (155).

Cabe hacer notar que ambas especies formadas son las especies fuertes, o sea, que el anión del triyodometilo (154) es la base fuerte y el ácido carboxílico (155) es el ácido fuerte, y que mediante el principio de Le Chatelier, a partir de éstas se generan espontáneamente las especies débiles por una simple transferencia de protón, como se muestra en el **ESQUEMA XXXI**, dando así el anión carboxilato (156) como la base débil y el yodoformo (142) como el ácido débil.

Así, en el **ESQUEMA XXXII** se representan las estructuras de los aniones obtenidos de manera secuenciada, en el que se establece que la reacción continúa avanzando, ya que paulatinamente van ganando en estabilidad los aniones subsiguientemente formados, debido al orden de estabilidad que presentan: (150) > (147) > (143); la ganancia de estabilidad la tienen debido a que al principio solamente el efecto de resonancia está presente como en 143, y a medida que se van incorporando los yodos, se suman entonces los efectos de resonancia más el efecto inductivo; entonces al (150) lo estabilizan una aportación del efecto de resonancia y dos aportaciones del efecto inductivo; y al anión (147) lo estabiliza una aportación del efecto de resonancia y sólo una aportación del efecto inductivo; esto hace que, conforme se van formando secuenciadamente estos aniones, la reacción transcurra con mayor facilidad, ya que paulatinamente se va ganando en la estabilidad y facilidad de formación de los aniones siguientes.

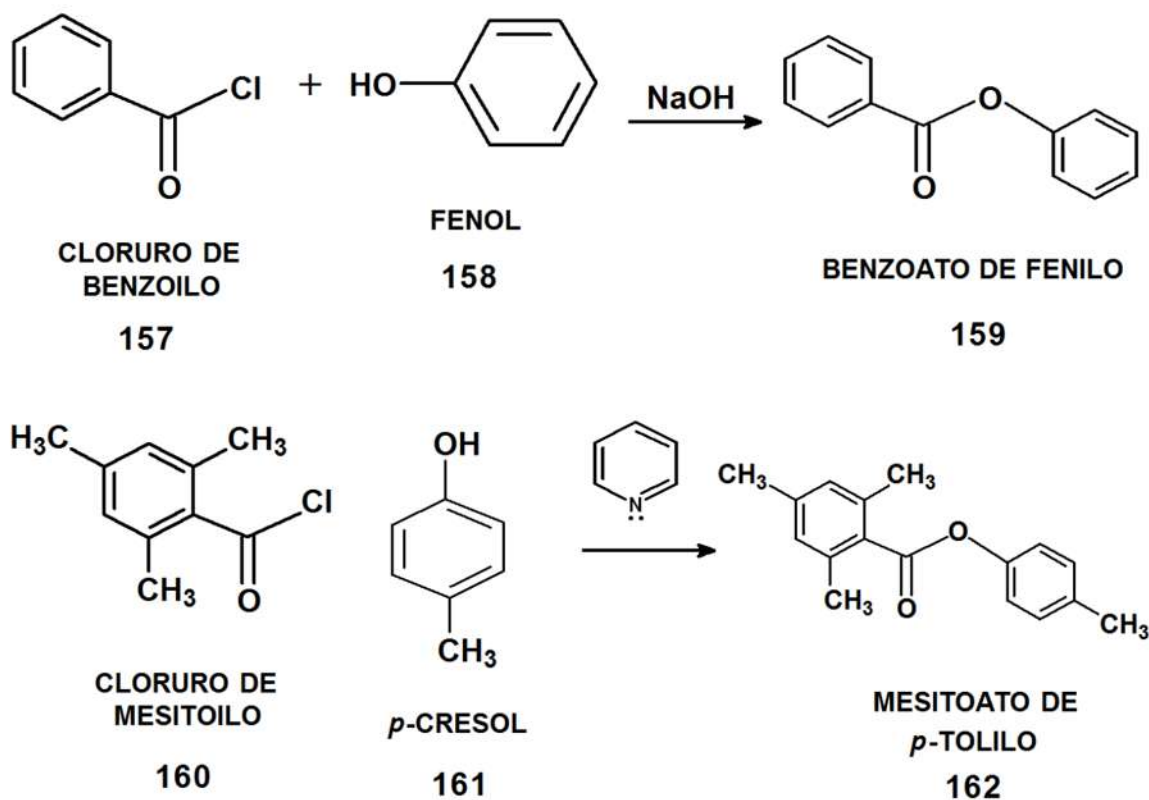


ESQUEMA XXXII ANIONES OBTENIDOS EN LA SECUENCIA DE ETAPAS, EN LAS QUE TRANSCURRE EL MECANISMO DE LA REACCIÓN DEL HALOFORMO.

Otro tipo de reacciones que están involucradas en el tema de la presente Tesis son las reacciones de esterificación, las cuales requieren un ácido carboxílico y un alcohol, a los que se les somete tanto a la acción de un ácido como a las de una base.

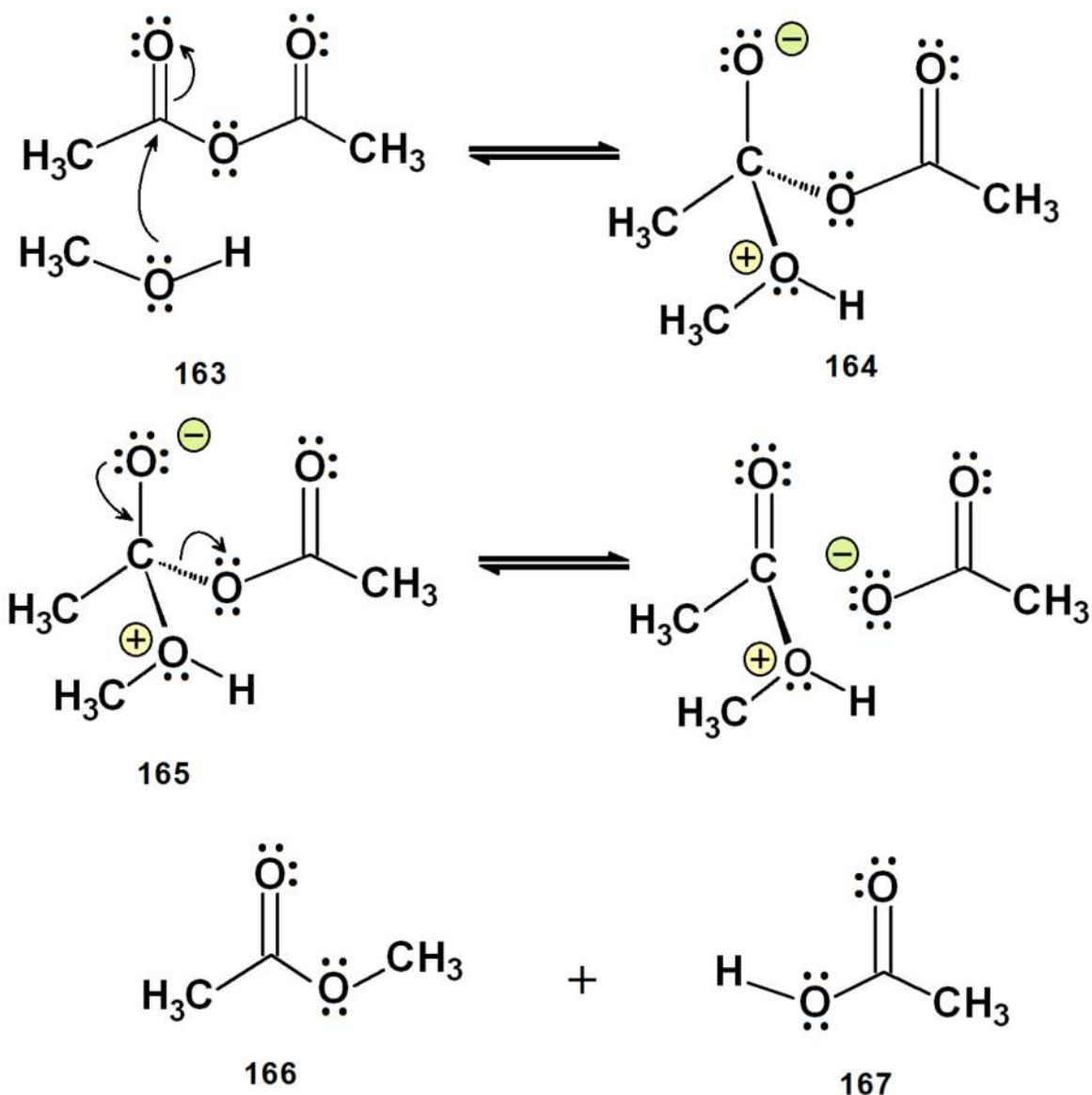
Un ejemplo de esterificación en medio básico, es partiendo de un cloruro de ácido (**157** ó **160**) con un alcohol aromático, utilizando la técnica de Schotten-Baumann, que consiste en tomar una mezcla del compuesto hidroxilado (alcohol alifático o alcohol aromático) (**158** ó **161**), mantener la base en agitación, posteriormente se le agrega lentamente y en porciones el cloruro de ácido y se agita fuertemente, dando los ésteres fenólicos correspondientes (**159** ó **162**).

Al proceso general se le conoce como alcoholisis de los halogenuros de ácido, como es mostrado en el **ESQUEMA XXXIII**.



ESQUEMA XXXIII ALCOHÓLISIS DE HALOGENUROS DE ÁCIDO, LLEVADA A CABO POR LA TÉCNICA DE SCHOTTEN-BAUMANN.

Otro método de esterificación,¹⁰¹ es en el que se parte de otro derivado de los ácidos carboxílicos, como lo es un anhídrido, mediante el proceso de la alcoholisis de anhídridos, en el cual la reacción ocurre primeramente en el carbono del grupo carbonilo y el anhídrido acético es sometido con el metanol por ataque nucleofílico de éste (163).



ESQUEMA XXXIV MECANISMO DE ESTERIFICACIÓN DEL METANOL CON EL ANHÍDRIDO ACÉTICO.

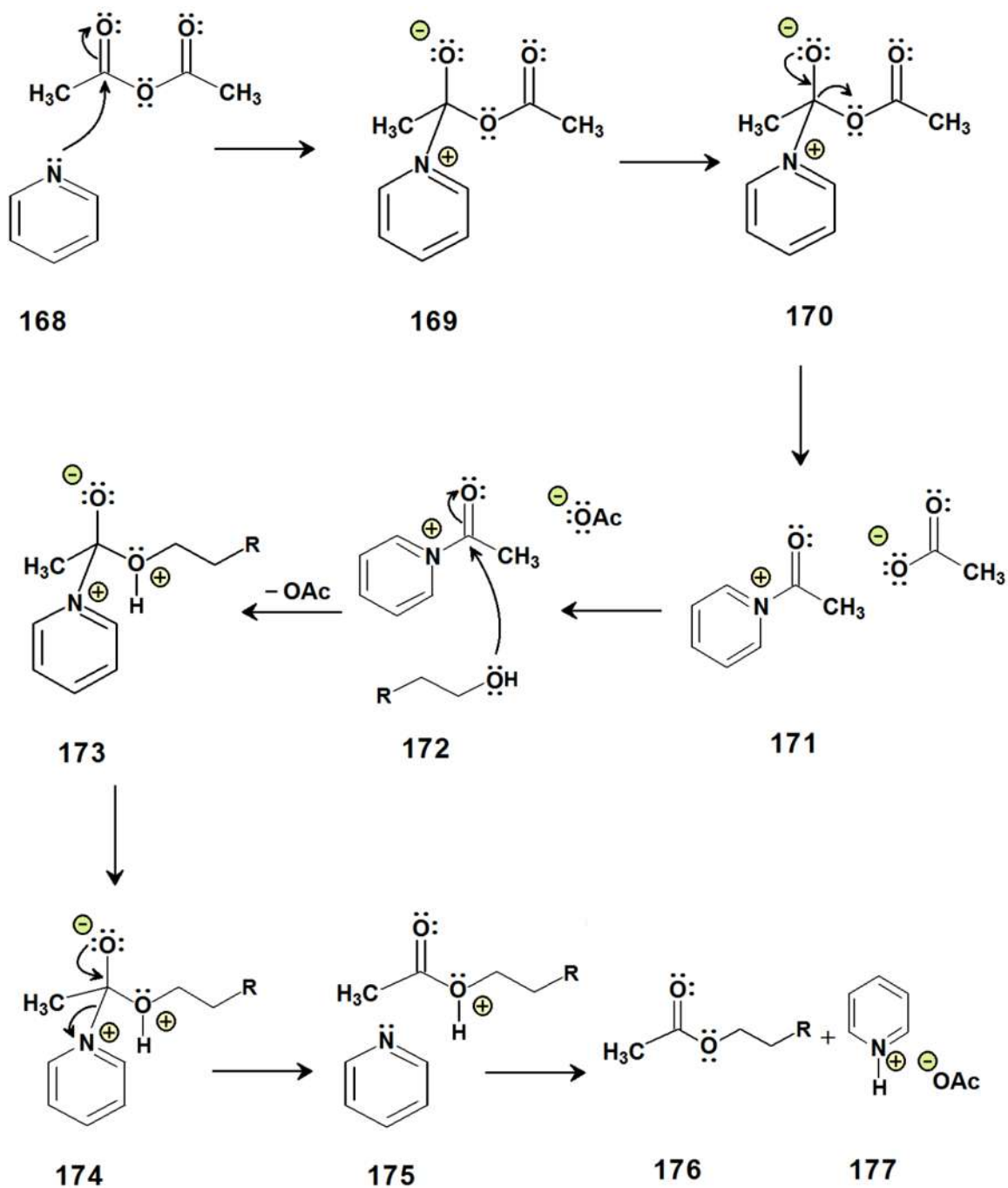
La trayectoria mecánica, denominada de adición-eliminación, en la que el metanol se adiciona al doble enlace del grupo carbonilo del anhídrido acético, origina la estructura **164**, en la que, al regresar el par de electrones de exceso que tiene el oxígeno, se manifiesta el proceso de eliminación, dando el desplazamiento del anión acetato como se indica en **165** y que mediante una transferencia de protón entre los dos fragmentos resultantes, produce el acetato de metilo (**166**) y el ácido acético (**167**).

Cabe hacer notar que el proceso se lleva a cabo por etapas reversibles, con lo cual estos dos productos pueden entrar a reaccionar y regresarse a las materias primas; debido a esto, las condiciones en las que se lleva a cabo esta reacción no da buenos rendimientos, ya que al final se obtendría una mezcla de los productos de reacción más las materias primas "sin reaccionar", como puede ser apreciado en el **ESQUEMA XXXIV**.

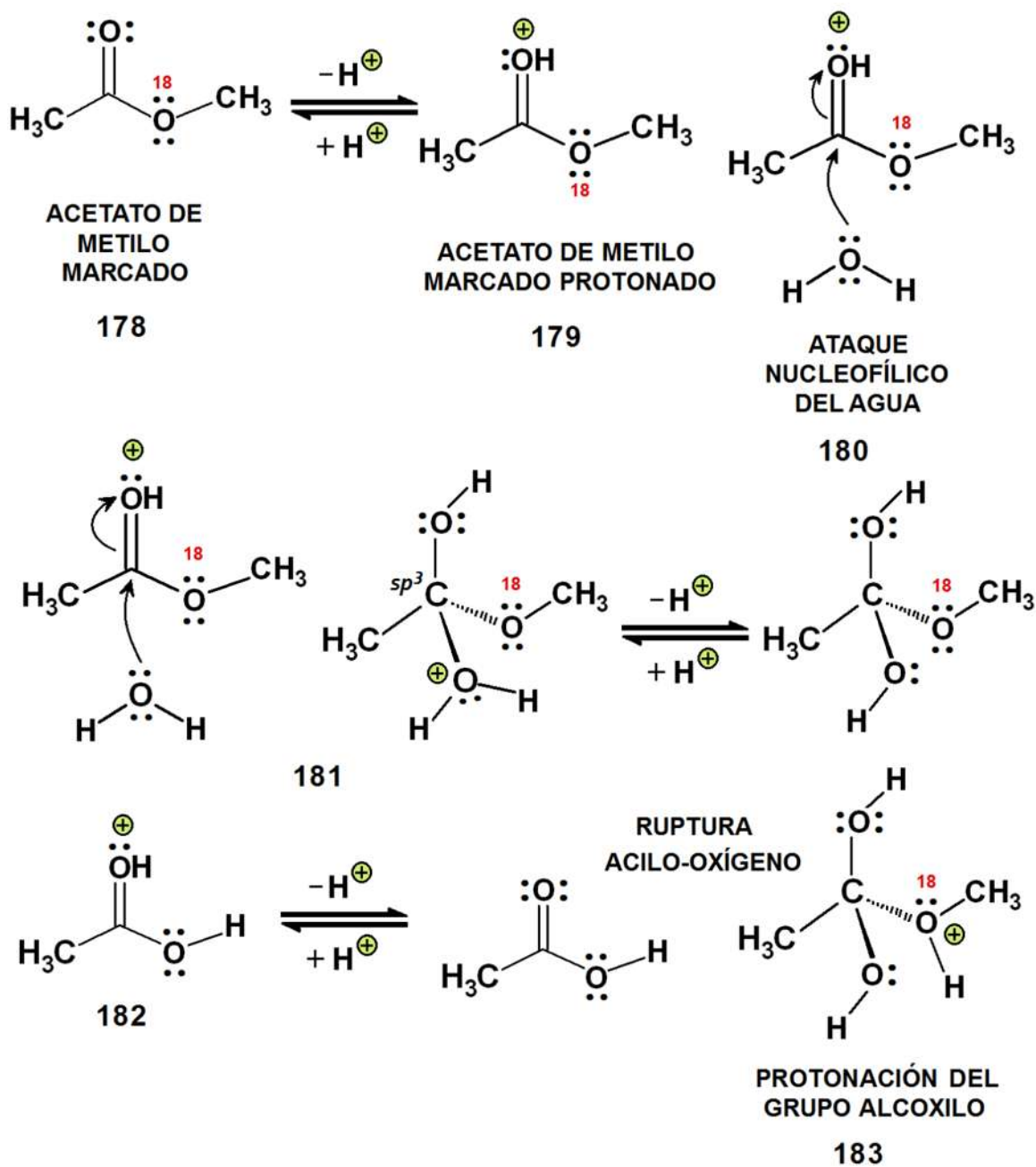
Un proceso para evitar la reversibilidad de esta reacción, es utilizando la piridina como catalizador; ésta ataca nucleofílicamente al carbono del carbonilo del anhídrido acético, como en **168**; el producto de esta adición es la estructura **169** y al regresar el par de electrones de exceso que tiene el oxígeno, se manifiesta el proceso de eliminación, dando el desplazamiento del anión acetato, como se indica en **171**. El otro fragmento resultante es un *N*-acilpiridinio, el cual deja más sensible al grupo carbonilo de ser atacado por el par de electrones no compartido del oxígeno del alcohol, como se aprecia en **172**, en donde nuevamente, mediante el proceso de adición al carbono del carbonilo sensibilizado por la presencia del piridinio, da la estructura **173**, que mediante la eliminación (**174**), produce el desplazamiento del acetato derivado del alcohol protonado, como se indica en **175**, y mediante una transferencia de protón entre los dos fragmentos resultantes nos da el acetato del alcohol (**176**) y el acetato de piridinio (**177**).^{101,102} Se debe mencionar que al final de la reacción y del tiempo transcurrido para que se lleve a cabo ésta, en el matraz se encuentran el estado líquido cristalino, correspondiente al éster, y un sólido cristalino insoluble, que es precisamente el acetato de piridinio (**177**); esto propicia que la reacción en su conjunto sea irreversible y así es como se establece que a este método se le considere como el método eficaz de acetilación estándar, que en general da buenos rendimientos.

Además, en el procedimiento de extracción del éster, al agregarle a la mezcla de la reacción la mezcla de hielo-agua y luego acetato de etilo, en el sistema de dos fases formado, se separan el acetato de piridinio que se queda en la fase acuosa, y el acetato del alcohol, producto principal de la acetilación, se queda disuelto en la fase orgánica del acetato de etilo. Una vez separadas las dos fases, quedan separados estos dos productos y al acetato disuelto en la fase orgánica se le hacen los lavados pertinentes para dejarlo en condiciones neutras, en las que se ha eliminado tanto el exceso de la piridina como del ácido proveniente de la hidrólisis del anhídrido acético. Todo el proceso en su conjunto, desde el punto de vista mecanístico, se encuentra representado en el **ESQUEMA XXXV**.

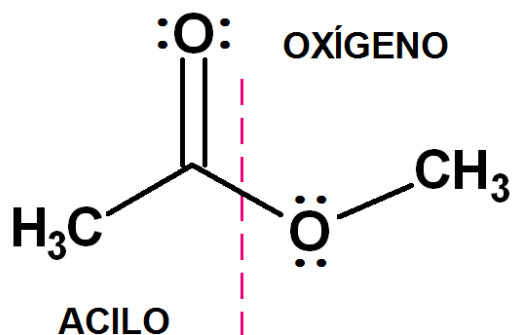
El proceso de la alcoholólisis de anhídridos origina el acetato de metilo (**166**) y el ácido acético (**167**).



ESQUEMA XXXV MECANISMO DE REACCIÓN DE ACETILACIÓN DE UN ALCOHOL CON ANHÍDRIDO ACÉTICO Y PIRIDINA.

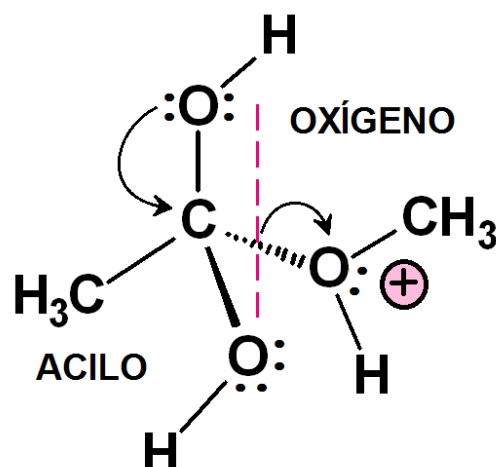


ESQUEMA XXXVI MECANISMO DE REACCIÓN DE HIDRÓLISIS DE ÉSTERES, CATALIZADA POR ÁCIDOS.



RUPTURA ACILO-OXÍGENO

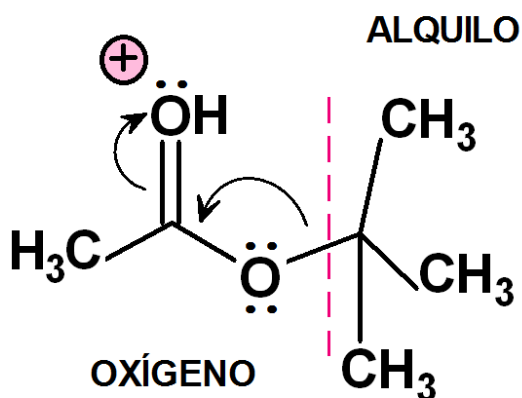
184



RUPTURA ACILO-OXÍGENO

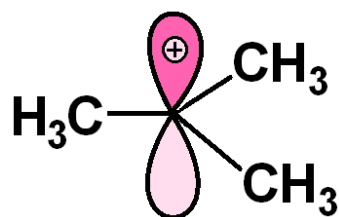
PROVIENE DEL
ACETATO DE METILO
CON AGUA EN MEDIO ÁCIDO

185



RUPTURA ALQUILO-OXÍGENO

186



EL IÓN CARBONIO FORMADO
DEBE SER ESTABLE

PROVIENE DEL
ACETATO DE TERBUTILO
CON AGUA EN MEDIO ÁCIDO

187

Es importante resaltar que el proceso se lleva a cabo por etapas reversibles, y al considerar las etapas de regreso al proceso, lo llamamos hidrólisis de ésteres catalizada por ácidos. El mecanismo llevado a cabo se encuentra representado en el **ESQUEMA XXXVI**, en donde se pone de manifiesto que en la etapa final ocurre una ruptura acilo-oxígeno, y es demostrada con marcaje isotópico, e indicado en el **ESQUEMA XXXVII**.

DISCUSIÓN Y RESULTADOS

El método en el cuál los biólogos agrupan y categorizan las especies de organismos, ya sean especies extintas o especies vivas, y a sus diferentes conjuntos o taxones, es lo que conocemos como clasificación biológica o clasificación científica, en biología. Esta clasificación es una forma de taxonomía científica que se distingue de la clasificación popular, ya que esta última carece de base científica. La taxonomía científica no sólo admite una jerarquización de características y funciones, sino que también permite establecer un esquema de parentescos, similitudes y relaciones entre los diferentes organismos. Existen ocho categorías taxonómicas principales: Dominio, Reino, Phylum, Clase, Orden, Familia, Género y Especie. El nombre de cualquier taxón debe ser seguido de la «autoridad» (o autoridades) del nombre, esto es, el nombre del autor que por primera vez publicó una descripción válida de él. Estos nombres son frecuentemente abreviados; en botánica existe una regulada lista de abreviaturas



estándar. El sistema de asignar autoridades es ligeramente diferente en las diversas ramas de la biología, sin embargo, es un estándar que si el nombre o ubicación ha cambiado desde la descripción original, el primer nombre de autoridad es puesto entre paréntesis y el autor del nuevo nombre o ubicación se coloca detrás (usualmente solo en botánica).

La planta de la cual se obtuvo el metabolito, que es el objeto de este estudio para la presente Tesis, pertenece al Reino: *Plantae*; Phylum: *Magnoliophyta*; a la clase: *Magnoliopsida*; al Orden: *Asterales*; a la familia: *Asteraceae*; el género: *Stevia* y la especie: *serrata*; y la Autoridad que validó su descripción obtuvo el Título de Maestro en Filosofía (1762) y Doctor en Teología (1766) Antonio José Cavanilles y Palop (1745-1804).



***Stevia serrata* Cav.**

Las plantas del género *Stevia* son herbáceas consideradas malezas. Constituyen un elemento característico frecuentemente dominante e, incluso, abundante en los bosques de pino y encino o de paisajes encinares de la República Mexicana, donde habitan preferentemente al abrigo de las condiciones templadas y húmedas. Su desarrollo óptimo se da a fines del mes de septiembre y hasta mediados del mes de octubre, sobre todo para las celebraciones del 15 de octubre, día de Santa Teresa, que precisamente en muchas comunidades Michoacanas, a esta planta se le llama con este nombre: Santa Teresa. Como la inflorescencia en cabezuela o corimbo de flores blancas es muy vistosa, en algunas comunidades del mismo Estado acostumbran a utilizarlas con fines ornamentales para eventos de celebraciones familiares, especialmente en las bodas.

La *Stevia serrata* Cav. crece con frecuencia con otras especies, que varían en la coloración de la inflorescencia, como en los casos de la *Stevia eupatoria*, *Stevia viscida*,¹⁰³ *Stevia porphyrea*, *Stevia jorullensis*, *Stevia pilosa*, cuyas inflorescencias van de un color ligeramente rosado al rosado intenso.



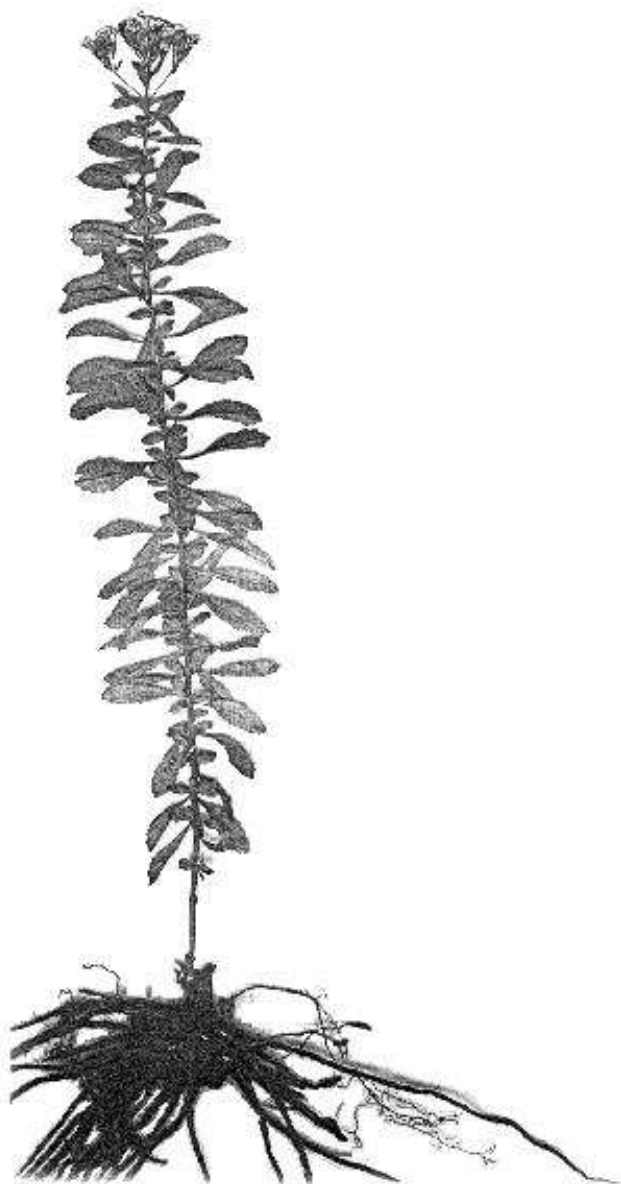




Hay *Stevias* que no se consideran herbáceas, sino que, por su tamaño, caen dentro de la clasificación de arbustivas, como es el caso de la *Stevia salicifolia* Cav. también de flores blancas parecidas al de la *Stevia serrata* Cav.



Hay *Asteraceae* con flores parecidas al de la *Stevia serrata* Cav. como por ejemplo el de la inflorescencia de la *Ageratina riparia* (Barlovento).



Un procedimiento de extracción,¹⁰⁴ como su nombre lo indica, es el quitar o sacar una parte que está contenida en una fuente natural, sin que ésta sufra alteración alguna durante dicho proceso.

Cuando este procedimiento se lleva a cabo a temperatura ambiente durante cierto intervalo de tiempo, se le conoce como maceración, en ésta debe indicarse el disolvente que se va a utilizar para que se efectúe el paso de las sustancias químicas contenidas en la planta al disolvente.

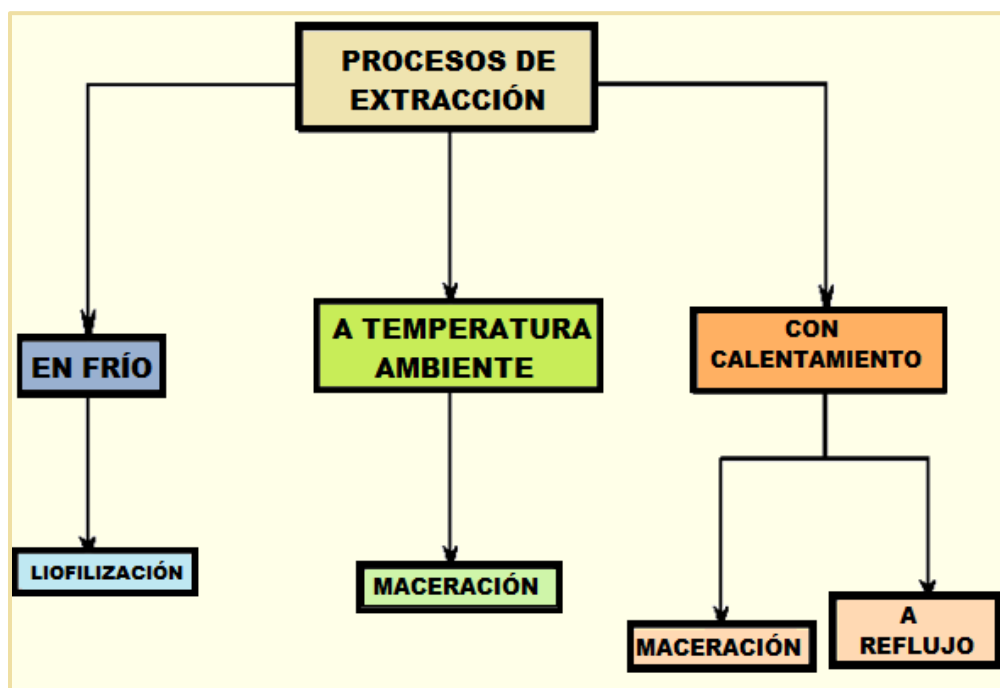
Una de las variables experimentales que pueden ser controladas es la temperatura, por lo que es importante tomarla en consideración, ya que en algunos casos el efecto térmico puede modificar las estructuras contenidas en la planta.

Los procedimientos de extracción en los que se toma en cuenta el factor de la temperatura, se muestran en el diagrama en el que se describe la terminología utilizada para definir cada

proceso, tomando como base la experimentación en la que está involucrada la temperatura.

El procedimiento de extracción que se utilizó para el tratamiento de las raíces secas y molidas de la *Stevia serrata* Cav. fue el reflujo, para lo cual se tomó un matraz de fondo redondo de capacidad de 12 l, al que se le agregaron aproximadamente 3 kg de raíces secas y molidas, colectadas en el período de los meses de agosto-octubre; se le añadieron cerca de 8 l de hexano, mediante una manta de calentamiento y la colocación de un refrigerante en posición vertical, para que se efectúe el reflujo a la temperatura de ebullición del hexano; se deja mantener este reflujo durante un período de 4 h; transcurrido este tiempo, se deja enfriar la solución que contiene las

sustancias extraídas por el hexano y posteriormente se filtra; la solución filtrada se concentra en porciones de 400 ml, mediante la evaporación del hexano utilizando un evaporador rotatorio.

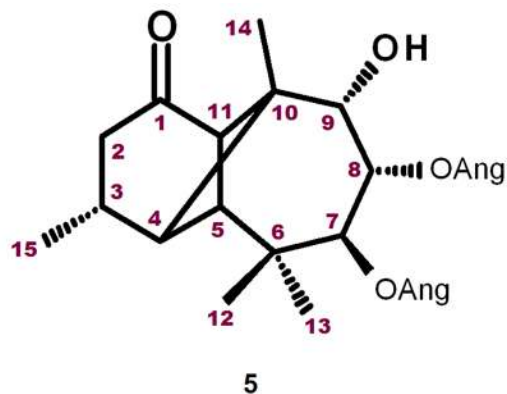
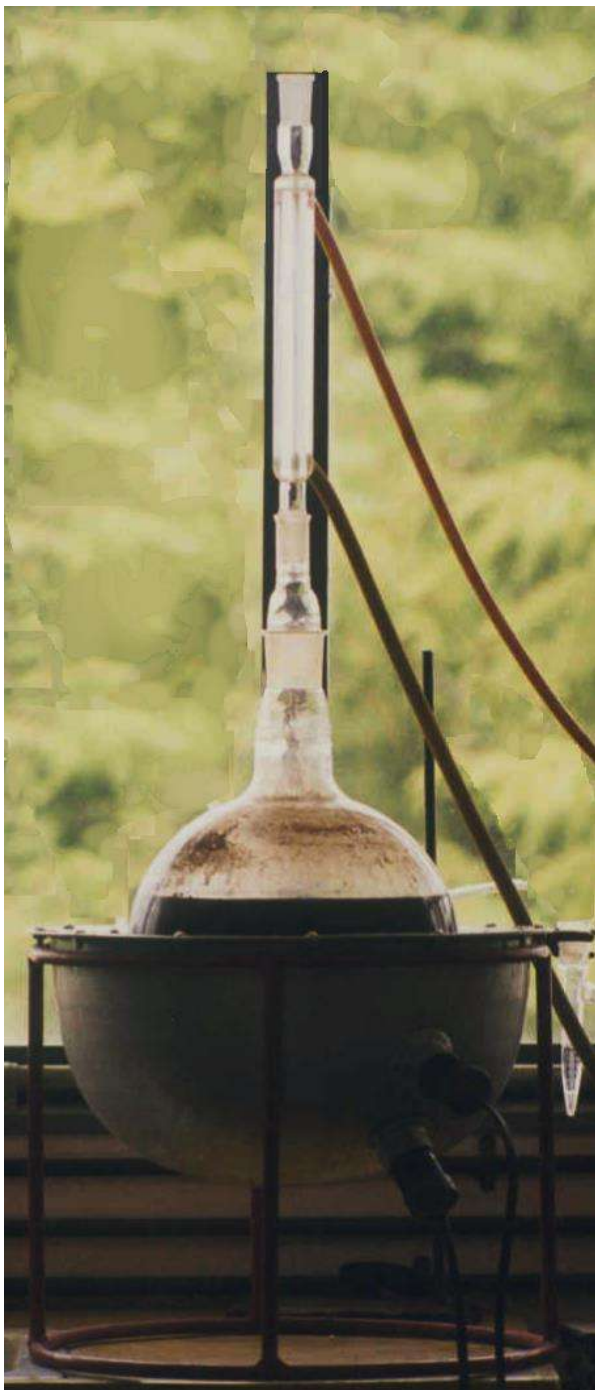


Una vez concentrada la totalidad de la solución, al concentrado se le deja en reposo para obtener una mezcla de mieles y cristales del producto principal rasteviona (5); posteriormente se recupera el hexano y el procedimiento extractivo se repite las veces necesarias hasta que casi no se obtenga una cantidad importante de concentrado.

La **Tabla I** muestra los metabolitos obtenidos, mediante la extracción hexánica, de dos especies distintas de *Stevia*.

Fuente natural y parte de la planta	Procedimiento de extracción	Disolvente	Componentes principales obtenidos
Raíces molidas de <i>Stevia serrata</i> Cav.	Reflujo	Hexano	Rasteviona
Raíces molidas de <i>Stevia salicifolia</i> Cav.	Reflujo	Hexano	Mezclas de ésteres derivados del longipineno

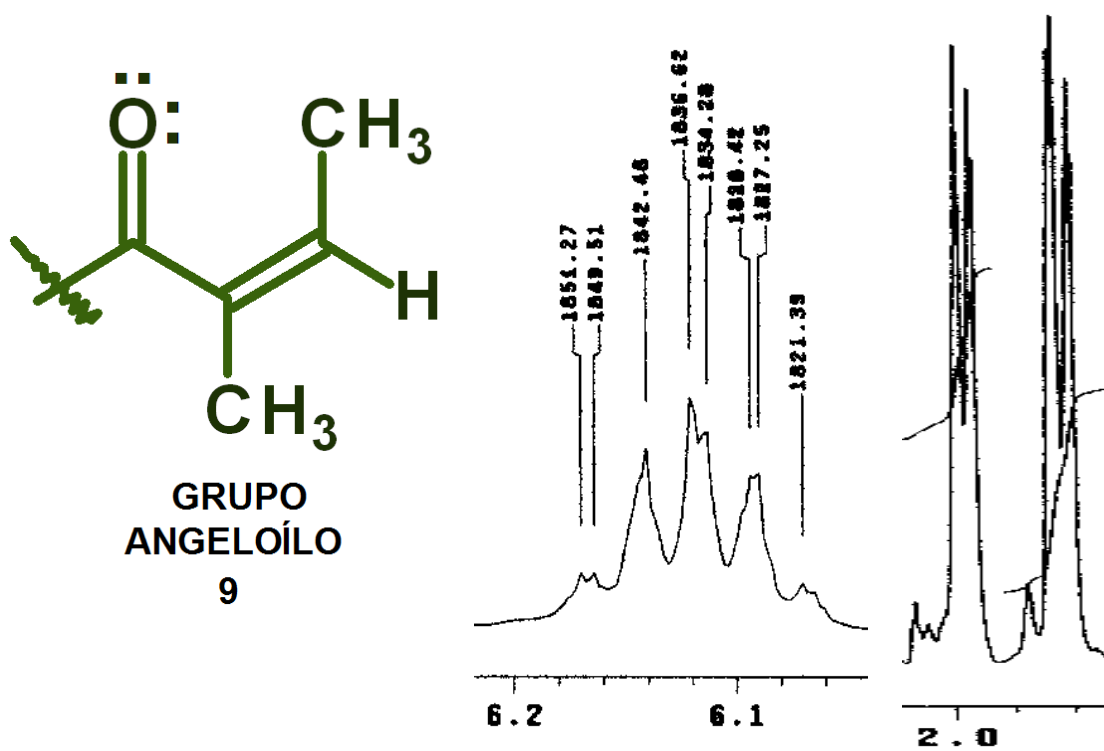
TABLA I.- Procedimientos de extracción de dos especies de *Stevia*.



La cantidad de cristales obtenidos de la rasteviona (**5**), varía dependiendo de varios factores: principalmente de la localidad en la que se llevó a cabo la colecta, del período en el que se realizó la colecta y, en menor importancia, del tiempo de secado y almacenamiento de la raíz, una vez que ésta fue sometida a molienda, de la pureza del disolvente usado para la extracción, que en este caso es el hexano, y de la cantidad de impurezas que acompañen a la rasteviona durante la extracción, como son grasas y sólidos que se quitan en el concentrado mediante las adiciones sucesivas de metanol, hasta obtener una solución clarificada final libre de sólidos no deseados. Así son obtenidas dos presentaciones de la rasteviona, a una que se le llama rasteviona mieles (**Figura 2**) y a la otra rasteviona cristales (**Figura 3**). Para efectos de tratamientos químicos posteriores, se prueban las reacciones con ambas

formas, es aquí donde se pone en evidencia el distinto grado de pureza, ya que la rasteviona mieles posee impurezas que posiblemente tengan estructuras semejantes a ella y que la presencia de las mismas, aunque sea en pequeñas cantidades, puede ser un factor suficiente como para que la rasteviona no cristalice.

Los cristales de la rasteviona, de fórmula molecular F.M. $C_{25}H_{36}O_6$, de p.f. 130-131 °C y de una rotación específica $[\alpha]_D = -15^\circ$, en el espectro de IR mostraron la banda del grupo hidroxilo en 3600 cm^{-1} , y una banda intensa en 1720 cm^{-1} , del grupo carbonilo ($C=O$).



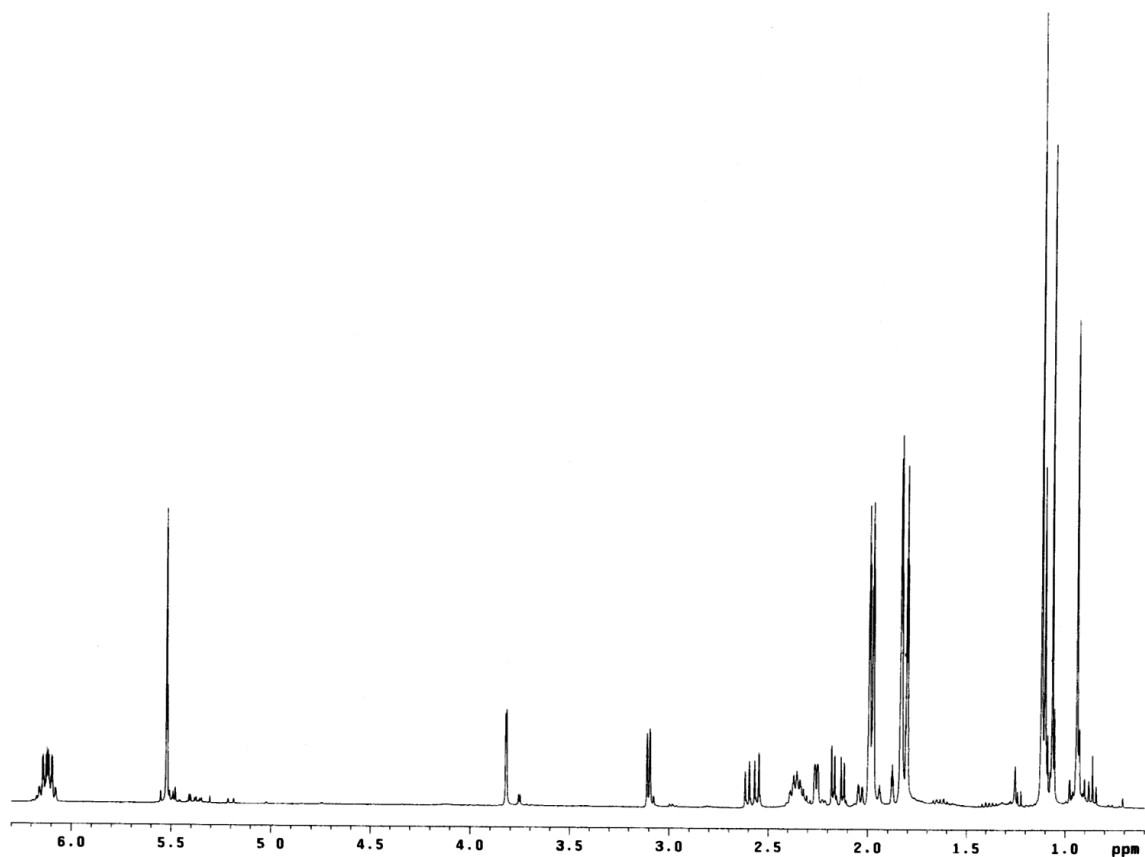
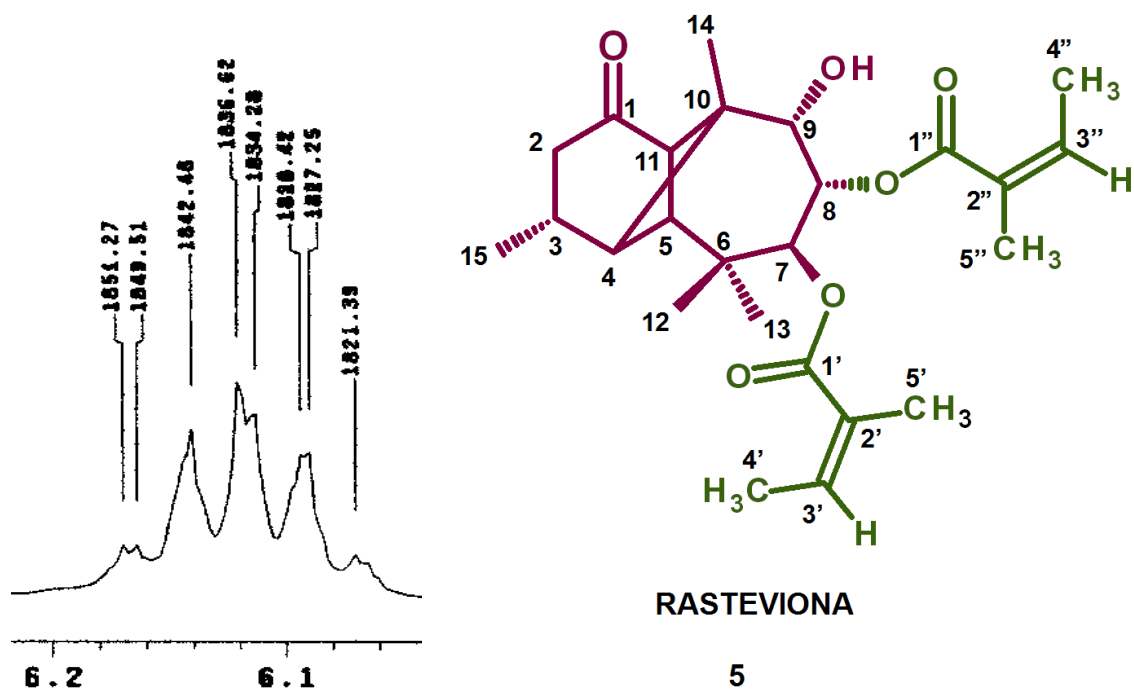


Figura 2.- Espectro de RM^1H de las mieles de rasteviona (5) obtenidas del extracto hexánico de las raíces de la *Stevia serrata* Cav.

En su espectro de RMN de ^1H mostró las siguientes señales: una desplazada en 6.11 ppm que integró para dos hidrógenos, y las otras señales desplazadas entre 1.75 y 2.05 ppm, que integraron para doce hidrógenos, todas ellas características de dos grupos angelóilo, que poseen cada uno un hidrógeno vinílico y dos grupos metilo *trans* entre sí.

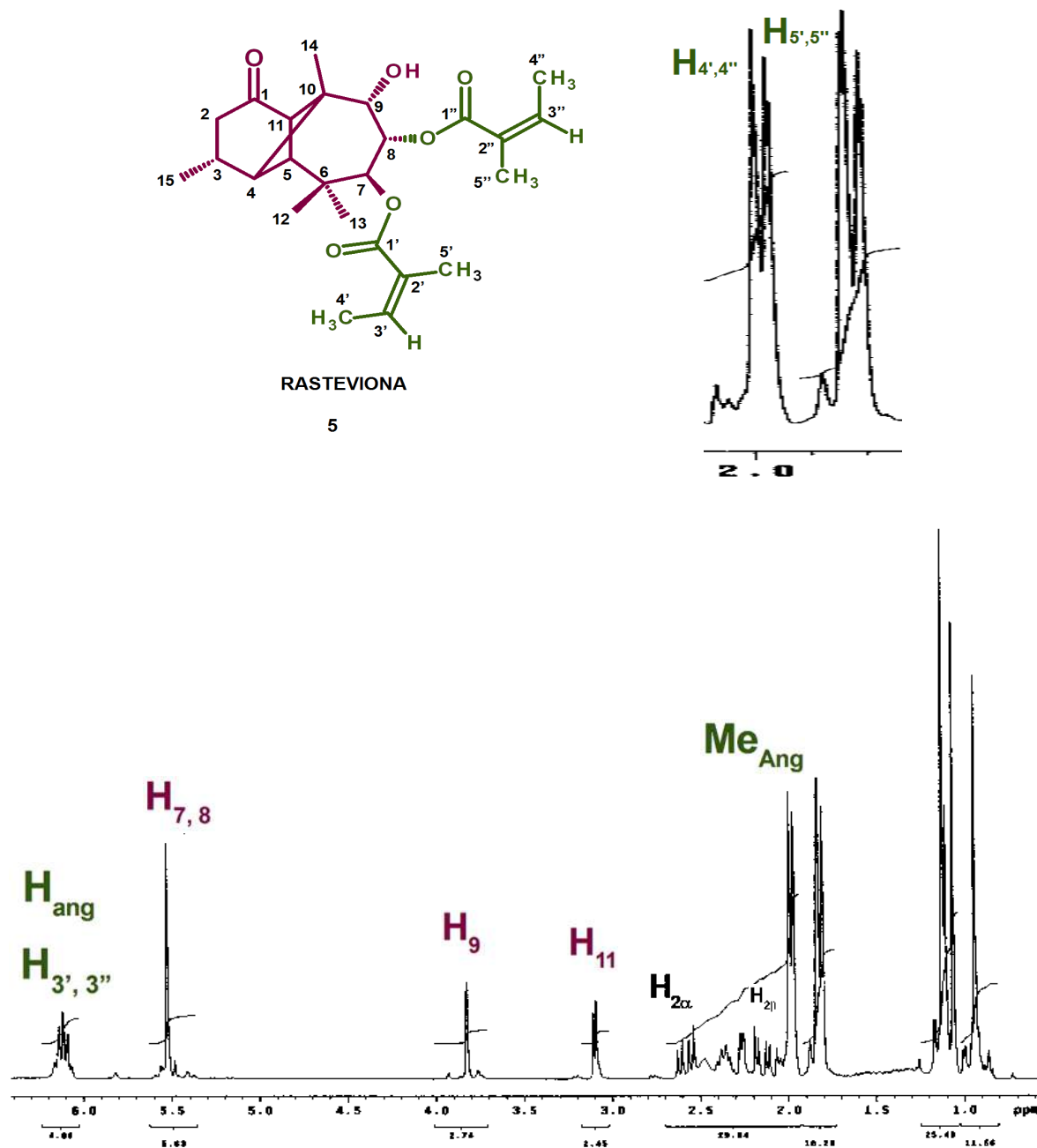


Figura 3.- Espectro de RMN ^1H de los cristales de rasteviona (5) obtenidos del extracto hexánico de las raíces de la *Stevia serrata* Cav.

Dos señales simples, casi traslapadas, se encuentran desplazadas en 5.54 y 5.55 ppm, que integraron para un hidrógeno cada una y fueron asignadas a los hidrógenos base de los grupos angelato, que se encuentran en las posiciones 7 y 8 en el anillo de siete miembros del esqueleto de longipineno.

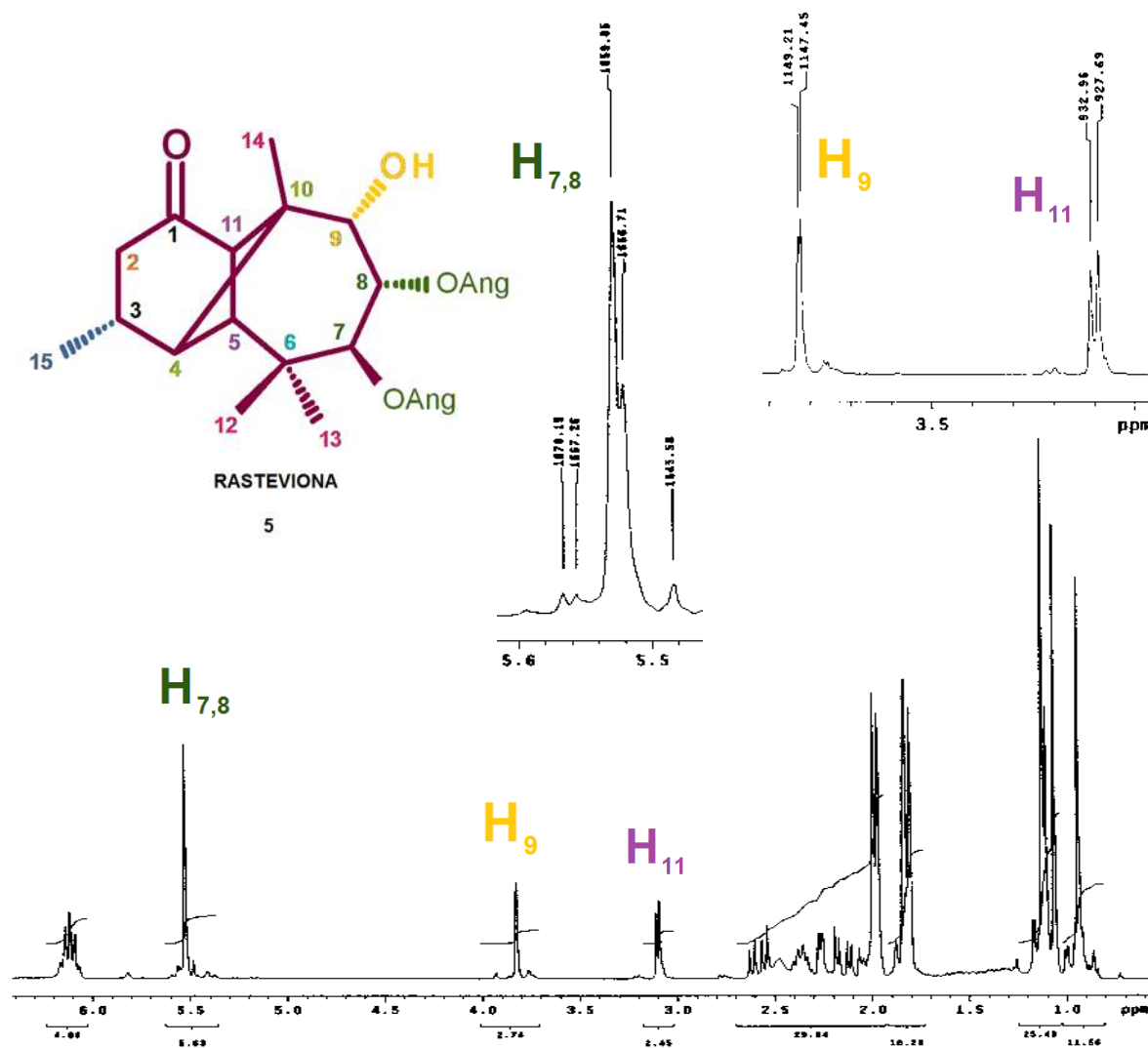


Figura 4.- Espectro de RM^1H de los cristales de rasteviona (5) obtenida del extracto hexánico de las raíces de la *Stevia serrata* Cav.

También se encuentra una señal triple con una constante de acoplamiento $J = 1.2$ Hz, que se encuentra desplazada en 3.82 ppm, la cual se asignó al hidrógeno H-9 base del oxhidrilo secundario. Además una señal doble con una constante de acoplamiento $J = 6.0$ Hz que integró para un hidrógeno y que se encuentra desplazada en 3.09 ppm y asignada al protón H-11 *alfa* al grupo carbonilo, que es además el carbono común a los anillos de seis y de siete miembros del esqueleto de longipineno.

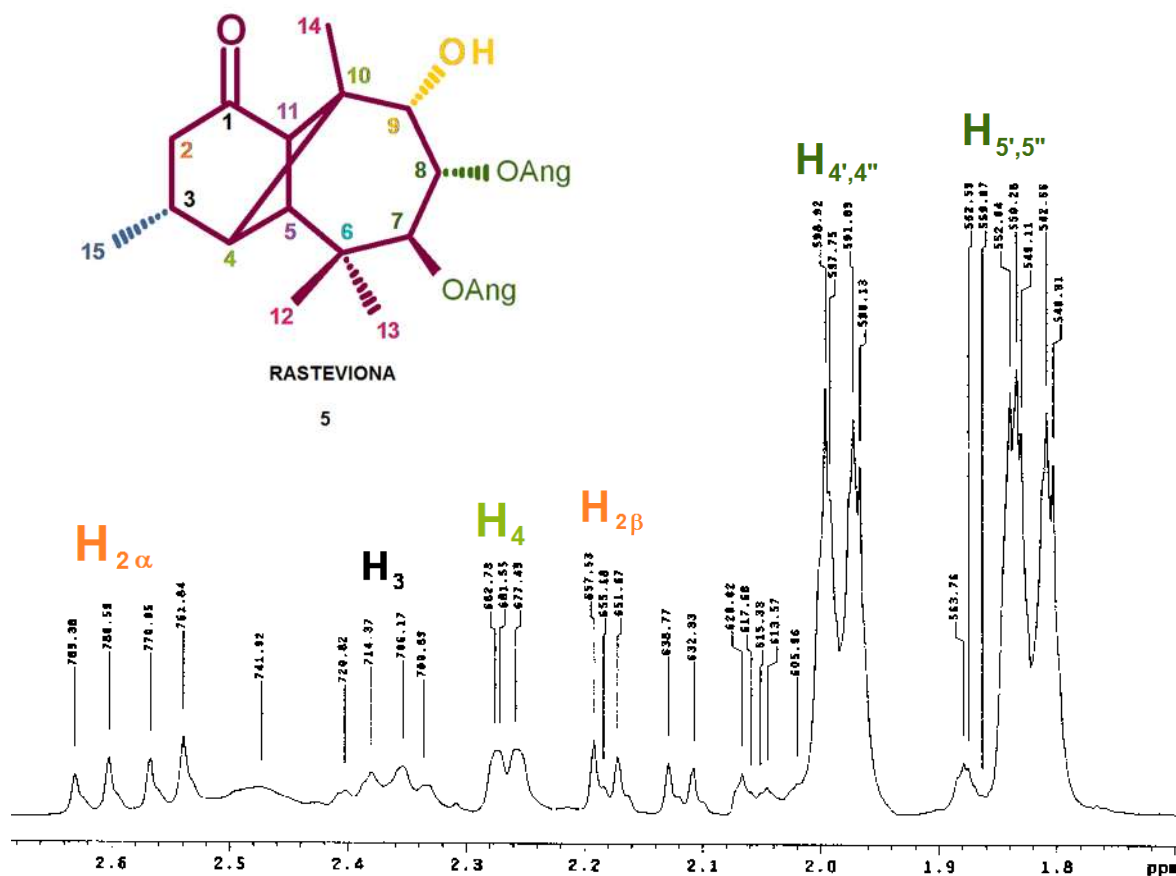


Figura 5.- Ampliación del espectro de RM^1H de la rasteviona (5) en la región de campo alto entre 1.7 y 2.8 ppm.

En la **Figura 5** se muestra la ampliación del espectro de RMN de ^1H entre 1.7 y 2.8 ppm, en la que aparecen las señales en $\delta 2.58$ (dd, $J = 19.1, 8.6$ Hz) y $\delta 2.15$ (dd, $J = 19.1, 6.2$ Hz) que integraron para un protón cada una, asignadas a los dos hidrógenos del único metileno C-2 de la estructura y en posición *alfa* al grupo carbonilo C-1; además una señal múltiple desplazada en $\delta 2.36$ 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 $\delta 2.26$ como una señal doble ancha.

La **Figura 6** muestra la ampliación del espectro de RMN de ^1H en la región a campo alto entre 0.8 y 1.25 ppm en la que aparecieron tres señales altas desplazadas en $\delta 1.13$; $\delta 1.07$ y $\delta 0.94$ como señales simples que integraron para tres protones cada una y que se asignaron a los tres metilos terciarios; además en $\delta 1.11$ apareció una señal doble con una constante de acoplamiento de $J = 6.0$ Hz, la cual se encuentra traslapada con las señales de los dos metilos terciarios desplazados en $\delta 1.11$ y $\delta 1.05$, respectivamente.

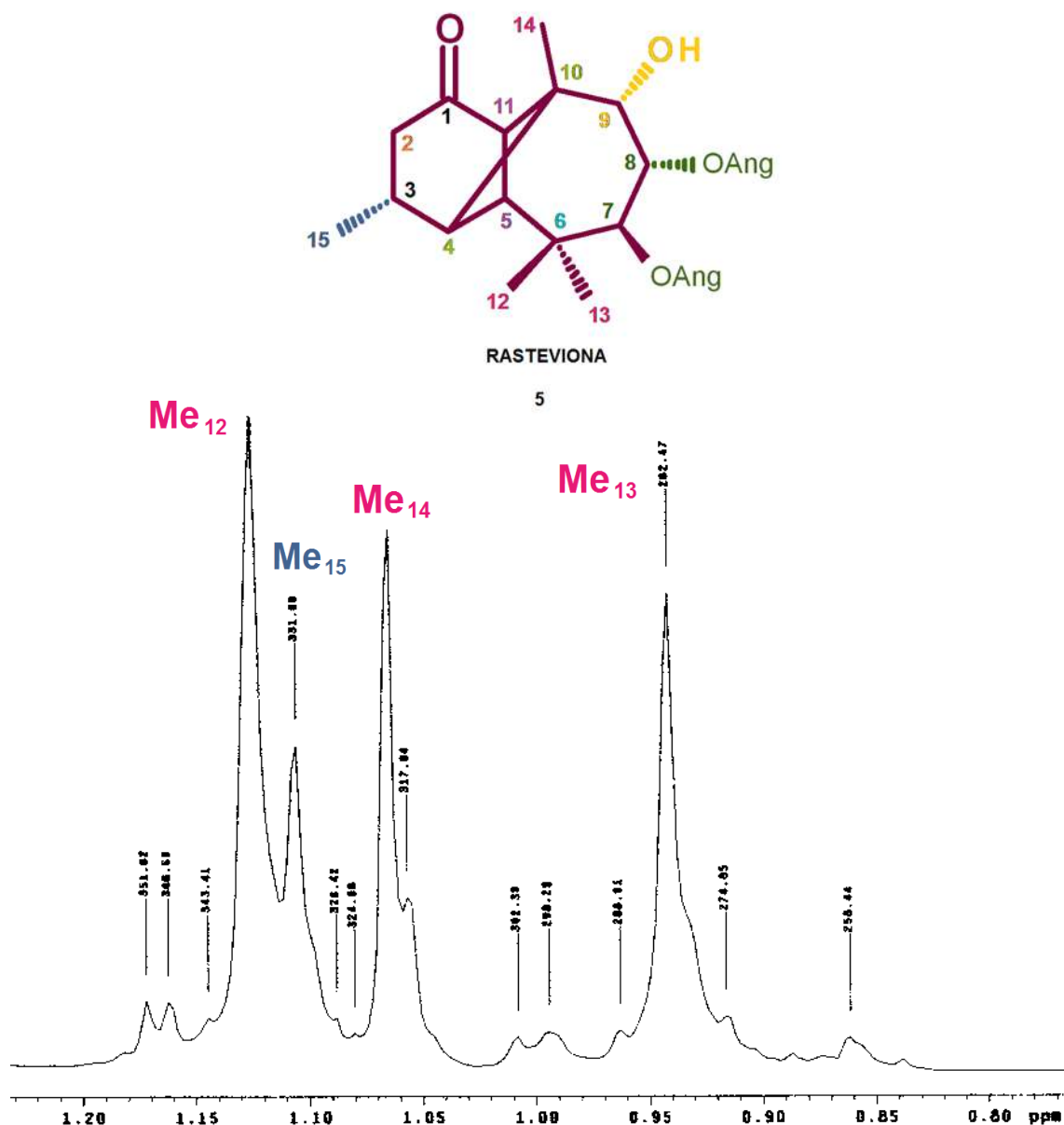
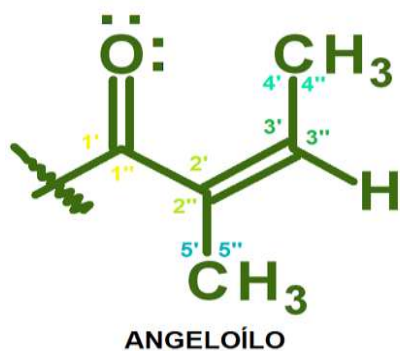


Figura 6.- Ampliación del espectro de RM ^1H de la rasteviona (5) en la región de campo alto entre 0.8 y 1.25 ppm.



9

La **Figura 7** muestra la ampliación de los espectros de RMN de ^{13}C en la región a campo bajo entre 124 y 212 ppm (espectro de la parte superior) en la que aparecieron siete señales encontradas

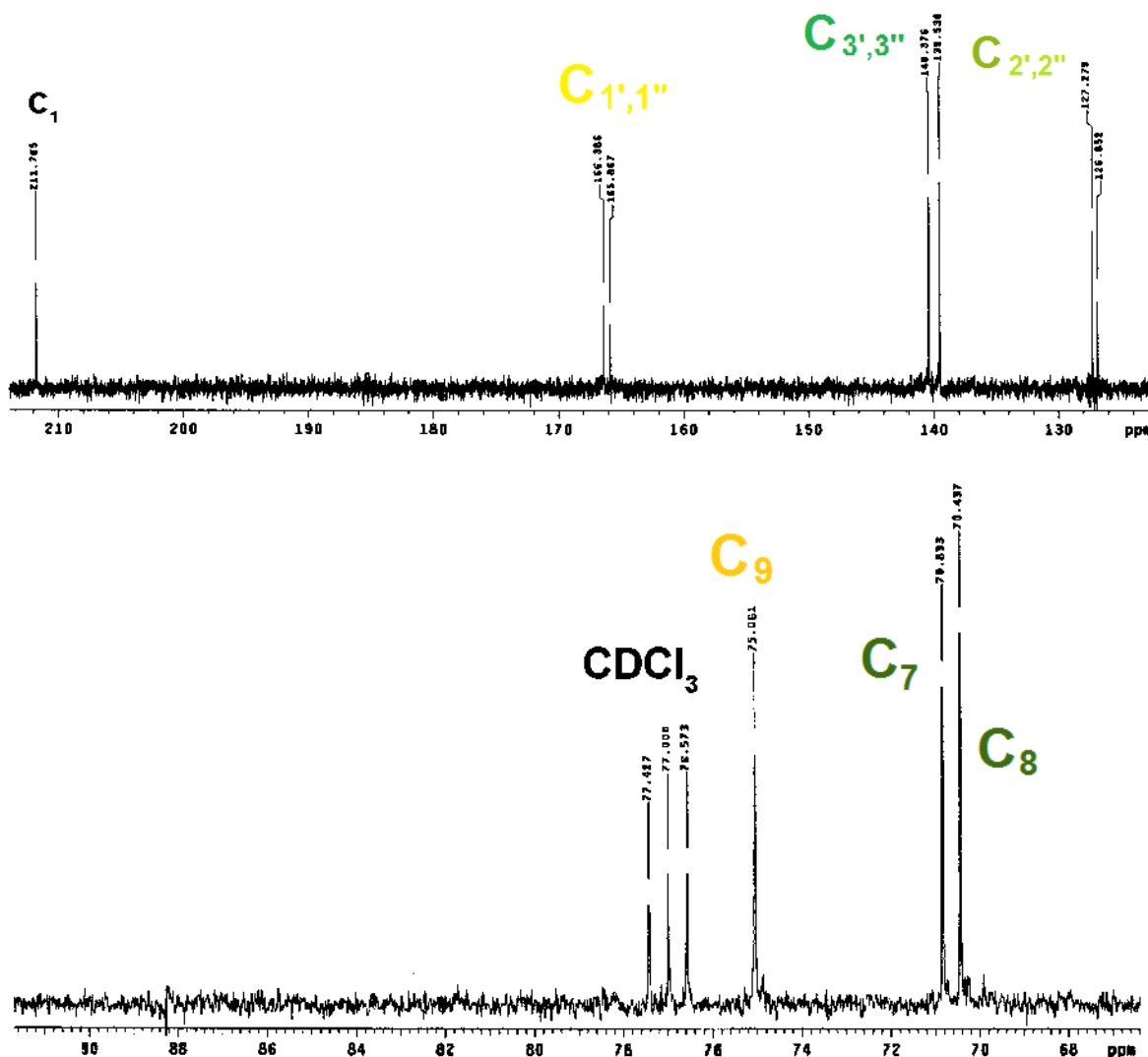


Figura 7.- Ampliación de los espectros de RMN ^{13}C de la rasteviona (5) en la región de campo bajo, entre 124 y 212 ppm (parte superior) y en la región de campo alto, entre 67 y 92 ppm (parte inferior).

en $\delta 211.8$ asignada al C-1, característica del grupo carbonilo de cetona; en $\delta 166.6$ y $\delta 165.9$ las señales de los carbonos de los carbonilos de los angelatos en C-1' y C-1''; en $\delta 140.4$; $\delta 139.5$; $\delta 127.3$ y $\delta 126.9$ correspondientes a los carbonos metínicos C3' y C-3'' y cuaternarios C-2' y C-2'' de los dos dobles enlaces de los grupos angelato en C-7 y en C-8. En el espectro de la parte inferior se revelaron tres señales correspondientes a los carbonos base del oxhidrilo C-9 y los carbonos base de los angelatos C-7 y C-8. En la Figura 8 se muestra la ampliación del espectro de RMN de ^{13}C en la región entre 15 y 52 ppm correspondiente a los carbonos sp^3 , que no son base de oxígeno y en la que son mostradas las asignaciones de los carbonos, y en la región a campo alto entre 15 y 27 ppm se encuentran los metilos de la molécula y los desplazamientos respectivos se dan en la **Tabla II**.

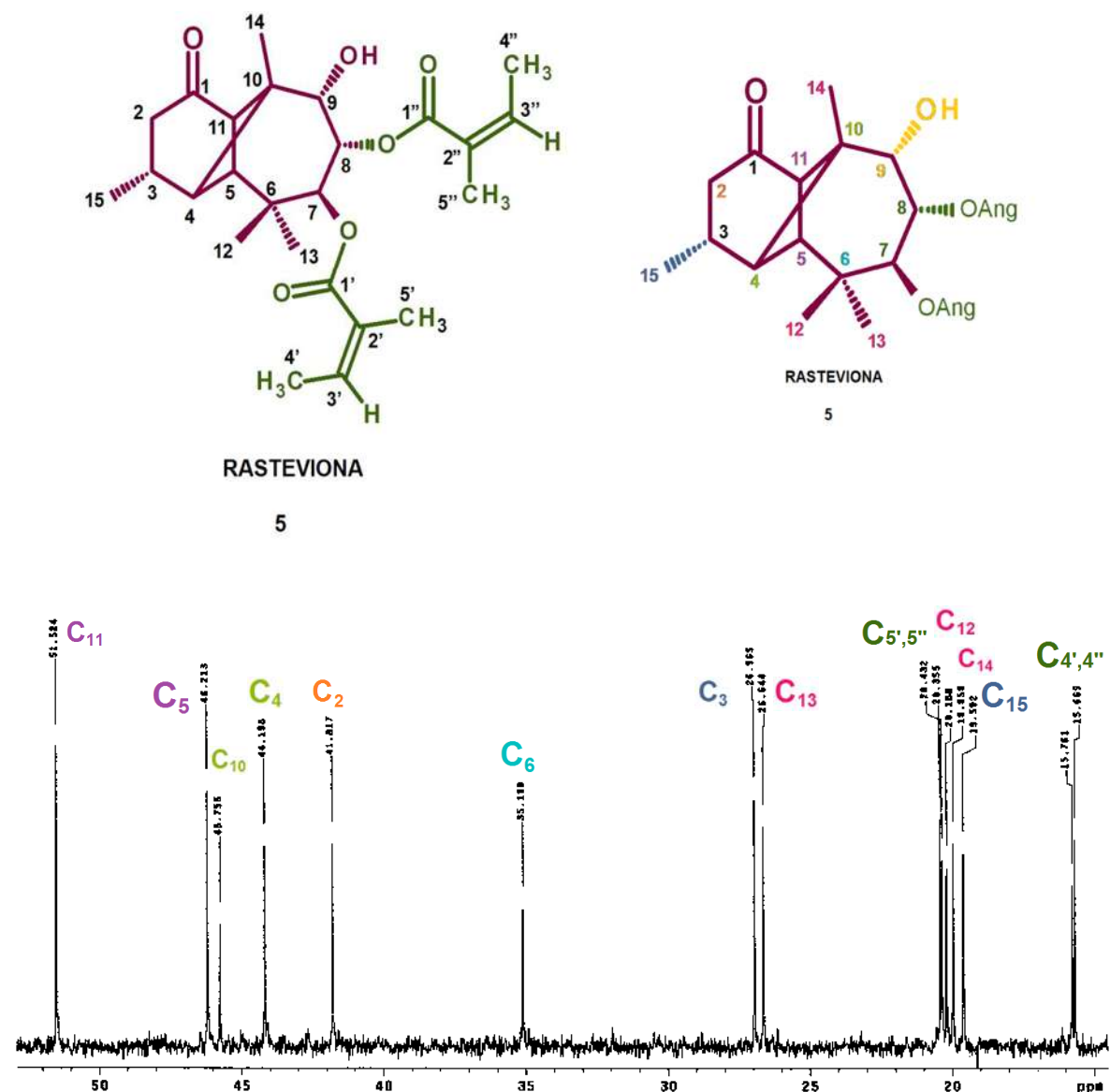


Figura 8.- Ampliación de los espectros de RMN ^{13}C de la rasteviona (5) en la región de campo alto entre 15 y 52 ppm .

Se llevó a cabo el tratamiento de rasteviona (mieles) (5) con el hipoclorito de sodio mostrado en el **Esquema XXXVII**, con el propósito de clorar la posición *alfa* al grupo carbonilo de la cetona en C-1 y así obtener la posición C-2 (metileno) funcionalizada, sólo que en las condiciones iniciales en las que se llevó a cabo la reacción dio una miel correspondiente a una mezcla de productos no clorados, pero si transesterificados;¹⁰⁵ esta mezcla se sometió a un proceso de separación cromatográfica con gel de sílice-alúmina y en el espectro de RMP de la F-29 mostrado en la **Figura 9**, correspondió a una fracción enriquecida con uno de los posibles isómeros de esta transesterificación en la que el grupo angeloílo de la posición C-8 en la rasteviona migró a la posición C-9, quedando ahora el oxhidrilo libre en la posición C-8, por lo que las nuevas asignaciones de las señales correspondientes a los hidrógenos vinílicos de los grupos angeloílo se encuentran desplazadas en $\delta 6.125$, que integraron para dos hidrógenos y las señales desplazadas entre 1.79 y 2.00 ppm, las cuales integraron para doce hidrógenos, correspondieron a los cuatro metilos de los dos grupos angeloílo.

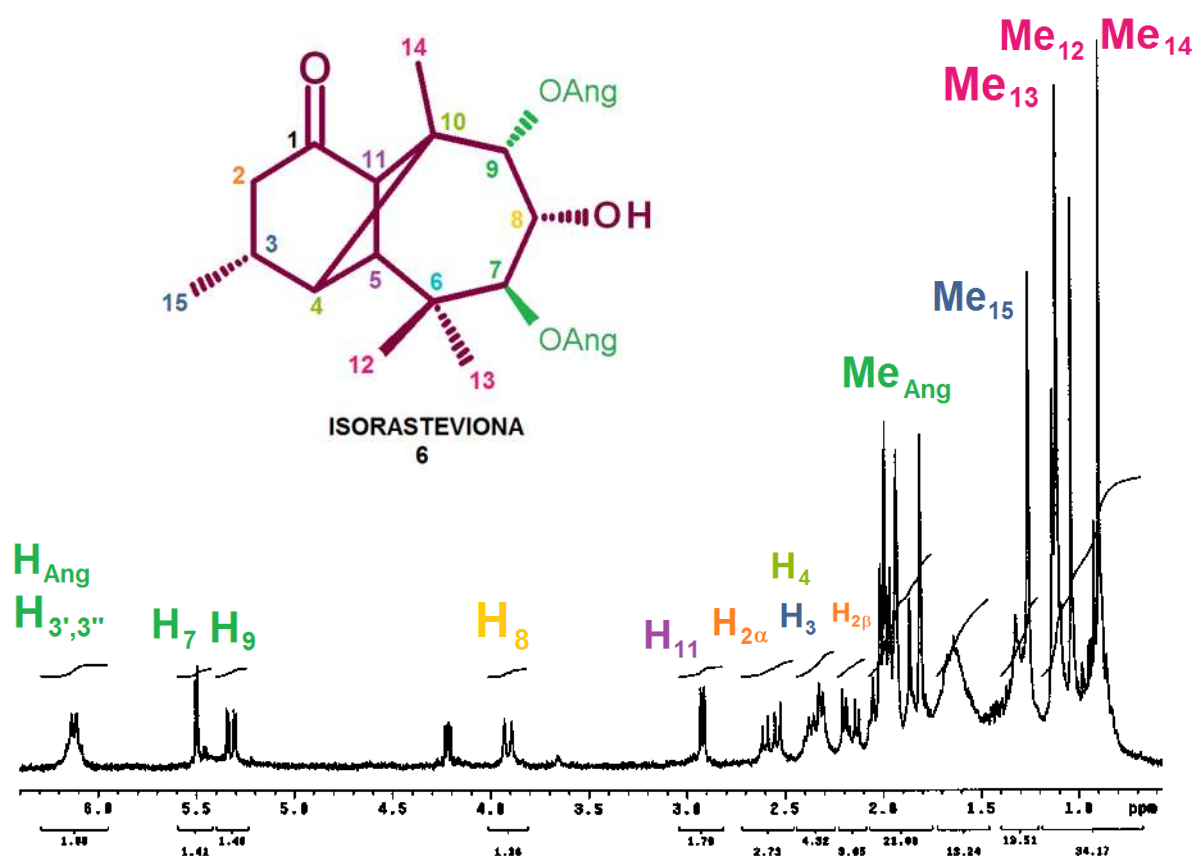
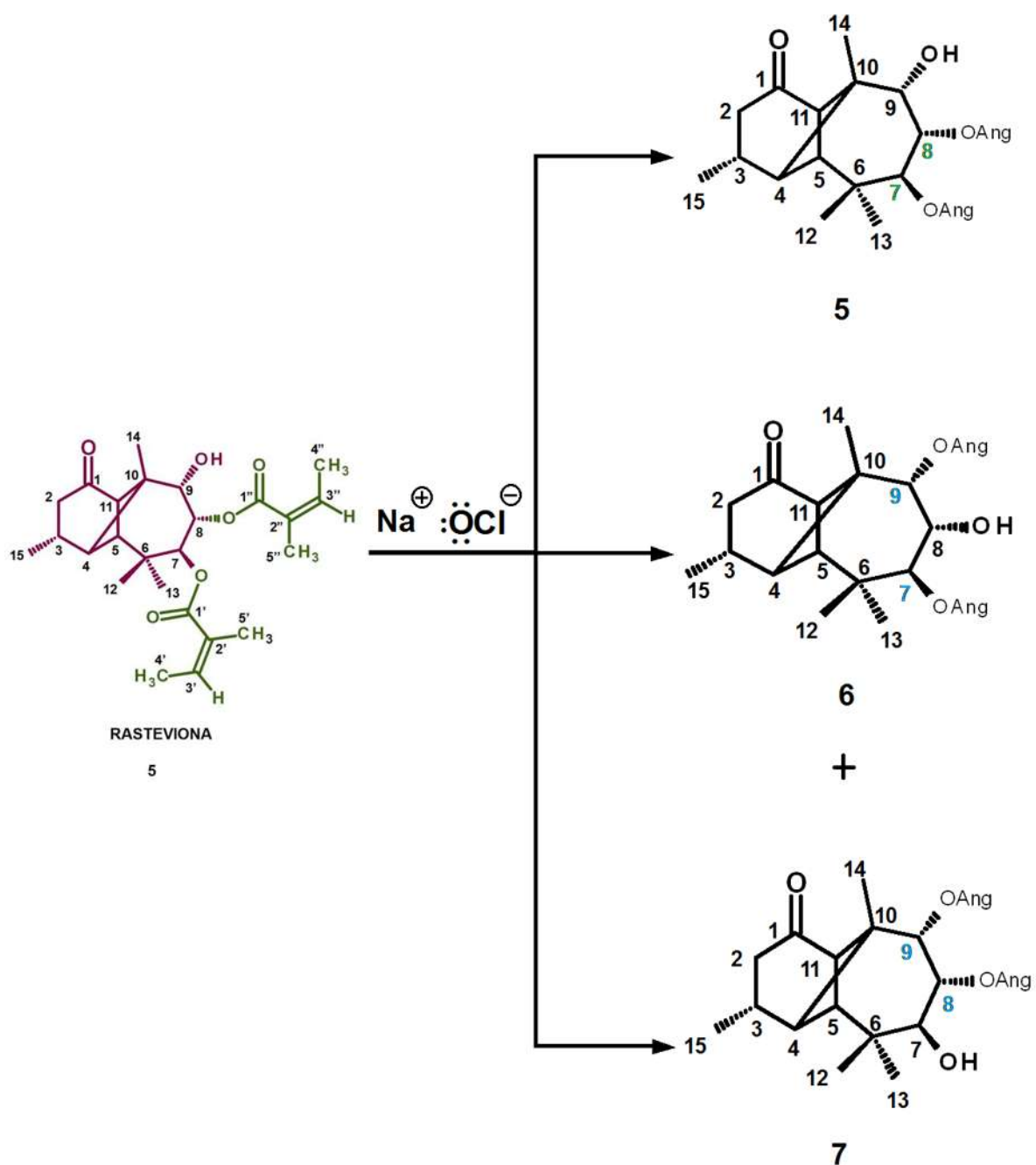


Figura 9.- Espectro de RM¹H del producto de reacción (6) de la rasteviona (5) con hipoclorito de sodio.



ESQUEMA XXXVIII REACCIÓN DE LA RASTEVIONA (MIELES) (5) CON EL HIPOCLORITO DE SODIO.

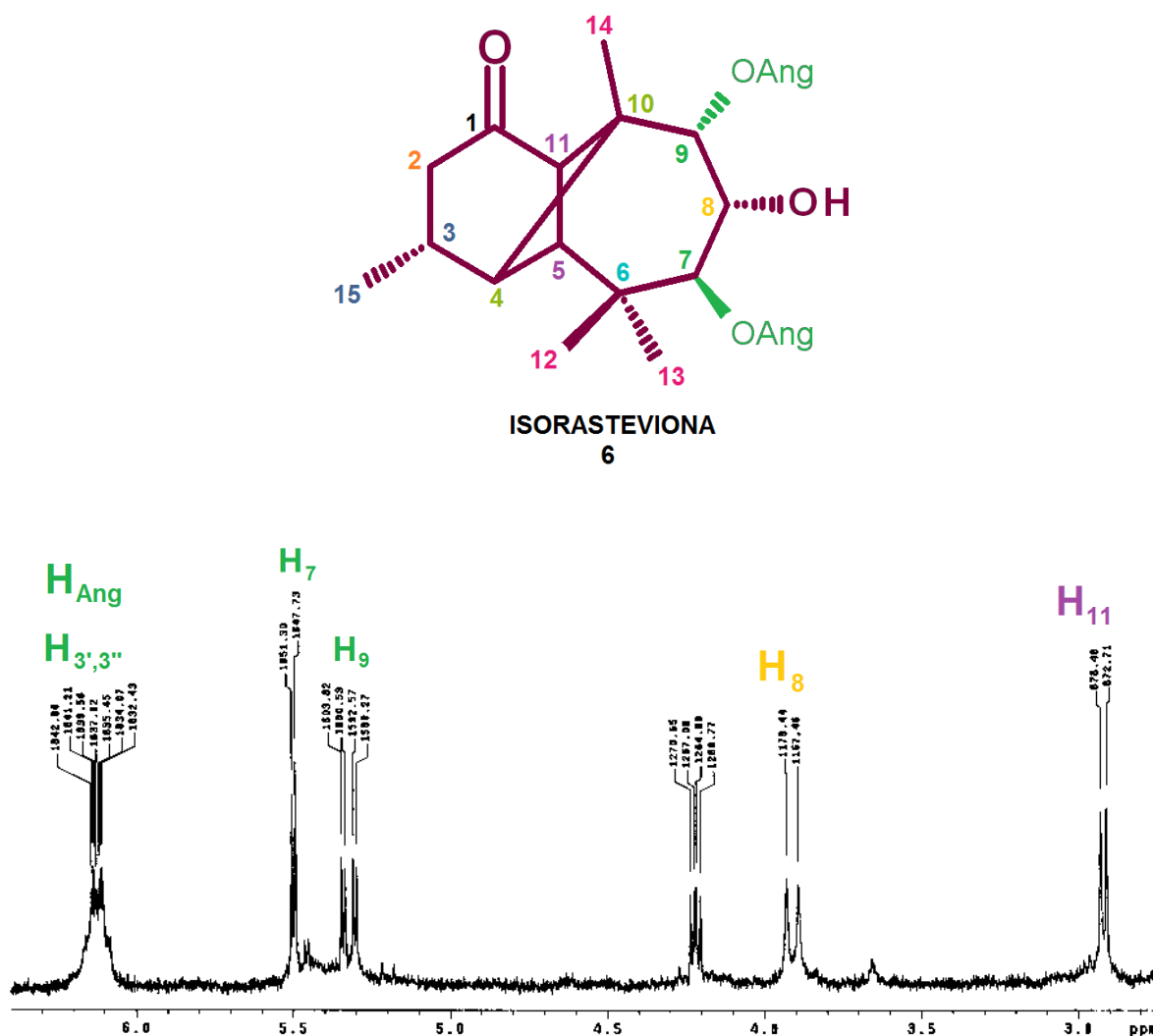


Figura 10.- Ampliación del Espectro de RM^1H en la región de 3.8 a 6.3 ppm del producto de reacción (6) de rasteviona (5) con hipoclorito de sodio.

Además, en una ampliación del espectro en la región entre 3.8 y 6.3 ppm, mostrada en la **Figura 10**, pudo apreciarse más claramente una señal doble desplazada en $\delta 5.50$, con una constante de acoplamiento de $J = 3.6$ Hz, correspondiente al hidrógeno base del angelato H-7, que en el espectro de la rasteviona se encontraba como una señal simple aguda y traslapada con el H-8, pero ahora este hidrógeno H-8 en (6), debido a una transesterificación, es protón base de un oxhidrilo, por lo que su señal



se encuentra en otra región desplazada en $\delta 3.91$, como una señal doble, con una constante de acoplamiento ($J = 11.0$ Hz) que integró para un hidrógeno.

En tanto que la señal correspondiente al protón base del otro grupo angelato, correspondiente al H-9, su señal ahora se encuentra desplazada en $\delta 5.32$ como una señal doble de dobles, con constantes de acoplamiento ($J = 11.3; 3.30$ Hz) que integraron para un hidrógeno y que en el espectro de la rasteviona se encontró en $\delta 3.82$, por ser base del oxhidrilo, la cual se asignó al hidrógeno H-9; los protones del metileno H-2 α y H-2 β ; H-3; H-4 y los cuatro metilos conservaron el mismo patrón de señales como la rasteviona, con ligeras diferencias en cuanto a sus desplazamientos.

El espectro de RMP de la fracción F-34, colectada a una polaridad de hexano-cloruro de metileno 8:2 es mostrado en la **Figura 11**, en donde puede apreciarse una semejanza con el espectro de la fracción F-29, la cual se encuentra enriquecida con el isómero con el oxhidrilo libre en C-8 y en el que además se muestran las señales base de las otras posiciones en las que se puede encontrar el oxhidrilo libre de los otros isómeros y el resto de las

señales, debido a la semejanza estructural entre los isómeros, guardan el mismo patrón de señales, únicamente con las ligeras diferencias en cuanto a sus desplazamientos. Estas mezclas no fueron separables al cien por ciento y la F-29 fue en la que se encontró uno de los isómeros más enriquecido.

La variación de las condiciones iniciales del tratamiento de la rasteviona (mieles) (5) con hipoclorito de sodio, ahora con adición de hidróxido de sodio, dio una miel correspondiente al producto diclorado (188) mostrado en la **Figura 12**, en la que aparecieron las señales características de la materia prima (5), excepto las señales correspondientes a los hidrógenos de los protones del metileno H-2 α y H2 β , ya que estos hidrógenos fueron sustituidos por cloros.

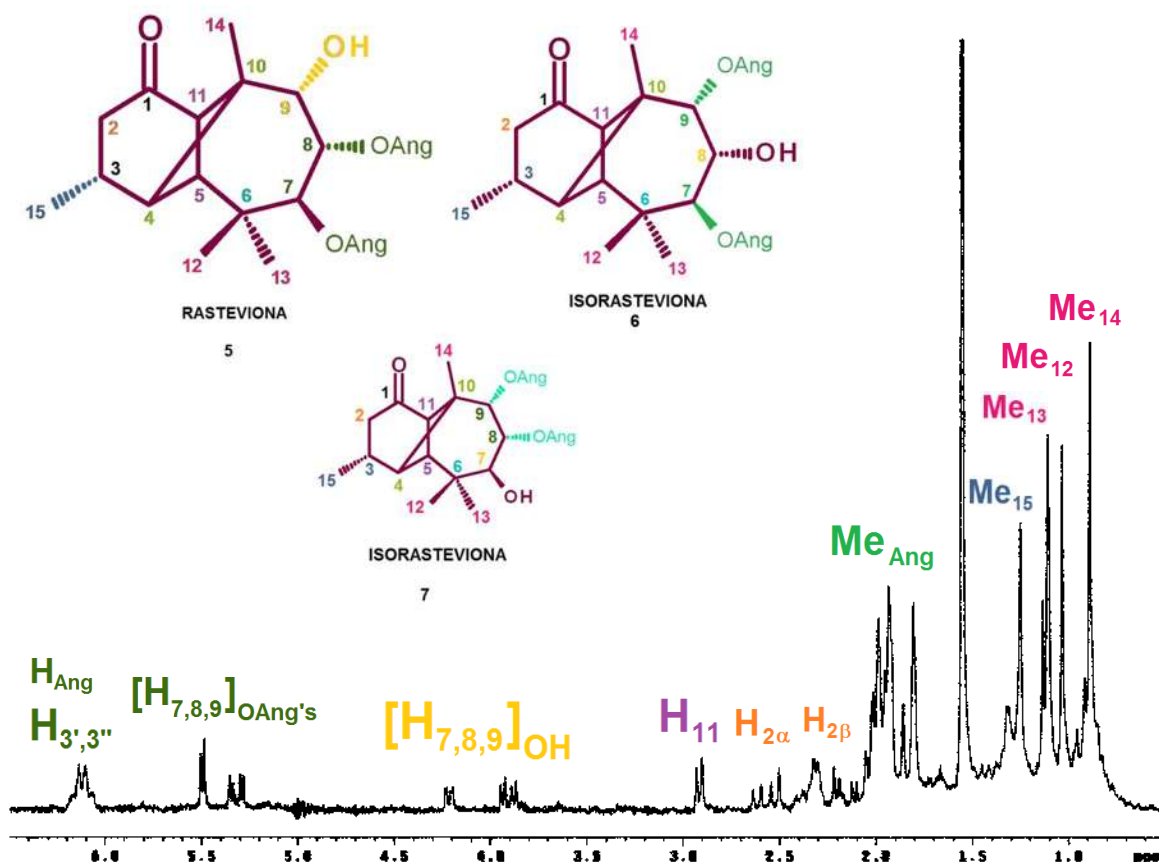
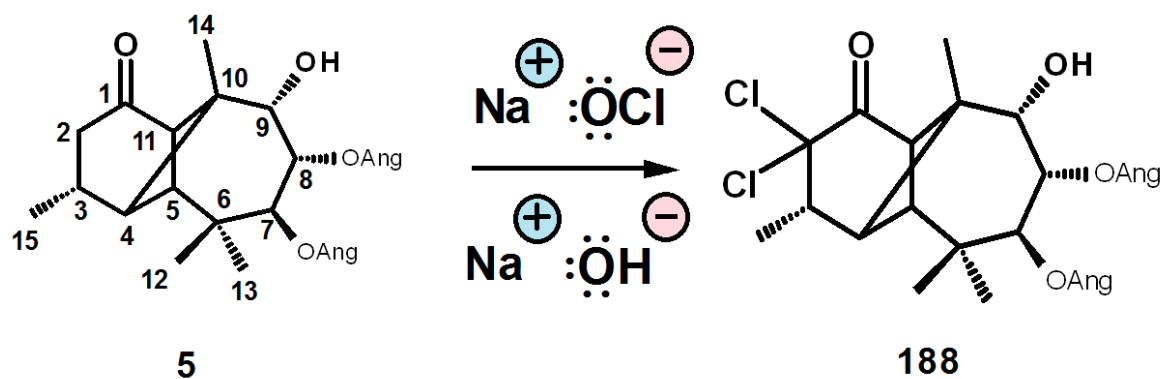
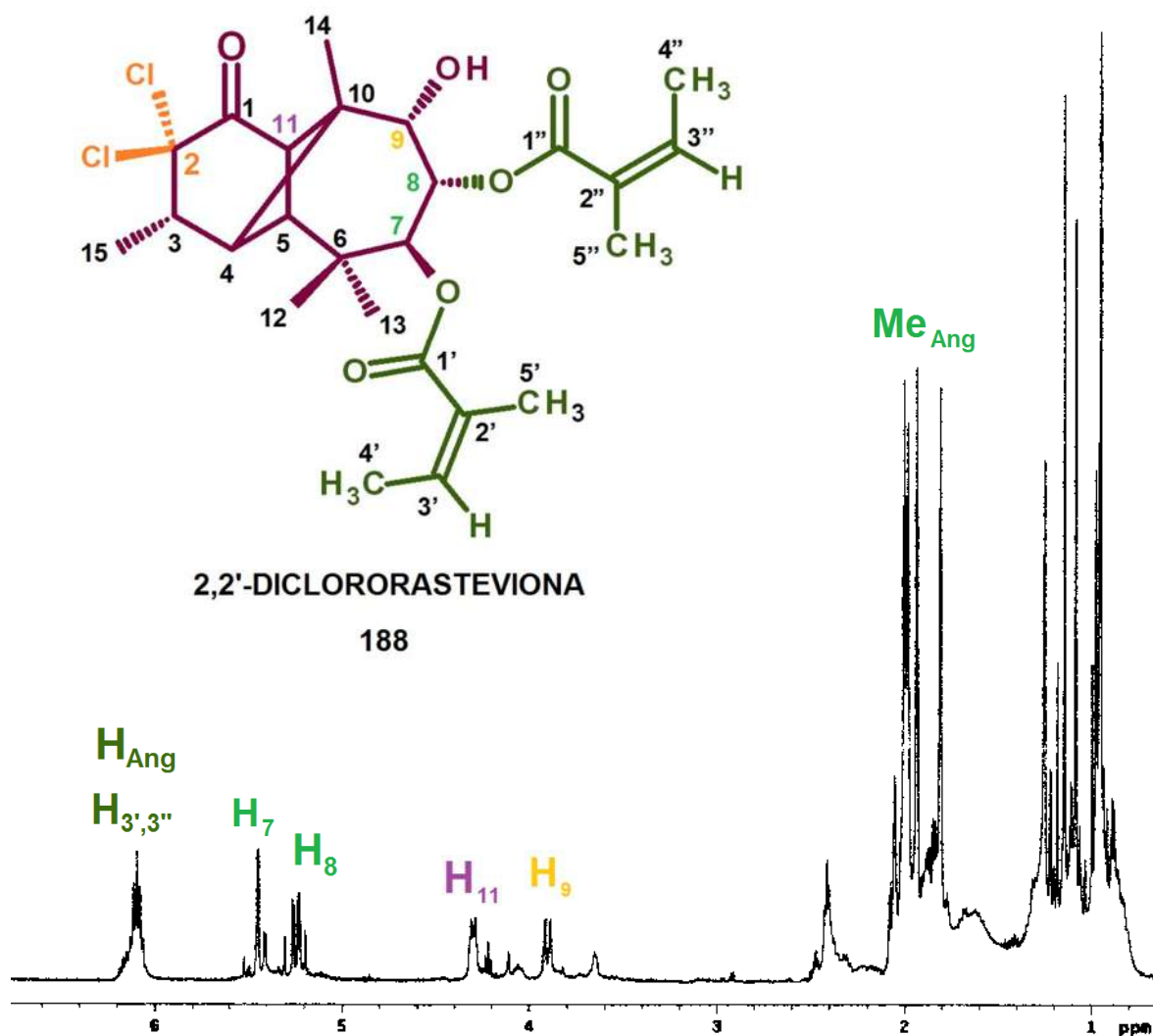


Figura 11.- Espectro de RM¹H de la F-34 de la separación cromatográfica de la mezcla de isómeros (5, 6 y 7), productos de la reacción de rasteviona (5) con hipoclorito de sodio.

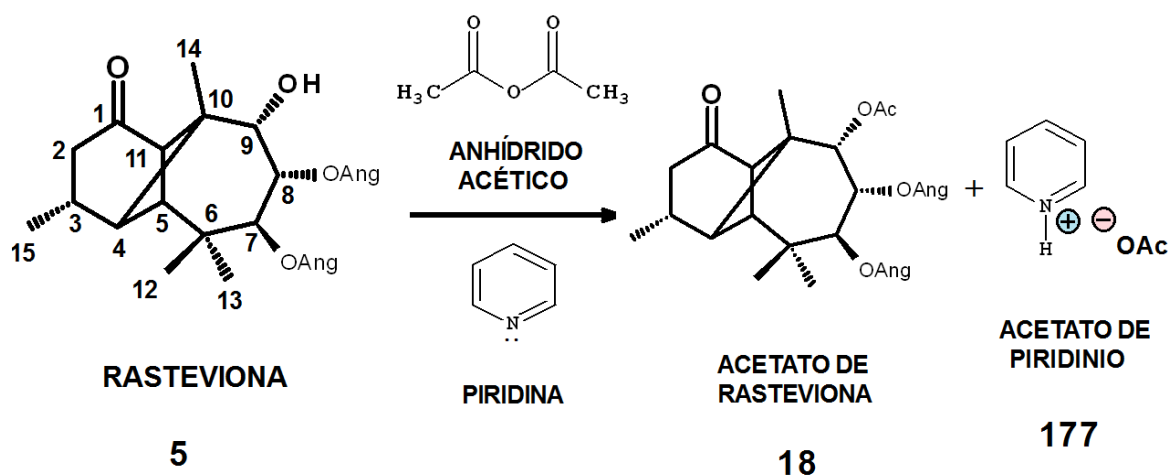


ESQUEMA XXXIX REACCIÓN DE LA RASTEYONA (MIELES) (5) CON HIPOCLORITO DE SODIO Y NaOH.



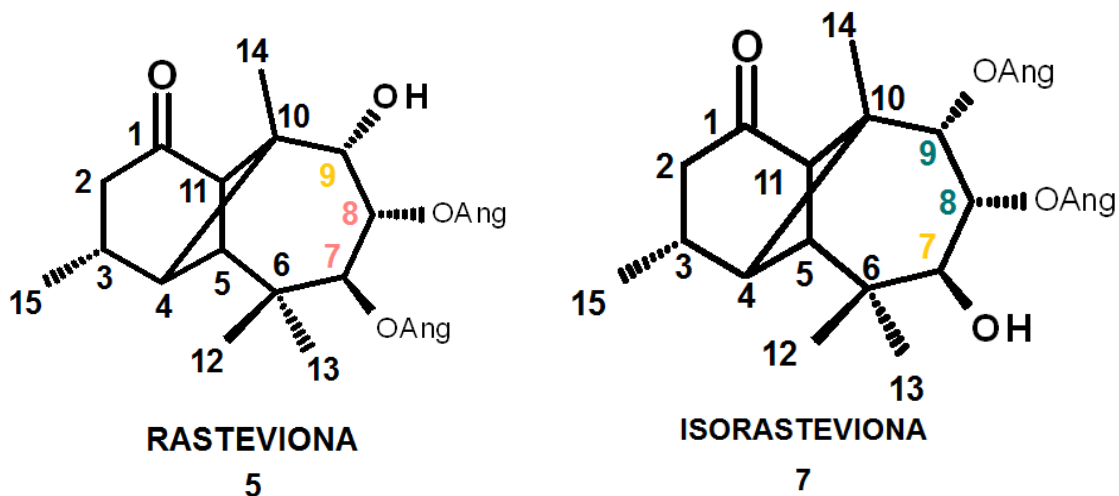
Un procedimiento para obtener los derivados acetilados de la rasteviona (mieles) (**5**) como sólidos cristalinos, es convirtiéndola primero en el acetato de la rasteviona (**18**) y posteriormente las mieles resultantes se purifican mediante una cromatografía en columna; para esto se procesan 4 g de la rasteviona (mieles), que no cristalizaron de los extractos hexánicos de los reflujo de la raíz de *Stevia serrata* Cav., luego se le agregan 20 ml de piridina y finalmente se le añaden 20 ml de Ac_2O , y se les deja reaccionar a la temperatura de un baño maría durante 4 h. La mezcla de reacción se vierte sobre hielo-agua, se le añade AcOEt (acetato de etilo), se separa la capa orgánica y luego a ésta se le hacen varios lavados de una solución de HCl al 10% para quitarle la piridina como su respectivo acetato de piridinio (**177**); posteriormente se lava con una solución saturada de NaHCO_3 para eliminar la acidez remanente y al final con agua para dejar la fase orgánica neutra. Se seca la fase orgánica con Na_2SO_4 anh., se filtra, se evapora y se lleva a sequedad. De la miel anterior, se obtienen 2.5 g de un sólido blanco que, por recristalizaciones sucesivas de cloroformo-hexano, da un sólido blanco cristalino en forma de agujas, de p.f. 169-170 °C, de acetato de rasteviona (**18**).

En el **Esquema XL** se muestra la reacción de la acetilación de la rasteviona (mieles) (**5**), para obtener el acetato de rasteviona (**18**) en forma cristalina.



ESQUEMA XL REACCIÓN DE LA ACETILACIÓN DE LA RASTEVIONA (MIELES) (5**).**

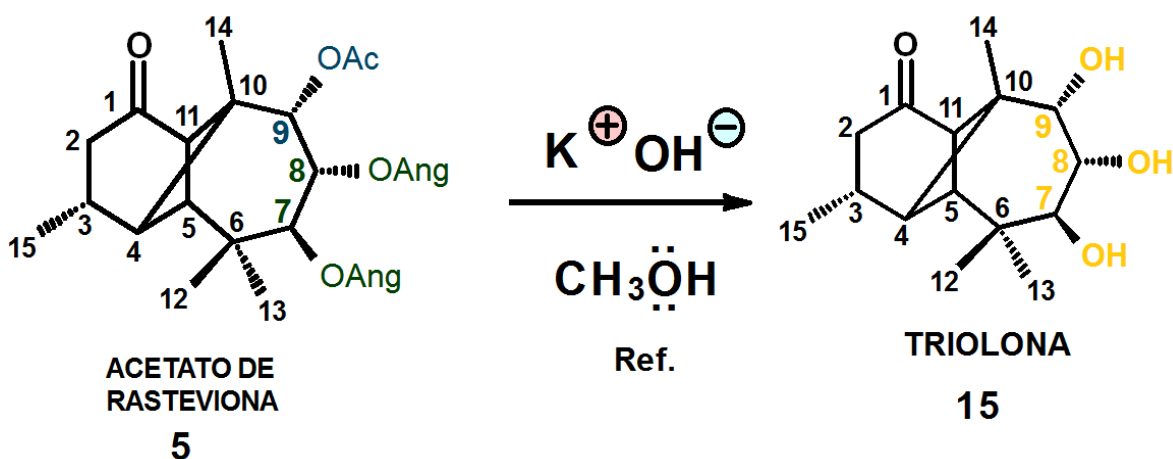
En el **Esquema XLI** se muestra la reacción de la hidrólisis del acetato de rasteviona (**18**), para obtener la triolona (**15**), la cual se obtuvo también de la hidrólisis de la rasteviona mieles (**5**). La reacción de hidrólisis se muestra en el **Esquema XLII** y el espectro de RMN de ^1H del crudo de la reacción es mostrado en la **Figura 13**, en el cual



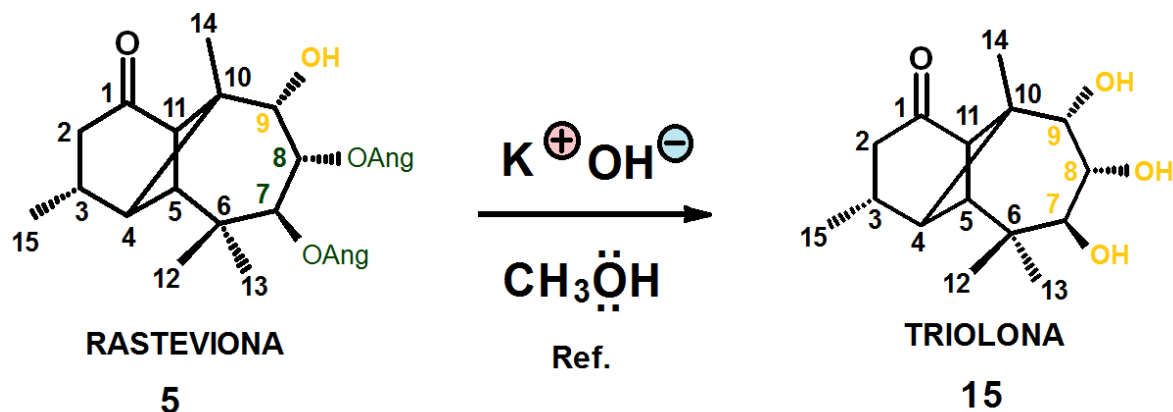
Hidrógeno	δ
H-1	-----
H-2 α	2.58 dd
H-2 β	2.15 dd
H-3	2.36 m
H-4	2.26 d
H-5	1.28 s
H-6	-----
H-7	5.52 s
H-8	5.52 s
H-9	3.82 d
H-10	-----
H-11	3.10 d
Me-12	1.12 s
Me-13	0.94 s
Me-14	1.07 s
Me-15	1.11 d
H-3',H-3'' (Ang)	6.12 m
Me-4',Me-4'' (Ang)	1.99 m
Me-5',Me-5'' (Ang)	1.82 m

Hidrógeno	δ
H-1	-----
H-2 α	2.57 dd
H-2 β	2.16 dd
H-3	2.34 m
H-4	2.25 d
H-5	1.83 s
H-6	-----
H-7	3.84 dd
H-8	5.16 dd
H-9	5.29 d
H-10	-----
H-11	2.92 d
Me-12	0.99 s
Me-13	1.10 s
Me-14	0.85 s
Me-15	1.11 d
Me (Ac-8)	2.04 s
Me (Ac-9)	2.12 s

Tabla II.- Valores de los desplazamientos químicos de los carbonos de la rasteviona (**5**) y la isorasteviona (**7**).



ESQUEMA XLI REACCIÓN DE HIDRÓLISIS DEL ACETATO DE RASTEVIONA (18), PARA DAR LA TRIOLONA (15).



ESQUEMA XLII REACCIÓN DE HIDRÓLISIS DE LA RASTEVIONA MIELES (5), PARA DAR LA TRIOLONA (15).

las bases de oxígeno de los ésteres angélicos, ahora son bases de oxígeno de alcoholes secundarios, por lo que la escala de barrido del espectro solamente llega a un valor menor de 4.0 ppm; en esta región no se encuentran las señales desplazadas entre 1.75 y 2.05 ppm, correspondientes a los metilos de los dos grupos angelóilo, sin embargo, las señales correspondientes a las bases de los tres oxhidrilos secundarios en C-7 ; C-8 y C-9, ahora se encuentran desplazadas en δ 3.83 como una señal múltiple, correspondiente al H-8, en tanto que la señal doble desplazada en δ 3.80, correspondió al H-9, mientras que el H-7 se observó en δ 3.66 como una señal doble con una constante de acoplamiento $J= 10.4$ Hz.

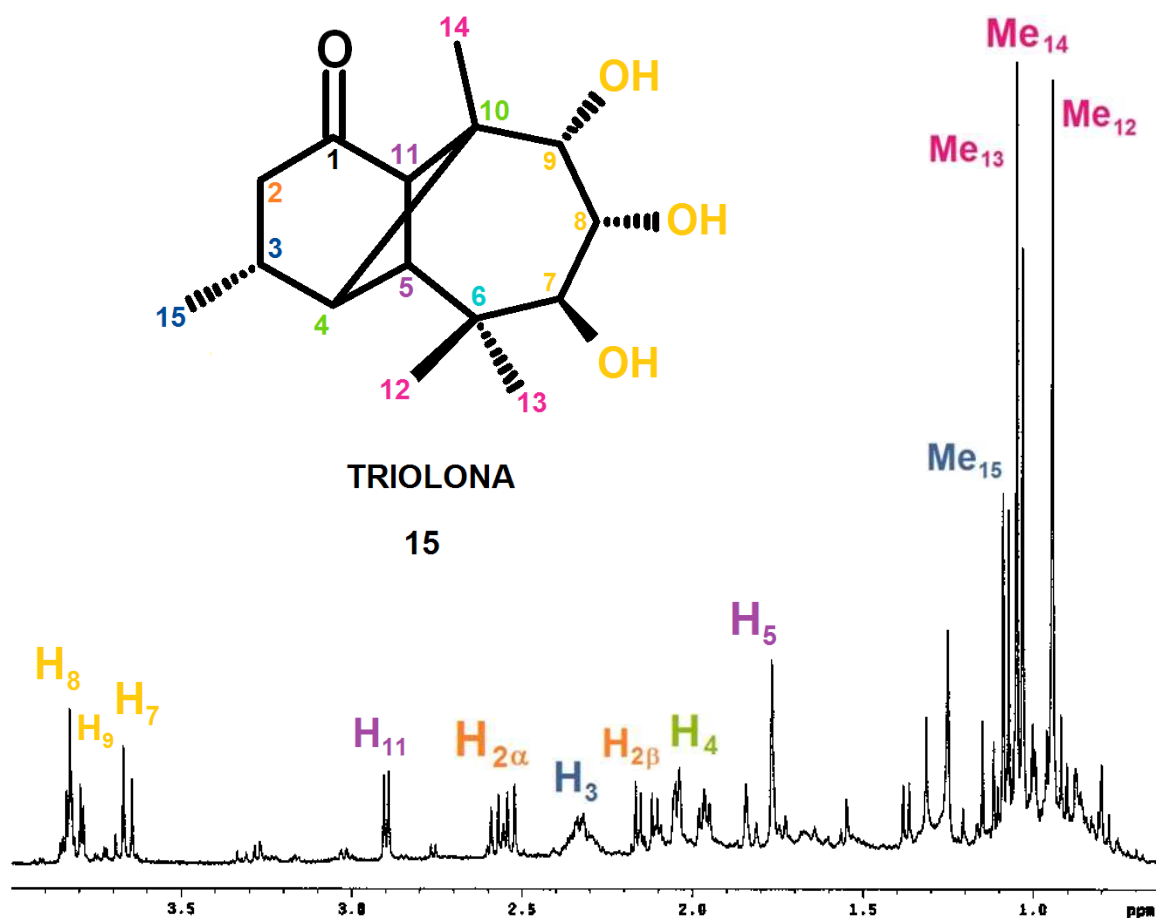


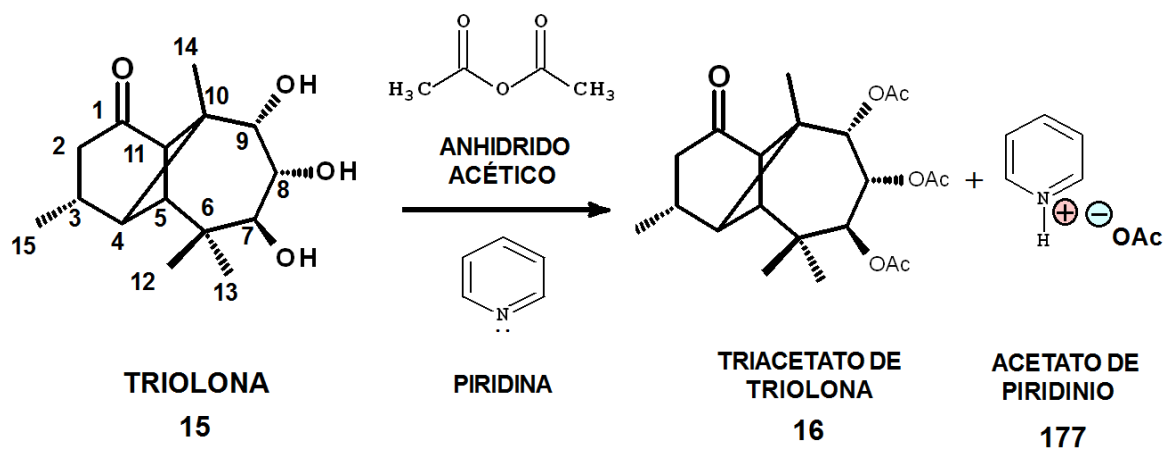
Figura 13.- Espectro de RM¹H de la triolona (15), sin purificar, obtenida de la reacción de las mieles de rasteviona (5).

El protón metínico, desplazado a campo más alto, correspondió al H-5, el cual apareció como una señal simple aguda en δ 1.77, y es característica del sistema del longipinano. En δ 2.05 y δ 2.89 aparecieron dos señales dobles mutuamente acopladas, las cuales presentan una constante de acoplamiento $J = 5.6$ Hz, correspondientes a los protones metínicos H-4 y H-9, también característicos del sistema de longipinano. Además, el protón metínico H-3 base del metilo secundario apareció como una señal múltiple ensanchada, desplazada en δ 2.34. Las señales correspondientes a los protones del único metileno de la estructura de la triolona (15) se observaron claramente como dos señales dobles de dobles, una desplazada en δ 2.56 con constantes de acoplamiento ($J = 19.1, 8.5$ Hz) correspondiente al protón H-2 α y el otro protón del metileno se observó con un desplazamiento en δ 2.14, con constantes de acoplamiento ($J = 19.1, 6.2$ Hz), correspondiente al protón H-2 β , respectivamente.

Las señales de los cuatro metilos de la triolona (**15**) se observaron en la región a campo alto, entre 0.8 y 1.25 ppm, en la que aparecieron tres señales altas desplazadas en δ 1.05, δ 1.04 y δ 0.95 como señales simples, que integraron para tres protones cada una y que fueron asignadas a los tres metilos terciarios Me-12, Me-14 y Me-13, respectivamente. Además, en δ 1.08 apareció una señal doble, con una constante de acoplamiento de $J = 6.8$ Hz, correspondiente al metilo secundario Me-15, la cual pudo apreciarse claramente, ya que ahora no se encuentra traslapada con las señales de los dos metilos terciarios desplazados en δ 1.11 y δ 1.05, como se puede apreciar en la ampliación del espectro de la rasteviona, mostrado en la **Figura 6**, de la página 94.

Para la obtención de los derivados di y tri acetilados de rasteviona partir de mieles de rasteviona (**5**) o, en su defecto, a partir de acetato de rasteviona (**18**), en las que ambos derivados acetilados se obtuvieron como sólidos cristalinos, y en la obtención del triacetato de triolona (**16**), se preparó una solución de 1 g de triolona mieles (**15**), que fue disuelta en 6 ml de piridina y 6 ml de anhídrido acético; se le deja reaccionar calentando la mezcla de reacción a baño maría durante 3 h; posteriormente la mezcla de reacción se vierte sobre hielo en un embudo de separación de 125 ml, al que luego se le agrega acetato de etilo (AcoEt); posteriormente la fase orgánica se separa de la acuosa y a la solución de AcOEt se le hacen lavados sucesivos con agua, y luego se hacen lavados con una solución de HCl al 10 %, luego nuevamente se lava con agua y, en seguida, con una solución saturada de NaHCO_3 , finalmente se lava con agua, para asegurarse que la fase orgánica quede neutra; se seca la fase orgánica con Na_2SO_4 anh. y se filtra, la solución cristalina se evapora hasta sequedad y se obtiene un aceite ligeramente amarillento, del cual solidifican aproximadamente 750 mg de un sólido cristalino que, mediante cristalizaciones sucesivas de cloroformo-hexano (el proceso se repite las veces necesarias, hasta obtener el sólido blanco cristalino de punto de fusión óptimo), los cristales se presentaron en forma de agujas de p.f. 150-152 °C, correspondiente al triacetato de triolona (**16**).

Su espectro de RMN de ^1H es mostrado en la **Figura 14**, en el que aparecieron las tres señales simples altas, correspondientes a los metilos de los tres grupos acetato, desplazadas en δ 1.96, δ 2.07 y δ 2.16, en tanto que los protones metínicos base de estos acetatos aparecieron desplazadas en δ 5.35 como una señal doble, con constante de acoplamiento $J = 6.8$ Hz, correspondiente al protón H-7. En δ 5.29 se observó una señal doble de dobles, con constantes de acoplamiento ($J = 11.3, 3.0$ Hz), correspondiente al protón H-8 y en δ 5.23 apareció una señal doble, con una constante de acoplamiento $J = 3.0$ Hz, correspondiente al protón H-9.



ESQUEMA XLIII OBTENCIÓN DEL TRIACETATO DE LA TRIOLONA (16), MEDIANTE ACETILACIÓN DE LAS MIELES DE TRIOLONA (15).



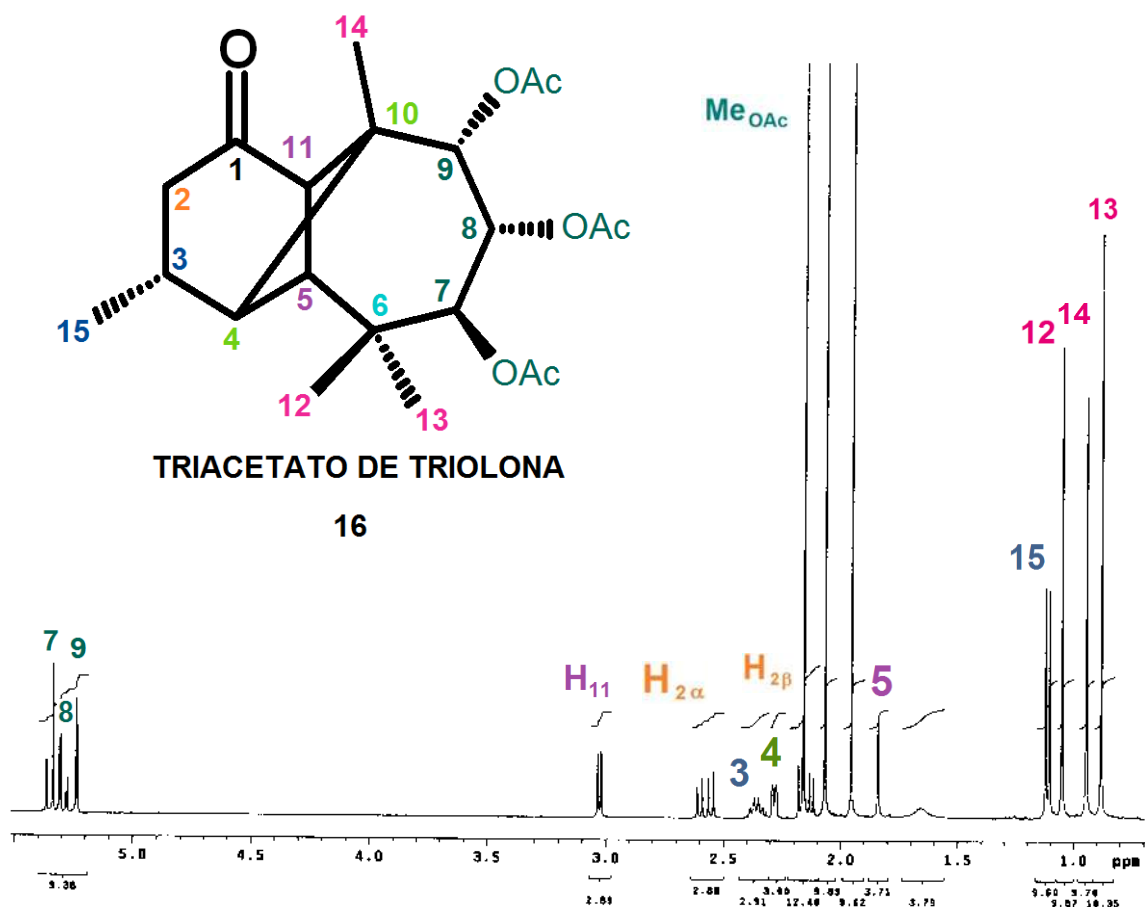


Figura 14.- Espectro de RM¹H del triacetato de triolona (16), obtenido de la acetilación de las mieles de rasteviona (5).

Nuevamente el protón metínico que se encontró desplazado a campo más alto correspondió al H-5, característica del sistema del longipinano, el cual apareció como una señal simple aguda en δ 1.85. También en δ 2.28 y δ 3.03 aparecieron las dos señales dobles mutuamente acopladas, que presentan ahora una constante de acoplamiento $J = 5.7$ Hz, para el protón metínico H-4, y $J = 5.6$ Hz, para el protón metínico H-11, también característicos del sistema de longipinano. Además, el protón metínico H-3 base del metilo secundario, apareció como una señal múltiple ensanchada, desplazada en δ 2.36. Estas señales pueden apreciarse más claramente en una ampliación del espectro de RMP en la región entre 1.7 y 2.4 ppm, mostrado en la **Figura 15**. En el espectro, las señales correspondientes a los protones del único metileno de la estructura del triacetato de triolona (16), en la que se observó la señal doble de dobles desplazada en δ 2.58, con constantes de acoplamiento ($J = 19.1, 8.6$ Hz) correspondiente al protón H-2 α , como puede apreciarse más claramente en una ampliación del espectro de RMP, mostrado en la **Figura 16**; en tanto que el otro protón del metileno se observó como una señal doble de dobles, desplazada en δ 2.14, con constantes de acoplamiento ($J = 19.1, 8.6$ Hz), correspondiente al protón H-2 β ,

traslapada con la señal más desplazada en δ 2.16, del metilo de un grupo acetato, lo que puede ser apreciado más claramente en la ampliación del espectro de RMP de la Figura 15.

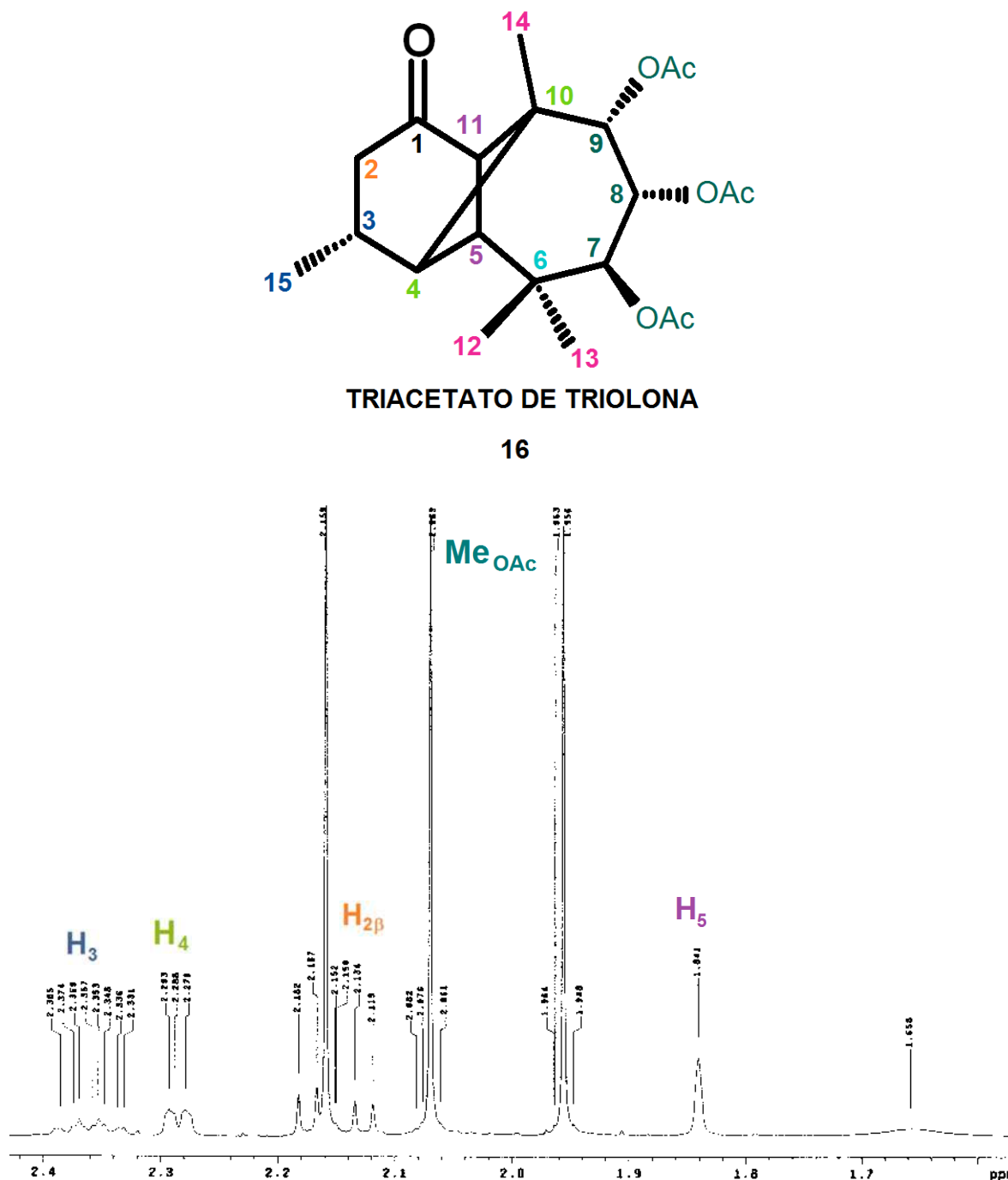


Figura 15.- Ampliación del Espectro de RM^1H en la región de 2.5 a 3.3 ppm, del producto de acetilación de triolona (16).

Las señales correspondientes de los cuatro metilos que posee el triacetato de triolona (**16**), se observaron en la región a campo alto, entre 0.8 y 1.20 ppm, en la que aparecieron tres señales altas desplazadas en δ 1.05; δ 0.95 y δ 0.88, que integraron para tres hidrógenos cada una y son mostradas en una ampliación del espectro de RMP, en la región entre 0.7 y 1.14 ppm de la Figura 17, cuyas asignaciones correspondieron a los tres metilos terciarios Me-13, Me-14 y Me-12, respectivamente, y la señal doble desplazada en δ 1.14, con una constante de acoplamiento de $J = 7$ Hz, correspondiente al metilo secundario *alfa* (Me-15).

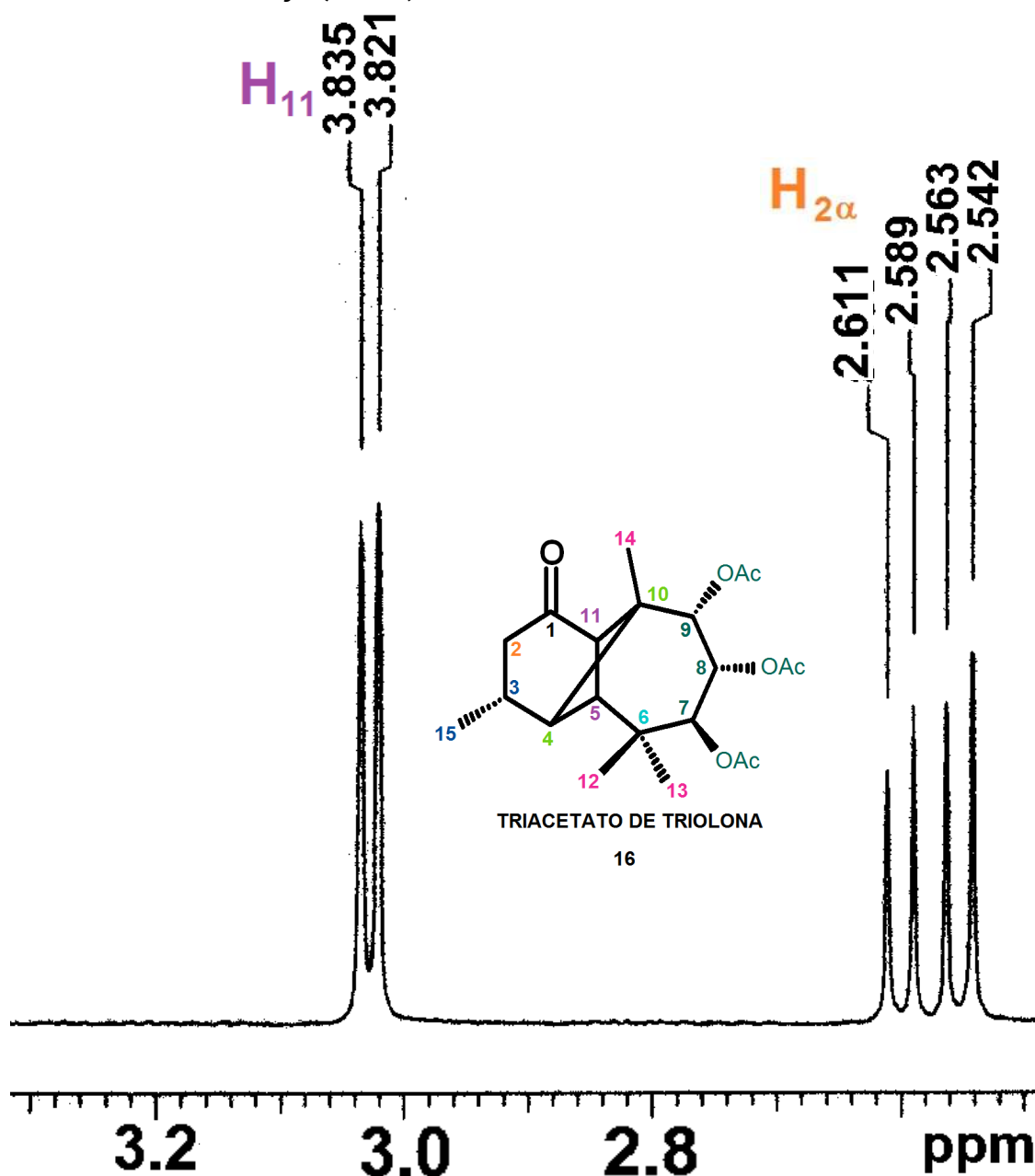


Figura 16.- Ampliación del Espectro de RM¹H en la región de 2.5 a 3.3 ppm del producto de acetilación de triolona (**16**).

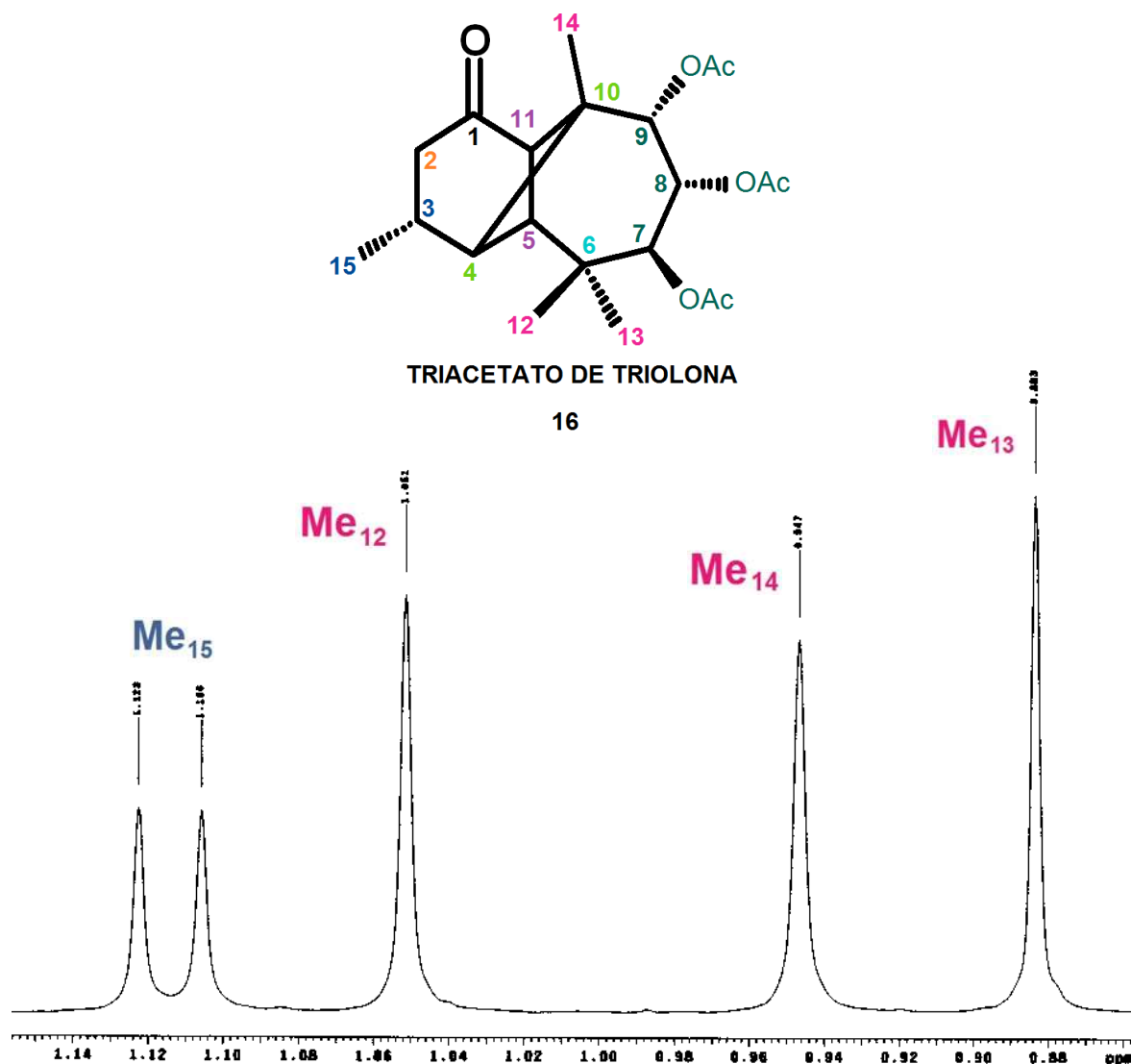
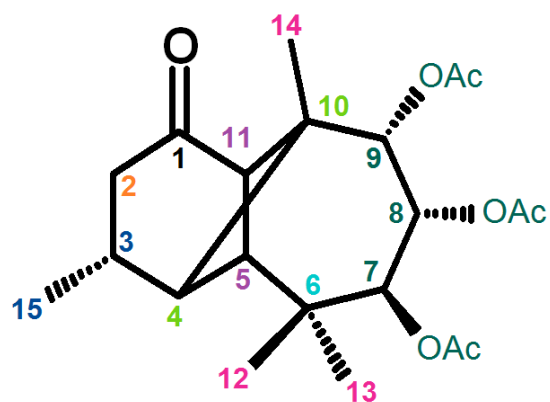


Figura 17.- Ampliación del Espectro de RM¹H en la región de 0.7 a 1.14 ppm, del producto de acetilación de triolona (16).

En una ampliación del espectro HETCOR, en las regiones a campo alto, mostrada en la **Figura 18**, aparecieron claramente las manchas de correlación correspondientes, en donde puede apreciarse que la señal múltiple desplazada en δ 2.36, correspondiente al hidrógeno metínico H-3, base del metilo secundario Me-15, mediante la mancha de correlación, conecta con el carbono respectivo C-3 en δ 26.62, respectivamente.



TRIACETATO DE TRIOLONA

16

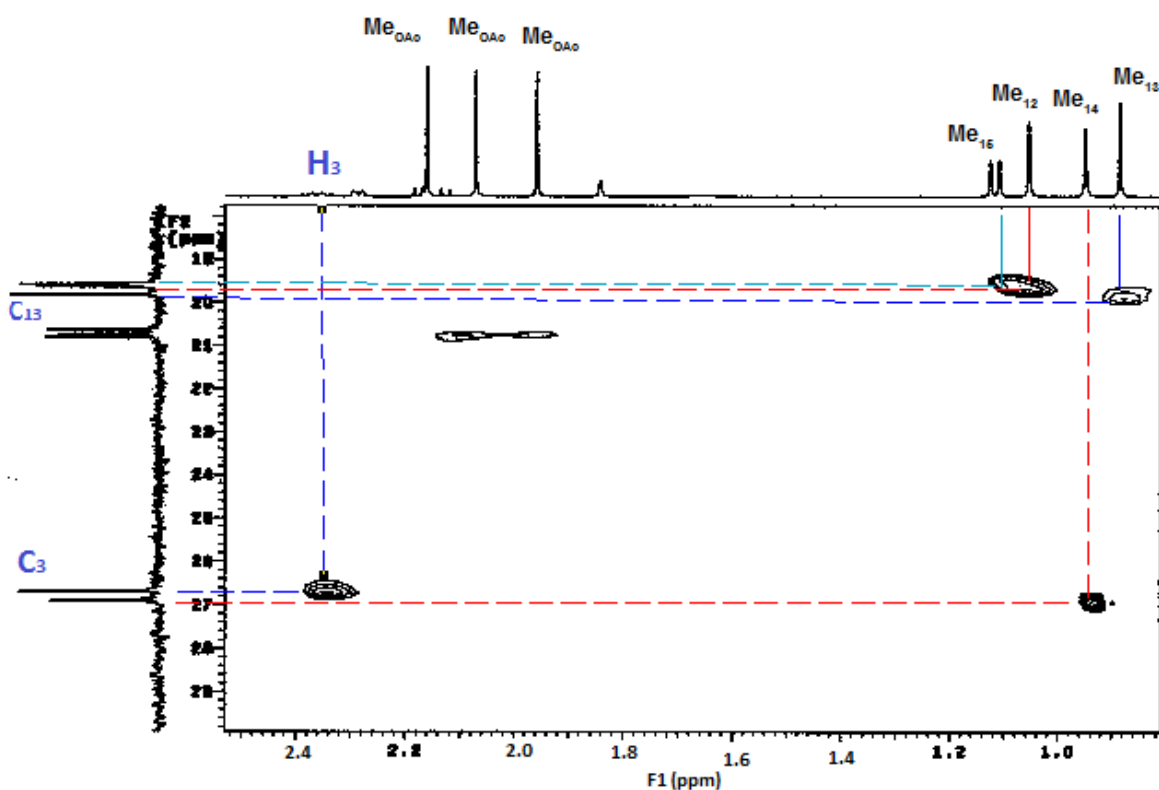
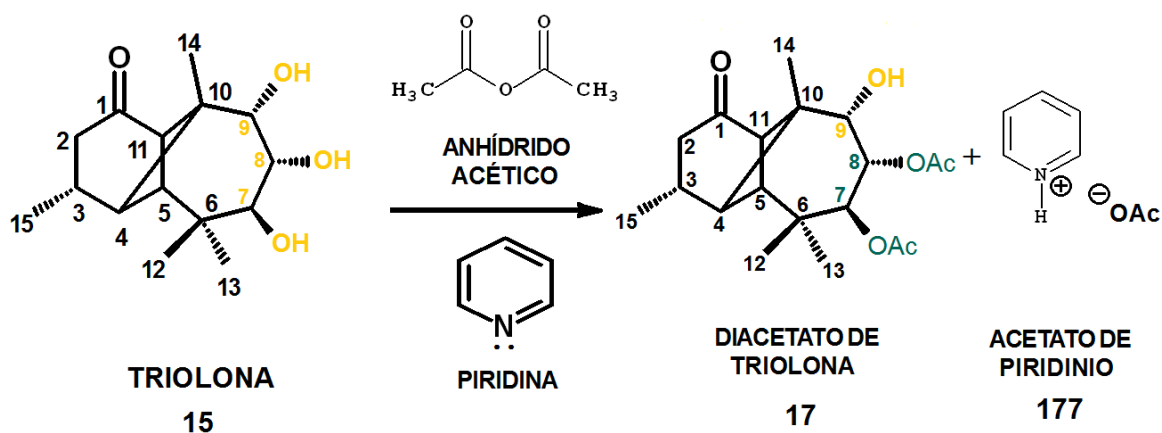


Figura 18.- Ampliación del Espectro de RMN HETCOR en la región de 0.8 a 3.2 ppm y 17 a 55 ppm, del producto de acetilación de triolona (16).

Además, las manchas de correlación para la conectividad de los desplazamientos de las señales de los hidrógenos y los desplazamientos de los respectivos carbonos de los metilos de la estructura de este derivado de longipineno, también pueden apreciarse claramente.

La acetilación selectiva de la triolona (**15**) se llevó a cabo preparando una solución de 1 g de triolona, que se disolvió en 6 ml de piridina y 6 ml de anhídrido acético y, posteriormente, se les dejó reaccionar durante 24 h, en refrigeración a 4 °C.



ESQUEMA XLIV OBTENCIÓN DEL DIACETATO DE LA TRIOLONA (17), MEDIANTE ACETILACIÓN SELECTIVA DE LAS MIELES DE TRIOLONA (15).

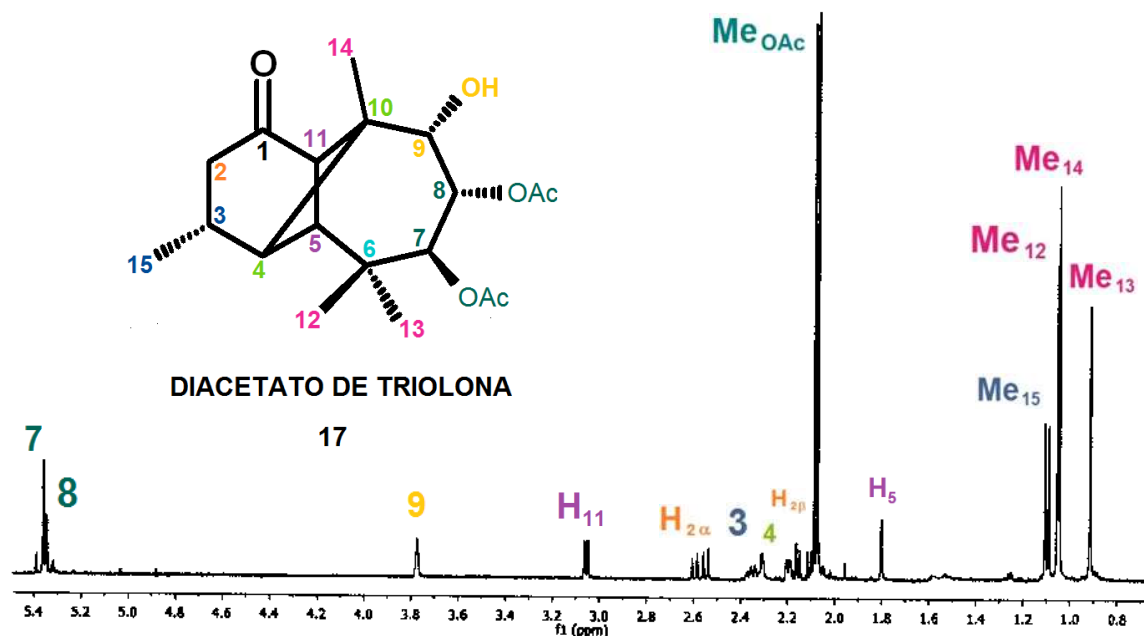
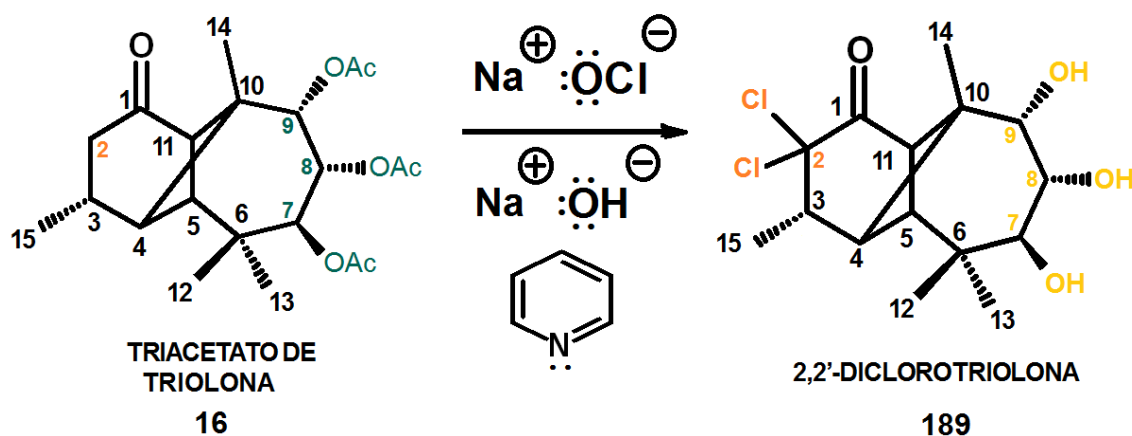


Figura 19.- Espectro de RM¹H del diacetato de triolona (17), obtenido de acetilación controlada de las mieles de triolona (15).

Una vez transcurrido este tiempo, la mezcla de reacción se vierte sobre hielo, en un embudo de separación de 125 ml, se le agrega acetato de etilo (AcOEt), se deja transcurrir corto tiempo con agitación suave, posteriormente la fase orgánica se lava con agua y luego se hacen cinco lavados con solución de HCl al 10 %; nuevamente se lava con agua y con solución saturada de NaHCO₃, y por último con agua; se seca la fase orgánica con Na₂SO₄ anhidro y se filtra; la solución cristalina se evapora y se lleva a sequedad. Se obtiene un aceite ligeramente amarillento, del cual solidifican 900 mg de un sólido cristalino que, mediante cristalizaciones sucesivas de cloroformo-hexano, produce un sólido blanco cristalino en forma de agujas, de p.f. 183-185 °C. Su espectro de RMP es mostrado en la **Figura 19**.

La cloración del triacetato de la triolona (**16**) se llevó a cabo en condiciones básicas utilizando NaOH e NaOCl en presencia de piridina, variando las proporciones del hidróxido de sodio y del hipoclorito de sodio. En la **Figura 20** se muestra el espectro de RMP del producto obtenido correspondiente a la 2,2'-diclorotriolona (**189**), en donde las señales correspondientes a los tres metilos de los grupos acetato, que en el triacetato de la triolona (**16**) aparecían desplazadas en δ 1.96, δ 2.07 y δ 2.16, ahora ya no se encuentran, y sus señales, base de los acetatos, están desplazadas en δ 5.35 (d; J = 6.8 Hz), debida al protón H-7.



ESQUEMA XLV OBTENCIÓN DEL 2,2'-DICLOROTRIOLONA (189), A PARTIR DEL TRIACETATO DE TRIOLONA (16).

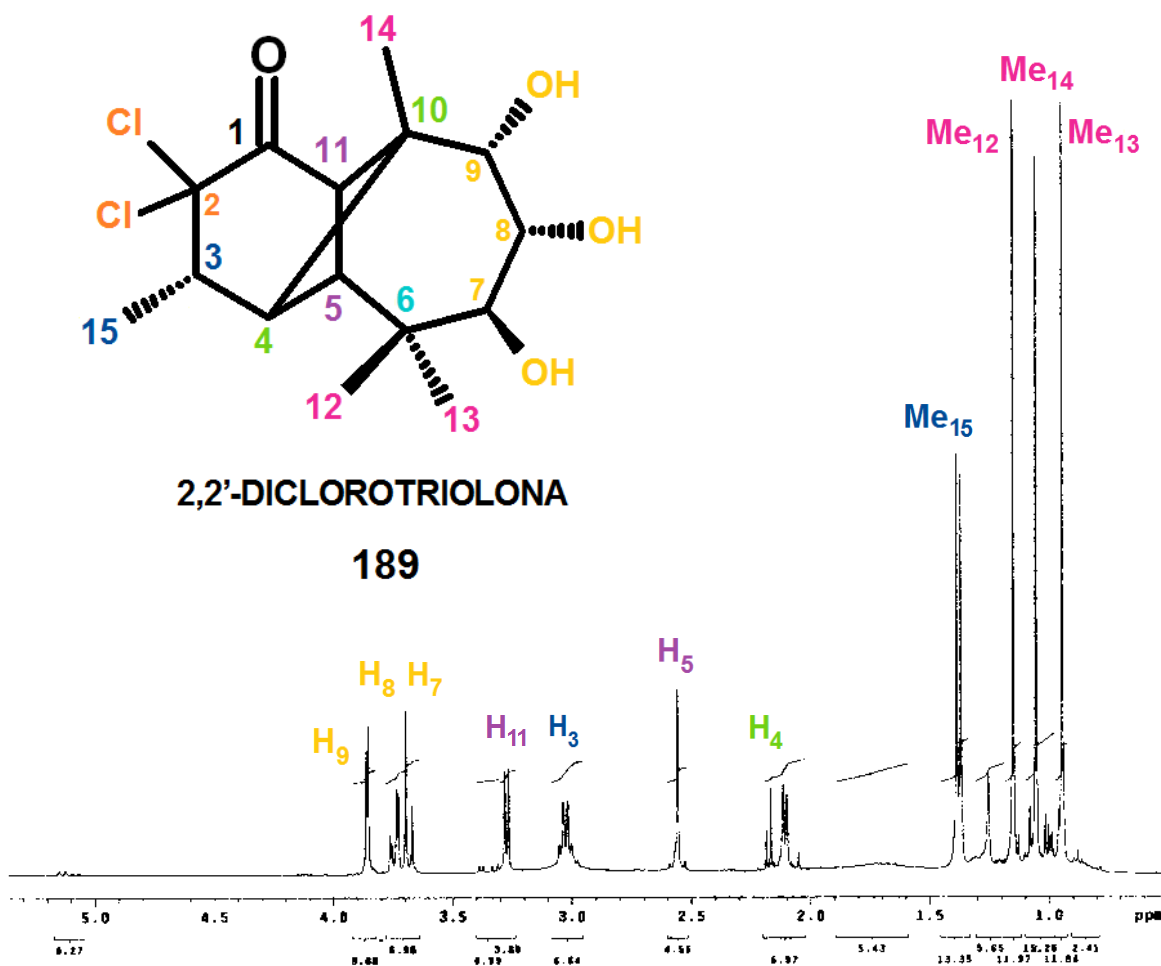


Figura 20.- Espectro de RM¹H del 2,2'-diclorotriolona (189).

En $\delta 5.29$ se aprecia una señal (dd; $J = 11.3, 3.0$ Hz), correspondiente al protón H-8 y en $\delta 5.23$ otra (d; $J = 3.0$ Hz), correspondiente al protón H-9, las cuales ahora se encuentran desplazadas en $\delta 3.68$ (d; $J = 6.8$ Hz) debida al protón H-7; en $\delta 3.75$ (dd; $J = 11.3, 3.0$ Hz) correspondiente al protón H-8 y en $\delta 3.86$ (d; $J = 3.0$ Hz) correspondiente al protón H-9 por ser base de grupos oxhidrilo, en tanto que las señales en $\delta 2.12$ y $\delta 3.27$ aparecieron nuevamente como dos señales dobles mutuamente acopladas; una de ellas, la correspondiente al protón metínico H-11, desplazada en $\delta 3.27$ (d; $J = 5.6$ Hz), se corrió hacia campo más bajo, ya que en el triacetato de triolona (**16**) se encontraba en $\delta 3.03$, en tanto que la correspondiente al protón metínico H-4 sufrió un ligero desplazamiento hacia campo alto, ya que se encontraba en $\delta 2.28$ y se desplazó a $\delta 2.12$ (d; $J = 5.7$ Hz), además el protón metínico H-3, base del metilo secundario, apareció como una señal múltiple ensanchada, desplazada en $\delta 2.36$ en el triacetato de triolona (**16**), y ahora se encuentra desplazada hacia campo bajo en $\delta 3.03$; el protón H-5 que apareció como una señal simple aguda en $\delta 1.85$ en el triacetato de triolona, ahora se

desplazó hacia campo bajo en $\delta 2.56$; y las señales de los metilos terciarios y el secundario, se pudieron observar claramente.

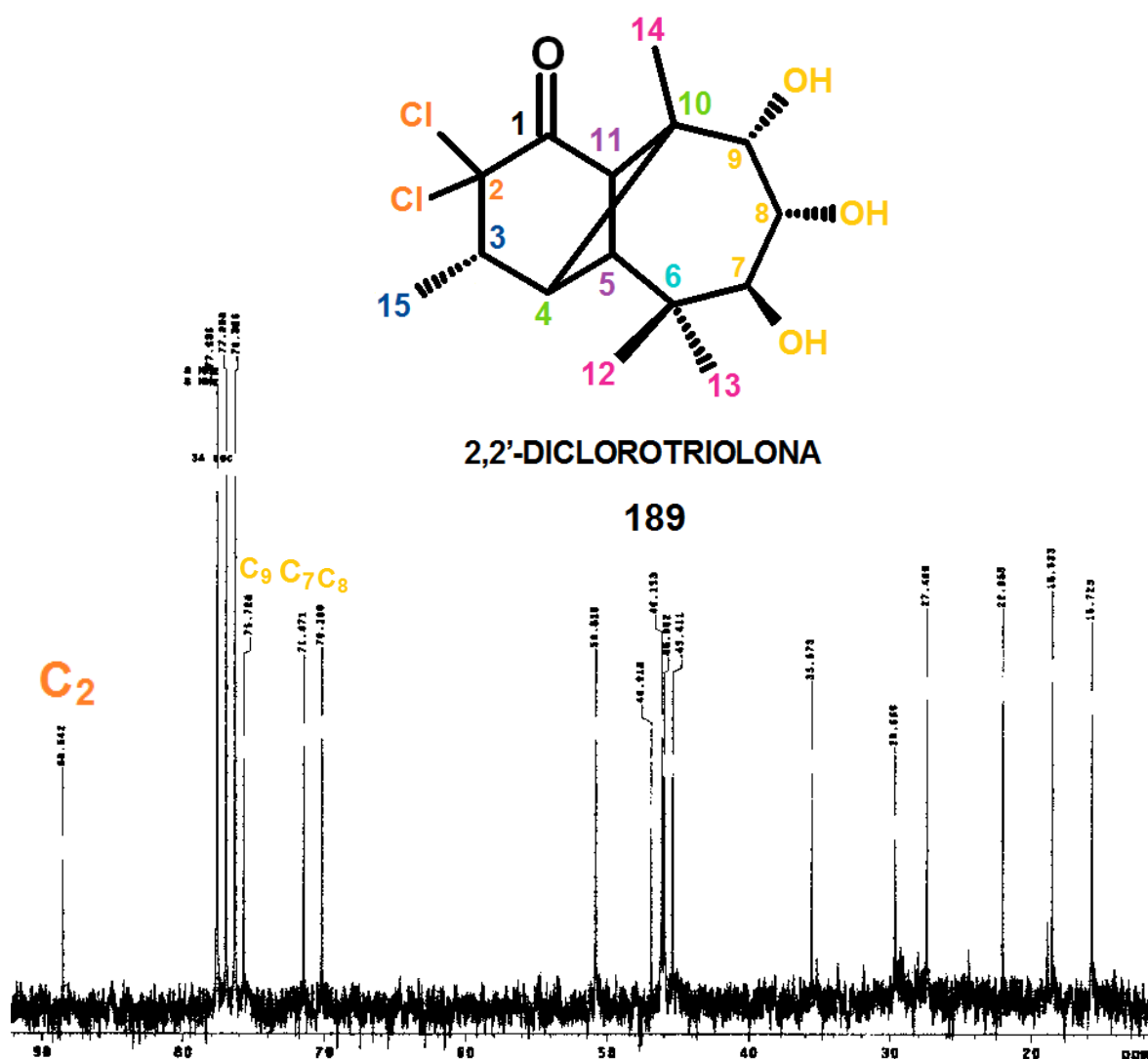


Figura 21.- Espectro de RM ^{13}C del 2,2'-diclorotriolona (189).

Las señales doble de dobles desplazadas en $\delta 2.58$ ($J = 19.1, 8.6$ Hz), correspondiente al protón H-2 α del metileno y en $\delta 2.14$ ($J = 19.1, 8.6$ Hz), del protón H-2 β , en el triacetato de triolona (16), ahora ya no aparecieron, debido a que estos protones fueron sustituidos por cloros.

En la **Figura 21** se muestra una ampliación del espectro de RMN de ^{13}C en la región de los carbonos sp^3 y los carbonos base de oxígeno, en la que las señales significativas fueron los carbonos base de los tres oxhidrilos desplazadas en $\delta 70.20$, $\delta 71.47$ y $\delta 75.73$, correspondientes a los carbonos C-8, C-7 y C-9; las cuatro señales correspondientes a los carbonos cuaternarios desplazadas en $\delta 197.92$ de C-1; $\delta 88.54$ de C-2; $\delta 46.92$ de C-10

y el carbono base del *gem*-dimetilo C-6 apareció en δ 35.57. El resto de las señales son mostradas en la **Figura 22**, correspondiente al espectro DEPT.

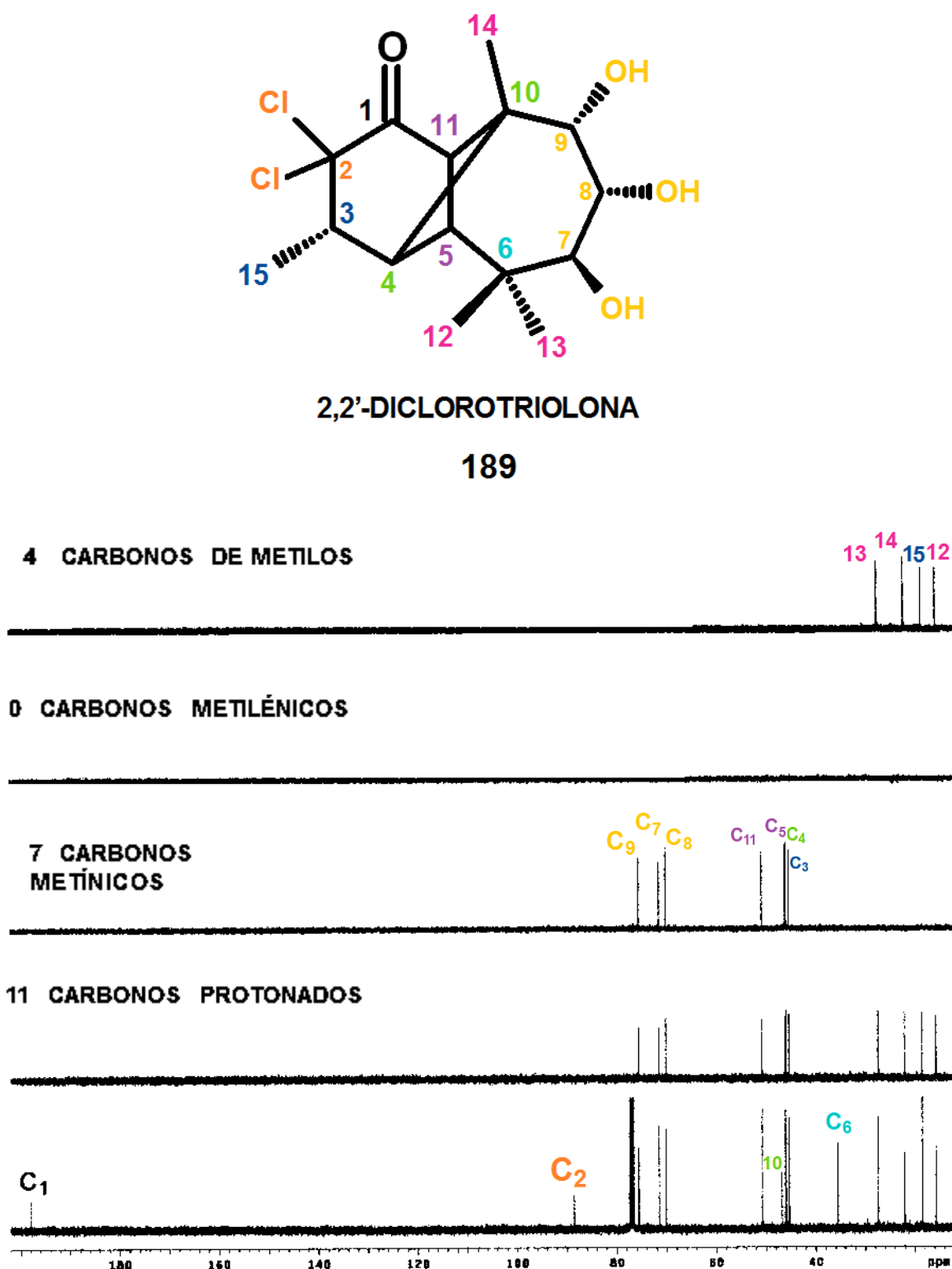
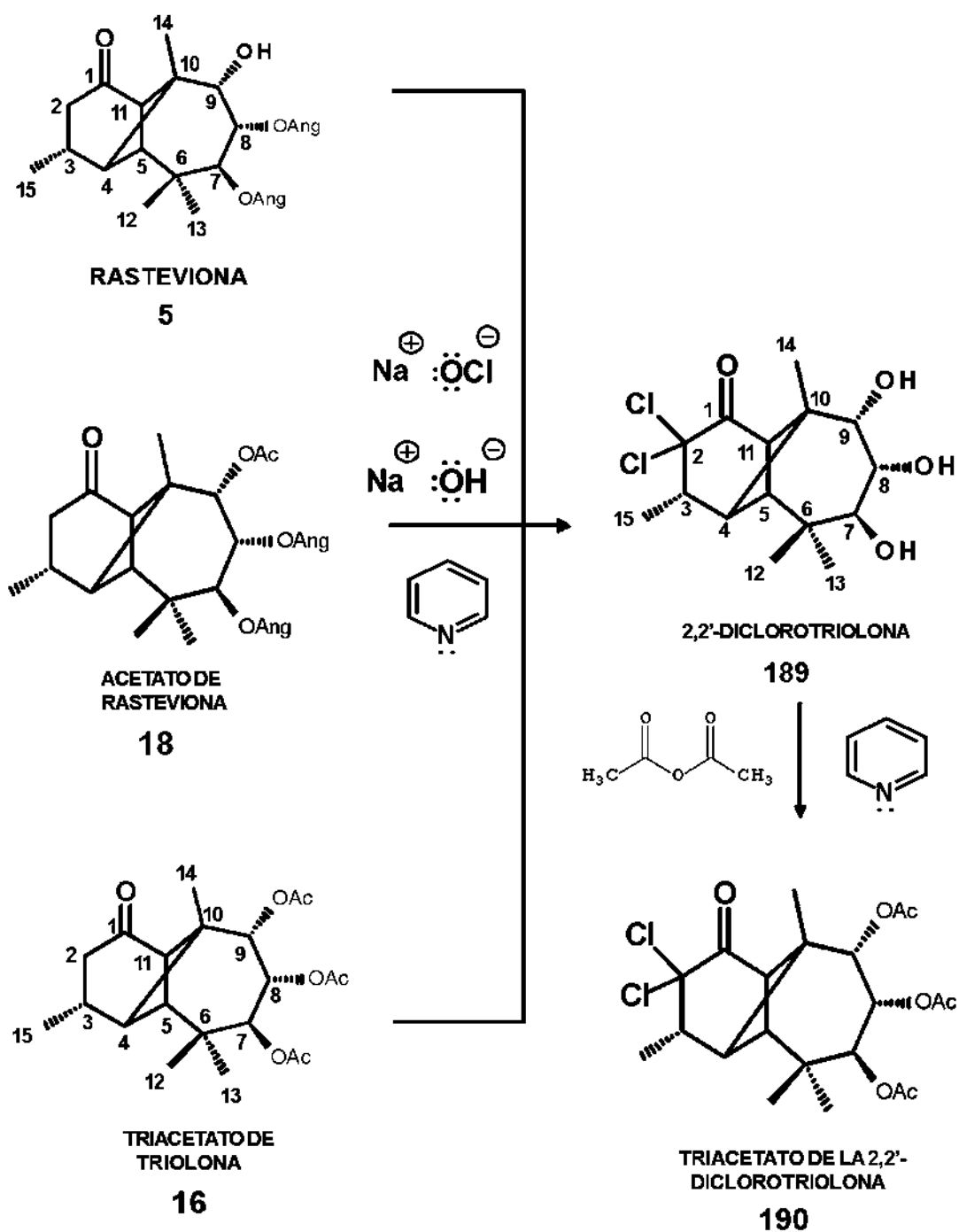


Figura 22.- Espectro de RM^{13}C DEPT del 2,2'-diclorotriolona (189).



ESQUEMA XLVI REACCIONES DE RASTEVIONA MIELES (5) Y DERIVADOS, CON EL HIPOCLORITO DE SODIO.

La obtención del derivado triacetilado de la 2,2'-diclorotriolona (**190**), no se pudo llevar a cabo a partir de la cloración directa del triacetato de la triolona (**15**) ya que, en las condiciones en las que se realiza la cloración, ocurre la hidrólisis de los acetatos y se obtiene la 2,2'-diclorotriolona (**189**). Esto mismo ocurrió al intentar clorar el acetato de la rasteviona (**18**) y la rasteviona misma (**5**). Entonces, el triacetato se obtiene a partir de la acetilación directa de la 2,2'-diclorotriolona (**189**), en las condiciones estándar de acetilación.

En la **Figura 23** se muestra el espectro de RMP del triacetato de la 2,2'-diclorotriolona (**190**), en donde puede apreciarse el traslape de las señales de dos metilos terciarios, el desplazamiento hacia campo bajo de la señal del metilo secundario Me-15 y la no aparición de las señales doble de dobles correspondiente a los hidrógenos H-2 α y H-2 β .

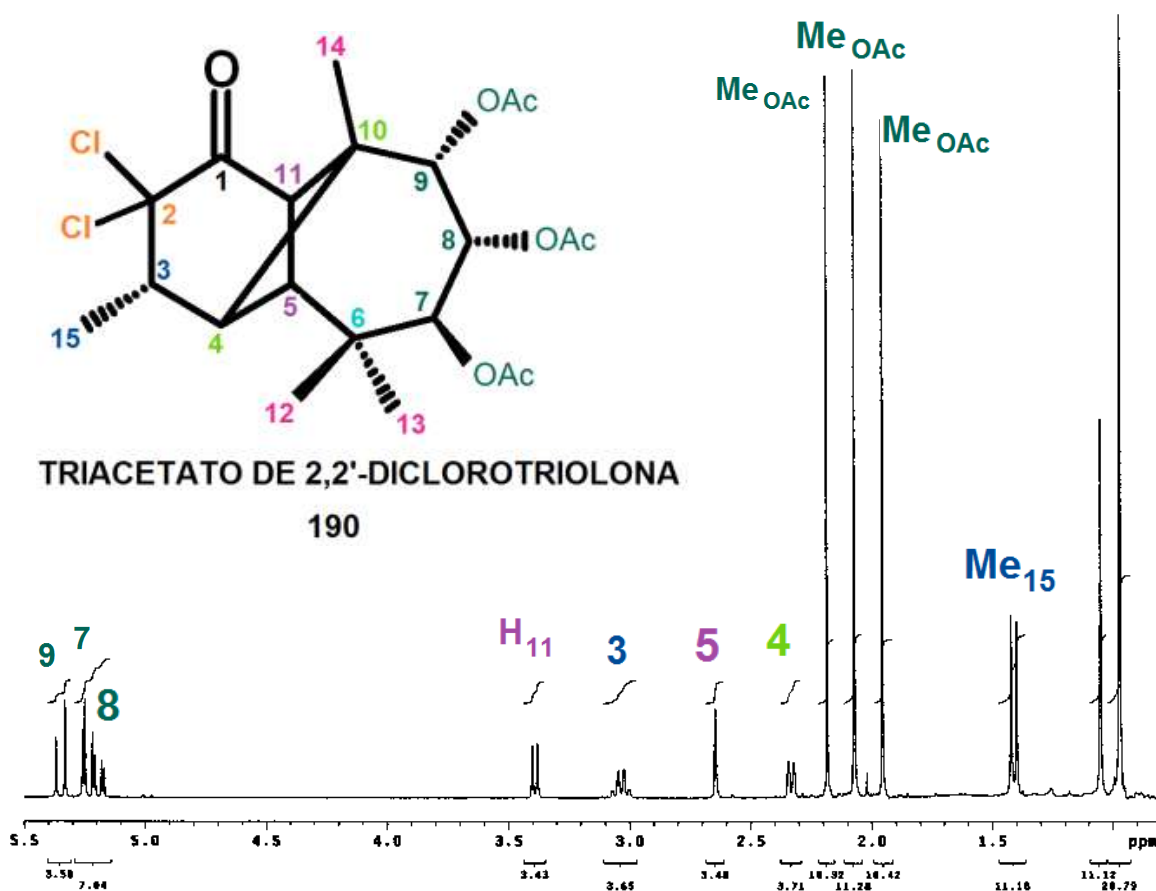


Figura 23.- Espectro de RM¹H del triacetato de la 2,2'-diclorotriolona (**190**), obtenido de acetilación directa del 2,2'-diclorotriolona (**190**).

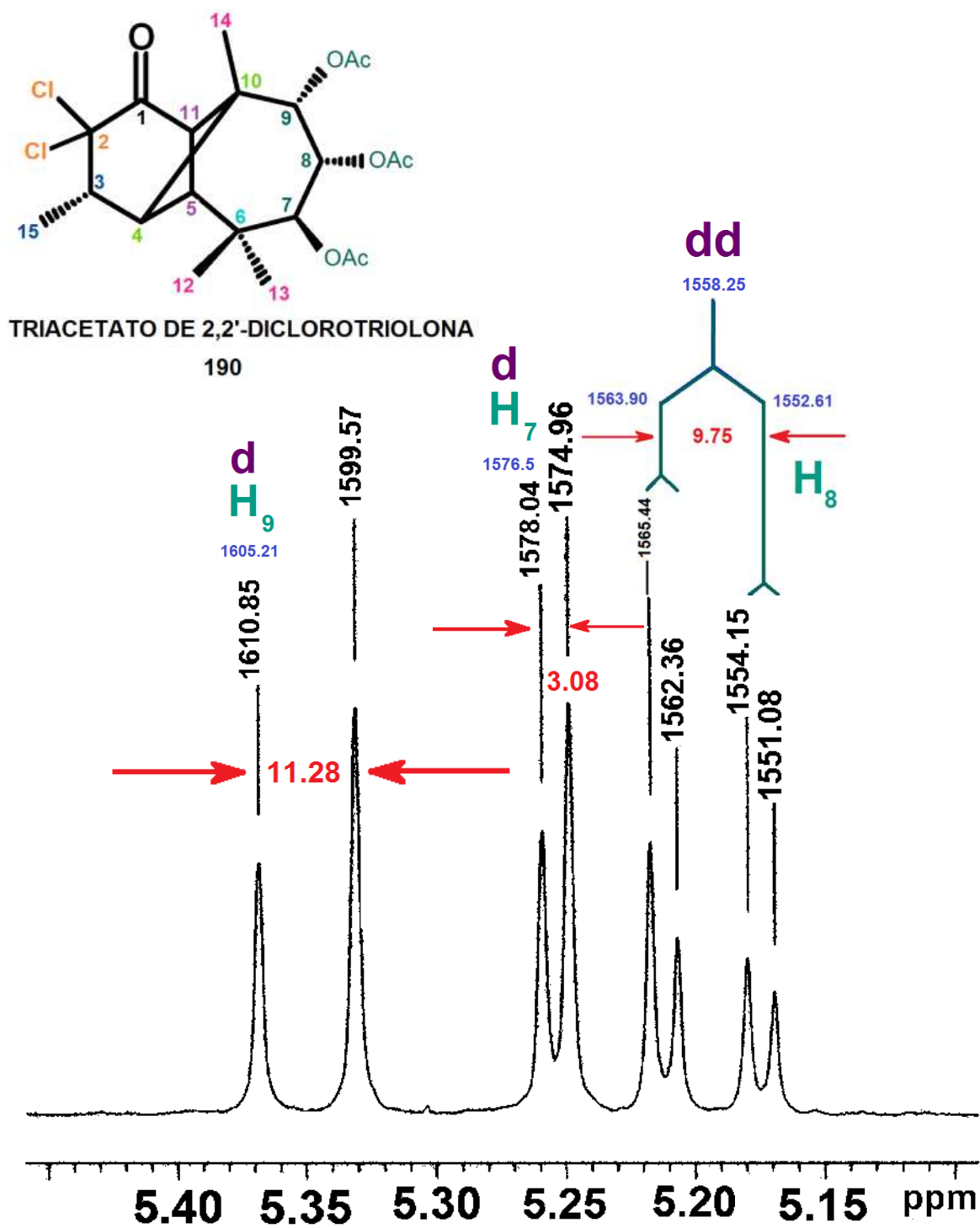


Figura 24.- Ampliación del espectro de RM^1H del triacetato de la 2,2'-diclorotriolona (190), obtenido de acetilación directa de la 2,2'-diclorotriolona (189).

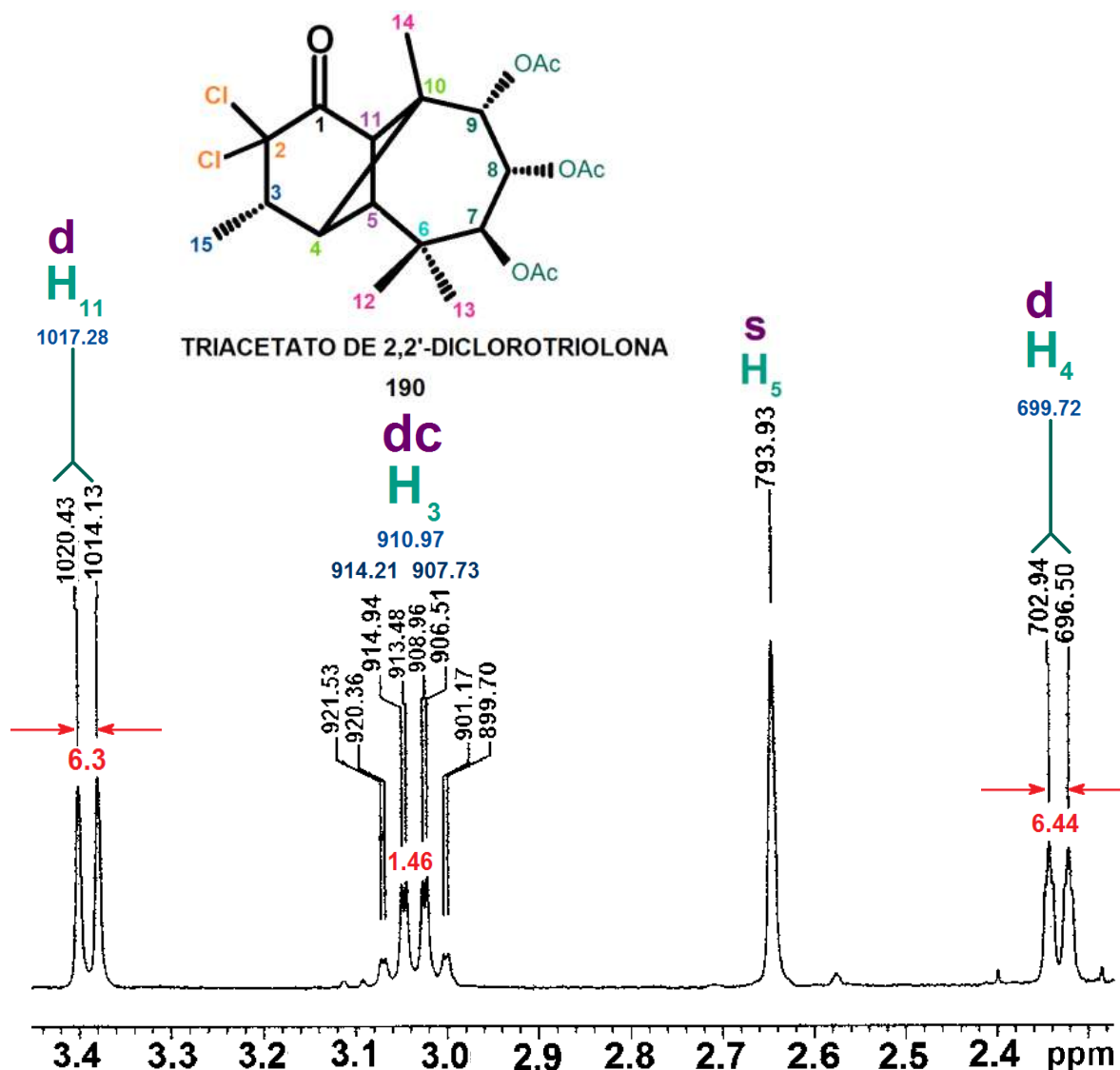


Figura 25.- Espectro de RM¹H del 2,2'-dicloro triacetato de triolona (190), obtenido de acetilación del 2,2'-diclorotriolona (189).

En una ampliación del espectro de RMP, en la región entre 5.10 y 5.40 ppm, mostrado en la **Figura 24**, donde las señales correspondientes a los protones base de los tres grupos acetato, se observó la señal doble de dobles desplazada en δ 5.19 con constantes de acoplamiento ($J = 9.8, 3.1$ Hz), correspondiente al protón H-8, en tanto que el H-7 se reveló en δ 5.25 como una señal doble ($J = 3.1$ Hz) y el protón H-9 apareció en δ 5.35 como una señal doble ($J = 11.3$ Hz). En la **Figura 25** se muestran las señales de los protones metínicos H-4 en δ 2.33 como una señal doble ($J = 6.4$ Hz); el H-5 apareció como una señal simple en δ 2.64, en tanto que el protón H-3 base del metilo secundario Me-15 apareció en δ 3.03 como un doblete de cuartetos ($J = 6.48, 1.46$ Hz) y finalmente el protón metínico H-11 apareció en δ 3.39 como una señal doble ($J = 6.3$ Hz).

CONCLUSIONES

La cloración de derivados de longipineno a partir de la rasteviona (**5**), obtenida del extracto hexánico de las raíces de *Stevia serrata* Cav., se llevó a cabo en distintas condiciones:

- a) Con hipoclorito de sodio en piridina, la rasteviona (**5**) sufrió reacciones de transposición de los angelatos, obteniéndose la mezcla de los productos de transesterificación (**6** y **7**), de los cuales, por medio de una separación cromatográfica, se obtuvieron fracciones enriquecidas de cada uno de los isómeros y no se obtuvo ningún producto clorado.
- b) Con hipoclorito de sodio en piridina e hidróxido de sodio, la rasteviona (**5**), originó la 2,2'-diclorotriolona (**189**) como una miel cristalina, ligeramente amarillenta, que fue identificada por sus propiedades espectroscópicas de RMN de ^1H y RMN de ^{13}C .
- c) Con hipoclorito de sodio en piridina e hidróxido de sodio, el acetato de rasteviona (**18**), también produjo la 2,2'-diclorotriolona (**189**) y se repitió lo mismo con el triacetato de triolona (**16**), que generó el mismo producto.
- d) Con hipoclorito de sodio en piridina e hidróxido de sodio, el diacetato de triolona (**17**), originó mezclas de varios productos de reacción sin identificar aún.
- e) El triacetato de triolona (**16**), con hipoclorito de sodio en piridina e hidróxido de sodio, dio lugar a la 2,2'-diclorotriolona (**189**) y no se pudo obtener la 2,2'-diclorotriacetato (**190**) de la triolona directamente; ésta se obtuvo por acetilación directa en las condiciones estándar de acetilación y fue identificada por sus propiedades espectroscópicas de RMN de ^1H y RMN de ^{13}C .

PARTE EXPERIMENTAL

MATERIALES Y EQUIPOS

- Los puntos de fusión no han sido corregidos y se obtuvieron con un aparato Fischer-Johns.
- La evaporación de las muestras en fase orgánica y el concentrado de extractos se llevó a cabo en un evaporador rotatorio marca Buchi.
- Se utilizaron columnas cromatográficas de vidrio, de varios diámetros y longitudes, así como también la altura del empaque de la fase estacionaria.
- Los espectros de RMN de Hidrógeno y Carbono-13, se determinaron en un espectrómetro Varian, a 400 MHz y a 200 MHz, respectivamente.

METODOLOGÍAS

OBTENCIÓN DE LA MATERIA PRIMA

3 kg de raíces secas y molidas de *Stevia serrata* Cav., colectadas entre los meses de agosto y octubre, se someten a reflujo en un matraz de fondo redondo con 12 l de capacidad, agregando 8 l de hexano. El reflujo se lleva a cabo durante 4 h y una vez terminado, se deja enfriar el extracto y se filtra. La solución filtrada se concentra en fracciones de 400 ml en un evaporador rotatorio, separándose el hexano (el cual se recupera) y el concentrado del extracto. Una vez obtenido todo el concentrado, se deja en reposo hasta que aparezcan cristales y mieles.

Los cristales se separan de las mieles, lavando y filtrando con hexano. Se obtienen cristales blanquecinos de *rasteviona* (**5**) en forma de placas, con p.f. 130-131 °C.

La solución filtrada de mieles, disueltas en hexano, se dejan evaporar y posteriormente se disuelven en 500 ml de MeOH. Se dejan reposar a 0 °C durante dos días, o hasta que las grasas y sustancias triterpenoides precipiten y puedan separarse por filtración. Este proceso de precipitación y filtración con MeOH se repite las veces necesarias, hasta que no aparezca más precipitación de grasas. La solución filtrada que se ha acumulado se deja evaporar hasta que se forma una miel densa y cristalina de mieles de *rasteviona* (**5**).

Espectro de RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 6.11 ppm (1H, qq, *J*=6.0, 1.5 Hz, H-3'), 6.10 (1H, qq, *J*=6.0, 1.5 Hz, H-3''), 5.54 (1H, s, *J*=2.7 Hz, H-8), 5.55 (1H, s, H-7), 3.82 (1H, d, *J*=1.2 Hz, H-9), 3.09 (1H, d, *J*=6.0 Hz, H-11), 2.58 (1H, dd, *J*=19.1, 8.6 Hz, H-2α), 2.36 (1H, m, H-3), 2.26 (1H, d, *J*=5.6 Hz, H-4), 2.15 (1H, dd, *J*=19.1, 6.2 Hz, H-2β), 2.05 (1H, s, *J*=7.85 Hz, H-5'), 1.99 (2H, dq, *J*=6.0, 1.5 Hz, Me-4'), 1.99 (3H, dq, *J*=6.0, 1.5 Hz, Me-4''), 1.83 (3H, dq, *J*=1.5, 1.5 Hz, Me-5'), 1.81 (2H, dq, *J*=1.5, 1.5 Hz, Me-5''), 1.11 (3H, d, *J*=6.0 Hz, Me-15), 1.13 (3H, s, Me-12), 1.07 (3H, s, Me-14), 0.94 (3H, s, Me-13).

OBTENCIÓN DE LA TRIOLONA

A 4 g de mieles de rasteviona (**5**) se le añaden 50 ml de MeOH y 4 g de perlas de KOH disueltas en la mínima cantidad de agua. La mezcla se somete a reflujo por 2 h y el disolvente se evapora en rotavapor. El concentrado resultante se extrae sobre hielo con AcOEt y se lava tres veces con agua. La fase orgánica se separa y se seca con Na₂SO₄ anhidro, se filtra y se evapora a sequedad, obteniéndose 1.74 g de un aceite denso amarillento que corresponde a la triolona (**15**). Por recrystalizaciones sucesivas en cloroformo-hexano se obtienen cristales incoloros en forma de aguja con p. fus. 83-85 °C.

Espectro de RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 3.83 ppm (1H, m, H-8), 3.89 (1H, d, J=5.6 Hz, H-9), 3.66 (1H, dd, J=10.4, 4.3 Hz, H-7), 3.09 (1H, d, J=3.5 Hz, OH), 2.89 (1H, d, J=5.6 Hz, H-11), 2.64 (1H, d, J=2.3 Hz, OH), 2.56 (1H, dd, J=19.1, 8.6 Hz, H-2α), 2.34 (1H, m, H-3), 2.31 (1H, d, J=4.3 Hz, OH), 2.14 (1H, dd, J=19.1, 6.2 Hz, H-2β), 2.05 (1H, d, J=5.6 Hz, H-4), 1.77 (1H, s, H-5), 1.08 (3H, d, J=6.8, Me-15), 1.05 (3H, s, Me-12), 1.04 (3H, s, Me-14), 0.95 (3H, s, Me-13).

OBTENCIÓN DEL ACETATO DE RASTEVIONA

Se procesan 4 g de mieles de rasteviona (**5**) con 20 ml de piridina y 20 ml de anhídrido acético. La mezcla se deja reaccionar 4 h a temperatura de baño de vapor y se vierte sobre hielo, para luego extraerse con acetato de etilo. Se separa la fase orgánica y se le hacen lavados con solución de HCl 10%, luego con solución saturada de NaHCO₃ y, finalmente, con agua hasta que la fase orgánica quede neutra. Una vez concluidos los lavados, la fase orgánica se seca con Na₂SO₄ anhidro, se filtra, se evapora y se lleva a sequedad, con lo que se obtiene un concentrado de aspecto mieloso. De la miel anterior se obtiene un sólido blanco que, por recrystalizaciones sucesivas con cloroformo-hexano, da lugar a cristales blancos en forma de agujas de acetato de rasteviona (**18**) con punto de fusión de 169-170 °C.

OBTENCIÓN DEL TRIACETATO DE TRIOLONA

Para la obtención del triacetato de triolona (**16**) se disuelve 1 g de mieles de triolona (**15**) en 6 ml de piridina y 6 ml de anhídrido acético. La mezcla de reacción se deja 3 h en baño de vapor y, posteriormente, se vierte sobre hielo y se extrae con acetato de etilo (AcOEt). La fase orgánica se separa de la fase acuosa y se lava con solución de HCl 10%, posteriormente se le hacen lavados con solución saturada de NaCO₃ y, finalmente, con agua hasta conseguir la neutralidad. Una vez neutra, la fase orgánica se seca con Na₂SO₄ anhidro, se filtra y la solución filtrada se evapora y se lleva a sequedad, obteniéndose un concentrado mieloso, ligeramente amarillento, del cual solidifican 750 mg de un sólido cristalino que, mediante cristalizaciones sucesivas con cloroformo-hexano dan lugar a cristales en forma de aguja, con punto de fusión óptimo de 150-152 °C, correspondientes al triacetato de triolona (**16**).

Espectro de RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃): 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-2α), 2.14 (1H, dd, J=19.1, 8.6 Hz, H-2β), 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).

OBTENCIÓN DEL DIACETATO DE TRIOLONA

La acetilación selectiva de la triolona se lleva a cabo disolviendo 1 g de mieles de triolona (**15**) en 6 ml de piridina y 6 ml de anhídrido acético. La mezcla de reacción se deja 24 h en refrigeración a 4 °C. Una vez transcurrido este tiempo, la mezcla se vierte sobre hielo y se extrae con AcOEt, posteriormente se le hacen lavados a la fase orgánica con solución de HCl 10%, con solución saturada de NaHCO₃ y finalmente con agua hasta la neutralidad. La fase orgánica se separa, se seca con Na₂SO₄ anhidro, se filtra, se evapora y se lleva a sequedad. Se obtiene un concentrado denso y mieloso, ligeramente amarillento, del cual solidifican aproximadamente 900 mg de un sólido cristalino que, mediante recrystalizaciones sucesivas de cloroformo-hexano, da lugar a cristales en forma de finas agujas, con punto de fusión de 183-185 °C, correspondientes al diacetato de triolona (**17**).

Espectro de RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 5.38 ppm (1H, d, J=11.2 Hz, H-7), 5.34 (1H, dd, J=11.2, 2.4 Hz, H-8), 3.77 (1H, d, J=2.0 Hz, H-9), 3.06 (1H, d, J=5.7 Hz, H-11), 2.57 (1H, dd, J=19.0, 8.5 Hz, H-2α), 2.57 (1H, dd, J=19.0, 8.4 Hz, H-2β), 2.35 (1H, m, H-3), 2.20 (1H, d, J=4.6 Hz, H-4), 2.07 (3H, s, AcO-7), 2.09 (3H, s, AcO-8), 1.80 (1H, s, H-5), 1.10 (3H, d, J=6.8 Hz, Me-15), 1.05 (3H, s, Me-12), 1.05 (3H, s, Me-14), 0.91 (3H, s, Me-13).

OBTENCIÓN DE LOS DERIVADOS CLORADOS

Se llevaron a cabo, en distintas condiciones de reacción, la incorporación de halógenos (cloro) a las estructuras de la rasteviona y sus derivados. Para ello, se utilizó hipoclorito de sodio (NaOCl) como agente clorante, en condiciones básicas con NaOH y en presencia de piridina, variando las proporciones de reactivos, así como los tiempos y temperaturas de reacción.

Espectro de RMN-¹H de la 2,2' diclorotriolona (400 MHz, CDCl₃): δ 3.86 ppm (1H, d, J=3.0 Hz, H-9), 3.75 (1H, dd, J=11.3, 3.0 Hz, H-8), 3.68 (1H, d, J=6.8 Hz, H-7), 3.27 (1H, d, J=5.6 Hz, H-11), 3.03 (1H, d, H-3), 2.56 (1H, s, H-5), 2.12 (1H, d, J=5.7, H-4), 1.10 (3H, d, J=6.8 Hz, Me-15), 1.05 (3H, s, Me-12), 1.05 (3H, s, Me-14), 0.91 (3H, s, Me-13).

Espectro de RMN-¹H del triacetato de la 2,2' diclorotriolona (400 MHz, CDCl₃): δ 5.35 ppm (1H, d, J=11.28 Hz, H-9), 5.19 (1H, dd, J=9.75, 3.07 Hz, H-8), 5.25 (1H, d, J=3.08 Hz, H-7), 3.39 (1H, d, J=6.3 Hz, H-11), 3.03 (1H, dq, J=6.48, 1.46, H-3), 2.64 (1H, s, H-5), 2.33 (1H, d, J=6.44, H-4), 1.10 (3H, d, J=6.8 Hz, Me-15), 1.05 (3H, s, Me-12), 1.05 (3H, s, Me-14), 0.91 (3H, s, Me-13).

Con ello se recopilaron los siguientes datos (rendimientos aproximados):

CANTIDAD DE COMPUESTO	PIRIDINA	NaOH	NaOCl	TIEMPO	TEMPERATURA	RENDIMIENTO APROXIMADO
500 mg de Rasteviona mieles	6 ml	-----	6 ml	1 hora	Temp. p. eb. agua	45 %
500 mg Rasteviona mieles	6 ml	1 perla	6 ml	1 hora	Temp. p. eb. agua	60 %
100 mg de Rasteviona cristales	6 ml	1 perla	6 ml	1 hora	Temp. p. eb. agua	75 %
100 mg de triolona mieles	6 ml	1 perla	6 ml	1 hora	Temp. p. eb. agua	80 %
1.8 g de Triolona mieles	30 ml	10 perlas	30 ml	1 hora	Temp. p. eb. agua	55 %
750 mg Triolona mieles	10 ml	2 perlas	10 ml	1 hora	Temp. p. eb. agua	65 %
750 mg de Triolona mieles	10 ml	2 perlas	10 ml	1 semana	Temperatura ambiente	60 %
200 mg de Triolona mieles	12 ml	2 perlas	12 ml	2 horas 24 horas	Temp. p. eb. agua Temp. ambiente	75 %
2 g de Triacetato de triolona	8 ml	2 perlas	8 ml	1 hora 2 días	Temp. p. eb. agua Temp. ambiente	70 %
1 g de Diacetato de triolona	6 ml	2 perlas	6 ml	1 hora 2 días	Temp. p. eb. agua Temp. ambiente	60 %
250 mg de Acetato de rasteviona	3 ml	1 perla	3 ml	1 hora	Temp. p. eb. agua	65 %
100 mg de Triacetato de triolona	2 ml	-----	2 ml	2 días 2 horas	Temp. ambiente Temp. p. eb. agua	55 %
140 mg de Acetato de rasteviona	1 ml	-----	1 ml	4 horas	Temp. p. eb. agua	50 %

BIBLIOGRAFÍA

1. Simpson, Michael G. «*Asteraceae (Compositae)*». Plant Systematics. Elsevier Inc. pp. 326-331, (2005).
2. Watson, L.; Dallwitz, M. J. «*Compositae*». The families of flowering plants: descriptions, illustrations, identification, and information retrieval. Version: 1st June 2007.
3. Forzza, R. C. & et al. 2010. 2010 Lista de especies Flora do Brasil.
4. 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).
5. 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).
6. 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.
7. 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. Instituto de Ecología- Centro Regional del Bajío. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Pátzcuaro, Michoacán, México.
8. F. Miranda y E. Hernández X., "Los sobre Tipos de Vegetación de México y su Clasificación", *Bol. Soc. Bot. Méx.*, 28, 29-179 (1963).
9. 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.
10. 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.
11. Standley, P.C., 1920-1926. Trees and shrubs of Mexico. Contributions from the United States National Herbarium, Vol. 24. Government Printing Office. Washington, D.C.
12. Sociedad Científica del Paraguay, A. Barbero 230 y Avenida Artigas, Asunción (Paraguay).
13. F. Miranda y E. Hernández X., "Los sobre Tipos de Vegetación de México y su clasificación". *Bol. Soc. Bot. Méx.*, 28, 29-179 (1963).
14. Espinosa, F. J. y J. Sarukhán, 1997. Manual de Malezas del Valle de México. Claves, descripciones e ilustraciones. Universidad Nacional Autónoma de México. Fondo de Cultura Económica. México, D. F.
15. Martínez, M., 1979. Catálogo de nombres vulgares y científicos de plantas mexicanas. Fondo de Cultura Económica. México, D.F.
16. 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.
17. Villegas y de Gante, M., 1979. Malezas de la Cuenca de México. Instituto de Ecología. Museo Natural de la Ciudad de México. México, D.F.
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. Dávila, P. y V. Sosa. 1994. El conocimiento florístico de México. *Bol. Soc. Bot. Méx.* 55: 21-27.
21. Thorne, R. F., «Classification and geography of the flowering plants». *Botanical Review* 58: pp. 225-348, (1992a).
22. Gustafsson, Mats H. G. y Kare Bremer, Morphology and Phylogenetic Interrelationships of the Asteraceae, Calyceraceae, Campanulaceae, Goodeniaceae, and Related Families (Asterales). *American Journal of Botany*, Vol. 82, No. 2, pp. 250-265, (1995).
23. Rzedowski, G. C. de y J. Rzedowski, 2001. Flora fanerogámica del Valle de México. 2a ed. Instituto de Ecología y Comisión Nacional para el conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Pátzcuaro, Michoacán, México.
24. 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.
25. Cronquist, A., 1980. Asteraceae. Vascular Flora of the Southeastern United States 1. The University of North Carolina Press, Chapel Hill, North Carolina.
26. 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.

27. Zuloaga, F. O., O. Morrone, M. J. Belgrano, C. Marticorena & E. Marchesi. (eds.) 2008. Catálogo de las Plantas Vasculares del Cono Sur (Argentina, Sur de Brasil, Chile, Paraguay y Uruguay). Monogr. Syst. Bot. Missouri Bot. Gard. 107(1): i–xcvi, 1–983; 107(2): i–xx, 985–2286; 107(3): i–xxi, 2287–3348.
28. 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.
29. 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.
30. Turner, B. L., 1996. The Comps of Mexico: A systematic account of the family Asteraceae, vol. 6. Tageteae and Athemideae. Phytologia Memoirs 10.
31. Nash, D. L. y L. O. Williams (eds.), 1976. Flora of Guatemala, Compositae. Part XII. Fieldiana Botany 24: 96-97.
32. Felipe, G.M. *Stevia rebaudiana* Bert.: uma revisao. Ciencia e Cultura 29 (11) 1240-1248. 1977. II Seminario Brasileiro sobre *Stevia rebaudiana*.
33. López, J. A.; Little, E.; Ritz, G.; Rombold, J.; Hahn, W. (1987). Árboles comunes del Paraguay.
34. Danilo Baratti, Patrizia Candolfi, «Vida y obra del sabio Bertoni: Moisés Santiago Bertoni, 1857-1929: un naturalista suizo en Paraguay», Editor Helvetas, 1999, Universidad de Texas, 2008.
35. Galería de Hombres Notables del Álbum Nacional de la Galería Biográfica de hombres públicos de actualidad. Buenos Aires 1902, Mundo Intelectual. Editado en Berlín, Alemania en 1911 por Adolf Ecksteins Verlag.
36. Revista La idea órgano de la Confederación Espiritista Argentina. Tomo XVII - Mayo de 1970) Buenos Aires.
37. Revista Magnetológica 25 de octubre de 1931. Buenos Aires.
38. Revista Metapsíquica Experimental, número 148 de octubre de 1.923. Buenos Aires.
39. Revista La Luz del Porvenir nº 228 de diciembre de 1.931 en dos menciones págs. 336 y 332. España.
40. 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.
41. Dyrskog SE, Jeppesen PB, Chen J, Christensen LP, Hermansen K., The diterpene glycoside, rebaudioside A, does not improve glycemic control or affect blood pressure after eight weeks treatment in the Goto Kakizaki rat. , *Rev. Diabet. Stud.* 2005 Summer; 2(2):8491. 2010.
42. 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.
43. Mosetting, E., et. al., *J. Amer. Chem. Soc.*, 1963, 85, 2305.
44. Tanaka, O., *Trends in Analytical Chemistry*, 1982, 1(11), 246-248.
45. Kobayashi, M., et. al., *Phytochemistry*, 1977, 16, 1405.
46. Álvarez López, Enrique. 1946. Cavanilles. Ensayo biográfico-crítico. En: «Anales del Jardín Botánico de Madrid, vol. 6 (1), p. 1-64.
47. 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.
48. Jaime Lorén, José María de. 2004. La producción apícola valenciana en las “Observaciones” de Cavanilles. En: «Flora Montiberica, 28, 49-53.
49. Laguna Lumbreras, Emilio. 2004. Sobre los géneros de plantas descritos por Cavanilles. En: «Flora Montiberica, vol. 28, p. 3-22.
50. Mateo Sanz, Gonzalo & Laguna Lumbreras, Emilio. 2004. Especies de la flora valenciana descritas por Cavanilles., «Flora Montiberica, 28, 23-28.
51. Reyes Prosper, E. 1917. Dos noticias históricas del inmortal botánico y sacerdote hispano-valentino Antonio José Cavanilles. Madrid: Artes Gráficas Mateu.
52. Colmeiro, M: La Botánica y los botánicos de la Península Hispano-lusitana. Estudios bibliográficos y biográficos, Madrid, M. Rivadeneyra, 1858, pp. 191-197.
53. Carreño, Eduardo: «Notice sur la vie et les écrits du botaniste espagnol D. Mariano La Gasca» en Annales de Sciences Naturelles (Botanique), 14 (1840), 146-161.
54. Yañez, Agustín: Elogio histórico de D. Mariano La Gasca, Barcelona, 1842.
55. “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).
56. “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).
57. “Estudio comparativo de la composición química de dos poblaciones de *Stevia serrata*”. Tesis para obtener el Título de Químico Farmacobiólogo, presentada por Álvaro Chávez-Trujillo, a la Facultad de Químico-Farmacobiología de la U.M.S.N.H. el 9 de agosto del 2012.
58. 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.

59. "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.
60. "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).
61. "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.
62. "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).
63. "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).
64. "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).
65. "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).
66. "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).
67. "Absolute configuration of the α -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).
68. "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.
69. "9-Cloro derivados del Longipineno y Análisis de 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.
70. "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. Alvína Bucio Vázquez a la Facultad de Químico-Farmacobiología de la U.M.S.N.H. el 31 de enero de 1987.
71. "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).
72. "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).
73. "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).
74. "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).
75. "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).
76. "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).
77. "Contracción del ciclo de siete por arreglo pináclico en el sistema [6.5.7] de la 7 β -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).
78. 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, "Generation of the new quirogane skeleton by a vinylogous retro-Michael type rearrangement of longipinene derivatives", *Tetrahedron*, 57, 7269-7275 (2001).
79. C. M. Cerda-García-Rojas, C. A. Flores-Sandoval, L. U. Román, J. D. Hernández y P. Joseph-Nathan, "A regioselective Wagner-Meerwein rearrangement directed towards the six-membered ring of the longipinane skeleton", *Tetrahedron*, 58, 1061-1068 (2002).
80. L. U. Román, C. M. Cerda-García-Rojas, R. Guzmán, C. Armenta, J. D. Hernández y P. Joseph-Nathan, "Jiquilpane hydrocarbon skeleton generated by two successive Wagner-Meerwein rearrangements of longipinane derivatives", *Journal of Natural Products*, 65, 1540-1546 (2002).

81. "Preparation of morelane 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).
82. "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.).
83. Q.F.B. Mariano Méndez Chávez "Reactividad diferencial de alcoholes derivados del longipineno con eterato de trifluoruro de boro". Fecha de la presentación 26 de febrero del 2007 Obtuvo Mención Honorífica Escuela de Químico-Farmacobiología de la U.M.S.N.H.
84. Q.F.B. Luis Felipe Rangel Ramos "Nuevos Sesquiterpenos de la Transposición de Wagner-Meerwein de un derivado del Longipineno". Fecha de la presentación 24 de agosto del 2007 Escuela de Químico-Farmacobiología de la U.M.S.N.H.
85. Q.F.B. Alejandro Valdez Calderón "Nuevo Sesquiterpeno de la Transposición del Diacetato de Longipinantriolona en presencia de ácido p-Toluensulfónico". Fecha de la presentación 3 de diciembre del 2008 en la Escuela de Químico-Farmacobiología de la U.M.S.N.H.
86. Q.F.B. Julio César Ontiveros Rodríguez "Nuevos Derivados del Sesquiterpeno Tetracíclico y su apertura con ácido p-Toluensulfónico". Fecha de la presentación 17 de agosto del 2012 Facultad de Químico-Farmacobiología de la U.M.S.N.H.
87. M.C.Q. Gerardo Morán López "Transposiciones Moleculares de ésteres Mesílicos de Longipinandiolas". Fecha de la presentación 13 de diciembre del 2012 Instituto de Investigaciones Químico-Biológicas de la U.M.S.N.H.
88. Morrison y Robert Neilson Boyd, "Química Orgánica", 3ª edición, Fondo Educativo Interamericano. pág. 307-310, New York, N.Y., (1976).
89. Andrew Streitwieser, Jr. y Clayton H. Heathcock, "Química Orgánica", 1ª edición, Nueva Editorial Interamericana. pág. 611-614, México, D.F. (1979).
90. William A. Bonner y Albert J. Castro, "Essentials of Modern Organic Chemistry", 3ª edición, Reinhold Publishing Corporation. pág. 220, New York, London, Amsterdam (1967).
91. Juan Diego Hernández Hernández, "Notas de Química Orgánica I", Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Morelia, Mich. 2010.
92. 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
93. Hughes, Peter (2006). «Was Markovnikov's Rule an Inspired Guess?». *The Journal of Chemical Education* 83 (8): pp. 1152 – 1154. doi:10.1021/ed083p1152.
94. M. Conrad (1910). «Emil Erlenmeyer». *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft* 43 (3): 3645–3664. doi:10.1002/cber.
95. B. Lepsius (1921). «Nekrolog: Friedr. Gustav Karl Emil Erlenmeyer 1864–1921». *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft (A and B Series)* 54 (5): A107–A113. doi:10.1002/cber.
96. Otto N. Witt (1911). «Emil Erlenmeyer, 1825–1909». *Journal of the Chemical Society*, Transactions 99: 1646–1668. doi:10.1039 CT9119901646.
97. Kharasch, M. S.; Mayo, Frank R. (1933). *Journal of the American Chemical Society* 55 (6): 2468. doi:10.1021.
98. Wade, L.G. "Organic Chemistry". Ed 5. Prentice Hall: 2003. 314-20.
99. U.S. Patent 1,672,615 «Alkyl mMercuric Sulphur Compound».
100. Biografía de Herbert Brown en la Fundación Nobel de Les Prix Nobel, 1979.
101. Juan Diego Hernández Hernández, "Notas de Química Orgánica II", Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Morelia, Mich. 2010.
102. Juan Diego Hernández Hernández, "Notas de Química Orgánica III", Heterocíclica, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Morelia, Mich. 2010.
103. "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).
104. Juan Diego Hernández Hernández, "Química Orgánica Experimental en Productos Naturales", Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Morelia, Mich. 2010.
105. "Obtención y Reactividad de Isómeros Posicionales del Diacetato de Longipinantriolona". 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.