



**UNIVERSIDAD MICHOACANA
DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO**



FACULTAD DE QUÍMICO FARMACOBIOLOGÍA

**OBTENCIÓN DE UN TRICLORO DERIVADO (SIETE PASOS) A
PARTIR DE RASTEVIONA; UN METABOLITO SESQUITERPÉNICO
AISLADO DE LA RAÍZ DE *STEVIA SERRATA* CAV.**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO FARMACOBIOLOGO**

P R E S E N T A :

BELÉN DE JESÚS ROJAS REGALADO

ASESOR: DC. JUAN DIEGO HERNÁNDEZ HERNÁNDEZ

COASESOR: D.C. LUISA URANIA ROMÁN-MARÍN

MORELIA, MICHOACÁN A DICIEMBRE DEL 2015

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 de:

D.C. JUAN DIEGO HERNÁNDEZ HERNÁNDEZ

D.C. LUISA URANIA ROMÁN-MARÍN

El tema de esta tesis forma parte de proyectos como:

- “Fitoquímica de *Burceraceae* y *Asteraceae* de las cuencas del balsas, del Papaloapan y estados adyacentes.” Apoyado por la coordinación de la investigación científica de la U.M.S.N.H.
- La “10ª Reunión Internacional de Investigación en Productos Naturales”. En honor al Dr. Leovigildo Quijano.
Mérida, Yucatán del 21 al 24 de mayo del 2014.
- El “3er Verano Nicolaita de Investigación”.
Morelia, Michoacán agosto del 2014.
- La “11ª Reunión Internacional de Investigación en Productos Naturales”.
En honor al Dr. Manuel Jiménez Estrada.
San Carlos, Sonora del 20 al 22 de mayo del 2015.

El “Congreso Nacional Del XX Verano de la Investigación Científica y Tecnológica del Pacífico.”
Nuevo Vallarta, Nayarit del 19 al 22 de agosto del 2015.

ABREVIATURAS

AcOEt = Acetato de etilo

α = Alfa

β = Beta

$^{\circ}\text{C}$ = Grados celcius

CH₂Cl₂ = Diclorometano

DAT = Diacetato de triolona

D₂O = Agua deuterada

DPPH = Método del radical difenilpicrilhidracilo

F.M = Fórmula molecular

g = Gramos

HCl = Ácido clorhídrico

H = Horas

KOH = Hidróxido de potasio

Kg = Kilogramo

KHCO₃ = Bicarbonato de potasio

mL = Mililitro

mg = Miligramos

min = Minutos

MeOH = Metanol

Me = Metilo

m.s.n.m = metros sobre el nivel del mar

NaBH₄ = Borohidruro de sodio

Na₂SO₄ = Sulfato de sodio

NaOCl = Hipoclorito de sodio

NaOH = Hidróxido de sodio

p.f. = Punto de fusión

POCl₃ = Oxicloruro de fósforo

SOCl₂ = Cloruro de tionilo

ppm = Partes por millón

TAT = Triacetato de triolona

THF = Tetrahidrofurano

ÍNDICE

Abreviaturas.....	3
Resumen.....	6
Introducción.....	7
Parte teórica.....	19
Resultados y discusión.....	49
Conclusiones.....	68
Parte experimental.....	69
Bibliografía.....	74

Resumen

Con el objetivo de ampliar el conocimiento químico de derivados del longipinano, se llevó a cabo la preparación de la hidrólisis del producto natural Rasteviona generando un compuesto denominado Longipinatriolona, ésta estructura sesquiterpénica, en diferentes condiciones de acetilación, puede generar los respectivos triacetatos y diacetatos derivados, siendo el oxhidrilo libre de la posición C-9 quien reaccione en condiciones de mesilación para dar el mesilato diacetato respectivo. La funcionalización de la posición C-9 del anillo de siete miembros, mediante la incorporación de halógenos que desplacen al grupo mesilo, permitirá establecer su reactividad para subsecuentes transformaciones que modifiquen el esqueleto de Longipinano.

Palabras clave: Hidrólisis; Rasteviona; derivados del Longipinano; funcionalización; halógenos.

Abstract

In order to extend the knowledge of chemical derivatives longipinano, it was conducted to prepare the hydrolysis product of the natural compound designated Rasteviona generating Longipinatriolona, this sesquiterpene structure, in different conditions acetylation can generate the respective acetates and diacetates derivatives, with the free hydroxyl of the C-9 position who react in mesylation conditions to give the corresponding mesylate diacetate . The functionalization of the C -9 position of the seven-membered ring, by adding halogen to displace the mesyl group will establish its reactivity for subsequent rearrangement that modify the skeleton of Longipinano.

Key words: Hydrolysis; Rasteviona; Longipinano derivatives; functionalization; halogens.

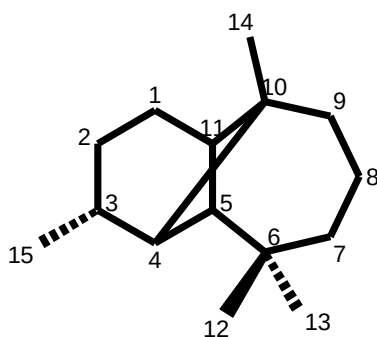
INTRODUCCIÓN

La explotación de nuevos reactivos para el desarrollo de métodos novedosos que establezcan nuevas rutas en síntesis, más que un desarrollo tecnológico, se ha considerado propiamente un arte, por lo que constituye un proceso difícil de afrontar en la química orgánica. Por consiguiente, muchos esfuerzos considerables se han tenido que llevar a cabo a través de los años para idear nuevos reactivos de los que actualmente se usan que puedan minimizar los inconvenientes que presentan dichos procedimientos, metodologías o rutas a seguir. Para dicho propósito, dentro de esta gama, citamos a los N-Halo reactivos¹⁻⁹, los cuales se han podido desarrollar extensivamente para su uso en síntesis orgánica, actuando como intermediarios potencialmente reactivos.

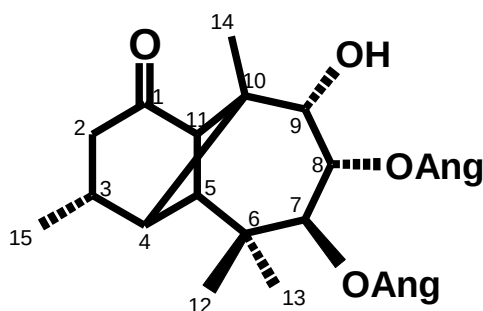
La química de los productos naturales abre la posibilidad de describir la reactividad y las transformaciones que pueda presentar cada metabolito natural de una gran diversidad de estructuras, las cuales pueden establecer comportamientos biológicos importantes, ya sea con los metabolitos naturales o en su defecto derivados no naturales de ellos.

Por ello es necesario recurrir a un estudio fitoquímico donde con las técnicas de transformación y aplicando los reactivos y condiciones de reacción necesarias, puedan elucidarse los alcances de transformación que se deriven de esos metabolitos.

En el mismo tenor muchas rutas sintéticas exitosas han apuntado a obtener estructuras cuyos modelos provienen de fuentes naturales, los cuales presentan grandes retos debido a la multifuncionalidad o incompatibilidad química de las mismas, así como también, a la orientación que presentan en el esqueleto básico del que se trate, siendo de gran relevancia, el establecer una conexión entre la reactividad de estructuras que provengan de fuentes naturales y la sensibilidad de éstas para transformaciones eficientes, siendo el reto, la elección de reactivos convenientes que den luz a la facilidad con la que dichos sistemas en estudio puedan construirse o transformarse eficientemente. En los estudios llevados a cabo con especies del género *Stevia* ha sido constante la descripción de metabolitos reportados en la literatura que poseen el esqueleto base del sistema Longipinano (**1**), este hecho es muy indicativo desde el punto de vista quimiotaxonómico, puesto que, además de establecer las variables estructurales que contemplen los diferentes grupos funcionales que cada especie del género tenga, también, se han encontrado las cantidades obtenidas del metabolito secundario atribuída a cada especie.



1.- ESQUELETO
DE LONGIPINANO



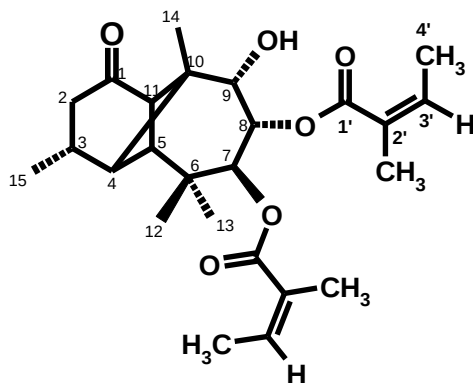
2.- RASTEVIONA

En estudios provenientes de la *Asteraceae*, en particular de la raíz de *Stevia serrata* Cav, el metabolito aislado mayoritariamente en el año 1978 denominado Rasteviona (**2**), se obtuvo a partir de procesos sucesivos de extracción utilizando hexano, siendo sus concentrados, líquidos densos, cristalino amarillentos y de aspecto mieloso, los cuales, dependiendo del lugar y periodo de recolección de la raíz, pueden dar lugar a su aislamiento como un sólido cristalino o en su defecto en forma de mieles no cristalizables debido principalmente a la presencia de pequeñas cantidades de otros metabolitos con semejanza estructural.

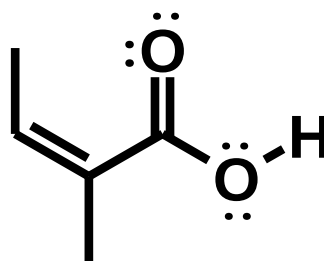


El esqueleto del Longipinano (**1**) consiste en un sistema tricíclico, consta de un anillo de seis miembros, otro de siete y el último es un anillo tensionado de cuatro miembros, en total contiene 15 átomos de carbono todos en estado de hibridación sp^3 o tetrahédrica.

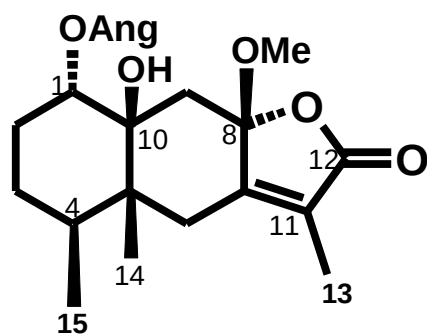
La estructura de la Rasteviona (**2**) posee en el esqueleto de Longipinano cuatro grupos funcionales, de los cuales el grupo carbonilo de cetona se encuentra en la posición C-1 del anillo de seis miembros y es el único carbono del esqueleto que tiene hibridación sp^2 , cabe mencionar que es el grupo funcional representativo ya que fue el nombre vernáculo con el que se registró a este metabolito. Además la estructura cuenta con dos ésteres α - β no saturados correspondientes a angelatos localizados en las posiciones C-7 β y C-8 α mostrados en la figura (**2**). Se hace incapié en estos grupos ya que desarrollando su estructura (**3**) se resalta la posición relativa que tienen los grupo metilo entre sí en torno al doble enlace y que por tratarse de un doble enlace trisustituido, los C-2' y C-3', poseen dos grupos diferentes que es precisamente el requisito para que se dé el isomerismo geométrico, así pues el C-2' con hibridación sp^2 cuenta con el grupo carbonilo C-1' y un grupo metilo y el C-3' tiene al grupo metilo C-4' y el hidrógeno vinílico. La naturaleza de los sustituyentes en torno a C-2' y C-3' establece que se trata del isómero *Cis* o *Z* ya que se consideran las prioridades que tienen el grupo metilo y carbonilo respecto con los otros sustituyentes. Los angelatos son los ésteres derivados del ácido angélico (**4**) y se encuentran presentes en una variedad estructural de metabolitos como pueden ser los alcaloides pirrolizidínicos o los eremofilanoides aislados de plantas del género *Senecio*, dentro de los cuales cabe destacar, a los aislados de la raíz del *Senecio poepigii*, la cual es una herbácea chilena. También se han reportado del estudio fitoquímico de *Roldana lobata* la descripción de estructuras con el esqueleto de furanoeremofilano con grupos funcionales derivados de ésteres insaturados como los angelatos (**5-10**).



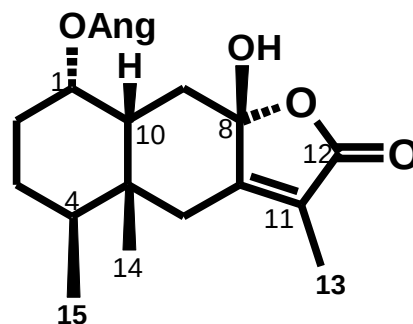
3.- Rasteviona



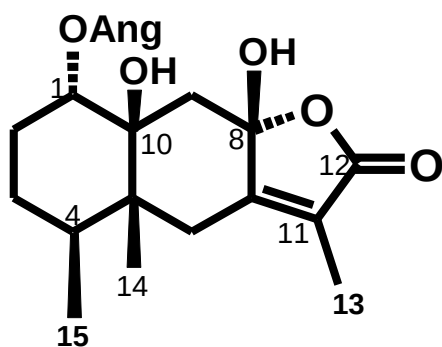
4.- Ácido Angélico



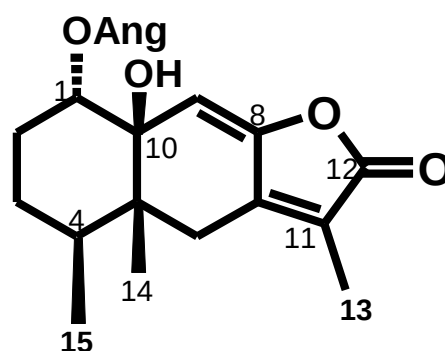
5



6

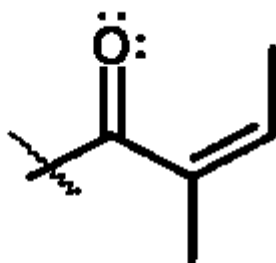


7



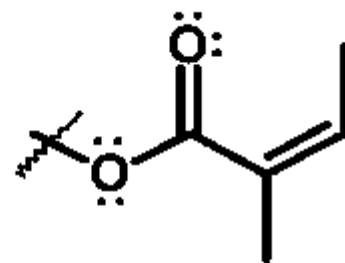
8

Angeloilo
Ang



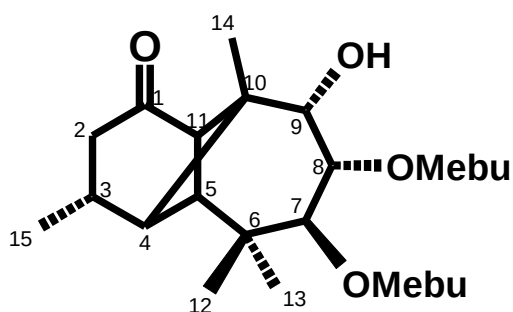
9

Angelato
OAng

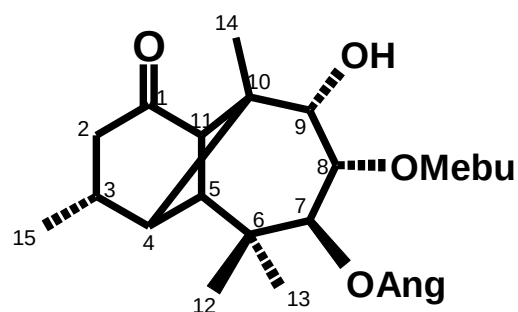


10

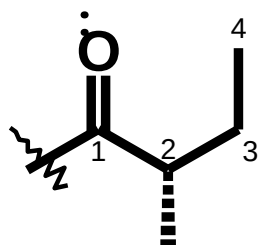
También se han caracterizado derivados estructurales de angelatos en el esqueleto de longipinano como los ésteres saturados llamados metilbutiratos (**13 - 21**), aislados de *Stevia nepetifolia*, la cual crece en los estados de México e Hidalgo, siendo el residuo del éster saturado el α -metilbutiroilo al que se le determinó la configuración absoluta del centro estereogénico C-2 (**15**).



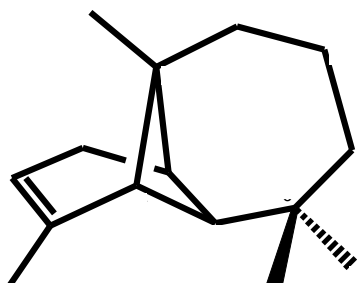
13.- Derivado de Longipinano



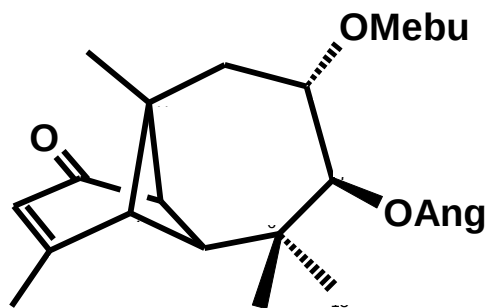
14.- Derivado de Longipinano



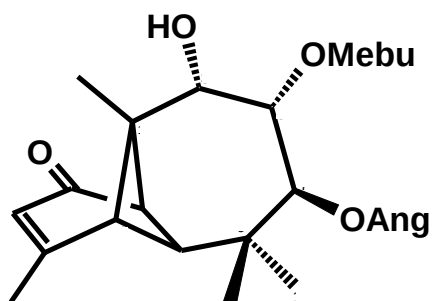
15.- α -Metilbutiroilo



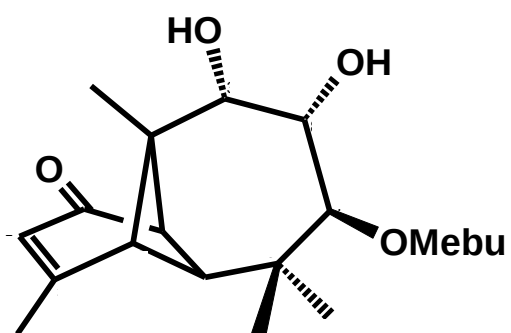
16.- Esqueleto de Longipineno



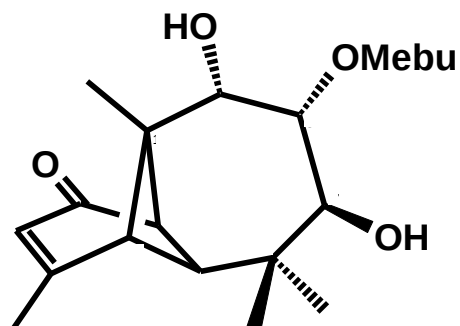
17.- Derivado de Longipineno



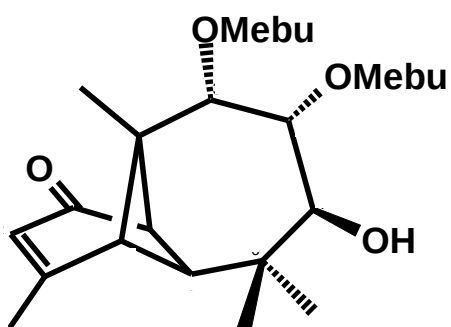
18.- Derivado de Longipineno



19.- Derivado de Longipineno



20.- Derivado de Longipineno



21.- Derivado de Longipineno

Otras estructuras derivadas del ácido angélico han sido reportadas en la familia de las Umbelíferas mejor conocidas como *Apiaceae*, ésta familia tiene importancia económica y alimentaria y algunas especias de interés son:

NOMBRE COMÚN	NOMBRE CIENTÍFICO
Zanahoria	<i>Daucus carota</i>
Apio	<i>Apium graveolens</i>
Hinojo	<i>Foeniculum vulgare</i>
Perejil	<i>Petroselinum crispum</i>
Anís	<i>Pimpinella anisum</i>
Eneldo	<i>Anethum graveolens</i>
Cilantro	<i>Coriandrum sativum</i>
Comino	<i>Cuminum cyminum</i>
Alcaravea	<i>Carum carvi</i>
Chirivía	<i>Pastinaca sativa</i>

Así mismo incluye plantas venenosas como:

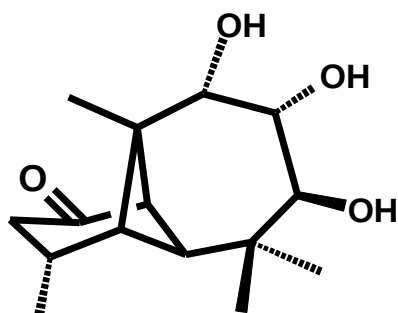
NOMBRE COMÚN	NOMBRE CIENTÍFICO
Cicuta	<i>Conium maculatum</i>
Cicuta virosa o nabo del diablo	<i>Oenanthe crocata</i>

Por su contenido en aceites esenciales, las umbelíferas tienen interés medicinal, entre las especies que destacan tenemos:

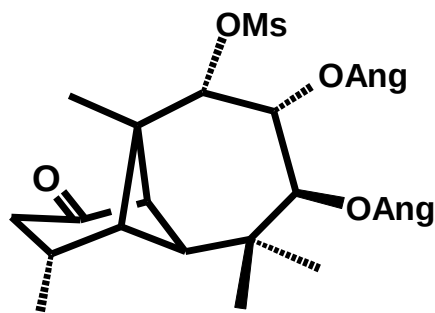
- *Angelica archangelica*
- *Peucedanum ostruthium*
- *Levisticum officinale*
- *Laserpitium latifolium*
- *Pimpinella anisum*



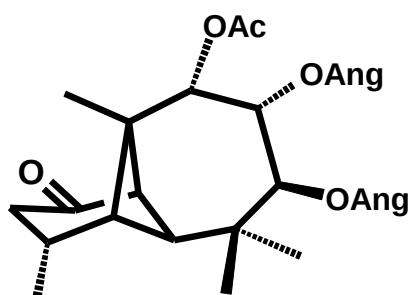
Dado de que en muchas especies que pertenecen al género *Stevia* se han obtenido mezclas de ésteres, ya sea saturados o insaturados, sostenidos en diferentes posiciones en el esqueleto de longipinano (**1**) y longipineno (**16**) y que además en muchos casos se tiene la presencia de oxhidrilos libres, es importante mencionar, que en la Rasteviona el grupo oxhidrilo libre secundario en C-9 α presente en el anillo de siete, así como también, los dos grupos angelato en C-7 y en C-8 son las tres posiciones que nos han llevado a estudiar la reactividad del sistema de longipinano donde la hidrólisis estándar de los angelatos produjo la Triolona (**22**) y a partir de ésta mediante diferentes condiciones de reacción se han obtenido derivados esterificados como el Mesilato (**23**) y acetato de Rasteviona (**24**).



22.- Triolona

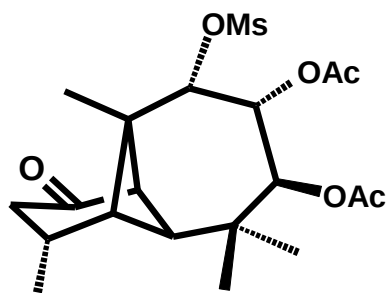


23.- Mesilato de Rasteviona

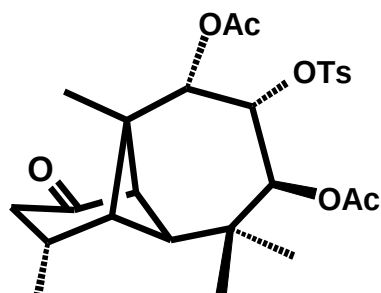


24.- Acetato de Rasteviona

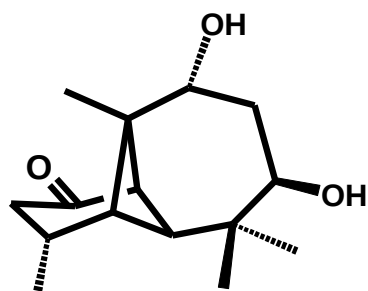
La comparación de todos los datos espectroscópicos de los ésteres como el Mesilato diacetato (**25**) obtenido para establecer la reactividad de su oxima respectiva; los ésteres derivados del ácido *p*-toluensulfónico que han permitido en el sistema de longipinano obtener tosilatos en posiciones selectivas; el 7,9-diacetato-8-tosilato de longipinantriolona (**26**) que se ha obtenido con la finalidad de llevar a cabo reacciones de eliminación del grupo tosilo mediante una reducción con HLA en THF anhidro y obtener así el 7,9-diol derivado (**27**) análogo al en-diol (**28**) obtenido por hidrólisis de la mezcla de los diésteres provenientes de los extractos hexánicos de la raíz de *Stevia caducifolia* demostró que los centros estereogénicos de los carbonos base de los oxhidrilos secundarios C-7 y C-9 poseen la misma estereoquímica. Otro tipo de ésteres como los *p*-nitrobenzoatos se han obtenido con el fin de establecer condiciones de hidrólisis selectivas en diferentes posiciones del anillo de siete miembros, así como también condiciones de selectividad entre diferentes tipos de ésteres cuyos productos conserven la estereoquímica original de los centros estereogénicos, además de preservar el esqueleto de longipinano respectivo.



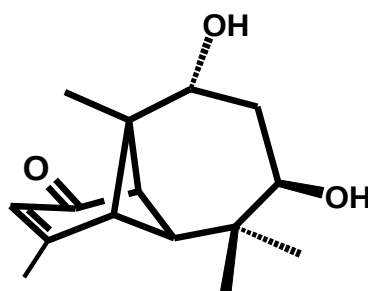
25.- Mesilato-Diacetato de Longipinantriolona



26.- Monotosilato-Diacetato de Longipinantriolona

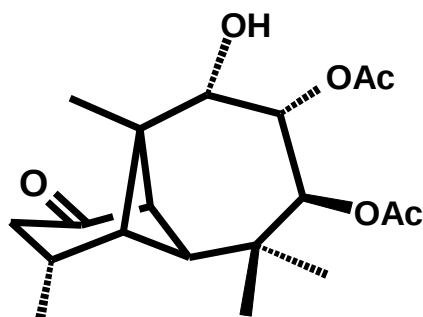


27.- Longipinan-7,9-diol-1-ona

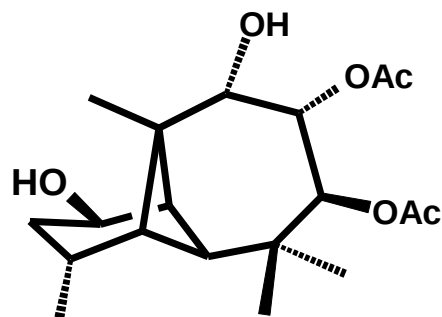


28.- Longipin-2-En-7,9-diol-1-ona

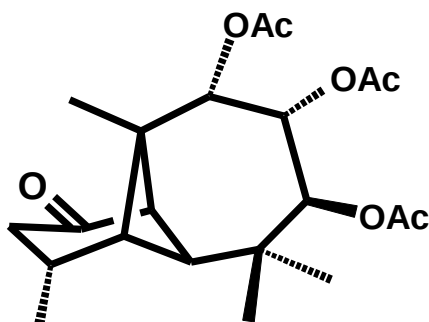
La reactividad del grupo carbonilo en la estructura de la Rasteviona se ha estudiado con la obtención de las bases de Schiff respectivas. En la preparación a partir del 7- β ,8- α diacetiloxilongipinan-9 α -ol-1-ona (**29**) cristalizado, con el agente reductor suave NaBH₄ en MeOH en frio, se obtuvo estereoselectivamente y en buen rendimiento el 7 β ,8 α -dicetiloxilongipinan-1 β ,9 α -diol (**30**) como un aceite denso e incoloro, la orientación beta del oxhidrilo resultante en esta reducción se explica basándose en la posición que guarda en el espacio el Me-14 soportado en el carbono cuaternario C-10 el cual ocasiona un impedimento estérico favoreciendo el ataque del agente reductor por la cara en la que se beneficia la orientación beta del oxhidrilo.



29.- Diacetato de Longipinatriolona

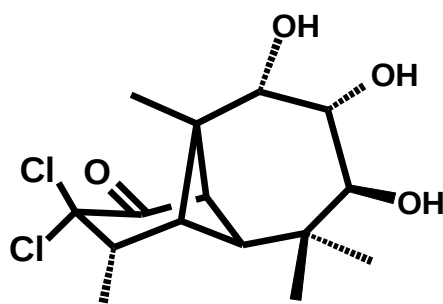


30.- 7,8-Diacetoxi-Longipinan-1,9-diol

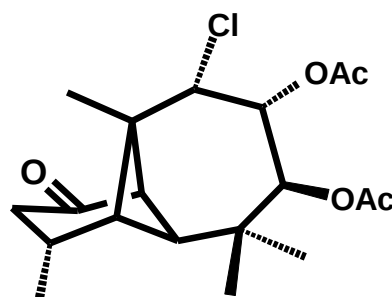


31.- Triacetato de Longipinatriolona

El único metileno de la estructura de la Rasteviona, se ha sometido a condiciones de cloración, mediante el tratamiento con hipoclorito de sodio en medio básico partiendo del triacetato de la triolona (**31**) en la que se obtiene como producto la 2,2'-diclorolongipinantriolona (**32**), debido a que las condiciones básicas de la reacción hidrolizan los acetatos de las posiciones C-7 y C-8.

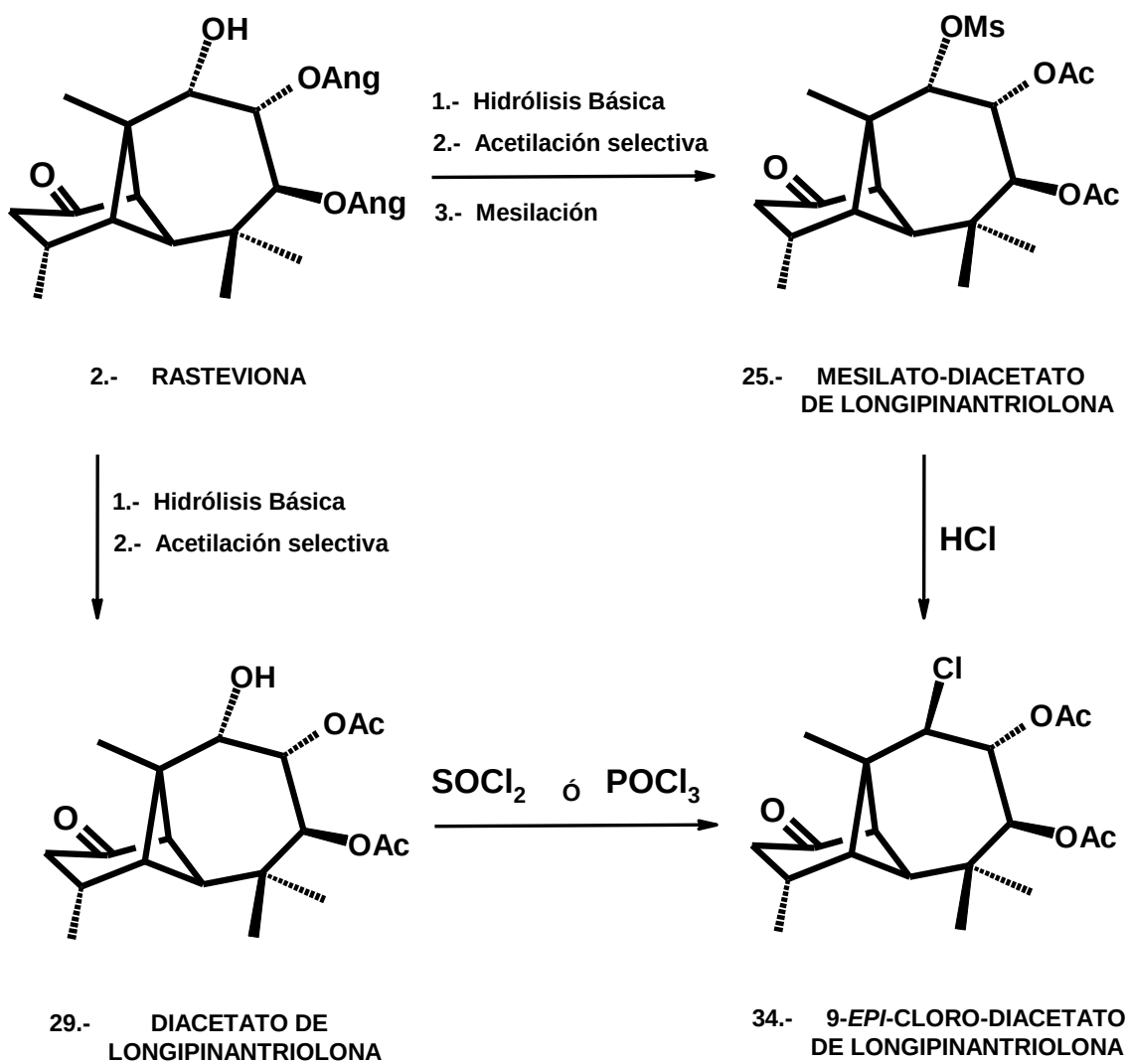


**32.- 2,2'-Dicloro
Longipinantriolona**



**33.- 9α-Chloro-7β, 8α-
Diacetoxi-Longipinan-1-Ona**

Se ha logrado obtener el 9-*epi*-cloro derivado de longipinano (**33**) como una comprobación de la facilidad de reaccionar del grupo oxhidrilo C-9 del anillo de siete miembros hacia las condiciones de sustitución, ya que las reacciones para incorporar halógenos, en particular cloro y bromo, se dificulta por la presencia de ésteres insaturados y para poderse llevar a cabo se han usado los di o triacetatos respetivos como materia prima para incorporar dichos halógenos. Partiendo de Rasteviona, el derivado (**33**), se ha obtenido por dos rutas: una en la cual el 7,8-diacetoxilongipinan-9α-ol-1-ona (**29**) se convierte directamente al 7,8-diacetoxilongipinan-9α-cloro-1-ona (**33**) mediante la reacción con SOCl_2 o con el POCl_3 utilizados como agentes clorantes; mientras que en la segunda ruta el oxhidrilo en C-9 del 7,8-diacetiloxilongipinan-9α-ol-1-ona (**29**) se transforma en su respectivo mesilato en condiciones estándar con el cloruro de metansulfonilo para dar el 7,8-diacetiloxilongipinan-9α-mesiloxi-1-ona (**25**) el cual es sometido con HCl para obtener el 7,8-diacetiloxilongipinan-9β-cloro-1-ona (**34**) representados en el esquema I la serie de todos estos derivados fue caracterizada e identificada mediante sus respectivos espectros de RMN de ^1H y ^{13}C .



ESQUEMA I

PARTE TEÓRICA

Las *Asteraceae* (del griego Aster= astro o estrella), llamadas anteriormente *Compositae*, pertenecen al orden de los Asterales y son una familia de plantas de las más numerosas del reino vegetal que se encuentran distribuidas ampliamente a nivel mundial; a ella pertenecen más de 23,000 especies¹⁻¹², la familia se caracteriza por presentar las flores dispuestas en una inflorescencia compuesta denominada capítulo, la cual se halla rodeada de una o más filas de brácteas (involucro).

Las compuestas presentan una considerable importancia ecológica y económica. Los miembros de esta familia se distribuyen desde las regiones polares hasta los trópicos, habitando todos los terrenos disponibles, desde los desiertos secos hasta los pantanos y desde las selvas hasta los picos montañosos.

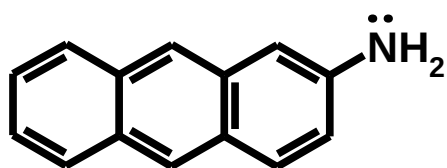
En muchas regiones del mundo las compuestas llegan a integrar hasta el 10% de la flora vernácula. La familia contiene algunos géneros con una gran cantidad de especies como es el caso de *Eupatorium* (1200 especies), *Senecio* (1000 especies) y *Helichrysum* (500-600 especies)³ y son las *Asteraceae* las que pertenecen a la tribu *Eupatoriaceae*, entre las cuales se encuentran los géneros de plantas Fanerógamas, *Eupatorium* y *Stevia*¹³⁻²³ que se caracterizan por ser herbáceas o arbustivas y crecen en regiones tropicales o subtropicales en los bosques de pino y encino entre los 800 y 1800 m.s.n.m., algunos ejemplos que crecen en la República Mexicana son la *Stevia serrata* Cav., *Stevia rhombifolia*, *Stevia organoides*, *Stevia subpubescens* Lag., *Stevia subpubescens* Var., *Stevia lúcida*, *Stevia víscida*, *Stevia monardaefolia*, *Stevia jorullensis*, *Stevia porphyrea*, *Stevia ovata*, *Stevia caracasana*, *Stevia pilosa* y *Stevia eupatoria*, entre otras más.

Recientemente se ha adaptado una especie oriunda del Paraguay en algunos estados de la República Mexicana como son las regiones tropicales de los estados de Yucatán, Nayarit y Colima, se trata de la *Stevia rebaudiana*, ancestralmente durante siglos, los nativos guaraníes en el Paraguay la utilizaron principalmente como edulcorante natural. Se sabe que de las aproximadamente 240 especies con las que cuenta el género *Stevia* ésta es una de las más importantes debido al gran potencial económico que representa. Otras más son utilizadas en la medicina tradicional o presentan efecto antialimentario y citotóxico.

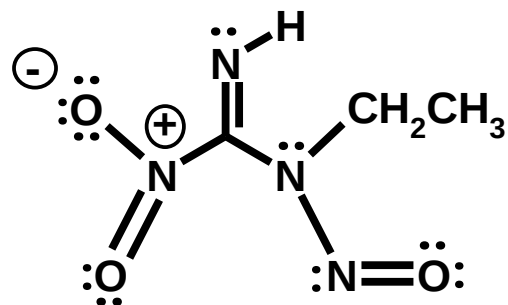


También se han realizado estudios con los extractos metanólicos obtenidos de hojas, raíces y flores de la *Stevia eupatoria* y *Stevia pilosa* demostrando su acción antimutagénica utilizándose el test de Ames con y sin activación metabólica, así pues, se probó el efecto de dichos extractos sobre el daño inducido por tres mutágenos, encontrando en primer lugar un efecto inhibitor de ambas especies en la mutagénesis inducida por el 2-aminoantraceno **(35)** en la cepa TA98, de estos estudios se concluyó que el mejor efecto antimutagénico se obtuvo con las hojas de ambas especies y solo con las flores de la *Stevia eupatoria*, además las mutaciones inducidas con N-etil-N'-nitro-N-nitrosoguanidina **(36)** en la cepa TA100 también se manifestó tal efecto, ya que las flores de la *Stevia pilosa* y la raíz de la *Stevia eupatoria* mostraron aproximadamente un 93% de inhibición.

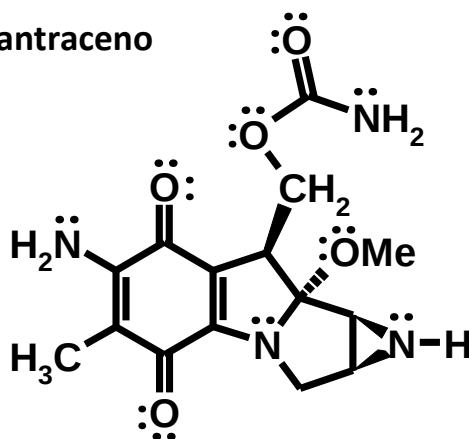
Por lo tanto, las mutaciones inducidas por mitomicina-C **(37)** en la cepa TA102, tuvieron una reducción del 87% si se utilizan las hojas de la *Stevia eupatoria*. En estudios adicionales, se determinó el potencial de captación de radicales de los extractos con el método del DPPH, y se encontró un potente efecto producido por todos los extractos con una eficacia de más de 90%, con esto, se demostró que los extractos probados de ambas especies presentaron un potencial tanto antimutagénico como antioxidante.



35.- 2-Amino antraceno

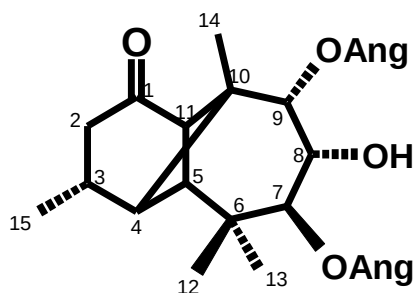


36.- N-Etil-N'-Nitro-N-Nitrosoguanidina

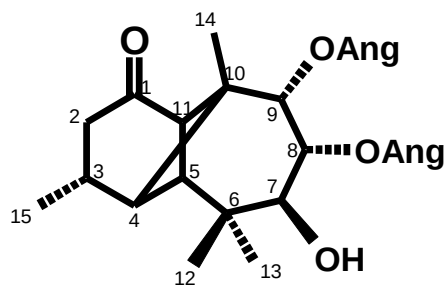


37.- Mitomicina C

Han sido notablemente importantes los estudios fitoquímicos realizados con el aislamiento de la Rasteviona (**2**). Se inició con los extractos hexánicos donde una vez concentrados se obtuvieron en algunos casos mieles cristalinas amarillentas y en otros se obtuvo como un sólido cristalino. La variación que representa este hecho afecta en gran medida la continuidad de los estudios fitoquímicos de la reactividad de la Rasteviona, ya que es necesaria la transformación de ésta a su estado cristalino, por lo que se dio pauta para llevar a cabo estudios posteriores en la búsqueda de metabolitos presentes minoritariamente en los extractos que impidiesen la cristalización y fue así como se reportó el aislamiento de cantidades minoritarias de dos isómeros cercanamente relacionados, correspondientes a las isorastevionas (**11 y 12**), cuyas diferencias estructurales radican en la posición relativa que guarda el grupo oxhidrilo en el anillo de siete miembros de las seis posiciones estereoselectivas probables, así como también las posiciones relativas de los dos ésteres angélicos restantes colocados en el mismo anillo respectivamente, considerando a su vez las estereoquímica relativas biogénicamente favorecidas.



11.- Isorasteviona

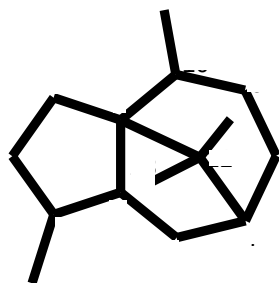


12.- Isorasteviona

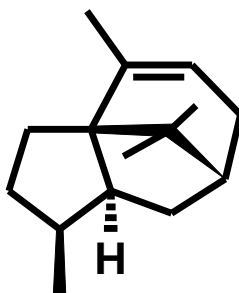
Considerando que la estructura básica del esqueleto de Longipineno (**16**) consta también de un sistema sesquiterpénico tricíclico [6,4,7], es importante tener en cuenta que algunos de estos sistemas tricíclicos se encuentran en la naturaleza pudiendo apreciar estructuras que son derivadas de esqueletos precursores a los sistemas tricíclicos como por ejemplo las estructuras del grupo del guaiano (**38**) siendo el [6,5,5] correspondiente al patchoulano (**39**) y dentro de los cuales se han obtenido metabolitos como los α , β y γ -patchoulenos (**40**, **41** y **42**) cuyos tres anillos son de tamaño mediano: uno de seis y dos de cinco miembros.

La fuente original de estas estructuras es del aceite esencial de la India llamado patchoulí que llanamente se dice pachuli, proviene de la planta *Pogostemon cablin* (blanco) Benth, la cual, es una especie de planta del género *Pogostemon*, es herbácea de la familia de la menta con tallos erectos, alcanzando aproximadamente los 0.75 metros de altura y que llevan pequeñas flores exóticas pálidas de color rosa-violáceo-blanquecino originaria de regiones tropicales de Asia y se cultiva extensamente en China, Indonesia, India, Malasia, La Isla Mauricio, Taiwán, Filipinas, Tailandia y Vietnam.

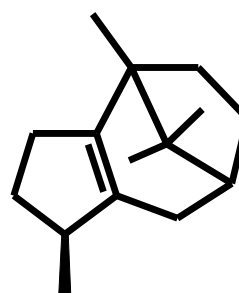
El metabolito obtenido del aceite esencial de esta planta es el alcohol patchuli (**43**) extraído de las hojas.



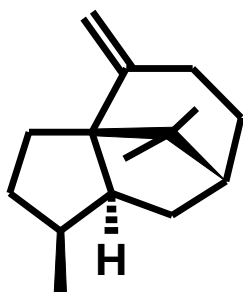
39.- Patchulano



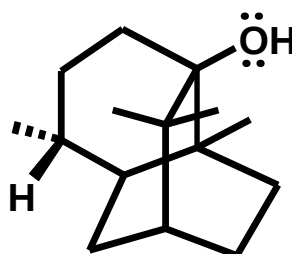
40.- α -Patchuleno



41.- β -Patchuleno

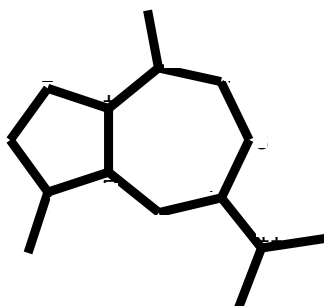


42.- γ -Patchuleno

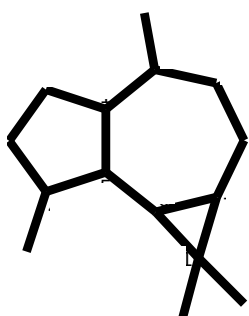


43.- Alcohol Patchuli

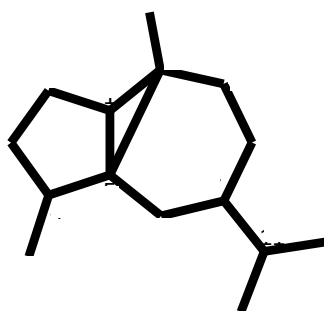
Del mismo sistema del guaiano se encuentran el aromadendrano (**44**) el cual es un 6,11-cicloguaiano, el 5,10-cicloguaiano (**45**) y el 1,6-cicloguaiano (**46**) estos últimos llamados cubebanos; otro sistema [7, 5, 3] es el de los africananos (**47**) en la que la numeración del sistema está basado en la numeración del farnesano (**48**) el cual es el sesquiterpeno saturado alicíclico. Todos los sesquiterpenos tricíclicos antes mencionados poseen cuatro metilos excepto el γ -patchuleno (**42**). Para el caso de esqueletos tricíclicos cuya referencia son sistemas bicíclicos, se tiene también los derivados del esqueleto bicíclico del eremofilano (**49**) y del cual se derivan el esqueleto del aristolano (**50**) y un caso particular de este sistema es el calareno (**51**).



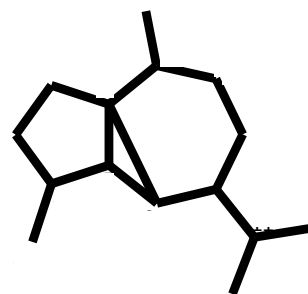
38.- Guaiano



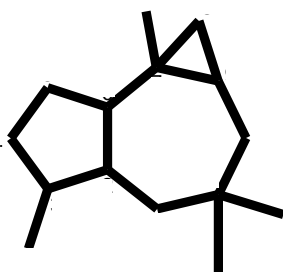
44.- Aromadendrano



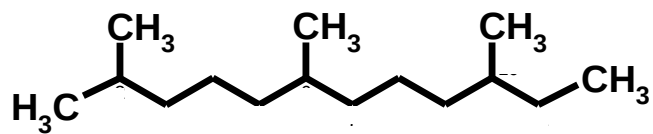
45.- 5,10-cicloguaiano



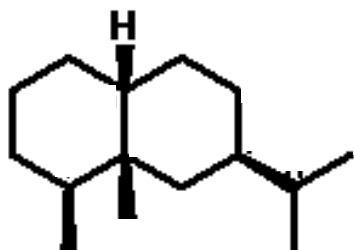
46.- 1,6 -cicloguaiano



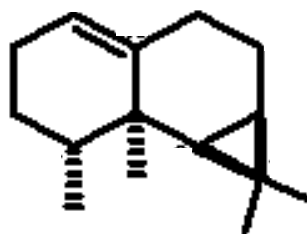
47.- Africano



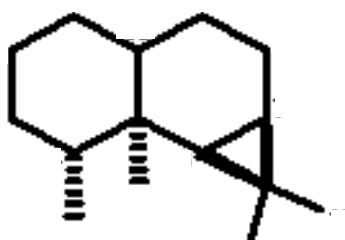
48.- Farnesano



49.- Eremofilano



51.- Calareno



50.- Aristolano

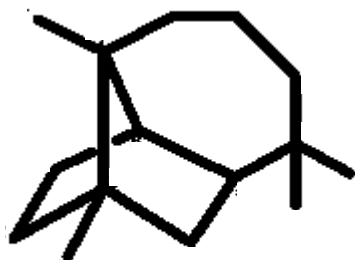
El nombre de aristolano se debe al nombre de las plantas de las cuales se han aislado este tipo de estructuras, como lo son las aristolochias siendo casi 500 especies las que pertenecen a la familia de la *Aristolochiaceae*.

A continuación se mencionan las más representativas:

<i>Aristolochia acutifolia</i>	<i>Aristolochia orbicularis</i>
<i>Aristolochia bianorii</i>	<i>Aristolochia taliscana</i>
<i>Aristolochia bilobata</i>	<i>Aristolochia sempervirens</i>
<i>Aristolochia caudata</i>	<i>Aristolochia pilosa</i>
<i>Aristolochia longa</i>	<i>Aristolochia tomentosa</i>
<i>Aristolochia ovalifolia</i>	<i>Aristolochia macrophylla</i>



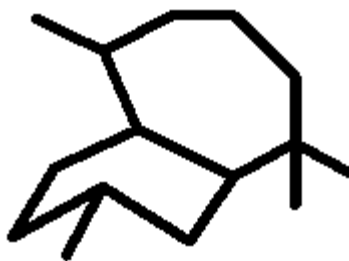
Otro ejemplo de sesquiterpenos tricíclicos es el longibornano (**52**) que también tiene el nombre de 3,7-ciclohimachalano, estos compuestos están distribuidos en varias especies de coníferas de los géneros *Juniperus*, *Pinus*, *Cupressus*, *Dacrydium* y *Cedrus*. Una parte de su esqueleto la posee el resto del monoterpene saturado de F.M. $C_{10}H_{18}$ bornano (**53**), el cual, se relaciona estructuralmente con el sesquiterpene bicíclico himachalano (**54**). Un metabolito derivado de la estructura del longibornano es el alcohol secundario kuromatsuol (**55**), llamado también, Juniperol o 4 β -longiborneol (**55**), el cual se obtuvo de un *dacrydium* siendo el nombre botánico de un género de coníferas que se encuentra dentro de la familia de las podocarpaceas, que consta de 21 especies dioicas y perennifolias¹. Solander describió el género en 1786, al que posteriormente se fueron incorporando distintas especies, una de las cuales es el *Dacrydium gracile*, planta que se encuentra únicamente en Malasia.



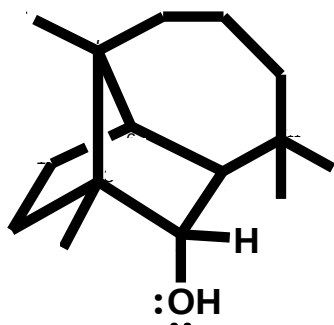
52.- Longibornano



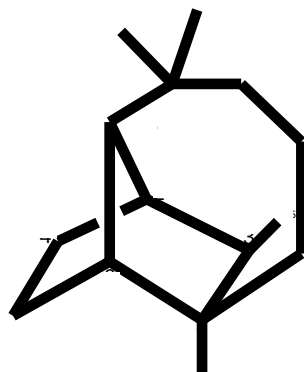
53.- Bornano



54.- Himachalano



55.- Kuromatsuol



56.- Longifolano

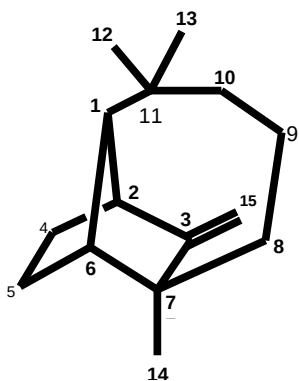
Los sesquiterpenos tricíclicos de esqueleto de Longifolano (**56**) han sido obtenidos de pináceas, tal es el caso de la estructura hidrocarbonada del Longifoleno (**57**). De estas estructuras sesquiterpénicas, en particular de sus respectivos aceites esenciales, se han reportado sus propiedades medicinales y la acción insecticida como un mecanismo milenario de defensa ante el ataque de mosquitos e insectos. El estudio de estas propiedades en la flora autóctona de cada país es importante y necesario como parte del aprovechamiento de sus recursos forestales.

Han sido estudiados diferentes especies de pinos de entre los cuales destacan los relacionados con las especies endémicas de Cuba donde los taxónomos reconocieron tres variedades relacionadas con el pino caribeño y estos son el *Pinus caribaea* Var. de Cuba, el *Pinus caribaea* Var. *hondurensis* de la América central y el *Pinus caribaea* Var *bahamensis* de las Bahamas, las cuales difieren en el número de agujas por fascículo, el tamaño de los conos y la anatomía de la semilla¹¹.

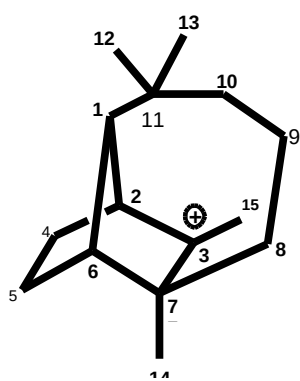
Las especies endémicas *Pinus tropicalis* y *Pinus caribaea*, poseen acción larvicida específicamente para *Aedes aegypti*. Los análisis de ambas presentaron en su composición hidrocarburos monoterpénicos que constituyen el 26,5% para el *Pinus tropicalis* y el 23,6% para el *Pinus caribaea*.

Además se llevó a cabo la comparación de los resultados con respecto a los obtenidos en estudios realizados para la acción larvicida y repelente del aceite de *Pinus longifolia* en *Aedes aegypti* y *Anopheles stephensi*, siendo estos últimos resultados los mejores debido a que las dosis aplicadas fueron menores para el *Aedes aegypti*.

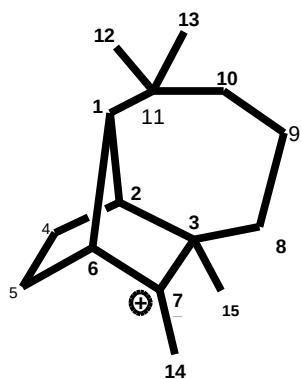
El metabolito sesquiterpénico tricíclico obtenido del *Pinus longifolia*, (+)-Longifoleno (**57**), se ha convertido en el (-)-Longifoleno (**60**), a través de las etapas que generan la formación de iones carbonio (**58 y 59**).



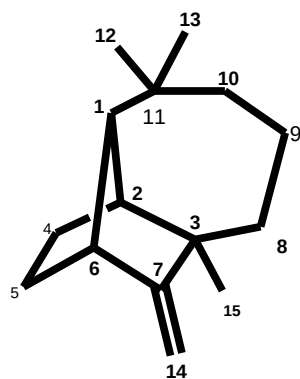
57.- (+)-Longifoleno



58.- I.C.-Longifolilo



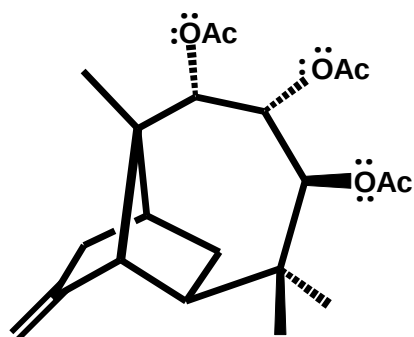
59.- I.C. (II)-Longifolilo



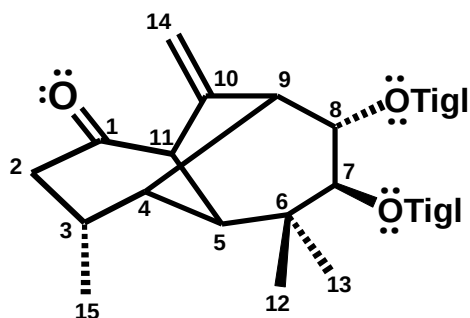
60.- (-)-Longifoleno



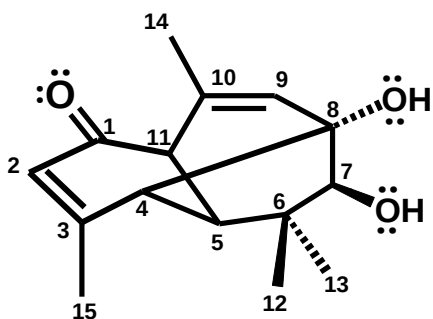
Este tipo de transposiciones se han llevado a cabo con el esqueleto del longipineno, mediante diversos tratamientos ácidos, así se han generado nuevos esqueletos tricíclicos, los cuales poseen sistemas anulares de diferente dimensión así como también es diferente la posición relativa que guardan los grupos metilo en cada uno de los esqueletos, un ejemplo de ello son los derivados estructurales, representados en el esquema II, que poseen el esqueleto de longipinano, proveniente del metabolito natural Rasteviona, que mediante tratamientos ácidos o básicos, generaron nuevos productos de rearrreglo así como también nuevas anillaciones como lo son el caso del jiquilpano (**61**), morelieno (**62**), quirogano (**63**) y el uruapano (**64**).



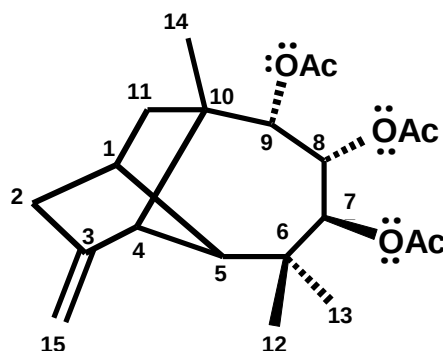
61.- Jiquilpano



62.- Morelieno



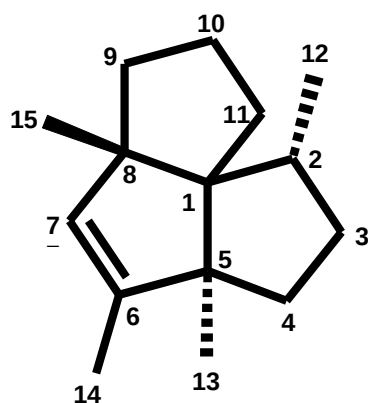
63.- Quirogano



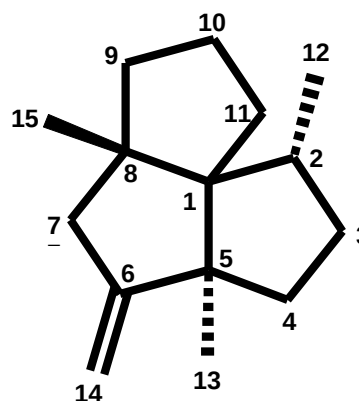
64.- Uruapano

ESQUEMA II

Estudios adicionales en los que se han aislado sesquiterpenos tricíclicos novedosos de otras especies de *Stevias*, como los esqueletos hidrocarbonados poco comunes en la naturaleza conocidos como triquinanos, fueron obtenidos por primera vez del aceite esencial de la *Stevia viscida*, que fue colectada en el tramo carretero entre Zurumbeneo y Las Peras en la carretera federal No. 15 que conecta la Cd de Morelia con la Cd de México. Dichas estructuras corresponden al isocomeno (**65**) y el β -isocomeno (**66**), las cuales, fueron validadas por espectroscopía de RMN de ^1H y ^{13}C . Ambas contienen tres anillos de cinco miembros fusionados, en los que se destaca al carbono C-1 común a los tres anillos, el isocomeno (**65**) cuenta con cuatro grupos metilo uno secundario y tres terciarios así como también cinco metilenos sp^3 ; el β -isocomeno (**66**) consta de tres grupos metilo uno secundario y dos terciarios, pero también seis metilenos sp^3 y uno sp^2 , ambos isómeros poseen cuatro carbonos cuaternarios. La estereoquímica que presentan los metilos es la misma para ambos sesquiterpenos, en cuanto a la instauración se refiere, una es trisustituída endocíclica y la otra es *gem* disustituída exocíclica.



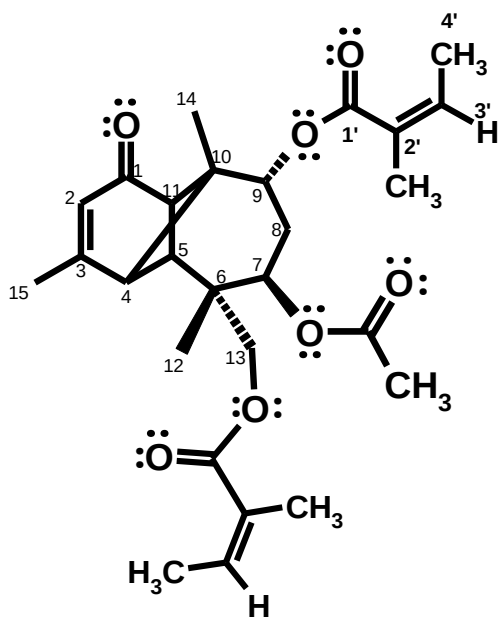
65.- Isocomeno



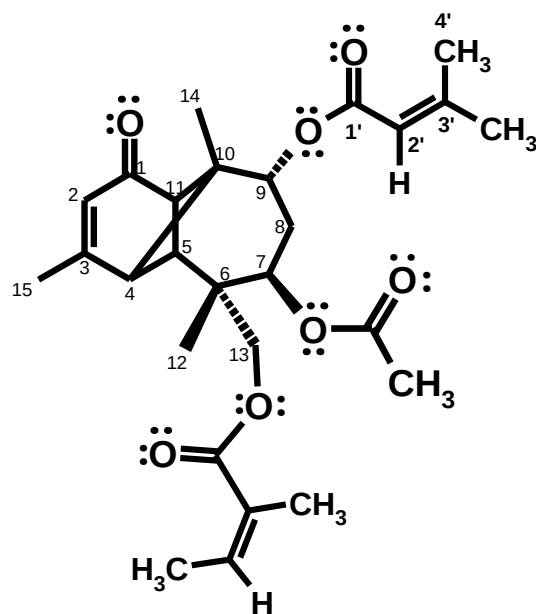
66.- β -Isocomeno

De la mayoría de las especies de *Stevia* se han aislado metabolitos sesquiterpenicos que contienen el sistema del longipinano, siendo la diferencia principal entre ellos, el número y tipo de estructura de los grupos funcionales así como su distribución en las distintas posiciones del esqueleto.

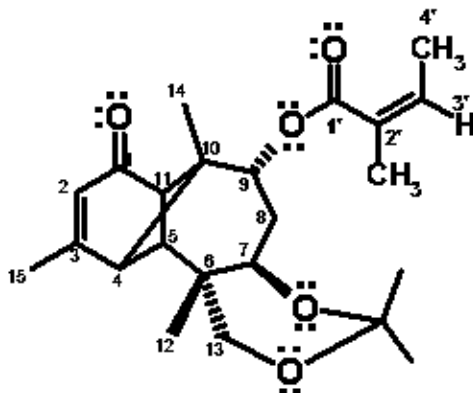
Por ejemplo de los metabolitos aislados de la *Stevia organoides* (**67**, **68**, **69**), el metabolito (**68**) contiene tres grupos éster: un acetato en C-7, que es un éster saturado; un éster α , β insaturado correspondiente a un senecioato sostenido en C-9 y un éster α , β no saturado correspondiente a un angelato sostenido en C-13 funcionalizando uno de los metilos del gem-dimetilo en C-6. El metabolito (**69**) posee un éster α , β insaturado que corresponde a un angelato sostenido en el C-9 y dos oxhidrilos protegidos como acetónido de un posible diol C-7, C-13.



67.- Derivados de Longipineno
de *Stevia organoides*

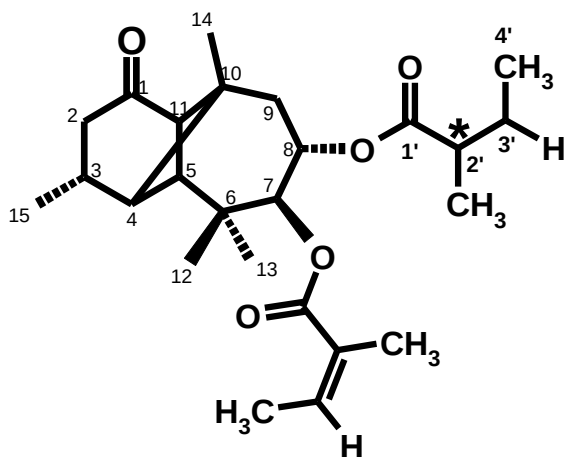


68.- Derivados de Longipineno
de *Stevia organoides*

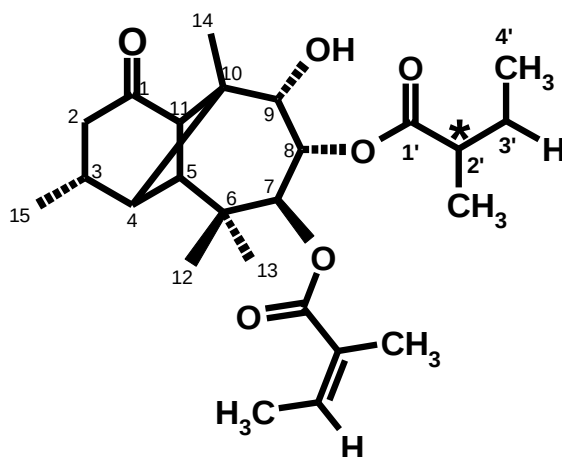


69.- Derivados de Longipineno de *Stevia organoides*

De la *Stevia pilosa* se aisló el metabolito (70) con dos éster uno el α,β no saturado que corresponde al angelato sostenido en C-7 y el otro es un éster saturado llamado metilbutirato sostenido en la posición C-8, este metilbutirato es el éster saturado de angelato. Para el caso del metabolito (71) aislado de la *Stevia connata*, la estructura es análoga a la Rasteviona, sólo que en C-8 en lugar de ser un grupo angelato es un metilbutirato.

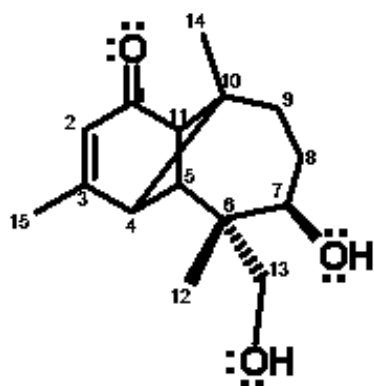


70.- Derivado de Longipinano de
Stevia pilosa

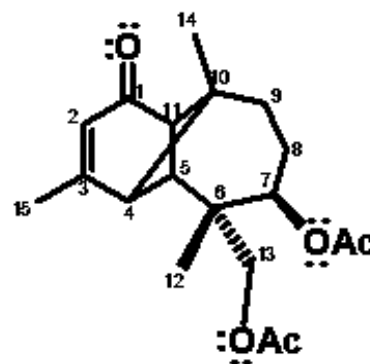


71.- Derivado De Longipinano De
Stevia connata

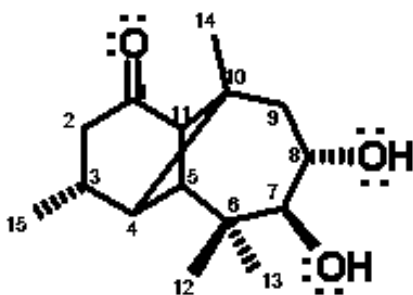
De todos estos antecedentes, relacionados con metabolitos obtenidos de diferentes especies de *Steviae*, es importante tomar en consideración los diferentes grupos funcionales que contienen los esqueletos de longipineno y longipinano y así evaluar sus reactividades, ya que, los grupos funcionales angelatos y otros insaturados como senercioatos, en condiciones de hidrólisis básica, producen los respectivos alcoholes (**72**, **73**, **74** y **75**) y a partir de éstos mediante diferentes condiciones de acetilación dan los respectivos derivados acetilados (**76**, **77**, **78** y **79**), en los que cabe hacer notar que dadas las diferentes reactividades de los grupos oxhidrilo, se pueden obtener productos de acetilación selectiva así como también la esterificación mediante mesilaciones y tosilaciones variando condiciones de reacción como tiempo y temperatura, tal es el caso del longipinantriol (**75**).



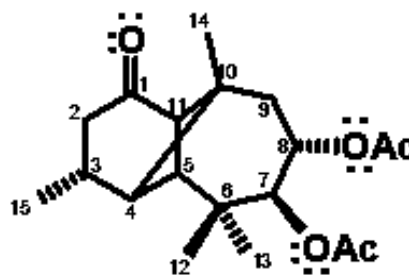
72.- Longipin-2-en-7,13-diol-1-ona



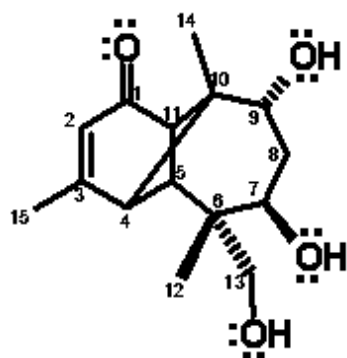
76.- Longipin-2-en-7,13-diacetoxi-1-ona



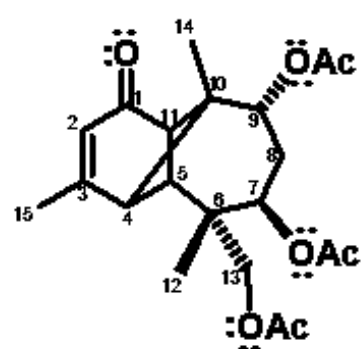
73.- Longipin-7,8-diol-1-ona



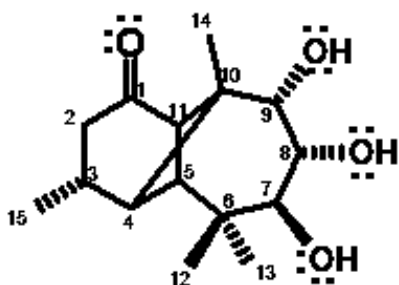
77.- Longipin-7,8-diacetoxi-1-ona



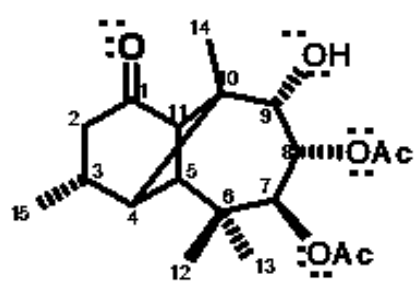
74.- Longipin-2-en-7,9,13-triol-1-ona



78.- Longipin-2-en-7,9,13-triacetoxi-1-ona

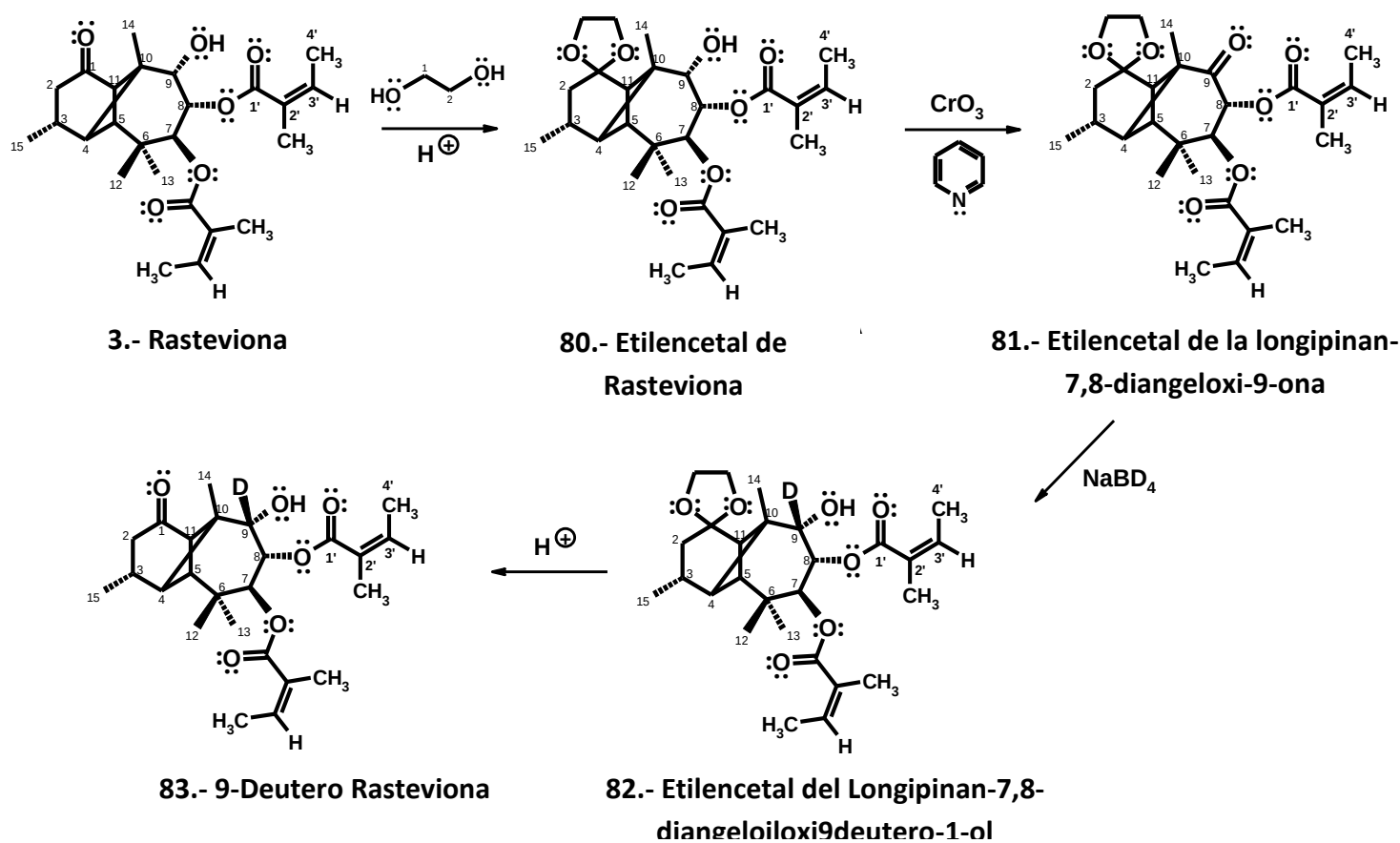


75.- Longipinan-7,8,9-triol-1-ona



79.- Longipinan-7,8-diacetoxi-9-ol-1-ona

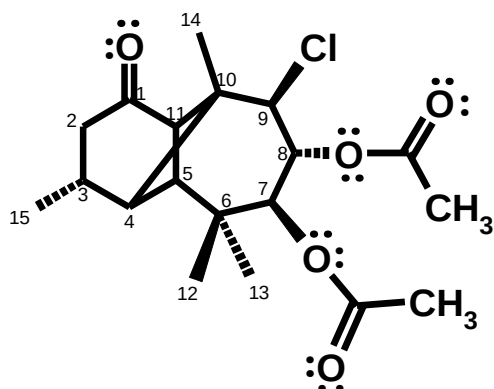
En los metabolitos correspondientes al esqueleto de longipineno o longipinano la posición C-9 se puede encontrar funcionalizada, ya sea con un oxhidrilo como en la Rasteviona, con ésteres derivados del ácido angélico como en **(67 y 69)** o con ésteres derivados del ácido senecioico como en **(68)**, esta posición se puede encontrar aún sin funcionalizar como en **(70)**, lo cual hace posible que se piense que el oxhidrilo en la posición C-9 derivada de la Rasteviona pueda ser transformada en otras funciones, como la obtención de la 9-deutero-rasteviona, cuya ruta de obtención se encuentra representada en la parte inferior donde el grupo carbonilo de C-1 de la Rasteviona es protegido con etilenglicol en medio ácido para generar el etilencetal **(80)**, el oxhidrilo del C-9 a su vez se oxida al alcohol secundario respectivo **(81)** y en esta etapa con el borodeuteruro de sodio se incorpora el deuterio para dar el alcohol marcado en C-9 **(82)**, solo resta quitar al grupo protector del grupo carbonilo en C-1, o sea al etilencetal, mediante el tratamiento ácido, para dar la 9-deuterorasteviona **(83)**.



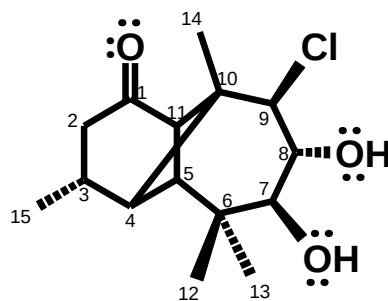
ESQUEMA III

Incorporar cloro en C-9 es más complejo, debido a la interferencia de los dobles enlaces correspondientes a los dos grupos angelato en las posiciones C-7 y C-8 en la estructura de la Rasteviona, además de que en las condiciones estándar de reacción, en la incorporación de halógenos a sistemas cíclicos saturados, dan mezclas de productos a causa de que la Rasteviona se encuentra muy funcionalizada.

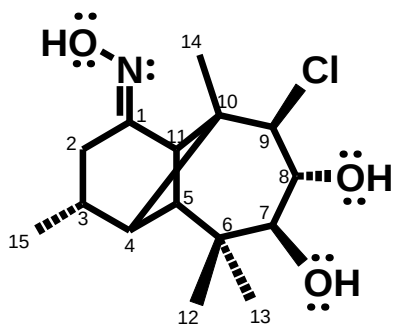
Debido a la presencia de ésteres insaturados se tuvo que llevar a cabo la sustitución de éstos por ésteres saturados como los acetatos, además que se demostró que se puede llevar a cabo la acetilación selectiva, por lo que se podría incorporar el cloro tanto a partir de los di o triacetatos para obtener los C-9 cloro derivados, que en muchos casos son sólidos cristalinos como los representados en las moléculas (84-87).



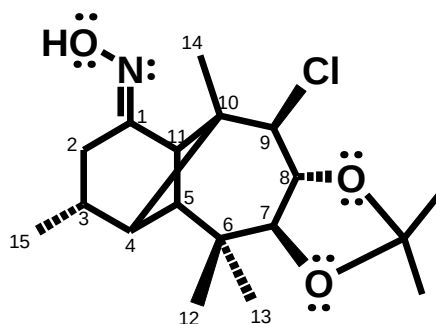
84.- 9-*epi*-Cloro-7,8-diacetoxi-Longipinan-1-ona



85.- 9-*epi*-Cloro -Longipin-7,8-diol-1-ona



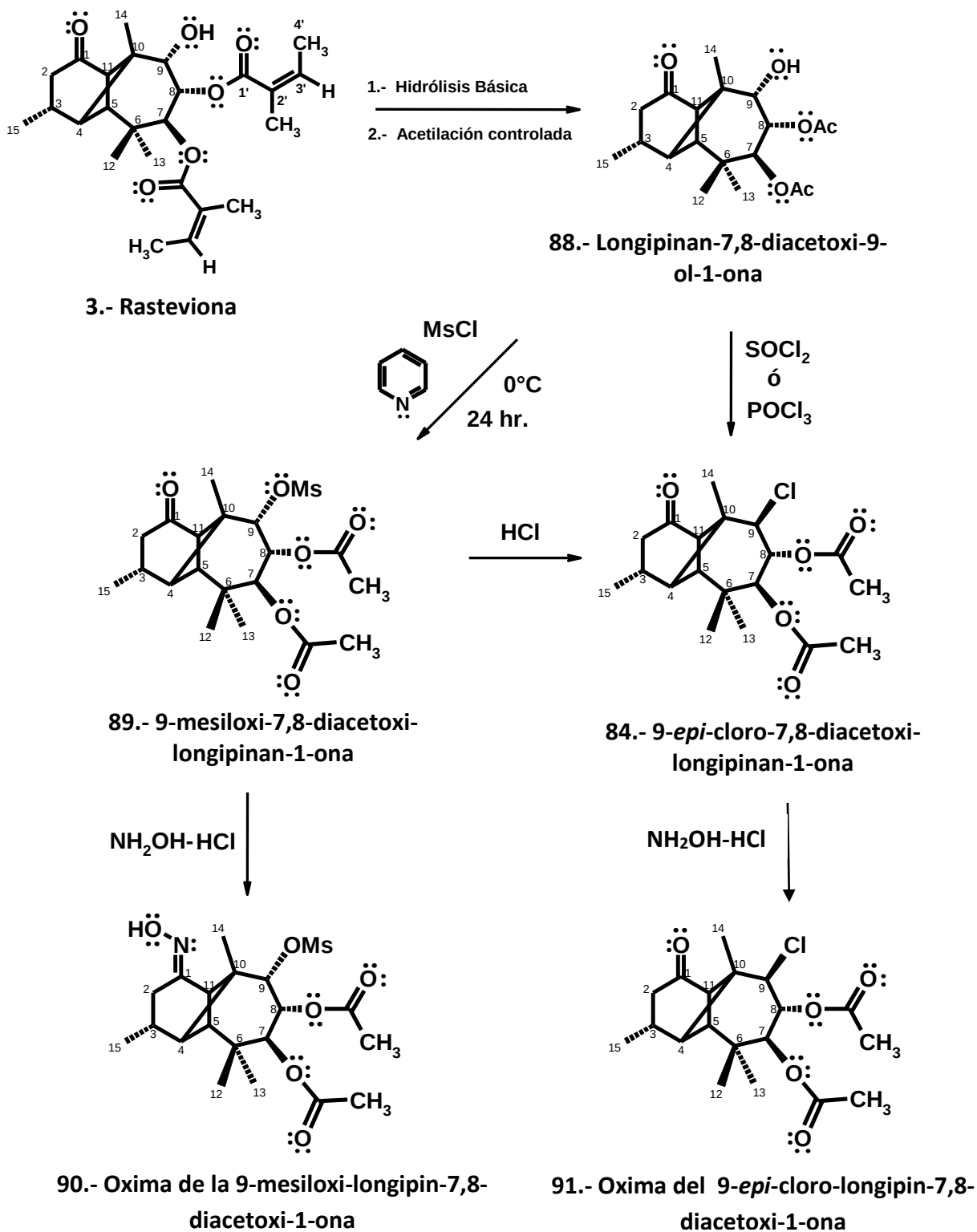
86.- Oxima de la 9-*epi*-Cloro-Longipin-7,8-diol-1-ona



87.- Oxima de la 9-*epi*-Cloro-Longipin-7,8-Acetonido-1-ona

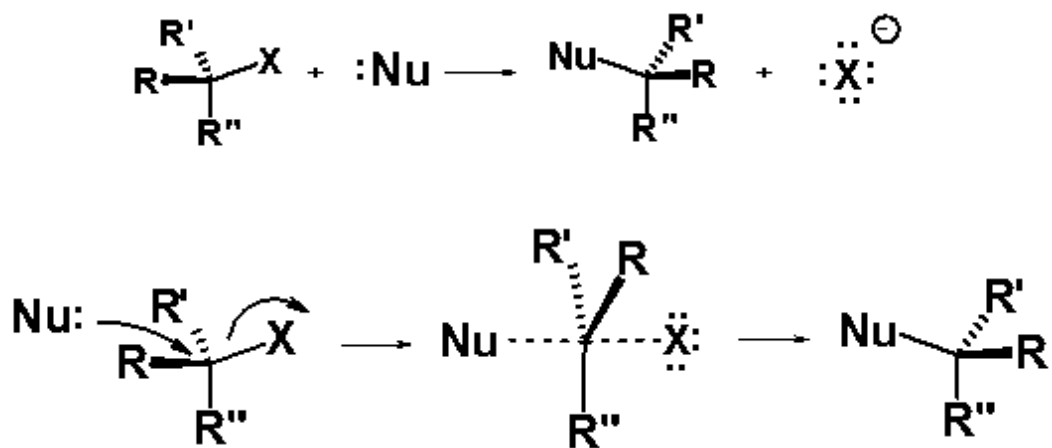
El derivado C-9-*epi*-clorado (**84**) se obtiene por dos rutas representadas en el esquema IV, en una de las rutas se parte de la Rasteviona, llevándose a cabo su hidrólisis y posteriormente una esterificación selectiva dando la longipinan-7,8-diacetilo-9 α -ol-1-ona (**88**), ésta se transforma directamente mediante la reacción con el cloruro de tionilo SOCl₂ o con el oxiclورو de fósforo POCl₃ al longipinan-7,8-diacetoxi-9 β -cloro-1-ona (**84**). Mientras que en la segunda ruta de reacción el longipinan-7,8-diacetilo-9 α -ol-1-ona (**88**) se mesila con el cloruro de metansulfonilo en piridina y en frío durante 24 h para dar el longipinan-7,8-diacetilo-9 α -mesilo-1-ona (**89**), este grupo mesilato conserva el mismo centro estereogénico de C-9 ya que el mecanismo de esterificación no involucra a este centro estereogénico, posteriormente el respectivo mesilato es sometido por tratamiento con HCl del que se obtuvo la longipinan-7,8-diacetilo-9 β -cloro-1-ona (**84**), la posición que guarda el cloro en C-9 es opuesta en orientación a la del grupo mesilato, por lo que su centro estereogénico es epimérico, y el mecanismo por el cual transcurre la reacción es de tipo S_N2, es decir, el nucleófilo que es el ión cloruro desplaza al grupo mesilato que es un buen grupo saliente es precisamente desplazado por la cara opuesta del grupo atacante y es así como el cloro queda con una orientación beta.

En un intento de llevar a cabo la obtención de la oxima (**89**) con el clorhidrato de hidroxilamina, no solo se obtuvo la oxima del mesilato derivado (**90**), sino que se obtuvo la oxima del 9-*epi*-clorodiacetoxi derivado (**91**).



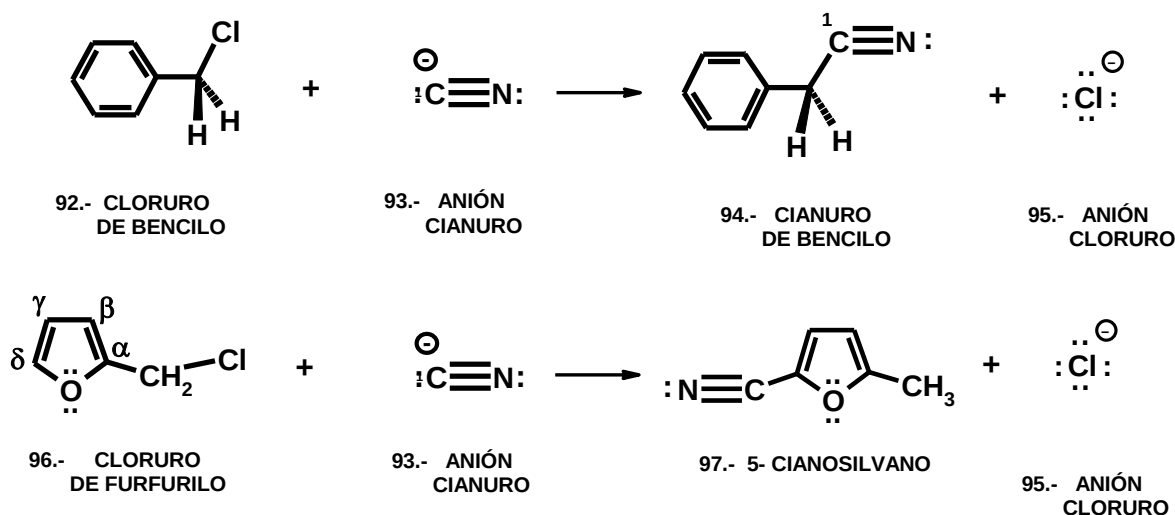
ESQUEMA IV

Hay que tomar en consideración alguna de las posibilidades mecánísticas que pueden ocurrir durante una sustitución, teniendo en cuenta la naturaleza, tipo y posición del grupo saliente. El mecanismo de una S_N2 se representa en el esquema V, en el cual el nucleófilo, ataca por el lado opuesto de donde se encuentra el grupo saliente y en el que al analizar el producto, el grupo entrante propició la inversión de la configuración.



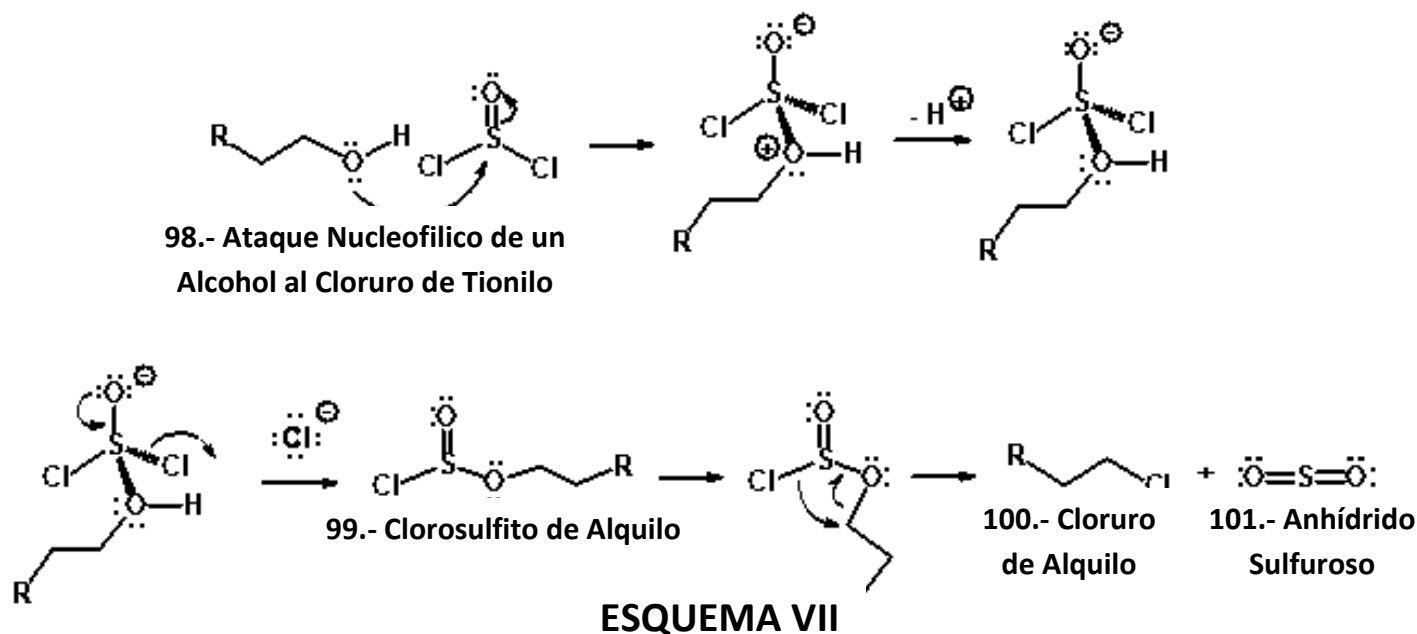
ESQUEMA V

Algunos ejemplos son mostrados en el esquema VI, en el que el cloro en el cloruro de bencilo (**92**) es desplazado por el nucleófilo cianuro (**93**) obteniendo como producto el cianuro de bencilo (**94**) y el anión cloruro (**95**), a diferencia de lo que ocurre con el cloro en el cloruro de furfurilo (**96**), el ataque del nucleófilo cianuro (**93**), no se lleva a cabo durante el ataque directo al carbono sp^3 que sostiene al cloro sino que se hace en la posición δ del anillo del furano, el cual no se comporta como un sistema aromático, sino como un sistema diénico, en el que es atacado el carbono extremo δ del dieno conjugado para dar el 5-cianosilvano (**97**).



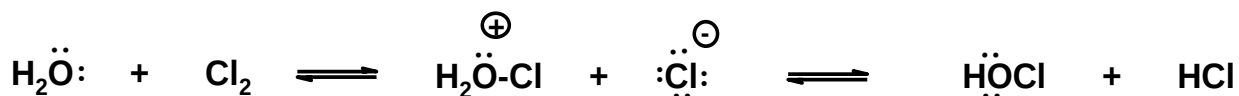
ESQUEMA VI

Para sustituir un oxhidrilo por un cloro, es decir, a partir de un alcohol obtener un cloruro de alquilo, utilizando como agente clorante el cloruro de tionilo, el proceso transcurrirá cuando el cloruro de tionilo sea atacado por el par de electrones no compartido del oxígeno del grupo oxhidrilo del alcohol (**98**), como se describe en el esquema VII, en el que el intermediario clorosulfito (**99**) elimina anhídrido sulfuroso (**101**) para producir el halogenuro de alquilo (**100**) por medio del ataque intramolecular del anión cloruro, generado durante la formación del anhídrido sulfuroso, debido a la ruptura heterolítica alquilo-oxígeno.



ESQUEMA VII

Otras condiciones clorantes es la reacción del cloro con el agua, en la cual, mediante un proceso en equilibrio, la acción del Cl_2 con agua forman el ácido hipocloroso protonado y el anión cloruro **(102)** en una etapa intermedia y posteriormente a expensas de éstas dos especies se obtiene el ácido hipocloroso y el ácido clorhídrico **(103)**.

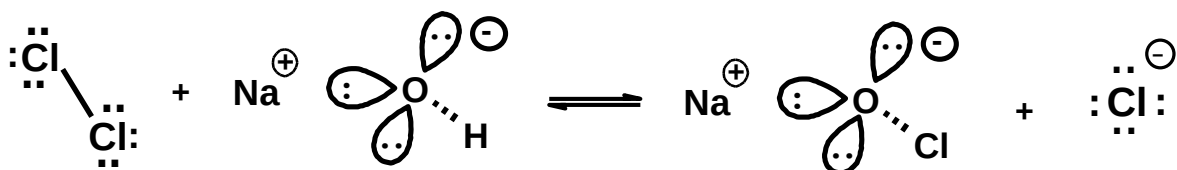


102.- Formación del ácido hipocloroso protonado y el anión cloruro

103.- Formación del ácido hipocloroso y el ácido clorhídrico

ESQUEMA VIII

En una solución básica de hidróxido de sodio **(105)** en cloro **(104)** se da el hipoclorito de sodio **(106)** y el anión cloruro **(95)**, ésta reacción se muestra en el esquema IX.



104.- Cloro

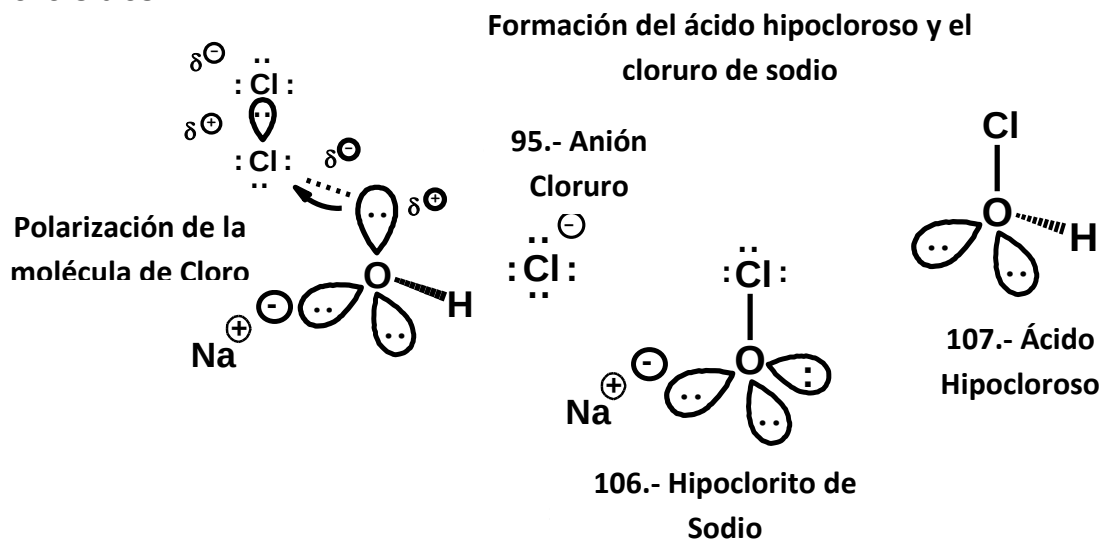
105.- Hidróxido de Sodio

106.- Hipoclorito de Sodio

95.- Anión Cloruro

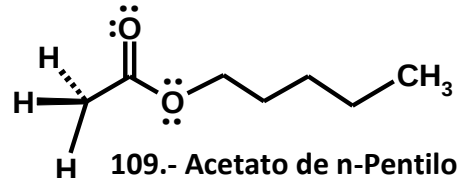
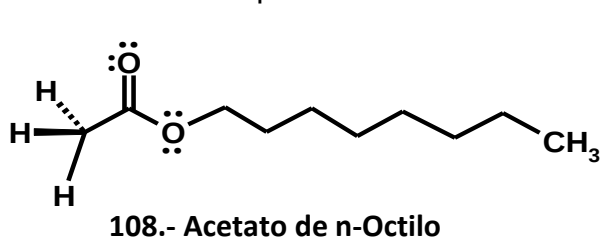
ESQUEMA IX

El esquema X muestra la polarización de la molécula de cloro (**104**) inducida por el hidróxido de sodio (**105**) para dar el anión cloruro (**95**) y el hipoclorito de sodio (**106**) obteniéndose el ácido hipocloroso (**107**) y cloruro de sodio, siendo todas las etapas reversibles.



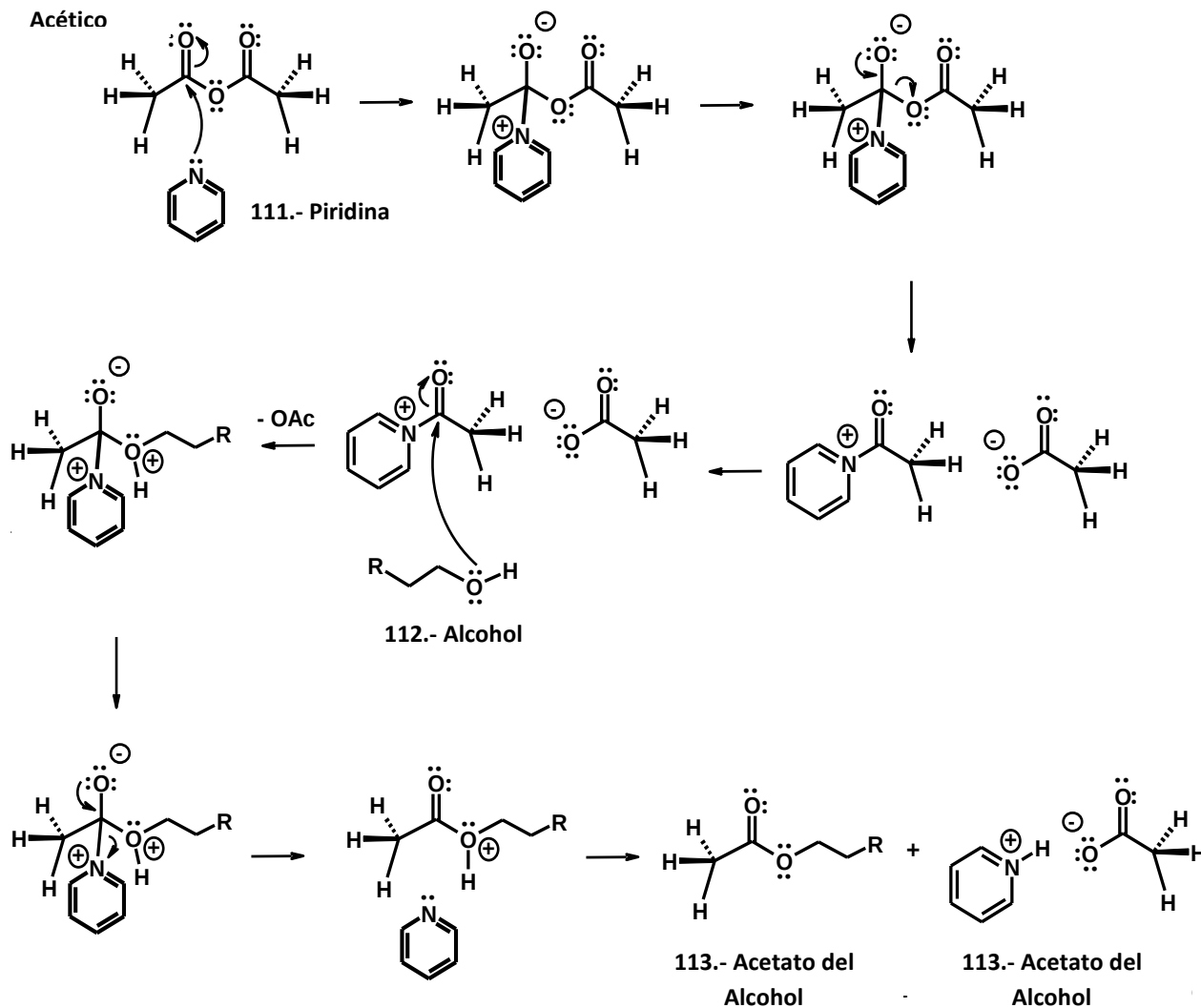
ESQUEMA X

Algunos grupos funcionales éster, se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza, tal es el caso de los ésteres insaturados y saturados derivados del ácido acético denominados acetatos, de los cuales tenemos el acetato de n-octilo (**108**) que es el responsable del olor de la naranja o el acetato de n-pentilo (**109**) olor característico del plátano.



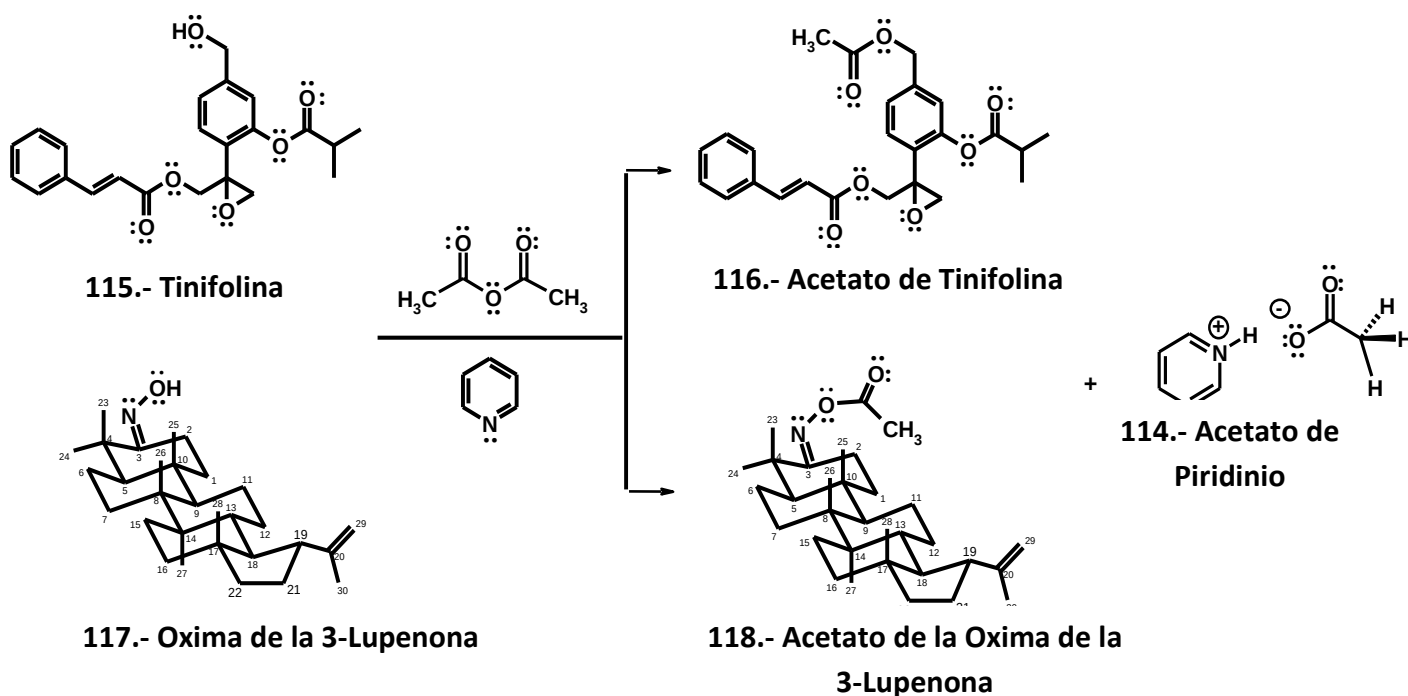
El proceso para llevar a cabo una acetilación, en lo que se define como condiciones estándar, es mezclar anhídrido acético (**110**) en piridina (**111**) con la finalidad de producir un intermediario más sensible de ser atacado por un nucleófilo relativamente débil como lo es el alcohol (**112**), ya que el ataque nucleofílico lo lleva a cabo con un par de electrones no compartido que posee el oxígeno del oxhidrilo, en el cual la trayectoria mecanística de adición-eliminación, da lugar a la obtención del acetato del alcohol protonado y la piridina, especies que se generan por transferencia de protón. La trayectoria mecanística de los productos deseados: el acetato del alcohol (**113**) y el acetato de piridinio (**114**) se muestra en el esquema XI.

XI. **110.- Anhídrido Acético**



ESQUEMA XI

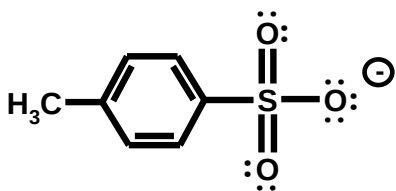
El proceso de la acetilación estándar se ha aplicado en estructuras que involucran tanto alcoholes bencílicos como la Tinifolina (**115**), la cual da el acetato respectivo (**116**), así como también en estructuras derivadas de sistemas triterpénicos como la oxima de la 3-lupenona (**117**), en la cual su oxhidrilo se comporta como el de un alcohol para dar su respectivo acetato (**118**), la irreversibilidad de esta reacción acetilada se le confiere al uso de la piridina, ya que, uno de los productos es el acetato de piridinio (**114**), el cual por lo general, cristaliza en el matraz donde se lleva a cabo la reacción, de tal manera que al salirse de la fase, no tiene la posibilidad que esta reacción transcurra reversiblemente, además de que no es un procedimiento que de buenos rendimientos.



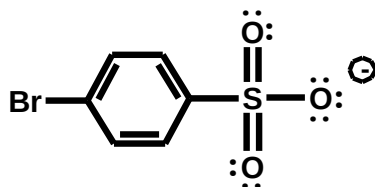
ESQUEMA XII

El proceso de esterificación para dar ésteres derivados de ácidos sulfónicos, como los mesilatos, que se llevan a cabo en frío y por lo general las condiciones estándar transcurren con el cloruro derivado del ácido sulfónico respectivo en piridina a 4 °C durante 24 h, en particular, el esquema XIII representa el mecanismo de reacción que tiene lugar para una mesilación en el que se trata el cloruro de metansulfonilo o cloruro de mesilo (**119**) en piridina, siendo ésta, utilizada de manera similar para dejar más sensible de ataque al azufre frente al nucleófilo débil que es el alcohol, es importante resaltar que el proceso se lleva a cabo irreversiblemente, ya que al final se forma la sal del clorhidrato de piridinio (**121**) que tiende a cristalizar e impide el regreso de la reacción y al mismo tiempo produce el mesilato derivado del alcohol (**120**).

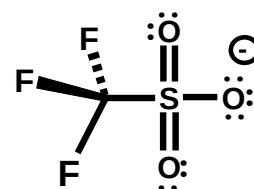
Una de las características químicas que presenta el grupo mesilato es que se comporta como un buen grupo saliente frente a nucleófilos que lo puedan desplazar, así hay otros grupos derivados del ácido sulfónico que tienen esta característica química y que su comportamiento mecanístico es similar al que se encuentra descrito en el esquema XIII, éstos son el grupo Tosilato (**122**), el grupo Brosilato (**123**) y el grupo trifluoromesilato (**124**).



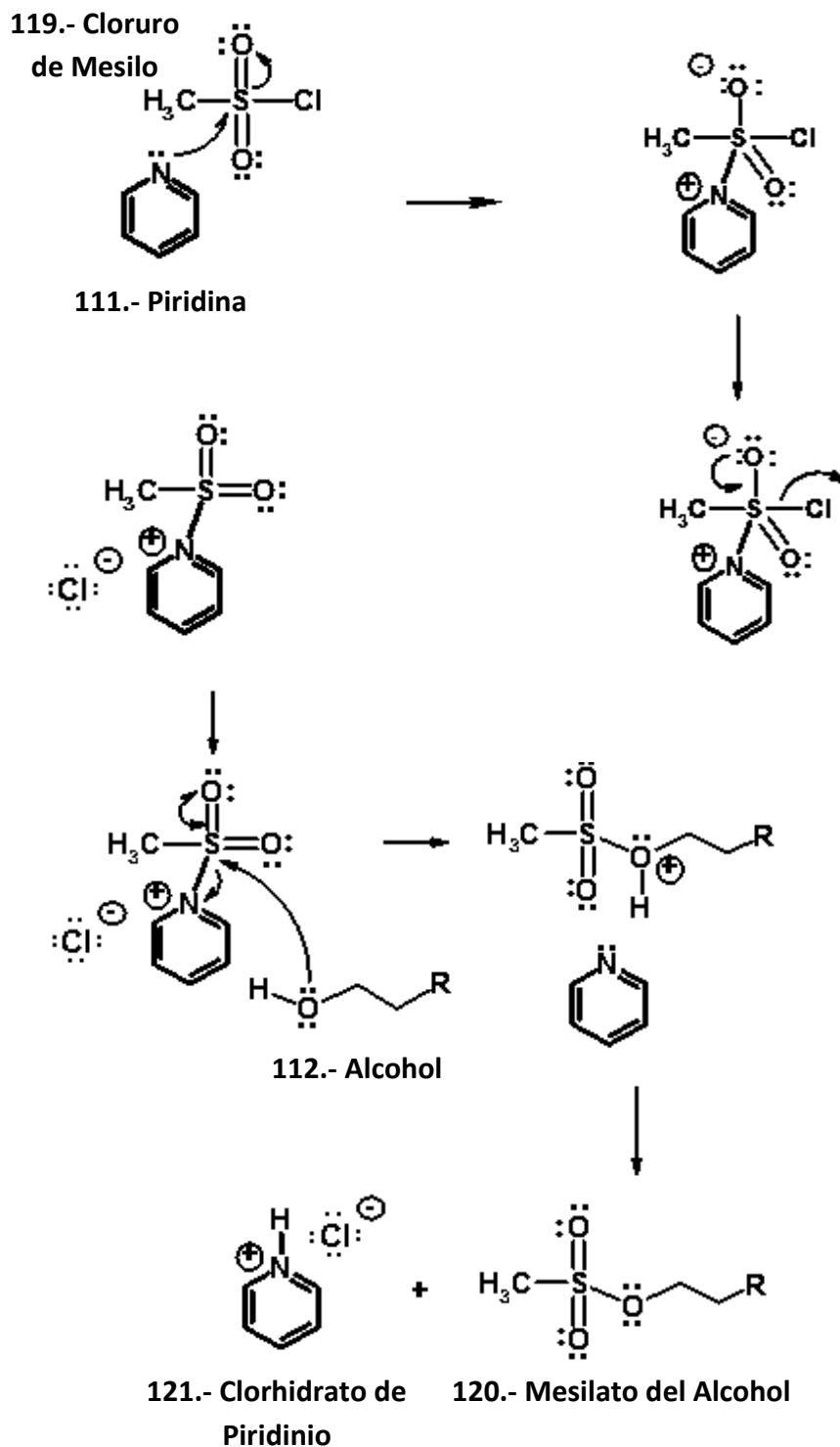
122.- Tosilato



123.- Brosilato

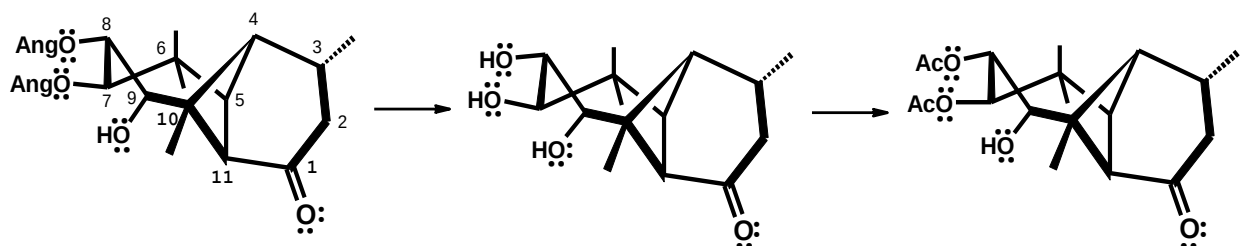


124.- Trifluoromesilato



ESQUEMA XIII

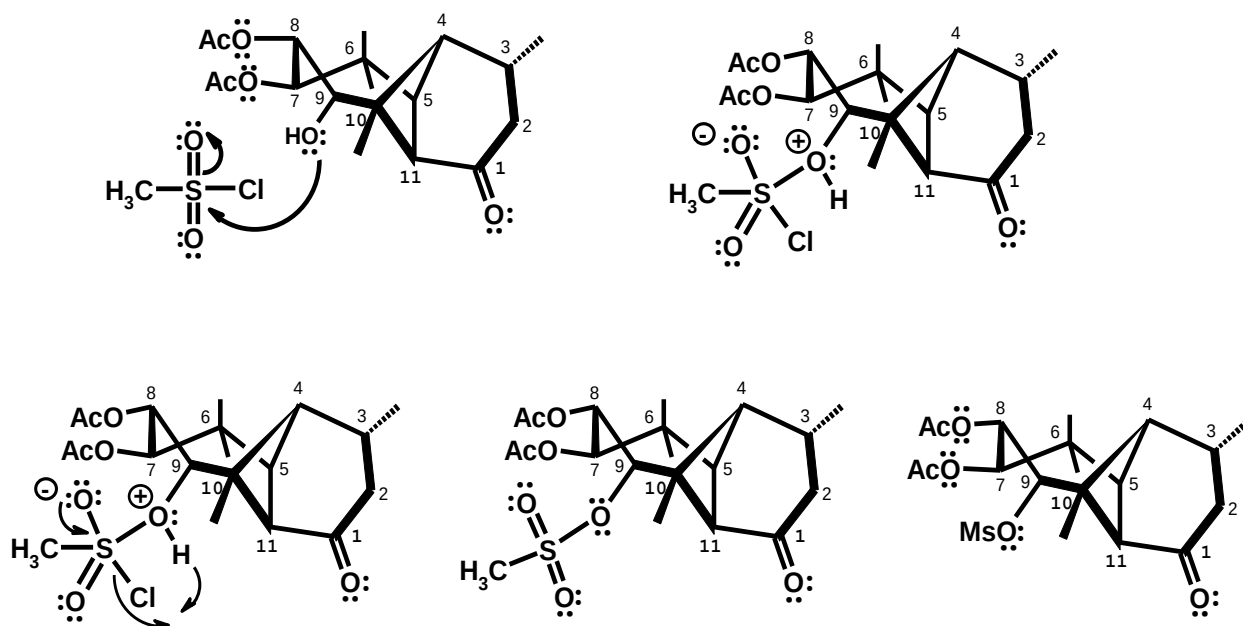
La mesilación llevada a cabo en sistemas de longipinano, como el mesilato derivado **(89)**, obtenido por la mesilación del diacetato de la longipinantriolona **(88)**, obtenida ésta a partir de la rasteviona **(3)**, en el mecanismo de la mesilación descrito sin la intervención de la piridina es el que se encuentra descrito en el esquema XIV, y aquí los intermediarios representados sin la participación del papel que juega la piridina, comparado con el esquema XIII, es que la incorporación de la molécula de piridina con el cloruro de mesilo, éste es transformado en un intermediario más sensible de ser atacado por un nucleófilo débil, que es precisamente el par de electrones no compartido del oxhidriilo del alcohol que se encuentra libre en la posición C-9 del diacetato de la longipinantriolona **(88)** respectiva y así también queda de manifiesto que la incorporación del grupo mesilo a la estructura de ésta no hay inversión de la configuración, ya que durante la reacción no se ve afectado directamente el centro estereogénico C-9, así que en el esquema XIV sólo se representa el mecanismo abreviado en el que se omite la participación de la base, pero que éste se encuentra debidamente representada en el proceso descrito a detalle en el esquema XIII.



3.- Rasteviona

75.- Longipinatriolona

88.- 7,8-Diacetato de Longipinatriolona



89.- 7,8-Diacetato-9-Mesilato de la Longipinatriolona

ESQUEMA XIV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Stevia serrata Cav. fue la planta de la que se obtuvo el metabolito rasteviona, a partir del cual, se llevaron a cabo una secuencia de reacciones objeto del presente estudio.

El análisis espectroscópico de RMN de ^1H de la Rasteviona (**3**), mostró a campo bajo una señal desplazada en 6.11 ppm que integró para dos hidrógenos, correspondientes a los hidrógenos vinílicos de los grupos angelóilos, que además se corroboran con las otras señales desplazadas entre 1.75 y 2.05 ppm, que integraron para doce hidrógenos correspondientes a los cuatro metilos de los dos grupos angelóilo que en su conjunto son características de los dos angelatos, cada uno cada con un hidrógeno vinílico y dos grupos metilo *trans* entre sí.

Además se observan dos señales simples desplazadas en 5.53 y 5.52 ppm, cada una asignadas a los hidrógenos base de los dos angelatos sostenidos en las posiciones 7 y 8, correspondientes al anillo de siete miembros del esqueleto de longipinano.

Se encuentra también una señal triple aguda con una constante de acoplamiento $J = 1.2$ Hz desplazada en 3.82 ppm y asignada al hidrógeno H-9 de orientación alfa y base del único oxhidrilo libre secundario de orientación beta; la señal doble con constante de acoplamiento $J = 6.0$ Hz desplazada en 3.11 ppm asignada al protón H-11 *alfa* al grupo carbonilo siendo un carbono común a los anillos de seis y de siete miembros del esqueleto de longipinano, conocidas estas posiciones como átomos de carbono cabeza de puente

Las señales que aparecieron en 2.58 ppm (dd, $J = 19.1, 8.6$ Hz) y 2.15 ppm (dd, $J = 19.1, 6.2$ Hz) integraron para un protón cada una, fueron asignadas a los hidrógenos del C-2, único metileno que se encuentra *alfa* al grupo funcional carbonilo C-1. Además la señal múltiple relativamente ancha que se encuentra desplazada en 2.34 ppm, integró para un hidrógeno metínico base de metilo secundario, asignada al H-3; la señal del H-4 metínico se encontró desplazada en 2.26 ppm como una señal doble ancha, en la región a campo alto entre 0.8 y 1.25 ppm en la que aparecieron tres señales altas desplazadas en 1.11; 1.07 y 0.93 como señales simples que integraron para tres protones cada una asignadas a los tres metilos terciarios; además en 1.08 ppm apareció una señal doble con una constante de acoplamiento de $J = 6.8$ Hz, traslapada con las señales de los dos metilos terciarios desplazados en 1.11 y 1.07 ppm respectivamente.

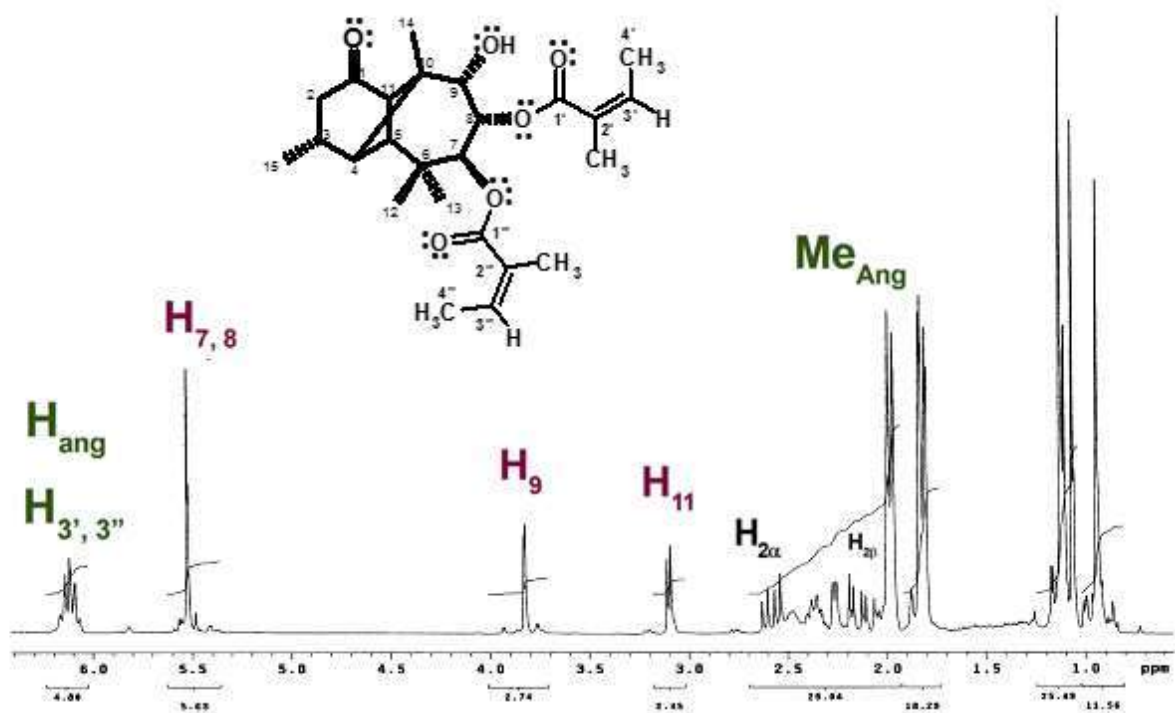


Figura 1.- Espectro de RMN ^1H de la Rasteviona

A partir de la hidrólisis de la Rasteviona (**3**) se obtuvo la Triolona (**75**), en la figura 2 se aprecia el espectro de RMN de ^1H de una ampliación en la región entre 1.7 y 4.0 ppm de la Triolona (**75**), donde experimentalmente se agregó agua deuterada D_2O . El intercambio del deuterio se manifiesta en el barrido espectral de la parte superior ya que una vez agregada el agua deuterada a la muestra, ésta intercambió los protones de los oxhidrilos cambiándolos por el deuterio y así se tiene ahora el $[\text{OD}]_7$, $[\text{OD}]_9$ y $[\text{OD}]_8$ respectivamente los cuales no registra el equipo y el resultado es que dichas señales desaparecieron en el barrido espectral superior. También podemos apreciar las bases de oxígeno que ya no son de los ésteres angélicos, sino que ahora son bases de oxígeno de alcoholes secundarios, esto justifica que la escala de barrido espectral llegue hasta 4.0 ppm; 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 una región hacia campo alto en 3.83 ppm como una señal múltiple, correspondiente al H-8, en tanto que la señal doble desplazada en 3.80 ppm, correspondió al H-9, y el H-7 se observó en 3.66 ppm como una señal doble con una constante de acoplamiento $J = 10.4 \text{ Hz}$., en esta región no se encuentran las señales desplazadas entre 1.75 ppm y 2.05 ppm, correspondientes a los metilos de los dos grupos angelóilo. El protón metínico H-5 desplazado a campo más alto apareció como una señal simple aguda en 1.77 ppm la cual es una señal característica del sistema del longipinano ; en 2.04 y 2.90 ppm aparecieron dos señales dobles mutuamente acopladas, las cuales presentaron una constante de acoplamiento $J = 5.6 \text{ Hz}$ de los protones metínicos H-4 y 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 2.34 ppm. Las señales correspondientes a los protones del único metileno de la estructura de la Triolona (**75**) se observaron claramente como dos señales doble, una desplazado hacia campo bajo en 2.56 ppm con constantes de acoplamiento ($J = 19.1$ y 8.5 Hz) perteneciente al protón H-2 α . El protón H-2 β se observó con un desplazamiento de 2.14 ppm con constantes de acoplamiento ($J = 19.1$ y 6.2 Hz).

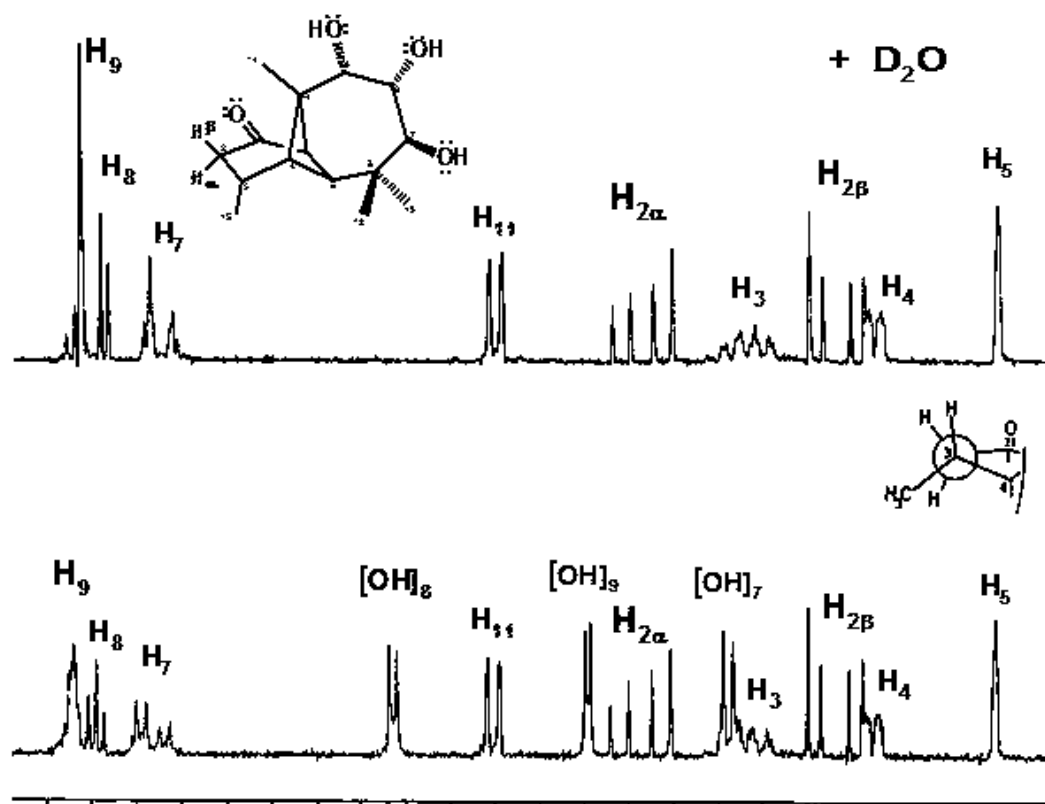
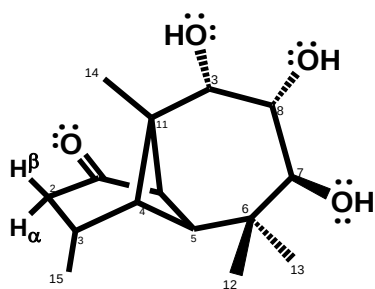


Figura 2.- Ampliación del Espectro de RMN ^1H de la Triolona

Las señales de los cuatro metilos de la triolona (**75**) se pueden apreciar en la Tabla I donde se observaron en la región a campo alto, entre 0.8 y 1.25 δ , sus desplazamientos en la que aparecieron tres señales altas desplazadas en 1.05, 1.04 y 0.95 ppm como señales simples, que integraron para tres protones cada una y que fueron asignadas a los tres metilos terciarios Me-13, Me-14 y Me-12, además, en 1.08 ppm apareció una señal doble, con $J = 6.8$ 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 1.05 y 1.0 ppm.



H-1	-----	
H-2 α	2.56 dd	$J=19.1, J= 8.5\text{Hz}$
H-2 β	2.15 dd	$J=19.1, J=6.2\text{Hz}$
H-3	2.34 m	
H-4	2.04 d	$J= 5.6 \text{ Hz}$
H-5	1.77 s	
H-6	-----	
H-7	3.66 d	$J= 10.4 \text{ Hz}$
H-8	3.81 m	
H-9	3.84 s	
H-10	-----	
H-11	2.90 d	$J= 5.6 \text{ Hz}$
Me-12	0.95 s	
Me-13	1.05 s	
Me-14	1.04 s	
Me-15	1.08 d	$J= 6.08 \text{ Hz}$

Tabla1.- Desplazamientos químicos de los hidrógenos de la Triolona (75)

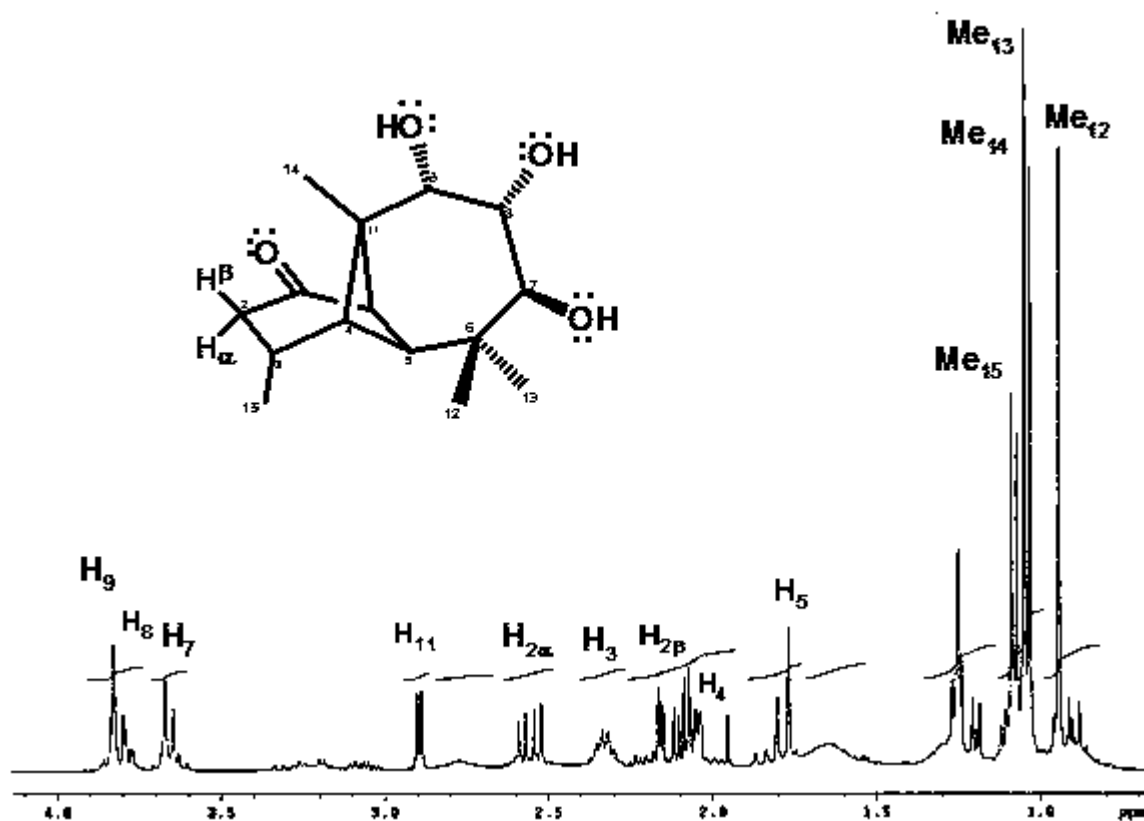


Figura 3.- Espectro de RMN ^1H de la Triolona (75) no Purificada.

Se llevó a cabo el tratamiento de cloración de la Rasteviona (**3**), del acetato de rasteviona (**126**), del diacetato de la longipinatriolona (**88**) y del triacetato de la longipinatriolona (**127**), en medio básico, y todos sin excepción, dieron la 2,2'-diclorotriolona (**125**) como un sólido blanquecino, pero fueron el triacetato de la longipinatriolona (**127**) y el diacetato de la longipinatriolona (**88**) los derivados cristalinos que dieron mejor rendimiento para esta reacción.

El espectro de RM¹H de la 2,2'-diclorotriolona (**125**) obtenido del crudo de la reacción, es mostrado en la Figura 4, siendo en la región de campo alto, entre 0.7 y 4.0 ppm donde aparecen las señales características de (**125**) siendo el producto resultante una miel cristalina ligeramente amarillenta.

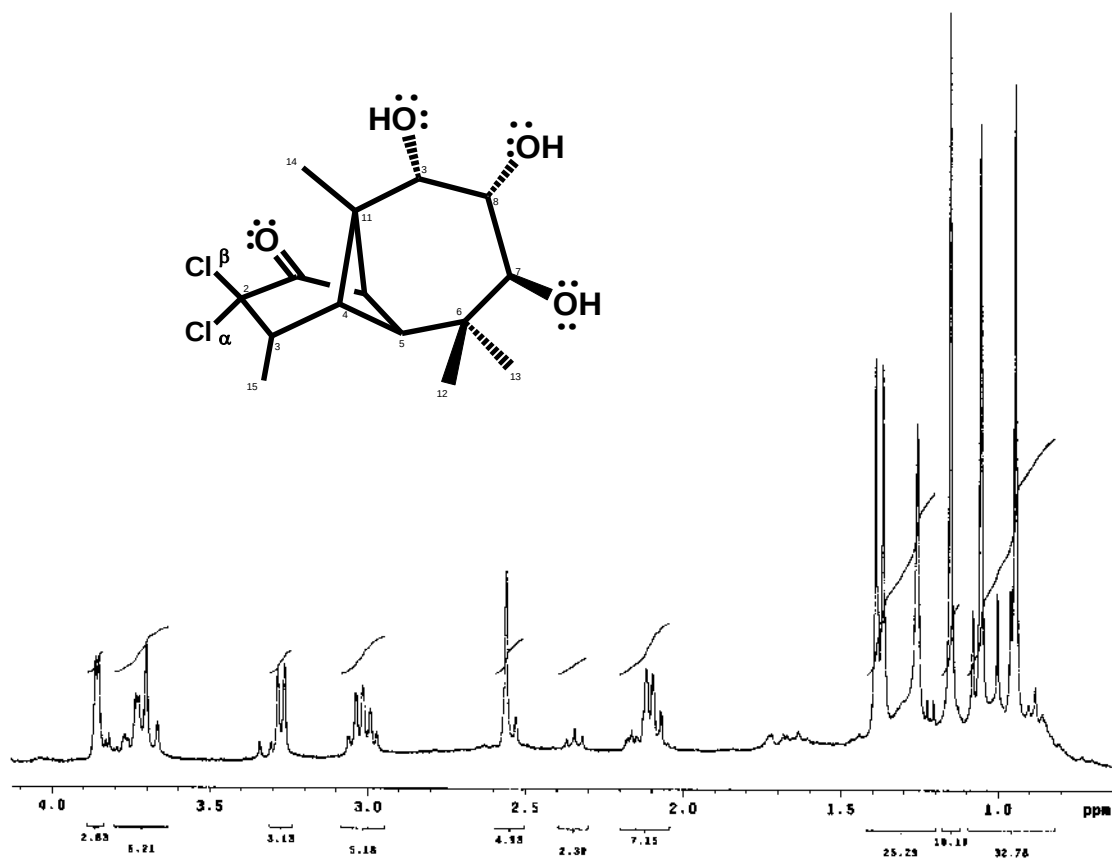


Figura 4.-Espectro de RMP de la 2,2'-Diclorotriolona (**125**) no purificada.

En la Figura 5 se muestra la comparación de los espectros respectivos a la Triolona (**75**) y la 2,2'-Diclorotriolona (**125**) en donde cabe hacer notar que las señales correspondientes a los hidrógenos H-2 α y H-2 β del metileno C-2, en el espectro de la 2,2'-Diclorotriolona, ya no aparecen debido a que C-2 ya no tiene hidrógenos, sino que éstos, han sido sustituidos por cloros, también se aprecia claramente que el desplazamiento relativo entre las señales de los metilos terciarios, particularmente el metilo secundario alfa Me-15 sostenido en C-3, se desplazó hacia campo bajo por la presencia de los dos cloros en C-2 desde 1.08 hasta 1.38 ppm.

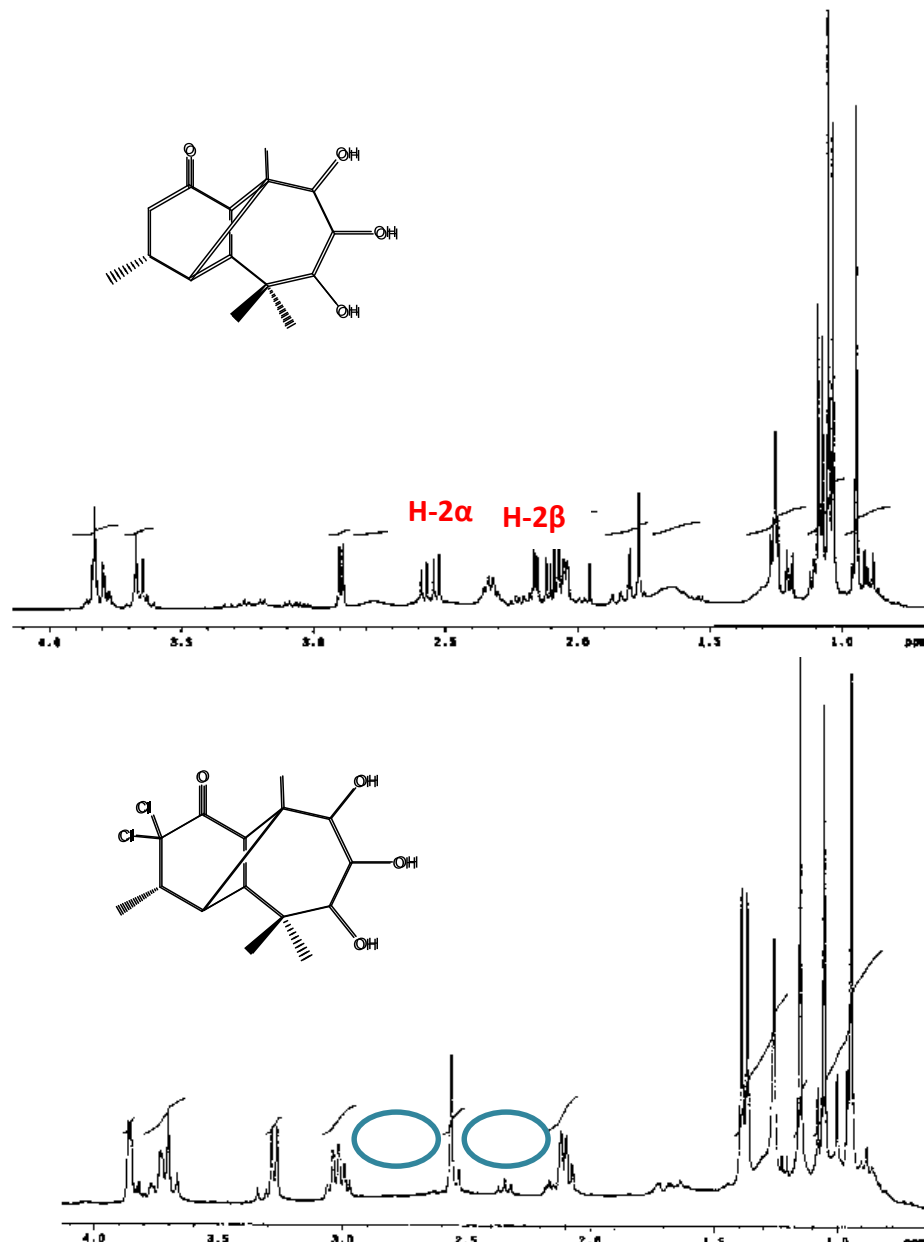


Figura 5.- Espectros de RM¹H de (**75**) y (**125**) no purificados.

En la Tabla II se muestran los valores de los desplazamientos y las multiplicidades de las señales de los hidrógenos, así como sus respectivas constantes de acoplamiento tanto de la triolona (**75**) , como de la 2,2'-Diclorotriolona (**125**).

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

Tabla II.- Comparación de los Desplazamientos Químicos de los Hidrógenos de Triolona (75) y 2,2'-Diclorotriolona (125).

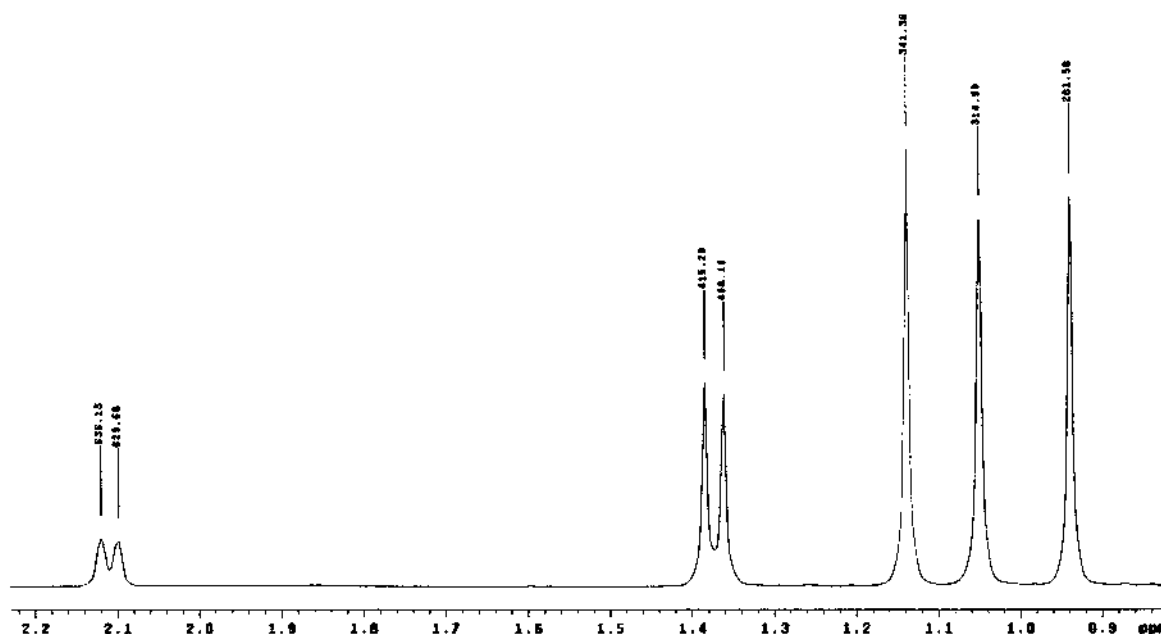


Figura 6.- Ampliación del espectro de RMN ^1H en la región entre 0.9 y 2.2 ppm de la 2,2'-Diclorotriolona (**125**) pura.

En la Figura 6 es mostrado una nueva ampliación espectral en la región a campo alto entre 0.5 ppm y 4.4 ppm de la 2,2'-diclorotriolona (**125**) purificada, la señal correspondiente al H-2 α , de la triolona (**75**) que apareció como una señal doble de dobles en 2.56 ppm ya no apareció en este barrido espectral, este hecho corrobora la presencia de los dos cloros siendo éstos los que sustituyeron a los hidrógenos de esta posición. También se aprecia claramente que el desplazamiento relativo entre las señales de los metilos terciarios particularmente el metilo secundario alfa Me-15, sostenido en C-3, fue desplazada desde 1.08 hasta 1.38 ppm por el efecto de los dos cloros en la posición vecinal, es también notorio las tres señales ensanchadas que aparecieron en la región entre 2.9 ppm y 3.54 ppm correspondientes a los tres oxhidrilos de la 2,2'-diclorotriolona (**125**).

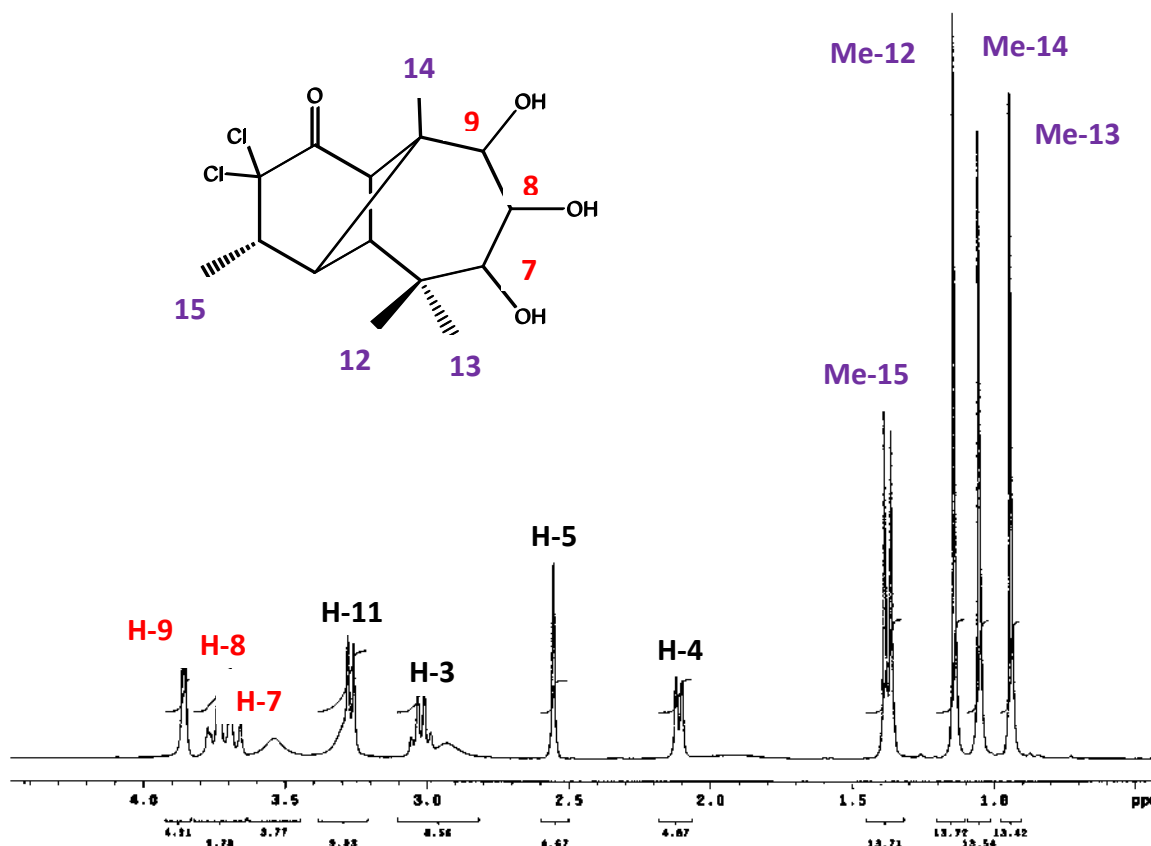


Figura 7.- Ampliación del espectro de RMN de ^1H en la región entre 0.5 y 4.4 ppm de la 2,2'-Diclorotriolona **125** pura.

En la comparación de los espectros de RMN de ^1H que muestra la Figura 8 se puede apreciar que la señal doble de dobles correspondiente al H-2 β de la Longipin-7,8-diacetoxi-9-ol-1-ona (**88**), se encuentra desplazada en 2.12 ppm y la señal correspondiente al H-2 α , que aparece como una señal doble de dobles en 2.58 ppm en el barrido espectral de la parte superior, ya no aparecen en el barrido espectral de la parte inferior, en esta comparación se concluye que la reacción de acetilación no afecta a los cloros presentes en C-2 por lo tanto en el derivado diclorado respectivo (**128**), estas señales ya no aparecen. los valores de los desplazamientos y las constantes de acoplamiento del resto de las señales son mostrados en la Tabla III

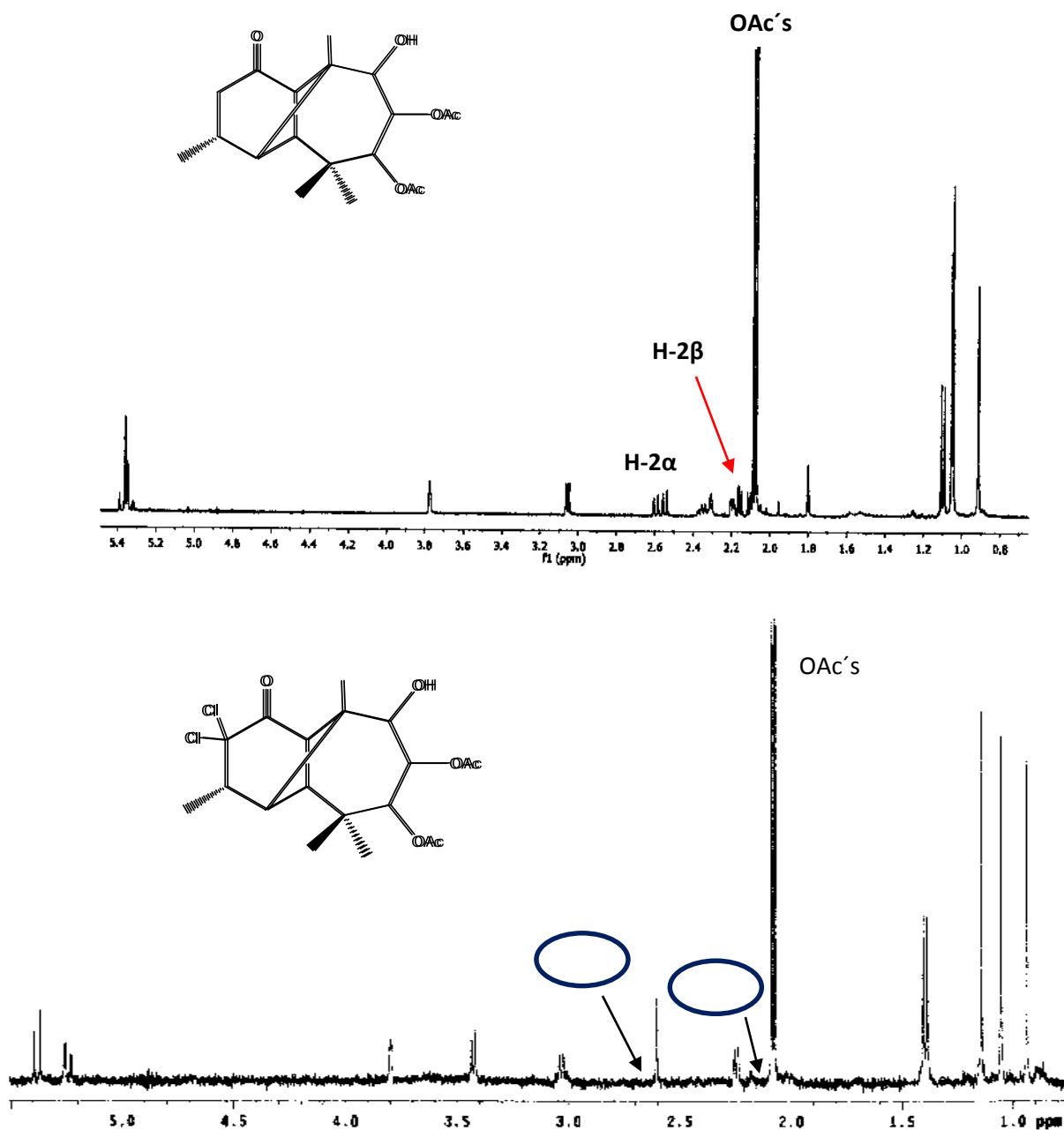
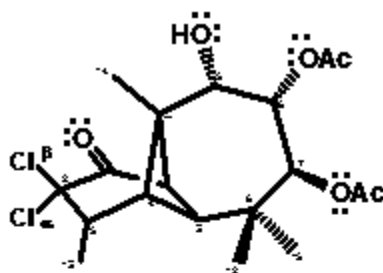


Figura 8.- Espectros de RM^1H de Longipin-7,8-diacetoxi-9-ol-1-ona (88) y del 2,2'-Dicloro-Longipin-7,8-diacetoxi-9-ol-1-ona (128).



H-1	_____	
H-2 α	_____	
H-2 β	_____	
H-3	3.04 dq	J = 1.2 Hz ; J = 6.7 Hz
H-4	2.25 d	J = 6.2 Hz
H-5	2.61 s	
H-6	_____	
H-7	5.38 d	J = 11.2 Hz
H-8	5.24 dd	J = 11.2 Hz ; J = 2.8 Hz
H-9	3.80 d	J = 2.8 Hz
H-10	_____	
H-11	3.43 d	J = 6.2 Hz
Me-12	1.05 s	
Me-13	0.94 s	
Me-14	1.15 s	
Me-15	1.40 d	J = 6.8 Hz
Me(AcO) ₈	2.09 s	
Me(AcO) ₇	2.08 s	

Tabla III.- Desplazamientos químicos y constantes de acoplamiento de los hidrógenos de la 2,2'-Longipin-7,8-diacetoxi-9-ol-1-ona (128).

En el espectro de RMN de ^1H mostrado en la Figura 9, el 2,2'-dicloro-Longipin-7,8-diacetoxi-9-Mesiloxi-1-ona (**129**) esperado, no pudo obtenerse puro, sino que fue obtenida una mezcla de (128) y (129), que probablemente ya sea durante la mesilación ó en el proceso de los lavados ésta no ocurrió completamente y en dicho espectro se puede apreciar la presencia de la señal simple aguda característica del metilo del grupo mesilato desplazada en 3.23 ppm.

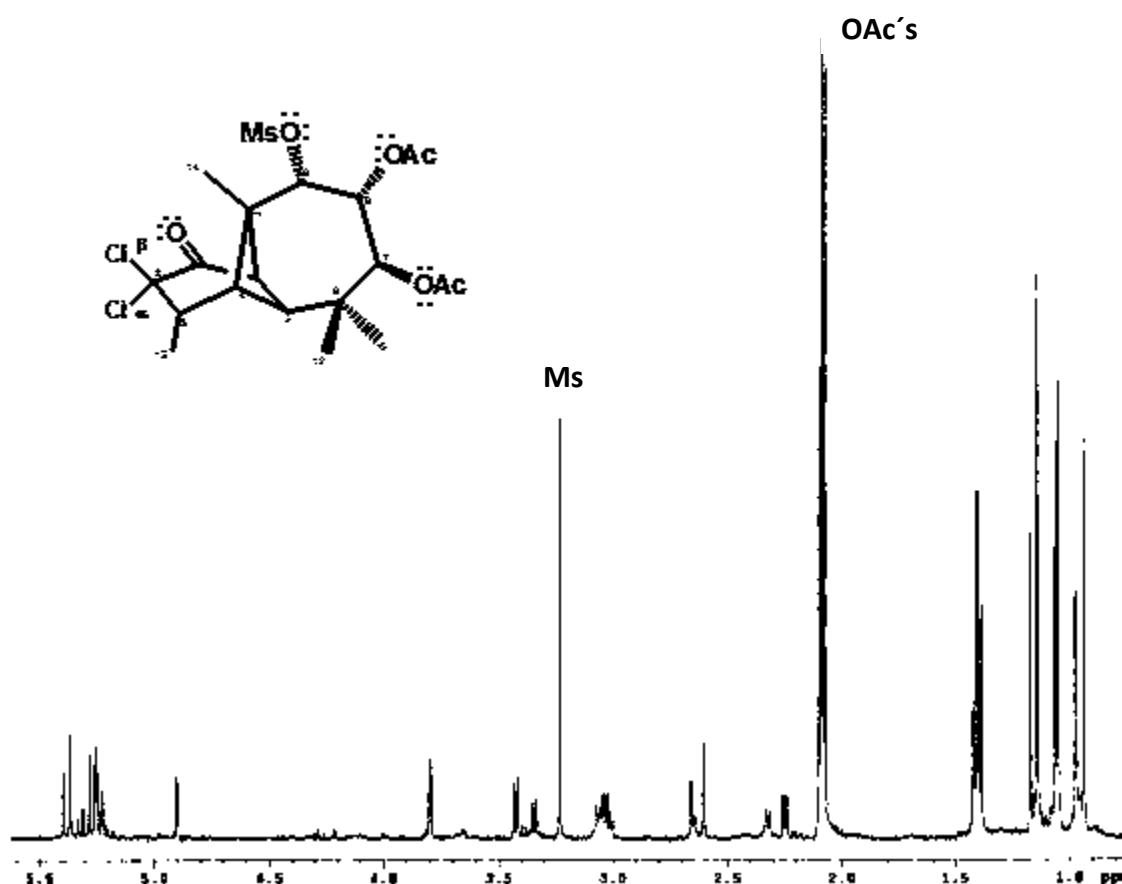


Figura 9.- Espectro de RM ^1H del 2,2'-dicloro-Longipin-7,8-diacetoxi-9-Mesiloxi-1-ona (**129**). Mezcla obtenida de la mesilación del 2,2'-dicloro-Longipin-7,8-diacetoxi-9-ol-1-ona (**128**).

Dada la sensibilidad del grupo mesilato frente a condiciones de reacción de mesilación para su sustitución, no se han podido reproducir los resultados, ya que de tres lotificaciones que se han llevado a cabo, únicamente el procedimiento descrito hasta aquí es el que ha dado resultados aceptables.

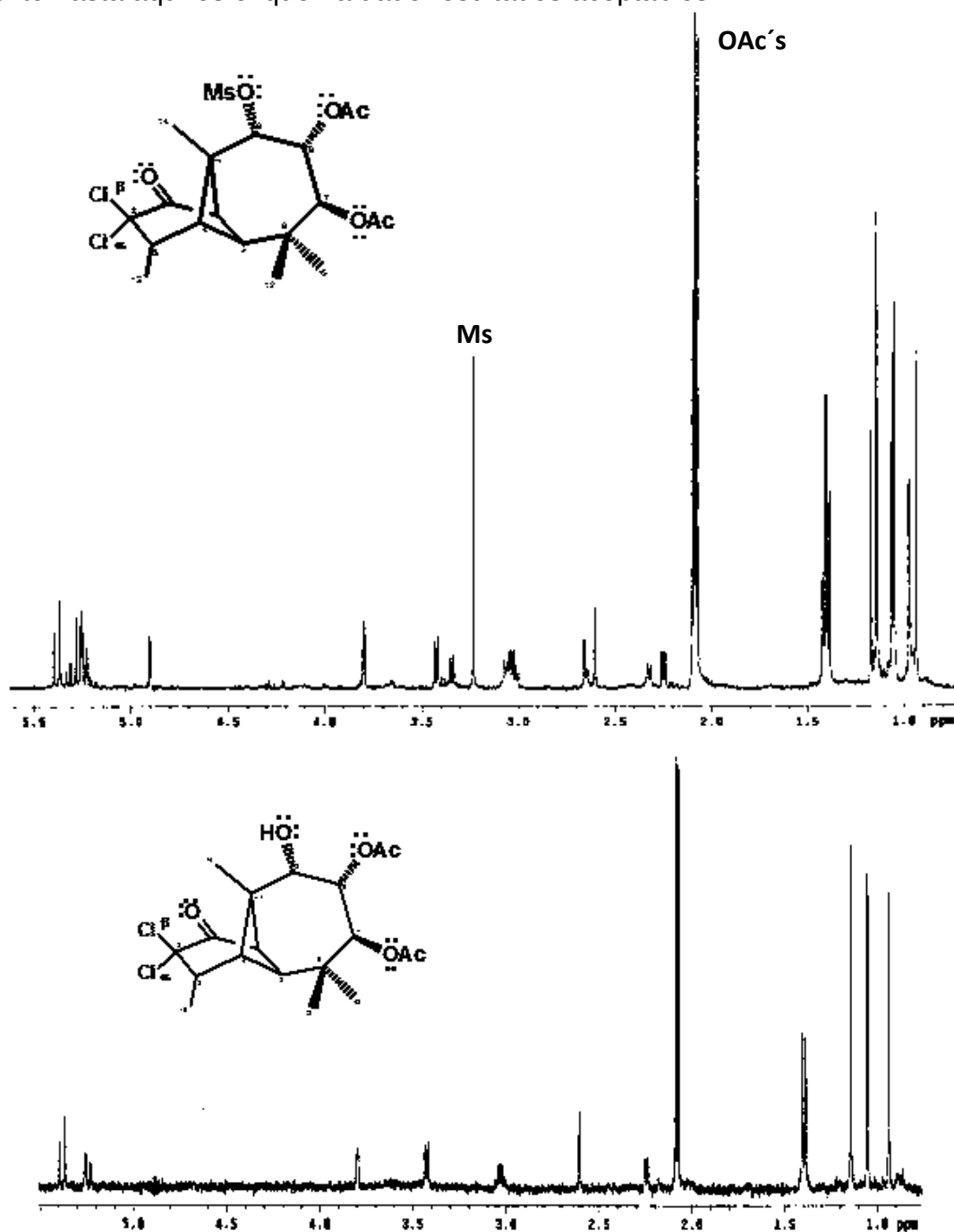


Figura 10.- Comparación entre los espectros de RMN ¹H de (128) y (129)

La Figura 10 muestra la comparación de los espectros de RMN de ^1H , tanto del 2,2'-dicloro-Longipin-7,8-diacetoxi-9-ol-1-ona (**128**) mostrado en la parte inferior, como del 2,2'-dicloro-Longipin-7,8-diacetoxi-9-Mesiloxi-1-ona (**129**) mostrado en la parte superior revelando claramente que se trata de una mezcla por la duplicidad de la mayoría de las señales. Cabe hacer notar que esta mezcla no se pudo separar, ya que el mesilato tiende a reaccionar rápidamente, como se corroboró posteriormente al tratarla en distintas condiciones de reacción, nada drásticas, el objetivo fue sustituir el grupo mesilato por cloro, para así obtener un tricloro derivado, el cual es el objetivo principal de la presente Tesis.

Se llevaron a cabo distintas condiciones de cloración utilizando agentes clorantes como el cloruro de tionilo, o el oxiclورو de fósforo, pero los resultados arrojaron la obtención de mezclas no separables como se muestra en la Figura 11.

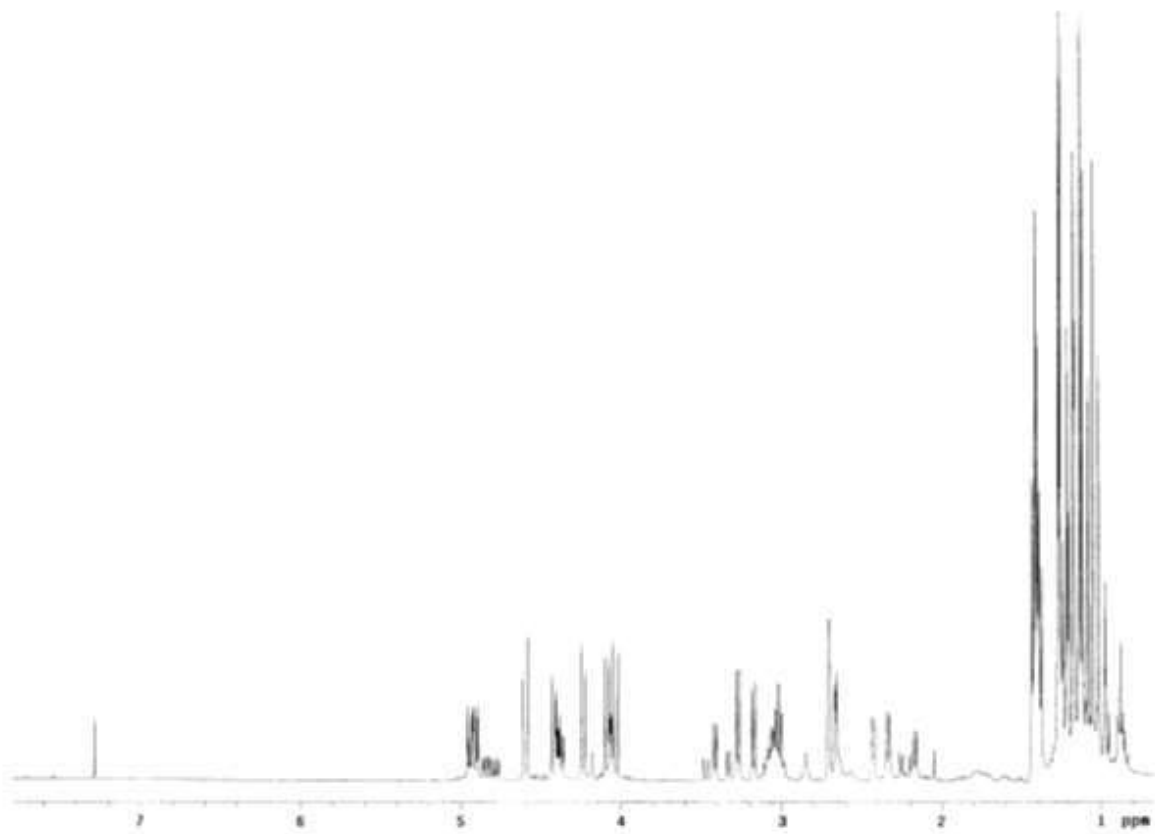


Figura 11.- Espectro de RM¹H de la mezcla obtenida de la cloración de (129) en condiciones estándar.

En la Figura 12 se muestran los dos posibles 2,2',9-Tricloro-Longipin-7,8-diol-1-ona (**130**) y (**131**) epiméricos en C-9.

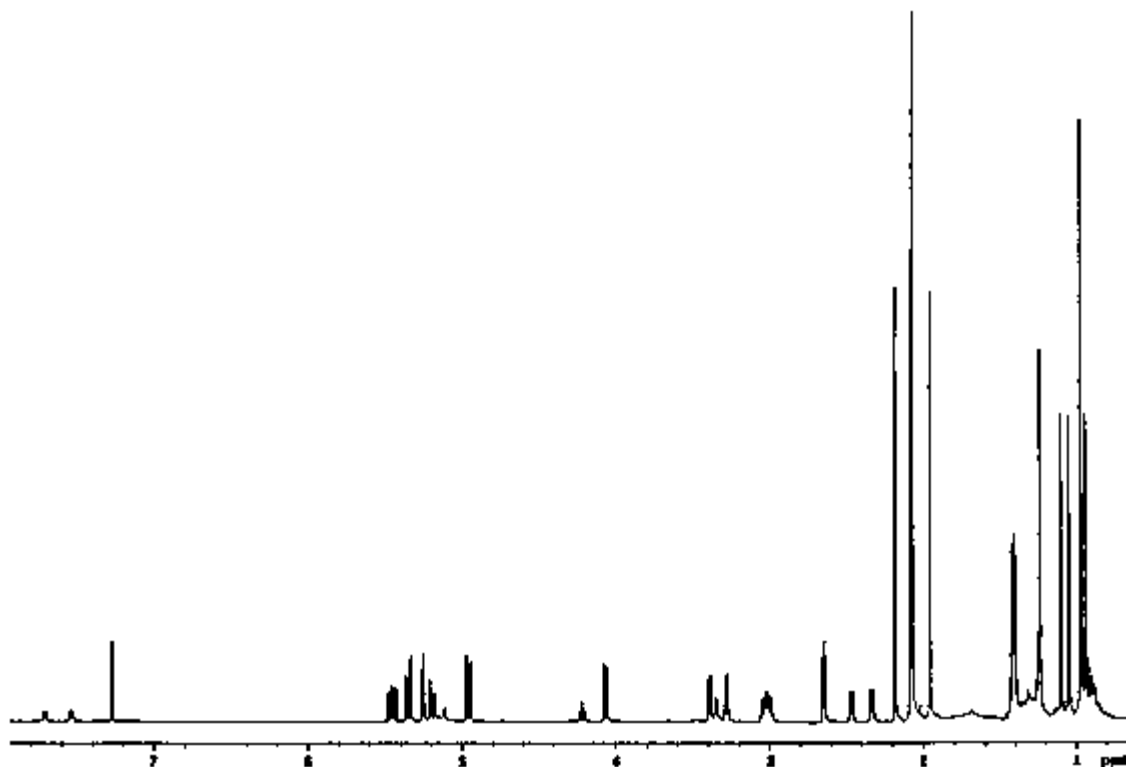


Figura 12.- Espectro de RM¹H de la mezcla obtenida de los dos productos de cloración epiméricos en C-9, a partir de (129**)**

Las condiciones de reacción que posteriormente se modificaron nos revelaron que, con tratamientos más suaves, se pudo obtener el tricloro derivado esperado, cuyo espectro de RMN de ¹H mostrado en la Figura 13, al ser comparado con el espectro de RMN de ¹H de la 2,2'-diclorotriolona (**125**), son semejantes en casi la totalidad de sus señales con diferencias en los valores de los desplazamientos, así como también en las multiplicidades de las señales entre los hidrógenos vecinales soportados en los carbonos base de oxhidrilo C-7 y C-8 y también con el hidrógeno base del cloro epimérico en C-9.

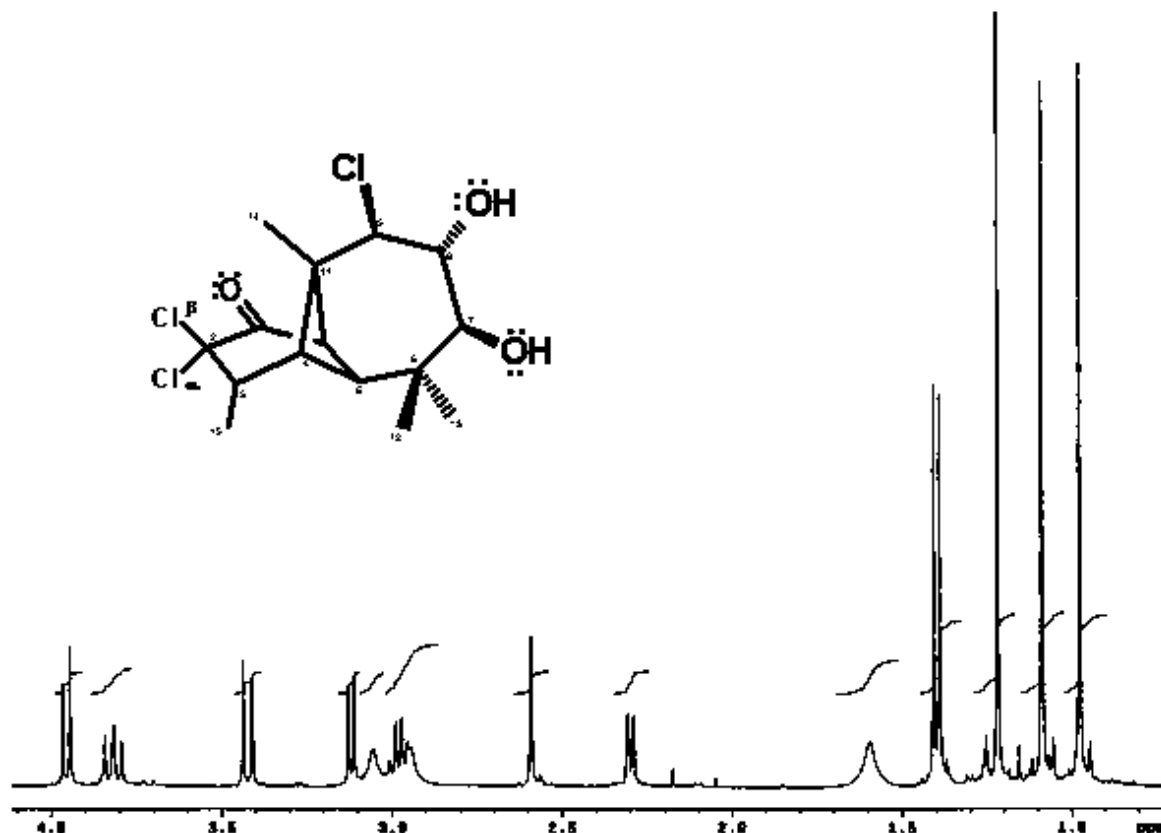


Figura 13.- Espectro de RM¹H del producto obtenido no purificado de la cloración de (129) en condiciones suaves

El tricloro-diol derivado (**131**) es inestable por la relación que guardan entre sí el oxhidrilo en C-8 respecto al cloro en C-9, esto en un medio ligeramente básico, tiende a dar epoxi derivados, los cuales, son susceptibles a la abertura de la estructura descomponiéndose en novedosos derivados, pero para ello se necesitan encontrar las condiciones de reacción que sean más favorables, por lo que es motivo de continuar experimentando hasta optimizar el método de obtención de estos tricloro derivados de Rasteviona.

CONCLUSIONES

La obtención del tricloro derivado (**131**) fue obtenido mediante siete etapas. Primero se obtuvo la materia prima Rasteviona (**3**) del extracto hexánico siendo caracterizada por sus propiedades espectroscópicas de RMN¹H.

A continuación obtuvimos la triolona como unas mieles ligeramente amarillentas mediante la hidrólisis de la materia prima, ésta fue identificada por sus propiedades espectroscópicas de RMN de ¹H y ¹³C.

El diacetato y triacetato de triolona se lograron mediante una acetilación selectiva y total respectivamente de los hidroxilos del anillo de siete miembros: C-7, C-8 y C-9. Con NaOCl e NaOH en piridina la triolona (**75**), el triacetato de triolona (**127**) y diacetato de triolona (**88**), dieron la 2,2'-diclorotriolona (**125**), los mejores rendimientos fueron a partir de (**75**), (**126**) y (**127**), de los cuales el producto fue obtenido como un sólido blanco, y el cual fue identificado mediante sus propiedades espectroscópicas de RMN de ¹H y RMN de ¹³C.

La 2,2'-Dicloro-Longipin-7,8-diacetoxi-9-ol-1-ona (**128**) no se pudo obtener de la cloración directa del diacetato de la triolona (**88**), sino que, se tuvo que acetilar selectivamente la 2,2'-diclorotriolona (**125**) y del 2,2'-dicloro-Longipin-7,8-diacetoxi-9-Mesiloxi-1-ona (**129**) 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 ¹³C.

PARTE EXPERIMENTAL

OBTENCIÓN DE LA MATERIA PRIMA

El proceso de extracción de la rasteviona consistió en colocar 3 Kg de las raíces secas y molidas de la *Stevia serrata* Cav. en un matraz balón de fondo redondo al cual se le agregaron entre 7 y 8 L de hexano como líquido extractivo, a este matraz se le colocó en su boquilla un conector de reducción hembra, luego se colocó un refrigerante en posición vertical. Para llevar a cabo el reflujo dicho matraz se puso sobre una manta de calentamiento siendo sometido, bajo condiciones controladas de temperatura, de entre 4 y 5 horas ya que es importante tomar en consideración el tiempo del reflujo puesto que en algunos casos el efecto térmico puede alterar los metabolitos contenidos en la planta.

Transcurrido este tiempo, se deja enfriar parcialmente la solución, que en algunas descripciones le llaman licor madre y que contiene los metabolitos extraídos por el hexano y posteriormente se filtra; la solución filtrada es concentrada sucesivamente en porciones de alrededor de 400 mL, mediante la evaporación del hexano usando un evaporador rotatorio.

Una vez concentrada la totalidad de la solución, al concentrado se deja en reposo y a éste se le agrega metanol frío para precipitar las grasas extraídas, las cuales varían dependiendo de la localidad y período de recolección de la planta, una vez ya separadas las grasas por filtración, el líquido filtrado se concentra para obtener la rasteviona **(3)** y durante el mismo proceso se recupera el hexano. Este procedimiento extractivo se repite las veces necesarias hasta agotar la cantidad del metabolito principal extraído.

La cantidad de rasteviona **(3)**, obtenida como cristales es variable, ya que depende de varios factores uno de ellos es el periodo en el cual se recolecte la planta ya que repercutirá en el desarrollo óptimo de su inflorescencia, el periodo más conveniente será de finales del mes de septiembre a mediados de octubre, otro factor es la localidad donde se lleve a cabo la colecta ya que aquí influye la variabilidad climática.

Los cristales de rasteviona **(3)** tiene una fórmula molecular F.M. $C_{25}H_{36}O_6$, y un p.f. 130-131 °C, en nuestro caso se partió de rasteviona no cristalizada y tomando en consideración la cantidad de etapas propuestas para la obtención del tricloro derivado, se requiere una cantidad mínima de rasteviona **(3)**, entre tres y cinco gramos, estos fueron los resultados llevados a cabo en experimentos piloto previos, en el que se consideraron que algunas etapas se encuentran optimizadas con buenos rendimientos.

OBTENCIÓN DE LA TRIOLONA

A 4 g de mieles de rasteviona se le añaden 100 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 y se seca con Na_2SO_4 anhidro, se filtra y se evapora a sequedad obteniéndose mieles muy densas color amarillo que durante recristalizaciones sucesivas en CH_2Cl_2 -Hexano se obtienen cristales incoloros en forma de agujas.

OBTENCIÓN DEL DIACETATO DE TRIOLONA

La acetilación selectiva de la triolona se lleva a cabo disolviendo 1 g de mieles de triolona en 3 mL de piridina y 3 mL de anhídrido acético. La mezcla de reacción se deja 4 h en refrigeración a 4°C, una vez transcurrido ese tiempo se vierte sobre hielo y se extrae con AcOEt. La fase orgánica se lava con HCl al 10%, posteriormente con solución saturada de NaHCO_3 y finalmente con agua para llegar a la neutralidad, separamos la fase orgánica para proceder a secarla con Na_2SO_4 anhidro, filtrarla, evaporarla y llevarla a sequedad teniendo un concentrado denso y mieloso ligeramente amarillento del cual, mediante recristalizaciones sucesivas, obtendremos sus respectivos cristales con un punto de fusión de 183-185°C. Figura 15.

OBTENCIÓN DEL TRIACETATO DE TRIOLONA

Disolvemos 1 g de mieles de triolona en 3 mL de piridina y 3 mL de anhídrido acético. La mezcla de reacción se deja 3 h en baño de vapor posteriormente se vierte sobre hielo y se extrae con AcOEt. A la fase orgánica se le hacen lavados con una solución de HCl al 10%, un lavado intermedio de agua, posteriormente lavados con una solución saturada de NaHCO_3 y finalmente con agua para conseguir la neutralidad. Se seca con Na_2SO_4 anhidro, se filtra y se lleva a concentrar obteniéndose un concentrado mieloso amarillento que cristaliza en forma de agujas con un punto de fusión de 150-152°C los cuales se pueden apreciar en la Figura 16.

OBTENCIÓN DE LA 2,2'-DICLOROTRIOLONA

A 100 mg de cristales de TAT o DAT se les disuelve por separado en 6 mL de piridina, previamente en otro vial, se disuelven 100 mg de NaOH en 6 mL de NaOCl agregando trazas de yodo y se mezclan ambas soluciones. Dicha mezcla se deja reaccionar en baño de vapor durante 3 h y pasado ese tiempo se vierte sobre hielo extrayéndolo con AcOEt haciendo lavados con HCl al 10%, agua, solución saturada de NaHCO₃ y finalmente agua. Así se lleva a secar con Na₂SO₄ anhidro, se filtra y se concentra obteniendo una cristalización directa en el matraz. Figura 17.

OBTENCIÓN DEL 2,2'-DICLORODIACETATO

Para la obtención del 2,2'- diclorodiacetato de triolona (**128**) se partió de 100 mg de 2,2'-diclorotriolona (**125**) sólida mediante una acetilación controlada a 4°C y 2 horas siendo la muestra disuelta en piridina y anhídrido acético y una vez transcurrido el tiempo de la reacción, la mezcla fue vertida sobre hielo y posteriormente se le agregó AcoEt encontrándose la separación de la fase orgánica de la acuosa, sometiendo a la primera a lavados sucesivos con HCl al 10% para eliminar la piridina como su clorhidrato, un lavado intermediario con agua y posteriormente lavados con solución saturada de NaHCO₃ para eliminar el remanente del ácido acético proveniente del anhídrido acético, eliminándolo como su sal sódica soluble en la fase acuosa y se terminan los lavados con agua. Ya neutra la fase orgánica se seca con Na₂SO₄ anh., se filtra, la solución se evapora hasta sequedad obteniéndose un aceite ligeramente amarillento, del cual apareció un sólido que, mediante cristalizaciones sucesivas de cloroformo-hexano dió un sólido blanco cristalino de punto de fusión 178-180 °C.

OBTENCIÓN DEL 2,2'-DICLOROMESILATODIACETATO

Posteriormente se llevó a cabo la reacción de mesilación, en condiciones estándar de disolver en piridina el compuesto **(128)**, luego agregar en frío, el cloruro de metansulfonilo y mantener la mezcla durante 24 h a 4°C en el refrigerador, una vez transcurrido el tiempo de la reacción, la mezcla se vierte sobre hielo, se extrae con AcoEt y una vez definidas la dos fases, éstas se separan siendo la fase orgánica la que se somete a una serie de lavados , primero para eliminar la piridina como su respectivo clorhidrato, el cual es soluble en la fase acuosa, utilizando una solución al 10% de HCl, se hace un lavado intermedio con agua, para después hacer los lavados respectivos con una solución saturada de NaHCO₃ para eliminar el ácido metansulfónico como su sal sódica. Finalizamos lavando de 2 a 3 veces con agua hasta que se llegue a la neutralidad. Todos los procedimientos antes mencionados deben de llevarse a cabo continuamente, ya que el producto obtenido tiene un grupo mesilato muy sensible de hidrolizarse y en muchos casos se llegan a obtener mezclas de productos mesilados con los respectivos hidrolizados.

OBTENCIÓN DEL TRICLORADO

Se establecieron dos rutas para llevar a cabo las reacciones de cloración, la primera se realizó con 100 mg de 2,2'-diclorodiacetato que fueron disueltos en 3 mL de piridina utilizando como agente clorante el cloruro de tionilo. Una vez lista la mezcla se dejó reaccionar durante 4 h a temperatura ambiente para posteriormente ser vertida sobre hielo y extraer con AcOEt, se hicieron lavados primero con una solución de HCl al 10%, un lavado de agua y al final lavados con NaHCO₃, secamos con Na₂SO₄ anhidro y llevamos a sequedad.

La segunda propuesta se realizó con 100 mg de 2,2'-diclorodiacetato disueltos en 3 mL de piridina esta mezcla se deja enfriar en baño de hielo para agregar 3 gotas de cloruro de metansulfonilo dejando reaccionar en refrigeración por 24h. La extracción se realiza de la misma manera que la primera ruta. Se llevó a cabo una serie de recristalizaciones, las cuales, permitieron obtenerlo como un sólido cristalino que se muestra en la Figura 18.

OBTENCIÓN DE LA HIDROLISIS SUAVE DEL TRICLORADO

Para disolver 50 mg de triclorado se utilizaron 2 mL de MeOH por separado se disolvieron 50 mg de KHCO_3 en 0.5 mL de agua. Durante 30 min la mezcla se sometió a una agitación magnética. Pasado el tiempo de reacción dicha mezcla se vertió sobre hielo y se extrae con AcOEt haciendo de 4 a 6 lavados con agua. Posteriormente separamos nuestra fase orgánica y se seca con Na_2SO_4 anhidro para después el filtrado llevarlo a sequedad. Se logró obtener un sólido cristalino mediante sucesivas cristalizaciones.



Figura 14.- Cristales de Rasteviona



Figura 15.- Cristales de Diacetato de Triolona



Figura 16.- Cristales de Triacetato de Triolona



Figura 17.- Cristales de 2,2'-Diclorotriolona



Figura 18.- Cristales del Triclorado

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. 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).
4. 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).
5. Jeffrey C., *Compositae*: Introduction with key to tribes in Families and Genera of Vascular Plants, vol. VIII, Flowering Plants, Eudicots, (J. W. Kadereit and C. Jeffrey, eds.). Springer-Verlag, Berlin. Pages 61-87, 2007
6. 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.
7. F. Miranda y E. Hernández X., “Los sobre Tipos de Vegetación de México y su Clasificación”, *Bol. Soc. Bot. Méx.* pp. 28, 29-179 (1963).
8. 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.
9. 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.
10. Standley, P.C., 1920-1926. Trees and shrubs of Mexico. Contributions from the United States National Herbarium, Vol. 24. Govenment Printing Office. Washington, D.C.
11. F. Miranda y E. Hernández X., “Los sobre Tipos de Vegetación de México y su clasificación”. *Bol. Soc. Bot. Méx.* pp. 28, 29-179 (1963).

12. 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.
13. Martínez, M., 1979. Catálogo de nombres vulgares y científicos de plantas mexicanas. Fondo de Cultura Económica. México, D.F.
14. 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.
15. 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.
16. 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).
17. Cronquist, A., «Phylogeny and taxonomy of the Compositae». *Amer. Midl. Nat.* 53:pp. 478-511, (1955).
18. Dávila, P. y V. Sosa. 1994. El conocimiento florístico de México. *Bol. Soc. Bot. Méx.* 55: 21–27.
19. Thorne, R. F., «Classification and geography of the flowering plants». *Botanical Review* 58: pp. 225-348, (1992a).
20. 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).
21. 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.
22. 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.
23. Cronquist, A., 1980. Asteraceae. Vascular Flora of the Southeastern United States 1. The University of North Carolina Press, Chapel Hill, North Carolina.
24. 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.
25. 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.*

26. 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.
27. 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.
28. Turner, B. L., 1996. The Comps of Mexico: A systematic account of the family Asteraceae, vol. 6. Tageteae and Athemideae. Phytologia Memoirs 10.
29. Nash, D. L. y L. O. Williams (eds.), 1976. Flora of Guatemala, Compositae. Part XII. Fieldiana Botany 24: 96-97.
30. Felipe, G.M. *Stevia rebaudiana* Bert.: uma revisao. Ciencia e Cultura 29 (11) 1240-1248. 1977. II Seminario Brasileiro sobre *Stevia rebaudiana*.
31. López, J. A.; Little, E.; Ritz, G.; Rombold, J.; Hahn, W. Árboles comunes del Paraguay. (1987).
32. 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.
33. Revista Magnetológica 25 de octubre de 1931. Buenos Aires.
34. 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.
35. 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.
36. Mosetting, E., et. al., *J. Amer. Chem. Soc.*, 1963, 85, 2305.
37. Tanaka, O., *Trends in Analytical Chemistry*, 1982, 1(11), 246-248.
38. Kobayashi, M., et. al., *Phytochemistry*, 1977, 16, 1405.
39. Álvarez López, Enrique. Cavanilles. Ensayo biográfico-crítico. En: «Anales del Jardín Botánico de Madrid, vol. 6 (1), p. 1-64. 1946.
40. 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.
41. Jaime Lorén, José María de. La producción apícola valenciana en las “Observaciones” de Cavanilles. En: «Flora Montiberica, 28, 49-53. 2004.

42. Laguna Lumbreras, Emilio. Sobre los géneros de plantas descritos por Cavanilles. En: «Flora Montiberica, vol. 28, p. 3-22. 2004.
43. Mateo Sanz, Gonzalo & Laguna Lumbreras, Emilio. Especies de la flora valenciana descritas por Cavanilles., «Flora Montiberica, 28, 23-28. 2004.
44. Reyes Prosper, E. Dos noticias históricas del inmortal botánico y sacerdote hispano-valentino Antonio José Cavanilles. Madrid: Artes Gráficas Mateu. 1917.
45. Colmeiro, M: La Botánica y los botánicos de la Península Hispano-lusitana. Estudios bibliográficos y biográficos, Madrid, M. Rivadeneyra, 1858, pp. 191-197.
46. "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).
47. "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. 9 de agosto del 2012.
48. "Preparación de Bases de Schiff y Reordenamiento de Beckmann de derivados del Longipinano". Tesis para obtener el Título de Químico Farmacobiólogo presentada por Hugo Alejandro García Gutiérrez a la Facultad de Químico Farmacobiología de la U.M.S.N.H. 6 de agosto del 2004.
49. "Preparación de 9-Deuterorasteviona". Tesis de Licenciatura presentada por Judit Araceli Aviña Verduzco a la Facultad de Químico Farmacobiología de la U.M.S.N.H. 8 de agosto de 1997.
50. L.U. Román, J.D. Hernández, R. Castañeda, C.M. Cerda y P. Joseph-Nathan. "Isolation and preparation of two longipinene derivatives from *Stevia Subpubescens*". *Phytochemistry*, 28, 265 (1989).
51. Hugo A. García-Gutiérrez, Luisa U. Román-Marín, Juan D. Hernández-Hernández, Carlos M. Cerda-García-Rojas. "Preparación de bases de Schiff y transposición de Beckmann en derivados del longipinano". *Revista Latinoamericana de Química* Vol. 4 (3) 210-224, 2012.
52. J. Martín Torres-Valencia, Carlos M. Cerda-García-Rojas, Pedro Joseph-Nathan, Luisa U. Román y Juan D. Hernández. "Absolute Configuration of Longipinenyl Epoxyangelates from three *Stevia* species". *Phytochemistry*, 49, 2569-2572 (1998).

53. L. U. Rom Román, D. Guerra-Ramírez, G. Morán, I. Martínez, J. D. Hernández, C. M. Cerda-García-Rojas, J. M. Torres-Valencia y P. Joseph-Nathan. "First seco-C oleananes from nature". *Organic Letters*, 6, 173-176 (2004).
54. Eugenio Sánchez-Arreola, Carlos M. Cerda-García-Rojas, Luisa U. Román, Juan D. Hernández y Pedro Joseph-Nathan. "Longipinene Derivatives from *Stevia porphyrea*". *Phytochemistry*, 50, 2569-2572 (1999).
55. Eugenio Sánchez-Arreola, Carlos M. Cerda-García-Rojas, Luisa U. Román, Juan D. Hernández y Pedro Joseph-Nathan. "Longipinene Derivatives from *Stevia connata*". *Journal of Natural Products*, 63, 12-15 (2000).
56. Luisa U. Román, Jairo I. Cambrón, Rosa E. del Río, Juan D. Hernández, Carlos M. Cerda-García-Rojas y Pedro Joseph-Nathan. "Grindelane Diterpenoids from *Stevia subpubescens*." *Journal of Natural Products*, 63, 226-229 (2000).
57. R. Álvarez-García, J. M. Torres-Valencia, L. U. Román, J. D. Hernández, C. M. Cerda-García-Rojas y P. Joseph-Nathan. "Absolute configuration of the α -methylbutyryl residue in longipinene derivatives from *Stevia pilosa*". *Phytochemistry*, 66, 639-642 (2005).
58. "Preparación de deoxo-rasteviona, Sesquiterpeno de *Stevia serrata* Cav.". Tesis para obtener el Título de Químico Farmacobiólogo presentada por Manuel Loeza Coria a la Facultad de Químico Farmacobiología de la U.M.S.N.H. 17 de febrero de 1993.
59. "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 Facultad de Químico Farmacobiología de la U.M.S.N.H. 5 de enero de 1996.
60. "Transposición de Wagner-Meerwein en 7,8-diacetatos de longipinen y longipinan triolonas en presencia de trifloruro de boro eterato". Tesis para obtener el Título de Químico Farmacobiólogo presentada por Ma. Alvina Bucio Vázquez a la Facultad de Químico Farmacobiología de la U.M.S.N.H. 31 de enero de 1987.
61. "Preparación y transposiciones moleculares de ésteres de longipinanol". 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. 11 de diciembre de (1989).

62. L.U. Román, J.D. Hernández, Rosa E. Del Río, M.A. Bucio, C.M. Cerda García-Rojas y P. Joseph-Nathan. "Wagner-Meerwein Rearrangements of Longipinene Derivatives". *Journal of the Organic Chemistry*, 56, 1938 (1991).
63. L.U. Román, J.D. Hernández, C.M. Cerda-García-Rojas, R.M. Domínguez-López y P. Joseph-Nathan. "Molecular rearrangements in the Longipinene Series". *Journal of Natural Products*, 55, 577 (1992).
64. Luisa U. Román, Gerardo Zepeda, N. Rebeca Morales, Juan D. Hernández, Carlos M. Cerda-García-Rojas y Pedro Joseph-Nathan. "Molecular Rearrangement of Rastevione Mesylate into Arteagane Derivatives". *Journal of Natural Products*. 58, 1808-1816 (1995).
65. Luisa U. Román, Gerardo Zepeda, N. Rebeca Morales, Salvador Flores, Juan D. Hernández, C.M. Cerda-García-Rojas y Pedro Joseph-Nathan. "Mechanistic Studies of Longipinane to Arteagane Rearrangement *J. Nat. Prod.*, 59, 391-395 (1996).
66. "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. 8 de enero de (1999).
67. "Contracción del ciclo de siete por rearreglo pinacólico en el sistema [6.5.7] de la 7 α -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. 10 de noviembre de (1984).
68. 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).
69. 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).
70. 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).

71. C. M. Cerda-García-Rojas, M. A. Bucio, L. U. Román, J. D. Hernández y P. Joseph-Nathan. "Preparation of moreliane derived volatile sesquiterpenes". *Journal of Natural Products*, 67, 189-193 (2004).
72. Carlos M. Cerda-García-Rojas, Diana Guerra-Ramírez, Luisa U. Román-Marín, Juan D. Hernández-Hernández y Pedro Joseph-Nathan. "DFT Molecular Modeling and NMR Conformational analysis of a new Longipinenetriolone diester". *Journal of Molecular Structure*, 789, Nos. 1-3, 37-42, (2006), Fecha de Publicación: 22 de mayo del 2006 (Ed. ELSEVIER, B.V.).
73. "Reactividad diferencial de alcoholes derivados del longipineno con eterato de trifluoruro de boro". Tesis para obtener el Título de Químico Farmacobiólogo presentada por Mariano Méndez Chávez a la Facultad de Químico Farmacobiología. Obtuvo Mención Honorífica. 26 de febrero del 2007.
74. "Nuevos Sesquiterpenos de la Transposición de Wagner-Meerwein de un derivado del Longipineno". Tesis para obtener el Título de Químico Farmacobiólogo presentada por Luis Felipe Rangel Ramos a la Facultad de Químico Farmacobiología U.M.S.N.H. 24 de agosto del 2007.
75. "Nuevo Sesquiterpeno de la Transposición del Diacetato de Longipinatriolona en presencia de ácido p-Toluensulfónico". Tesis para obtener el Título de Químico Farmacobiólogo presentada por Alejandro Valdez Calderón a la Facultad de Químico Farmacobiología de la U.M.S.N.H. 3 de diciembre del 2008.
76. Q.F.B. Julio César Ontiveros Rodríguez "Nuevos Derivados del Sesquiterpeno Tetracíclico y su apertura con ácido p-Toluensulfónico". Tesis para obtener el Título de Químico Farmacobiólogo presentada por Julio César Ontiveros Rodríguez a la Facultad de Químico Farmacobiología de la U.M.S.N.H. 17 de agosto del 2012.
77. M.C.Q. Gerardo Morán López "Transposiciones Moleculares de ésteres Mesílicos de Longipinandirolonas". Fecha de la presentación 13 de diciembre del 2012 Instituto de Investigaciones Químico-Biológicas de la U.M.S.N.H.
78. Morrison y Robert Neilson Boyd, "Química Orgánica", 3ª edición, Fondo Educativo Interamericano. pág. 307-310, New York, N.Y., (1976).
79. Andrew Streitweiser, Jr. y Clayton H. Heathcock, "Química Orgánica", 1ª edición, Nueva Editorial Interamericana. pág. 611-614, México, D.F. (1979).

80. William A. Bonner y Albert J. Castro, "Essentials of Modern Organic Chemistry". 3ª edición, Reinhold Publishing Corporation. pág. 220, New York, London, Amsterdam (1967).
81. Juan Diego Hernández Hernández, "Notas de Química Orgánica I". Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Morelia, Mich. 2010.
82. 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
83. Hughes, Peter (2006). «Was Markovnikov's Rule an Inspired Guess?». *The Journal of Chemical Education* 83 (8): pp. 1152 – 1154. doi:10.1021/ed083p1152.
84. M. Conrad (1910). «Emil Erlenmeyer». *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft* 43 (3): 3645–3664. doi:10.1002/cber.
85. 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.
86. Otto N. Witt (1911). «Emil Erlenmeyer, 1825–1909». *Journal of the Chemical Society, Transactions* 99: 1646–1668. doi:10.1039 CT9119901646.
87. Kharasch, M. S.; Mayo, Frank R. (1933). *Journal of the American Chemical Society* 55 (6): 2468. doi:10.1021.
88. Wade, L.G. "Organic Chemistry". Ed 5. Prentice Hall: 2003. 314-20.
89. U.S. Patent 1,672,615 «Alkyl mMercuric Sulphur Compound».
90. Biografía de Herbert Brown en la Fundación Nobel de Les Prix Nobel, 1979.
91. Juan Diego Hernández Hernández, "Notas de Química Orgánica II", Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Morelia, Mich. 2010.
92. Juan Diego Hernández Hernández, "Notas de Química Orgánica III", Heterocíclica, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Morelia, Mich. 2010.
93. Luisa U. Román, Gerardo Morán, Juan D. Hernández, M.A. Bucio, Carlos M. Cerda-García-Rojas y P. Joseph-Nathan. "Longipinane Derivatives from *Stevia viscida*". *Phytochemistry*, 39, 1437-1439 (1995).
94. Juan Diego Hernández Hernández, "Química Orgánica Experimental en Productos Naturales". Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Morelia, Mich. 2010.
95. "Obtención y Reactividad de Isómeros Posicionales del Diacetato de Longipinatriolona". Tesis para obtener el Título de Químico Farmacobiólogo presentada por Graciela García-Moralesbva la Facultad de Químico Farmacobiología de la U.M.S.N.H. 10 de agosto del 2012.