

00582



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO

PROGRAMA DE MAESTRIA Y DOCTORADO EN CIENCIAS
QUIMICAS

**Transformaciones de las Ftálicas Naturales Diligustílida,
Toquinólida B y Z-Ligustílida.**

TESIS
PARA OPTAR POR EL GRADO DE

DOCTOR EN CIENCIAS

PRESENTA

M. en C. Beatriz Quiroz García



TUTOR: Dr. E. Guillermo Delgado Lamas

2004

El presente trabajo de investigación se realizó en el laboratorio 1C del Instituto de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México y en el Departamento de Química Orgánica y Bioorgánica de la Universidad de Lund, Suecia, bajo la supervisión del Dr. Guillermo Delgado Lamas y del Prof. Olov Sterner.

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recensional.

NOMBRE: Beatriz Quiroz Gascía

FECHA: 06-Septiembre 2004

PIRMA: [Firma]

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Guillermo Delgado Lamas

Por su valiosa y acertada asesoría en la realización de este trabajo, además de ser un ejemplo a seguir

Al Prof. Olov Sterner

Por su hospitalidad, apoyo y asesoría durante la estancia de investigación realizada en la Universidad de Lund, Suecia

Al Dr. Juan Antonio Cogordan Ramírez

Por su invaluable ayuda en el análisis teórico de los resultados experimentales

A los miembros del Jurado

Dr. Alfonso Romo de Vivar Romo

Dra. Martha Eugenia Albores Velasco

Dr. Leovigildo Quijano

Dr. Luis Manuel Peña Rodríguez

Dra. María Yolanda Ríos Gómez

Dr. Enrique Ángeles Anguiano

Dr. José Alfredo Vázquez Martínez

Por sus atinados comentarios que permitieron enriquecer la presente tesis

A los miembros del Comité Tutelar

Dra. Martha Eugenia Albores Velasco

Dr. Armando Cabrera Ortiz

Dr. Carlos Cerda García Rojas

Por sus consejos y sugerencias en el desarrollo experimental del proyecto de tesis doctoral

A mis maestros y en especial a:

***Dr. Luis Ángel Maldonado, Dr. Ángel Guzmán, Dr. Eduardo Díaz, Dr. Gabriel Cuevas
y M. en C. José M. Méndez Stivalet***

Por sus inigualables enseñanzas

***A los técnicos académicos de los laboratorios de Infrarrojo, Resonancia Magnética
Nuclear, Espectrometría de Masas, Difracción de Rayos-X y Cómputo del Instituto
de Química:***

***Q.F.B. Rocío Patiño, M. en C. Héctor Ríos, M. en C. Isabel Chávez, Q. Ángeles Peña,
M. en C. Elizabeth Huerta, M. en C. Nieves Zavala, M. en C. Javier Pérez, I. Q. Luis
Velasco, Dr. Alfredo Toscano, M. en C. Simón Hernández, David Vázquez y Claudia
García***

Por la determinación de los análisis sin los cuales el trabajo de investigación no hubiera
podido ser concluido

A mis compañeros del Instituto de Química en especial a:

M. en C. Ana Luisa Silva y Dr. Federico del Río

Por su amistad y apoyo

A las secretarías del Instituto de Química

Ma. Elena Ortega, Carmen Hernández y Raquel Feregrino

Por su ayuda y asesoría en la realización de los trámites administrativos

A mis compañeros del laboratorio 1C del Instituto de Química

***A mis compañeros del departamento de Química Orgánica y Bioorgánica de la
Universidad de Lund, Suecia***

Al personal de la coordinación del Posgrado en Ciencias Químicas

A la DGEP y DGAPA (UNAM)

Por el apoyo financiero otorgado por medio de los programas PAEP (208322 y 208330) y
PASPA para la realización de mis estudios de doctorado

A mis padres Rubén y Tere

Con amor y profunda nostalgia

*A Rubén, Tere, Queta,
Claudia Leticia, Rubén Jaime, Ricardo, Coral,
mi tío Miguel, Lety y José Luis*

Por su amor y apoyo

INDICE

	Pag.
Resumen	1
Abstract	2
Lista de Abreviaturas	3
Introducción	5
Antecedentes	8
Justificación y Objetivos	22
Discusión de Resultados	25
Conclusiones	71
Sección Experimental	73
Espectros	102
Referencias	158
Publicaciones	164

Resumen

Las ftálicas son un grupo de productos naturales que se encuentran localizadas principalmente en la familia *Umbelliferae* del reino vegetal. La mayoría de las especies vegetales de donde se han obtenido ftálicas se emplean en la medicina tradicional para el tratamiento de diversos padecimientos.

Dado que las ftálicas son sustancias naturales con actividad biológica, el objetivo principal de la presente investigación es generar conocimiento que permita conocer y racionalizar el comportamiento químico de las ftálicas naturales Z-ligustilida (1), diligustilida (3) y toquinólida B (4).

La reacción de condensación intramolecular de toquinólida B (4) en medio básico produce el compuesto pentacíclico ciclotoquinólida B (28), vía una apertura quimio-selectiva de la γ -enol lactona de 4.

El estudio de reactividad de la ftálica dimérica natural diligustilida (3) bajo condiciones básicas muestra que la proporción de los productos de hidrólisis (6, 7 y 21) y de condensación intramolecular (24, 26 y 41 a 45) es dependiente principalmente del disolvente utilizado, encontrándose condiciones de reacción para obtener selectivamente los derivados de condensación intramolecular o los productos de hidrólisis de la diligustilida (3). Los productos de hidrólisis 6 y 7 son favorecidos en una mezcla de acetona/agua, mientras que la presencia de metanol en la mezcla de reacción ó el uso de una base fuerte permiten la condensación intramolecular de la materia prima (3). La reacción de condensación intramolecular de diligustilida (3) bajo condiciones anhidras favorece la formación del producto de condensación intramolecular 24, mientras que en un sistema acuoso y más polar se obtiene la mezcla epimérica de 26 y 41.

Las reacciones catalizadas por ácidos de Brønsted y ácidos de Lewis de las ftálicas diméricas diligustilida (3) y toquinólida B (4) no producen derivados de condensaciones inter- o intramoleculares.

La irradiación de la ftálica natural Z-ligustilida (1) produce la ftálica dimérica natural riligustilida (5), y tres ftálicas diméricas novedosas 38, 39 y 40. El análisis de la quimio- y regio-selectividad involucradas en la formación de los fotociclodímeros 5, 38, 39 y 40 por medio del uso de métodos de orbitales moleculares frontera apoya el resultado experimental de la preferencia en la formación del fotociclodímero 38.

La presente investigación permite conocer y racionalizar la reactividad química de las ftálicas naturales Z-ligustilida (1), diligustilida (3) y toquinólida B (4).

Abstract

Phthalides are a group of natural products mainly belonging to umbelliferous plants, which are used in traditional medicine for the treatment of various ailments.

Since phthalides are natural products with biological activity, the aim of the present research is to provide knowledge in order to know and rationalize the chemical behavior of the natural phthalides *Z*-ligustilide (**1**), diligustilide (**3**) and tokinolide B (**4**).

The intramolecular condensation reaction of tokinolide B (**4**) in a basic medium afford the pentacyclic compound cyclotokinolide B (**28**), via the chemoselective γ -enol lactone opening of **4**.

The study of the reactivity of the natural dimeric phthalide diligustilide (**3**) under basic conditions shows that the hydrolysis products (**6**, **7** and **21**) and intramolecular condensation products (**24**, **26** and **41** to **45**) ratio is remarkably solvent dependent. The reaction conditions to obtain selectively the intramolecular condensation derivatives or the hydrolysis products are described. The hydrolysis products **6** and **7** are favored in a mixture of acetone/water, while the presence of methanol in the reaction mixture or the use of a strong base affords the intramolecular condensation of the starting material (**3**). The intramolecular condensation reaction of diligustilide (**3**) under anhydrous conditions favors the formation of the intramolecular condensation product **24**, whereas in an aqueous and more polar system the epimeric mixture of **26** and **41** is obtained.

The catalyzed reactions of the dimeric phthalides diligustilide (**3**) and tokinolide B (**4**) with Brønsted and Lewis acids do not produce inter- or intramolecular condensation products.

The irradiation of the natural phthalide *Z*-ligustilide (**1**) produces the natural dimeric phthalide riligustilide (**5**), and three novel dimeric phthalides **38**, **39** and **40**. The analysis of the chemo- and regio-selectivity involved in the formation of the photocyclodimers **5**, **38**, **39** and **40** by use of frontier molecular orbital methods supports the experimental result of the preference for the formation of the photocyclodimer **38**.

The present research allows to know and to rationalize the chemical reactivity of the natural phthalides *Z*-ligustilide (**1**), diligustilide (**3**) and tokinolide B (**4**).

Lista de Abreviaturas

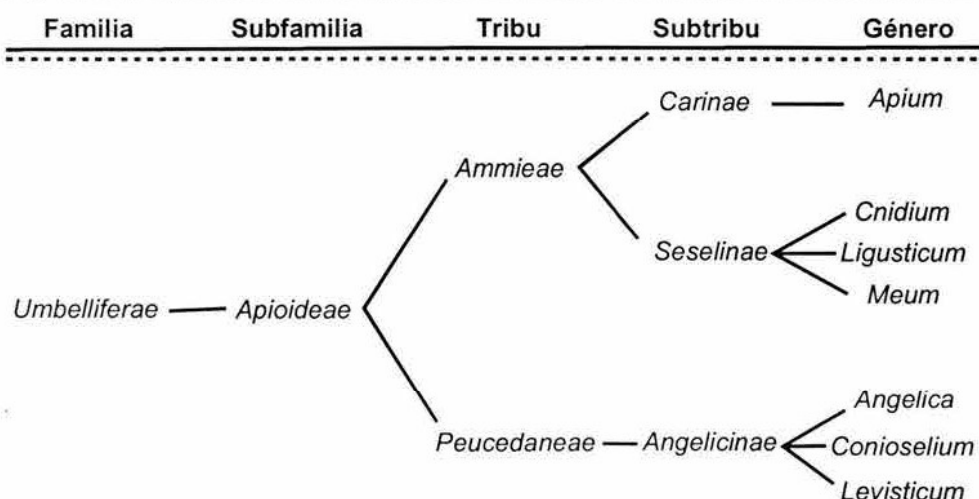
L.	<i>Ligusticum</i>
eq	equivalente
mmol	milimol
aq	acuoso
anh	anhidro
nm	nanómetro
ppm	partes por millón
Å	Angstroms
Hz	hertz
MHz	megahertz
u.a.	unidades atómicas
HOMO	"Highest Occupied Molecular Orbital"
LUMO	"Lowest Unoccupied Molecular Orbital"
HSOMO	"Highest Singly Occupied Molecular Orbital"
LSOMO	"Lowest Singly Occupied Molecular Orbital"
Sr	factor de interacción entre orbitales
ΔE	diferencia de energías
ccf	cromatografía en capa fina
cc	cromatografía en columna
rac	racémico
S _N 2	Sustitución nucleofílica bimolecular
Me ₂ CO	acetona
AcOEt	acetato de etilo
MeOH	metanol
THF	tetrahidrofurano
HPLC	"High Pressure Liquid Chromatography"
pTsOH	ácido <i>p</i> -toluensulfónico
MBA	metilbencilamina
Me	metilo
Et	etilo
Pr	propilo

Bu	butilo
p.f.	punto de fusión
IR	Infrarrojo
UV	Ultra Violeta
λ	longitud de onda
ε	coeficiente de extinción
EM	Espectrometría de Masas
EMIE	Espectrometría de Masas por Impacto Electrónico
EMAR	Espectrometría de Masas de Alta Resolución
FAB	"Fast Atom Bombardment"
PEG	Polietilenglicol
M ⁺	ion molecular
MH ⁺	ion molecular protonado
int. rel.	intensidad relativa
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
RMN ¹ H	Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno
RMN ¹³ C	Resonancia Magnética Nuclear de Carbono 13
DEPT	"Distortionless Enhancement by Polarization Transfer"
COSY	"Correlated Spectroscopy"
HETCOR	"Heteronuclear Chemical-Shift Correlation"
HMQC	"Heteronuclear Multiple-Quantum Coherence"
HMBC	"Heteronuclear Multiple-Bond Correlation"
NOESY	"Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy"
δ	desplazamiento químico
<i>J</i>	constante de acoplamiento
s	señal sencilla
d	señal doble
t	señal triple
c	señal cuádruple
m	señal múltiple
dt	señal doble triplete
td	señal triple doblete
dd	señal doble de doble
ddd	señal doble de doble de doble

INTRODUCCIÓN

Introducción

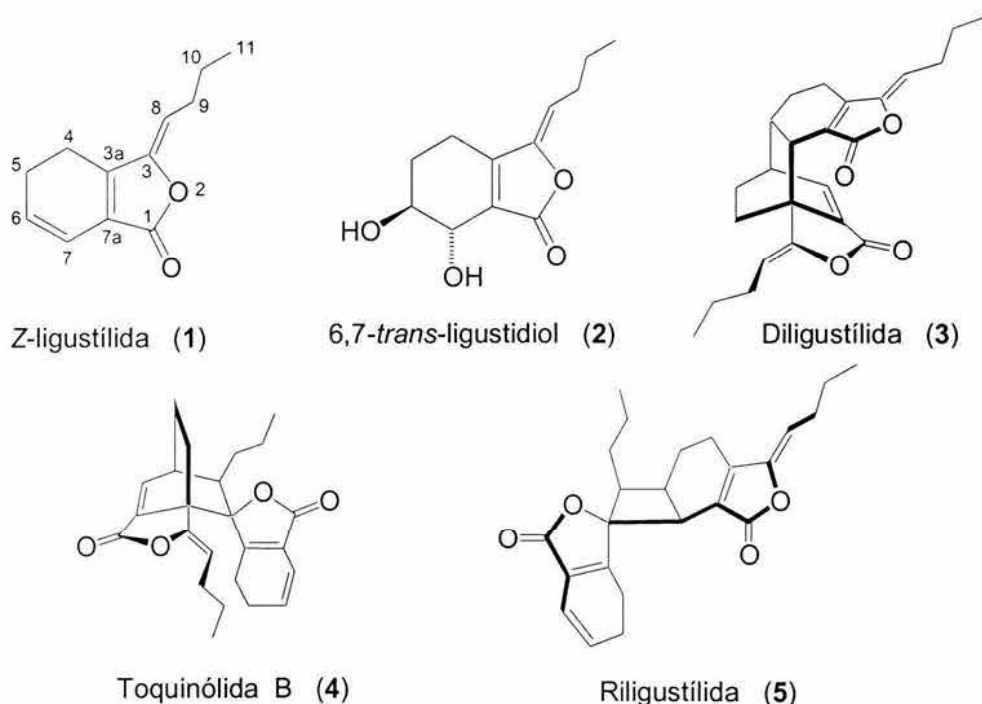
Las ftálicas constituyen un grupo de productos naturales derivados biosintéticamente del ácido acético¹ que se aíslan principalmente a partir de especies de las tribus *Ammieae* y *Peucedaneae* de la familia *Umbelliferae* (subfamilia *Apioideae*, Esquema 1) del reino vegetal. La distribución de las ftálicas es relativamente restringida, encontrándose principalmente en los géneros mostrados en el Esquema 1.² La mayoría de las especies vegetales de donde se han obtenido ftálicas se emplean en la medicina tradicional de Norteamérica, Asia y Europa, para el tratamiento de diversos padecimientos. Entre los usos populares de dichas especies pueden mencionarse antiespasmódicos, anticonvulsivos, sedantes, analgésicos y en el tratamiento de reumatismo y algunos disturbios ginecológicos.¹⁻¹⁷ Se considera que la presencia de las ftálicas es la responsable de la actividad biológica de las preparaciones elaboradas con estas plantas.² En México, *Myroxylon balsamum* (*Leguminosae*) y *Ligusticum porteri* (*Umbelliferae*) son especies vegetales que constituyen el complejo conocido como “Chuchupate”, el cual es ampliamente utilizado por los Tarahumaras en el tratamiento de infecciones, dolores de cabeza, fiebre y enfermedades como reumatismo y disturbios gastrointestinales.¹⁸⁻²¹ El género *Ligusticum* presenta una mayor distribución que *Myroxylon* y sus especies pueden ser localizadas tanto en la zona norte de México, como en Japón y en China, donde son ampliamente usadas en la medicina tradicional.^{1-10, 22-25}



Esquema 1. Ubicación taxonómica de algunos géneros que contienen ftálicas.

Los estudios químicos han establecido las estructuras de docenas de ftálicas, las cuales pueden identificarse como monoméricas (con diferentes grados de oxidación, tanto en el ciclohexano como en la cadena lateral) y diméricas (que se encuentran como mezclas racémicas).^{1, 4, 5, 7, 8, 13, 16, 26-30}

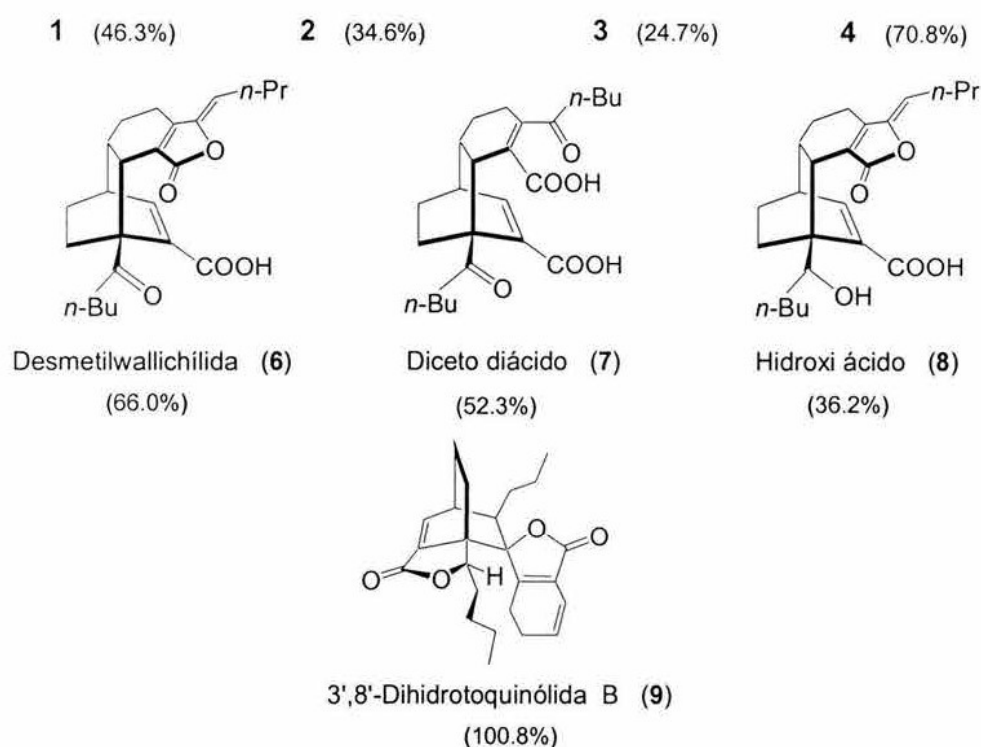
La investigación referente a *Ligusticum porteri*, única especie de este género que se localiza en México (estado de Chihuahua), ha permitido establecer que los principales constituyentes de este vegetal son las ftálicas Z-ligustílida (1), senquiunólida I (2, *trans*-ligustidiol), diligustílida (3), toquinólida B (4) y riligustílida (5).^{8, 29} (Esquema 2)



Esquema 2. Principales metabolitos aislados de *Ligusticum porteri*.

La actividad biológica de este tipo de metabolitos incluye el efecto antiasmático, antiespasmódico y relajante del músculo liso de Z-ligustílida (1),^{31, 32} y la actividad vasodilatadora de los dímeros diligustílida (3) y toquinólida (4) como bloqueadores del canal de calcio.⁷ Otras propiedades farmacológicas que se atribuyen a las ftálicas son como tranquilizantes,³³ antiinflamatorios,³⁴⁻³⁷ inhibidores de crecimiento celular,^{38,39} en el tratamiento de la arteroesclerosis,⁴⁰ de la enfermedad de Alzheimer,⁴¹ en profilaxis dental,⁴² como promotores del crecimiento de cabello⁴³ y como antioxidantes.⁴⁴

Recientemente se ha determinado que algunas ftálicas naturales y semisintéticas (Esquema 3) poseen actividad sedante.⁴⁵ En los resultados obtenidos se observó que los derivados de diligustílida (**3**), la desmetilwallichilida (**6**) y el diceto diácido (**7**), así como el producto natural toquinólida B (**4**) y su derivado 3',8'-dihidrotoquinólida B (**9**), fueron los que presentaron la mayor actividad. Adicionalmente, el compuesto **4** resultó ser citotóxico para las líneas celulares de KB (carcinoma nasofaríngeo humano ED₅₀ = 2.1 µg/ml) y de HCT-15 (carcinoma de colon ED₅₀ = 1.5 µg/ml).



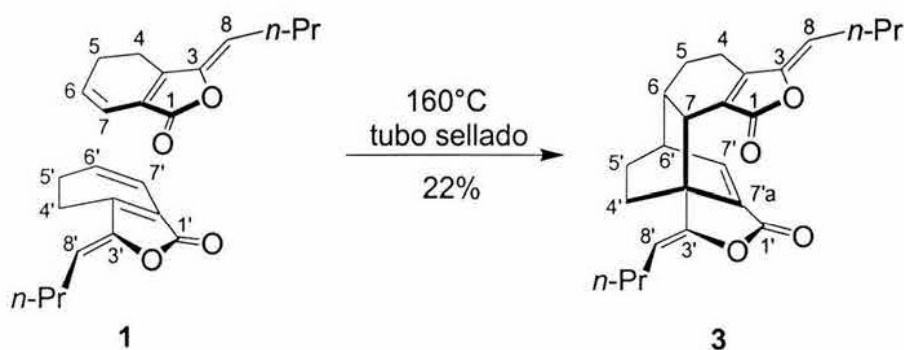
Esquema 3. Capacidad de algunas ftálicas naturales y semisintéticas de incrementar el efecto hipnótico inducido con pentobarbital sódico en un modelo *in vivo*.

Dada la actividad biológica de las ftálicas, el presente trabajo se orientó al estudio de la reactividad química de las ftálicas naturales Z-ligustílida (**1**), diligustílida (**3**) y toquinólida (**4**), llevando a cabo reacciones de dimerización por tratamiento químico o fotoquímico y realizando el análisis teórico de los resultados; así como ensayando diversas condiciones de reacción en medio básico y ácido con la finalidad de racionalizar el comportamiento químico de dichos compuestos.

ANTECEDENTES

Antecedentes

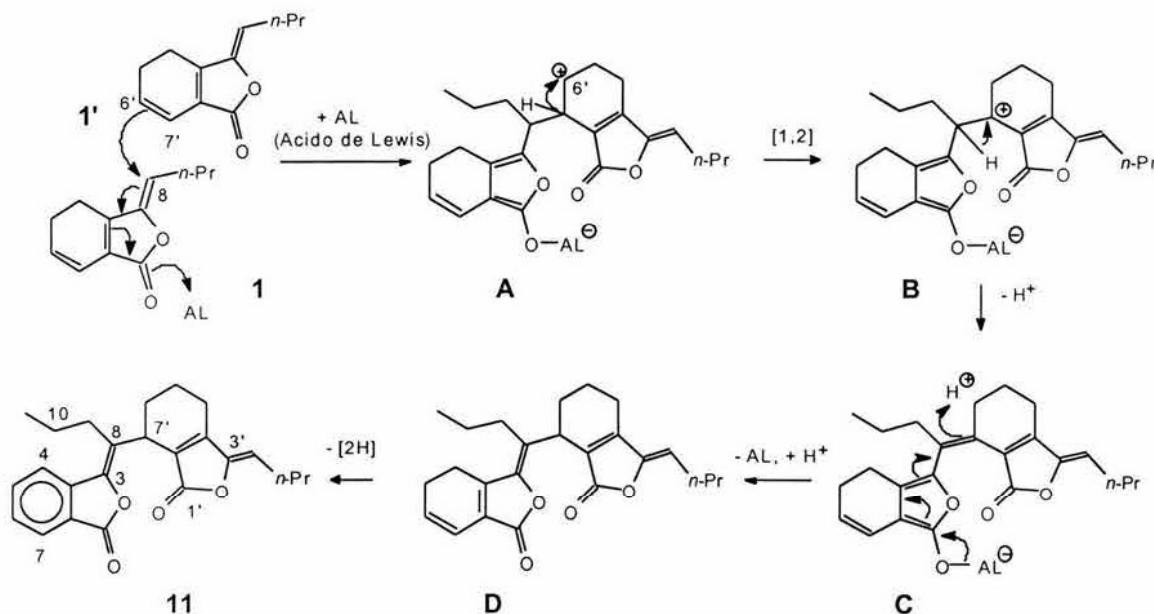
La Z-ligustilida (**1**) es considerada el precursor biogénico de una serie de metabolitos diméricos naturales, derivados de cicloadiciones $[\pi 4s + \pi 2s]$ y $[\pi 2s + \pi 2s]$; por lo tanto **1** representa una materia prima apropiada para la síntesis de este tipo de productos. Aunque algunas reacciones de Diels-Alder pueden ser catalizadas con ácidos de Lewis, el uso de TiCl_4 , BF_3 o SnCl_4 como catalizadores en la síntesis por relevo de diligustilida (**3**), usando **1** como dieno y dienófilo, no resulta en productos de cicloadición y solo se observa la formación de material polimérico.⁴⁶ El uso de agua⁴⁷ como disolvente tampoco promueve la formación del aducto Diels-Alder; sin embargo, la reacción térmica de **1** en tubo cerrado resulta en la formación de la ftálica dimérica diligustilida (**3**, Esquema 4), demostrando la *regio*- y *estereo*- preferencia de la reacción.⁴⁶



Esquema 4. Síntesis por relevo de diligustilida (**3**) a partir de **1**.

Por otra parte, la reacción de cicloadición de **1** catalizada con ácidos de Lewis, produce ftálicas diméricas lineales.⁴⁸ El tratamiento de **1** con Et_2OBF_3 en CH_2Cl_2 resulta en la formación de una mezcla de Z-butílidenoftálica (**10**) y los dímeros **11** a **14**. La formación de los dímeros procede con rendimientos bajos y con *regio*- y *quimio*-selectividad moderadas. El dímero formado en mayor proporción, la 4,5-dehidro-6',7'-dihidro-Z-Z'-8,7'-diligustilida (**11**, 20%), puede ser originado por la secuencia de reacciones mostradas en el Esquema 5; la complejación del ácido de Lewis con el grupo carbonilo de **1**, promueve la adición nucleofílica regiodiferenciada del doble enlace C6'-C7' de una segunda unidad de Z-ligustilida (**1'**) en C-8 y da lugar a un catión en C-6'

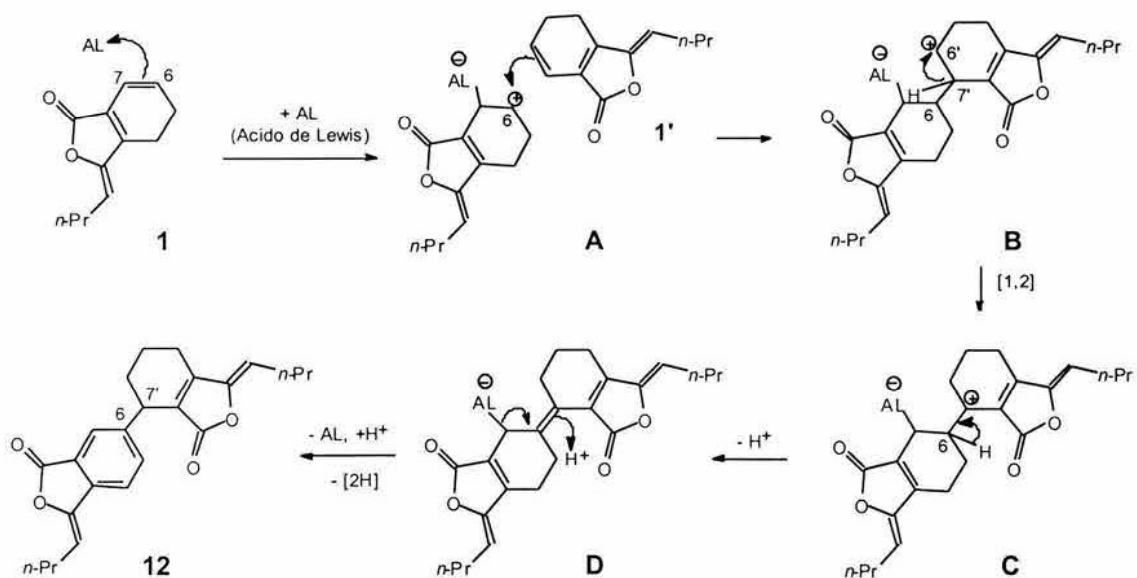
(intermediario **A**, Esquema 5), que es estabilizado mediante la eliminación del protón vecinal para generar el intermediario **B**. La eliminación del ácido de Lewis mediante una serie de isomerizaciones, seguido por deshidrogenación, da origen a **11**.



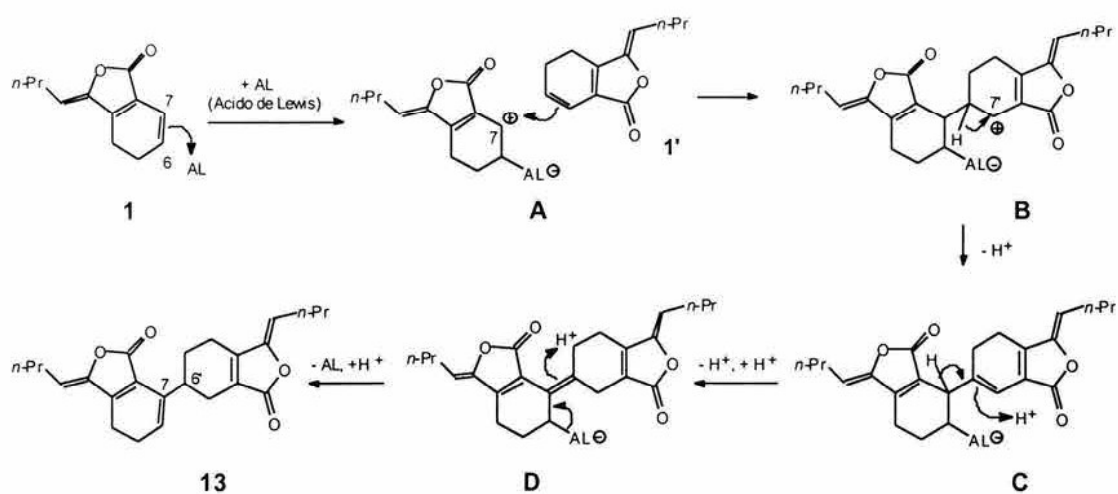
Esquema 5. Mecanismo de formación de **11**.

El Esquema 6 muestra una propuesta mecanística para la formación de **12**. La complejación del ácido de Lewis en el doble enlace C6-C7 de *Z*-ligustílida (**1**) produce un catión en C-6 (intermediario **A**, Esquema 6) y promueve la adición de la olefina C6'-C7' a la segunda unidad monomérica, para formar un catión en C-6' (intermediario **B**). El catión es estabilizado por la eliminación de hidrógeno (intermediario **C**) y la isomerización al intermediario **D**, seguida por aromatización, produce 4,5-dehidro-6',7'-dihidro-*Z,Z'*-6.7'-diligustílida (**12**).

La formación de **13** puede ser explicada por la complejación del ácido de Lewis con la olefina C6-C7 de *Z*-ligustílida (**1**) para formar, en este caso, un catión en C-7 (intermediario **A**, Esquema 7). La adición de la olefina C6'-C7' a otra unidad de *Z*-ligustílida (**1'**) origina un catión, ahora en C-7' (intermediario **B**), el cual es estabilizado al intermediario **D** (Esquema 7), antes de formar el producto final, 6',7'-dihidro-7.6' *Z,Z'*-diligustílida (**13**).



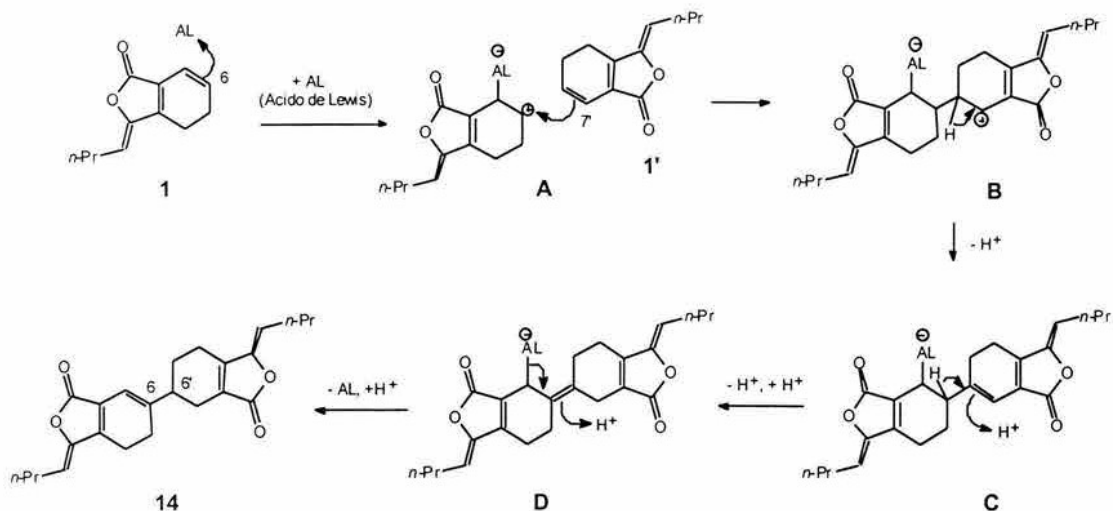
Esquema 6. Mecanismo de formación de 12.



Esquema 7. Mecanismo de formación de 13.

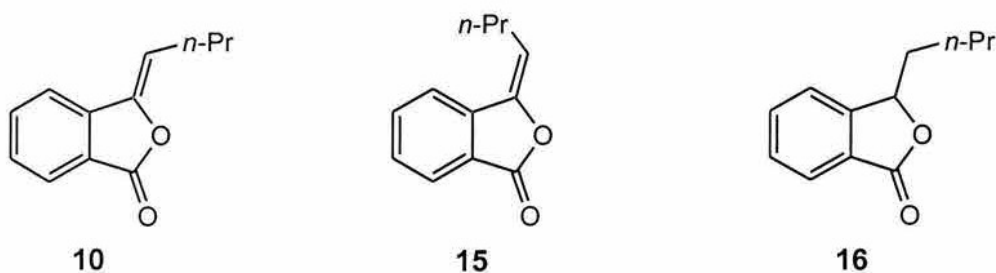
La secuencia descrita en el Esquema 8, explica la formación plausible de 14. La formación del catión en C-6 (intermediario A, Esquema 8) promovido por el ácido de Lewis, seguido de la adición de la olefina C6'-C7' de una segunda unidad de Z-ligustilida

(1), origina un catión en C-7' (intermediario **B**), el cual se estabiliza por la pérdida de un protón (intermediario **C**). La equilibración subsecuente produce la 6',7'-dihidro-Z,Z'-6.6'-diligustílida (**14**).



Esquema 8. Mecanismo de formación de **14**.

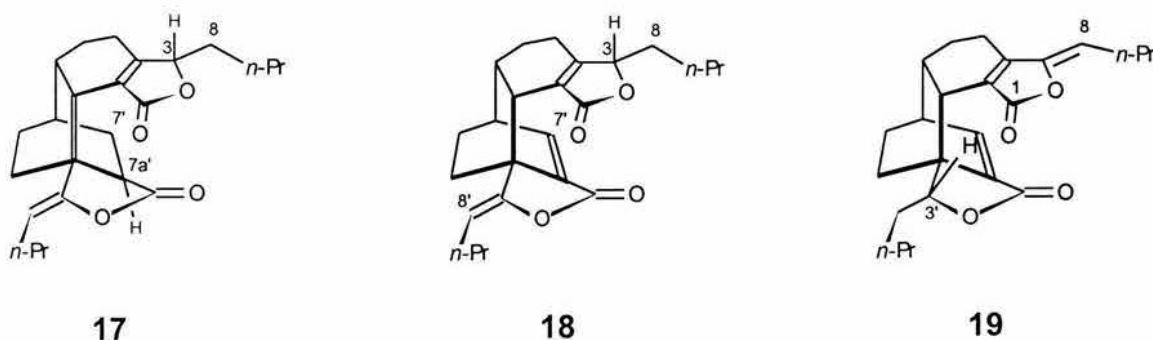
El tratamiento de Z-ligustílida (**1**) con SnCl₄ en CH₂Cl₂ resulta en la formación de Z-butilidenftálida (**10**) como principal producto (35%), además de su isómero E-butilidenftálida (**15**, 12%), su derivado n-butilftálida (**16**, 10%) y los dímeros **11** (12%) y **14** (7%)⁴⁸ como productos secundarios.



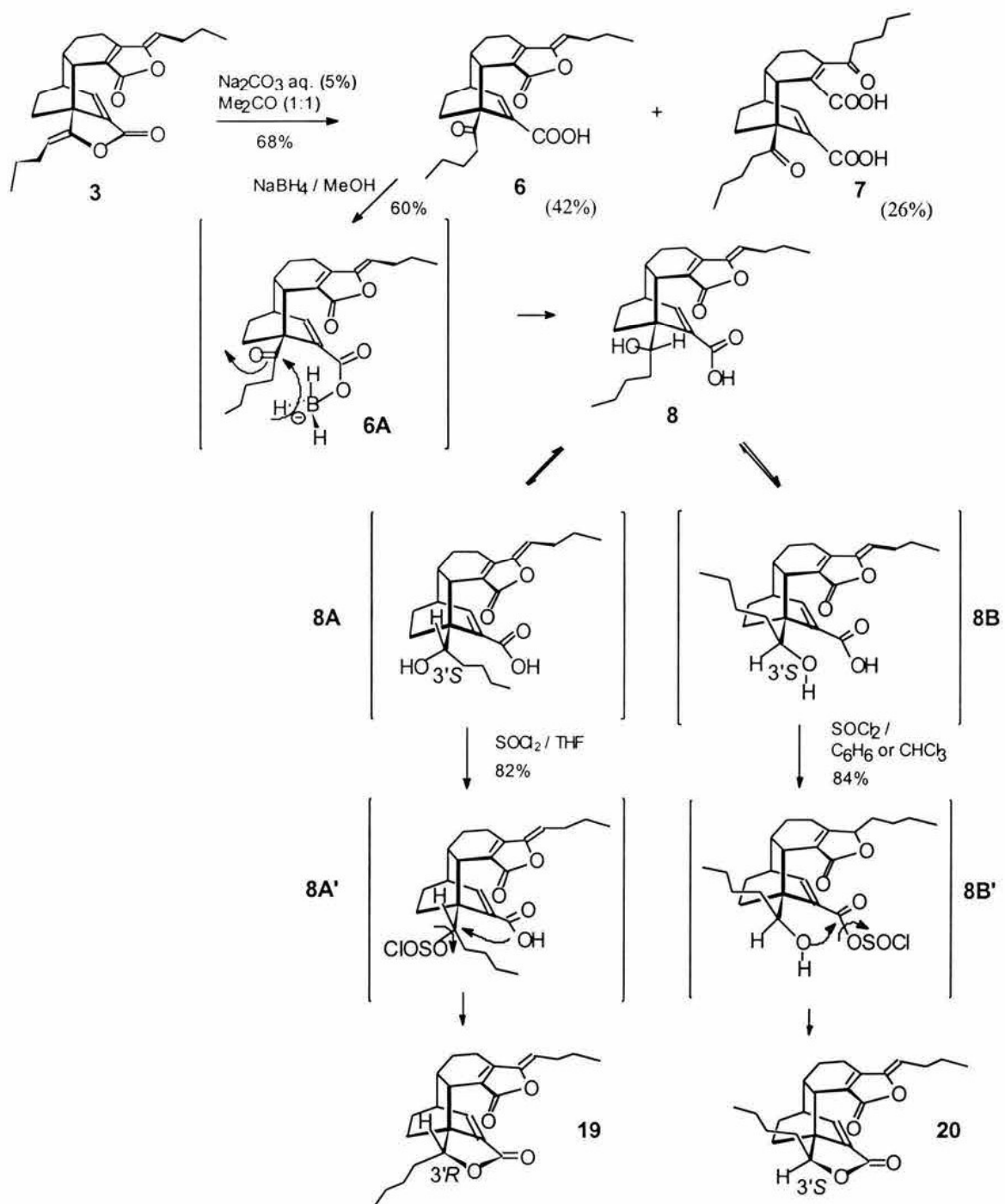
Algunas reacciones químicas llevadas a cabo utilizando las ftálicas diméricas diligustílida (**3**) y toquinólida B (**4**), así como con el monómero Z-ligustílida (**1**), como materia prima se mencionan a continuación.

La hidrogenación catalítica del producto natural diligustílida (**3**), un aducto Diels Alder de Z-ligustílida (**1**), genera una mezcla de dos productos. El producto minoritario, pero de mayor polaridad se identificó como la 3,8,7',7a'-tetrahidrodiligustílida (**17**), cuyo espectro de resonancia magnética nuclear de hidrógeno (RMN ^1H) mostró la señal correspondiente al protón geminal de la γ -lactona, pero no las señales de los protones vinílicos H-7' y H-8. Las configuraciones relativas *S* en C-3 y *R* en C-7a' se establecieron de acuerdo a las caras menos impedidas C-3 *re* y C-7a' *si* para la aproximación del hidrógeno en **3**. El espectro de RMN ^1H del producto principal y de menor polaridad (**18**) mostró las señales correspondientes a los protones vinílicos H-7' y H-8' y la saturación del doble enlace C3-C8 se confirmó por la desaparición de la absorción UV debido al cromóforo del carbonilo $\alpha,\beta,\gamma,\delta$ -insaturado.²⁹

La caracterización química del derivado **18** permitió la corrección estructural de un constituyente aislado de *L. wallichii*, cuyos datos espectroscópicos corresponden a la estructura **19**, y no a la estructura **18**, propuesta inicialmente.⁵ El desplazamiento químico a δ 5.18 del hidrógeno H-8 fue consistente con el desplazamiento del protón de una dienona conjugada; así mismo, el desplazamiento de una señal a δ 5.11 fue asignada al hidrógeno H-3' y la configuración en el carbono C-3' del enantiómero mostrado se propuso como *R* debido a la desprotección de H-3' por el carbonilo en C-1. Así, la λ_{max} informada (273 nm)⁵ es debida al cromóforo de una dienona conjugada, lo cual no corresponde con la estructura **18** y sí con la **19**.

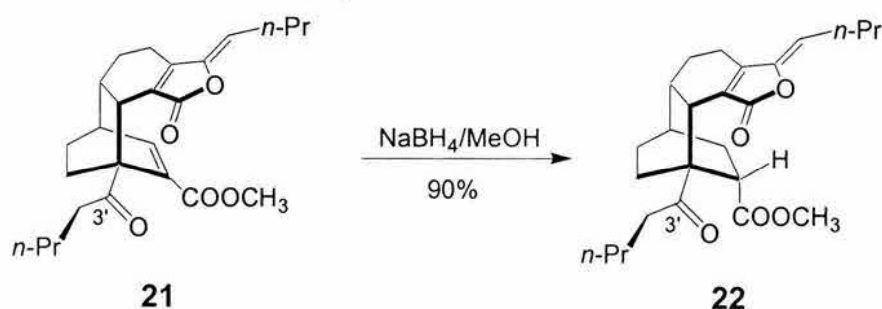


La reacción de correlación química entre la diligustílida (**3**) y el producto natural *rel*-(3'*R*)-3',8'-dihidrodiligustílida (**19**) se muestran en el Esquema 9.⁴⁶



Esquema 9. Correlación química entre diligustilida (3) y el producto natural 19.

El tratamiento de **3** bajo condiciones en $\text{Na}_2\text{CO}_3/\text{H}_2\text{O}/\text{Me}_2\text{CO}$ produce una mezcla de desmetilwallichílida (**6**) y el diceto diácido **7** (Esquema 9) y la reducción de **6** con NaBH_4 genera el hidroxi-ácido **8**. La selectividad diastereofacial en la reducción de **6** es consecuencia de la complejación del borohidruro con el ácido carboxílico y el carbonilo cetónico (orientado *exo*- en la conformación preferida en metanol, **6A**) es reducido por la cara *re*- para producir el *rel*-(3'*S*)-hidroxi ácido **8** (Esquema 9). La importancia del grupo carboxilo en esta reacción se confirma al observar que la reducción del producto natural wallichílida⁴ (**21**) produce el ceto éster **22** (Esquema 10). El uso del complejo $\text{NaBH}_4/\text{CeCl}_3$ ⁴⁹ para evitar la reducción 1,4-, tampoco reduce la cetona de **21**, recuperándose solamente la materia prima.



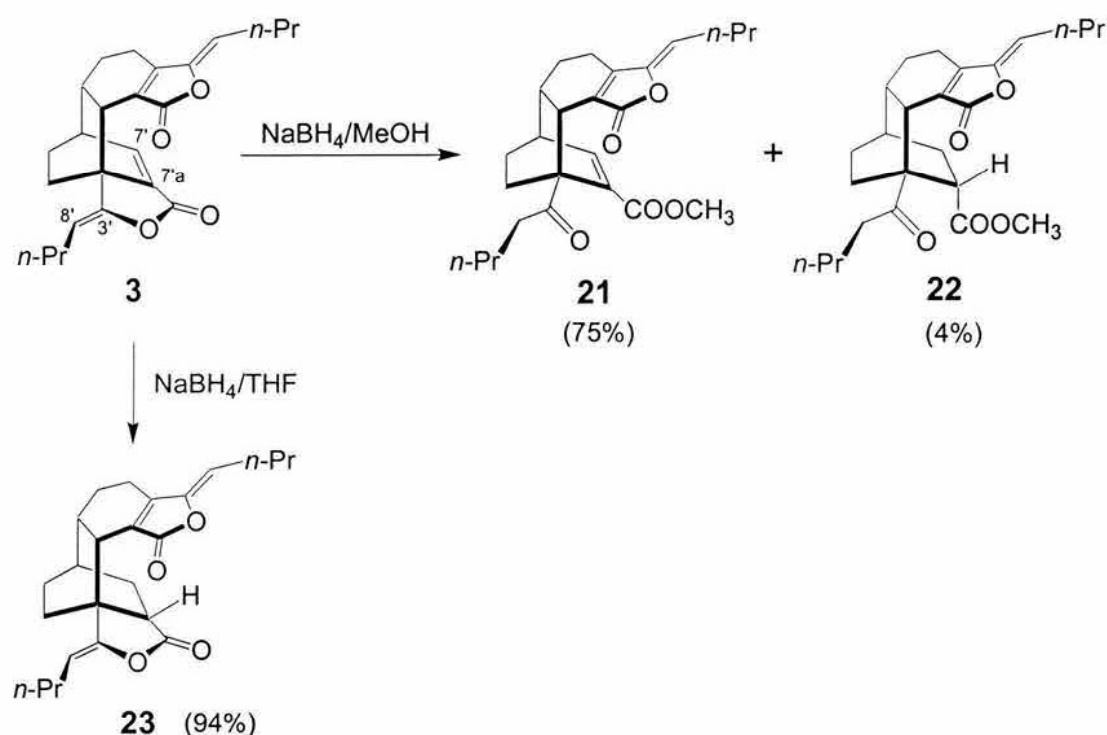
Esquema 10. Reducción química de wallichílida (**21**).

La lactonización del hidroxi-ácido **8** se lleva a cabo mediante la reacción con cloruro de tionilo, cloruro de tosilo o cloruro de mesilo. La estereoquímica del producto es dependiente del disolvente utilizado (Esquema 9). Cuando se utiliza THF como disolvente, se obtiene *rel*-(3'*R*)-3',8'-dihidro diligustílida (**19**), pero cuando la reacción se lleva a cabo usando cloroformo o benceno, el producto es *rel*-(3'*S*)-3',8'-dihidro diligustílida (**20**). Los datos espectroscópicos de **19**⁴⁶ fueron idénticos con los informados para el producto natural, confirmando la revisión de la estructura de **19**²⁹ para el metabolito secundario de *L. wallchii*⁵ y *L. chuangxiong*.⁷

Los resultados de la reacción de lactonización (Esquema 9) pueden explicarse asumiendo que ocurren dos mecanismos de reacción que reflejan la facilidad de aproximación del electrófilo al oxígeno activo. Presumiblemente en THF la conformación preferida es **8A**, donde el alcohol secundario está expuesto al disolvente (el hidroxilo *exo*- y *anti*- al enlace sigma C3'a-C7'a) y el electrófilo activa el alcohol para un mecanismo de

desplazamiento S_N2 , con inversión en C3' (**8A'**, Esquema 9). En contraste, en disolventes no polares (como cloroformo y benceno), **8** existe presumiblemente en la conformación **8B** (el *n*-butilo *exo*- y *anti*- al enlace sigma C3'a-C7'a) y el electrófilo ($SOCl_2$) activa al ácido para una reacción de adición-eliminación (**8B'**, Esquema 9).

Un procedimiento alternativo para la síntesis de wallichílida (**21**) involucra el tratamiento de **3** con $NaBH_4$ en MeOH a temperatura ambiente (Esquema 11). Por otro lado, la reacción de diligustílida (**3**) con $NaBH_4$ en THF genera únicamente la *rel*-(7a'S)-7',7a'-dihidrodiligustílida (**23**) (Esquema 11),⁴⁶ sugiriendo que el doble enlace C7'-C7a' es más reactivo a nucleófilos que el C3'-C8'.

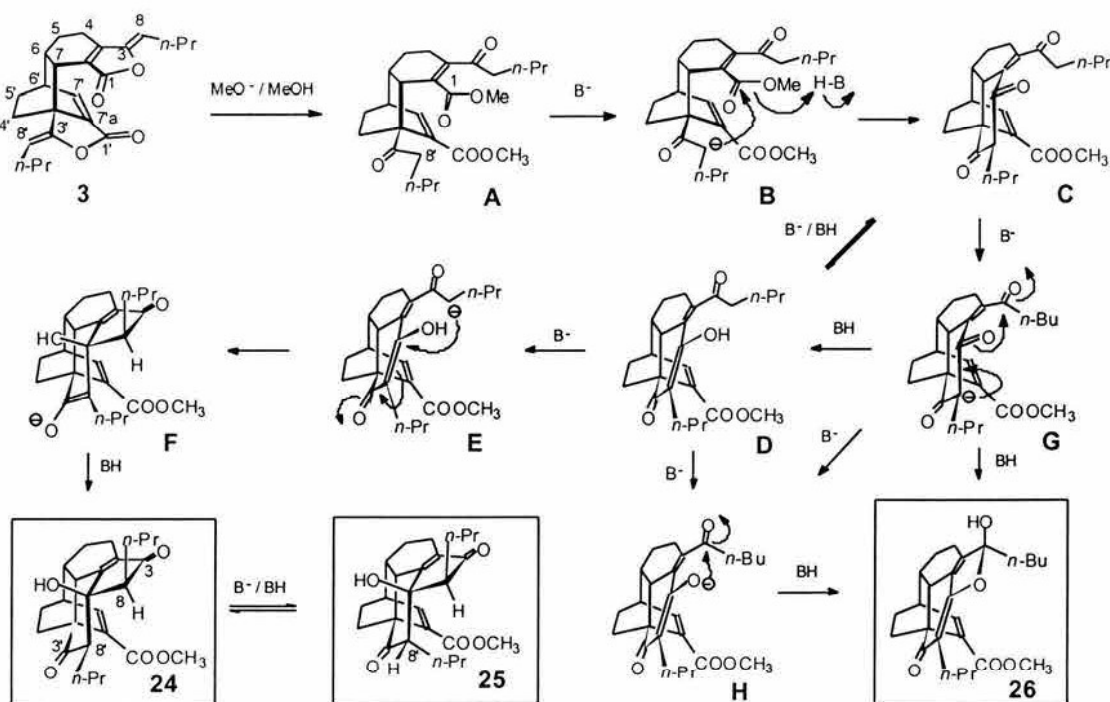


Esquema 11. Síntesis por relevo de wallichílida (**21**) a partir de diligustílida (**3**).

La metanólisis de diligustílida (**3**) con NaOH en THF y MeOH resulta en la formación de **24** (92%), un producto de condensación intramolecular donde la enolactona de **3** se transforma en una ciclopentenona conjugada fusionada a una ciclohexanona. La correlación NOESY entre H-8 y H-8' estableció la orientación *exo*- de los grupos *n*-propilo en **24**.⁵⁰

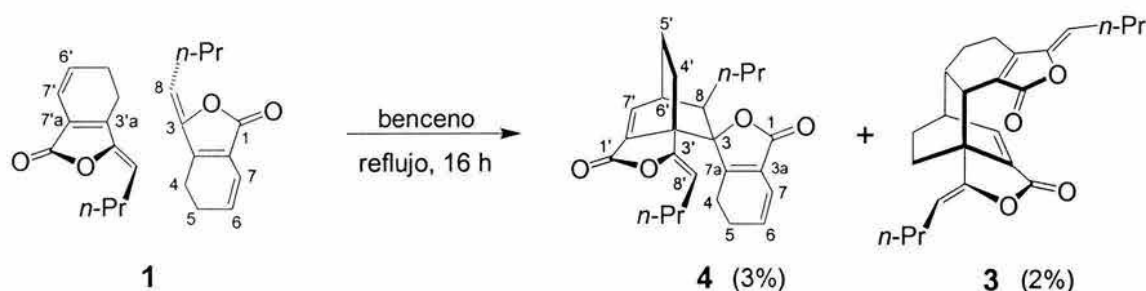
El mecanismo de reacción propuesto sugiere que el intermediario diceto diéster (**A**, formado por metanólisis de **3**, Esquema 12) experimenta una reacción tipo aldólica intramolecular, por desprotonación del metileno ácido en C-8' (intermediario **B**) y una adición al carbonilo, produciendo los intermediarios tautoméricos **C** y **D**; estos últimos producen **24** vía una adición tipo Michael al carbanión en C-8 seguida de una equilibración (intermediarios **E** y **F**, Esquema 12).⁵⁰

Otro procedimiento que favorece las condensaciones intramoleculares involucra la reacción de **3** con Na_2CO_3 en $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{OH}/(\text{CH}_3)_2\text{CO}$,⁵⁰ dando lugar a **25** (8'-*epi*-**24**, 4%) y la mezcla cristalina de **24** + **26** (65%), además de desmetilwallichilida (**6**⁴⁶, 9%) y el diceto diácido **7**⁴⁶ (10%). La formación del éter de enol **26** puede racionalizarse por la O-acilación de los intermediarios **G** o **H** (Esquema 12). En disolventes tales como THF e *i*-PrOH, se prefiere la C-alkilación para producir **24**, mientras que en un sistema acuoso, donde la carga negativa reside principalmente en el oxígeno, permite la formación del hemiacetal **26**.



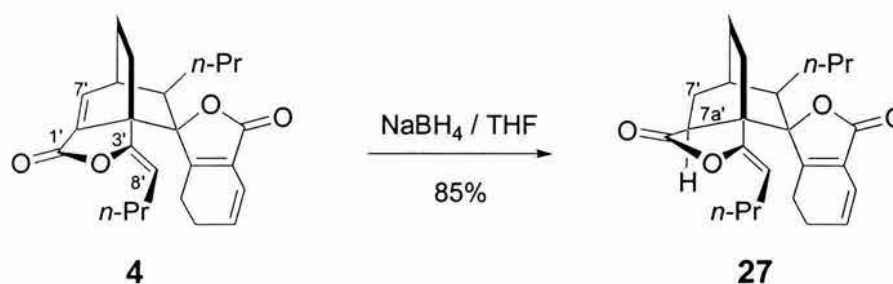
Esquema 12. Condensación intramolecular de diligustilida (**3**) catalizada por base.

La toquinólida B (**4**)³⁰ es una ftálida dimérica que puede considerarse como un cicloaducto derivado de una reacción de cicloadición Diels-Alder [$\pi 4s + \pi 2s$] de dos unidades de Z-ligustílida (**1**), en la que el dieno conjugado de una molécula reacciona con la ligadura doble C3-C8 de otra. La reacción térmica de **1** en benceno da como resultado las ftálidas diméricas diligustílida (**3**) y toquinólida B (**4**), aunque en rendimientos bajos (Esquema 13).⁵¹



Esquema 13. Cicloadición Diels-Alder de Z-ligustílida (**1**), obtención de los dímeros **3** y **4**.

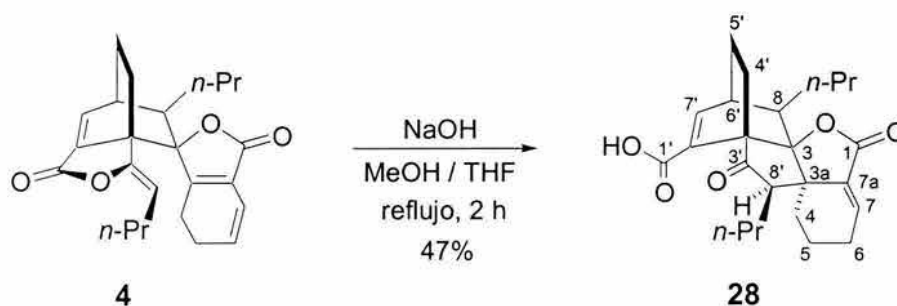
La reducción de toquinólida B (**4**) con NaBH_4/THF , al igual que en el caso de la diligustílida (**3**, Esquema 11) produce únicamente *rel*-(7a'S)-7',7'a-dihidrotoquinólida B (**27**, Esquema 14). Esta reacción genera un nuevo centro quiral en C-7a', propuesto con estereoquímica relativa S, debido a la equilibración que procede en las condiciones de reacción.



Esquema 14. Reacción de reducción de toquinólida B (**4**) con NaBH_4 en THF.

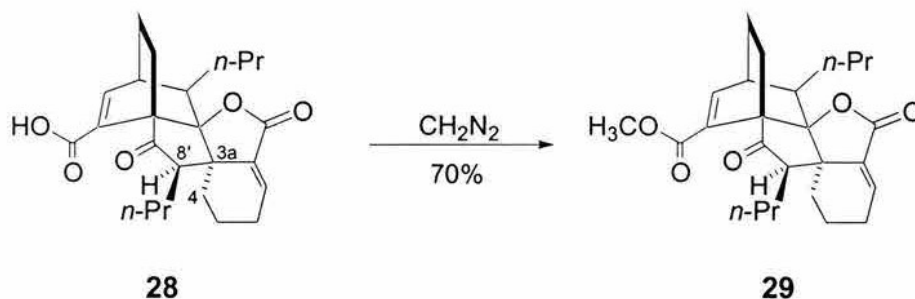
Como se mencionó anteriormente, el tratamiento con base de diligustílida (**3**) produce, mediante la secuencia de reacciones mostrada en el Esquema 12, los productos

24, 25 y 26 derivados de condensaciones intramoleculares.⁵⁰ De igual forma, la transformación de toquinólida B (4) genera el producto 28, denominado ciclotoquinólida B, derivado de la condensación intramolecular de 4 en medio básico (Esquema 15).⁵²



Esquema 15. Condensación intramolecular de toquinólida B (4) en medio básico.

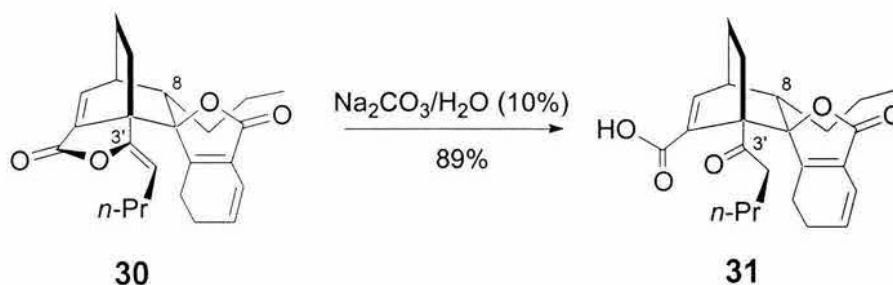
El tratamiento de 28 con una solución de diazometano en éter produce el éster metílico correspondiente 29,⁵² confirmando la presencia de un ácido carboxílico (Esquema 16). El análisis de los datos espectroscópicos de 29 permitió la elucidación estructural de la ciclotoquinólida B (28).



Esquema 16. Metilación de ciclotoquinólida B (28) con diazometano.

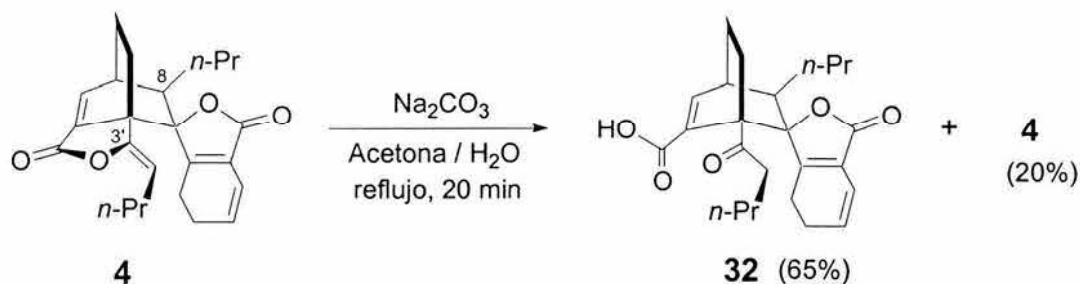
La configuración relativa *R*- en C-8' de 28 fue confirmada por la correlación entre H-8' y el hidrógeno *pro-R* H-4 en el espectro NOESY, y la configuración relativa *S*- en C-3a se estableció por la adición (*si*-) diastereodiferenciada del carbanión a C-3a.

En la literatura se reporta que la hidrólisis alcalina de la angeólida (**30**),¹³ ftálica dimérica aislada de *Angelica glauca*, genera el ceto ácido correspondiente **31** (Esquema 17).



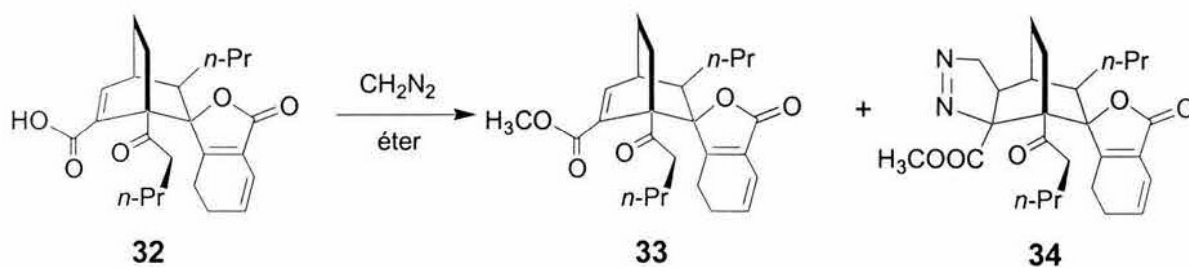
Esquema 17. Hidrólisis alcalina de angeólida (**30**).

Una hidrólisis similar de la toquinólida B (**4**) (epímero en C-8 de **30**) produce el ceto ácido correspondiente **32** (Esquema 18).⁵²



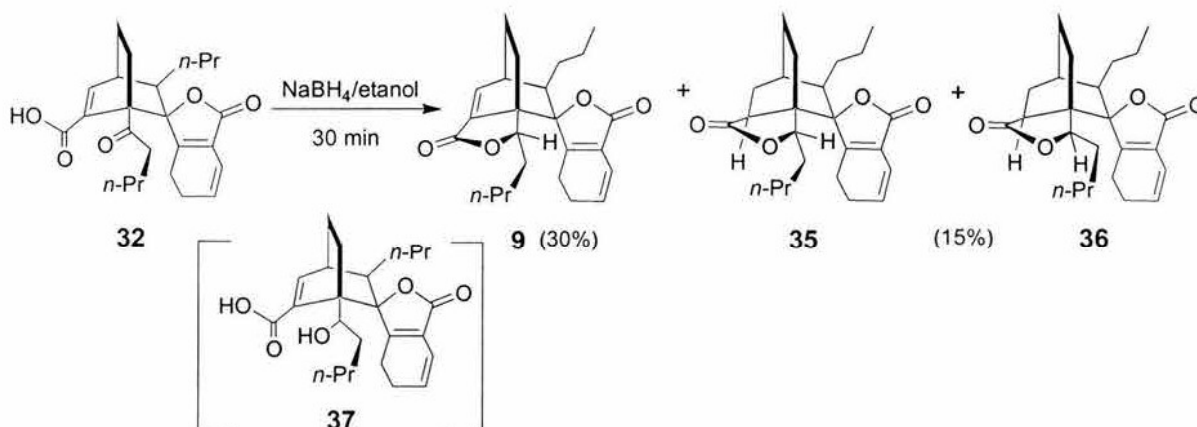
Esquema 18. Hidrólisis alcalina de toquinólida B (**4**).

La metilación del ceto ácido **32** con diazometano en éter produjo, además del ceto éster **33**, la pirazolina **34** (Esquema 19), resultante de la adición del diazometano a la doble ligadura activada C(7')-C(7a').⁵³



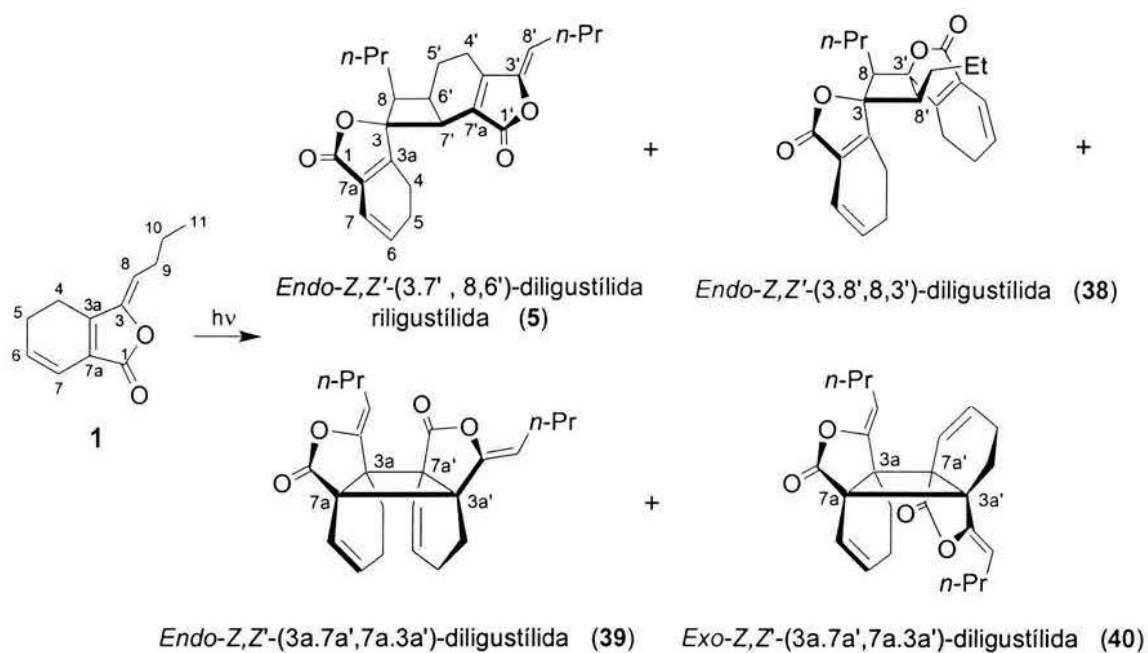
Esquema 19. Reacción de metilación del ceto ácido **32** con diazometano.

La reducción del ceto ácido **32** con NaBH_4 en etanol resultó en la obtención de 3',8'-dihidrotoquinólida B (**9**, Esquema 3) y una mezcla de los epímeros **35** y **36** (Esquema 20),⁵² no lográndose aislar el hidroxí ácido **37**; a diferencia del hidroxí ácido **8**, que si es posible obtenerlo por reducción de la desmetilwallichílida (**6**, Esquema 9).



Esquema 20. Reducción del ceto ácido **32**. Obtención del 3',8'-dihidrotoquinólida B (**9**).

Estudios encaminados a la formación de ciclodímeros derivados de cicloadiciones $[\pi 2s + \pi 2s]$ de Z-ligustílida (**1**), por medio de reacciones fotoquímicas usando una lámpara de mercurio, dieron como resultado la formación de cuatro fotociclodímeros, la riligustílida (**5**), producto natural aislado de *L. porteri*,²⁹ y tres ftálicas diméricas novedosas: *endo-Z,Z'*-(3.8',8.3')-diligustílida (**38**), *endo-Z,Z'*-(3a.7a',7a.3a')-diligustílida (**39**) y *exo-Z,Z'*-(3a.7a',7a.3a')-diligustílida (**40**) (Esquema 21).⁵⁴



Esquema 21. Fotociclodímeros obtenidos a partir de cicloadiciones $[\pi 2s+\pi 2s]$ de 1.

Z-ligustilida (1) tiene un comportamiento fotoquímico poco predecible, debido a los numerosos enlaces dobles presentes, sin embargo, se puede decir que hay cierta selectividad en la fotoreacción.

Los estudios realizados indican que existen mezclas en los productos de reacción, reflejando la reactividad competitiva de los grupos funcionales presentes, y los requerimientos estéricos definidos de las estructuras diméricas. En resumen, puede mencionarse que las ftálicas diméricas tienen una reactividad química particular, y que es necesaria mayor experimentación e interpretación de resultados con el fin de poder racionalizar tal reactividad.

JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

Justificación y Objetivos

Justificación

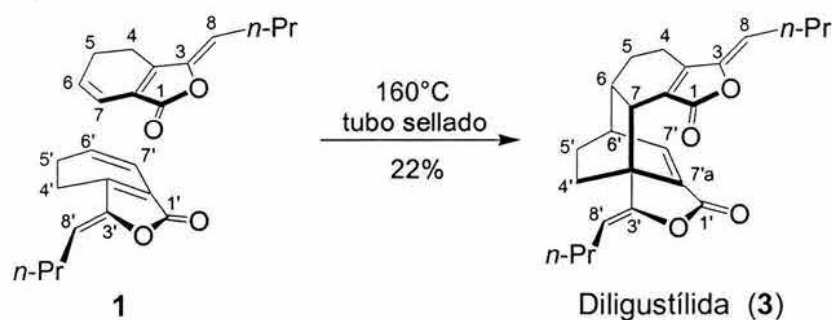
Dado que las ftálicas son sustancias naturales con actividad biológica como sedante en un modelo *in vivo*,⁴⁵ y con una reactividad química particular, se consideró pertinente la formación de derivados bajo condiciones específicas, con el fin de conocer tanto la reactividad química como las relaciones entre la estructura molecular y la bioactividad.

Objetivo General

Generar conocimiento que permita conocer y racionalizar el comportamiento químico de las ftálicas naturales diligustílida (3), toquinólida B (4) y Z-ligustílida (1).

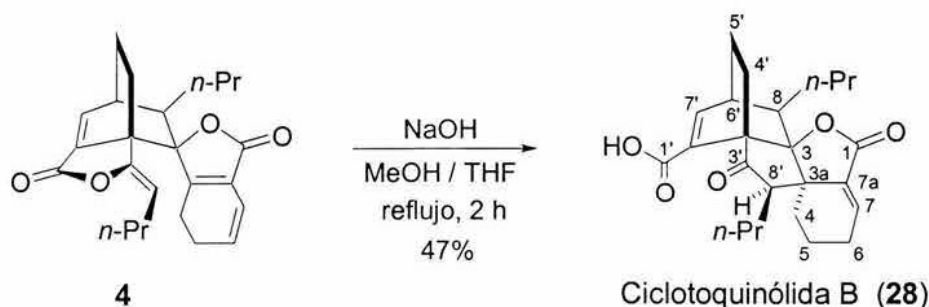
Objetivos Específicos

Objetivo Específico (a). Estudiar y optimizar la reacción de dimerización de Z-ligustílida (1) (Esquema 4).⁴⁶



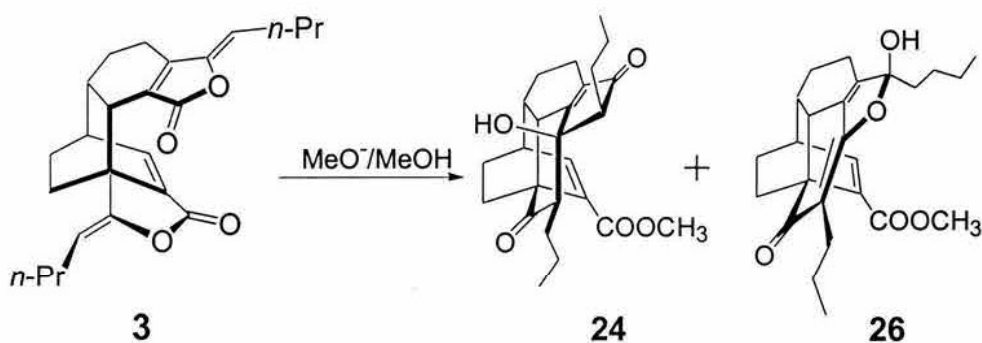
Esquema 4. Síntesis por relevo de diligustílida (3) a partir de 1.

Objetivo Específico (b). Optimizar las condiciones de reacción para la obtención de los productos de ciclación derivados de la condensación aldólica intramolecular de toquinólida B (4) en medio básico (Esquema 7).⁵²



Esquema 15. Condensación intramolecular de toquinólida B (4) en medio básico.

Objetivo Específico (c). Estudio de la condensación aldólica intramolecular de diligustílida (3), separación y caracterización de los productos 24 y 26 (mezcla de cristales,⁵⁰ Esquema 12').

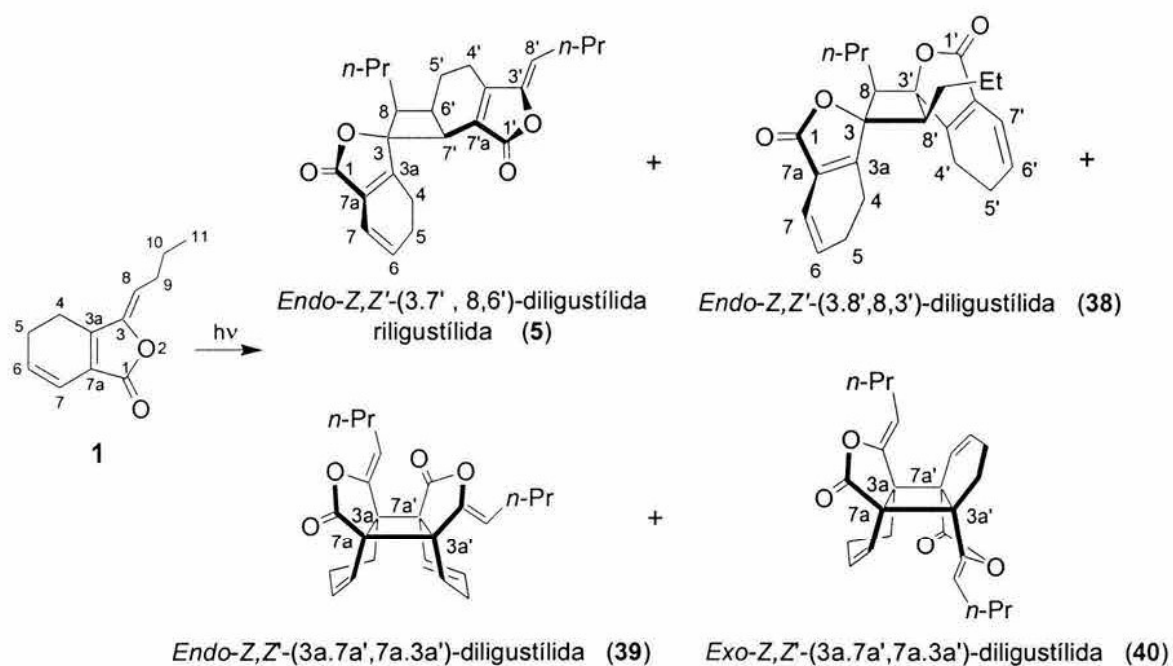


Esquema 12'. Condensación intramolecular de diligustílida (3) catalizada por base.

Objetivo Específico (d). Explorar las reacciones catalizadas por ácidos de las ftálicas diméricas diligustílida (3) y toquinólida B (4), para evaluar la posibilidad de condensaciones intramoleculares.

Objetivo Específico (e). Resolver la mezcla racémica de las ftálicas diméricas diligustílida (3) y toquinólida B (4), y determinar la configuración absoluta de cada enantiómero.

Objetivo Específico (f). Analizar los resultados obtenidos en la formación de fotociclodímeros de Z-ligustílida (1) (Esquema 21).⁵⁴



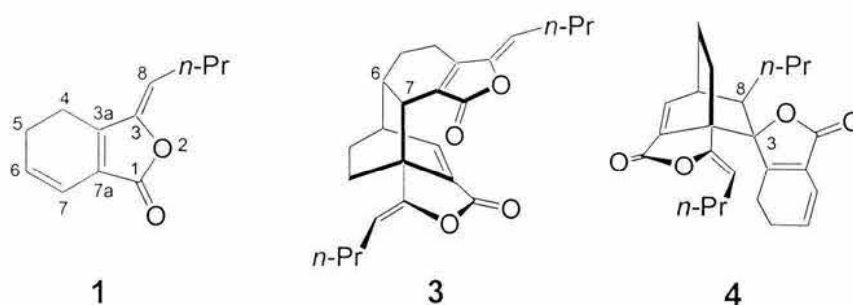
Esquema 21. Fotociclodímeros obtenidos a partir de cicloadiciones $[\pi 2s + \pi 2s]$ de 1.

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Discusión de Resultados

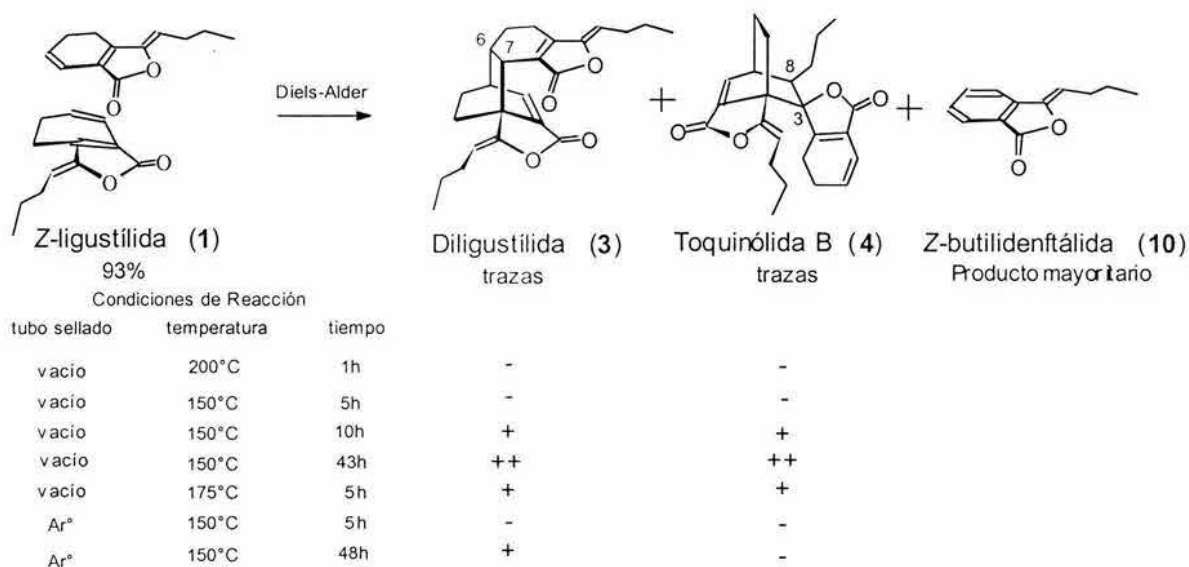
1. Reacción de dimerización de Z-ligustilida (1).

Las ftálicas diméricas diligustilida (3) y toquinólida B (4), aisladas del extracto acetónico de *L. porteri*, pueden considerarse como cicloaductos derivados de una reacción de cicloadición Diels-Alder [$\pi 4s + \pi 2s$] de dos unidades de Z-ligustilida (1), en la que el dieno conjugado de una molécula reacciona con la ligadura doble C6-C7 de otra, para el caso de 3, o con la ligadura doble C3-C8 de otra, para el caso de 4.



Se realizaron varios intentos para formar los dímeros diligustilida (3) y toquinólida B (4) (Esquema 22). Como materia prima se utilizó la Z-ligustilida (1) aislada de *L. porteri* y recién purificada debido a su inestabilidad, tiende a convertirse en la Z-butilidenftálica (10).

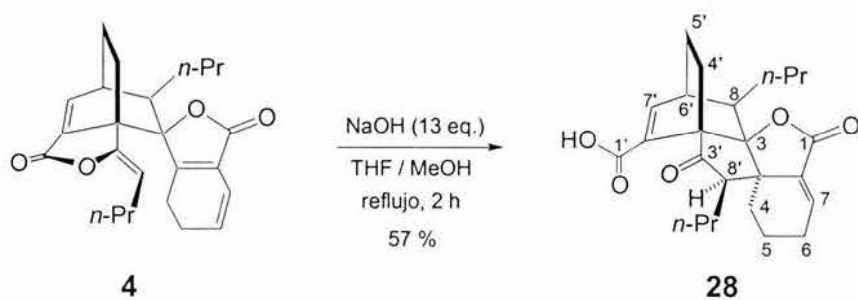
Para la reacción de dimerización de la Z-ligustilida (1) se probaron diversas condiciones de reacción. El tratamiento térmico de la muestra en tubo sellado al vacío o bajo atmósfera de argón, se llevó a cabo variando la temperatura así como el tiempo de calentamiento en cada experimento. El análisis comparativo por medio de cromatografía en capa fina (ccf) del crudo de cada reacción con muestras auténticas de diligustilida (3) y toquinólida B (4), al igual que su análisis por resonancia magnética nuclear de hidrógeno, permitió identificar, en la mayoría de los casos, la formación de “trazas” de los dímeros 3 y 4 (Esquema 22); sin embargo, no fue posible mejorar los resultados informados en la literatura.^{46,51} Debido a los resultados poco promisorios, se decidió no continuar la experimentación de esta reacción.



Esquema 22. Intentos por formar los dímeros **3** y **4** a partir de la Z-ligustilida (**1**).

2. Reacción de condensación intramolecular de toquinólida B (**4**) en medio básico.

El tratamiento de toquinólida B (**4**) con NaOH en THF/MeOH a reflujo, bajo atmósfera de nitrógeno por dos horas, permitió el aislamiento de un producto más polar, en forma de un sólido blanco muy fino, que por comparación por ccf con referencias caracterizadas con anterioridad,⁵² correspondió a la ciclotoquinólida B (**28**, Esquema 23) en un rendimiento mejor al reportado anteriormente (Esquema 15),⁵² y cuyas constantes espectroscópicas (Espectros 8 a 11) correspondieron con las del estándar. El producto obtenido se analizó por espectrometría de masas de alta resolución (EMAR) y la técnica FAB⁺; obteniéndose una diferencia aceptable ($\Delta m/z$: 0.0022) entre el ion molecular observado m/z : 399.2193 [MH⁺], y el ion molecular calculado para C₂₄H₃₀O₅ +H⁺ m/z : 399.2171 [MH⁺].



Esquema 23. Obtención de ciclotoquinólida B (**28**)

La estructura y estereoquímica del compuesto **28** fue confirmada por análisis de rayos X. (Figura 1)

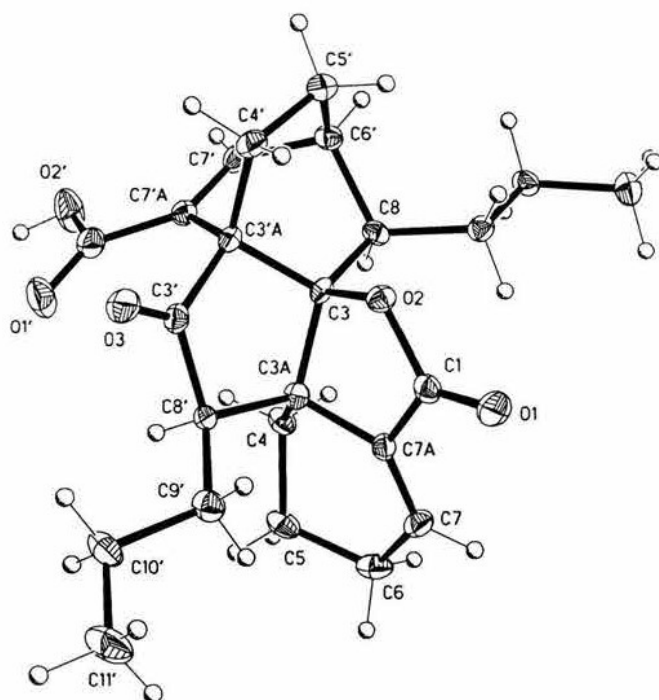
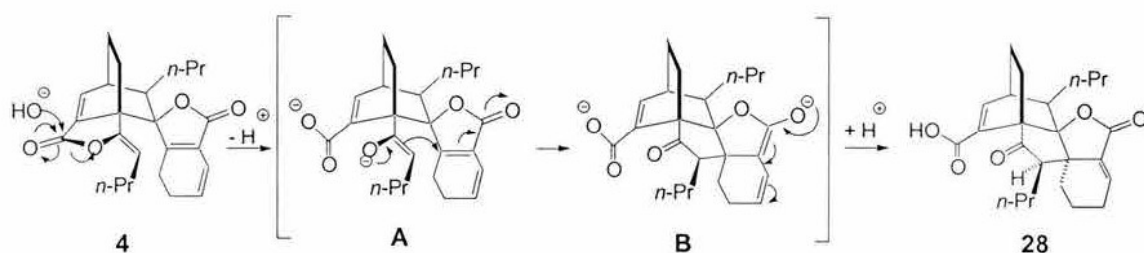


Figura 1. Estructura molecular por rayos X de **28**.

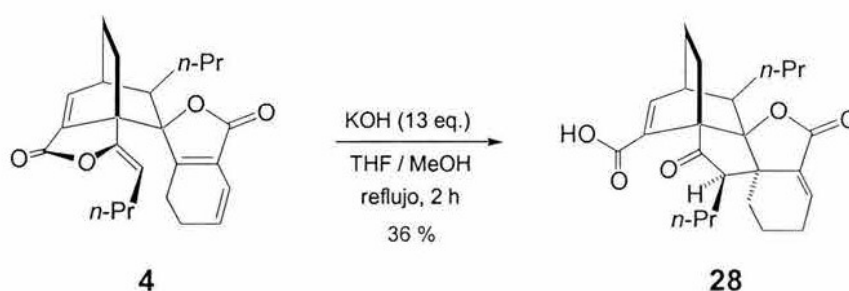
La transformación de toquinólida B (**4**) a ciclotoquinólida B (**28**) puede explicarse como se describe en el Esquema 24, por el ataque nucleofílico quimioselectivo del ion hidróxido al carbonilo de la enol- γ -lactona, originando el enolato **A**. Aunque es sabido que

esta entidad nucleofílica **A**, puede seguir diferentes rutas de reacción (C- y O- alquilación; o C- y O- acilación), en este caso, la adición de Michael del carbanión a la enona (una ciclación favorecida 5-exo-trigonal⁵⁵) produce el intermediario **B** y la subsecuente equilibración da lugar al compuesto **28**.

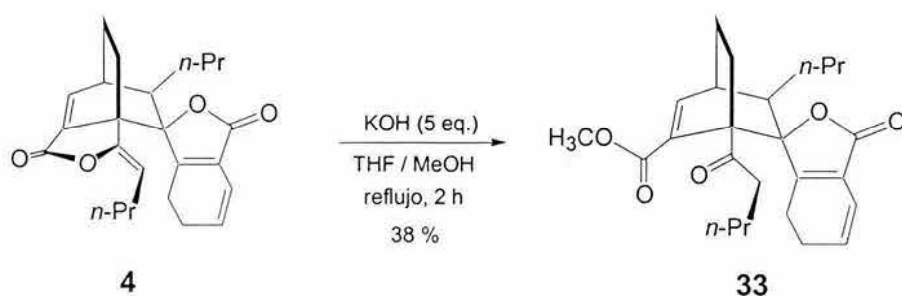


Esquema 24. Mecanismo propuesto para la formación de ciclotoquinólida B (**28**).

El cambio de la base por KOH bajo las mismas condiciones de reacción (THF/MeOH a reflujo) dio como resultado la ciclotoquinólida B (**28**) pero en un menor rendimiento (36%, Esquema 25). Sin embargo, al utilizar menor cantidad de base no hubo formación del producto **28**, aislándose un producto ligeramente menos polar que la materia prima y que por análisis de resonancia magnética nuclear se logró identificar como el ceto éster **33**, caracterizado previamente,⁵² y el cual se obtuvo en un 38% de rendimiento (Esquema 26).

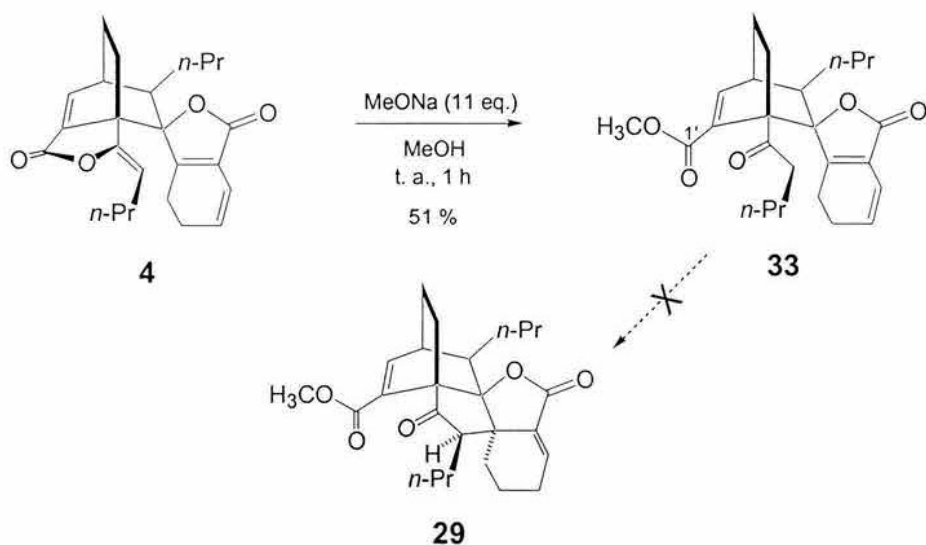


Esquema 25. Obtención de **28** por tratamiento de toquinólida B (**4**) con KOH.



Esquema 26. Obtención del ceto éster **33**.

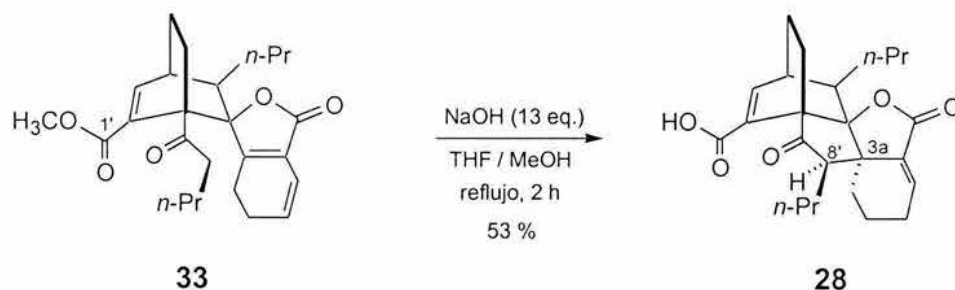
Por otro lado, el tratamiento de toquinólida B (**4**) con metóxido de sodio en MeOH a temperatura ambiente, produjo el ceto éster correspondiente **33**, el cual, sin embargo, no formó el producto de ciclación (**29**, Esquema 27); al elevar la temperatura de la mezcla de reacción se obtuvo una mezcla compleja de productos de descomposición.



Esquema 27. Metanólisis de toquinólida B (**4**). Obtención del ceto éster **33**.

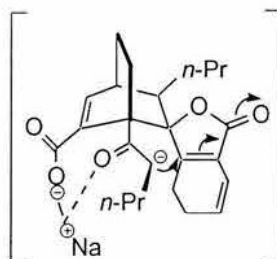
De lo anterior se deduce que la presencia del ácido carboxílico C(1') es necesaria para que se lleve a cabo la reacción de ciclación. Prueba de este requerimiento es que cuando el ceto éster **33** se somete a las mismas condiciones de reacción utilizadas para la ciclación de toquinólida B (**4**, Esquema 23), la ciclotoquinólida B (**28**) se obtiene en un

rendimiento similar (Esquema 28), debido a la hidrólisis inicial del éster metílico en C(1') y posterior formación del enlace C(8')-C(3a).



Esquema 28. Obtención de ciclotoquinólida B (**28**) a partir del ceto éster **33**.

Dicha observación podría explicarse mediante una complejación favorable del carboxilato y el enolato (intermediario **A**, Esquema 24) con el catión Na^+ lo cual favorece la formación del enlace σ C(3a)-C(8') como se puede apreciar en el Esquema 29. Al parecer, un catión de mayor tamaño como el K^+ no favorece la formación del complejo y esto se refleja en un menor rendimiento del producto de ciclación **28** al tratar la toquinólida B (**4**) con KOH (Esquema 25), con respecto al tratamiento de **4** con NaOH (Esquema 23).

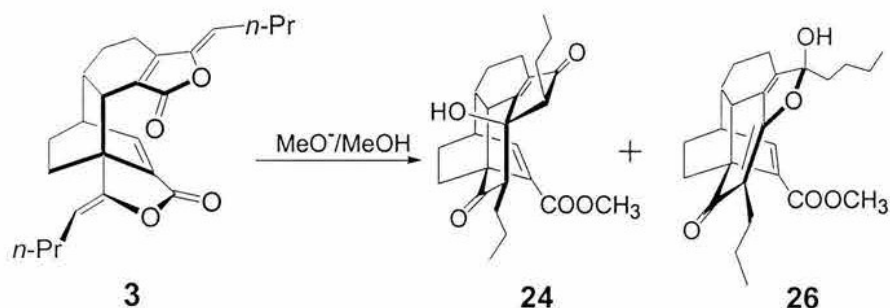


Esquema 29. Complejación favorable de los iones carboxilato y enolato con el catión Na^+ en la formación del producto de ciclación **28**.

Los resultados obtenidos se integraron en un manuscrito intitulado "Base-Catalyzed Intramolecular Condensation of Tokinolide B", el cual fue publicado en *Tetrahedron Letters*.⁵⁶

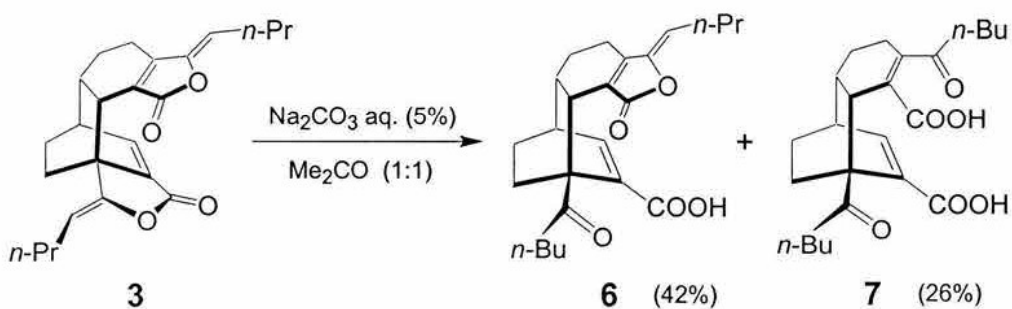
3. Estudio de la condensación intramolecular de diligustílida (3) en medio básico.

Como se mencionó anteriormente, hace algunos años se informó que el tratamiento con base de la ftálica dimérica diligustílida (3) originó la mezcla cristalina de los compuestos 24 y 26 (Esquema 12'), la cual fue analizada por cristalografía de rayos X.⁵⁰



Esquema 12'. Condensación intramolecular de diligustílida (3) catalizada por base.

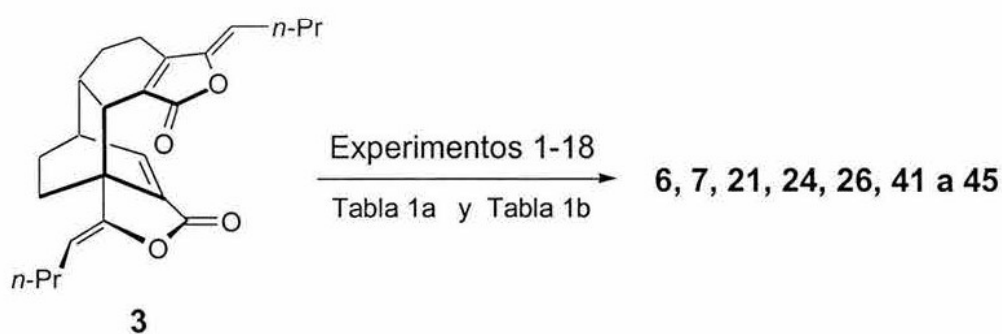
Así mismo, la hidrólisis de 3 en medio básico, produjo una mezcla de desmetilwallichílida (6) y el diceto diácido 7 (Esquema 9'), en una proporción de 1.6:1 respectivamente.⁴⁶



Esquema 9'. Hidrólisis de diligustílida (3) en medio básico.

En este contexto nuestro interés fue el de encontrar mejores condiciones para obtener los productos de condensación intramolecular **24** y **26** en forma separada, además de los productos de hidrólisis **6** y **7** en buen rendimiento. Con tal motivo, se llevaron a cabo diversos experimentos en diferentes condiciones de reacción y los resultados se describen a continuación.

La obtención del producto de condensación intramolecular **24** a partir de **3** en buen rendimiento (92%), ya había sido reportada previamente.⁵⁰ Después de un análisis minucioso del procedimiento, se decidió modificar las condiciones de reacción, encontrándose que 3.8 equivalentes de metanol eran suficientes y que condiciones anhidras eran necesarias para obtener el producto de condensación intramolecular **24**, en un rendimiento del 94 % (Esquema 30, Experimento 1, Tabla 1a). Además, el producto **24** se obtuvo como un sólido blanco, a diferencia de lo informado anteriormente (aceite amarillo),⁵⁰ y su recristalización de acetato de etilo/*n*-hexano originó cristales incoloros, cuyo análisis por difracción de rayos X (Figura 2) confirmó la estructura del producto de condensación intramolecular **24**. El análisis de los datos espectroscópicos de **24** permitió la asignación inequívoca de las señales (Espectros 15 a 18), confirmando la elucidación de la estructura **24** informada previamente.⁵⁰



Esquema 30. Tratamiento de diligustílida (**3**) en medio básico bajo diferentes condiciones de reacción.

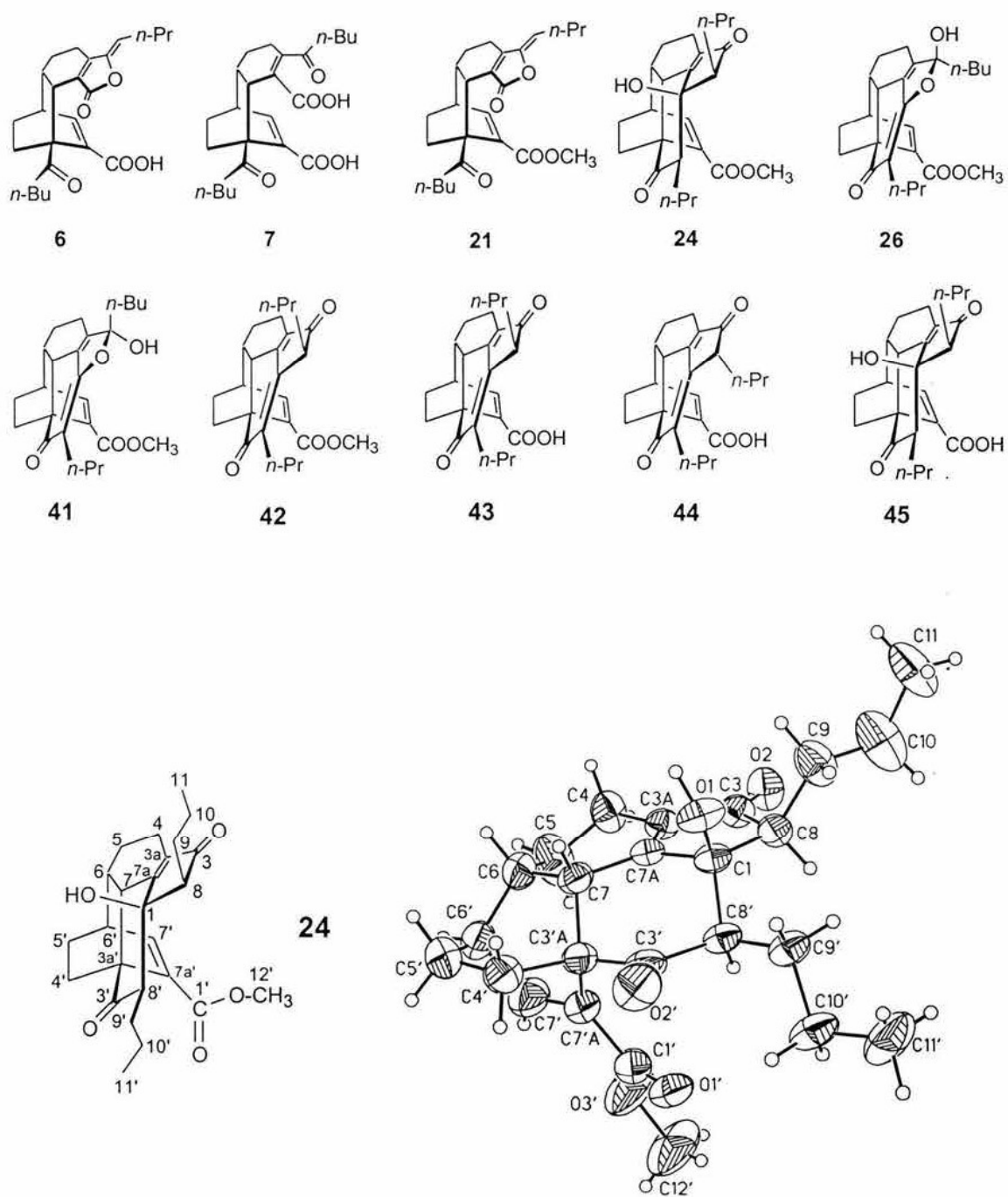

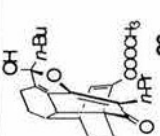
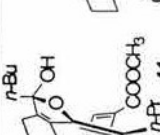
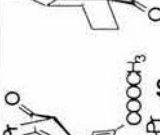

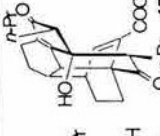
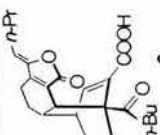
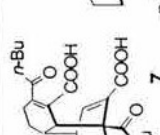
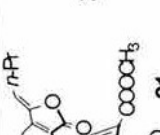



Figura 2. Estructura molecular por rayos X de 24.

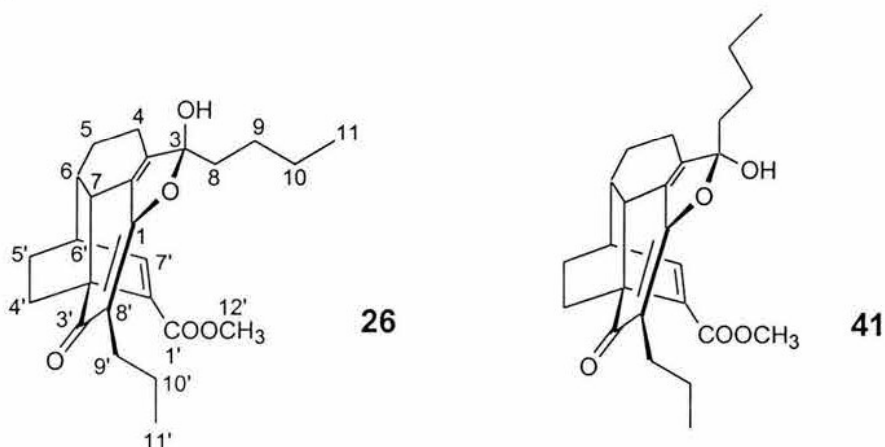
Tabla 1a. Tratamiento catalizado por base de la ftálica dimérica natural diligustilida (3)

exp	Condiciones de reacción	24	26	41	42	43	44	45	6	7	21
1	NaOH (2.3 eq.) MeOH anh. (3.8 eq.) THF anh. reflujo, 2 h	94 %	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2	Na ₂ CO ₃ (8.9 eq.) Acetona / MeOH / H ₂ O (12 : 1 : 10) reflujo, 3 h	65 %	—	—	—	—	—	—	9 %	10 %	—
3	Na ₂ CO ₃ (6 eq.) THF / MeOH / H ₂ O (5 : 1 : 5) reflujo, 30 min.	69 %	—	—	—	—	—	—	8 %	7 %	6 %
4	Na ₂ CO ₃ (12 eq.) MeOH / H ₂ O (10 : 1) reflujo, 1 h	13 %	31 %	—	—	—	—	—	—	—	31 %
5	Na ₂ CO ₃ (6 eq.) MeOH / H ₂ O (1 : 1) reflujo, 30 min.	10 %	55 %	—	—	—	—	—	—	—	32 %
6	Na ₂ CO ₃ (12 eq.) MeOH / H ₂ O (2 : 1) reflujo, 3.5 h	14 %	57 %	—	—	—	—	—	—	—	—
7	Na ₂ CO ₃ (12 eq.) MeOH / H ₂ O (1 : 1) reflujo, 3.5 h	3 %	59 %	4 %	11 %	11 %	11 %	—	—	3 %	—

Tabla 1b. Tratamiento catalizado por base de la fálida dimérica natural diligustilida (3)

exp	Condiciones de reacción											3
8	Na ₂ CO ₃ (3.7 eq.) Acetona / H ₂ O (1 : 1) reflujo, 3.5 h	-	-	-	-	-	-	45 %	18 %	-	-	-
9	Na ₂ CO ₃ (1.5 eq.) Acetona / H ₂ O (2.5 : 1) reflujo, 3.5 h	-	-	-	-	-	-	40 %	36 %	-	-	14 %
10	Na ₂ CO ₃ (6 eq.) Acetona / H ₂ O (1 : 1) reflujo, 3.5 h	-	-	-	-	-	-	28 %	66 %	-	-	-
11	Na ₂ CO ₃ (12 eq.) Acetona / H ₂ O (1 : 1) reflujo, 8 h	-	-	-	-	-	-	17 %	68 %	-	-	-
12	Na ₂ CO ₃ (6 eq.) THF / H ₂ O (1 : 1) reflujo, 3.5 h	-	-	-	-	-	-	23 %	12 %	-	-	56 %
13	NaOH (12 eq.) Acetona / H ₂ O (1 : 1) reflujo, 4 h	-	-	-	-	13 %	20 %	-	59 %	-	-	-
14	NaOH (2.6 eq.) Acetona / H ₂ O (1 : 1) reflujo, 1 h	-	-	-	-	17 %	22 %	-	52 %	-	-	-
15	NaOH (2.7 eq.) Acetona / H ₂ O (1 : 1) t a, 2 h	-	-	-	-	-	-	32 %	36 %	-	-	-
16	NaOH (2.7 eq.) Acetona / H ₂ O (1 : 1) t a, 10 h	-	-	-	-	-	-	19 %	35 %	-	-	-
17	NaOH (2.9 eq.) THF / H ₂ O (1 : 1) t a, 2 h	-	-	-	-	-	-	21 %	48 %	-	-	-
18	NaOH (3.0 eq.) THF / H ₂ O (1 : 1) reflujo, 30 min.	-	-	-	-	-	-	-	33 %	-	-	-

Por otro lado, se trató de obtener el compuesto **26** puro, ya que como se mencionó anteriormente, había sido identificado en una mezcla cristalina con **24** (Experimento 2, Tabla 1a).⁵⁰ Para tal propósito, se llevaron a cabo diferentes experimentos, tomando en cuenta que la presencia de agua en la mezcla de reacción permite la formación del producto de condensación intramolecular **26** (Experimentos 1 y 2, Tabla 1a). Sin embargo, el uso de un disolvente menos polar como tetrahidrofurano, en la mezcla de reacción, inhibe la formación de **26** aún en presencia de agua (Experimentos 1 y 3, Tabla 1a). Considerando lo anterior, se realizaron una serie de experimentos utilizando metanol y agua como mezcla de disolventes en la reacción y se encontró que al aumentar la proporción de agua en la mezcla de reacción se favorece la formación del producto **26**, con respecto al producto **24**, aunque en todos los casos, el epímero de **26** (**41**) es obtenido. Mientras que el compuesto **24** fue separado de la mezcla epimérica de **26** y **41** por cromatografía en columna, utilizando diclorometano/acetonitrilo como sistema de elusión, no fue posible separar la mezcla de **26** y **41** (Esquema 31, Experimentos 4 a 7, Tabla 1a). Sin embargo, cuando la mezcla epimérica fue recrystalizada de acetato de etilo/*n*-hexano, solo cristalizó el epímero con el grupo hidroxilo en la posición β (**26**). Al mismo tiempo, el espectro de resonancia magnética nuclear de protón (RMN ¹H, Espectro 24) de una muestra de dichos cristales recién analizados por cristalografía de rayos-X (Figura 3), mostró la presencia del epímero **26** únicamente y permitió distinguir las constantes espectroscópicas de los epímeros **26** y **41** en la mezcla de ambos (Espectros 23, 25 a 27).



Esquema 31. Mezcla epimérica de los productos de condensación **26** y **41**.

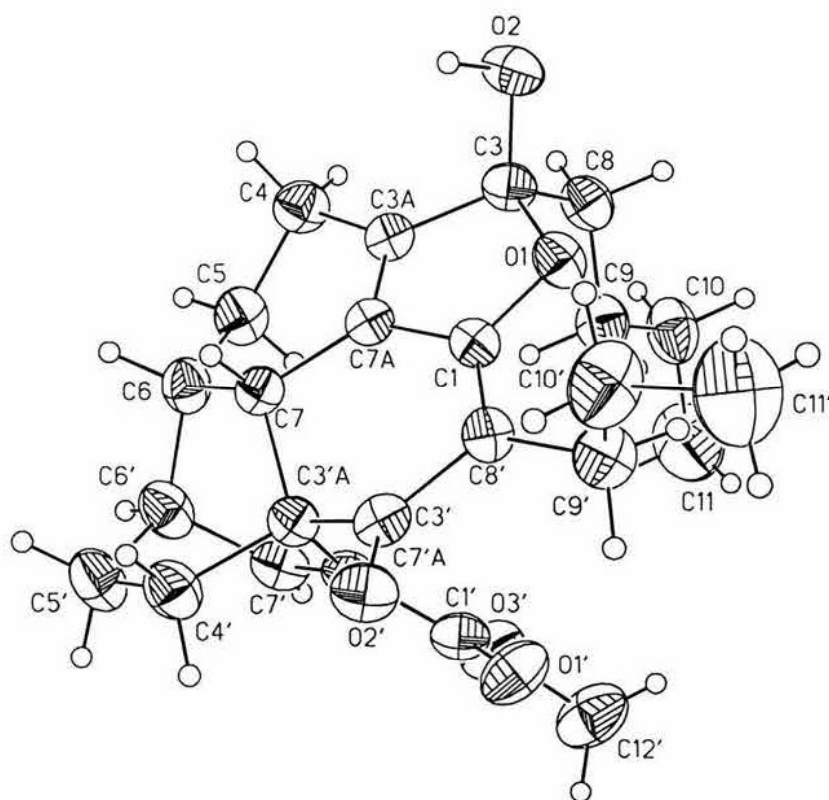
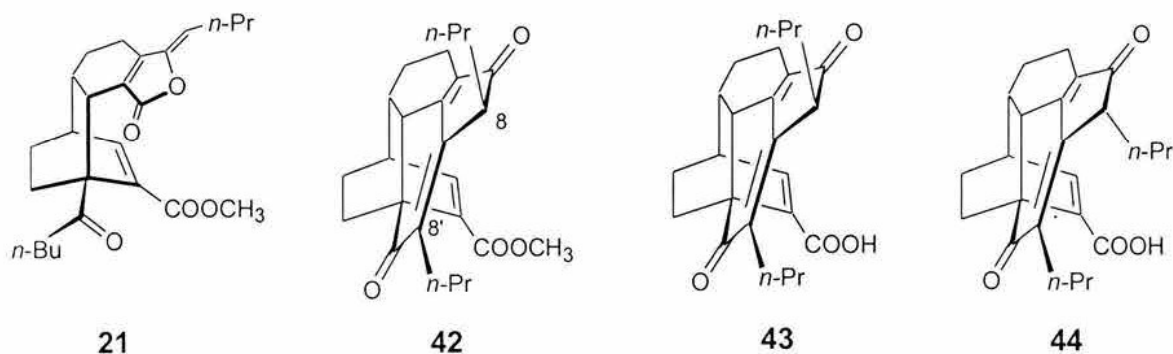


Figura 3. Estructura molecular por rayos X de **26**.

Además, los experimentos llevados a cabo dieron evidencia que un tiempo corto de reacción (Experimentos 4 y 5, Tabla 1a) produce la metanólisis de la materia prima (**3**), obteniéndose wallichílida (**21**)⁴⁶ y un menor rendimiento de los productos de condensación intramolecular, con respecto a tiempos más largos de reacción (Experimentos 6 y 7, Tabla 1a). Así mismo, el análisis de los datos espectroscópicos de los productos minoritarios en el experimento 7 (Tabla 1a), permitió la elucidación de tres estructuras adicionales que correspondieron a los productos de condensación intramolecular **42**, **43** y **44**, los cuales no habían sido reportados con anterioridad.



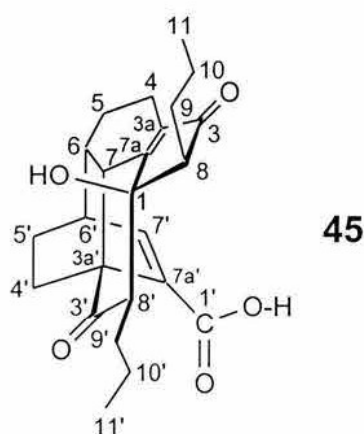
La fórmula molecular de **42** ($C_{25}H_{30}O_4$, establecida por EMAR), indicó la pérdida de agua con respecto al producto de condensación intramolecular **24** ($C_{25}H_{32}O_5$). El espectro de resonancia magnética nuclear de carbono trece (RMN ^{13}C) en la modalidad DEPT para el compuesto **42** (Espectro 30) mostró cinco metinos, y la principal diferencia con el espectro RMN ^{13}C DEPT del compuesto **24** (Espectro 17) es la desaparición de la señal de RMN ^{13}C asignada al metino C(8') en **24** (Espectro 16, desplazamiento químico en el espectro de RMN ^{13}C : δ_c 54.1). Además, el espectro de RMN ^{13}C de **42** (Espectro 29) mostró un carbono cuaternario adicional (δ_c 147.0) con respecto a **24** (Espectro 16), asignado a C(8'). Más aún, los espectros de RMN 1H de ambos compuestos **24** y **42** (Espectros 15 y 28 respectivamente) mostraron el desplazamiento químico a campo bajo del metino C(8) de δ_H 2.50 en **24** a δ_H 3.14 en **42**, como resultado del doble enlace generado por la deshidratación de **24**.

En relación al compuesto **43**, su espectro de RMN 1H (Espectro 31) no mostró la señal asignada al grupo metoxilo (singulete en δ_H 3.59) en **42** (Espectro 28), y la fórmula molecular para **43** ($C_{24}H_{28}O_4$, establecida por EMAR) corresponde a la estructura del ácido. Finalmente, los datos espectroscópicos del epímero de **43** (**44**) difieren solamente por el desplazamiento químico del protón H(8) (δ_H 3.13 en **43** y δ_H 3.07 en **44**, Espectros 31 y 34 respectivamente) debido a que el grupo carboxilo en **43** ejerce un efecto de desprotección sobre el protón H(8), desplazándolo a campo bajo, mientras que en el epímero **44** el efecto de desprotección del grupo carboxilo no es evidente, debido a que la distancia con el protón H(8) es mayor.

En adición, el tratamiento de diligustilida (**3**) bajo condiciones de hidrólisis produjo la desmetilwallichilida (**6**) y el diceto diácido **7**, favorecidos en una mezcla de acetona/agua (Experimentos 8 a 12, Tabla1b). Presumiblemente la formación de ambos

compuestos **6** y **7** es debida a velocidades de reacción comparables en el ataque nucleofílico sobre ambos grupos carbonilo de la materia prima (**3**). No obstante, los productos de condensación intramolecular no fueron detectados. Es presumible que la ausencia de metanol en la mezcla de reacción no favorezca la condensación intramolecular de diligustilida (**3**). Sin embargo, durante la experimentación para optimizar el rendimiento del diceto diácido **7**, el uso de una base más fuerte que Na_2CO_3 (NaOH , Experimentos 13 y 14, Tabla 1b) dio lugar a los epímeros **43** y **44**, producidos por la condensación intramolecular de **3**, además del compuesto **7**. Condiciones de reacción menos drásticas (a temperatura ambiente) produjeron otro producto de condensación intramolecular novedoso (**45**), junto con **7** (Experimentos 15 y 16, Tabla 1b).

El espectro de RMN ^1H de **45** (Espectro 38) resultó ser muy similar al del compuesto **24** (Espectro 15), la principal diferencia fue la ausencia de la señal sencilla en δ_{H} 3.64 asignada al grupo metoxilo del éster **24**, además que la fórmula molecular para **45** ($\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{O}_5$, establecida por EMAR) correlaciona con la estructura del ácido. El producto **45** fue recristalizado de acetonitrilo y el análisis de rayos X de los cristales obtenidos confirmó la estructura (Figura 4). Con la finalidad de evitar la condensación del disolvente en un medio fuertemente básico, se utilizó tetrahidrofurano en lugar de acetona. Sin embargo, el rendimiento del diceto diácido **7** no mejoró notablemente, aún bajo reflujo, donde el compuesto **45** se transformó en una serie de productos no caracterizados (Experimentos 17 y 18, Tabla 1b). El tratamiento de **7** con NaOH en tetrahidrofurano/agua por cuatro horas a temperatura ambiente no produjo ningún producto de condensación intramolecular y la materia prima fue recuperada.



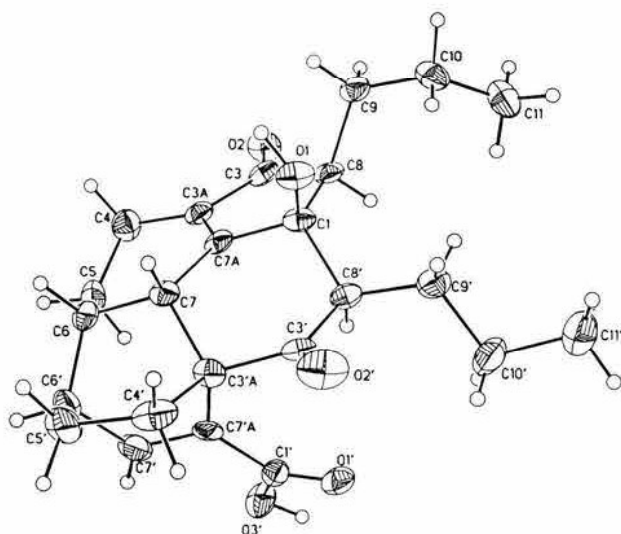
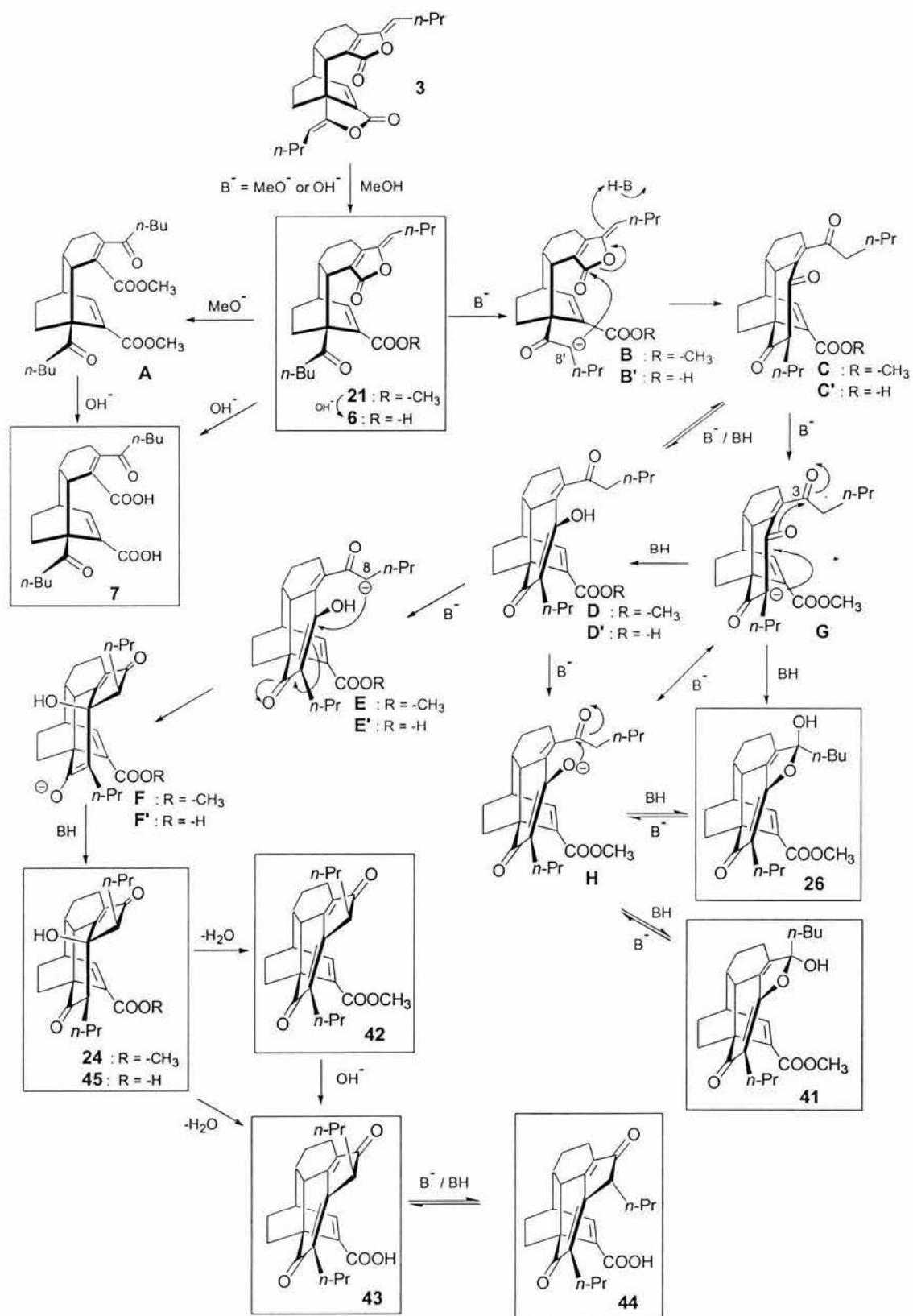


Figura 4. Estructura molecular por rayos X de **45**.

Desde el punto de vista mecanístico, la wallichílida (**21**) se forma por metanólisis de diligustílida (**3**, Esquema 32) la cual podría reaccionar ya sea con otra molécula de metóxido dando un intermediario diceto diéster (**A**) e hidrólisis de ambos compuestos darían lugar a los ácidos desmetilwallichílida (**6**) y el diceto diácido **7** respectivamente, o **21** puede experimentar una reacción intramolecular tipo aldólica, por desprotonación del metileno ácido en C(8') (intermediario **B**) y apertura de la lactona por adición al carbonilo para producir los intermediarios tautoméricos **C** y **D**, los cuales, a su vez, podrían reaccionar para dar **24** vía una adición tipo Michael del carbanión en C(8) y equilibración (intermediarios **E** y **F**, Esquema 32). La deshidratación de **24** produce **42** y la hidrólisis de éste último genera los epímeros **43** y **44**. La formación del éter de enol **26** y su epímero **41** puede ser racionalizada por la adición del enolato a la cetona en C(3) (intermediarios **G** o **H**, Esquema 32).

Cuando la reacción se lleva a cabo en ausencia de metanol se logra la hidrólisis de diligustílida (**3**, Esquema 32) y la desmetilwallichílida (**6**) es formada. Un exceso de base podría abrir la otra lactona dando lugar al diceto diácido **7**. Por el contrario, el uso de una base fuerte promueve la condensación intramolecular de **6** a través de los intermediarios **B'** a **F'** para producir **45** y los epímeros **43** y **44** por deshidratación del primero.



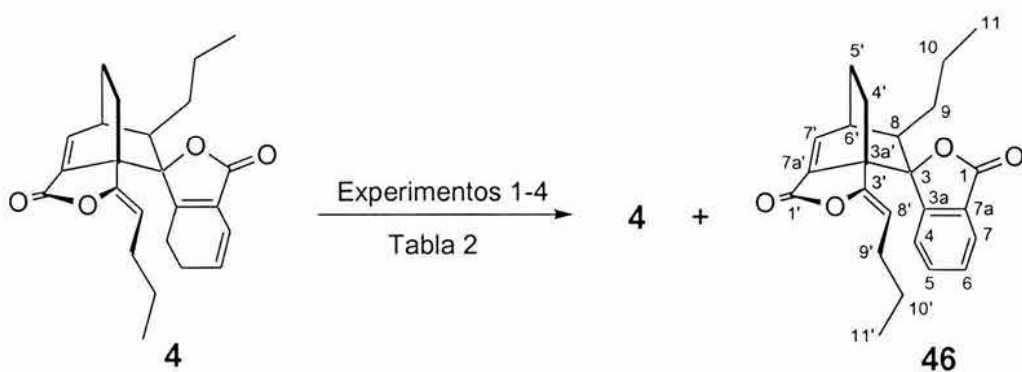
Esquema 32. Mecanismo propuesto en la reacción catalizada por base de diligustilida (3).

Los resultados obtenidos se integraron en un manuscrito intitulado "Transformations of the Natural Dimeric Phthalide Diligustilide", el cual fue publicado en *Tetrahedron*.⁵⁷

4. Estudio de las reacciones catalizadas por ácidos de las ftálicas diméricas diligustílida (3) y toquinólida B (4), para evaluar la posibilidad de condensaciones intramoleculares.

Previamente, fue informado que el tratamiento ácido de Z-ligustílida (1), genera una mezcla compleja de ftálicas diméricas lineales (compuestos 11 a 14),⁴⁸ permitiendo la formación de enlaces carbono-carbono (Esquemas 5 a 8). Debido a que las condensaciones intramoleculares observadas con los dímeros diligustílida (3) y toquinólida B (4) (Esquemas 24 y 32), también pueden ser catalizadas por ácidos, se llevaron a cabo varios experimentos dirigidos a obtener productos de condensación similares bajo condiciones ácidas (Esquema 33, Tabla 2). Sin embargo, la reacción de toquinólida B (4) con pTsOH/C₆H₆, HClO₄/THF, Et₂OBF₃/CH₂Cl₂ y TiCl₄/CH₂Cl₂ no mostró ningún producto de condensación y además de la materia prima recuperada, el único compuesto aislado fue un producto ligeramente menos polar a la materia prima (4), que se logró identificar como el compuesto aromático 4,5-dehidrotoquinólida B (46), por comparación de sus datos espectroscópicos con los de 4. La principal diferencia observada en el espectro de RMN ¹H del compuesto obtenido 46 (Espectro 42), fue la presencia de protones aromáticos, además del desplazamiento a campo bajo de las señales asignadas a los hidrógenos H(7) y H(6) δ_{H-7} 6.17 y δ_{H-6} 5.92 en 4 (Espectro 5) a δ_{H-7} 7.80 y δ_{H-6} 7.48 en 46 (Espectro 42) respectivamente. Por otro lado, el espectro RMN ¹³C DEPT del producto 46 (Espectro 44) mostró seis metinos, dos más con respecto que los de la materia prima (4, Espectro 7) además de la desaparición de las señales asignadas a los metilenos C(5) y C(4) δ_{C-5} 22.56 y δ_{C-4} 21.02 en 4 (Espectro 6) respectivamente.

El análisis cristalográfico del producto 46, sólido cristalino blanco, permitió confirmar la estructura del compuesto aromático (Figura 5).



Esquema 33. Reacción de toquinólida B (**4**) catalizada por ácidos.

Tabla 2. Tratamiento de toquinólida B (**4**) en medio ácido

exp.	condiciones de reacción	4	46
1	pTsOH (15 eq.), C ₆ H ₆ , N ₂ reflujo, 2 h	25 %	17 %
2	HClO ₄ al 70 %, THF, N ₂ reflujo, 2 h	4 %	11 %
3	TiCl ₄ (36 eq.), CH ₂ Cl ₂ , N ₂ reflujo, 4 d	32 %	11 %
4	Et ₂ OBF ₃ (38 eq.), CH ₂ Cl ₂ , N ₂ reflujo, 7 h	53 %	5 %

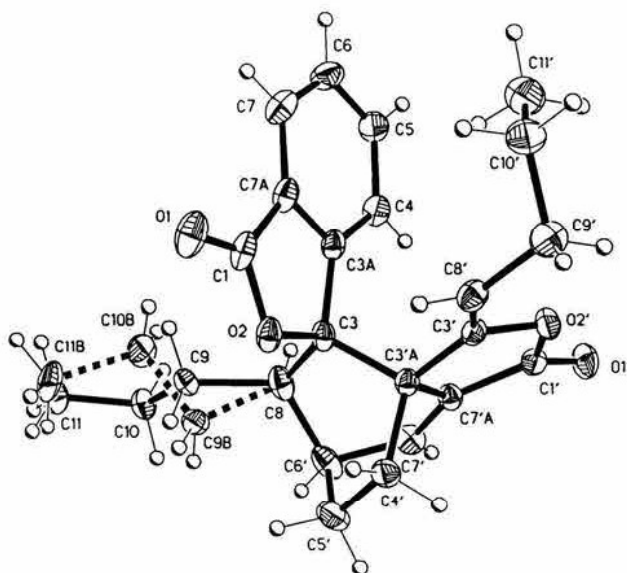
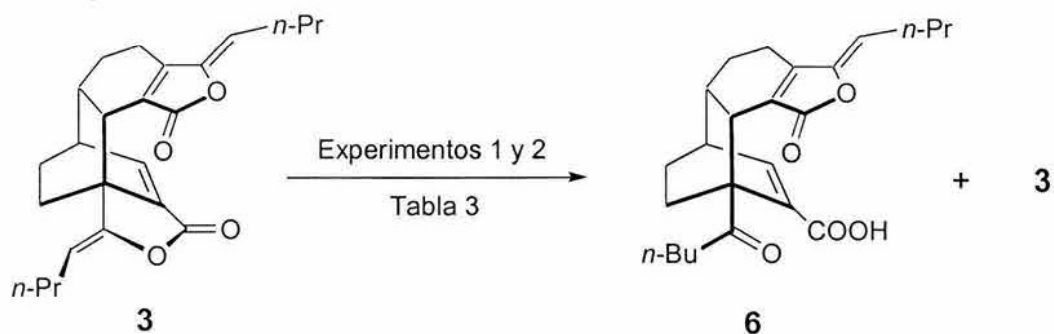


Figura 5. Estructura molecular por rayos X de **46**.

En forma similar, el tratamiento de diligustílida (**3**) bajo las mismas condiciones ácidas no mostró ninguna condensación intramolecular, pero en éste caso la reacción de diligustílida (**3**) con $\text{Et}_2\text{OBF}_3/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ dio como resultado la formación de desmetilwallichílida (**6**) como producto principal, recuperándose materia prima en mayor o menor cantidad dependiendo de las condiciones de reacción (Esquema 34, Tabla 3).



Esquema 34. Obtención de desmetilwallichílida (**6**) por tratamiento de **3** en medio ácido.

Tabla 3. Tratamiento de diligustílida (**3**) en medio ácido

exp.	condiciones de reacción	6	3
1	Et_2OBF_3 (12 eq.), CH_2Cl_2 , N_2 t. a., 45 h	87 %	4 %
2	Et_2OBF_3 (12 eq.), CH_2Cl_2 , N_2 reflujo, 5 h	55 %	38 %

Con el experimento 1 (Tabla 3) se tiene un mejor método de obtener la desmetilwallichílida (**6**) en un buen rendimiento y sin la formación del diceto diácido **7**.

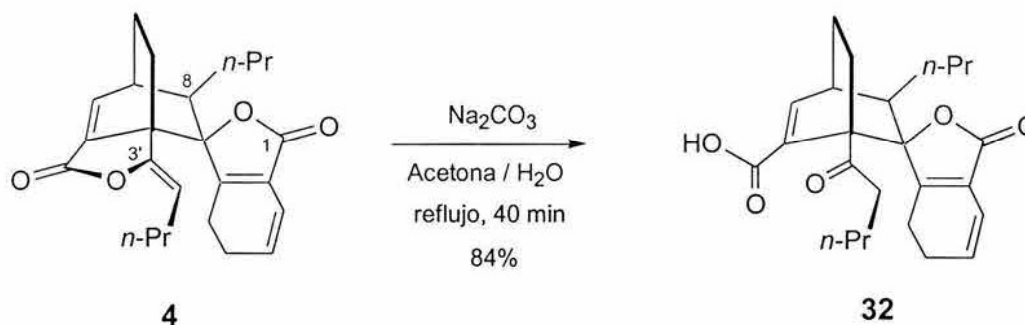
Los resultados anteriores dan evidencia de que las reacciones catalizadas por ácidos de las ftálidas diméricas diligustílida (**3**) y toquinólida B (**4**) no producen derivados de condensaciones inter- o intramoleculares.

5. Experimentación en la resolución de las mezclas racémicas de las ftálicas diméricas diligustílida (3) y toquinólida B (4).

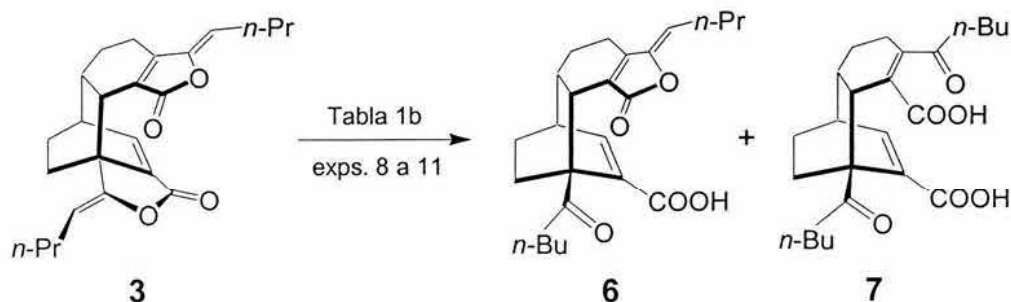
Como se indicó en la introducción, las ftálicas diméricas 3 y 4 han sido aisladas de la planta medicinal *L. porteri* en forma de mezclas racémicas.

Con la finalidad de llevar a cabo la separación de dichas mezclas, se pensó en formar las sales diastereoisoméricas de ambos enantiómeros y de esta manera poder separarlos por métodos convencionales.⁵⁸ Para ello fue necesario llevar a cabo la hidrólisis de ambos dímeros 3 y 4 para obtener los ceto ácidos correspondientes.

La hidrólisis de toquinólida B (4) con Na₂CO₃ en una mezcla de acetona/agua (1:1), produjo el ceto ácido 32 (Esquema 35),⁵⁶ en un mejor rendimiento al informado anteriormente⁵² (Esquema 18). La γ -enol lactona en la toquinólida B (4) se hidroliza más fácilmente en comparación con la γ -enol lactona en la diligustílida (3), ya que bajo las mismas condiciones, la diligustílida (3) produce la desmetilwallichílida (6) y el diceto diácido 7 en bajos rendimientos (Esquema 36).



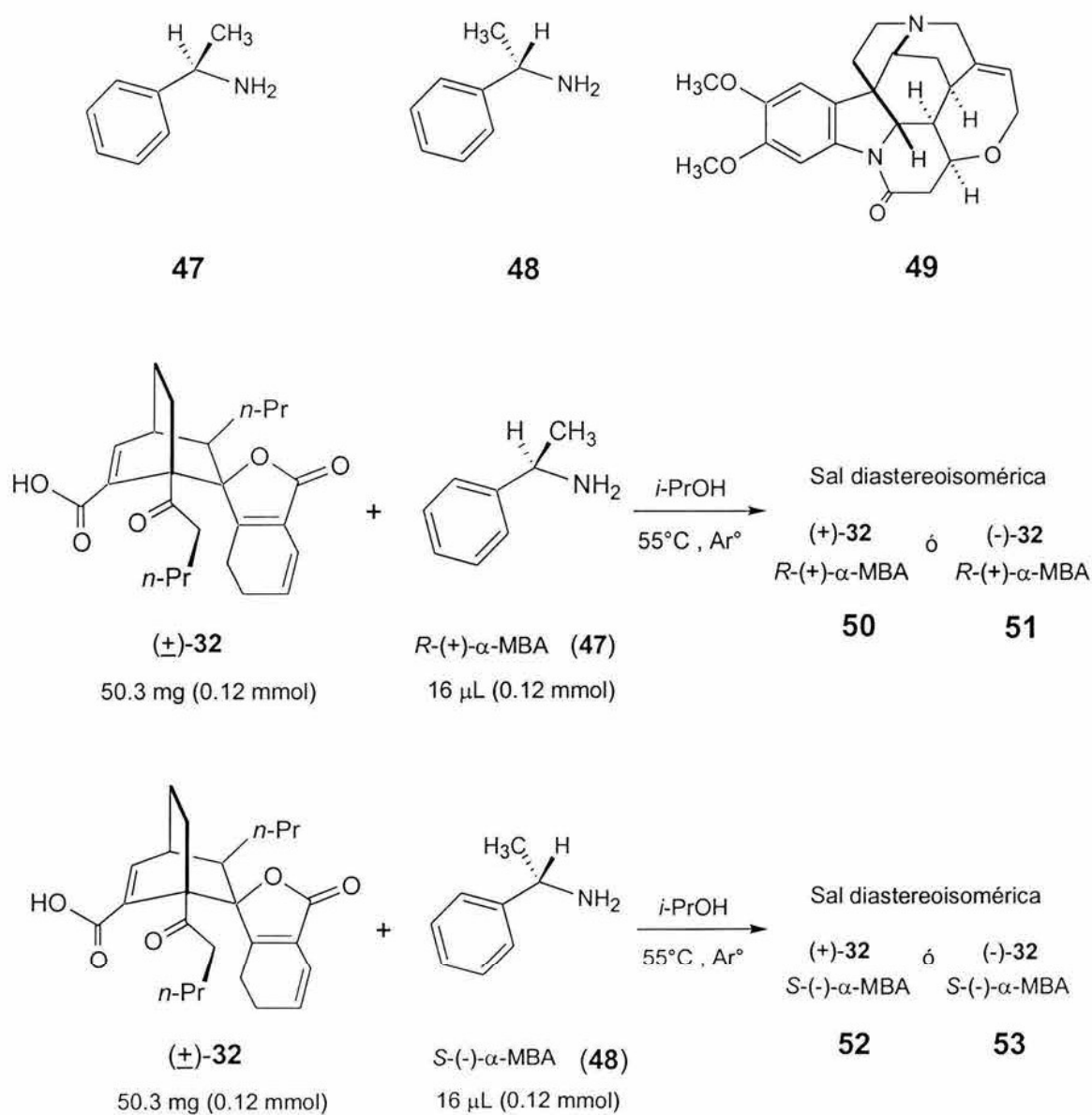
Esquema 35. Hidrólisis de toquinólida B (4). Obtención del ceto ácido 32.

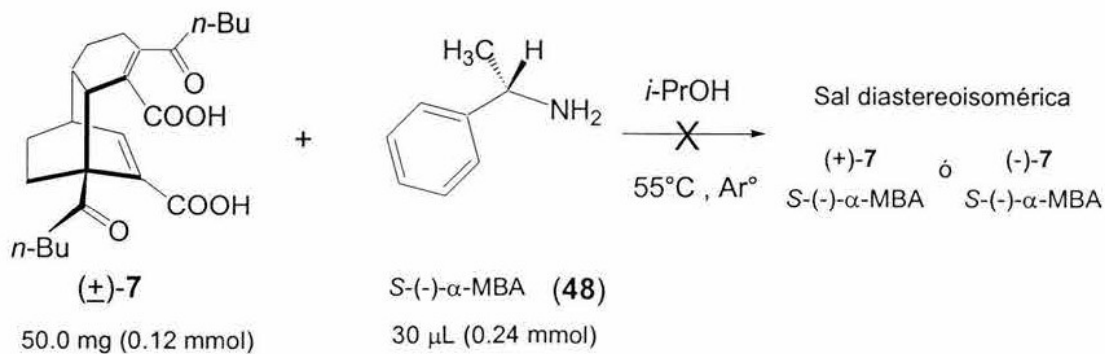
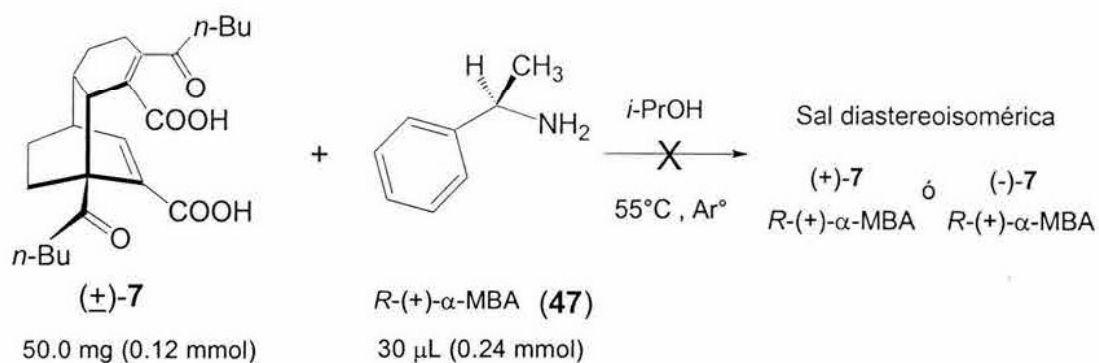
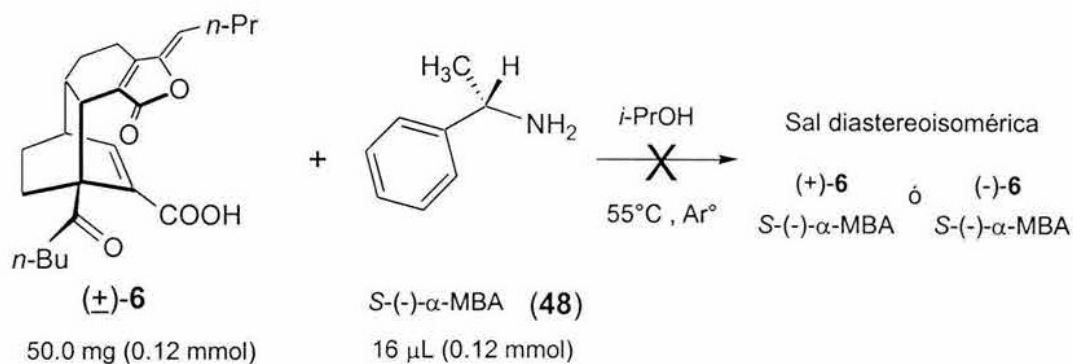
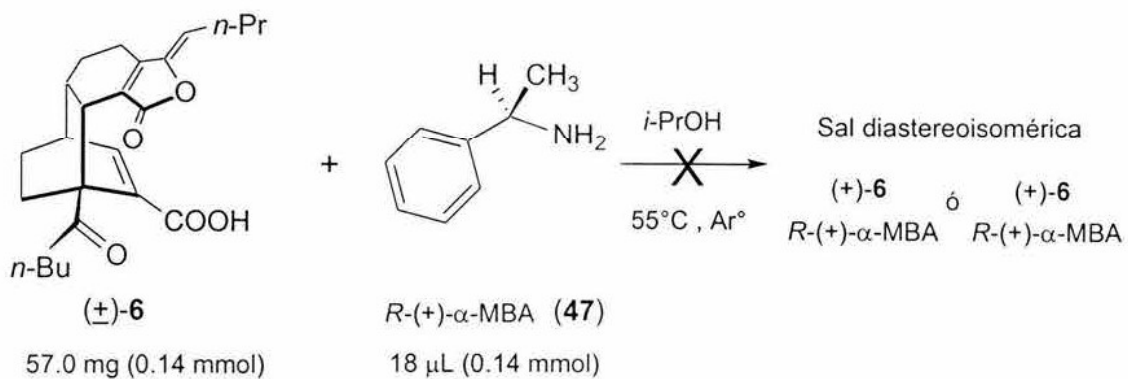


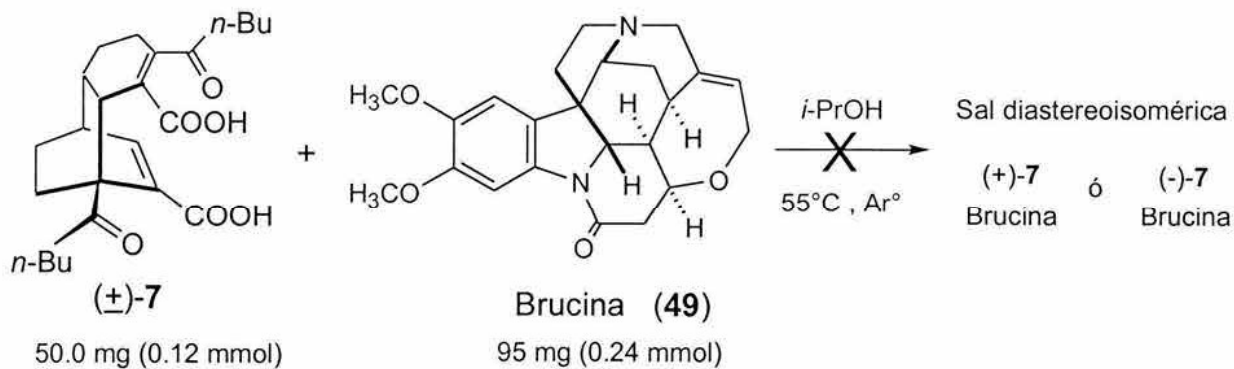
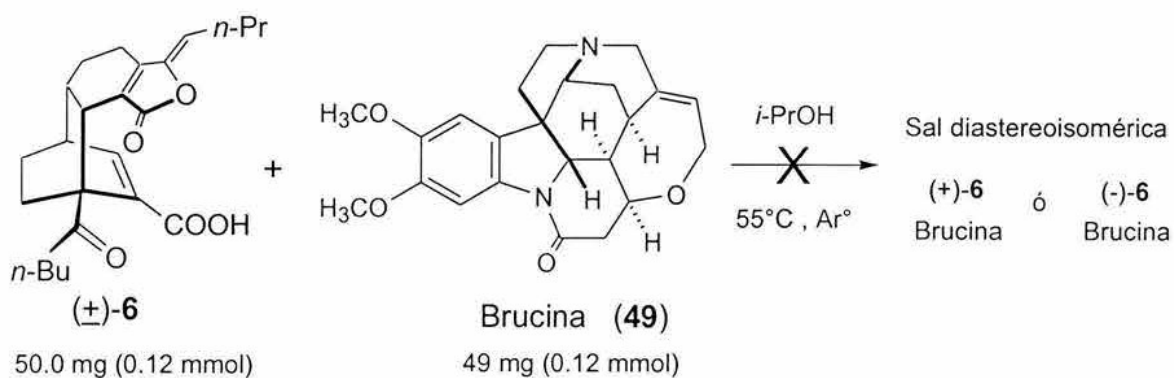
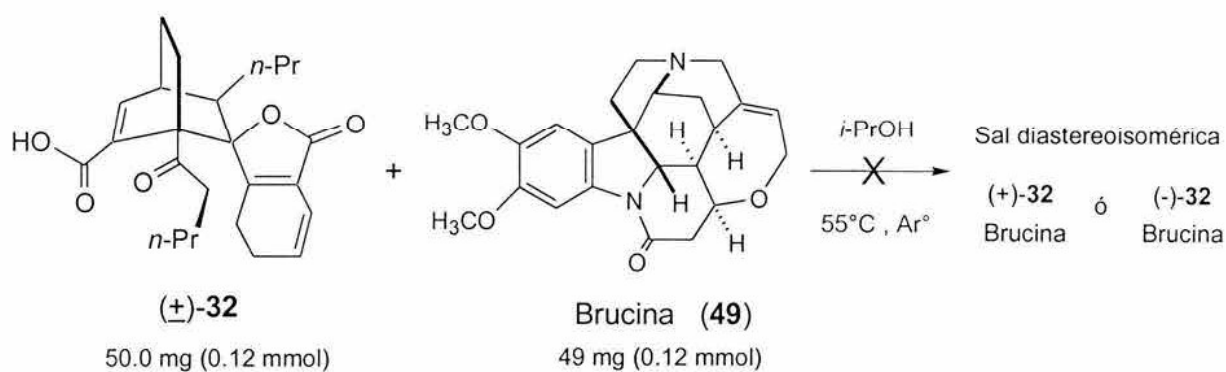
Esquema 36. Hidrólisis de diligustílida (3) en medio básico. Obtención de 6 y 7.

Es interesante hacer notar que la espiro- γ -lactona de **4** no es reactiva bajo varias condiciones de hidrólisis, presumiblemente debido al impedimento estérico por ambas caras del grupo carbonilo C-1, por la presencia del *n*-propilo en C-8 y del sustituyente alquilideno en C-3'.⁵⁶

Una vez llevada a cabo la hidrólisis de diligustílida (**3**) y de toquinólida B (**4**), se realizaron varios intentos para formar las sales diastereoisoméricas de los ceto ácidos correspondientes **6**, **7**, y **32** (Esquema 37). Las aminas quirales utilizadas fueron la *R*-(+)- α -metilbencilamina (**47**),⁵⁹⁻⁶¹ la *S*-(-)- α -metilbencilamina (**48**),⁵⁹⁻⁶² y la brucina (**49**).





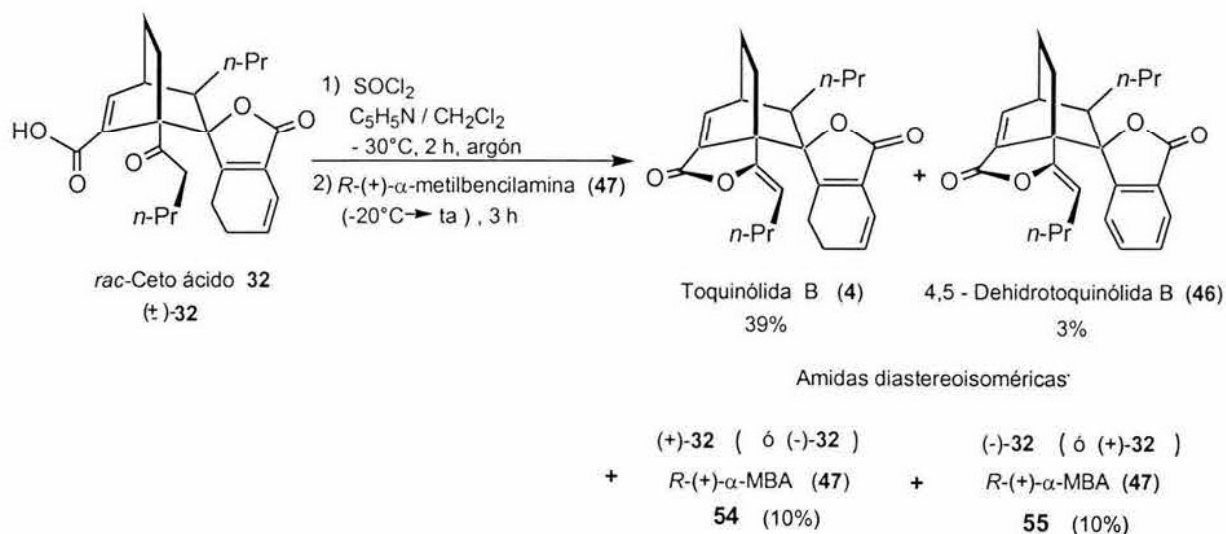


Esquema 37. Intentos para formar las sales diastereoisoméricas de los ceto ácidos 6, 7, y 32 con las aminas quirales 47, 48, y 49.

De todos los experimentos realizados en diversos disolventes y condiciones, solo se observó formación de cristales (**50 a 53**) cuando se utilizó el ceto ácido **32** con los dos enantiómeros de la α -metilbencilamina. El análisis por RMN ^1H (200 MHz, Espectro 49) de dichos cristales mostró la incorporación de la amina quiral **47** al ceto ácido **32** y el espectro de masas (impacto electrónico) del producto cristalino mostró un ion molecular de 504 (Espectro 52), que corresponde al fragmento $[\text{M}^+-15]$ ya que el ion molecular esperado sería 519, lo cual se corroboró al llevar a cabo el experimento FAB $^+$, en el cual se observó el fragmento $[\text{M}^++1]$ igual a 520 (Espectro 53). Sin embargo, los cristales obtenidos no fueron convenientes para su análisis por difracción de rayos X.

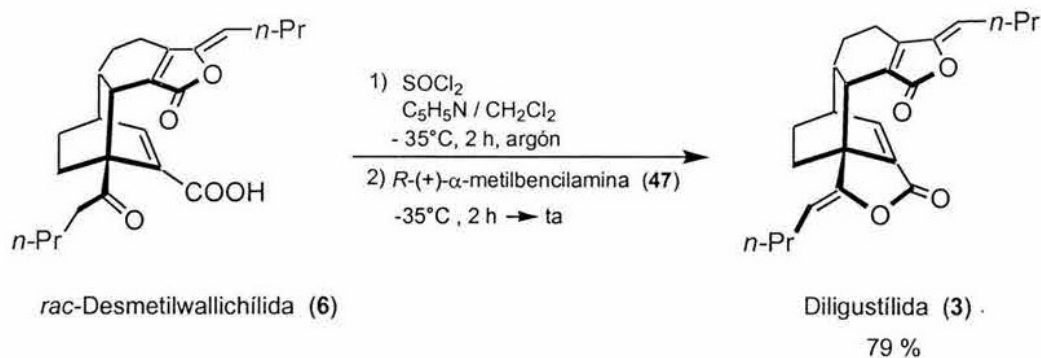
Debido a que fueron infructuosos los ensayos para obtener las sales diastereoisoméricas de la desmetilwallichilida (**6**) y de los ceto ácidos **7** y **32** con las aminas quirales *R*-(+)- α -metilbencilamina (**47**), *S*-(-)- α -metilbencilamina (**48**) y brucina (**49**), se intentó formar las amidas diastereoisoméricas de **6** y **32** con la amina quiral *R*-(+)- α -metilbencilamina (**47**), obteniéndose en el caso de la reacción con **32** las amidas diastereoisoméricas **54** y **55**, en un rendimiento del 10%, recuperándose el 39% de toquinólida B (**4**), producto de la relactonización de **32** y el 3% del compuesto aromático **46** (Esquema 38).

El análisis de los datos espectroscópicos de una de las amidas diastereoisoméricas mostró la presencia de la amina quiral **47** (Espectro 54) en el producto. Al determinar la rotación óptica de ambos productos **54** y **55**, solo uno de ellos mostró actividad apreciable, por lo que se les determinó el dicroísmo circular (técnica más sensible), observándose curvas de signo opuesto para ambos diastereoisómeros (Figuras 6 y 7). Sin embargo, no fue posible obtener cristales apropiados de las amidas **54** y **55** para su análisis por difracción de rayos X.



Esquema 38. Preparación de las amidas diastereoisoméricas **54** y **55**, por reacción del ceto ácido **32** con la amina quiral **47**.

Por otro lado, la reacción de la desmetilwallichílida (**6**) con la misma amina quiral **47** no originó amidas diastereoisoméricas, obteniéndose como único producto la diligustílida (**3**), producto de la relactonización de **6** (Esquema 39).



Esquema 39. Reacción de desmetilwallichílida (**6**) con la amina quiral **47**.

Con la intención de evitar la relactonización de los ceto ácidos **14** y **32**, se llevó a cabo la pirólisis⁶³ de ambos compuestos en presencia de la amina quiral **47**, sin embargo, no fue posible la formación de las amidas correspondientes.

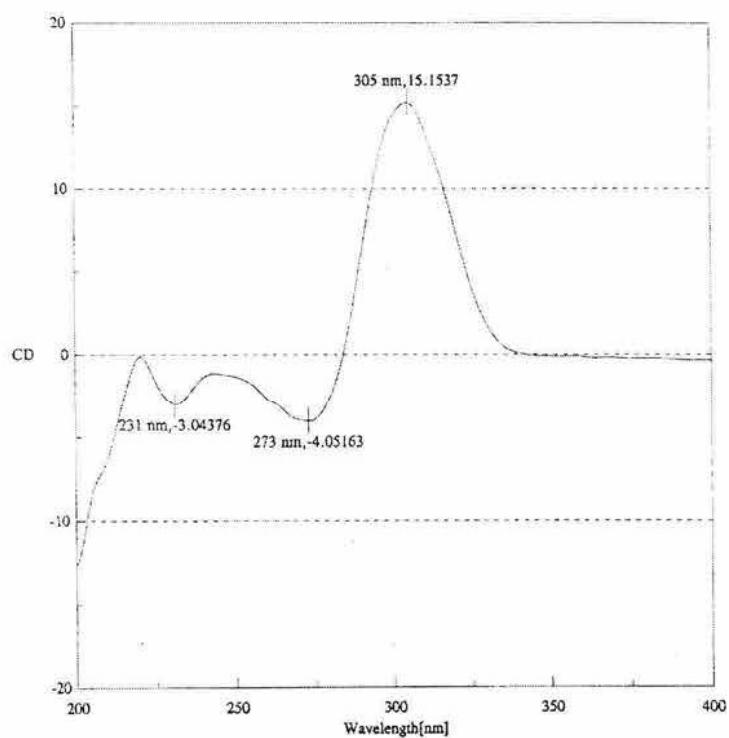


Figura 6. Dicroismo Circular de la amida diastereoisomérica 54

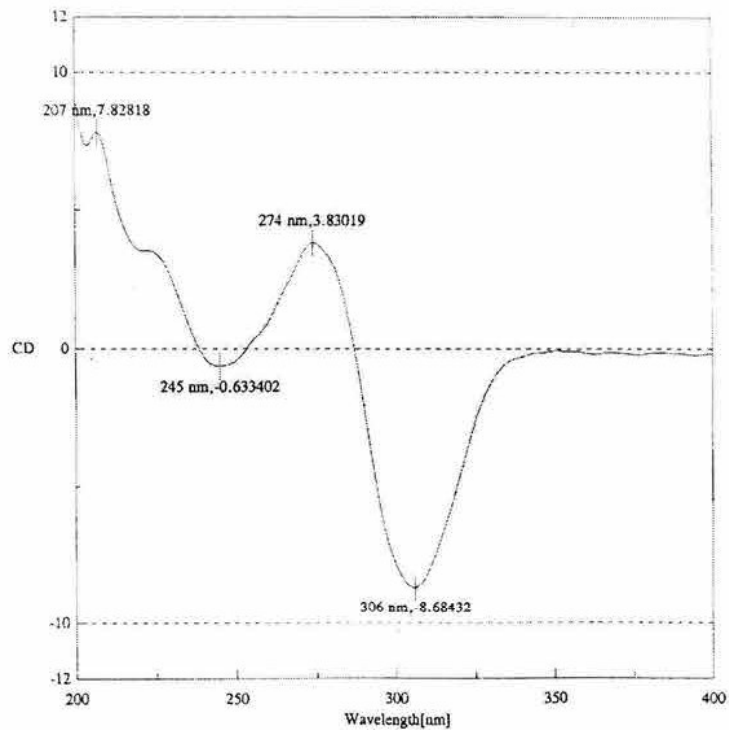


Figura 7. Dicroismo Circular de la amida diastereoisomérica 55

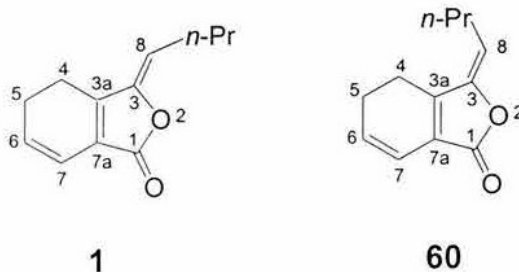
La experimentación realizada permite concluir que de los ceto ácidos **6**, **7** y **32**, el último es más reactivo frente a la amina quiral, lo cual permitió la separación de ambos enantiómeros de la mezcla racémica del ceto ácido **32**, aunque por otro lado, no fue posible la obtención de cristales convenientes de los derivados diastereoisoméricos de **32** con la amina quiral **47** (las amidas **54** y **55**), para analizarlos por difracción de rayos X. Adicionalmente no fue posible realizar más experimentación debido a que la toquinólida B (**4**), materia prima para este estudio, es inestable, transformándose al compuesto aromático **46**.

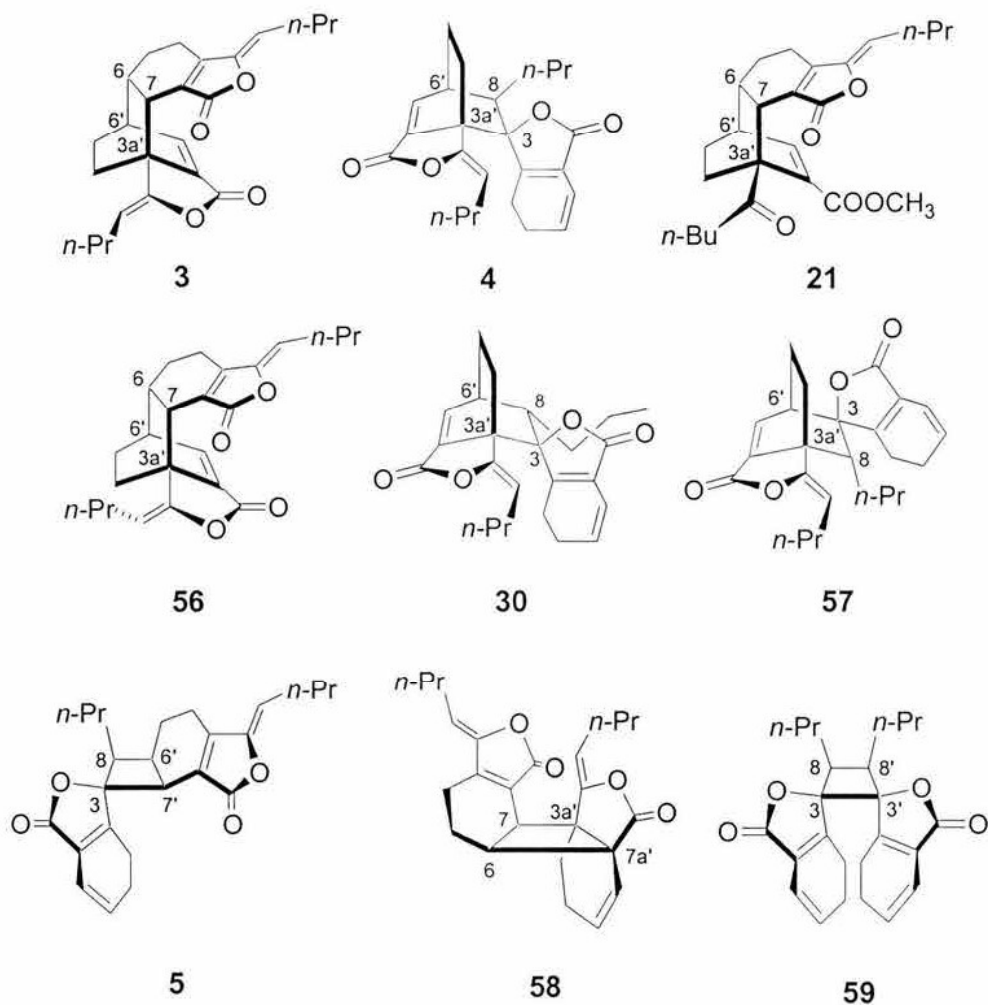
6. Análisis de los resultados obtenidos en la formación de fotociclodímeros de Z-ligustílida (**1**).

Además de la diligustílida (**3**) y la toquinólida B (**4**), otras ftálicas diméricas naturales aisladas de especies de la familia Umbelliferae son: wallichílida (**21**),⁴ levistólida B (**56**),²⁷ angeólida (**30**),¹³ el dímero de ligustílida E-232 (**57**),¹⁶ riligustílida (**5**),²⁹ toquinólida A (**58**),³⁰ y *endo*-Z,Z'-(3.3',8.8')-diligustílida (**59**).⁶⁴ (Esquema 40)

Los monómeros Z-ligustílida (**1**) y E-ligustílida (**60**) puede ser considerados como los precursores biogenéticos de estas ftálicas diméricas derivadas de cicloadiciones [$\pi 4s+\pi 2s$] (compuestos **3**, **4**, **21**, **30**, **56** y **57**) y [$\pi 2s+\pi 2s$] (compuestos **5**, **58** y **59**).

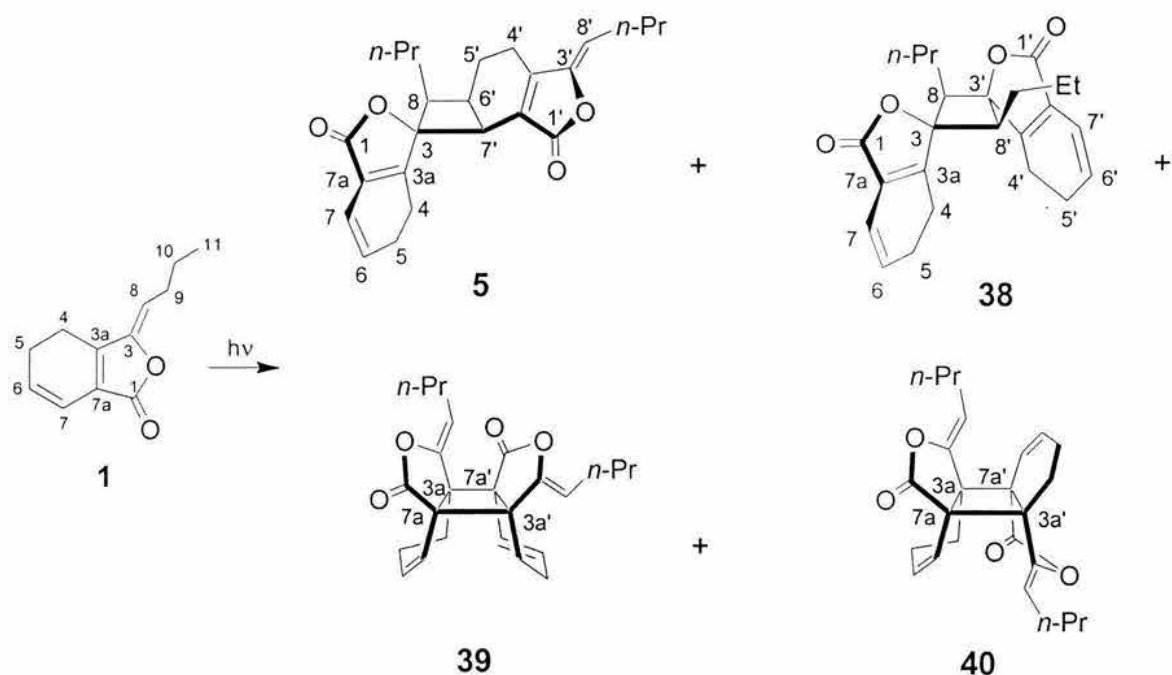
Algunos ciclodímeros como la diligustílida (**3**) y la toquinólida B (**4**) han sido obtenidos mediante una síntesis por relevo a partir de **1**.^{46, 51}





Esquema 40. Ftálicas diméricas naturales aisladas de especies de la familia Umbelliferae

Como se mencionó en el punto número uno de esta discusión, los intentos por mejorar la formación de diligustílida (**3**) y toquinólida B (**4**) a partir del tratamiento térmico de Z-ligustílida (**1**),^{46, 51} no fueron promisorios desde el punto de vista preparativo. Sin embargo, estudios realizados recientemente sobre la formación de ciclodímeros derivados de cicloadiciones $[\pi 2s + \pi 2s]$ de Z-ligustílida (**1**) por medio de reacciones fotoquímicas, dio como resultado la formación de cuatro fotociclodímeros (Esquema 21), entre los cuales se identificó a la riligustílida (**5**⁵, 1.4%), producto natural aislado de *Ligusticum porteri*,²⁹ además de tres ftálicas diméricas novedosas: *endo-Z,Z'*-(3.8',8.3')-diligustílida (**38**, 3.7%), *endo-Z,Z'*-(3a.7a',7a.3a')-diligustílida (**39**, 2.2%) y *exo-Z,Z'*-(3a.7a',7a.3a')-diligustílida (**40**, 1.5%).⁵⁴



Esquema 21. Fotociclodímeros obtenidos a partir de cicloadiciones $[\pi 2s+\pi 2s]$ de 1.

Es importante hacer notar que el monómero Z-ligustílida (1) cuenta en su estructura con tres diferentes dobles enlaces carbono-carbono que bajo condiciones fotoquímicas pueden generar varios fotociclodímeros, productos de cicloadiciones $[\pi 2s+\pi 2s]$, de acuerdo a la regio- quimio- y estereo- diferenciación. En la Tabla 4 se muestran las diferentes posibilidades de reacción de Z-ligustílida (1) como substrato bajo condiciones fotoquímicas.

Como se puede observar en la tabla 4, por cada par de dobles enlaces que reaccionan de dos unidades monoméricas de Z-ligustílida (1) se van a formar 4 fotociclodímeros, generando un total de 24 isómeros, que junto con sus pares enantioméricos generarían 48 compuestos. Sin embargo, cuando las olefinas reaccionantes son análogas estructuralmente, se genera un compuesto *meso*, lo que da finalmente 45 fotociclodímeros diferentes, como se muestra en la Tabla 5. En adición, el grupo carbonilo puede reaccionar con cualquiera de los tres dobles enlaces, incrementando la diversidad de los compuestos obtenidos en la reacción fotoquímica de 1.

Tabla 4. Posibilidades de reacción de Z-ligustílida (**1**) como sustrato bajo condiciones fotoquímicas

dobles enlaces	químico-selección	regio-selección	estéreo-selección	ciclodímero	
C(3)-C(8)	C(3')-C(8')	C(3)C(3'), C(8)C(8')	<i>endo</i>	A1-endo	
			<i>exo</i>	A1-exo	
		C(3)C(8'), C(8)C(3')	<i>endo</i>	A2-endo	
			<i>exo</i>	A2-exo	
		C(3)C(3a'), C(8)C(7a')	<i>endo</i>	B1-endo	
			<i>exo</i>	B1-exo	
	C(3)C(7a'), C(8)C(3a')	<i>endo</i>	B2-endo		
		<i>exo</i>	B2-exo		
	C(3a')-C(7a')	C(6')-C(7')	C(3)C(6'), C(8)C(7')	<i>endo</i>	C1-endo
			<i>exo</i>	C1-exo	
		C(3)C(7'), C(8)C(6')	<i>endo</i>	C2-endo	
			<i>exo</i>	C2-exo	
C(3a)-C(7a)	C(3a')-C(7a')	C(3a)C(3a'), C(7a)C(7a')	<i>endo</i>	D1-endo	
			<i>exo</i>	D1-exo	
		C(3a)C(7a'), C(7a)C(3a')	<i>endo</i>	D2-endo	
			<i>exo</i>	D2-exo	
	C(6')-C(7')	C(3a)C(6'), C(7a)C(7')	<i>endo</i>	E1-endo	
			<i>exo</i>	E1-exo	
		C(3a)C(7'), C(7a)C(6')	<i>endo</i>	E2-endo	
			<i>exo</i>	E2-exo	
C(6)-C(7)	C(6')-C(7')	C(6)C(6'), C(7)C(7')	<i>endo</i>	F1-endo	
			<i>exo</i>	F1-exo	
		C(6)C(7'), C(7)C(6')	<i>endo</i>	F2-endo	
			<i>exo</i>	F2-exo	

Tabla 5. Isómeros obtenidos en la reacción fotoquímica de dos entidades monoméricas de Z-ligustilida (1)

<i>primer doble enlace</i>	<i>segundo doble enlace</i>	<i>número de isómeros formados</i>
C(3)-C(8)	C(3')-C(8')	7
C(3)-C(8)	C(3'a)-C(7'a)	8
C(3)-C(8)	C(6')-C(7')	8
C(3a)-C(7a)	C(3'a)-C(7'a)	7
C(3a)-C(7a)	C(6')-C(7')	8
C(6)-C(7)	C(6')-C(7')	7

Dada la diversidad de posibles fotociclodímeros en la reacción fotoquímica de Z-ligustilida (1), se consideró pertinente optimizar cada una de las estructuras de los 24 isómeros posibles (Tabla 4) a un nivel semiempírico AM1 utilizando el programa Gaussian 98.⁶⁵, y así obtener la energía total de cada una de ellas y por consiguiente su estabilidad. (Tabla 6).

Tabla 6. Energía total de las estructuras optimizadas de los fotociclodímeros de Z-ligustilida (1)

fotociclodímero	fotociclodímero (Esquema 9)	energía (u.a.)	Figura ⁶⁶
A1-endo	–	-0.1387	
A1-exo	–	-0.1524	8
A2-endo	38	-0.1504	
A2-exo	–	-0.1430	
B1-endo	–	-0.1433	
B1-exo	–	-0.1492	9
B2-endo	–	-0.1451	
B2-exo	–	-0.1458	
C1-endo	–	-0.1538	
C1-exo	–	-0.1524	10
C2-endo	5	-0.1509	
C2-exo	–	-0.1538	

D1- endo	–	-0.1372	
D1- exo	–	-0.1426	11
D2- endo	39	-0.1422	
D2- exo	40	-0.1453	
E1- endo	–	-0.1490	
E1- exo	–	-0.1483	12
E2- endo	–	-0.1532	
E2- exo	–	-0.1530	
F1- endo	–	-0.1470	
F1- exo	–	-0.1543	13
F2- endo	–	-0.1545	
F2- exo	–	-0.1596	

De las energías obtenidas (Tabla 6) se puede decir que los fotociclodímeros con mayor estabilidad son F2-*exo*, F2-*endo* y F1-*exo*, y que de acuerdo a la Figura 13, son las estructuras con menor impedimento estérico. Por lo que respecta a los fotociclodímeros obtenidos del tratamiento de Z-ligustilida (**1**) bajo condiciones fotoquímicas (Esquema 21), el producto natural riligustilida (**5**) (isómero **C2-endo**) así como el ciclodímero **38** (isómero **A2-endo**) que se obtuvo en mayor rendimiento, presentan una mayor estabilidad con respecto a los fotociclodímeros **39** y **40** (isómeros **D2-endo** y **D2-exo** respectivamente).

Con la finalidad de tener un mejor entendimiento de la formación de los fotociclodímeros **5**, **38**, **39** y **40** se llevaron a cabo cálculos de la estructura molecular a un nivel semiempírico AM1. Para tal propósito, la estructura molecular de **1** fue modelada y optimizada para el estado base y el primer estado excitado (triplete⁶⁷). Para el estado base se usó un método restringido, mientras que para el estado excitado se empleó el método no restringido. Todos los cálculos se realizaron con el programa Gaussian 98.⁶⁵

En el proceso de optimización se observó que el valor del ángulo diedro entre los carbonos {C(3), C(8), C(9), C(10)} fue crítico en la formación de los fotociclodímeros. El escáner de la energía potencial liberada mostró que las conformaciones más estables tienen un ángulo de 170.5° y 148.6° (Figura 14⁶⁶) para el estado excitado y el estado base, respectivamente (Gráficas 1 y 2). Lo anterior significa que para el estado triplete todos los átomos en la cadena son coplanares a la lactona, mientras que para el estado

base esto no se observa. Esta diferencia entre ambas conformaciones moleculares reduce el impedimento estérico en la formación de los fotociclodímeros, lo cual puede ser una de las razones por las que estas estructuras no son comunes dentro de las ftálicas diméricas naturales o sintéticas.

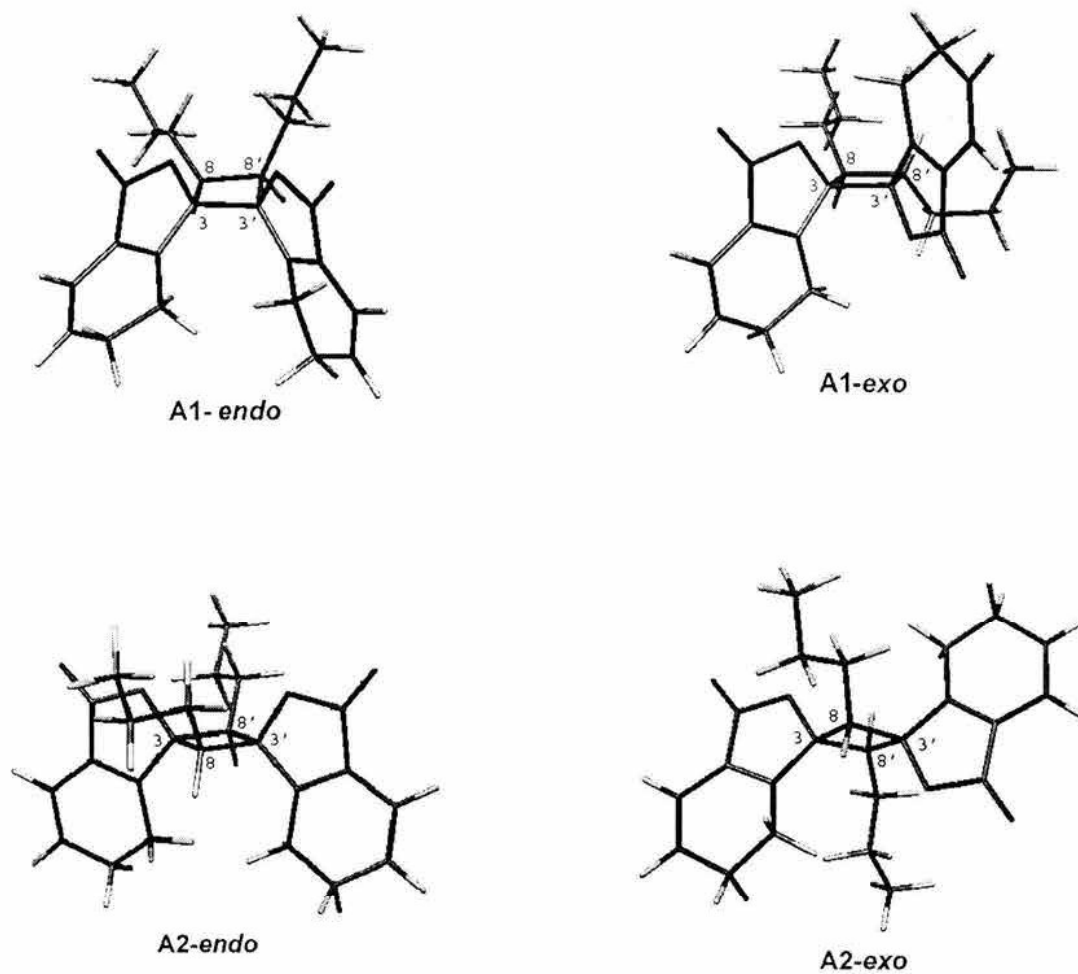


Figura 8. Estructuras de los ciclodímeros A1 y A2

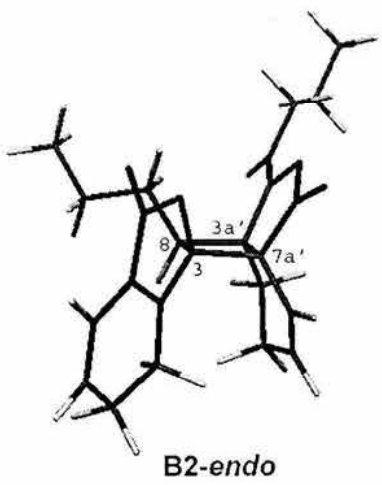
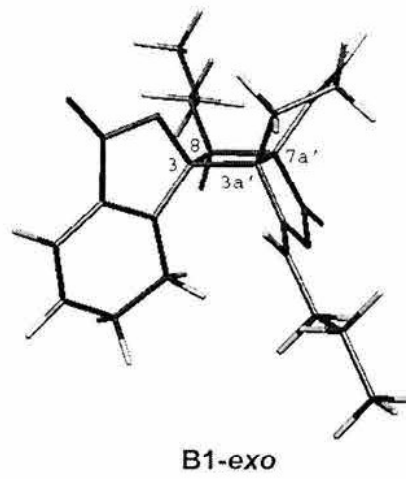
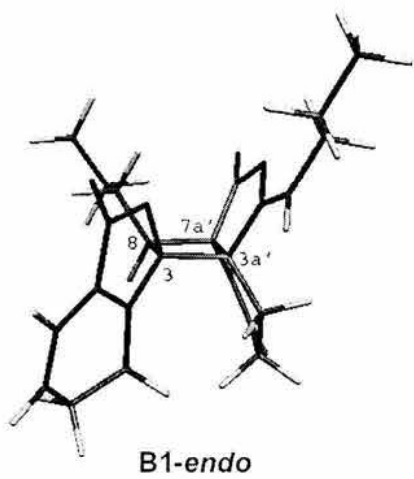


Figura 9. Estructuras de los ciclodímeros B1 y B2

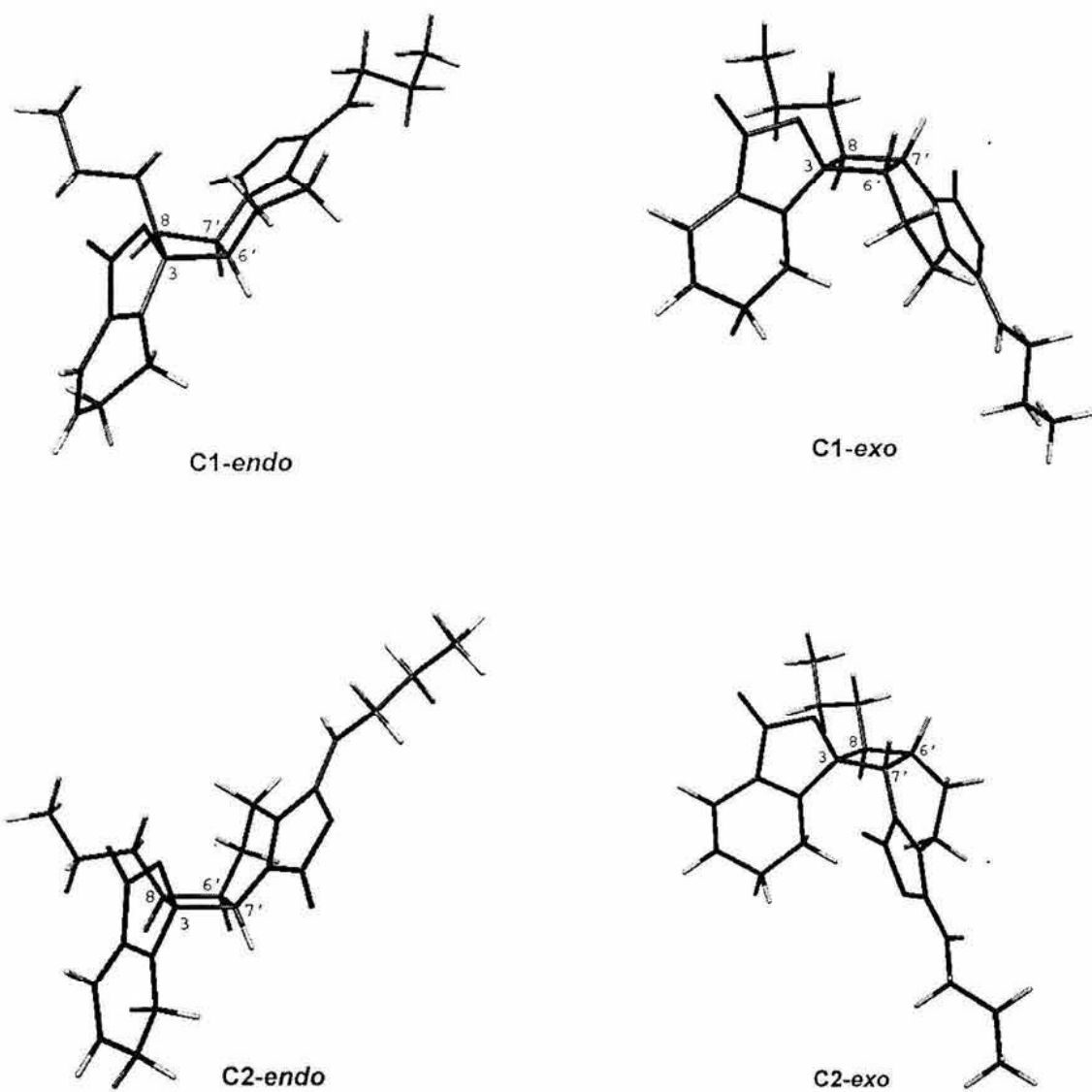


Figura 10. Estructuras de los ciclodímeros C1 y C2

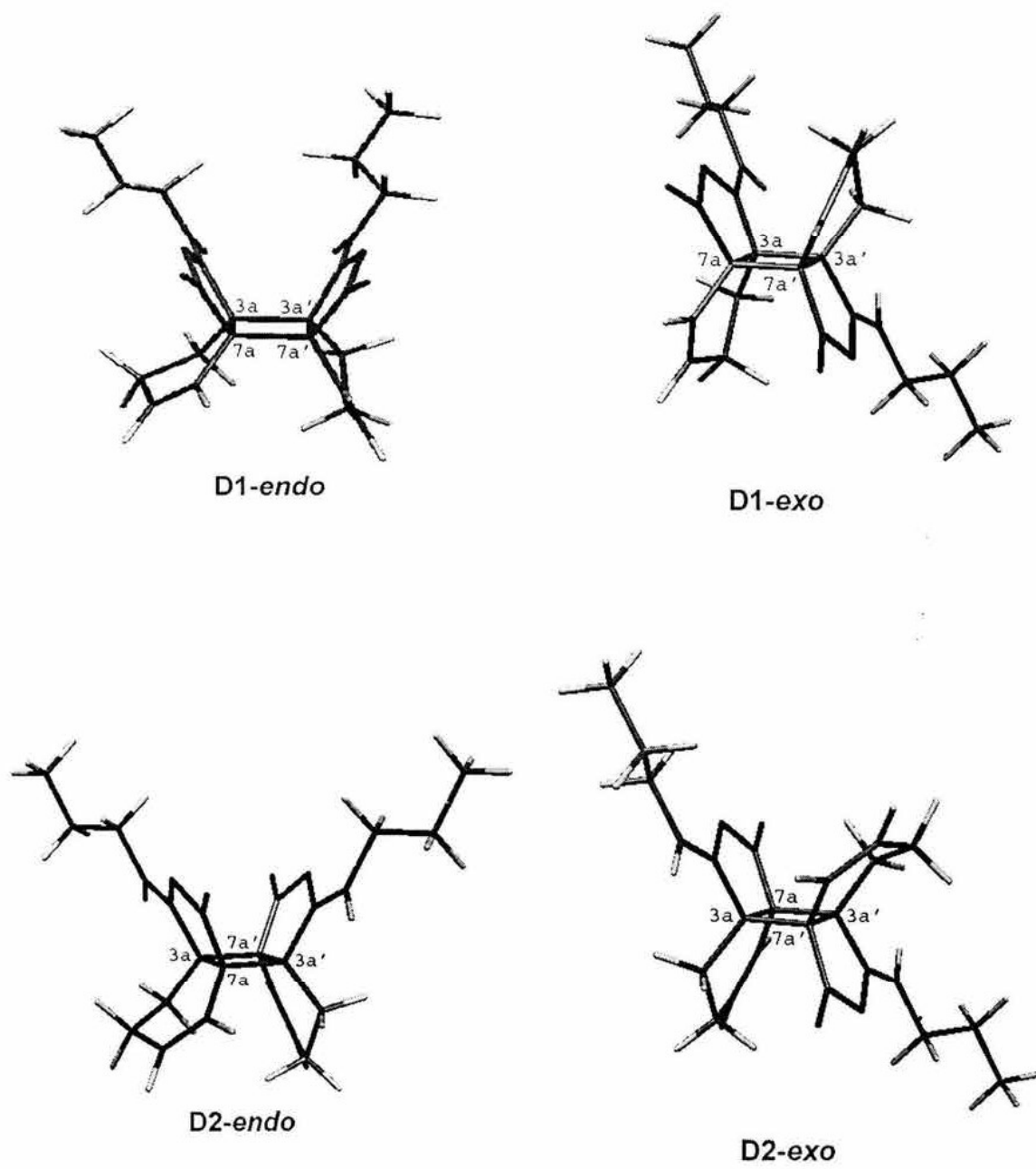


Figura 11. Estructuras de los ciclodímeros D1 y D2

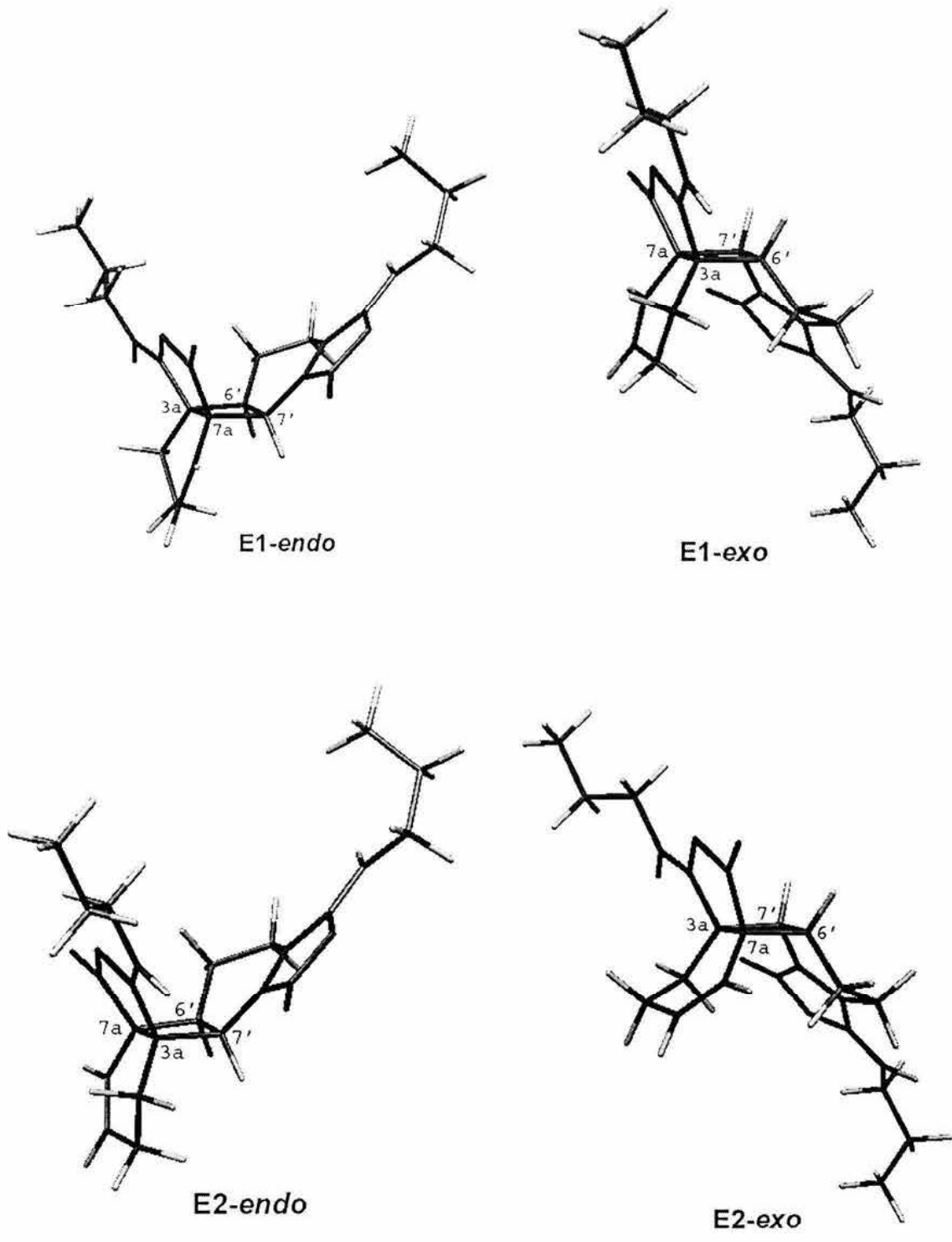


Figura 12. Estructuras de los ciclodímeros E1 y E2

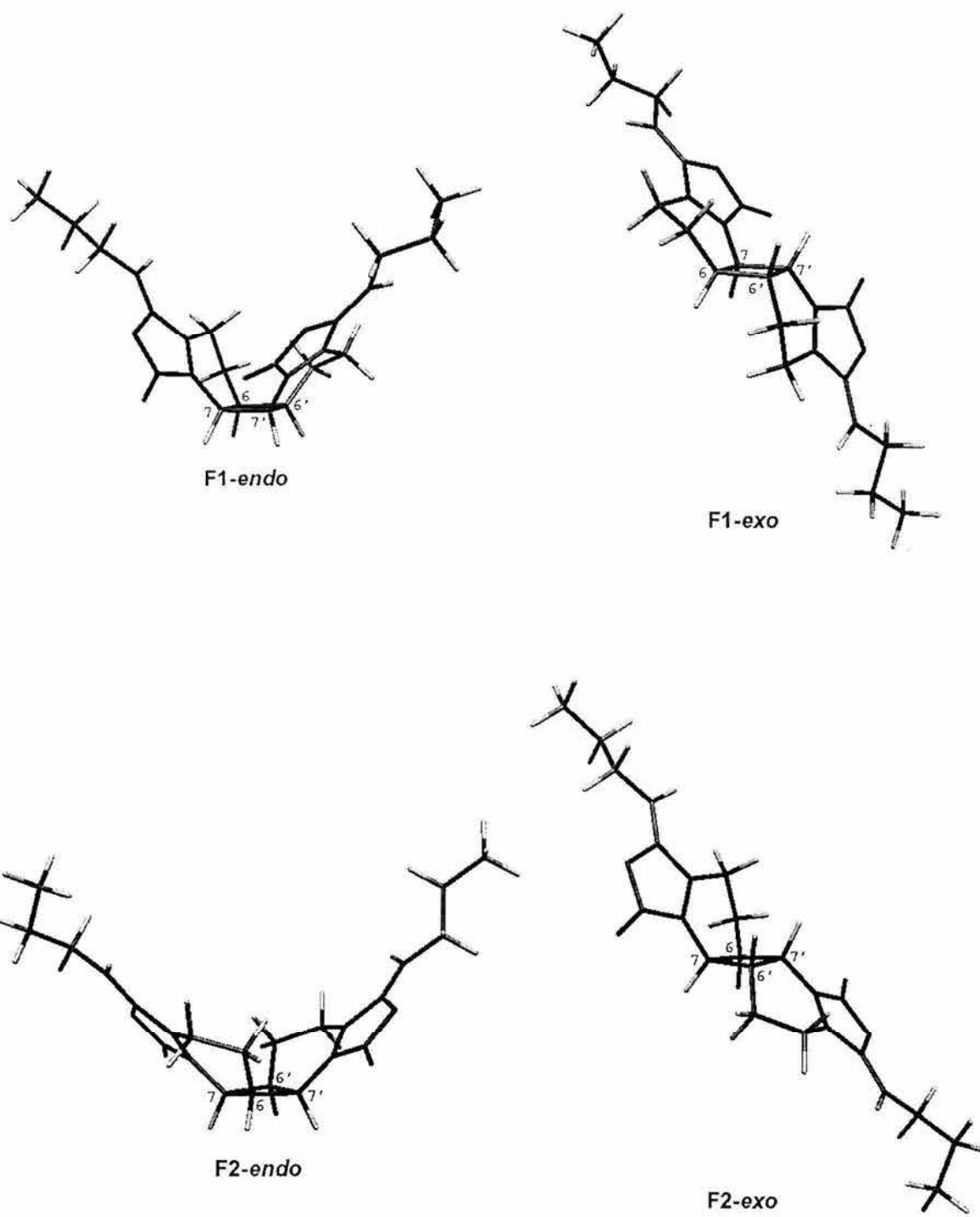
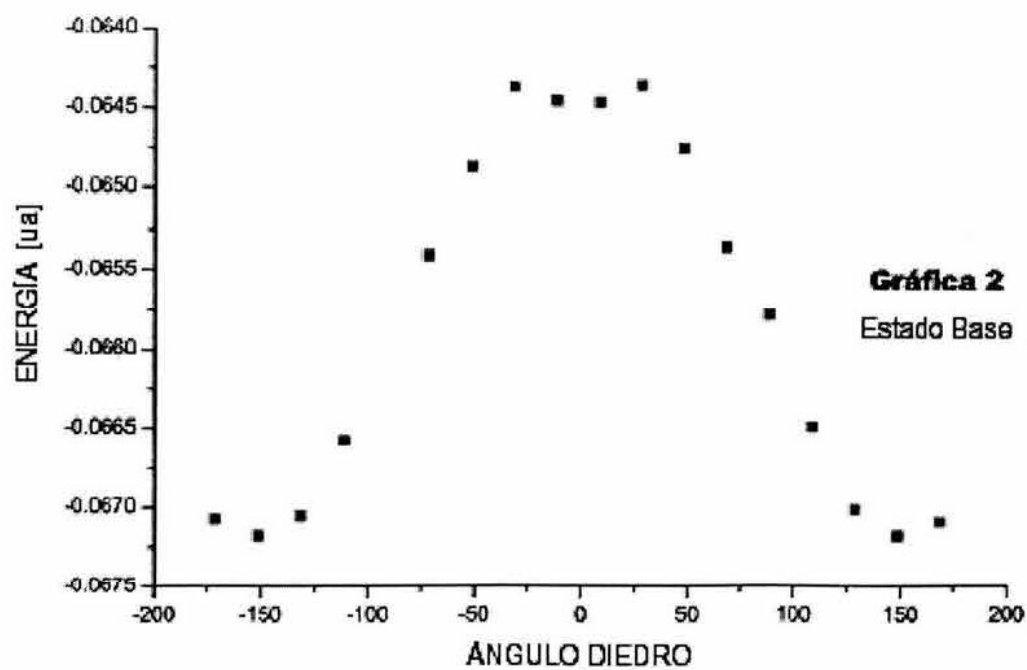
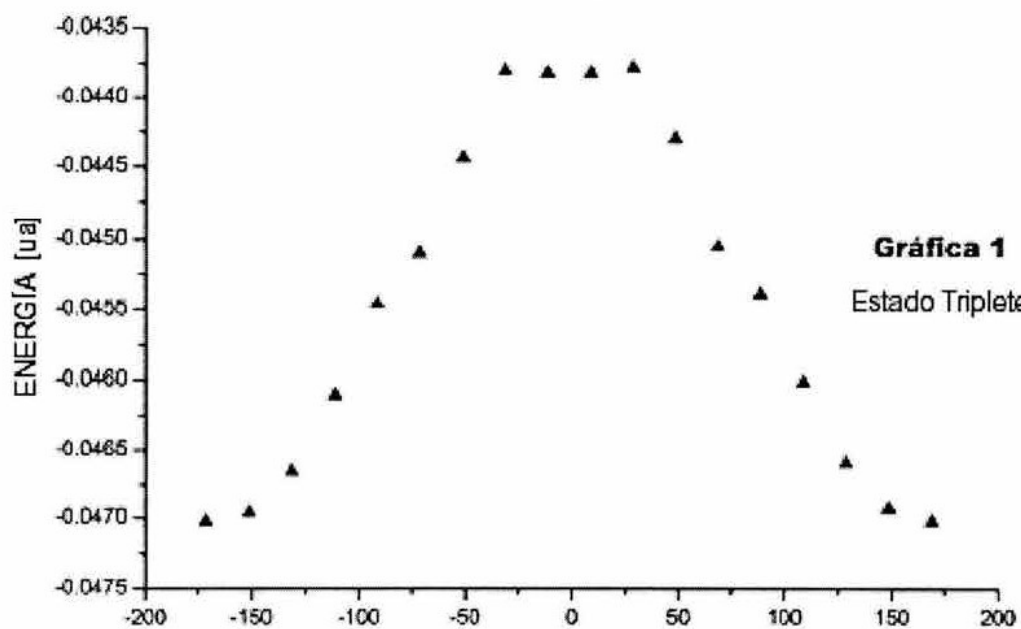


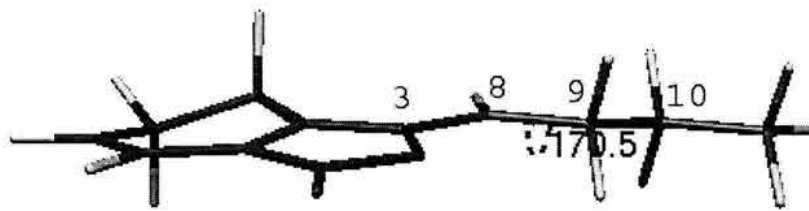
Figura 13. Estructuras de los ciclodímeros F1 y F2

Z-ligustilida (1)
Angulo Diedro {C(3), C(8), C(9), C(10)}
Escáner de Energia Potencial



Z-ligustílida (1)

ANGULO DIEDRO {C(3), C(8), C(9), C(10)}



ESTADO TRIPLETE



ESTADO BASE

Figura 14. Angulo diedro {C(3), C(8), C(9), C(10)} para las estructuras optimizadas de 1 en los estados base y excitado.

La Tabla 7 muestra las energías totales obtenidas para la estructura optimizada de **1** en el estado base y en el estado excitado, y también incluye cargas de Mülliken⁶⁸⁻⁷⁰ para los átomos de los dobles enlaces de **1** involucrados en la formación de los fotociclodímeros **5**, **38**, **39** y **40**.

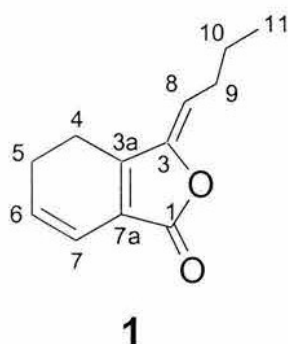


Tabla 7. Energías totales y cargas de los átomos de **1**

estado	base	excitado
energía (u.a.)	-0.0672	-0.0470
átomo	carga	carga
3	0.03	0.05
8	-0.19	-0.20
3a	-0.10	-0.15
7a	-0.13	-0.15
6	-0.26	-0.22
7	-0.15	-0.10

El análisis de cargas de Mülliken sugiere que para una reactividad dirigida por la carga de los átomos el doble enlace preferido para formar fotociclodímeros es C(3)-C(8). Este enlace exhibe signos de carga opuestos y la mayor diferencia de cargas entre los átomos. En segundo lugar estaría el doble enlace C(6)-C(7), y C(3a)-C(7a) sería el doble enlace menos reactivo para formar los fotociclodímeros obtenidos.

La regioquímica involucrada en la formación de los fotociclodímeros **5**, **38**, **39** y **40** puede explicarse mediante el análisis de los coeficientes y energías de los orbitales moleculares frontera de los monómeros de Z-ligustilida (**1**) que interactúan. Los orbitales moleculares considerados son el más bajo desocupado (LUMO) y el más alto ocupado (HOMO) del estado base (Figura 15⁶⁶), así como el más alto (HSOMO) y el más bajo (LSOMO) ocupados con un solo electrón en el estado excitado (Figura 16⁶⁶). Las energías y coeficientes de los orbitales moleculares frontera se muestran en la Tabla 8.

Tabla 8. Energías y coeficientes de los orbitales moleculares frontera para los estados base y excitado de Z-ligustilida (**1**)

orbital molecular frontera	HSOMO	LSOMO	LUMO	HOMO
energía (u.a.)	-0.3092	-0.3604	-0.0408	-0.3272
átomo	coeficientes			
3	0.14	0.62	0.22	0.30
8	0.50	0.23	-0.47	0.39
3a	-0.19	0.24	0.59	-0.37
7a	-0.38	-0.07	-0.48	-0.41
6	0.58	-0.08	0.36	0.41
7	-0.12	-0.26	-0.14	0.31

Las preferencias esperadas para la formación de los enlaces en los fotociclodímeros pueden ser estimadas de las propiedades de estos orbitales moleculares y reside en la magnitud del factor de interacción S_r de dos-centros, y el cual está dado por la ecuación 1 en unidades $\gamma^2/\text{u.a.}$ (γ es una integral de resonancia).^{71, 72}

$$S_r = (C_i^* \cdot C_j)^2 / \Delta E(\text{HSOMO-LUMO}) + (C_i^* \cdot C_j)^2 / \Delta E(\text{LSOMO-HOMO}) = S_{r1} + S_{r2} \quad (1)$$

Donde C_i^* es el coeficiente del punto de reacción del HSOMO o LSOMO de **1** fotoexcitado y C_j es el coeficiente del punto de reacción del HOMO o LUMO de **1** en el estado base.

Los valores de S_{r1} y S_{r2} calculados utilizando los datos dados en la Tabla 8 se muestran en la Tabla 9.

Tabla 9. Factores de interacción de los orbitales moleculares frontera del estado base con el estado excitado de Z-ligustílida (1)

compuesto	enlace formado	Sr1	Sr2	Sr
38	C(3)-C(8')	0.016	1.761	1.777
38	C(8)-C(3')	0.045	0.143	0.188
5	C(3)-C(7')	0.001	1.113	1.114
5	C(8)-C(6')	0.121	0.268	0.389
39 , 40	C(7a)-C(3'a)	0.187	0.020	0.207
39 , 40	C(3a)-C(7'a)	0.031	0.292	0.323

De los valores informados en la Tabla 9, puede observarse que el valor más grande de Sr es para el fotociclodímero **38**, esto sugiere una preferencia en la formación de este compuesto, seguido por el producto natural riligustílida (**5**) y finalmente por los isómeros **39** y **40**. Estas observaciones corresponden con el análisis de las cargas de Mülliken (Tabla 7).

El análisis teórico realizado apoya el resultado experimental donde el mayor rendimiento es obtenido para el fotociclodímero **38**.

Z-ligustílida (1)

Estado Base

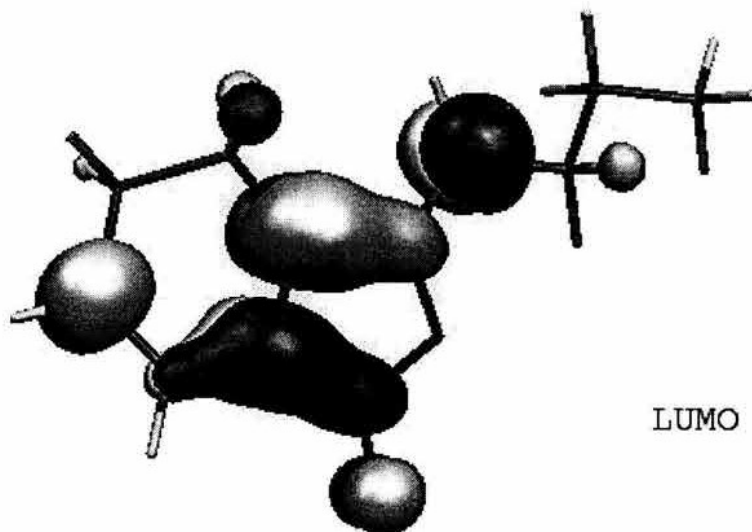
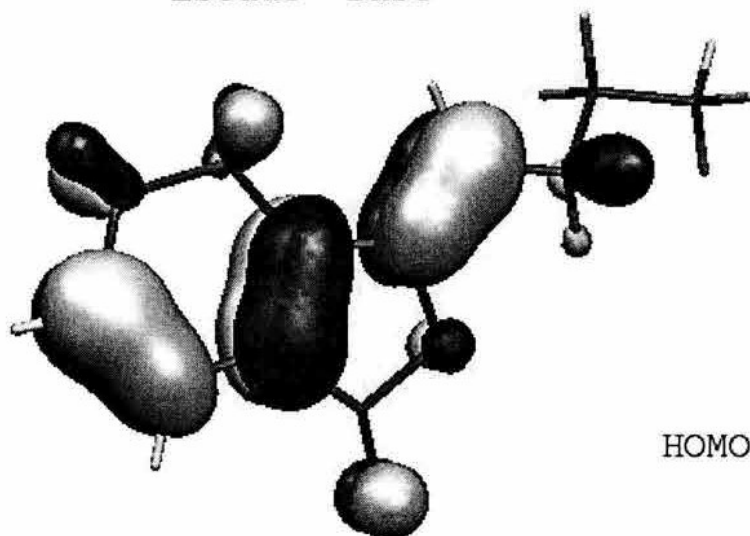


Figura 15. Orbitales moleculares frontera de 1 en el estado base.

Z-ligustílida (1)

Estado Triplete

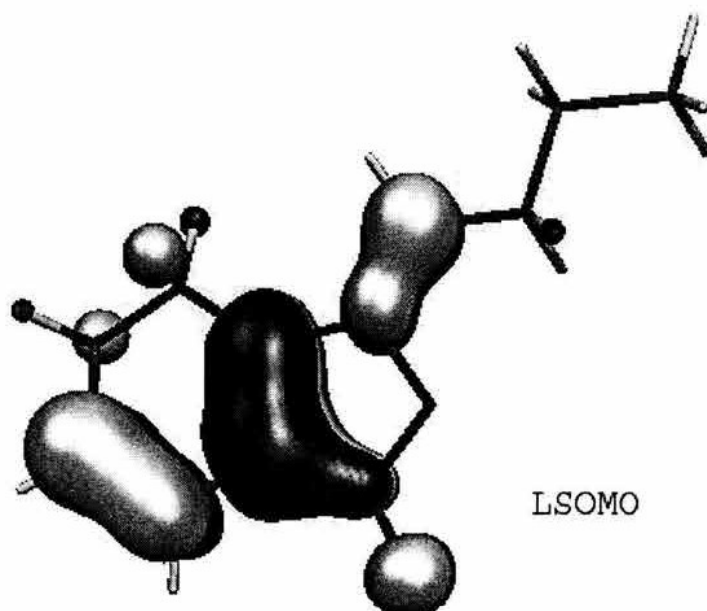
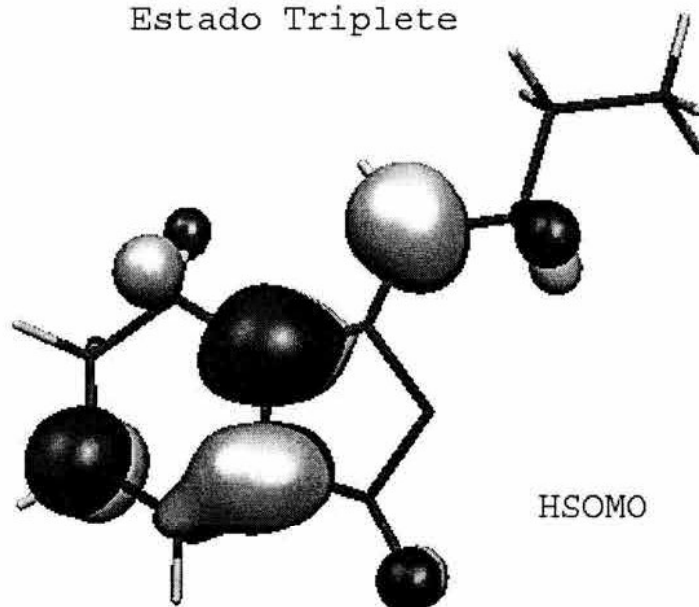


Figura 16. Orbitales moleculares frontera de 1 en el estado excitado.

CONCLUSIONES

Conclusiones

- ❖ De la reacción de dimerización de la Z-ligustílida (**1**), sólo fue posible obtener trazas de las ftálicas diméricas diligustílida (**3**) y toquinólida B (**4**), no lográndose optimizar los rendimientos previamente informados.
- ❖ La reacción de condensación intramolecular de toquinólida B (**4**) en medio básico produjo en buen rendimiento el compuesto pentacíclico ciclotoquinólida B (**28**), cuya estructura y estereoquímica se confirmaron por su análisis de rayos X.
- ❖ El estudio de la reactividad de la ftálica dimérica natural diligustílida (**3**) mostró que los productos aislados de hidrólisis (**6**, **7** y **21**) y los de condensación intramolecular (**24**, **26** y **41** a **45**) son dependientes principalmente del disolvente utilizado, encontrándose condiciones de reacción para obtener selectivamente los derivados de condensación intramolecular o los productos de hidrólisis de la diligustílida (**3**).
- ❖ La reacción de condensación intramolecular de diligustílida (**3**) bajo condiciones anhidras favorece la formación del producto de condensación intramolecular **24**, mientras que en un sistema acuoso o más polar se obtiene la mezcla epimérica de **26** y **41**.
- ❖ Se logró la separación y caracterización de los productos de condensación intramolecular **24** y **26**, informados previamente como una mezcla de cristales.
- ❖ Cinco de los productos de condensación intramolecular de la diligustílida (**3**), los compuestos **41** a **45**, no habían sido reportados con anterioridad.

- ❖ La desmetilwallichílida (6) y el diceto diácido 7, productos de la hidrólisis de diligustílida (3), fueron favorecidos en una mezcla de acetona/agua, mientras que la presencia de metanol en la mezcla de reacción ó el uso de una base fuerte permiten la condensación intramolecular de la materia prima (3).
- ❖ Se logró conocer y racionalizar la reactividad química particular de las ftálicas diméricas diligustílida (3) y toquinólida B (4).
- ❖ Las reacciones catalizadas por ácidos de las ftálicas diméricas diligustílida (3) y toquinólida B (4) no producen derivados de condensaciones inter- o intramoleculares.
- ❖ La experimentación realizada no permitió resolver la mezcla racémica de las ftálicas diméricas naturales diligustílida (3) y toquinólida B (4).
- ❖ El estudio teórico realizado en la formación de fotociclodímeros de Z-ligustílida (1) apoya los resultados experimentales.

SECCIÓN

EXPERIMENTAL

Sección Experimental

Las materias primas Z-ligustílida (1), diligustílida (3) y toquinólida B (4) se aislaron del extracto acetónico de las raíces de *Ligusticum porteri* por sucesivas cromatografías en columna, como se describe más adelante. Los puntos de fusión (p.f.) fueron determinados en un aparato Fisher Johns y no están corregidos. Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) fueron determinados en los siguientes espectrómetros: Varian Unity-300 a 300 MHz para ^1H y a 75 MHz para ^{13}C , Varian Unity-plus 500 (a 500/125 MHz), Bruker DRX400 (a 400/100 MHz), y Bruker ARX500 (a 500/125 MHz). Los desplazamientos químicos están expresados en partes por millón (δ) relativos a tetrametilsilicio. Los espectros de infrarrojo (IR) fueron determinados con los instrumentos Perkin-Elmer 283-B ó FTIR Bruker TENSOR 27. Los espectros de ultravioleta (UV) se determinaron en un equipo SHIMADZU UV160U. Los espectros de masas de impacto electrónico (EMIE) fueron corridos a 70 eV en un espectrómetro de masas JEOL JMS-Ax 505 HA. Los espectros de masas utilizando la técnica de FAB (EM FAB⁺) y los de alta resolución (EMAR FAB⁺) fueron determinados en un espectrómetro de masas JEOL JMS-SX 102 A, la masa exacta fue calculada usando polietilén glicol 400 (PEG) como estándar. La cromatografía en columna (cc) a presión reducida se llevó a cabo utilizando sílica gel para capa fina Merck 60 GF. La cc flash se realizó con sílica gel Matrex 60 Å 35-70 μm (Grace Amicon). La cromatografía en capa fina (ccf) se realizó usando placas 60 F₂₅₄ (Merck) y se empleó como revelador una lámpara de UV Spectroline ENF-240C-20 a 365 y 254 nm, y una solución de sulfato cérico amoniacal al 1% en ácido sulfúrico (2N) ó una solución de ácido sulfúrico (10%), como reactivos reveladores después de calentar. El sistema de elusión se especifica en cada experimento. Los datos cristalográficos fueron colectados en un difractómetro Siemens P4/PC ó en un difractómetro Bruker SMART. Todas las reacciones se llevaron a cabo bajo atmósfera de nitrógeno.

1. Aislamiento y Purificación de las Materias Primas.

Las raíces de *Ligusticum porteri* constituyeron la fuente natural para la obtención de las materias primas. Se trabajó con 12.450 Kg de raíces de este vegetal, los cuales se

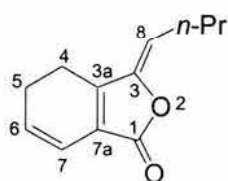
maceraron con acetona a temperatura ambiente durante tres días y por tres ocasiones. El disolvente de cada maceración se eliminó por destilación a presión reducida hasta la obtención del extracto correspondiente.

El extracto acetónico (721.5g) se fraccionó por cc. Las columnas se desarrollaron por medio de elución a presión reducida usando mezclas de disolventes *n*-hexano/AcOEt con incremento de la polaridad, las fracciones se reunieron de acuerdo a su análisis de ccf tomando como referencia estándares aislados y caracterizados con anterioridad en nuestro grupo de investigación.⁵²

Las fracciones con *Z*-ligustilida (**1**), aceite amarillo de olor penetrante característico, se almacenaron bajo atmósfera de nitrógeno y en refrigeración, debido a su inestabilidad, ya que tiende a aromatizarse a *Z*-butilidenftálida (**10**).

Las fracciones con toquinólida B (**4**) cristalizaron y se purificaron por recristalización con *n*-hexano, obteniéndose un agujas blancas (p.f.= 122-123°C, p.f.⁷= 120.5-122°C) cuyas constantes espectroscópicas corresponden a las reportadas.^{30,51} En total se obtuvieron 13.4g de toquinólida B (**4**), que corresponden al 1.85% del extracto acetónico trabajado.

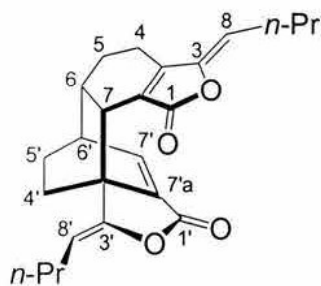
El sólido de las fracciones conteniendo diligustilida (**3**) se filtró y lavó con una mezcla de *n*-hexano/AcOEt (95:5), el sólido resultante se recristalizó de acetona obteniéndose un sólido blanco muy fino (p.f.= 125-127°C, p.f.⁷= 127.5-129°C), cuyas constantes espectroscópicas corresponden con las reportadas.^{26,51} Se obtuvieron 4.5g de diligustilida (**3**), que corresponde al 0.62% del extracto acetónico trabajado, aunque cabe señalar que no todas las fracciones con diligustilida (**3**) fueron purificadas.



1

Aceite amarillo.

RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) δ: 6.28 (1H, dt, *J* = 9.7 Hz, 1.8 Hz, H-7), 6.00 (1H, dt, *J* = 9.7 Hz, 4.2 Hz, H-6), 5.24 (1H, t, *J* = 8.0 Hz, H-8), 2.56 (4H, m, H-4, H-5), 2.38 (2H, c, *J* = 7.5 Hz, H-9), 1.52 (2H, c, *J* = 7.0 Hz, H-10), 0.95 (3H, t, *J* = 7.0 Hz, H-11).

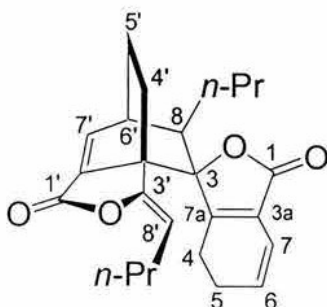


3

Sólido blanco, p.f.: 125-127°C.

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 7.36 (1H, d, $J = 6.6$ Hz, H-7'), 5.07 (1H, t, $J = 7.8$ Hz, H-8), 5.00 (1H, t, $J = 7.8$ Hz, H-8'), 3.26 (1H, d, $J = 9.0$ Hz, H-7), 2.97 (1H, m, H-6'), 2.55 (1H, m, H-6), 2.28 (2H, c, $J = 7.4$ Hz, H-9), 2.18 (2H, c, $J = 7.4$ Hz, H-9'), 2.05 (3H, m, H-4, H-4'a), 1.90 (3H, m, H-4'b, H-5), 1.45 (2H, c, $J = 7.4$ Hz, H-10), 1.44 (2H, c, $J = 7.4$ Hz, H-10'), 1.40 (2H, m, H-5'), 0.93 (3H, t, $J = 7.4$ Hz, H-11), 0.92 (3H, t, $J = 7.4$ Hz, H-11').

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 168.38 (C-1), 164.83 (C-1'), 154.95 (C-3a), 150.41 (C-3'), 147.93 (C-3), 142.03 (C-7'), 134.07 (C-7a'), 126.45 (C-7a), 112.03 (C-8), 108.50 (C-8'), 47.50 (C-3a'), 41.44 (C-7, C-6'), 38.22 (C-6), 30.95 (C-4'), 28.85 (C-5), 27.90 (C-9), 27.39 (C-9'), 25.68 (C-5'), 22.22 (C-10, C-10'), 19.65 (C-4), 13.89 (C-11 o C-11'), 13.76 (C-11 o C-11').



4

Agujas blancas, p.f.: 122-123°C.

RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) δ : 7.51 (1H, d, $J = 7.0$ Hz, H-7'), 6.17 (1H, dt, $J = 9.5$, 2.0 Hz, H-7), 5.92 (1H, dt, $J = 9.5$, 4.5 Hz, H-6), 4.62 (1H, dd, $J = 8.5$, 6.5 Hz, H-8'), 3.11 (1H, m, H-6'), 2.50 (1H, m, H-4'a), 2.29 (2H, m, H-5), 2.17 (2H, m, H-4a, H-9'a), 2.06 (2H, m, H-4b, H-5'a), 1.98 (1H, m, H-9'b), 1.67 (1H, m, H-8), 1.47 (2H, m, H-9a, H-10a), 1.29 (5H, m, H-4'b, H-5'b, H-9b, H-10'), 1.13 (1H, m, H-10b), 0.89 (3H, t, $J = 7.0$ Hz, H-11), 0.82 (3H, t, $J = 7.0$ Hz, H-11').

RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) δ : 170.40 (C-1), 164.20 (C-1'), 161.73 (C-3a), 148.47 (C-3'), 144.86 (C-7'), 132.98 (C-7a'), 129.32 (C-6), 125.52 (C-7a), 116.57 (C-7), 107.45 (C-8'), 89.58 (C-3), 50.05 (C-3a'), 42.67 (C-8), 36.63 (C-6'), 28.30 (C-9), 28.09 (C-4'), 26.95 (C-9'), 22.56 (C-5), 22.46 (C-10'), 21.09 (C-10), 21.02 (C-4), 16.89 (C-5'), 14.06 (C-11), 13.46 (C-11').

2. Reacción de dimerización de Z-ligustílida (1).

Se realizaron varios intentos para formar los dímeros diligustílida (3) y toquinólida B (4) a partir de la Z-ligustílida (1), mediante reacciones de cicloadición (Diels-Alder). Para ello fue necesario purificar por cc la Z-ligustílida (1). Se empacó una columna con sílica gel tipo Merck 60 GF (4.3 cm x 8 cm) y se aplicó el aceite de color anaranjado rojizo (5g) conteniendo la Z-ligustílida (1). La columna se eluyó a presión reducida con una mezcla de *n*-hexano/AcOEt (99:1), colectándose fracciones de 15mL.

El desarrollo de la columna se siguió por ccf distinguiendo la presencia de Z-ligustílida (1) por su color azul al revelar con la lámpara de luz ultravioleta. Las fracciones con Z-ligustílida (1) se reunieron y concentraron al vacío, obteniéndose un aceite de color amarillo (1.7g), cuya pureza fue obtenida mediante la interpretación del espectro de resonancia magnética nuclear de hidrógeno, determinándose que se encontraba con un 93% de pureza, correspondiendo el porcentaje restante (7%) a Z-butilidenftálida (10).

Para la reacción de dimerización de la Z-ligustílida (1) se probaron diversas condiciones de reacción, colocando la ftálida recién purificada en un tubo de dimensiones específicas (25 cm de largo, 1 cm de diámetro y 2 mm de espesor) y sellándolo al vacío o bajo atmósfera de argón. El tratamiento térmico de la muestra se llevó a cabo en un horno

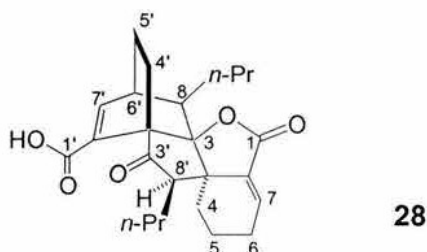
tubular variando la temperatura así como el tiempo de calentamiento en cada experimento.

El análisis comparativo por medio de ccf del crudo de cada reacción con muestras auténticas de diligustílida (**3**) y toquinólida B (**4**), al igual que su análisis por resonancia magnética nuclear de hidrógeno, permitió identificar, en la mayoría de los casos, la formación de trazas de los dímeros **3** y **4** (Esquema 22).

3. Reacción de condensación intramolecular de toquinólida B (**4**) en medio básico.

3.1. Preparación de Ciclotoquinólida B (**28**).

La toquinólida B (**4**, 150.0 mg, 0.39 mmol) se trató con NaOH (205.7 mg, 5.14 mmol), en THF (10 mL) y MeOH (1 mL). Después de 2 horas de reflujo bajo atmósfera de nitrógeno, se observó por análisis de ccf la formación de un producto más polar. La mezcla heterogénea se concentró a presión reducida y el residuo se disolvió en CH₂Cl₂. La fase orgánica se lavó con una solución de ácido clorhídrico (10%), con solución saturada de cloruro de sodio, se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró al vacío. El residuo fue purificado por cc eluyendo con mezclas de *n*-hexano/AcOEt (gradiente) y subsiguiente purificación por ccf preparativa eluyendo dos veces con una mezcla de *n*-hexano/AcOEt (1:1) dio como resultado la ciclotoquinólida B (**28**), como un sólido blanco (90.0 mg, 57%). El mismo producto se formó, aunque en menor rendimiento (36%), por reflujo con KOH bajo las mismas condiciones.



Sólido blanco, p.f.: 172-173 °C.

R_f: 0.40 (CH₂Cl₂/MeOH 95:5).

UV (EtOH) λ_{max} nm (ε): 217 (18988).

IR (CHCl₃) ν_{max} cm⁻¹: 2961, 2873, 1753, 1709, 1684, 1612, 1362, 1327, 1267, 943.

RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃; asignaciones por COSY y HETCOR) δ: 7.76 (1H, d, J = 7.0 Hz, H-7'), 6.91 (1H, t, J = 3.8 Hz, H-7), 2.92 (1H, m, H-6'), 2.63 (1H, dd, J = 9.0 y 4.0 Hz, H-8'), 2.36 (1H, m, H-6a), 2.24 (1H, m, H-6b), 2.15 (1H, m, H-4'a); 1.92 (2H, m, H-5a, H-5'a), 1.85 (1H, m, H-8), 1.72 (1H, m, H-10'a), 1.59 (3H, m, H-4a, H-5b, H-9a), 1.41 (5H, m, H-4b, H-4'b, H-9'a, H-10a, H-10'b), 1.26 (1H, m, H-5'b), 1.19 (1H, m, H-10b), 0.99 (2H, m, H-9b, H-9'b), 0.88 (6H, 2t, J = 7.2 Hz, H-11 y H-11').

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃, asignaciones por DEPT, HETCOR y FLOCK) δ: 212.6 (C-3'), 168.8 (C-1), 166.3 (C-1'), 154.3 (C-7'), 137.1 (C-7), 134.1 (C-7a'), 132.1 (C-7a), 93.9 (C-3), 57.2 (C-8'), 56.0 (C-3a'), 50.8 (C-3a), 42.0 (C-8), 35.7 (C-6'), 32.5 (C-4), 31.5 (C-9'), 28.8 (C-9), 24.7 (C-6), 23.9 (C-4'), 22.0 (C-10'), 20.7 (C-10), 17.7 (C-5), 16.1 (C-5'), 14.0 (C-11 y C-11').

EMIE m/z (int. rel.): 398 [M⁺] (21), 380 (9), 356 (100), 338 (65), 309 (11), 296 (13), 271 (15), 253 (10), 207 (5), 190 (38), 189 (10), 149 (7), 91 (5), 79 (5).

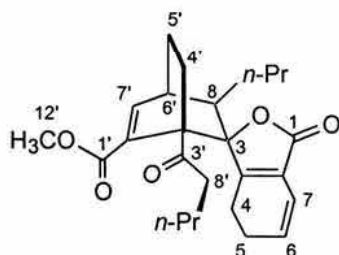
EMAR FAB⁺ (PEG): Observado 399.2193 [MH⁺]. Calculado para C₂₄H₃₀O₅ + H⁺ 399.2171 [MH⁺].

RX : El compuesto **28** pertenece al sistema monoclinico, grupo espacial P2₁/c.

3.2. Metanólisis de Toquinólida B (4). Preparación del Ceto éster 33.

A una solución de toquinólida B (**4**, 76.5 mg, 0.2 mmol) en MeOH anhidro (2 mL) se le adicionó una solución de sodio (50 mg) en MeOH (2.5 mL). Después de agitar la mezcla de reacción a temperatura ambiente por una hora, el análisis por ccf mostró la formación de un producto ligeramente menos polar que la materia prima. La mezcla de reacción fue neutralizada con HCl (solución al 10%), el MeOH se evaporó a presión

reducida y el residuo se extrajo con AcOEt. Los extractos orgánicos se reunieron y lavaron con solución saturada de NaCl, se secaron con Na₂SO₄ anhidro y concentraron al vacío. El residuo se purificó por ccf preparativa, eluyendo con una mezcla de *n*-hexano/AcOEt (85:15) dos veces obteniéndose el ceto éster **33** (42 mg, 51%) como un aceite amarillo pálido, el cual es inestable por lo que se mantuvo en refrigeración bajo atmósfera de nitrógeno.



33

Aceite amarillo pálido.

R_f: 0.38 (*n*-hexane/EtOAc 75:25).

IR (CHCl₃) ν_{max} cm⁻¹: 2960, 2936, 2874, 1747, 1719, 1438, 1268, 1075.

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃; asignaciones por COSY, HETCOR y FLOCK) δ: 7.26 (1H, d, *J* = 6.9 Hz, H-7'), 6.10 (1H, dt, *J* = 9.6 Hz, 1.8, H-7), 5.85 (1H, dt, *J* = 9.6, 3.9 Hz, H-6), 3.69 (3H, s, H-12'), 2.83 (1H, m, H-6'), 2.51 (2H, m, H-8'), 1.65 (2H, m, H-8, H-9'a), 1.42 (1H, m, H-9'b), 1.25 (1H, m, H-10'a), 1.06 (1H, m, H-10'b), 0.86 (6H, 2t, *J* = 6.9 Hz, H-11 or H-11').

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃, asignaciones por DEPT, HETCOR y FLOCK) δ: 208.5 (C-3'), 170.6 (C-1), 166.6 (C-3a), 165.7 (C-1'), 146.3 (C-7'), 136.9 (C-7a'), 128.4 (C-6), 122.3 (C-7a), 116.5 (C-7), 90.4 (C-3), 58.9 (C-3a'), 51.9 (C-12'), 42.7 (C-8), 40.9 (C-8'), 33.3 (C-6'), 27.7 (-CH₂-), 25.2 (C-9',-CH₂-), 22.6 (-CH₂-), 22.0 (2 -CH₂-), 20.7 (C-10'), 18.3 (-CH₂-), 14.0 (C-11 o C-11'), 13.8 (C-11 o C-11').

EMIE *m/z* (int. rel.): 412 [M⁺] (10), 222 (43), 190 (100), 189 (16), 165 (31), 148 (52).

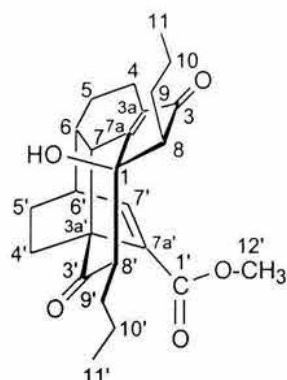
ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA

4. Estudio de la condensación intramolecular de diligustilida (**3**) en medio básico.

4.1. Preparación de **24**.

4.1.1. Experimento 1, Tabla 1a

Bajo condiciones anhidras a una mezcla de diligustilida (**3**, 100 mg, 0.26 mmol) y NaOH (24 mg, 0.60 mmol) se le agregó THF anhidro (10 mL) y MeOH anhidro (0.04 mL, 32 mg, 1 mmol). La mezcla heterogénea se calentó a reflujo y después de 2 horas la mezcla de reacción adquirió una coloración amarilla. La mezcla de reacción se separó del hidróxido de sodio que no reaccionó y se diluyó con CH₂Cl₂ (40 mL). La solución se lavó con solución saturada de NaCl (2x10mL), se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y concentró al vacío obteniéndose **24** (102 mg, 94%).



24

Sólido blanco, p.f.: 150-152°C.

IR (CHCl₃) ν_{\max} cm⁻¹: 3684, 3055, 2962, 2873, 1711, 1672, 1521, 1437, 1277, 1088, 928.

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃; asignaciones por COSY y HMQC) δ : 7.36 (1H, d, J = 6.9 Hz, H-7'), 3.64 (3H, s, OCH₃), 2.90 (1H, m, H-6'), 2.88 (1H, m, H-7), 2.50 (1H, dd, J = 12.0, 1.8 Hz, H-8'), 2.39 (1H, m, H-6), 2.25 (2H, m, H-8, H-4a), 2.18 (1H, m, H-9'a), 2.00 (1H, m, H-4'a), 1.75 (3H, m, H-4b, H-5a, H-5'a), 1.50 (4H, m, H-9, H-10), 1.45 (2H, m, H-

4'b, H-5'b), 1.22 (4H, m, H-5b, H-9'b, H-10'), 0.93 (3H, t, $J = 6.7$ Hz, H-11 o H-11'), 0.92 (3H, t, $J = 7.0$ Hz, H-11 o H-11').

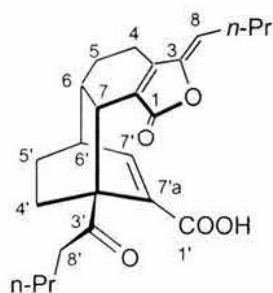
RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3 , asignaciones por DEPT, HMQC y HMBC) δ : 207.5 (C-3'), 206.2 (C-3), 169.0 (C-7a'), 164.1 (C-1'), 148.6 (C-7'), 138.5 (C-7a), 134.9 (C-3a), 81.8 (C-1), 59.1 (C-8'), 54.1 (C-8), 53.6 (C-3a'), 51.8 (C-12'), 40.5 (C-7), 38.4 (C-6), 37.6 (C-6'), 29.9 (C-9), 29.3 (C-4'), 26.4 (C-9'), 26.2 (C-5), 23.7 (C-5'), 21.4 (C-10), 20.6 (C-10'), 17.6 (C-4), 14.5 (C-11), 14.2 (C-11').

EMIE m/z (int. rel.): 412 [M^+] (69), 394 (11), 380 (10), 369 (30), 351 (6), 337 (13), 323 (17), 295 (4), 222 (100), 190 (58), 189 (14), 161 (28), 148 (20), 133 (5), 105 (11), 91 (8), 77 (8), 55 (12), 43 (6), 28 (28), 18 (15).

RX: $\text{C}_{25} \text{H}_{32} \text{O}_5$, cristales pertenecientes al sistema monoclinico, grupo espacial $\text{P2}_1/\text{c}$, (No. 14).

4.1.2. Experimento 3, Tabla 1a.

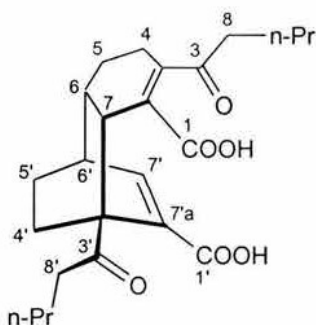
A una solución con agitación magnética de diligustílida (**3**, 100.8 mg, 0.26 mmol) en THF (5 mL) y MeOH (1 mL) se adicionó una solución de Na_2CO_3 (165 mg, 1.56 mmol) en agua (5 mL). Después de 30 min de reflujo, el análisis por ccf de la mezcla de reacción no mostró materia prima, formándose principalmente un producto más polar. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se neutralizó con HCl diluido (10% a pH 3) y entonces se extrajo con AcOEt (4x10 mL). Las fases orgánicas se juntaron y lavaron con solución saturada de NaHCO_3 y salmuera (solución saturada de NaCl), se secaron con Na_2SO_4 anhidro y evaporaron bajo presión reducida. El residuo se purificó por cc flash (*n*-heptano/AcOEt 70:30) para obtener **24** (75 mg, 69%), además de los compuestos de hidrólisis previamente informados en la literatura, desmetiwallichílida (**6**,⁴⁶ 16 mg, 8%), el diceto diácido **7**⁴⁶ (8 mg, 7%) y wallichílida (**21**,⁴⁶ 7 mg, 6%) todos ellos sólidos blancos.



6

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 7.05 (1H, d, $J = 7.0$ Hz, H-7'), 5.10 (1H, t, $J = 7.8$ Hz, H-8), 3.28 (1H, d, $J = 9.0$ Hz, H-7), 3.02 (1H, ddd, $J = 8.4, 6.3, 6.0$ Hz, H-8'a), 2.67 (1H, m, H-6'), 2.60 (1H, dd, $J = 8.4, 6.3$ Hz, H-8'b), 2.55 (1H, dd, $J = 7.5, 7.5$ Hz, H-6), 2.28 (2H, ddd, $J = 7.7, 7.7, 2.0$ Hz, H-4), 2.17 (2H, m, H-9), 1.88 (2H, m, H-5), 1.62 (4H, m, H-4', H-5'), 1.40 (2H, c, $J = 7.0$ Hz, H-10), 1.35 (2H, c, $J = 7.0$ Hz, H-10'), 1.28 (2H, dd, $J = 7.0, 7.0$ Hz, H-9'), 0.93 (3H, t, $J = 7.0$ Hz, H-11), 0.92 (3H, t, $J = 7.0$ Hz, H-11').

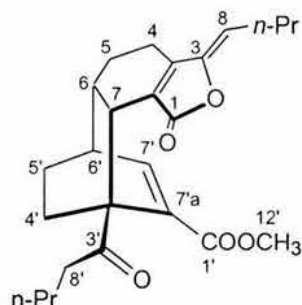
RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 209.57 (C-3'), 170.91 (C-1'), 169.29 (C-1), 153.68 (C-3a), 148.42 (C-3), 142.97 (C-7'), 136.63 (C-7a'), 126.75 (C-7a), 111.55 (C-8), 57.25 (C-3a'), 39.27 (C-7), 38.81 (C-8'), 38.26 (C-6'), 37.79 (C-6), 29.37 (C-4'), 28.48 (C-5), 27.87 (C-9), 27.73 (C-9'), 25.44 (C-5'), 22.31 (C-10, C-10'), 19.04 (C-4), 14.01 (C-11), 13.79 (C-11').



7

RMN ^1H (300 MHz, CD_3OD_3) δ : 7.29 (1H, d, $J = 7.0$ Hz, H-7'), 2.87 (1H, m, H-6'), 2.69 (1H, d, $J = 9.9$ Hz, H-7), 2.44 (1H, m, H-6), 2.22 (4H, dd, $J = 7.8, 7.8$ Hz, H-8, H-8'), 2.10 (1H, m, H-4a), 1.98 (2H, m, H-5), 1.80 (2H, m, H-10), 1.66 (2H, m, H-9a, H-9'a), 1.51

(2H, m, H-9b, H-9'b), 1.24 (2H, m, H-10'), 1.10 (1H, m, H-4b), 0.90 (3H, t, $J = 7.0$ Hz, H-11 o H-11'), 0.89 (3H, t, $J = 7.0$ Hz, H-11 o H-11').



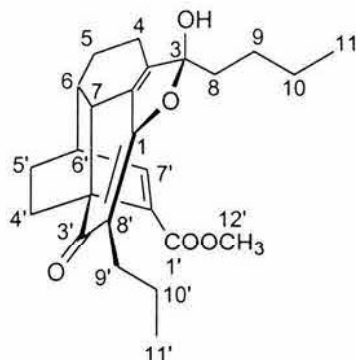
21

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 6.69 (1H, d, $J = 7.0$ Hz, H-7'), 5.06 (1H, t, $J = 8.0$ Hz, H-8), 3.60 (3H, s, H-12'), 3.31 (1H, d, $J = 9.0$ Hz, H-7), 3.05 (2H, ddd, $J = 18.0, 8.4, 6.3$ Hz, H-8'), 2.58 (1H, m, H-7'), 2.49 (1H, m, H-6), 2.30 (2H, c, $J = 7.5$ Hz, H-9), 2.24 (2H, m, H-4), 1.90 (2H, m, H-5), 1.66 (2H, m, H-4'), 1.65 (2H, m, H-9'), 1.55 (2H, m, H-5'), 1.45 (2H, c, $J = 7.2$ Hz, H-10), 1.36 (2H, c, $J = 7.0$ Hz, H-10'), 0.93 (3H, t, $J = 7.2$ Hz, H-11), 0.92 (3H, t, $J = 7.0$ Hz, H-11').

4.2. Preparación de los epímeros 26 y 41. Experimento 7, Tabla 1a.

A una solución de diligustílida (**3**, 202 mg, 0.53 mmol) en MeOH (10 mL) se le adicionó una solución de Na_2CO_3 (678 mg, 6.39 mmol) en agua (10 mL). La mezcla de reacción heterogénea de color amarillo se mantuvo con agitación a reflujo por 3.5 horas, y posteriormente se dejó enfriar a temperatura ambiente, se neutralizó con HCl (10% a pH 3), y se extrajo con AcOEt (5x15 mL). Las fases orgánicas se juntaron y lavaron con salmuera, posteriormente se secaron sobre Na_2SO_4 anhidro y concentraron bajo presión reducida, para obtener un aceite amarillo. El producto crudo se purificó por cc flash, utilizando como sistema eluyente una mezcla de $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{CN}$ con incremento de la polaridad, aislándose los siguientes productos: la mezcla epimérica de **26** y **41** (1:1, sólido blanco, p.f.: 112-114°, 118-123°C, 129 mg, 59%), **24**⁵⁰ (6.8 mg, 3%), **7**⁴⁶ (7 mg, 3%), **42**

(aceite blanco, 8.6 mg, 4 %), y los epímeros **43** (aceite amarillo pálido, 23 mg, 11%) y **44** (aceite amarillo pálido, 23 mg, 11%).



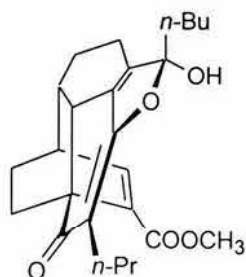
26

Sólido blanco, p.f.: 132-137°C.

RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3 ; asignaciones por COSY y HMQC) δ : 7.28 (1H, d, $J = 6.9$ Hz, H-7'), 3.57 (3H, s, OCH_3), 2.85 (1H, m, H-6'), 2.66 (1H, m, H-7), 2.39 (1H, m, H-6).

RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3 , asignaciones por HMQC, HMBC, NOESY) δ : 200.5 (C-3'), 165.2 (C-1), 163.8 (C-1'), 146.5 (C-7'), 141.8 (C-3a), 136.7 (C-7a'), 133.7 (C-7a), 116.7 (C-3), 112.5 (C-8'), 51.5 ($-\text{OCH}_3$), 49.6 (C-3a'), 38.3 (C-6), 35.8 (C-8), 36.4 (C-6'), 36.3 (C-7), 29.4 (C-5'), 27.9 (C-5), 26.1 (C-9'), 25.2 (C-9), 24.0 (C-4'), 22.4 (C-10), 21.6 (C-10'), 20.1 (C-4), 14.4 (C-11'), 13.8 (C-11).

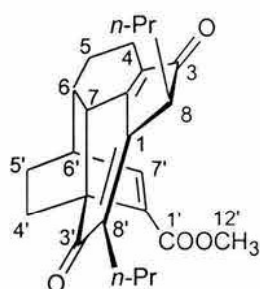
RX: $\text{C}_{25} \text{H}_{32} \text{O}_5 \cdot \frac{1}{2} \text{C}_6\text{H}_{14}$, cristales del sistema monoclinico, grupo espacial $\text{C}2/c$ (No. 15).



41

RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3 ; asignaciones por COSY y HMQC) δ : 7.10 (1H, d, $J = 6.8$ Hz, H-7'), 3.55 (3H, s, OCH_3), 2.83 (1H, m, H-6'), 2.64 (1H, m, H-7), 2.38 (1H, m, H-6).

RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3 , asignaciones por HMQC, HMBC, NOESY) δ : 200.4 (C-3'), 166.1 (C-1'), 165.7 (C-1), 146.3 (C-7'), 143.3 (C-3a), 137.0 (C-7a'), 132.4 (C-7a), 117.3 (C-3), 111.7 (C-8'), 51.8 ($-\text{OCH}_3$), 50.3 (C-3a'), 38.1 (C-6), 37.0 (C-8), 36.6 (C-7), 36.4 (C-6'), 29.6 (C-5'), 27.3 (C-5), 26.1 (C-9'), 25.5 (C-9), 24.4 (C-4'), 22.5 (C-10), 22.0 (C-10'), 20.4 (C-4), 14.2 (C-11'), 13.9 (C-11).



42

Aceite blanco.

UV (MeOH) λ_{max} nm (ϵ): 304 (15288), 218.5 (8666), 207 (8644).

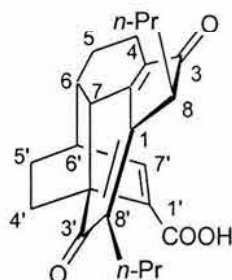
IR (CHCl_3) ν_{max} cm^{-1} : 3524, 2959, 3873, 1709, 1675, 1629, 1439, 1258, 1090, 910.

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3 ; asignaciones por COSY y HMQC) δ : 7.36 (1H, d, $J = 6.9$ Hz, H-7'), 3.59 (3H, s, $-\text{OCH}_3$), 3.14 (1H, m, H-8), 2.94 (1H, m, H-7), 2.91 (1H, m, H-6'), 2.50 (2H, m, H-6, H-9'a), 2.43 (1H, m, H-4a), 2.31 (1H, m, H-9'b), 1.99 (2H, m, H-9a, H-5a), 1.91 (1H, m, H-4b), 1.81 (4H, m, H-4', H-5'a, H-9b), 1.63 (2H, m, H10'), 1.49 (1H, m, H-5'), 0.98 (3H, t, $J = 7.4$ Hz, H-11') 0.90 (1H, m, H-5b), 0.85 (2H, m, H-10), 0.80 (3H, t, $J = 7.2$ Hz, H-11).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3 , asignaciones por DEPT, HMQC y HMBC) δ : 203.5 (C-3), 200.6 (C-3'), 164.7 (C-7a'), 163.6 (C-1'), 147.8 (C-7'), 147.0 (C-8'), 142.4 (C-3a), 136.2 (C-1), 136.0 (C-7a), 51.6 ($\text{CH}_3\text{OOC}-$), 49.5 (C-3a'), 48.0 (C-8), 41.0 (C-7), 39.5 (C-6), 37.0 (C-6'), 29.9 (C-9'), 29.7 (C-9), 29.4 (C-5), 27.4 (C-4'), 24.3 (C-5'), 22.1 (C-10'), 18.9 (C-4), 17.3 (C-10), 14.5 (C-11'), 14.2 (C-11).

EM (FAB⁺) *m/z* (int. rel.): 395 [M⁺+1] (100), 394 (43), 363 (35), 352 (16), 333 (8), 307 (15), 289 (11), 279 (11), 263 (6), 215 (7), 178 (12), 154 (86), 136 (73), 107 (33), 91 (42), 57 (55), 55 (62), 44 (62), 31 (17).

EMAR (FAB⁺) *m/z*: Observado 395.2219 [MH⁺]. Calculado para C₂₅H₃₀O₄+H⁺ 395.2222 [MH⁺].



43

Aceite amarillo pálido.

UV (MeOH) λ_{\max} nm (ϵ): 304 (14288), 207 (9480).

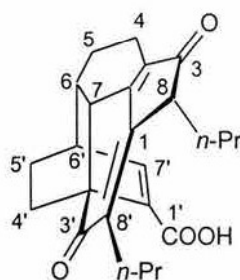
IR (CHCl₃) ν_{\max} cm⁻¹: 3517, 2962, 2934, 2874, 1692, 1631, 1461, 1342, 1259, 1091, 909.

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃; asignaciones por COSY y HMQC) δ : 7.53 (1H, d, *J* = 6.9 Hz, H-7'), 3.13 (1H, m, H-8), 2.93 (1H, m, H-6'), 2.91 (1H, m, H-7), 2.51 (1H, m, H-6), 2.43 (2H, m, H-4a, H-9'a), 2.30 (1H, m, H-9'b), 1.99 (2H, m, H-5a, H-9a), 1.88 (1H, m, H-4b), 1.79 (4H, m, H-4', H-5'a, H-9b), 1.61 (2H, m, H-10'), 1.49 (1H, m, H-5'b), 0.97 (3H, t, *J* = 7.3 Hz, H-11') 0.89 (3H, m, H-5b, H-10), 0.70 (3H, t, *J* = 7.2 Hz, H-11).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃, asignaciones por DEPT, HMQC y HMBC) δ : 203.4 (C-3), 200.1 (C-3'), 167.5 (C-1'), 164.4 (C-7a'), 151.1 (C-7'), 147.3 (C-8'), 142.5 (C-3a), 136.1 (C-1), 135.2 (C-7a), 49.2 (C-3a'), 48.1 (C-8), 40.8 (C-7), 39.6 (C-6), 37.2 (C-6'), 29.9 (C-9'), 29.7 (C-9), 29.3 (C-5), 27.6 (C-4'), 24.0 (C-5'), 21.8 (C-10'), 18.9 (C-4), 17.4 (C-10), 14.6 (C-11'), 14.1 (C-11).

EM (FAB⁺) *m/z* (int. rel.): 381 [M⁺ +1] (26), 380 (6), 363 (5), 338 (5), 307 (24), 289 (12), 191 (4), 165 (7), 154 (100), 136 (68), 120 (10), 107 (20), 89 (18), 77 (17), 55 (6), 51 (5), 39 (5).).

EMAR (FAB⁺) *m/z*: Observado 381.2068 [MH⁺]. Calculado para C₂₄H₂₈O₄+H⁺ 381.2066 [MH⁺].



44

Aceite amarillo pálido.

UV (MeOH) λ_{\max} nm (ϵ): 302.5 (13444), 207 (9916).

IR (CHCl₃) ν_{\max} cm⁻¹: 3521, 2962, 2933, 2873, 1692, 1630, 1422, 1343, 1258, 1169, 1087, 908.

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃; asignaciones por COSY y HMQC) δ : 7.52 (1H, d, *J* = 6.8 Hz, H-7'), 3.07 (1H, m, H-8), 2.96 (1H, m, H-7), 2.92 (1H, m, H-6'), 2.49 (1H, m, H-6), 2.43 (1H, m, H-4a), 2.29 (2H, m, H-9'), 1.95 (2H, m, H-5a, H-9a), 1.87 (1H, m, H-4b), 1.78 (3H, m, H-4', H-5'a), 1.71 (1H, m, H-9b), 1.51 (1H, m, H-5'b), 1.38 (2H, m, H-10'), 1.11 (1H, m, H-10a), 0.99 (3H, t, *J* = 7.3 Hz, H-11'), 0.88 (2H, m, H-5b, H-10b), 0.84 (3H, t, *J* = 7.3 Hz, H-11).

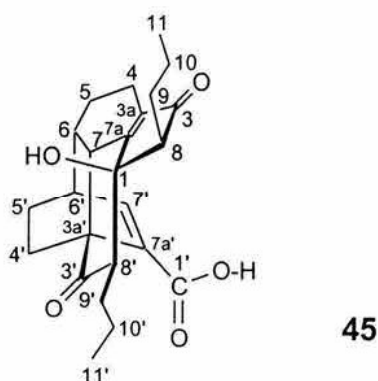
RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃, asignaciones por DEPT, HMQC y HMBC) δ : 203.8 (C-3), 200.3 (C-3'), 167.6 (C-1'), 164.1 (C-7a'), 151.0 (C-7') 147.9 (C-8') 142.1 (C-3a), 135.6 (C-1), 135.0 (C-7a), 49.8 (C-3a'), 48.3 (C-8), 40.7 (C-7), 39.7 (C-6), 37.1 (C-6'), 31.9 (C-9), 30.7 (C-9'), 28.6 (C-5), 28.5 (C-4'), 23.6 (C-5'), 22.5 (C-10'), 18.8 (C-4), 18.0 (C-10), 14.8 (C-11'), 14.1 (C-11).

EM (FAB⁺) *m/z* (int. rel.): 381 [M⁺+1] (78), 380 (26) 363 (25), 338 (31), 336 (10), 307 (18), 289 (11), 178 (8), 155 (28), 154 (100), 136 (77), 109 (21), 95 (37), 81 (42), 69 (66), 55 (85), 44 (81), 42 (61), 31 (18).

EMAR (FAB⁺) *m/z*: Observado 381.2068 [MH⁺]. Calculado para C₂₄H₂₈O₄+H⁺ 381.2066 [MH⁺].

4.3. Preparación de 45. Experimento 15, Tabla 1b.

A una solución de diligustílida (**3**, 100 mg, 0.26 mmol) en acetona (5 mL), se agregó una solución de NaOH (28.5 mg, 0.71 mmol) en agua (5 mL), y la mezcla heterogénea de color amarillo se agitó a temperatura ambiente. Después de dos horas la mezcla de reacción se homogenizó, y entonces fue acidulada con una solución de HCl (10%, pH 1) y se extrajo con AcOEt (3x10 mL). Las fases orgánicas se reunieron y lavaron con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro y concentraron bajo presión reducida. El residuo (aceite amarillo) se purificó por ccf preparativa, eluyendo tres veces en una mezcal de CH₂Cl₂/MeOH (95:5), obteniéndose el diceto diácido **7**,⁴⁶ (39 mg, 36%) y el producto de condensación intramolecular **45** (34 mg, 32%).



Sólido blanco, p.f.: 188-190°C.

UV (MeOH) λ_{\max} nm (ϵ): 305.5 (2020), 232.5 (2655).

IR (CHCl₃) ν_{\max} cm⁻¹: 3693, 3603, 3515, 2962, 2874, 1705, 1603, 1425, 1063, 926.

RMN ^1H (300 MHz, CD_3OD ; asignaciones por COSY y HETCOR) δ : 7.37 (1H, d, $J = 6.9$ Hz, H-7'), 2.93 (1H, m, H-6'), 2.91 (1H, m, H-7), 2.55 (1H, dd, $J = 9.9, 2.1$ Hz, H-8'), 2.44 (1H, m, H-6), 2.24 (2H, m, H-8, H-9'a), 2.15 (1H, m, H-4a), 1.95 (1H, m, H-4'a), 1.81 (3H, m, H-4b, H-5a, H-5'a), 1.68 (1H, m, H-10a), 1.54 (3H, m, H-9a, H-10b, H-10'a), 1.44 (2H, m, H-4'b, H-5'b), 1.35 (2H, m, H-5b, H-9b), 1.24 (2H, m, H-9'b, H-10'b), 0.95 (3H, t, $J = 6.9$ Hz, H-11), 0.90 (3H, t, $J = 6.9$ Hz, H-11').

RMN ^{13}C (75 MHz, CD_3OD , asignaciones por DEPT, HETCOR y FLOCK) δ : 209.7 (C-3'), 209.1 (C-3), 172.4 (C-7a'), 167.1 (C-1'), 149.2 (C-7'), 138.8 (C-7a), 137.2 (C-3a), 82.4 (C-1), 60.6 (C-8'), 55.8 (C-8), 54.8 (C-3a'), 41.9 (C-7), 39.7 (C-6), 39.0 (C-6'), 30.9 (C-9), 30.2 (C-4'), 27.9 (C-9'), 27.4 (C-5), 25.0 (C-5'), 22.6 (C-10), 21.7 (C-10'), 18.6 (C-4), 14.9 (C-11), 14.6 (C-11').

EM (FAB $^+$) m/z (int. rel.): 399 [$\text{M}^+ + 1$] (12), 381 (22), 363 (10), 329 (4), 307 (26), 289 (14), 191 (7), 176 (6), 154 (100), 136 (66), 120 (10), 107 (20), 89 (17), 77 (16), 55 (7), 41 (6), 39 (6).

EMAR (FAB $^+$) m/z : Observado 399.2175 [MH^+]. Calculado para $\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{O}_5 + \text{H}^+$ 399.2171 [MH^+].

RX: $\text{C}_{48}\text{H}_{60}\text{O}_{10}$, cristales pertenecientes al sistema ortorrómbico, grupo espacial, $\text{Pna}2_1$ (No. 33).

5. Hidrólisis de diligustílida (3).

5.1. Preparación de desmetilwallichílida (6) y el diceto diácido 7.

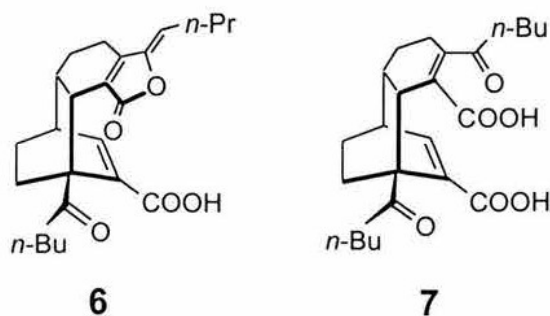
5.1.1. Experimento 8, Tabla 1b.

La diligustílida (3) (100.2 mg, 0.26 mmol) se disolvió en acetona (5 mL), a la solución se le añadió con ayuda de agitación magnética, una solución de Na_2CO_3 (100.8 mg, 0.95 mmol, 3.7 eq.) en 5 mL de agua. La suspensión formada se calentó a reflujo.

Después de 30 min. de calentamiento la suspensión desapareció quedando una solución de color ligeramente amarillo. El calentamiento se dejó 3 horas más y se suspendió, dejando enfriar la mezcla de reacción a temperatura ambiente. Por cc se observó la formación de dos productos más polares que la materia prima, la cual había reaccionado casi en su totalidad. La mezcla de reacción se aciduló con HCl (10%, pH 4) y se extrajo con AcOEt (3 x 10 mL). Las fases orgánicas se reunieron, lavaron con salmuera, secaron sobre Na₂SO₄ anhidro y concentraron al vacío. El residuo obtenido, sólido amarillo (152 mg), se purificó por cc, eluyendo con una mezcla de *n*-hexano/AcOEt (gradiente), recuperándose materia prima (4 mg). El compuesto que eluyó primero de la columna después de la diligustilida (**3**) correspondió a la desmetilwallichilida (**6**), sólido blanco cristalino (47 mg, 45%), cuyas constantes espectroscópicas concuerdan con las ya reportadas,⁴⁶ mientras que el producto más polar correspondió al diceto diácido (**7**), sólido blanco (20 mg, 18%), también ya informado.⁴⁶

5.1.2. Experimento 11, Tabla 1b.

A una solución de diligustilida (**3**, 100 mg, 0.26 mmol) en acetona (5 mL) se agregó una solución de Na₂CO₃ (330 mg, 3.12 mmol) en agua (5 mL), y la mezcla se agitó y calentó a reflujo por 8 h. Después de enfriar a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se aciduló con una solución de HCl (10%, pH 3) y se extrajo con AcOEt (3x10 mL). Las fases orgánicas se juntaron y lavaron con solución saturada de NaCl, posteriormente se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro y concentraron bajo presión reducida. El residuo (sólido amarillo) fue purificado por cc flash utilizando como sistema eluyente una mezcla de CH₂Cl₂/MeOH (gradiente) aislándose la desmetilwallichilida (**6**,⁴⁶ 18 mg, 17%) y el diceto diácido **7**,⁴⁶ (74 mg, 68%).



6. Reacciones catalizadas por ácidos de las ftálicas diméricas diligustílida (3) y toquinólida B (4).

6.1. Toquinólida B (4) con ácidos de Brønsted.

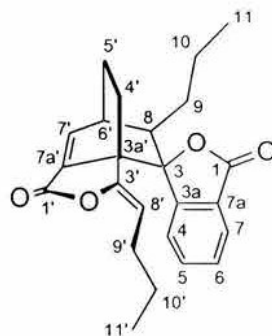
6.1.1. Tratamiento con pTsOH·H₂O.

La toquinólida B (4, 50 mg, 0.13 mmol) se disolvió en benceno (15 mL) con ayuda de agitación magnética. A la solución resultante se le agregó pTsOH·H₂O (375 mg, 1.97 mmol, 15 eq.). La mezcla heterogénea se calentó a reflujo por 2 h (a temperatura ambiente no hubo reacción y a reflujo por 8 h con 5 eq. la reacción mostró un perfil similar en ccf), tornándose la solución negra y observándose por ccf la formación de un producto menos polar que la materia prima al eluir en tolueno varias veces. La mezcla de reacción se dejó enfriar a temperatura ambiente y se lavó con solución saturada de NaHCO₃ (4 x 15 mL), con salmuera (2 x 10 mL) y se secó sobre Na₂SO₄ anhidro. El disolvente se evaporó al vacío quedando un aceite de color café oscuro (47 mg).

El producto crudo se purificó por ccf preparativa eluyendo con tolueno 11 veces, separándose dos productos que se extrajeron de la SiO₂ con acetona y se evaporó el disolvente al vacío. Del producto menos polar se obtuvo un sólido blanco (8.5 mg), así como del producto más polar (12.7 mg). Por análisis de RMN ¹H se logró determinar que el producto más polar correspondía a la materia prima (recuperándose el 25%) y el producto menos polar correspondió al compuesto aromático 4,5-dehidrotoquinólida B (46, 8.5 mg, 17%).

Para verificar que la transformación de la toquinólida B (4) en la 4,5-dehidrotoquinólida B (46) requería de catálisis ácida se llevó a cabo el siguiente experimento:

El dímero toquinólida B (4, 50 mg, 0.13 mmol) se disolvió en benceno (8 mL) y la solución resultante se calentó a reflujo por 8 h, después de éste tiempo se tomó una alícuota y se comparó por ccf contra la toquinólida B (4) y la 4,5-dehidrotoquinólida B (46) eluyendo con tolueno varias veces, observándose que la materia prima no se había transformado.



46

Sólido blanco cristalino, p.f.: 88-90°C.

UV (MeOH) λ_{\max} nm (ϵ): 275.8 (3970), 228.0 (17705), 204.4 (27558).

IR (CHCl₃) ν_{\max} cm⁻¹: 2961, 2933, 2873, 1766, 1704, 1663, 1465, 1285, 1170, 1096, 1022, 947.

RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃; asignaciones por COSY y HMQC) δ : 7.80 (1H, dt, J = 7.5, 1.0 Hz, H-7), 7.69 (1H, d, J = 6.5 Hz, H-7'), 7.57 (1H, td, J = 7.5, 1.0 Hz, H-5), 7.48 (1H, td, J = 6.5, 1.0 Hz, H-6), 7.10 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-4), 4.56 (1H, dd, J = 8.8, 6.8 Hz, H-8'), 3.17 (1H, m, H-6'), 2.57 (1H, t, J = 9.3 Hz, H-4'a), 2.13 (1H, m, H-5'a), 1.95 (1H, m, H-8), 1.84 (1H, m, H-9'a), 1.75 (1H, m, H-9'b), 1.51 (1H, m, H-9a), 1.37 (3H, m, H-4'b, H-5'b, H-9b), 1.19 (1H, m, H-10a), 1.00 (2H, m, H-10b, H-10'a), 0.90 (1H, m, H-10'b), 0.79 (3H, t, J = 7.3 Hz, H-11), 0.55 (3H, t, J = 7.5 Hz, H-11').

RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃, asignaciones por DEPT, HMQC y HMBC) δ : 170.0 (C-1), 164.3 (C-1'), 152.5 (C-3a), 148.4 (C-3'), 145.4 (C-7'), 134.8 (C-5), 133.2 (C-7a'), 129.5 (C-6), 126.2 (C-7a), 125.2 (C-7), 121.0 (C-4), 107.2 (C-8'), 88.5 (C-3), 51.1 (C-3a'), 47.2 (C-8), 37.2 (C-6'), 28.9 (C-9), 27.4 (C-4'), 26.7 (C-9'), 22.1 (C-10'), 21.1 (C-10), 17.1 (C-5'), 14.0 (C-11), 13.2 (C-11').

EMIE m/z (int. rel.): 378 [M⁺] (3), 190 (100), 189 (15), 161 (24), 148 (50), 146 (5), 134 (4), 105 (10), 103 (3), 77 (4), 55 (8), 18 (5).

RX: C₂₄ H₂₆ O₄, cristales pertenecientes al sistema monoclinico, grupo espacial P2₁/n.

6.1.2. Tratamiento con HClO₄ al 70%.

El dímero toquinólida B (**4**, 75 mg, 0.19 mmol) se disolvió en THF grado HPLC (8 mL) con ayuda de agitación magnética y se le adicionó HClO₄ al 70 % (0.05 mL). La mezcla de reacción se calentó a reflujo por un período de 2 h (a temperatura ambiente por un período de 8 h no hubo reacción). Después de éste tiempo la mezcla de reacción se dejó enfriar y se monitoreó por ccf, observándose lo que al parecer era materia prima sin reaccionar así como una serie de compuestos que no revelan bajo la luz UV, pero si en presencia de una solución de sulfato cérico amoniacal en ácido sulfúrico.

La mezcla de reacción se diluyó con 10 mL de agua y se neutralizó con una solución de NaOH al 10%, posteriormente se evaporó el exceso de THF en el rotavapor. La solución resultante se extrajo con CHCl₃ (4 x 10 mL), las fases orgánicas se reunieron, lavaron con salmuera (2 x 10 mL), secaron sobre Na₂SO₄ anhidro y concentraron al vacío, obteniéndose un aceite de color café oscuro (675 mg) el cual se purificó por cc eluyendo con una mezcla de Hexano/AcOEt (90:10). El desarrollo de la columna se siguió por medio de ccf. Las fracciones con el producto que revela a la luz UV con el mismo R_f que la materia prima se reunieron y concentraron al vacío, recuperándose un aceite con formación de cristales ligeramente amarillo (35 mg). El producto obtenido se analizó por RMN ¹H observándose que se trataba de la mezcla de **4** con la 4,5-dehidrotoquinólida B (**46**).

Los 35 mg de la mezcla se purificaron por ccf preparativa eluyendo en tolueno 11 veces, lográndose separar dos compuestos que se extrajeron de la SiO₂ con acetona y concentraron al vacío, recuperándose la toquinólida B (**4**, 3 mg, 4%), mientras que el otro producto ligeramente menos polar que la materia prima correspondió al producto aromático 4,5-dehidrotoquinólida B (**46**, 8 mg, 11%).

6.2. Toquinólida B (**4**) con ácidos de Lewis.

6.2.1. Tratamiento con TiCl₄.

A una solución con agitación de toquinólida B (**4**, 100.3 mg, 0.26 mmol) en CH₂Cl₂ (10 mL), se adicionó el TiCl₄ (0.35 mL, 598.6 mg, 3.16 mmol, 12eq.), precipitando un sólido de color amarillo oscuro. La agitación a temperatura ambiente hasta por 5 días no

mostró transformación de la materia prima, así que se agregó más TiCl_4 (hasta 36 eq.) y se calentó a reflujo la mezcla de reacción. Sin embargo, aún después de 4 días de calentamiento, la materia prima no reaccionó por completo, formándose un producto menos polar que revela azul a la luz UV. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se lavó con una solución saturada de NH_4Cl (5x10 mL), con salmuera (15 mL) y se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, concentrándose al vacío para obtener un aceite de color café (87 mg), que se purificó por cc flash (*n*-heptano/AcOEt gradiente), recuperándose materia prima (**4**, 32.2 mg, 32%) y aislándose la 4,5-dehidrotoquinólida B (**46**, 10.6 mg, 11%), y el monómero Z-ligustílida (**1**, 4 mg, 8%), producto menos polar que **4**, además de una mezcla compleja de productos más polares.

6.2.2. Tratamiento con Et_2OBF_3 .

A una solución de toquinólida B (**4**, 80 mg, 0.21 mmol) en CH_2Cl_2 (8 mL), se le adicionó lentamente Et_2OBF_3 (1 mL, 1.15 g, 8.13 mmol, 38 eq.) y se calentó a reflujo por 7 h. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, se lavó con una solución saturada de Na_2CO_3 (4x8 mL), con solución saturada de NaCl y se secó con Na_2SO_4 anhidro, concentrándose a presión reducida. El producto crudo (aceite de color café, 77 mg) se purificó por cc flash (*n*-heptano/AcOEt gradiente), recuperándose más de la mitad de la materia prima (**4**, 42.1 mg, 53%) y aislándose la 4,5-dehidrotoquinólida B (**46**, 4.2 mg, 5%).

6.3. Diligustílida (**3**) con ácidos de Brönsted.

6.3.1. Tratamiento con $\text{pTsOH}\cdot\text{H}_2\text{O}$.

El dímero diligustílida (**3**, 50 mg, 0.13 mmol) se disolvió en benceno (5 mL) y se le agregó $\text{pTsOH}\cdot\text{H}_2\text{O}$ (132 mg, 0.69 mmol, 5.3 eq). La mezcla de reacción se calentó a reflujo por 5 h (a temperatura ambiente no hubo reacción) tornándose la solución oscura, después de lo cual se observó por ccf que el producto mayoritario al parecer era materia prima sin reaccionar, y sólo se formó en menor cantidad un producto más polar. La mezcla de reacción se lavó con una solución saturada de NaHCO_3 (3 x 10 mL), seguida de salmuera (2 x 10 mL) y se secó sobre Na_2SO_4 anhidro. La solución se concentró al vacío obteniéndose un aceite de color anaranjado (46 mg), el cual se analizó por RMN ^1H

observándose que se trataba de una mezcla de la materia prima con otro producto. Cuando se trató de purificar la mezcla por cc preparativa el producto más polar se descompuso, recuperándose únicamente 7 mg (14%) de la materia prima.

6.3.2. Tratamiento con HClO₄ al 70%.

Se disolvió la diligustílida (**3**, 50 mg, 0.13 mmol) en THF grado HPLC (8 mL), y entonces se agregó HClO₄ al 70% (0.06 mL). La solución se mantuvo con agitación magnética y se calentó a reflujo por 5 h (a temperatura ambiente no se observa transformación), tornándose la solución negra. Se suspendió el calentamiento y se analizó por cc, observándose un producto menos polar y otro más polar que la materia prima. Sin embargo, se forman también una serie de compuestos que no revelan con luz UV y si con sulfato cérico amoniacal.

Como la materia prima había reaccionado, se trabajó la reacción evaporándose el exceso de THF, el residuo (aceite espeso negro) se diluyó en 20 mL de agua (sin solubilizarse totalmente) y se neutralizó con una solución de NaOH al 10%. Se extrajo con CH₂Cl₂ (5 x 10 mL) y las fases orgánicas se reunieron, se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro y concentraron al vacío, resultando un aceite espeso de color café oscuro (373 mg). El producto crudo de la reacción se purificó por cc, eluyendo con una mezcla de *n*-hexano/AcOEt (80:20). El producto menos polar se obtuvo como un aceite ligeramente amarillo (14 mg) al igual que el producto más polar (7 mg). Ambos productos separados se analizaron por RMN ¹H resultando mezclas complejas, que no fue posible purificarlas.

6.4. Diligustílida (**3**) con ácidos de Lewis.

6.4.1. Tratamiento con TiCl₄.

A una solución de diligustílida (**3**, 100.6 mg, 0.26 mmol) en CH₂Cl₂ (10 mL) se le adicionó TiCl₄ (0.34 mL, 601.0 mg, 3.16 mmol, 12 eq.). La solución roja se calentó a reflujo un día. La mezcla de reacción se enfrió y lavó con una solución saturada de NH₄Cl (3x5 mL), con salmuera (5 mL), se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y concentró al vacío para obtener un aceite de color amarillo (107 mg), que se purificó por cc flash *n*-heptano/AcOEt (80:20), recuperándose únicamente la materia prima (87 mg, 87%).

6.4.2. Tratamiento con Et₂OBF₃.

a) A temperatura ambiente.

A una solución de diligustílida (**3**, 100.5 mg, 0.26 mmol) en CH₂Cl₂ (10 mL) se le adicionó Et₂OBF₃ (0.4 mL, 462 mg, 3.25 mmol, 12 eq.). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente por un período de 45 h, adquiriendo una coloración rosa, observándose por ccf que la materia prima casi había reaccionado en su totalidad, transformándose en un producto más polar. La mezcla de reacción se diluyó con CH₂Cl₂ (10 mL) y se lavó con solución saturada de NaHCO₃ (4x5 mL), con solución saturada de NaCl (3x5 mL), se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y concentró al vacío, obteniéndose como residuo un aceite amarillo (103 mg), el cual se purificó por cc flash, eluyendo primero con CH₂Cl₂, recuperándose la materia prima que no reaccionó (4 mg, 4%), y posteriormente con CH₂Cl₂/MeOH (98:2), para obtener el producto más polar que correspondió a la desmetilwallichílida (**6**, sólido blanco, 91 mg, 87%).

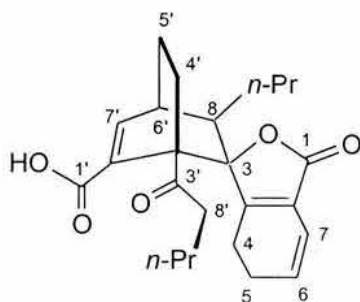
b) A reflujo.

A una solución de diligustílida (**3**, 100.4 mg, 0.26 mmol) en CH₂Cl₂ (10 mL) se le adicionó Et₂OBF₃ (0.4 mL, 462 mg, 3.25 mmol, 12 eq.). Después de 5 horas de calentamiento a reflujo el análisis por ccf mostró la formación de un producto más polar, sin embargo la materia prima no reaccionó por completo. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se lavó con solución saturada de NaHCO₃ (3x5 mL), con solución saturada de NaCl (3x5 mL), se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y concentró al vacío, obteniéndose un aceite amarillo. El producto crudo se purificó por cc flash eluyendo con CH₂Cl₂ para recuperar la materia prima que no reaccionó (**3**, 38 mg, 38%) y después se eluyó con una mezcla de CH₂Cl₂/MeOH (98:2), para obtener la desmetilwallichílida (**6**, 58 mg, 55%).

7. Hidrólisis de toquinólida B (4).

7.1. Preparación del ceto ácido 32.

A una solución de toquinólida B (4, 150 mg, 0.39 mmol) en acetona (15 mL) se agregó una solución de Na₂CO₃ en agua (10%, 15 mL, 14.15 mmol), y la mezcla se agitó y calentó a reflujo por 40 min. La mezcla de reacción se aciduló con HCl diluido (10%, pH 4) y se extrajo con AcOEt. Las fases orgánicas reunidas se lavaron con solución saturada de NaCl, se secaron con Na₂SO₄ anhidro y concentraron al vacío. El material resultante se recristalizó de AcOEt/*n*-hexano, dando como resultado el ceto ácido 32 (132 mg, 84%) como un sólido blanco, el cual fue necesario almacenar en refrigeración bajo atmósfera de nitrógeno por su inestabilidad.



Sólido blanco, p.f.: 187-189°C.

R_f: 0.30 (*n*-hexane/EtOAc 3:2).

IR (CHCl₃) ν_{max} cm⁻¹: 3514, 2960, 2875, 1747, 1706, 1689, 1651, 1612, 1435, 1276, 1072.

RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃; asignaciones por COSY, HETCOR) δ: 7.48 (1H, d, *J* = 7 Hz, H-7'), 6.12 (1H, dt, *J* = 9.7 Hz, 1.8, H-7), 5.86 (1H, dt, *J* = 9.7, 3.9 Hz, H-6), 2.88 (1H, m, H-6'), 2.35 (2H, m, H-8'), 1.64 (1H, m, H-9'a), 1.60 (1H, m, H-8), 1.42 (1H, m, H-9'b), 1.25 (1H, m, H-10'a), 1.08 (1H, m, H-10'b), 0.86 (3H, t, *J* = 6.8 Hz, H-11 o H-11'), 0.85 (3H, t, *J* = 6.8 Hz, H-11 o H-11').

RMN ¹³C (50 MHz, CDCl₃, asignaciones por DEPT y HETCOR) δ: 208.2 (C-3'), 170.7 (C-1), 169.8 (C-1'), 166.6 (C-3a), 149.5 (C-7'), 136.0 (C-7a'), 128.3 (C-6), 122.2 (C-

7a), 116.4 (C-7), 90.2 (C-3), 58.5 (C-3a'), 42.6 (C-8), 40.9 (C-8'), 33.5 (C-6'), 27.5 (-CH₂-), 25.2 (C-9',-CH₂-), 22.6 (-CH₂-), 22.1 (-CH₂-), 21.9 (-CH₂-), 20.7 (C-10'), 18.2 (-CH₂-), 14.0 (C-11 o C-11'), 13.9 (C-11 o C-11').

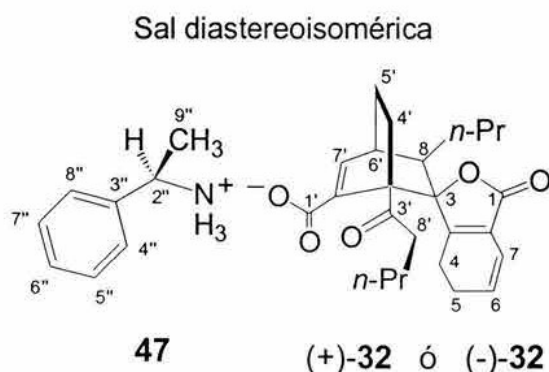
EMIE m/z (int. rel.): 398 [M⁺] (7), 191 (50), 190 (100), 148 (64), 120 (6), 105 (10), 77 (7), 55 (10).

8. Experimentación en la resolución de las ftálicas diméricas diligustílica (3) y toquinólida B (4).

8.1. Preparación de las sales diastereoisoméricas de la mezcla racémica del ceto ácido 32.

8.1.1. Utilizando la *R*-(+)- α -metilbencilamina (33).

En un vial se colocó el ceto ácido 32 (50.3 mg, 0.12 mmol) y se disolvió en isopropanol grado HPLC (0.3 mL) con ayuda de calentamiento (55°C). La solución se purgó con Ar^o y se le añadió la amina quiral *R*-(+)- α -metilbencilamina (47) (16 μ L, 15.3 mg, 0.12 mmol, 1 eq.). La mezcla se mantuvo en refrigeración para inducir la cristalización. Los cristales formados se separaron por filtración (24.8 mg). Sin embargo, los cristales obtenidos no fueron convenientes para su análisis de difracción de rayos X.



Cristales incoloros. $[\alpha]_D = +8.57$ (c 6.3, MeOH).

UV (MeOH) λ_{\max} nm (ϵ): 289.0 (3975), 210.0 (15107).

RMN ^1H (500 MHz, Acetona- d_6 ; asignaciones por COSY y HMQC) δ : 7.38 (3H, m, H-7', H-4'', H-8''), 7.26 (2H, m, H-5'', H-7''), 7.17 (1H, m, H-6''), 6.01 (1H, dt, $J = 9.5, 2.0$ Hz, H-7), 5.84 (1H, m, H-6), 4.65 (1H, c, $J = 6.5$ Hz, H-2''), 2.89 (1H, m, H-6'), 2.55 (2H, m, H-5a, H-8'a), 2.34 (2H, m, H-5b, H-8'b), 1.71 (1H, m, H-8), 1.40 (2H, m, H-5'), 1.34 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-9''), 0.84 (3H, t, $J = 7.5$ Hz, H-11 o H-11'), 0.82 (3H, t, $J = 7.5$ Hz, H-11 o H-11').

RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3 , asignaciones por DEPT, HMQC y HMBC) δ : 208.0 (C-3'), 170.8 (C-1), 167.9 (C-3a), 167.0 (C-1'), 147.3 (C-7'), 147.0 (C-3''), 138.8 (C-7a'), 129.0 (C-8''), 129.0 (C-4''), 128.7 (C-6), 127.5 (C-7''), 127.5 (C-5''), 127.2 (C-6''), 122.7 (C-7a), 117.5 (C-7), 90.5 (C-3), 59.8 (C-2''), 58.8 (C-3a'), 43.9 (C-8), 41.2 (C-8'), 34.1 (C-6'), 24.9 (C-9''), 14.4 (C-11 o C-11'), 14.2 (C-11 o C-11').

EMIE m/z (int. rel.): 504 [M^+] (1), 398 (10), 208 (14), 190 (100), 189 (21), 148 (70), 134 (5), 106 (27), 105 (11), 79 (10), 77 (9), 55 (7), 41 (4), 29 (3), 18 (2).

EM (FAB $^+$) m/z (int. rel.): 520 [$\text{M}^+ + 1$] (40), 519 (4), 399 (21), 398 (7), 307 (5), 275 (7), 191 (55), 162 (40), 122 (100), 105 (95), 77 (10), 57 (8), 41 (6), 18 (6).

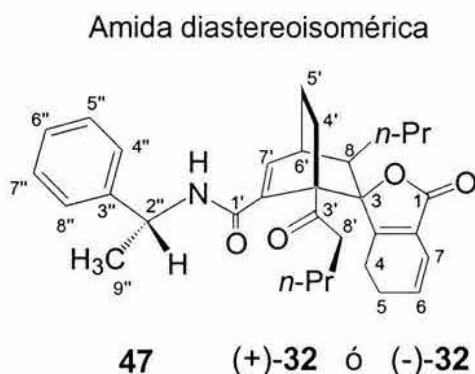
8.1.2. Utilizando la S-(-)- α -metilbencilamina (48).

Se llevó a cabo el mismo procedimiento anterior pero utilizando el enantiómero S (48) de la amina quiral, solo que en este caso la formación de cristales fue más lenta. Al igual que el experimento anterior no fue posible el análisis de los cristales por difracción de rayos X.

8.2. Preparación de las amidas diastereoisoméricas.

8.2.1. Amida diastereoisomérica del ceto ácido **32** con la *R*-(+)-metilbencilamina (**47**).

A una solución con agitación magnética del ceto ácido **32** (100 mg, 0.25 mmol) en CH₂Cl₂ seco (1.5 mL) y piridina seca (26 μL, 26.0 mg, 0.33 mmol, 1.3 eq.) bajo atmósfera de Ar° a -30°C (etilenglicol-hielo seco) se le adicionó SOCl₂ (22 μL, 35.7 mg, 0.3 mmol, 1.2 eq.) y se mantuvo la agitación por 2 h. Posteriormente se adicionó a -20°C la amina quiral *R*-(+)-α-metilbencilamina (**47**, 32 μL, 30.3 mg, 0.25 mmol, 1.0 eq.) y dejó subir la temperatura a 0°C en un intervalo de 2.5 horas. Cuando la mezcla de reacción alcanzó la temperatura ambiente se tomó una alícuota y se analizó por ccf, observándose la formación de tres productos menos polares que la materia prima, la cual había reaccionado casi en su totalidad. A la mezcla de reacción se le adicionó solución saturada de NaCl (2.5 mL) y se extrajo con CH₂Cl₂ (5x4 mL). Las fases orgánicas se lavaron con salmuera, secaron sobre Na₂SO₄ anhidro y concentraron al vacío para obtener un aceite de color amarillo (98 mg), el cual se purificó por cc flash eluyendo con mezclas de *n*-heptano/AcOEt (gradiente), recuperándose el 39% de toquinólida B (**4**), producto de la reaccionización de **32** y el 3% del compuesto aromático **46**, además de las amidas diastereoisoméricas **54** y **55**, en un rendimiento del 10%.



Aceite incoloro. $[\alpha]_D = +137.8$ (c 1.32, MeOH).

UV (MeOH) λ_{\max} nm (ϵ): 285.5 (3960), 208.5 (21272).

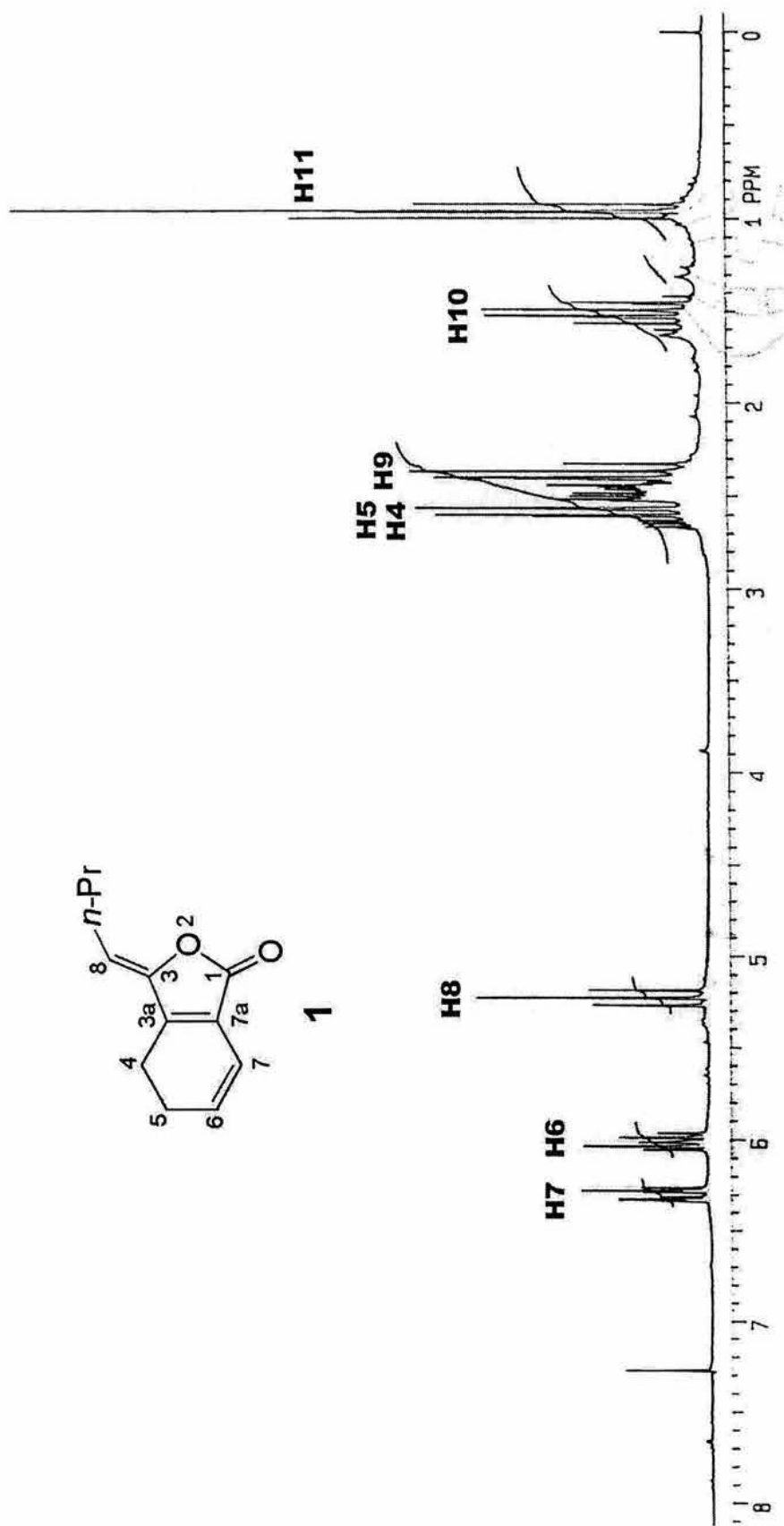
RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3 ; asignaciones por COSY y HMQC) δ : 7.32 (5H, m, H-4'', H-5'', H-6'', H-7'', H-8''), 6.81 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-7'), 6.12 (1H, dt, $J = 9.6, 2.0$ Hz, H-7), 5.90 (1H, m, H-6), 5.10 (1H, c, $J = 7.2$ Hz, H-2''), 2.74 (2H, m, H-4a, H-6'), 2.60 (3H, m, H-4'a, H-5a, H-8'a), 2.42 (1H, m, H-8'b), 2.28 (2H, m, H-4b, H-5b), 2.04 (1H, m, H-5'a), 1.68 (1H, m, H-4'b), 1.60 (1H, m, H-8), 1.51 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H-9''), 1.40 (5H, m, H-5'b, H-9, H-9'), 0.85 (6H, m, H-11, H-11').

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3 , asignaciones por DEPT, HMQC y HMBC) δ : 209.2 (C-3'), 170.6 (C-1), 166.1 (C-3a), 165.7 (C-1'), 142.9 (C-3''), 142.2 (C-7a'), 139.0 (C-7'), 128.7 (C-5''), 128.7 (C-7''), 128.2 (C-6), 127.4 (C-6''), 126.0 (C-4''), 126.0 (C-8''), 122.4 (C-7a), 116.5 (C-7), 90.7 (C-3), 59.4 (C-3a'), 48.6 (C-2''), 43.5 (C-8), 41.2 (C-8'), 32.9 (C-6'), 27.5 (C-9), 25.7 (C-4'), 25.3 (C-9'), 22.6 (C-5), 22.4 (C-4), 22.1 (C-10 ó C-10'), 21.8 (C-9''), 20.8 (C-10 ó C-10'), 18.5 (C-5'), 14.0 (C-11 ó C-11'), 13.9 (C-11 ó C-11').

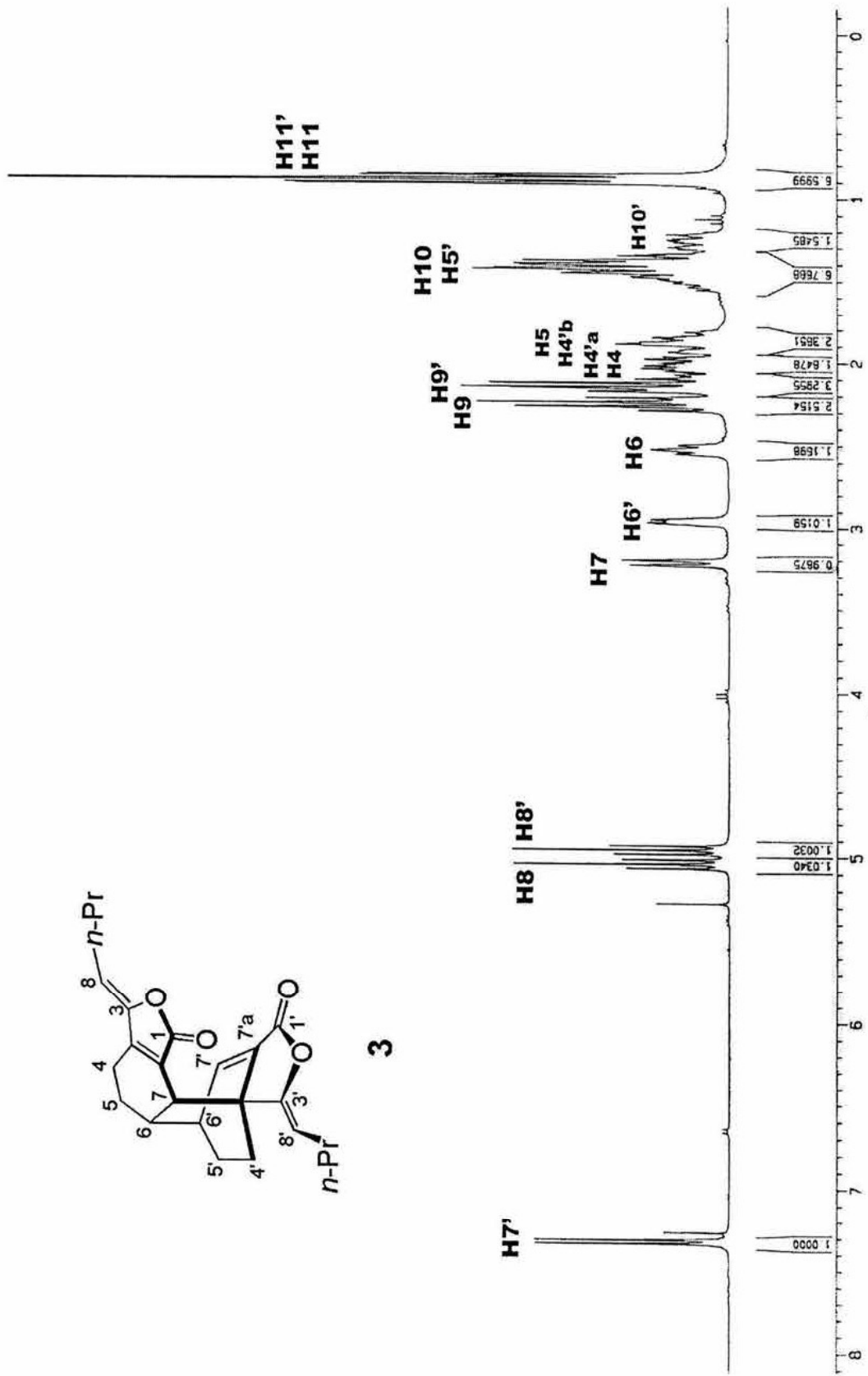
8.2.2. Amida diastereoisomérica de la desmetilwallichilida (**6**) con la *R*-(+)- α -metilbencilamina (**47**).

A una solución con agitación magnética de desmetilwallichilida (**6**, 98 mg, 0.25 mmol) en CH_2Cl_2 seco (2.0 mL) y piridina seca (26 μL , 26.0 mg, 0.33 mmol, 1.3 eq.) bajo atmósfera de Ar° a -35°C (etilénglicol-hielo seco) se le adicionó SOCl_2 (22 μL , 35.7 mg, 0.3 mmol, 1.2 eq.) y se mantuvo la agitación por 2 h. Posteriormente se adicionó a -35°C la amina quiral *R*-(+)- α -metilbencilamina (**47**, 32 μL , 30.3 mg, 0.25 mmol, 1.0 eq.), y se mantuvo la temperatura a -35°C por 2 h más, se dejó subir la temperatura a 0°C en un intervalo de 2 horas y finalmente a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se diluyó con CH_2Cl_2 (5 mL), se lavó con solución saturada de NaCl (3x2 mL). La fase orgánica se secó sobre Na_2SO_4 anhidro y concentró al vacío para obtener un aceite de color amarillo (84 mg), el cual se purificó por cc flash eluyendo con mezclas de *n*-heptano/AcOEt (gradiente), aislándose un solo producto que correspondió a la diligustílida (**3**, 74 mg, 79%).

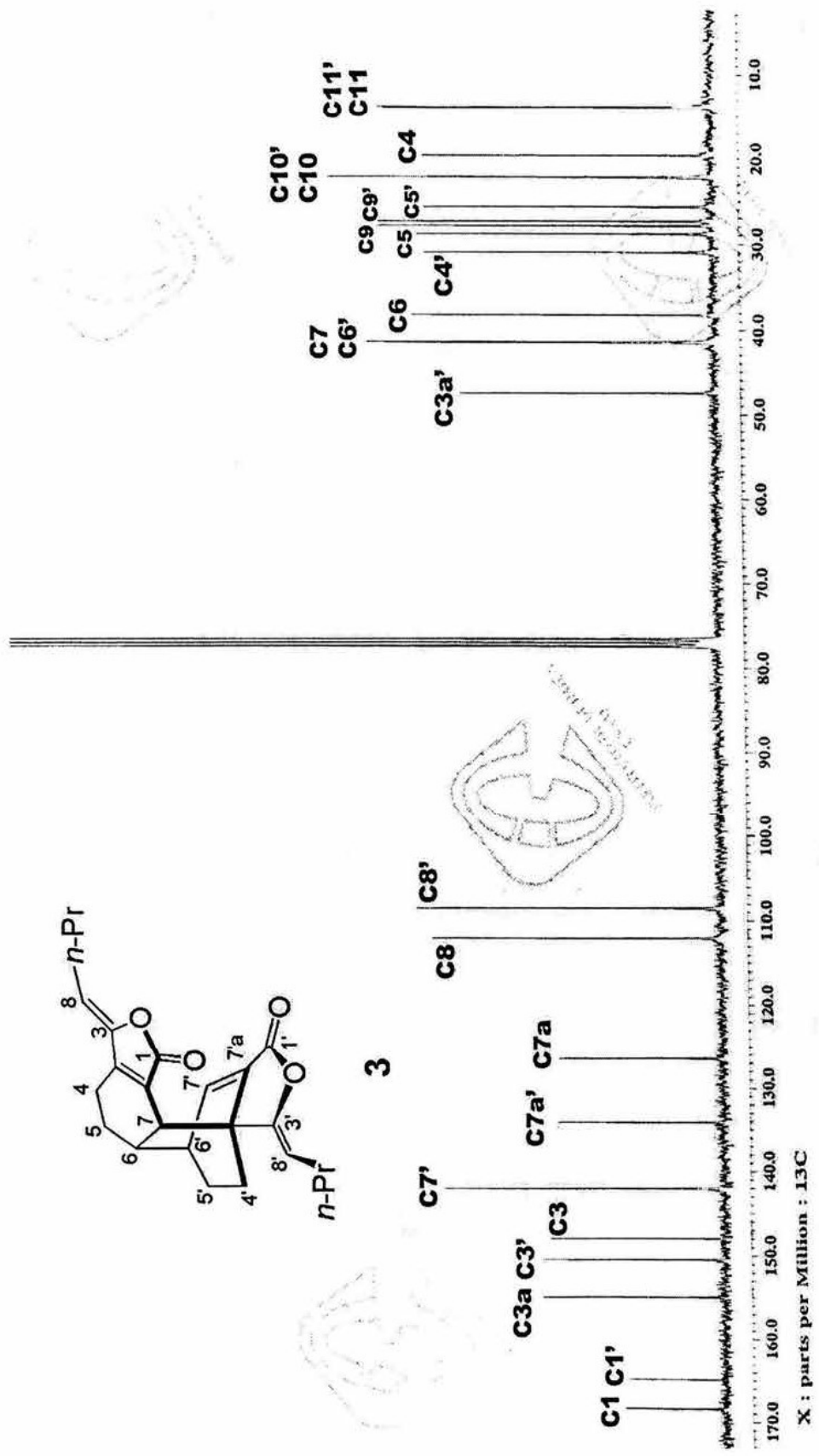
ESPECTROS



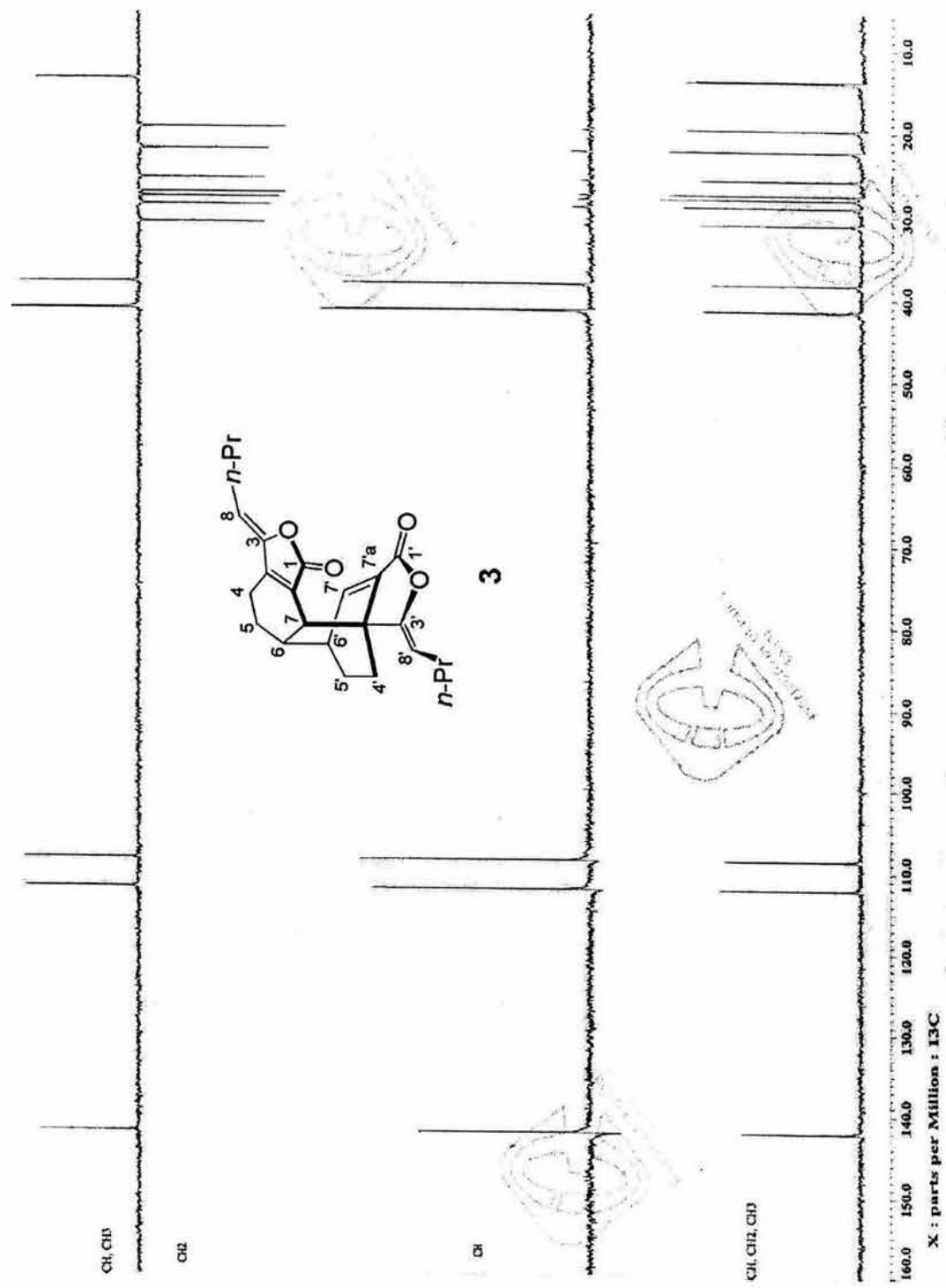
Espectro 1. RMN ¹H de Z-ligustilida (1)



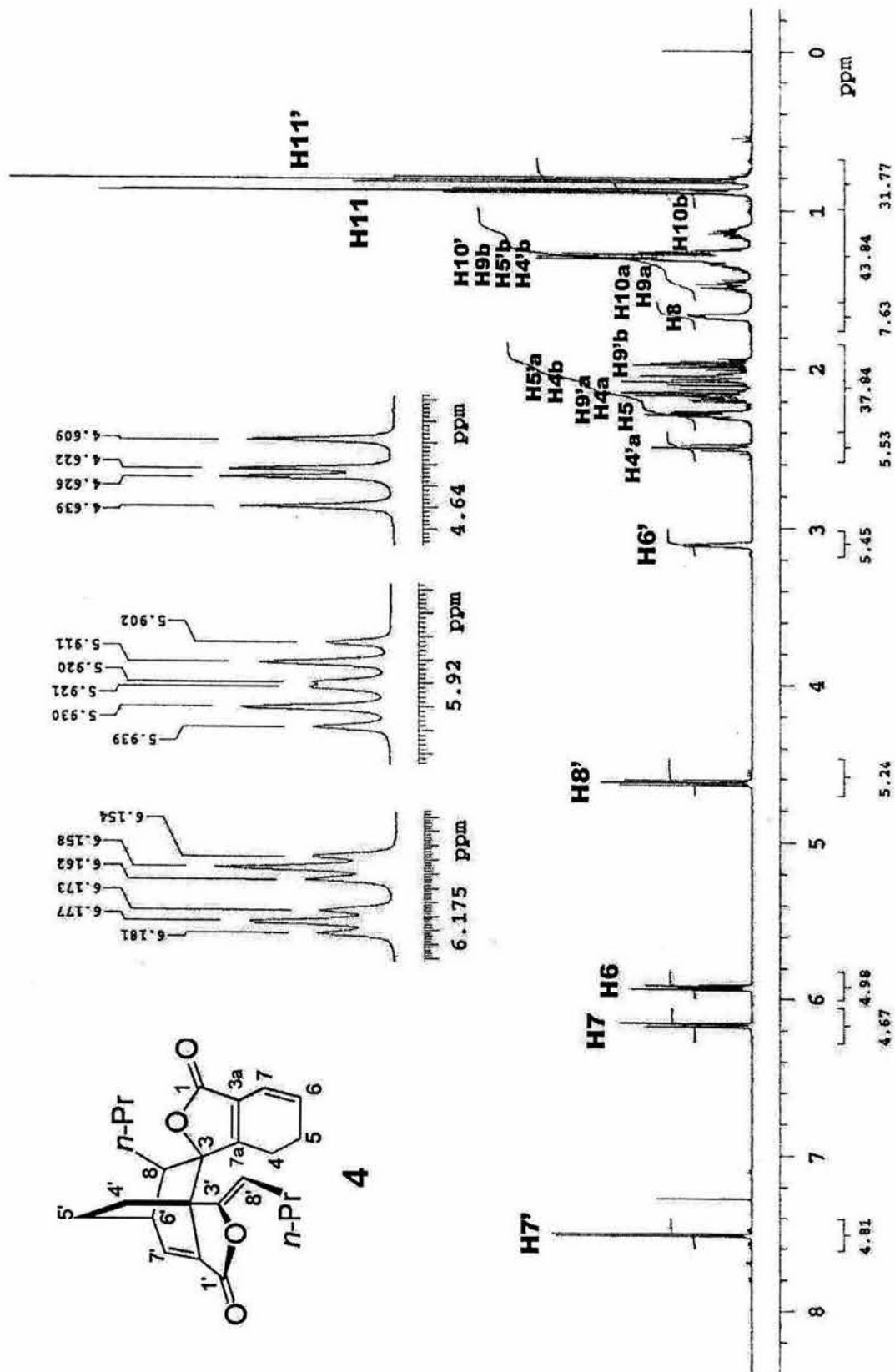
Espectro 2. RMN ^1H de diiligustilida (**3**)



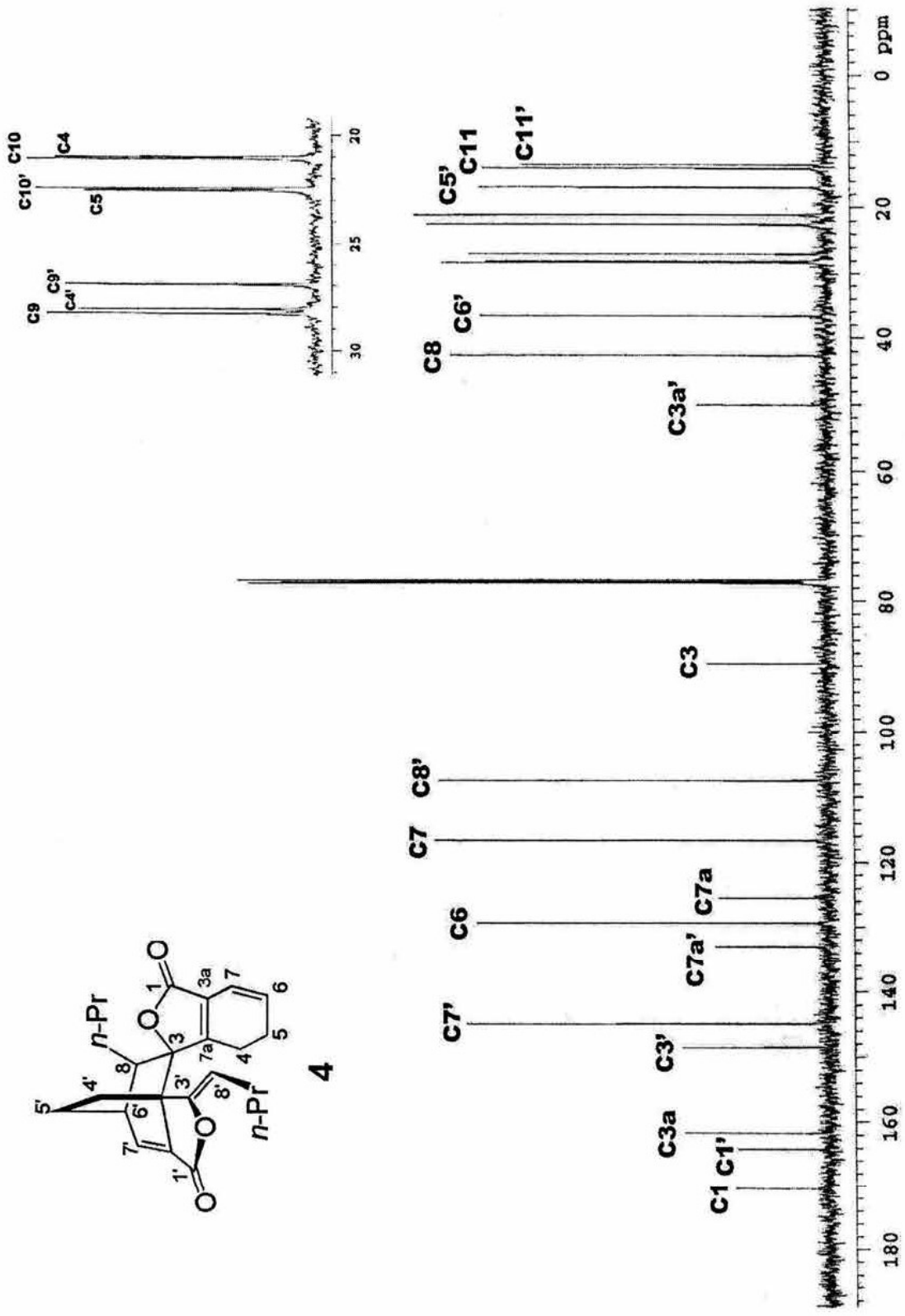
Espectro 3. RMN ^{13}C de diligustilida (3)



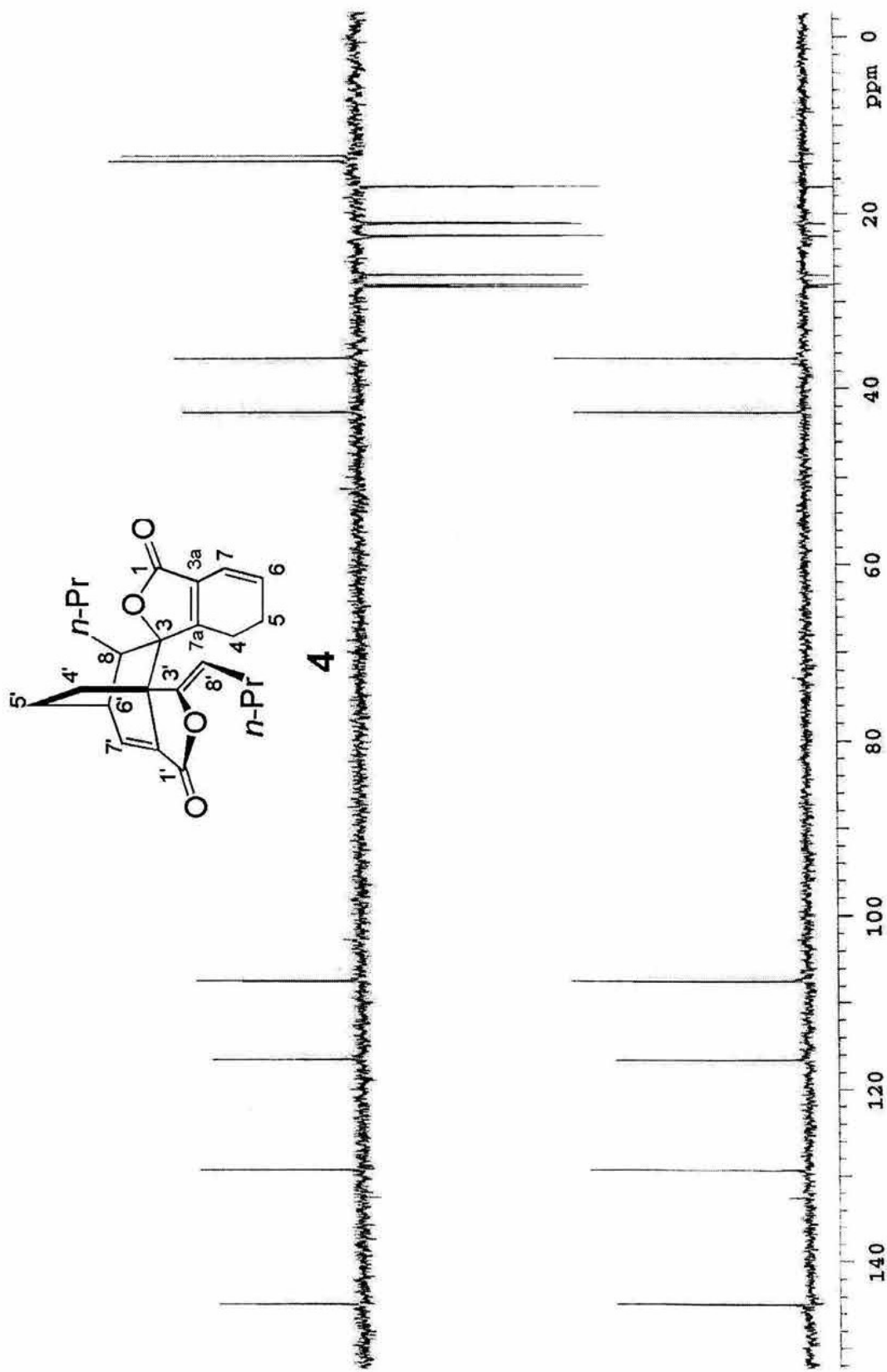
Espectro 4. RMN ¹³C (DEPT) de diligustíida (3)



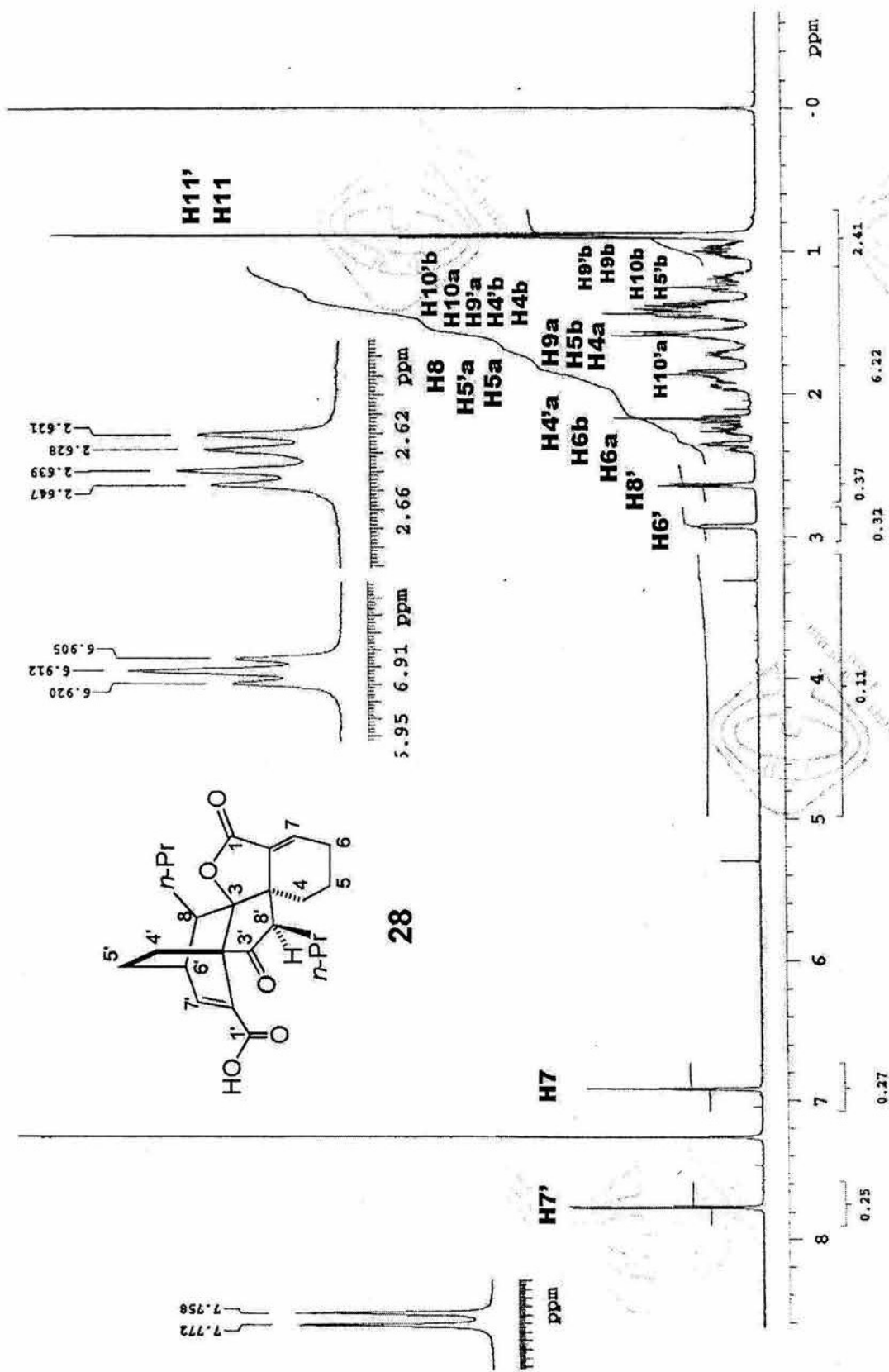
Espectro 5. RMN ¹H de toquinólida B (4)



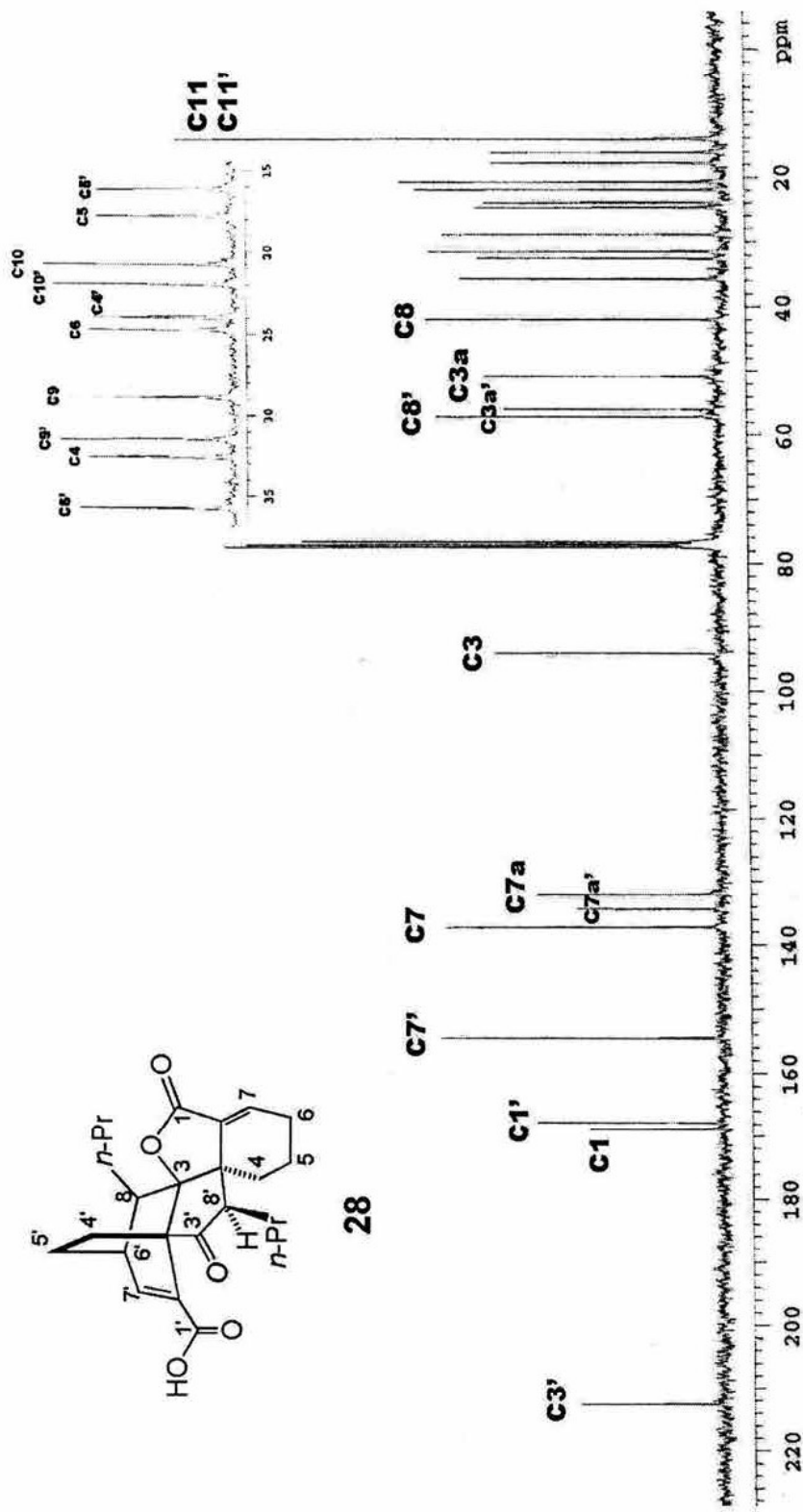
Espectro 6. RMN ^{13}C de toquinólida B (4)



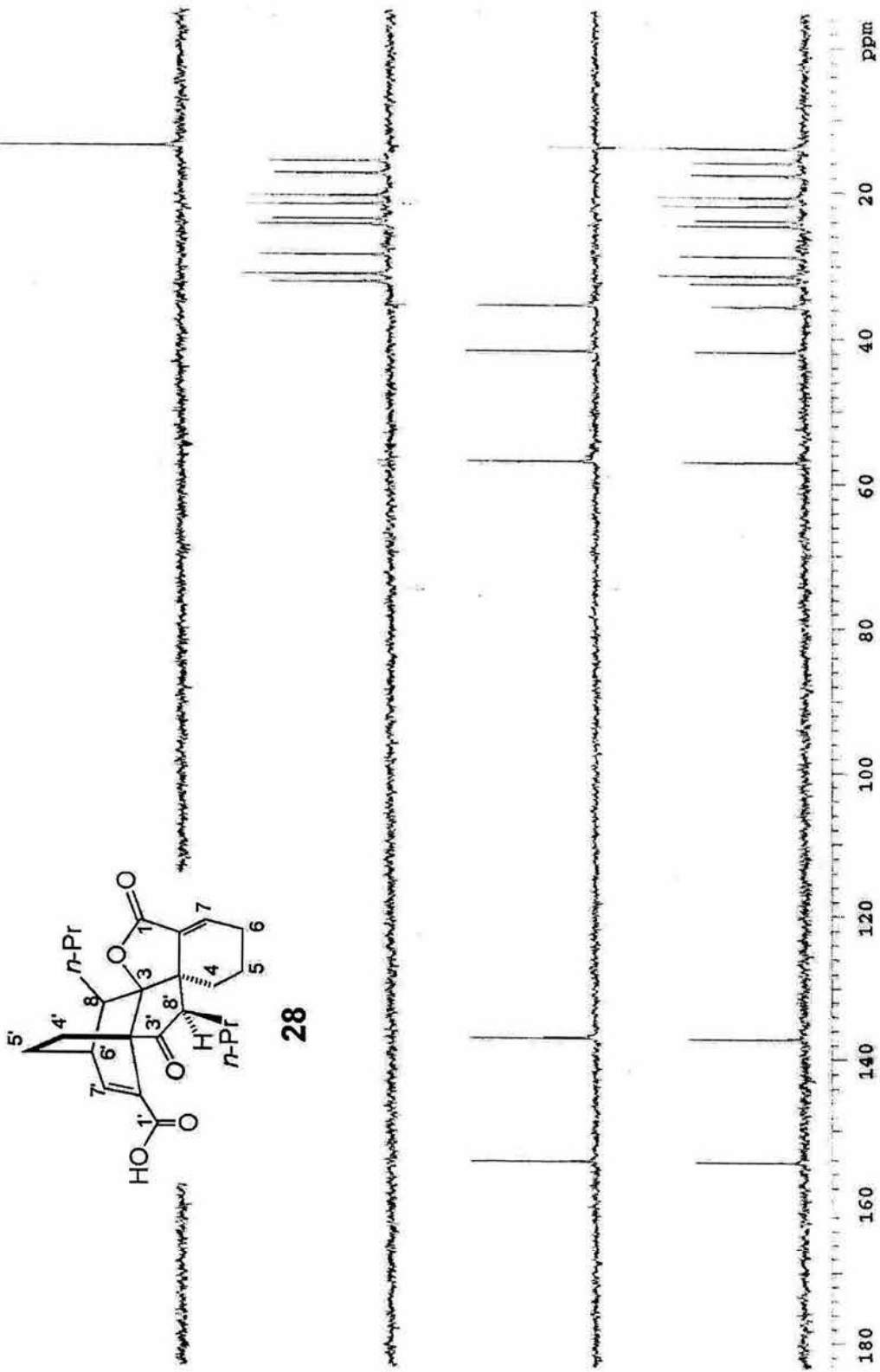
Espectro 7. RMN ^{13}C (DEPT) de toquinólida B (4)

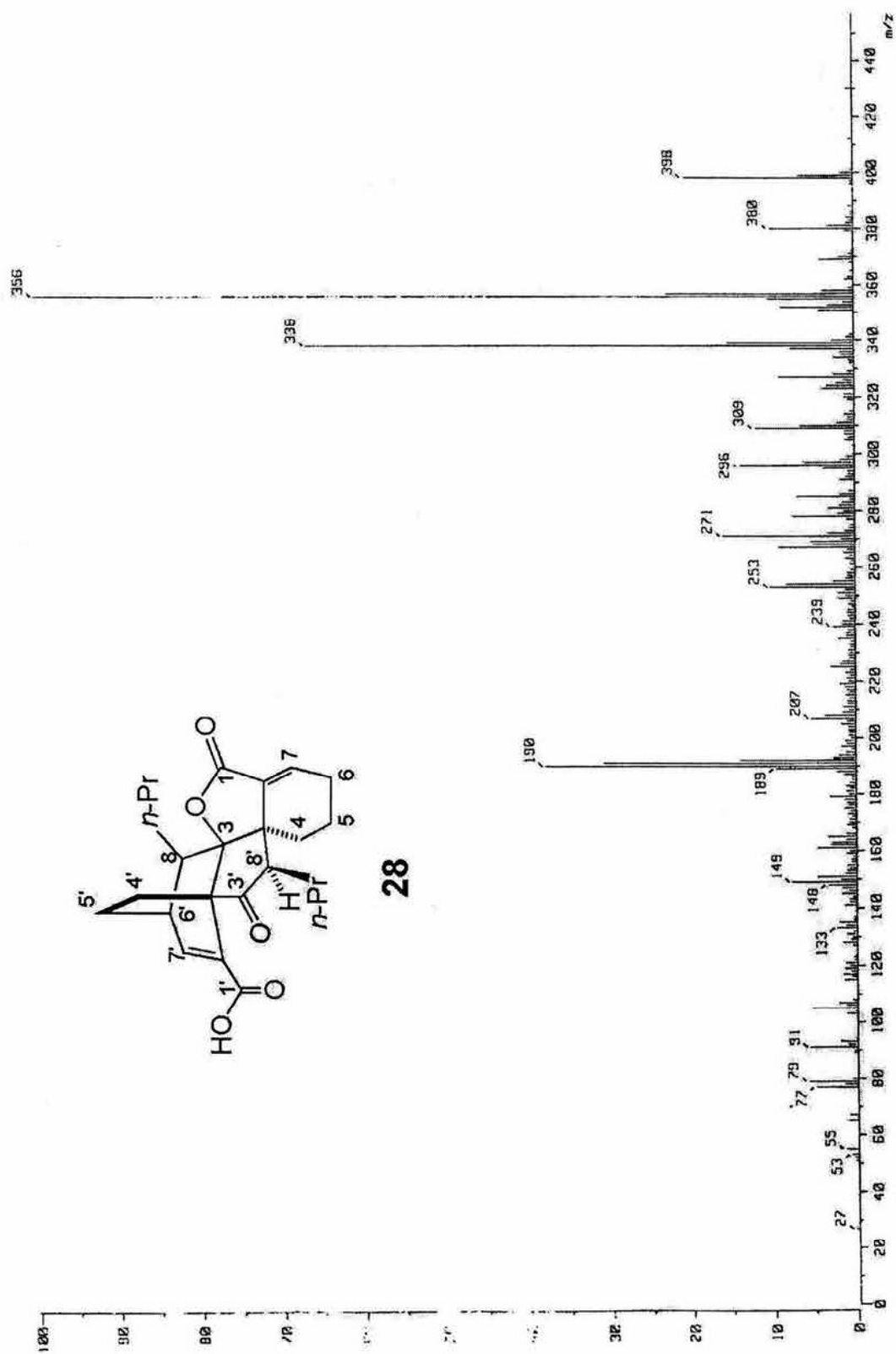


Espectro 8. RMN ¹H de cicloquinólida B (28)

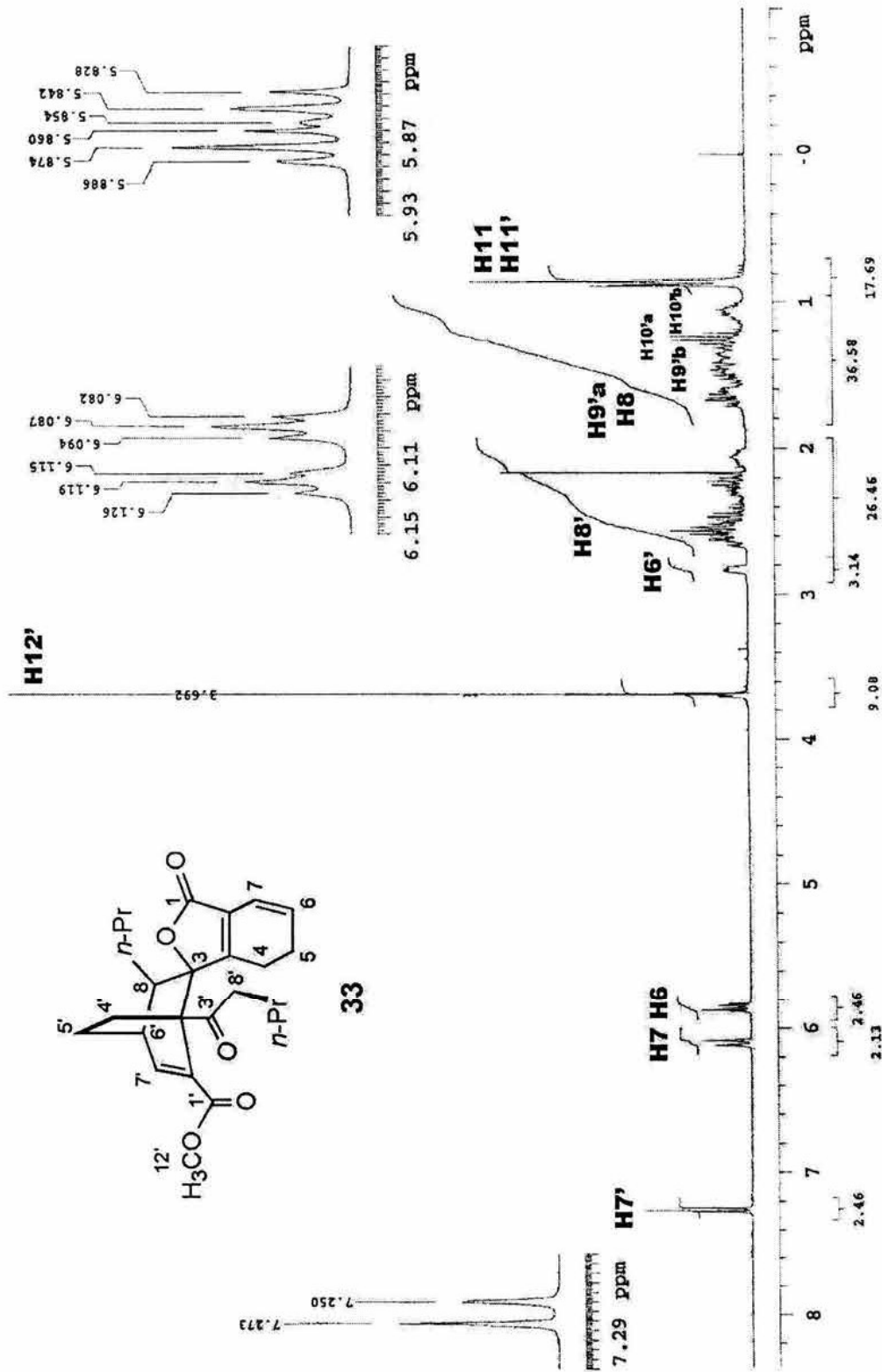


Espectro 9. RMN ^{13}C de cicloquinólida B (28)

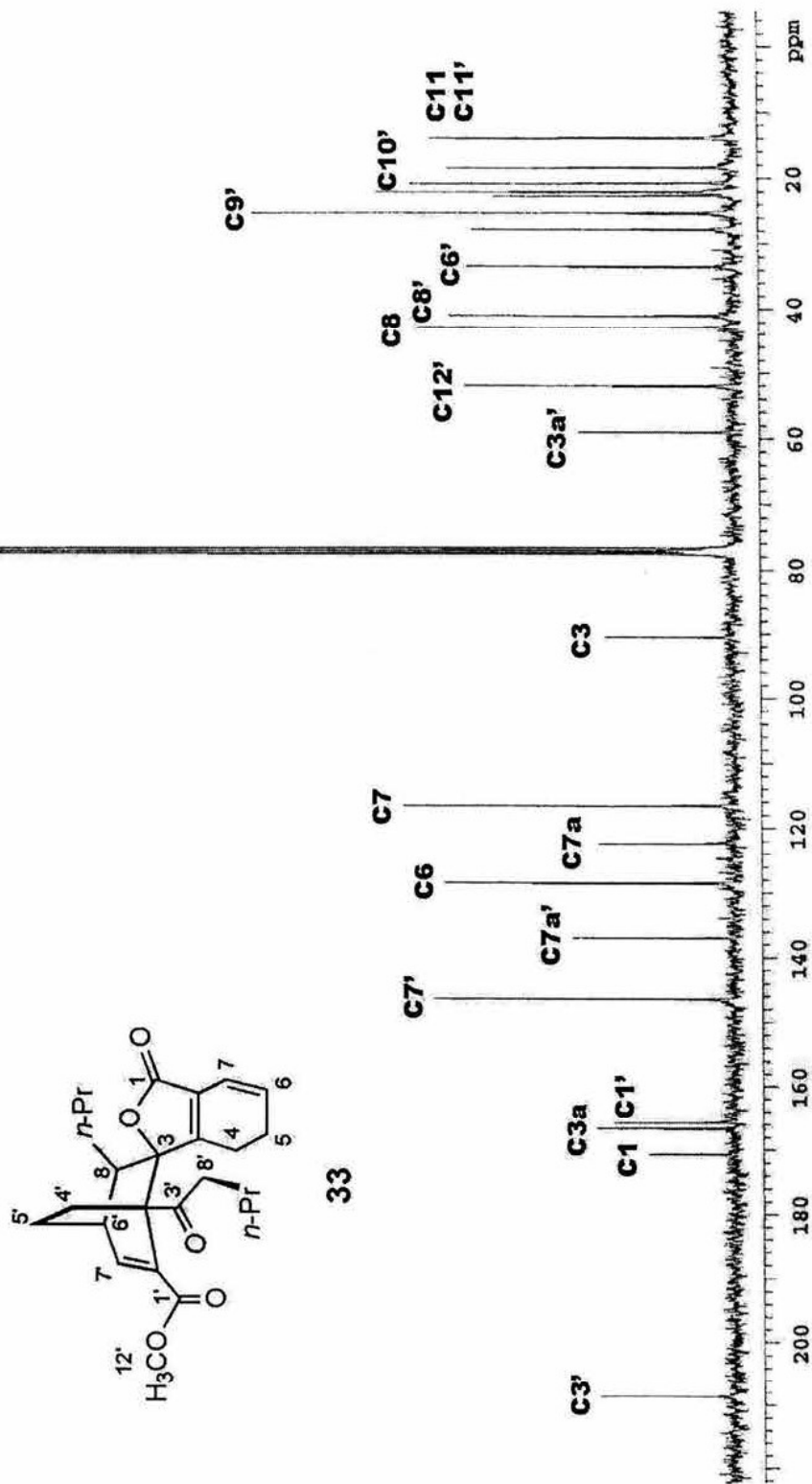




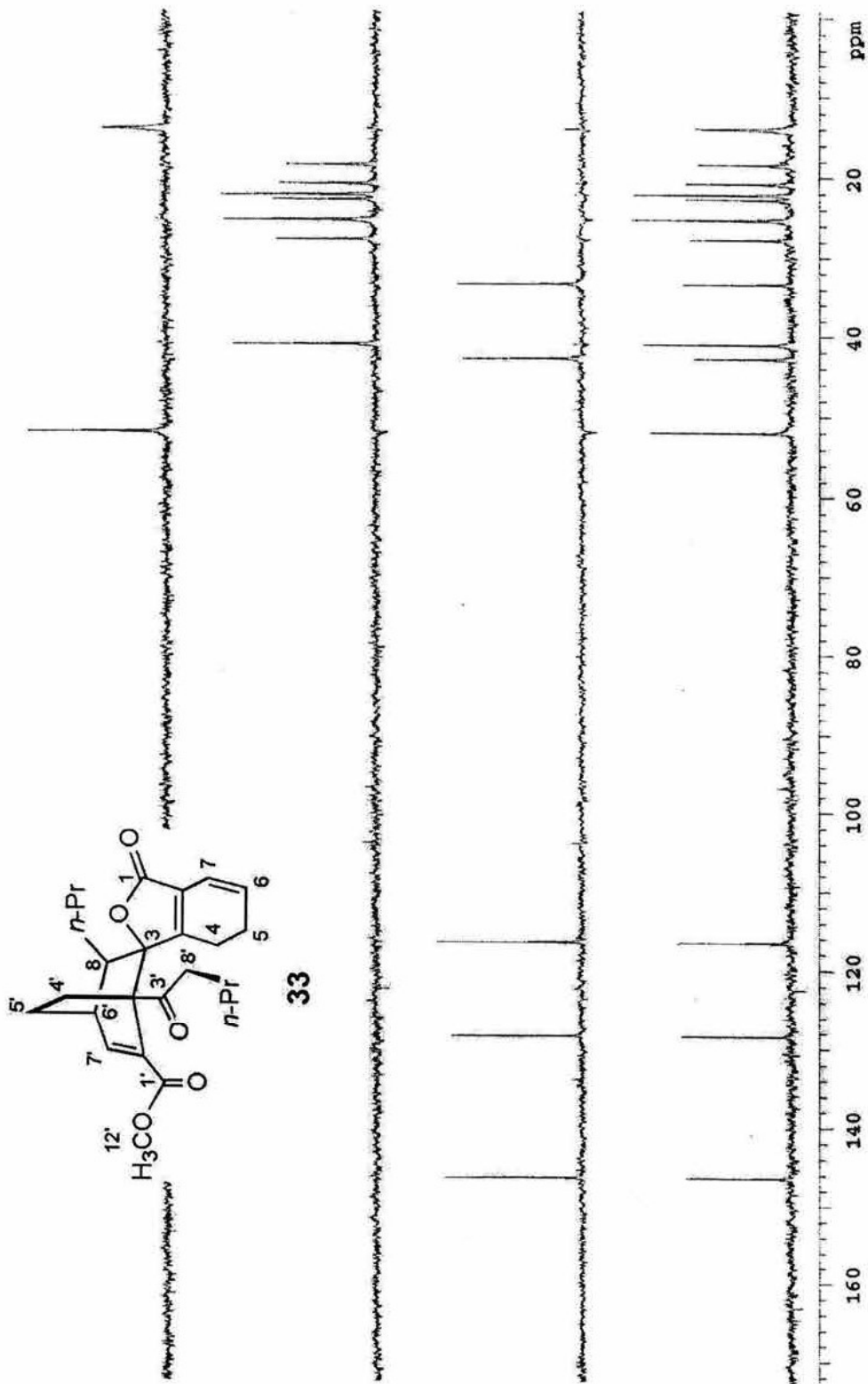
Espectro 11. Masas (IE) de cicloquinólida B (28)



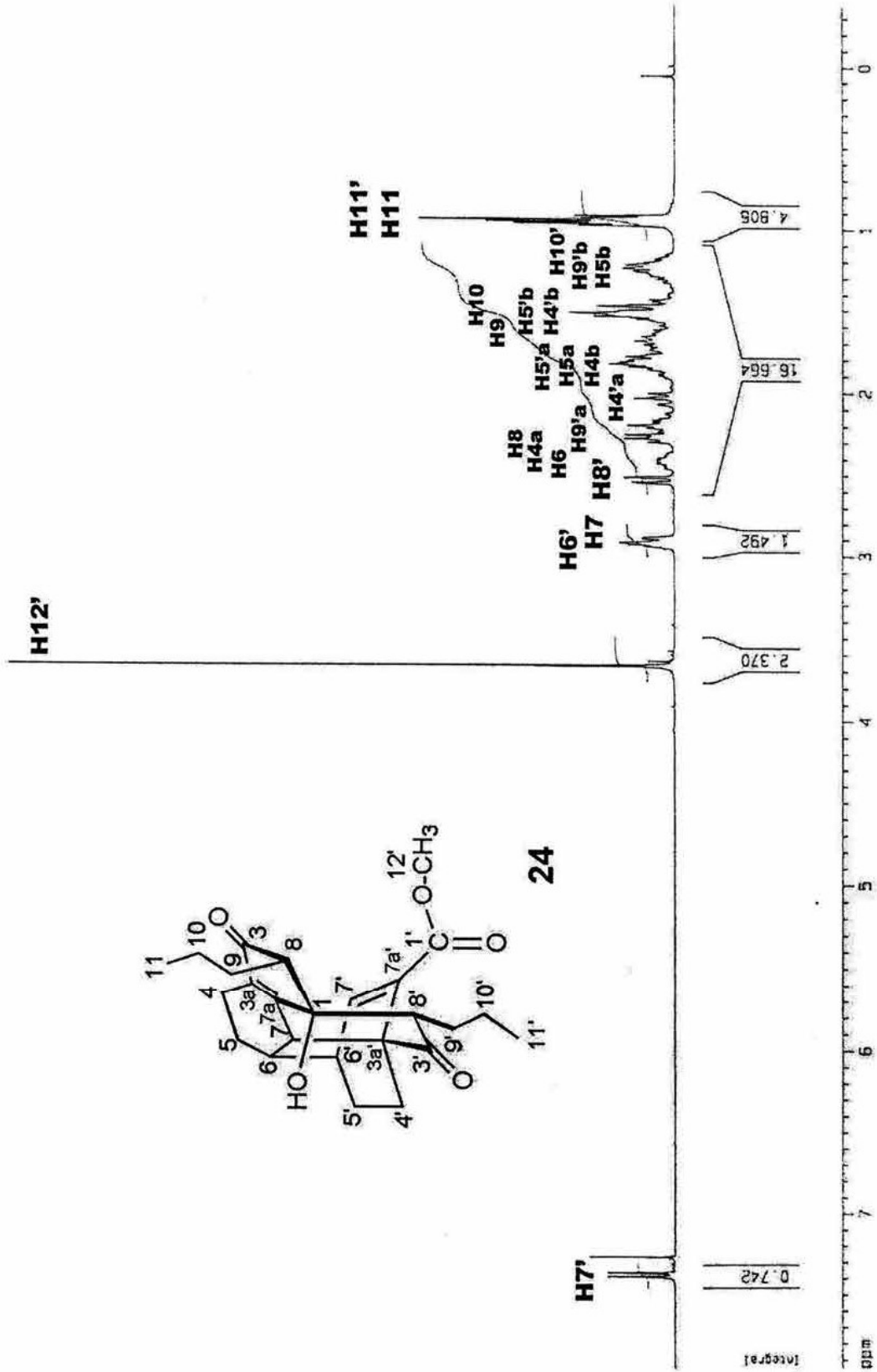
Espectro 12. RMN ¹H del ceto éster 33



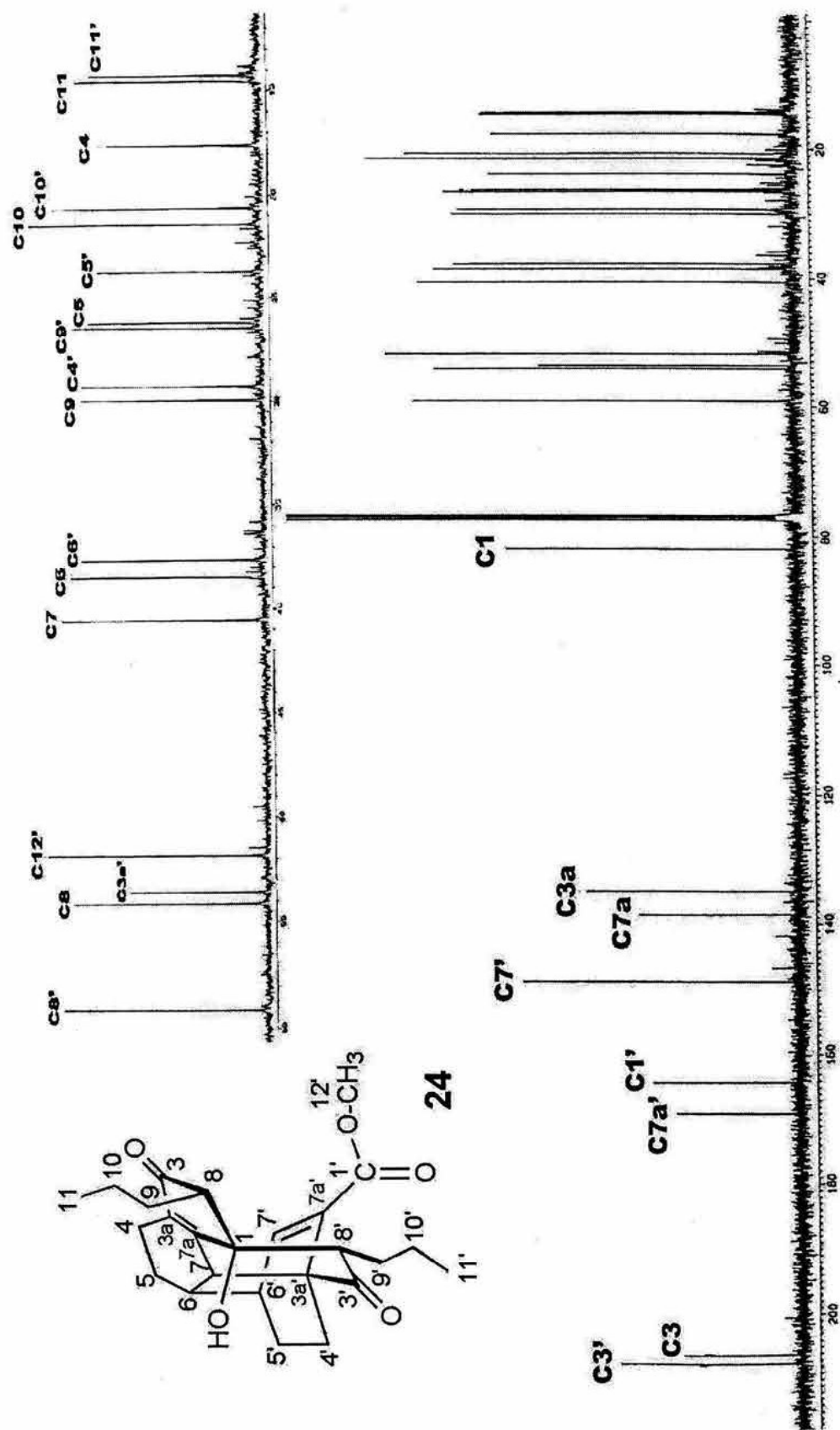
Espectro 13. RMN ^{13}C del ceto éster 33



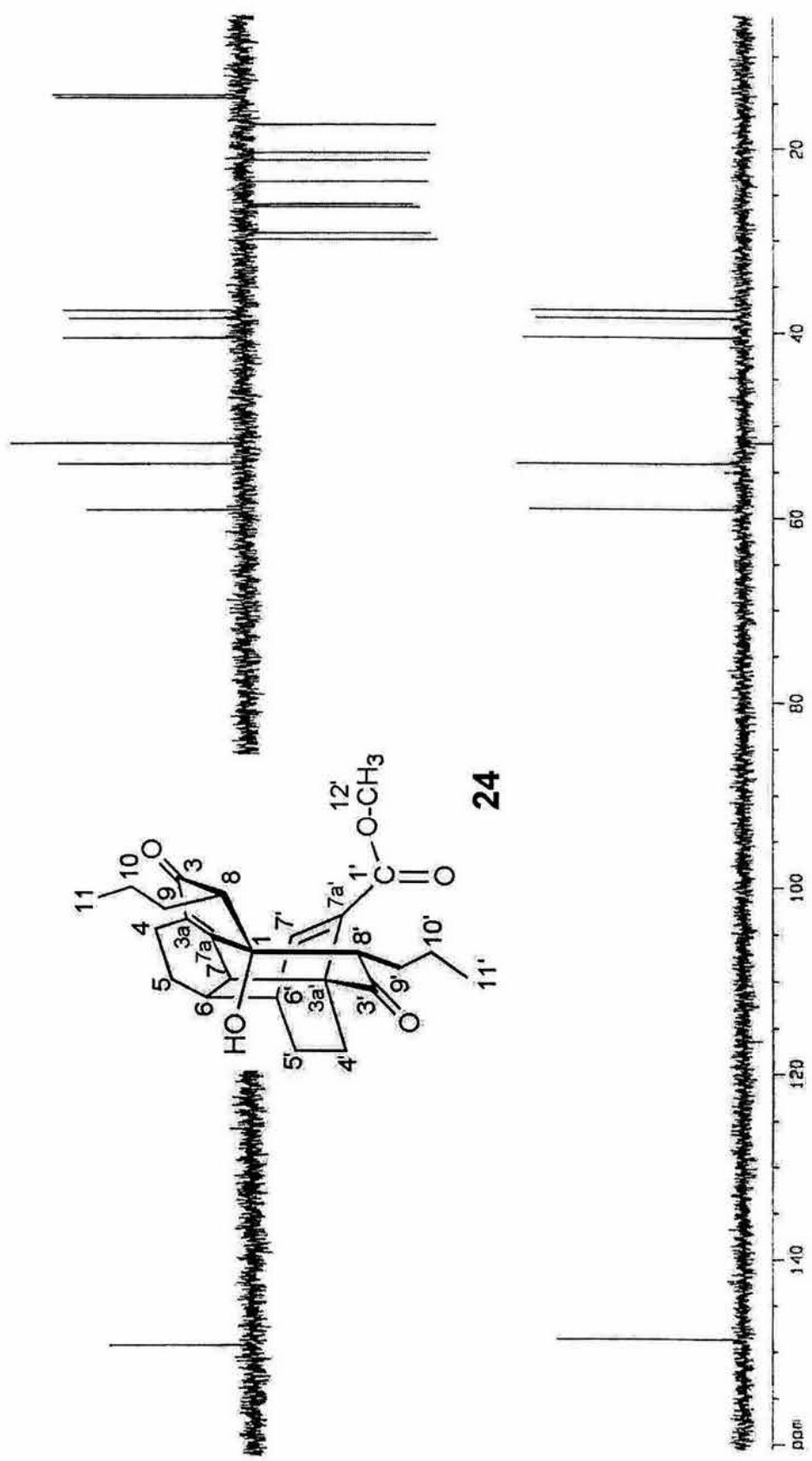
Espectro 14. RMN ^{13}C (DEPT) del ceto éster 33



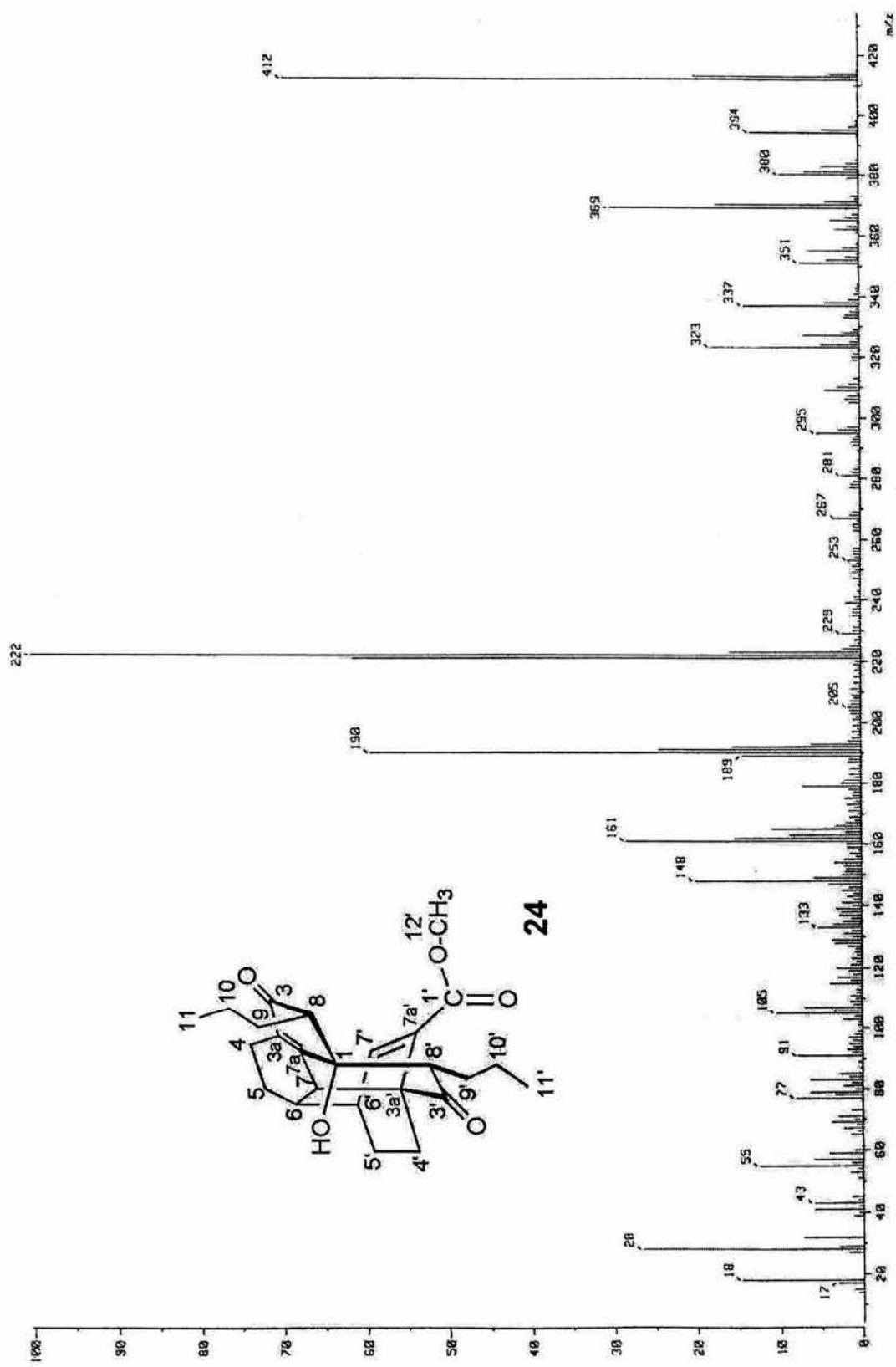
Espectro 15. RMN ¹H del compuesto 24



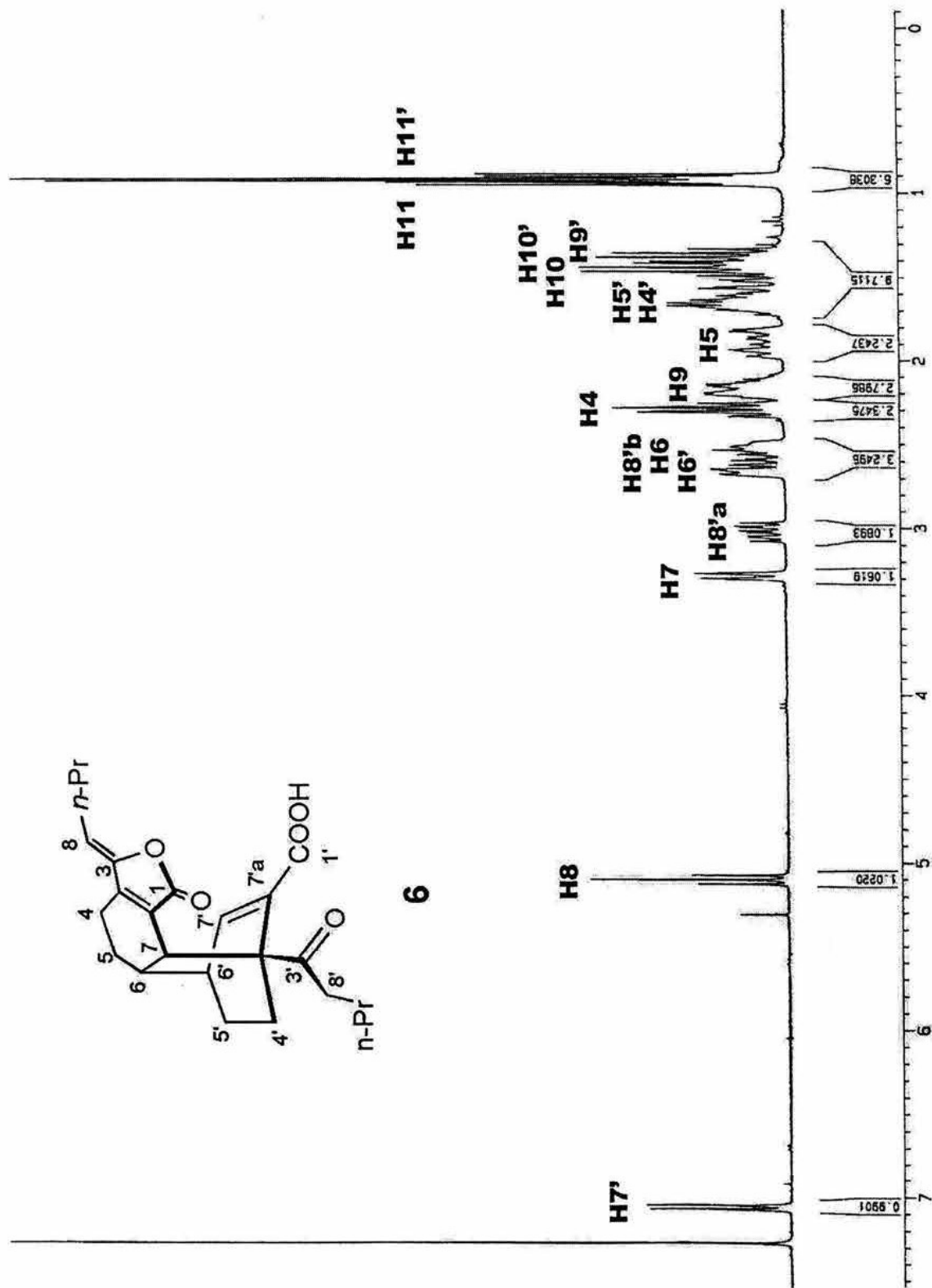
Espectro 16. RMN ^{13}C del compuesto 24



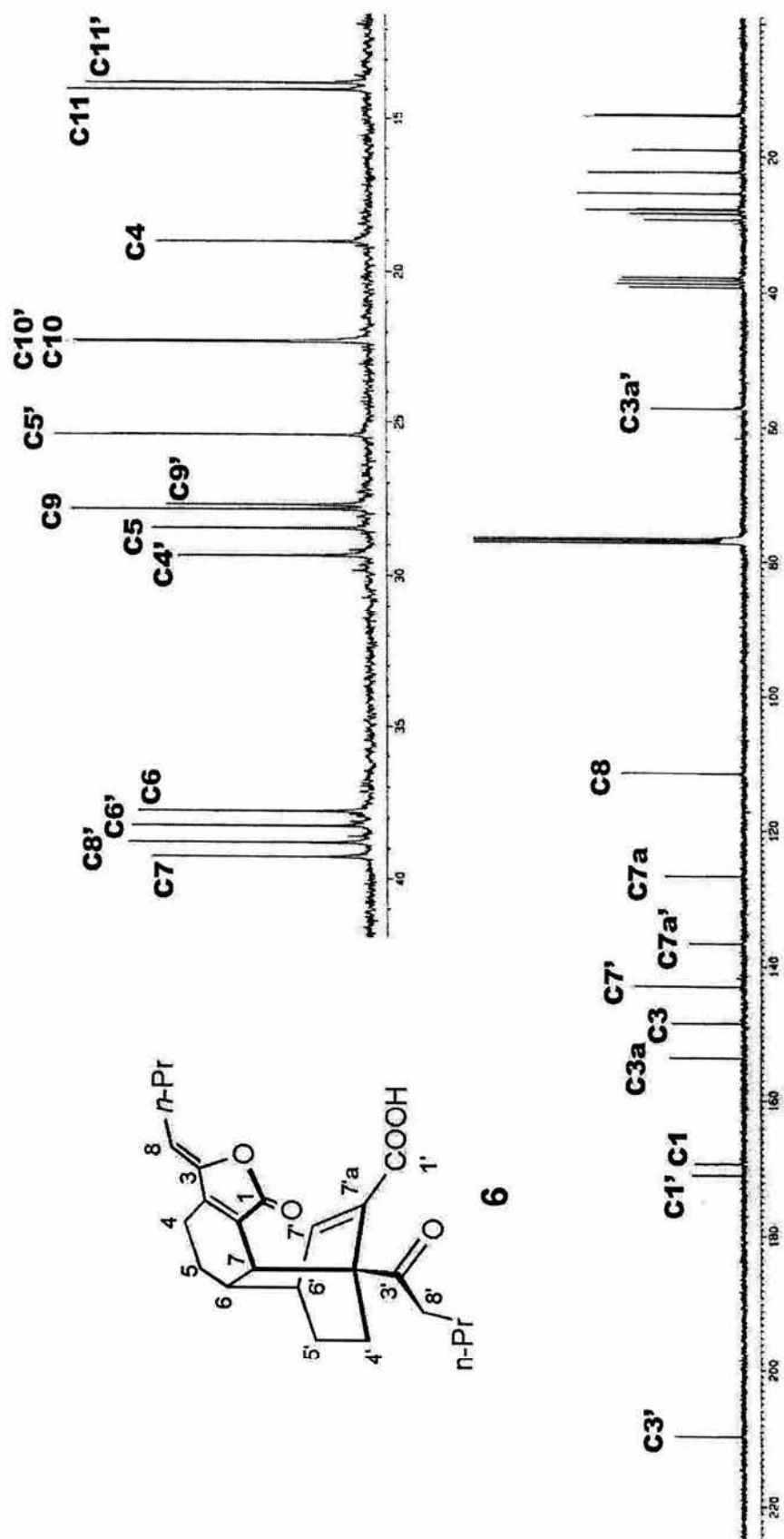
Espectro 17. RMN ¹³C (DEPT) del compuesto 24



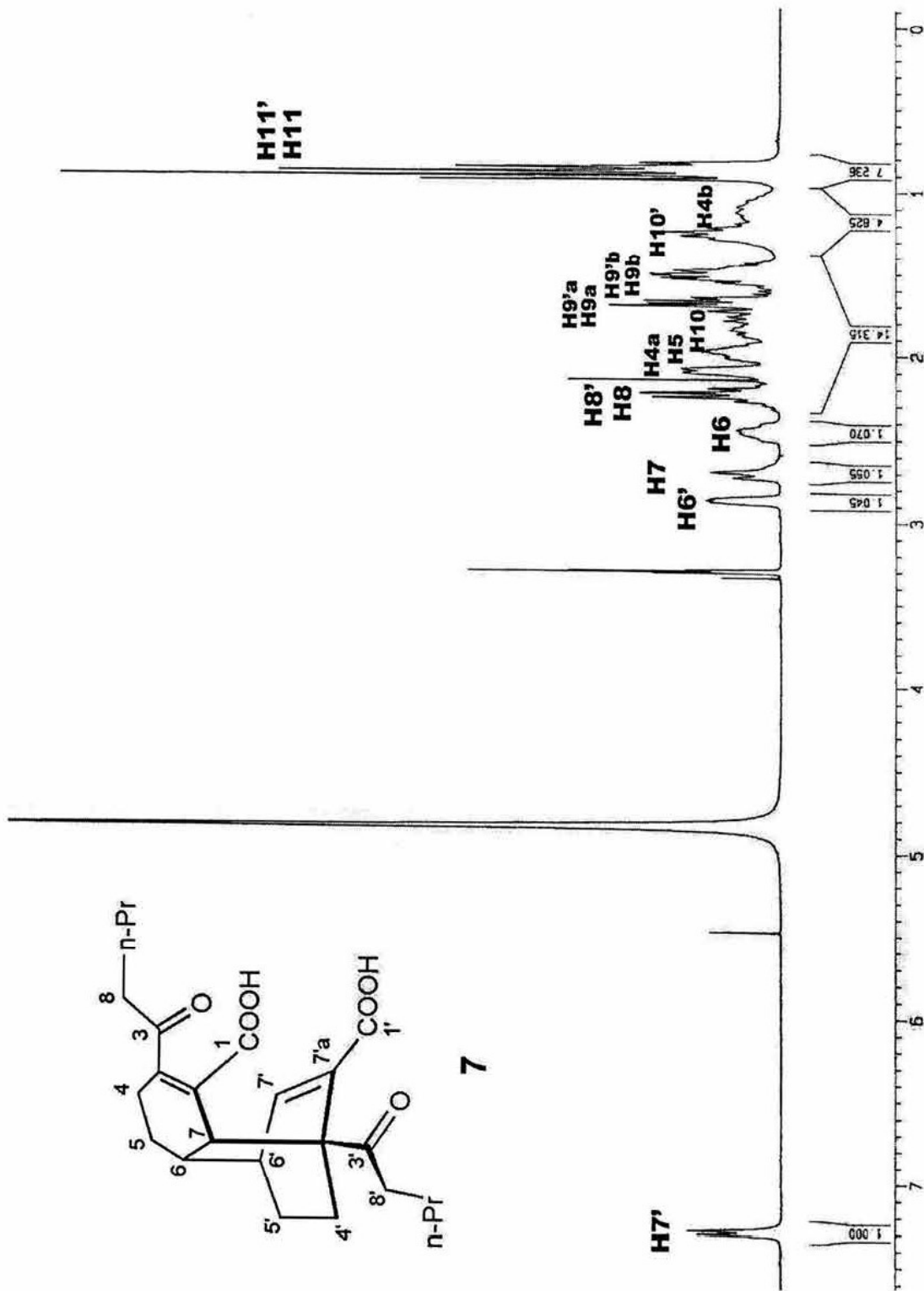
Espectro 18. Masas (IE) del compuesto 24



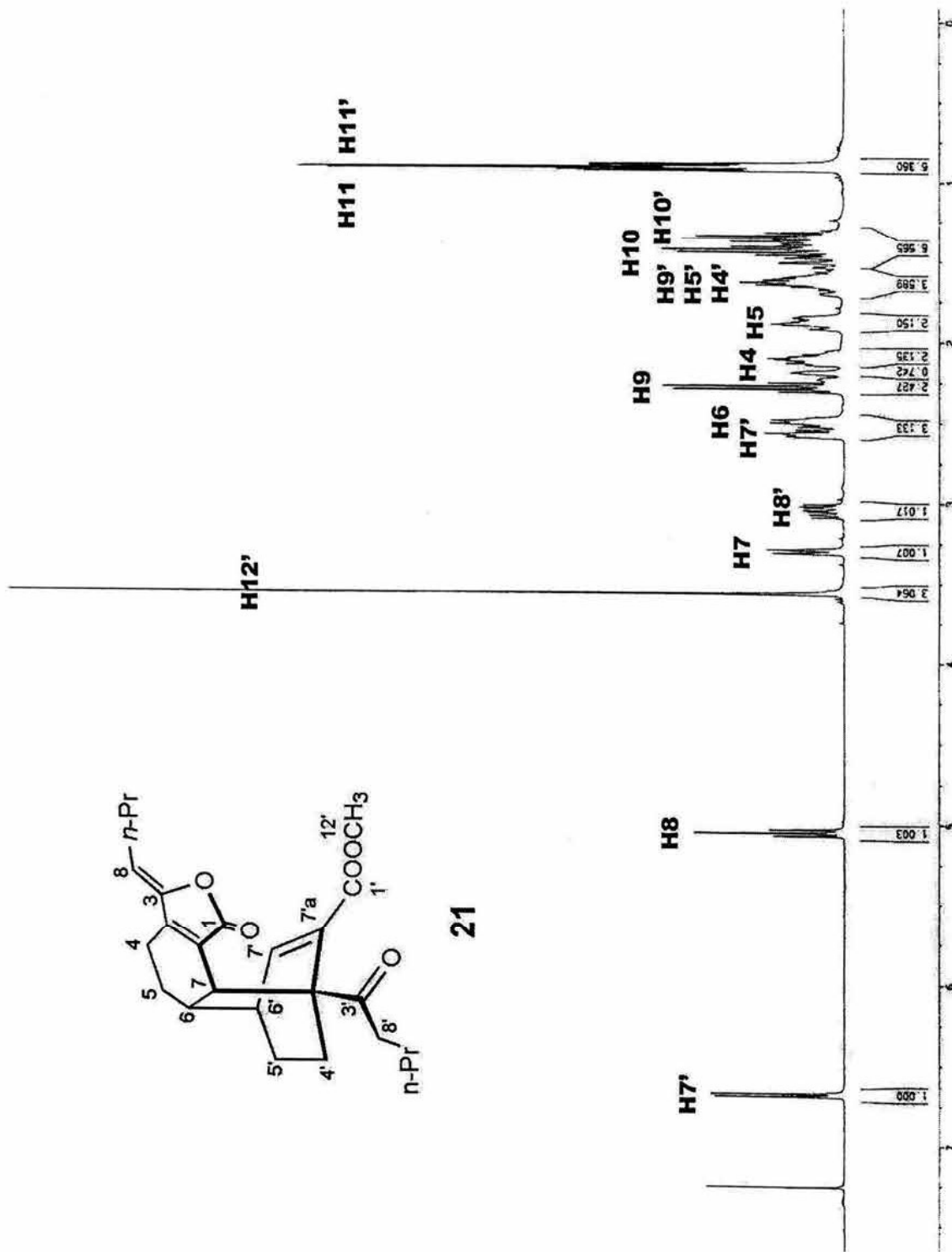
Espectro 19. RMN ^1H de desmetilallichiida (6)



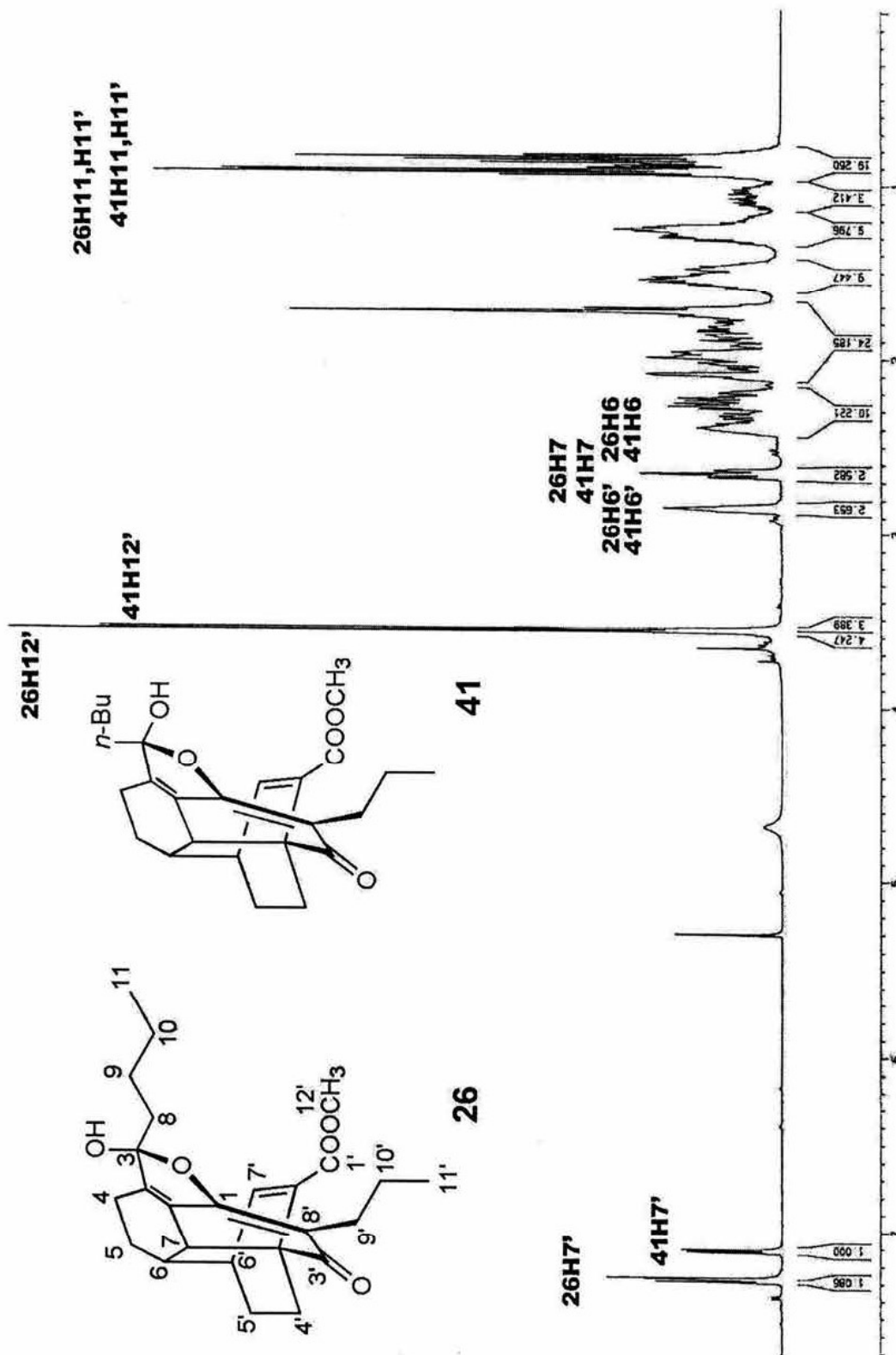
Espectro 20. RMN ^{13}C de desmetilwallichida (6)



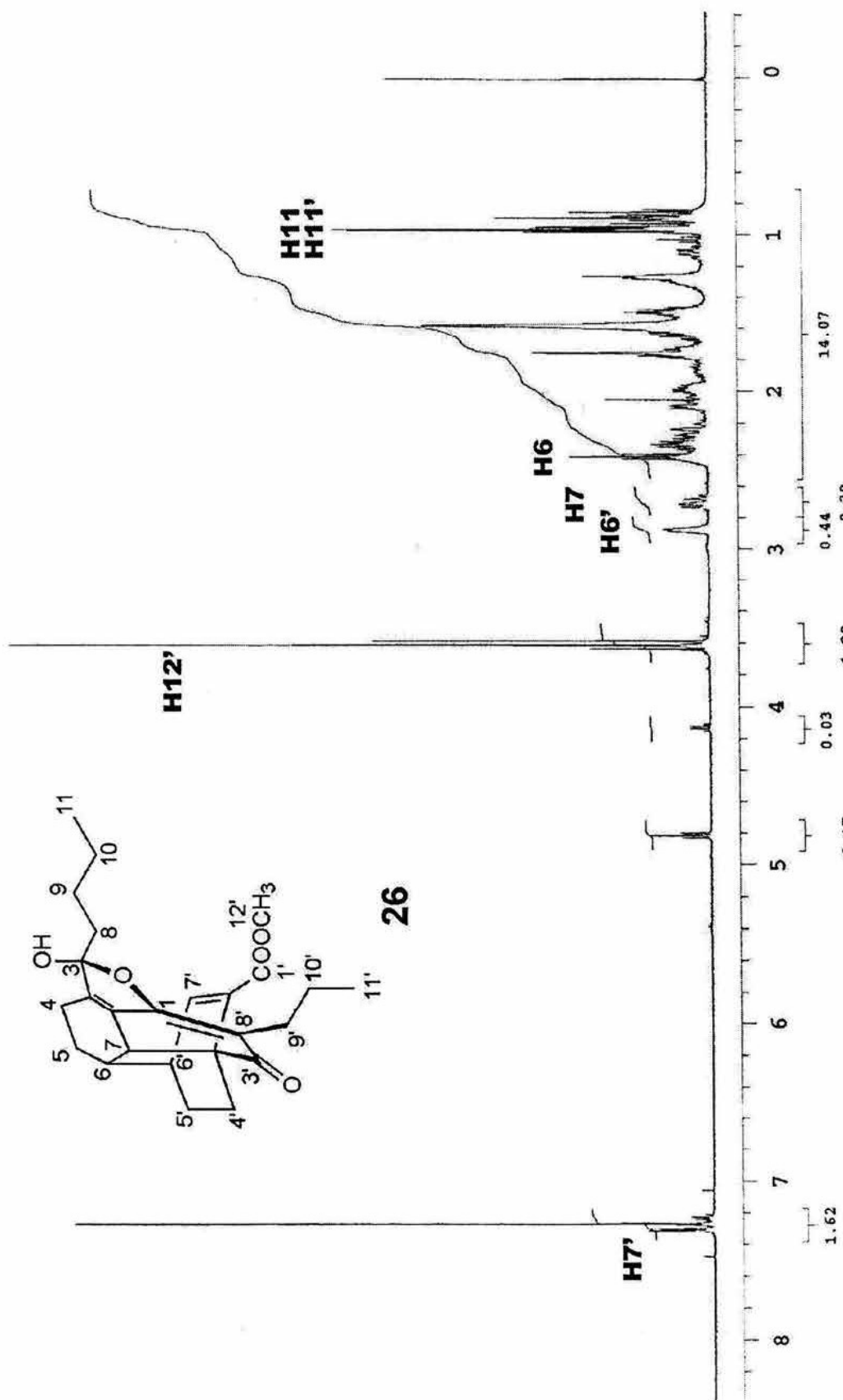
Espectro 21. RMN ¹H del diceto diácido (7)



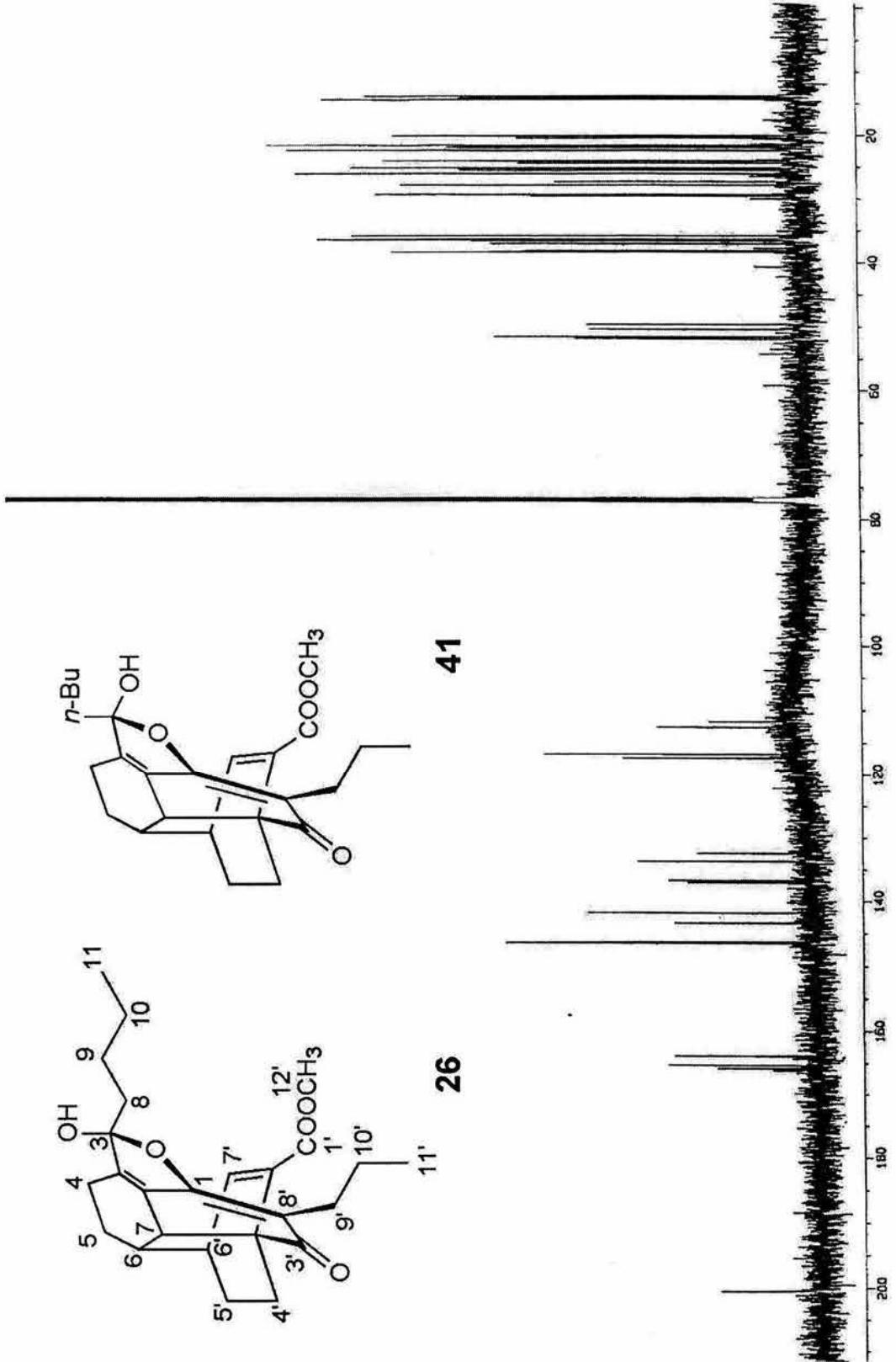
Espectro 22. RMN ¹H de wallichíida (21)



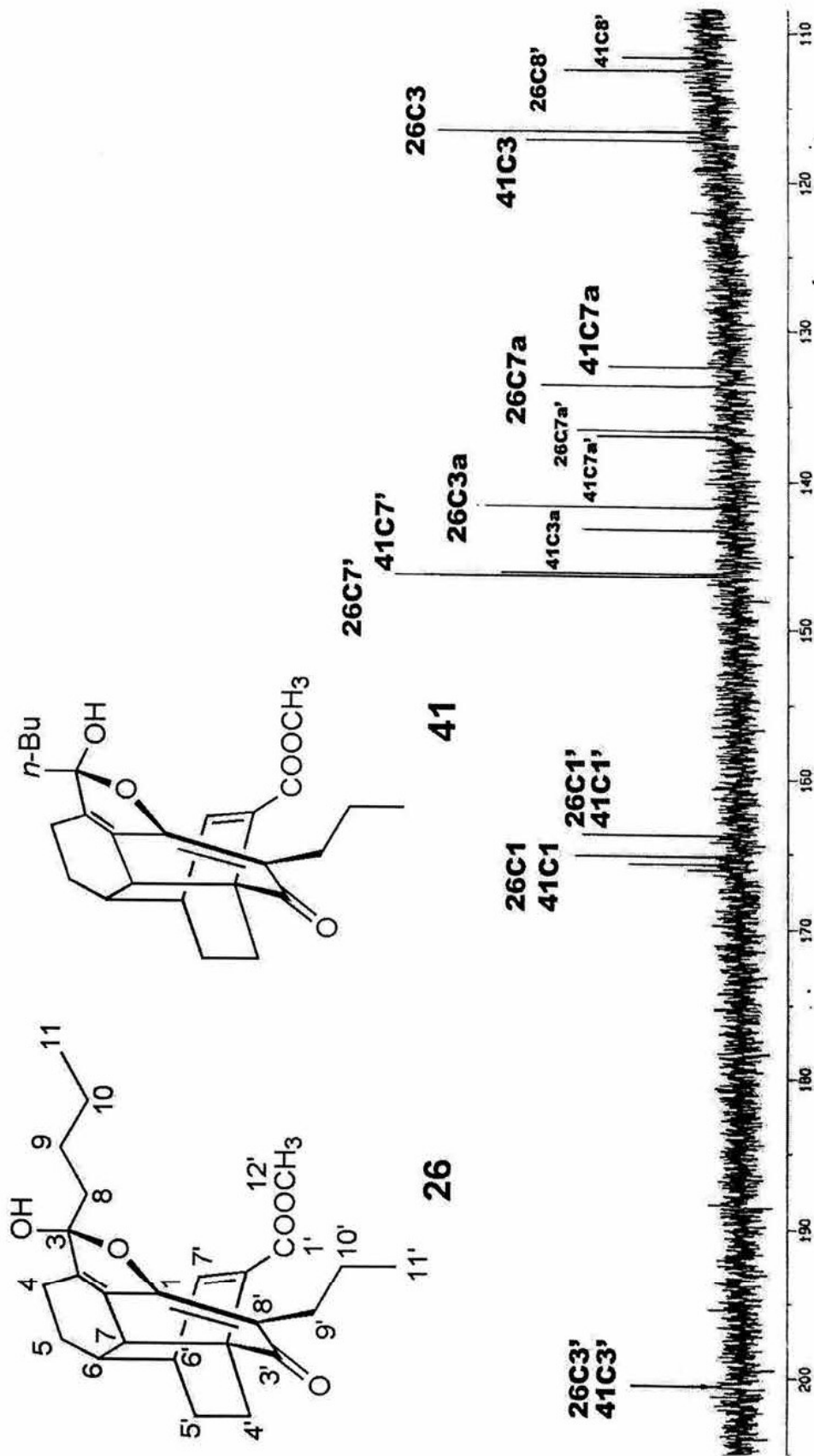
Espectro 23. RMN ¹H de la mezcla de los epímeros 26 y 41



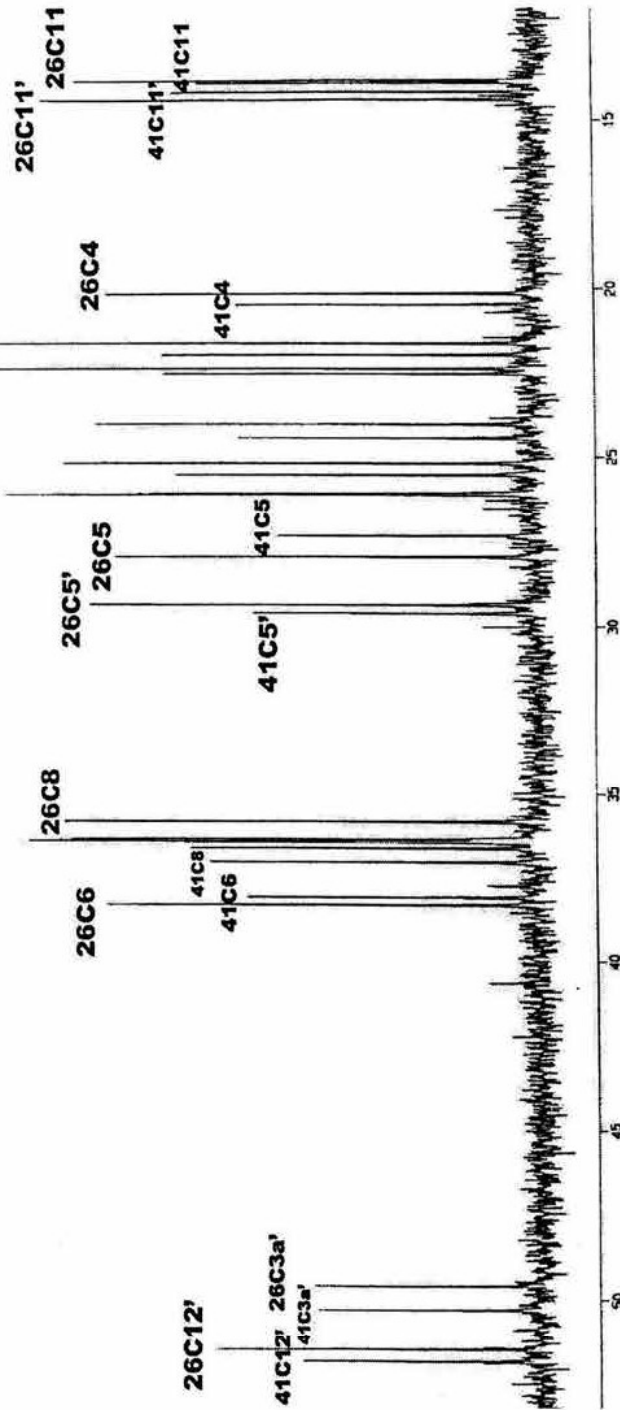
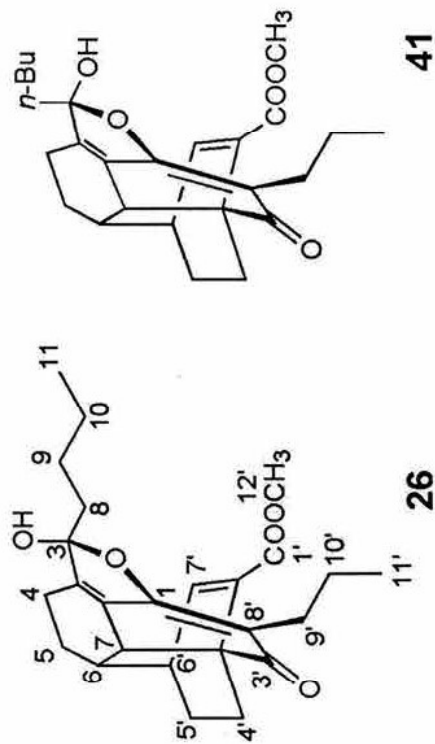
Espectro 24. RMN ¹H del compuesto 26



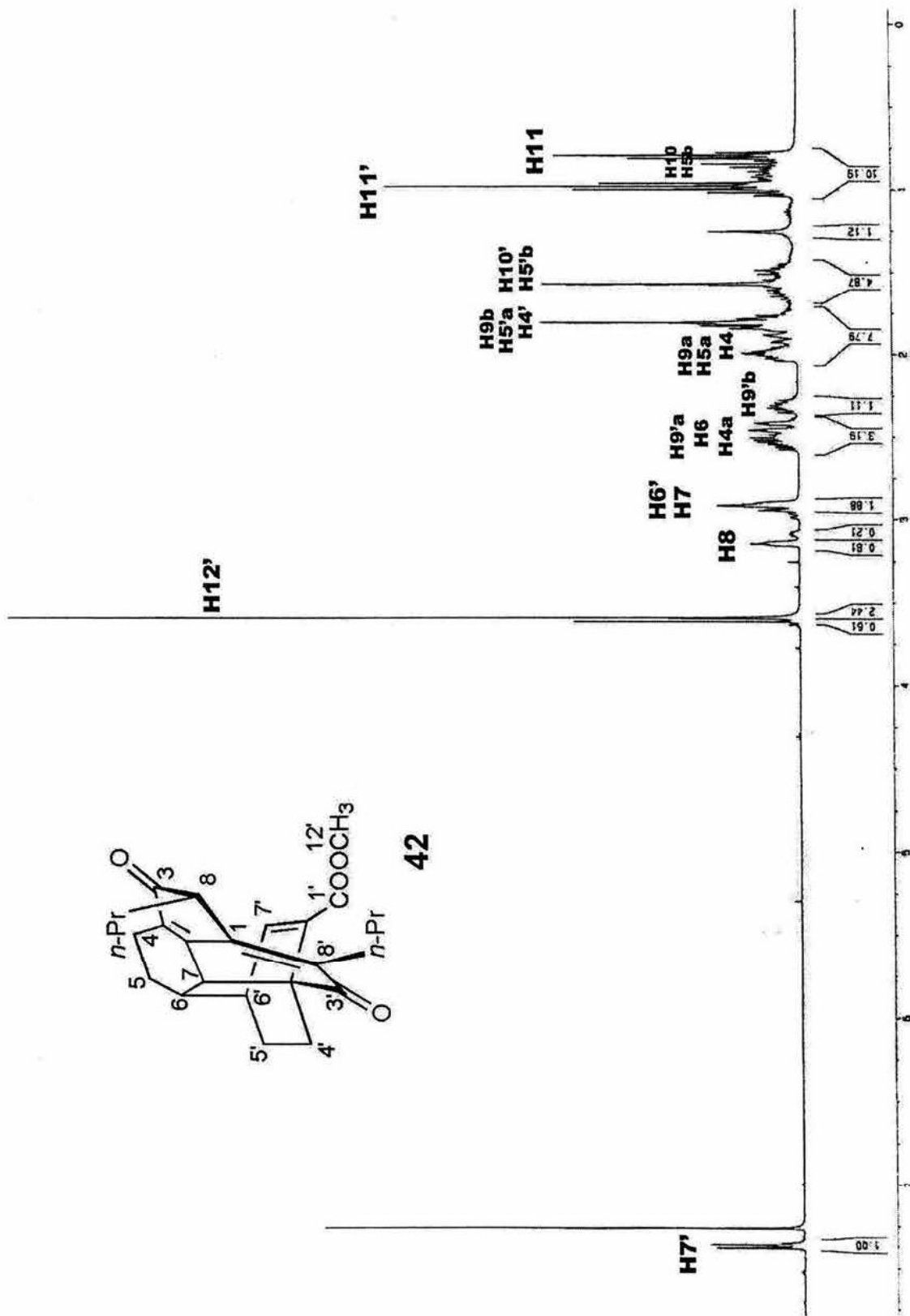
Espectro 25. RMN ¹³C de la mezcla de los epímeros 26 y 41



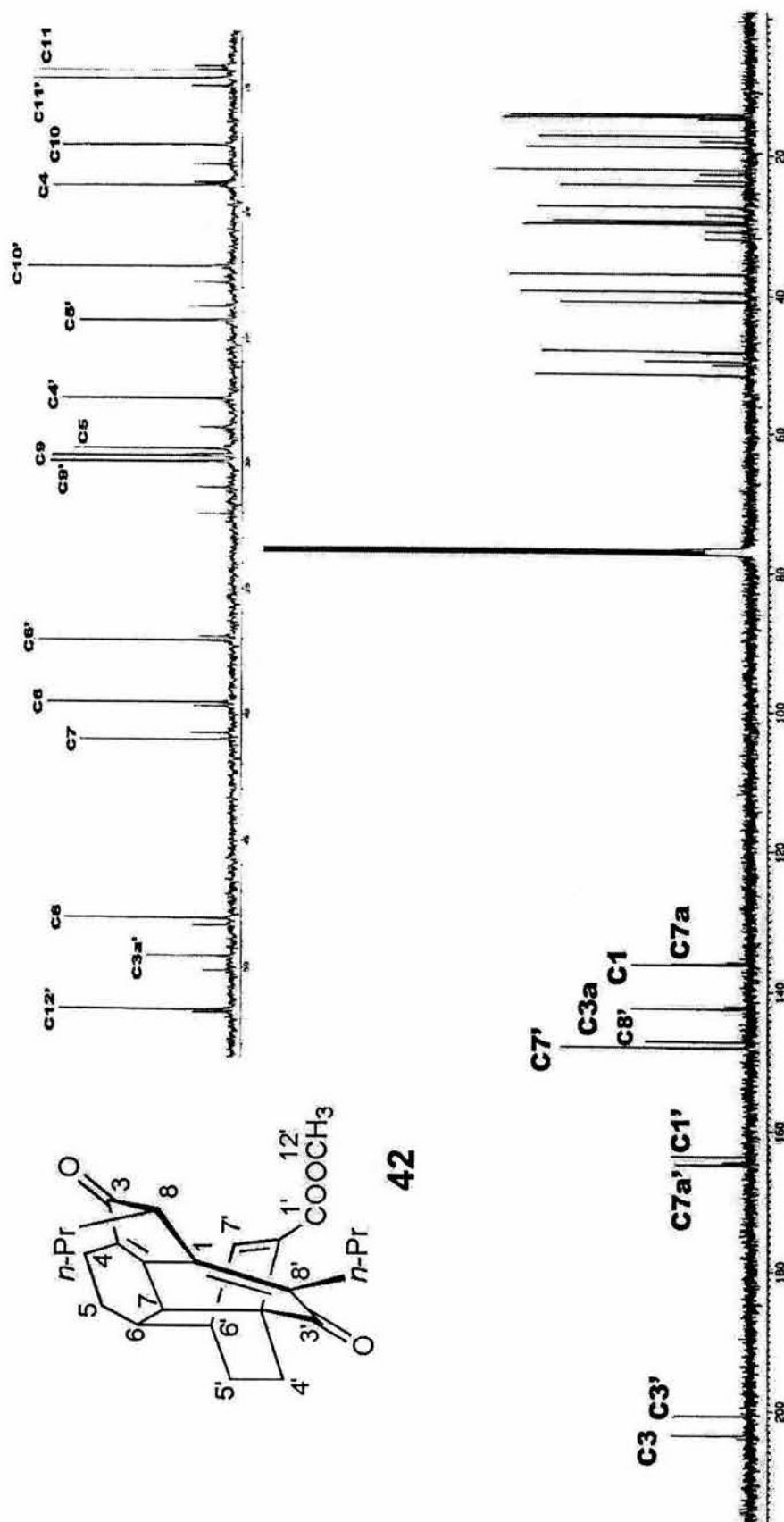
Espectro 26. RMN ^{13}C de la mezcla de los epímeros 26 y 41



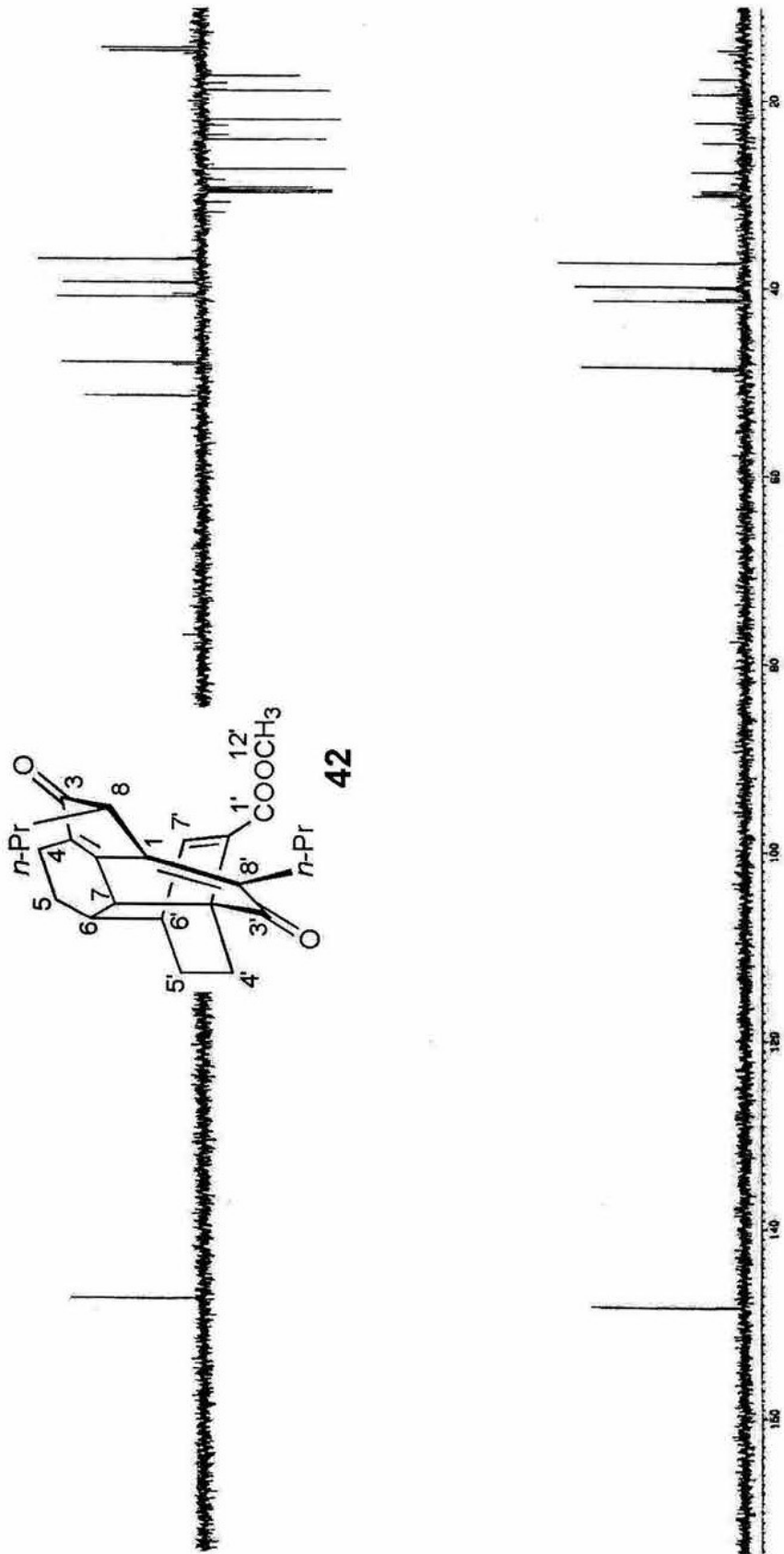
Espectro 27. RMN ^{13}C de la mezcla de los epímeros 26 y 41



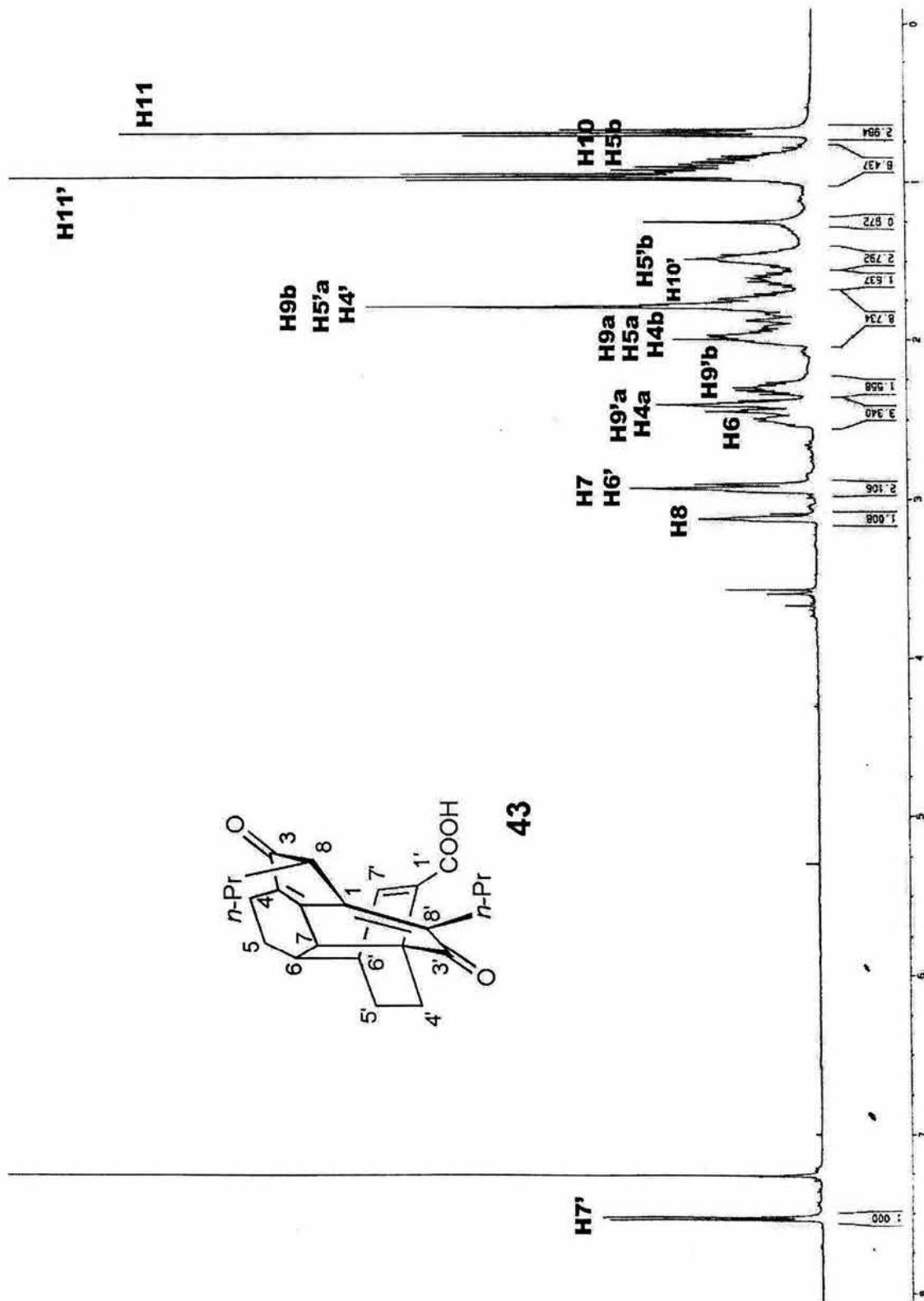
Espectro 28. RMN ^1H del compuesto 42



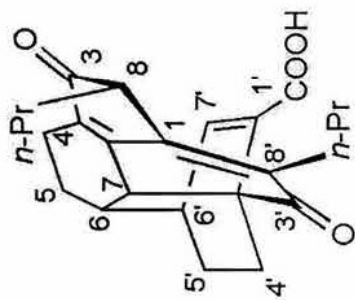
Espectro 29. RMN ¹³C del compuesto 42



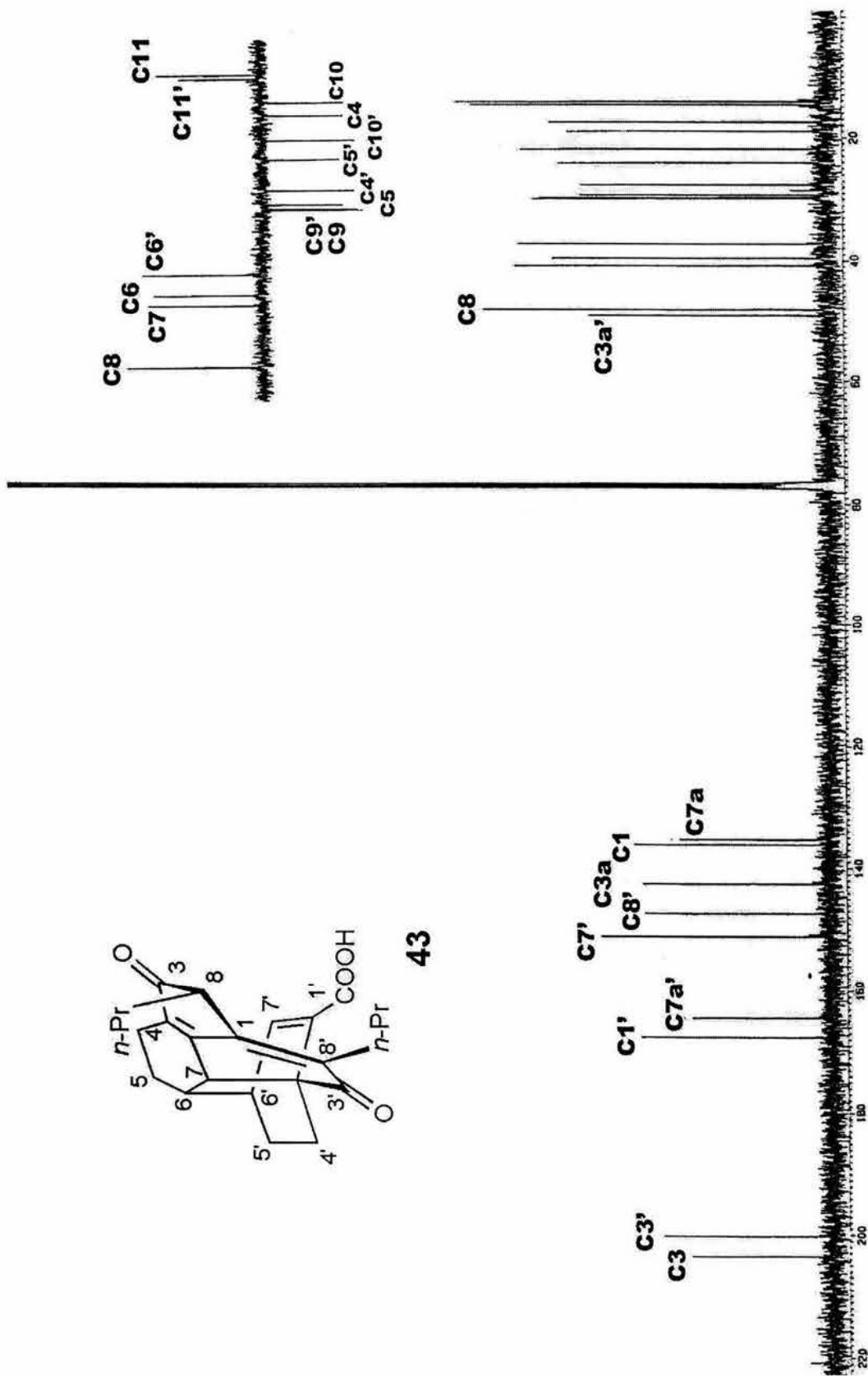
Espectro 30. RMN ^{13}C (DEPT) del compuesto 42



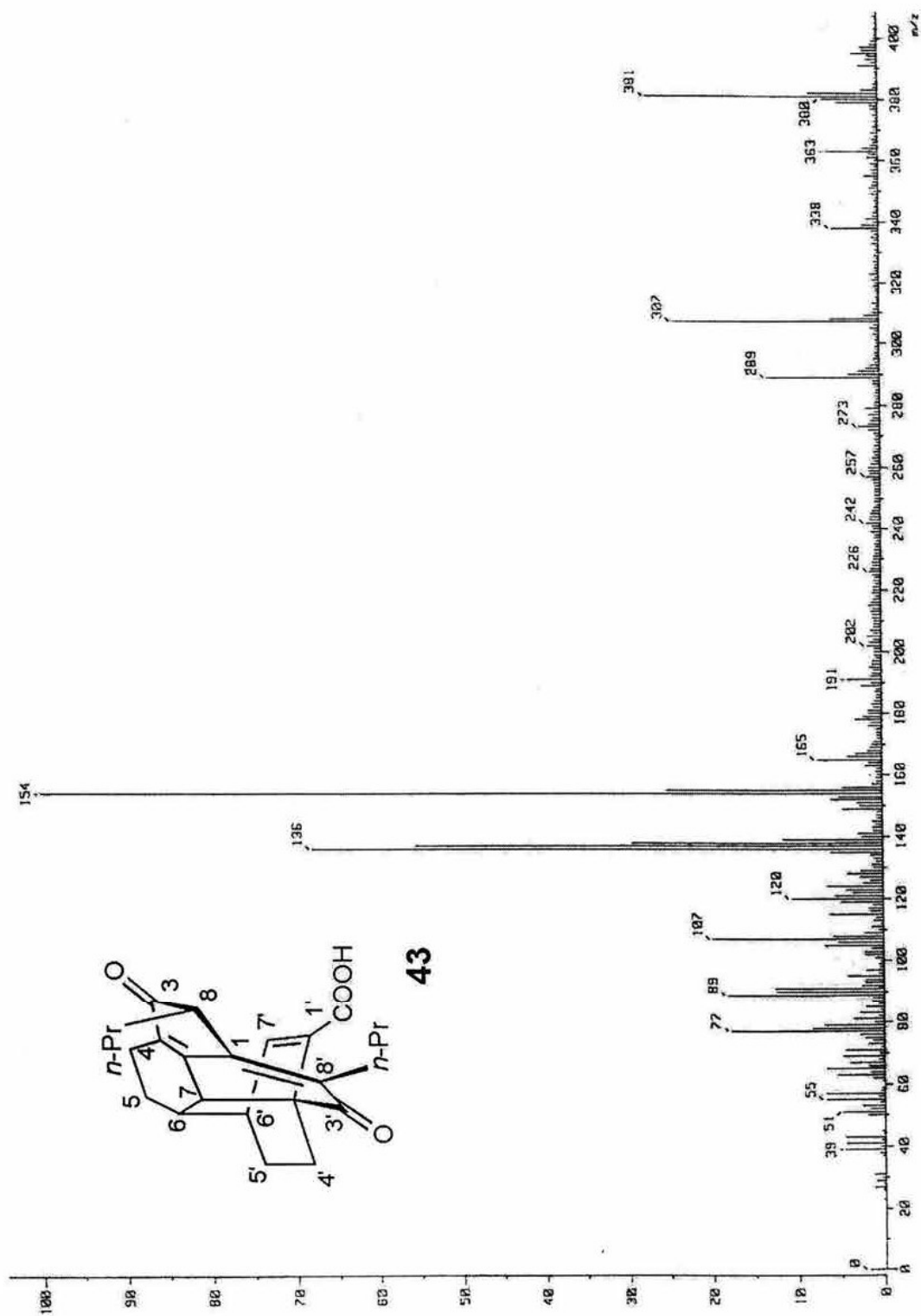
Espectro 31. RMN ¹H del compuesto 43



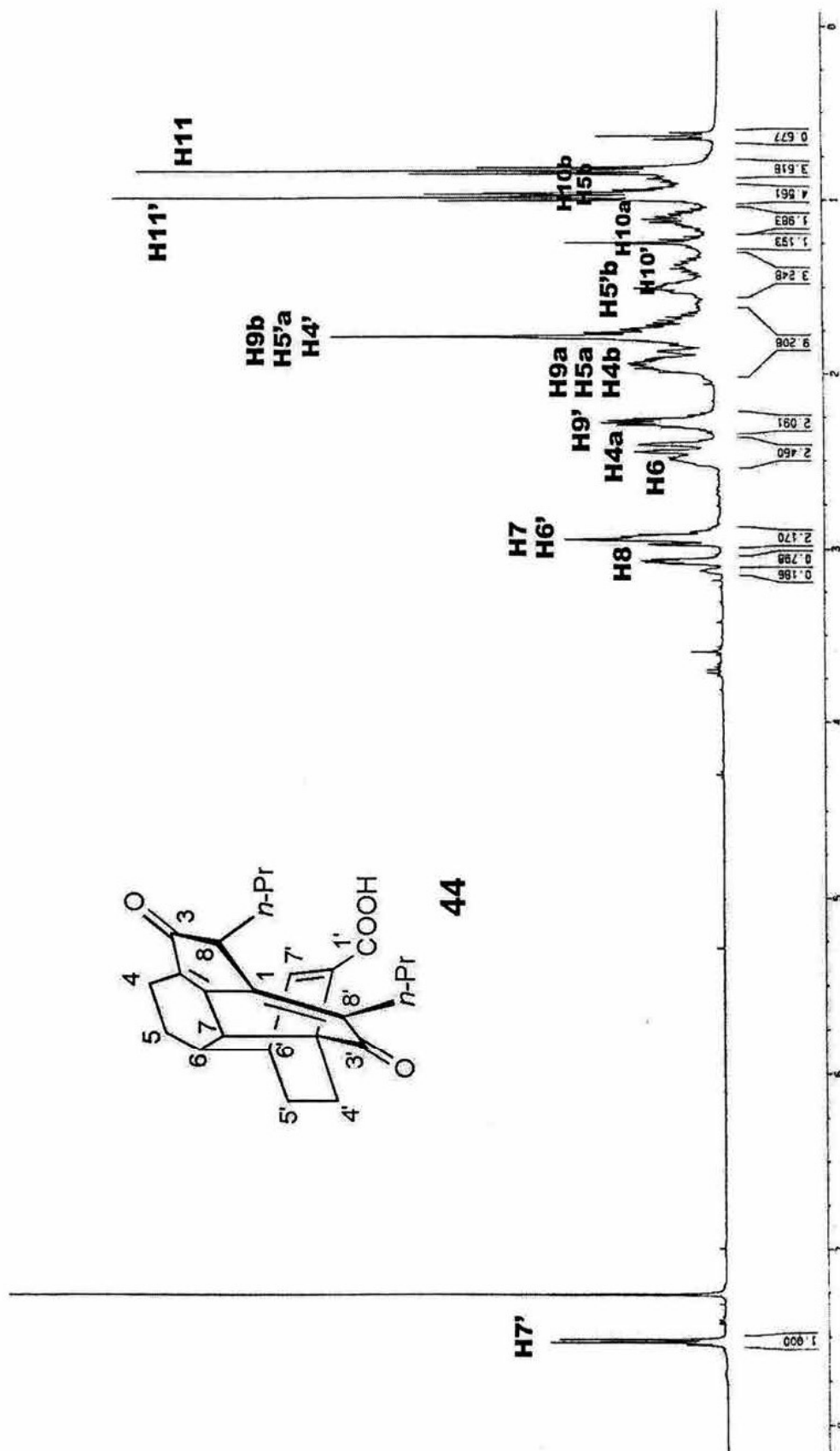
43



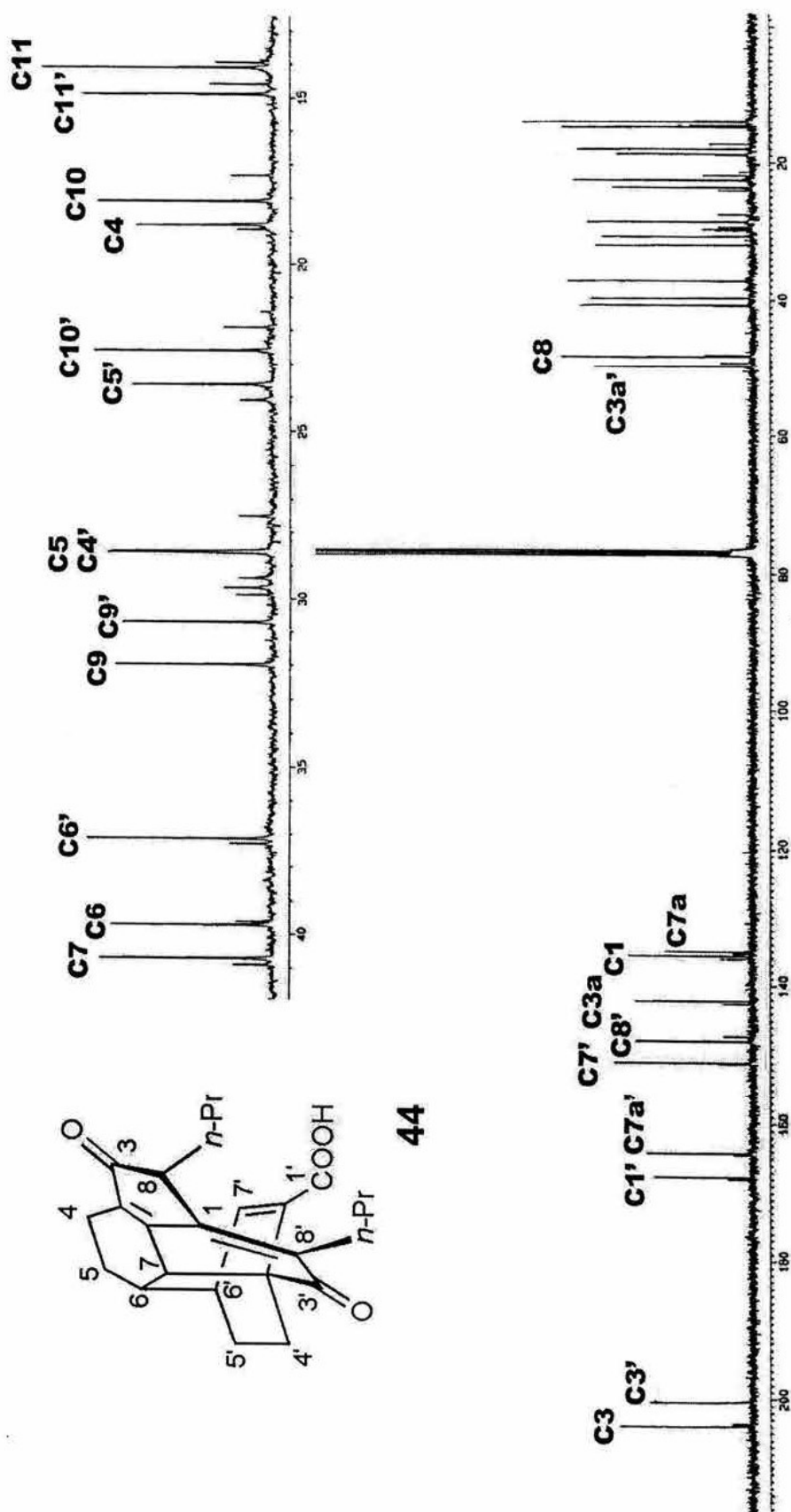
Espectro 32. RMN ^{13}C del compuesto 43



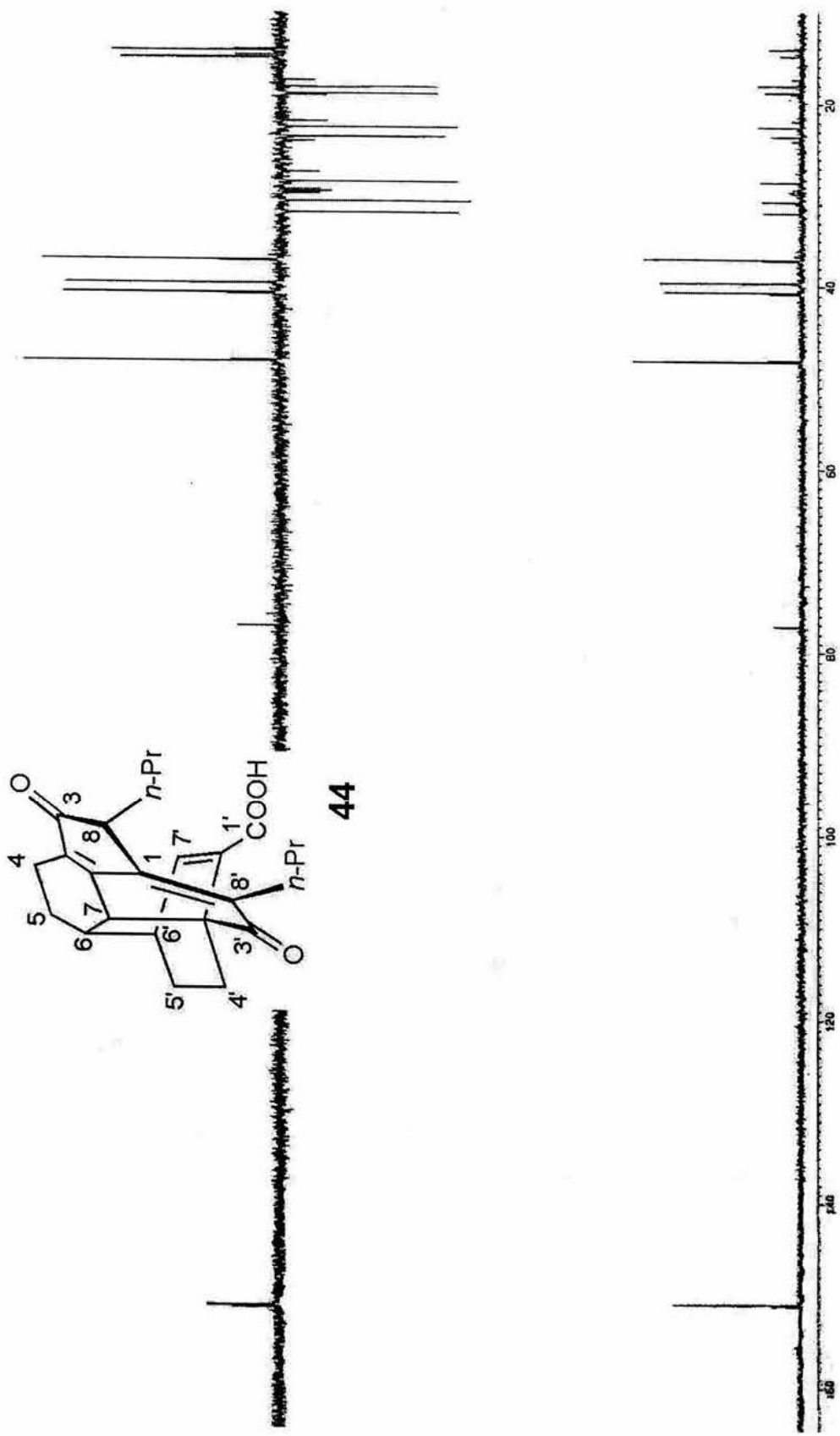
Espectro 33. Masas (FAB) del compuesto 43



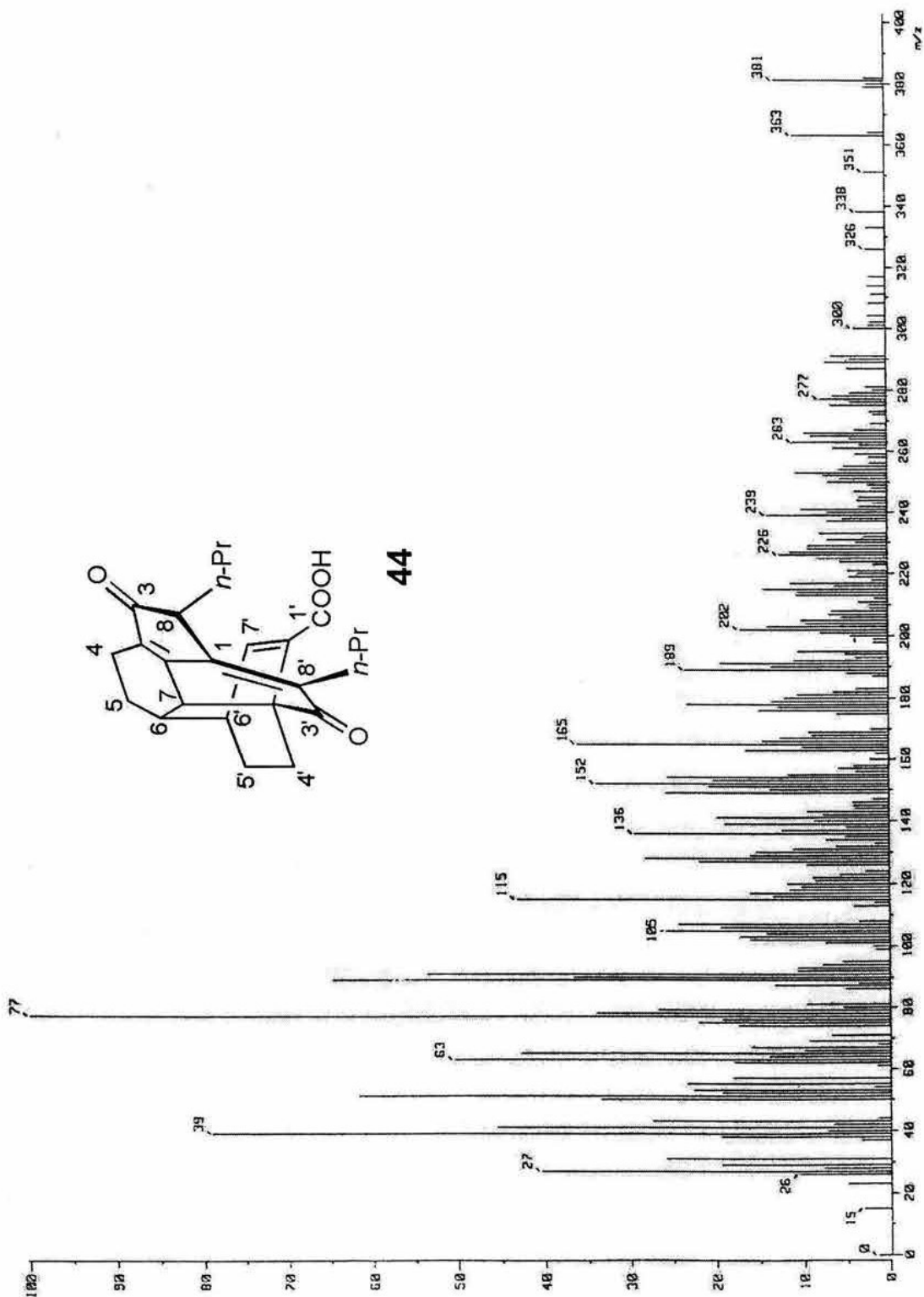
Espectro 34. RMN ^1H del compuesto 44

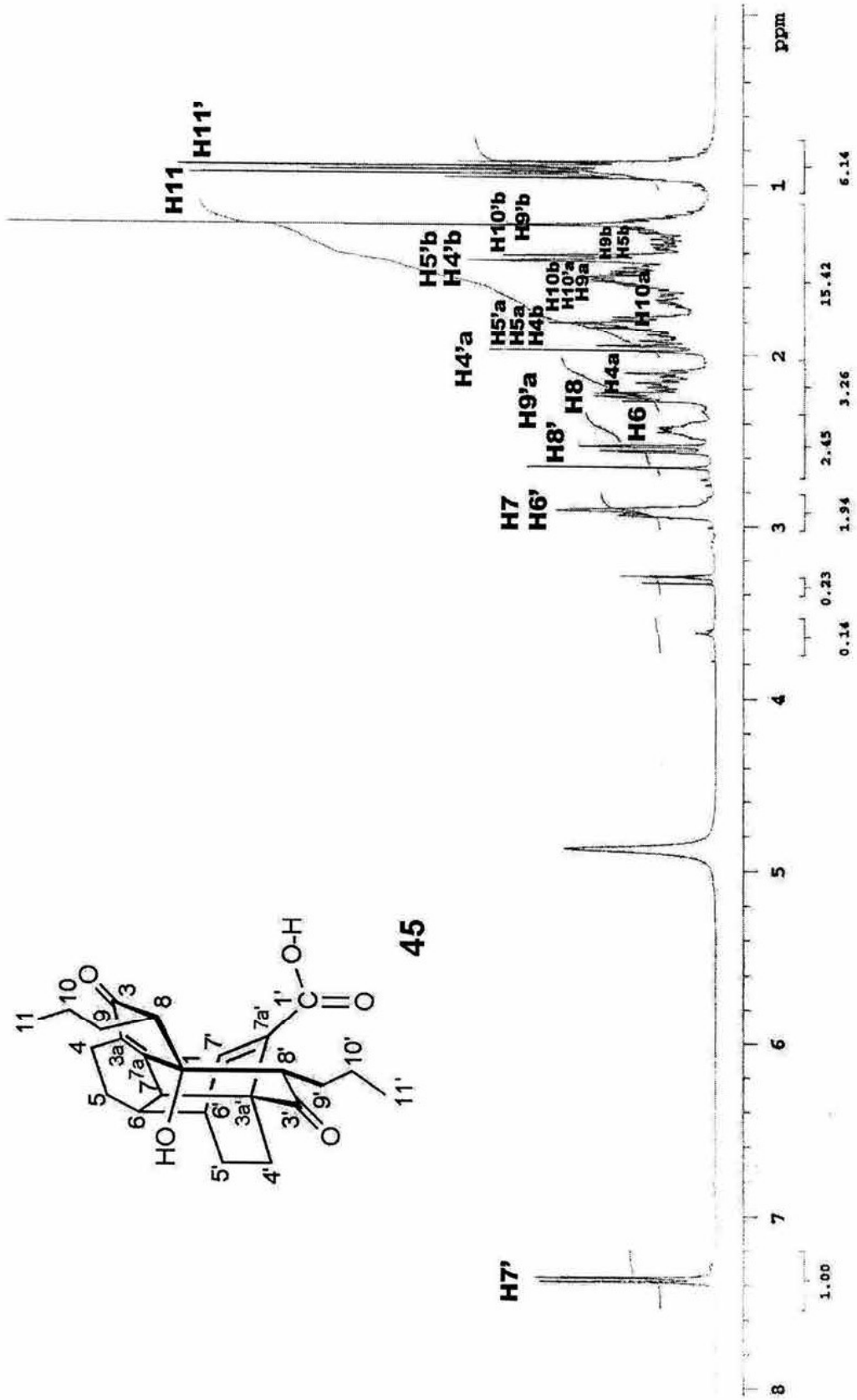
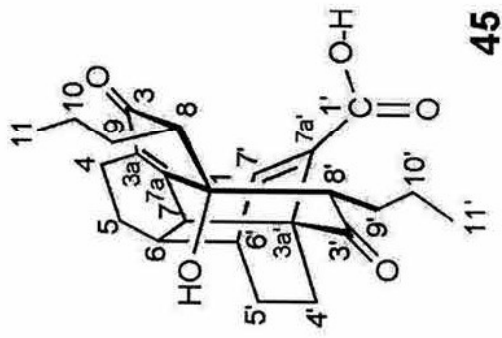


Espectro 35. RMN ^{13}C del compuesto 44

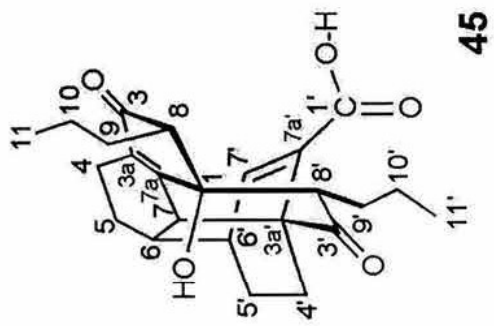
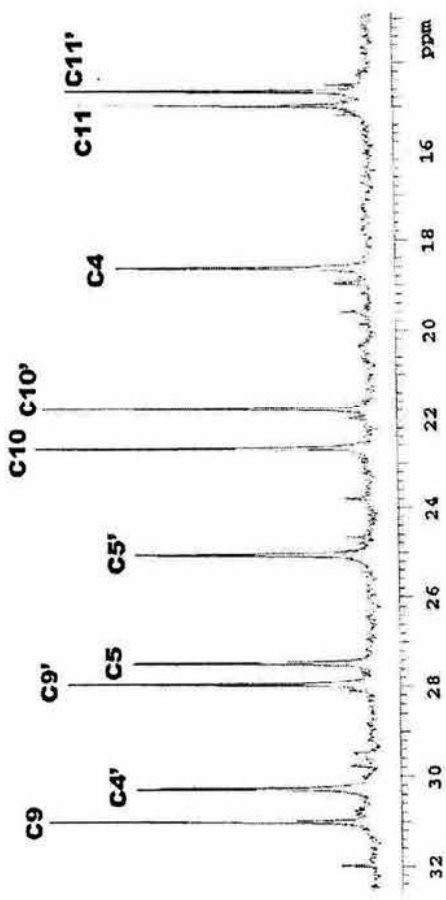


Espectro 36. RMN ^{13}C (DEPT) del compuesto 44

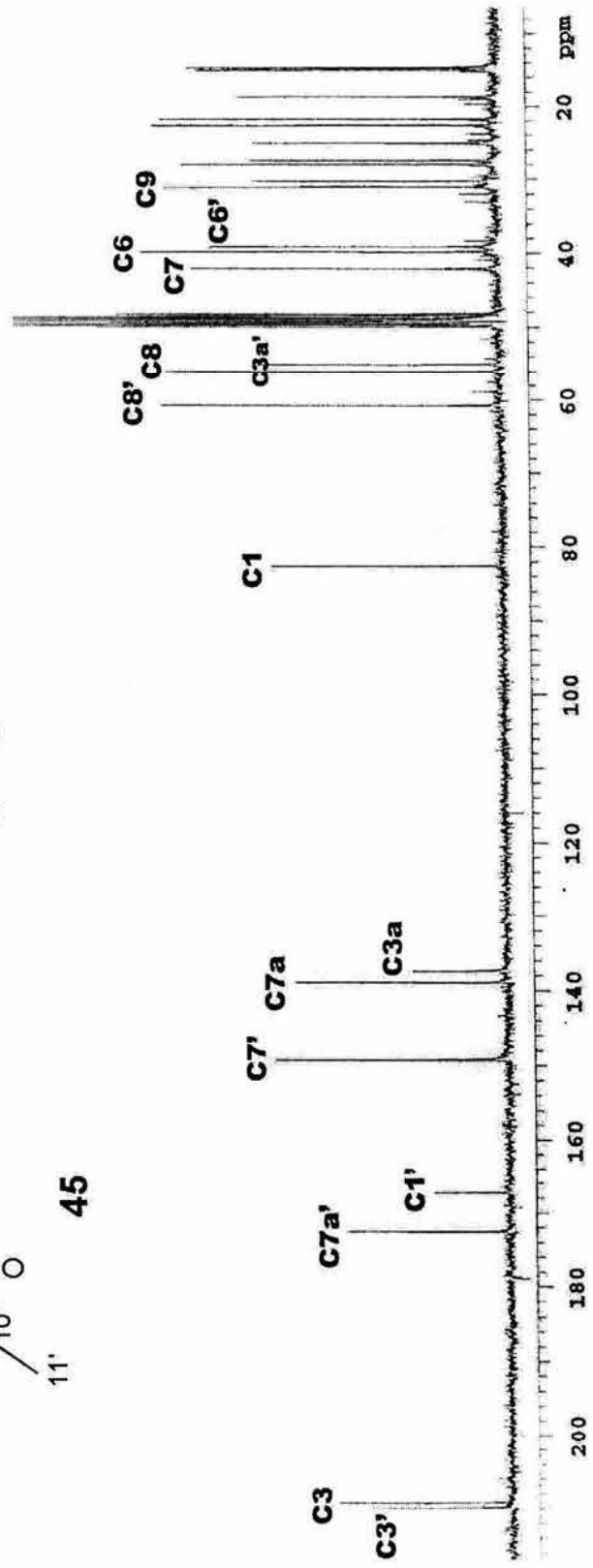




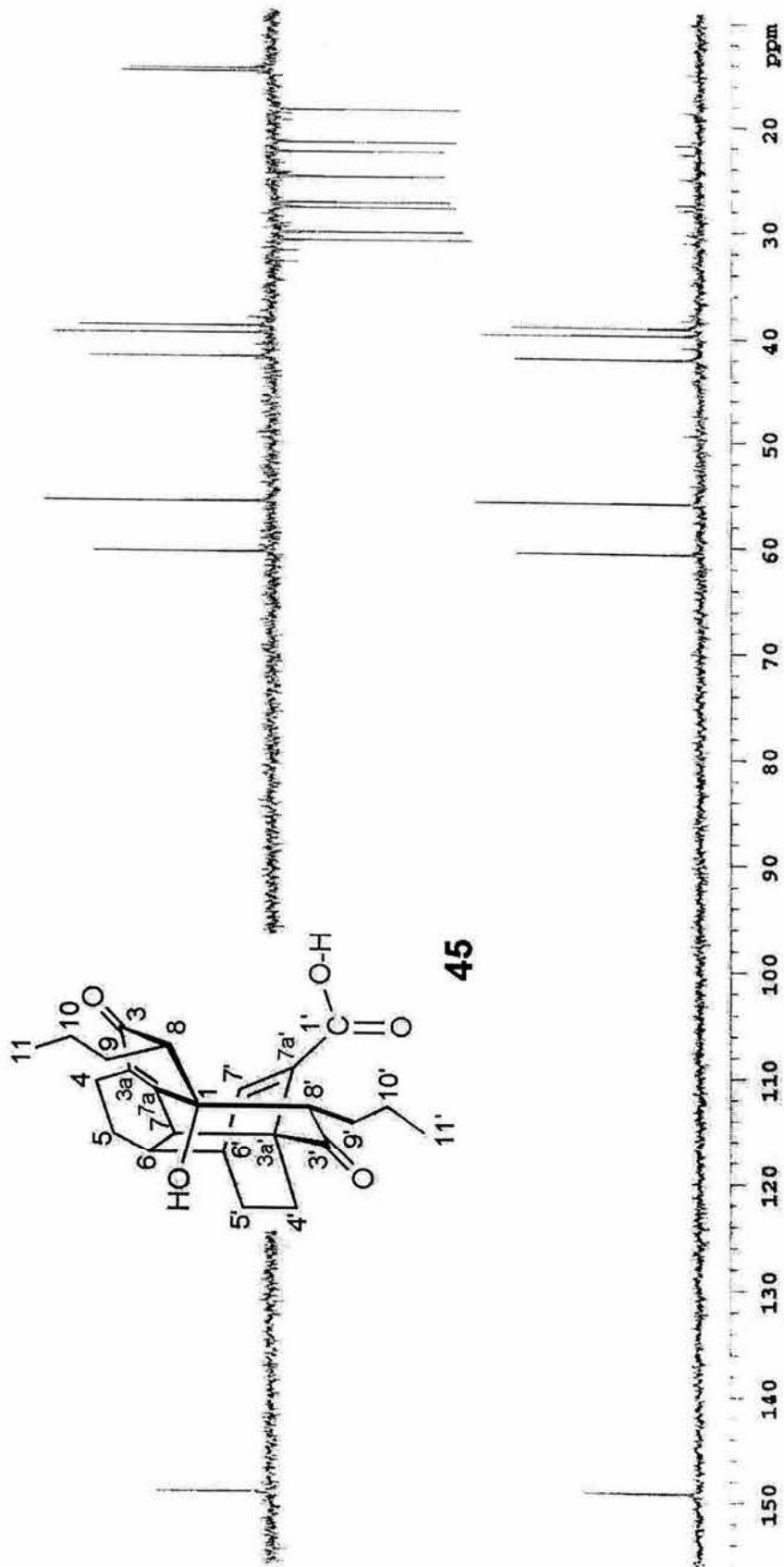
Espectro 38. RMN ^1H del compuesto 45



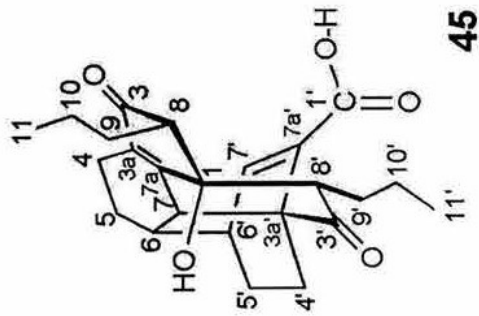
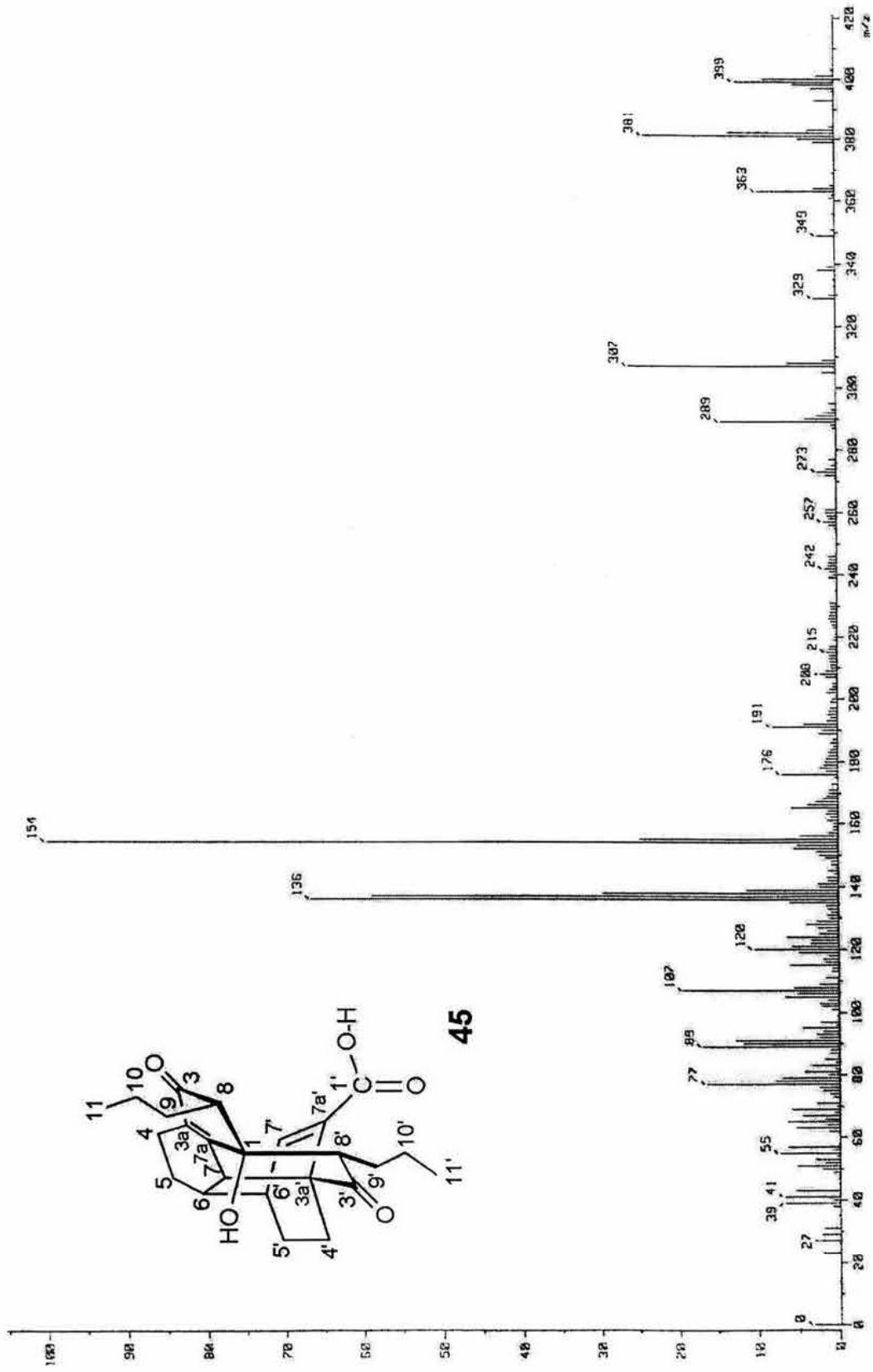
45



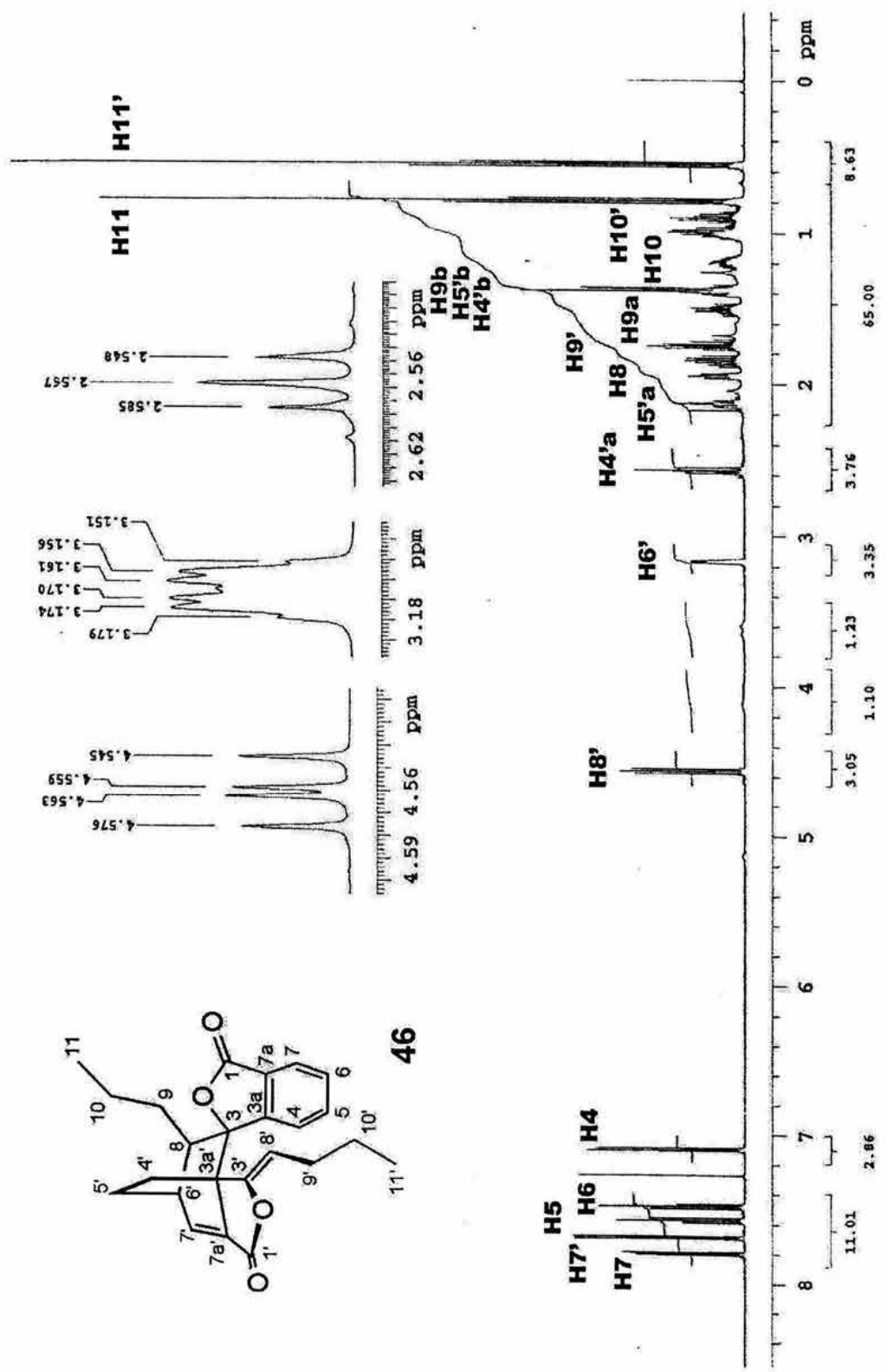
Espectro 39. RMN ¹³C del compuesto 45



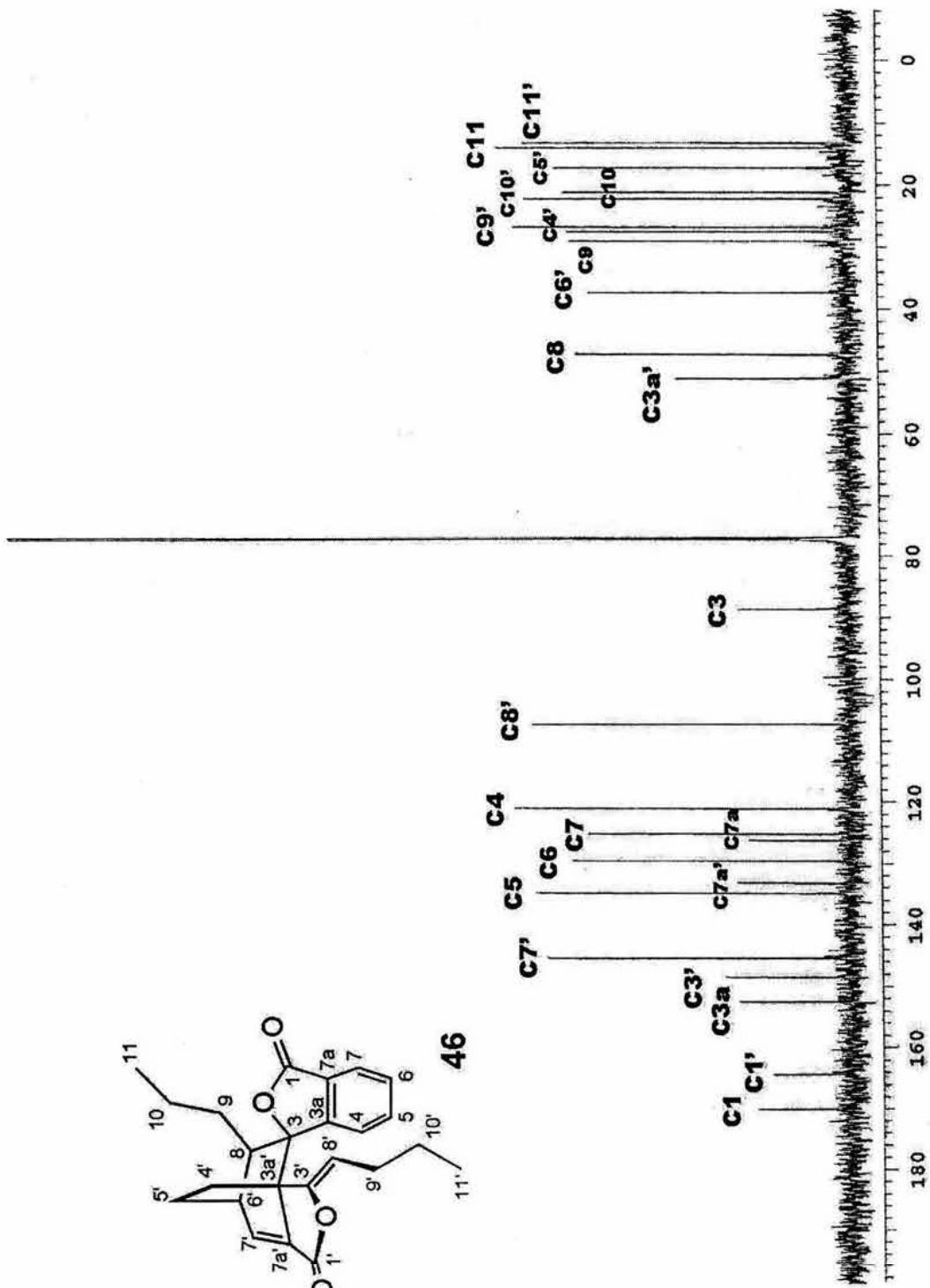
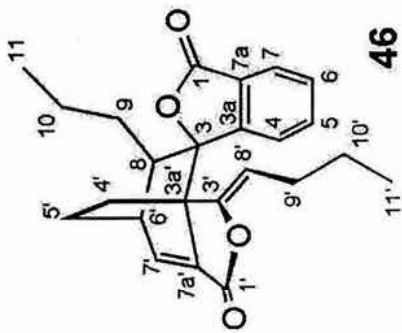
Espectro 40. RMN ^{13}C (DEPT) del compuesto 45



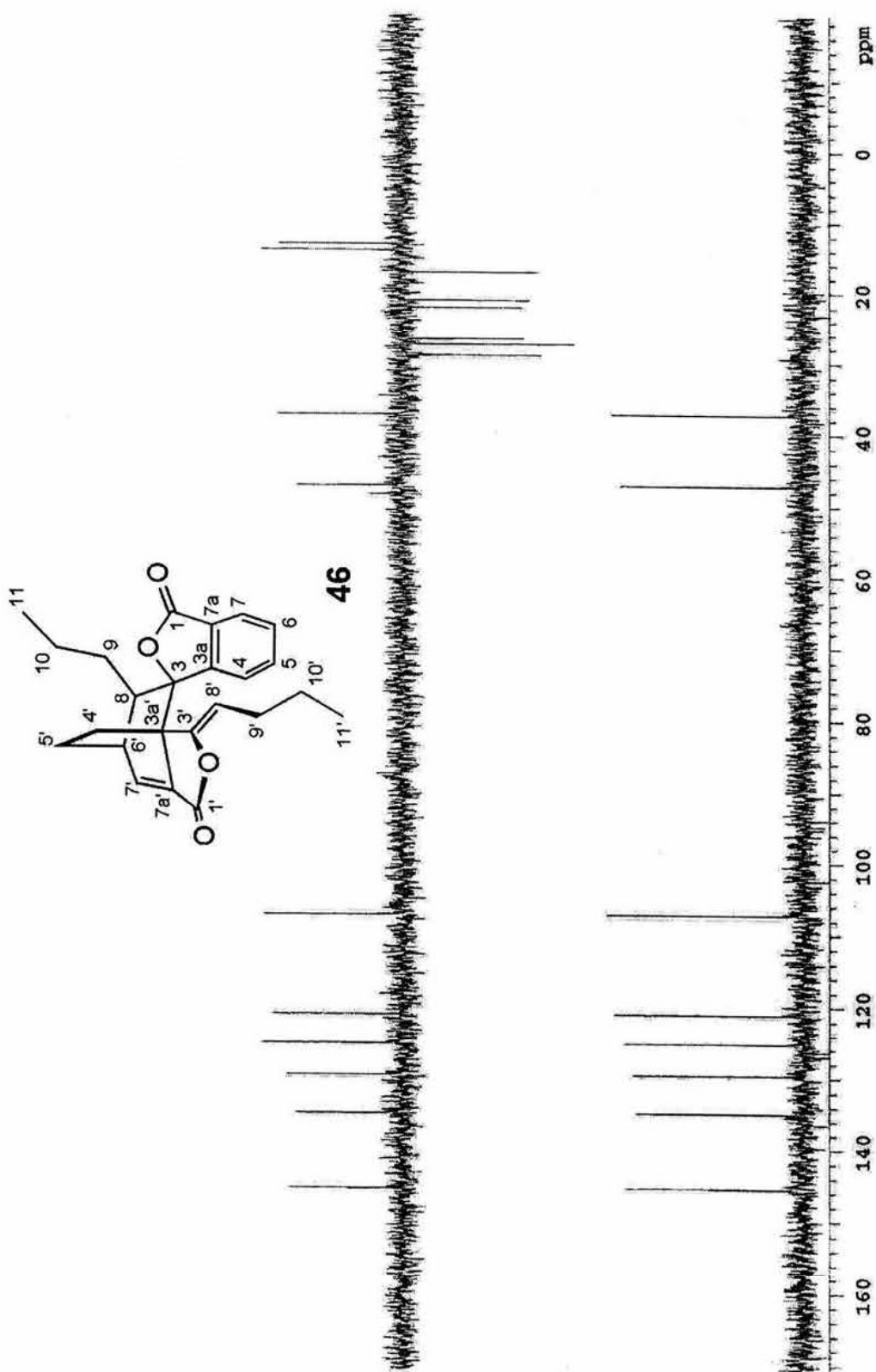
Espectro 41. Masas (FAB) del compuesto 45



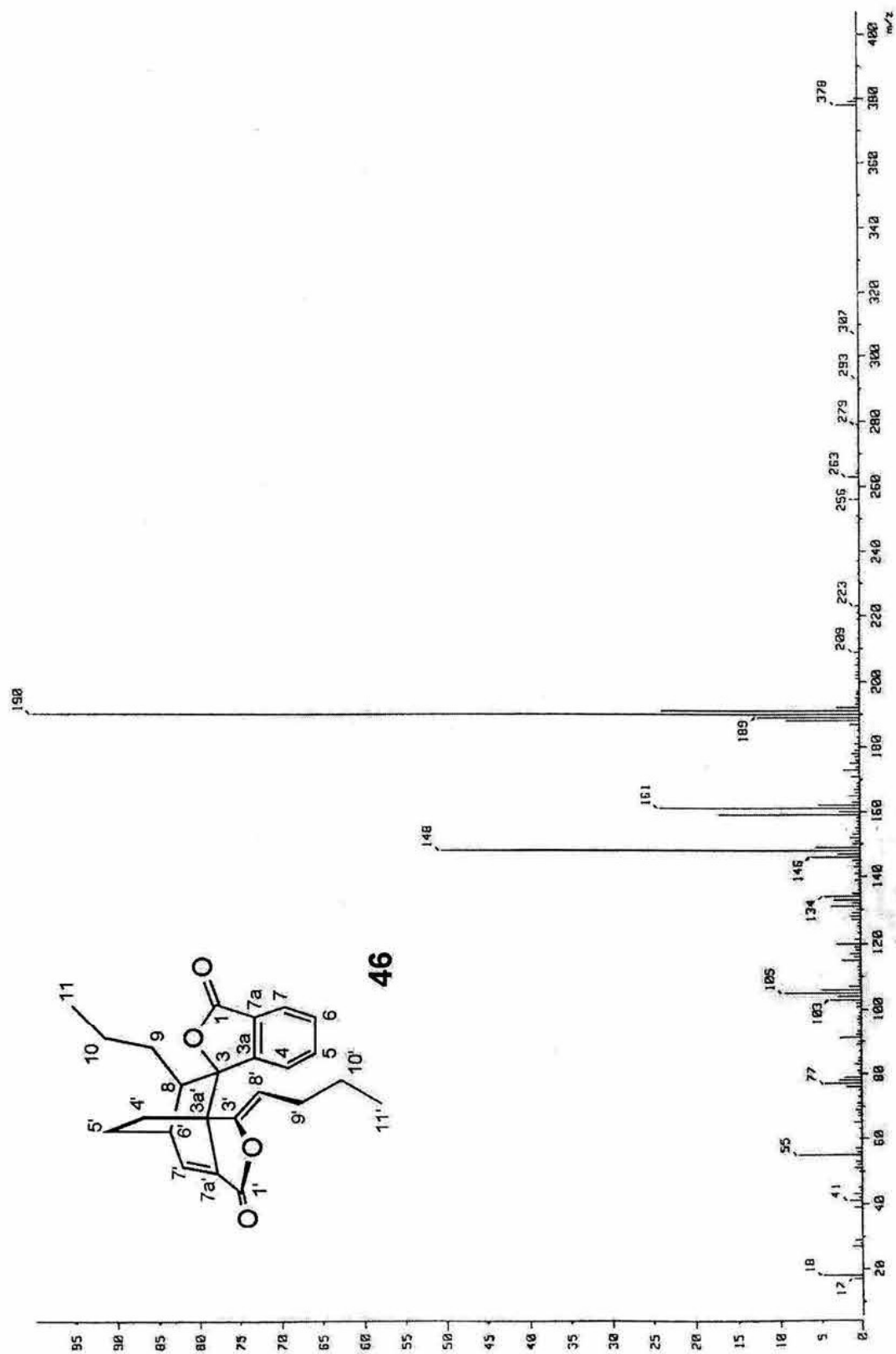
Espectro 42. RMN ¹H de 4,5-dehidrotoquinólida B (46)

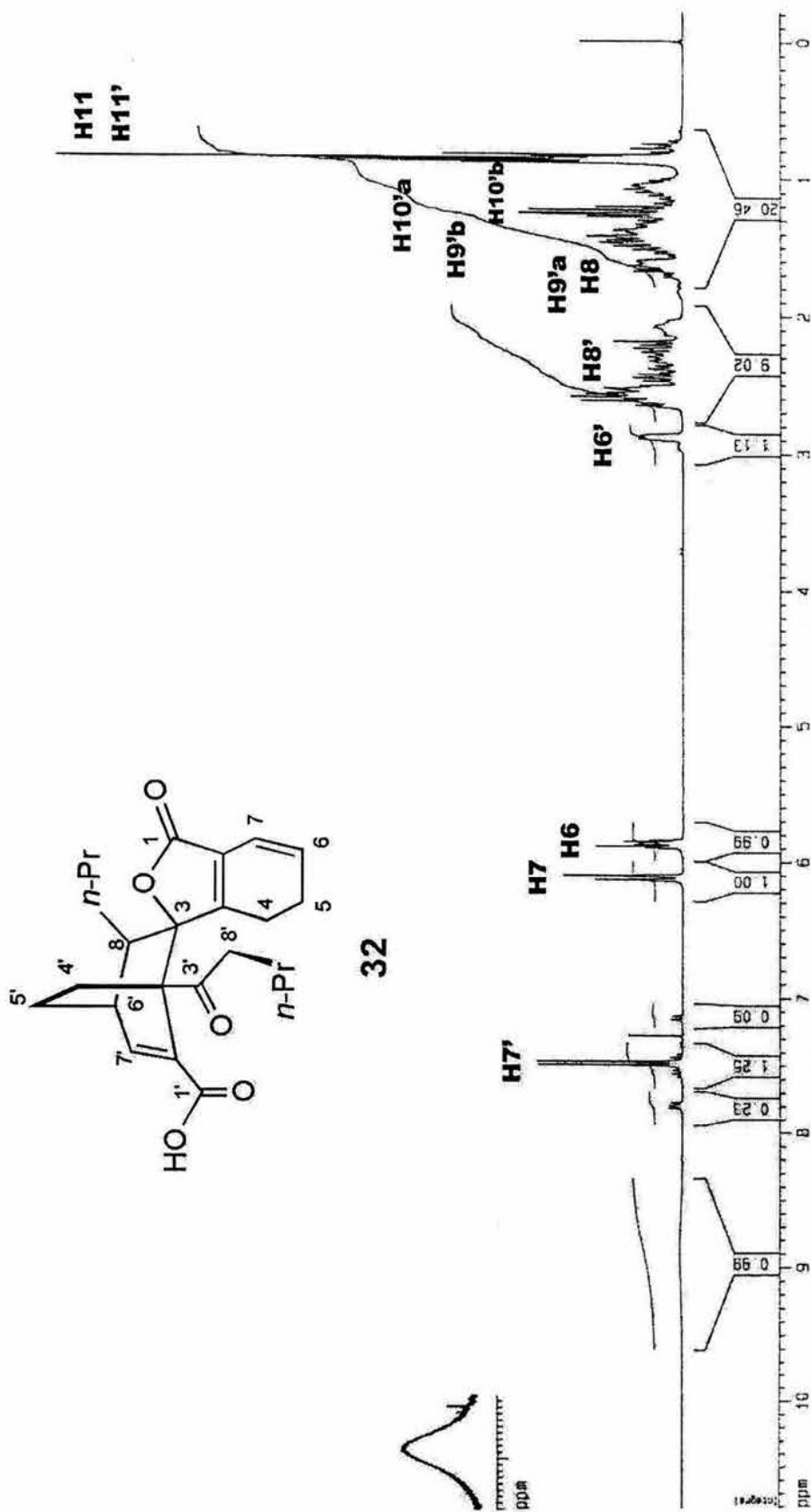


Espectro 43. RMN ^{13}C de 4,5-dehidrotoquinólida B (46)

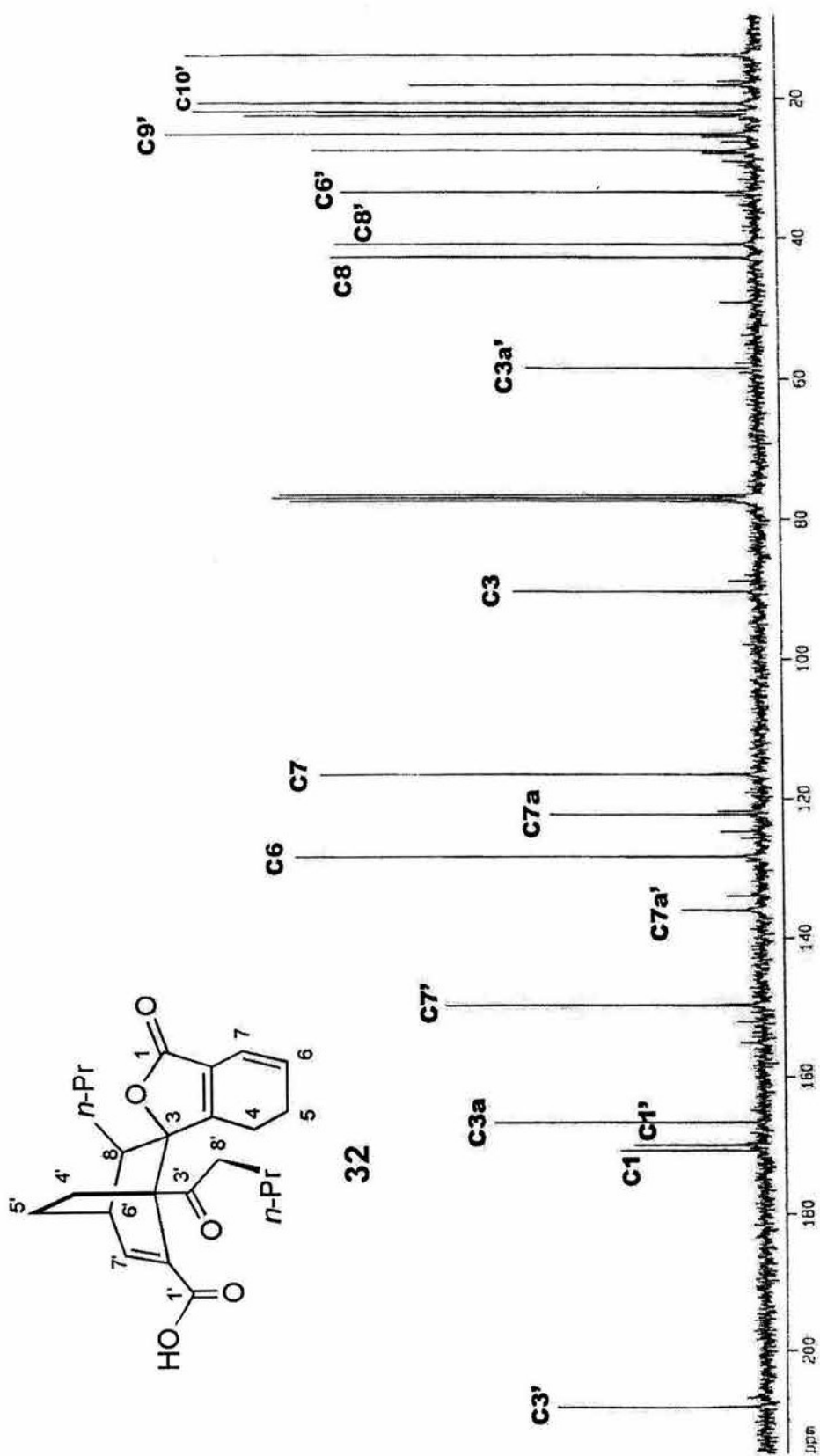


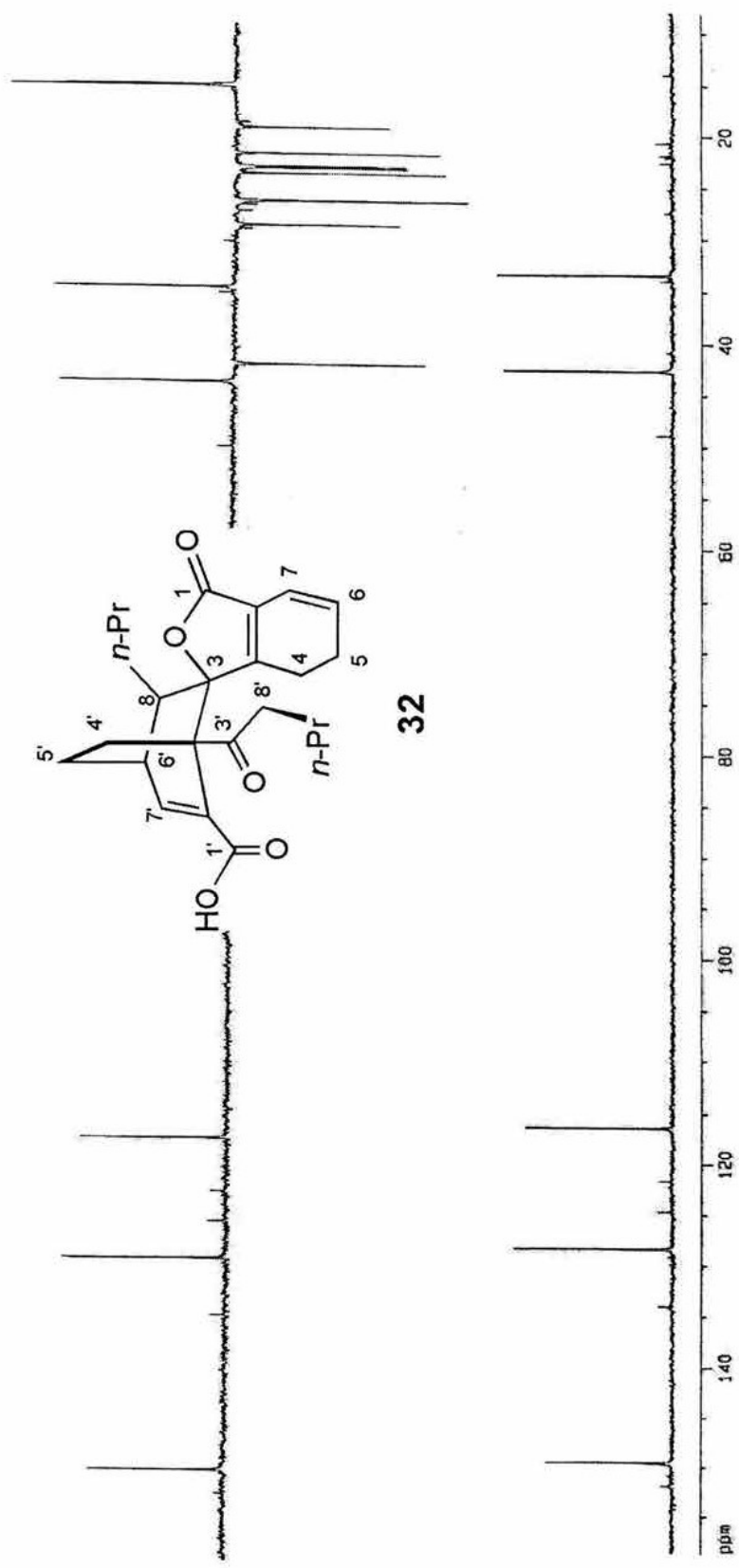
Espectro 44. RMN ^{13}C (DEPT) de 4,5-dehidrotoquinólida B (46)





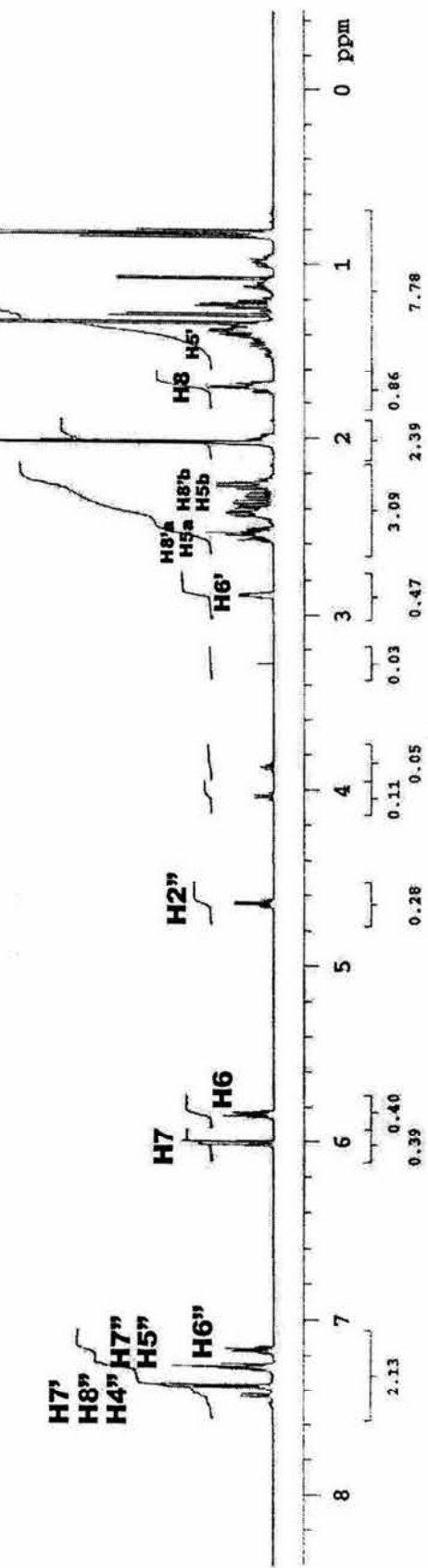
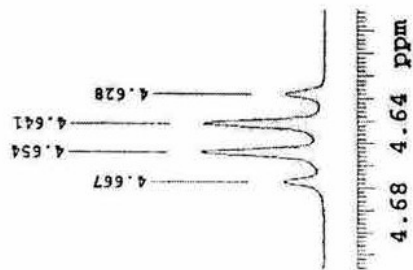
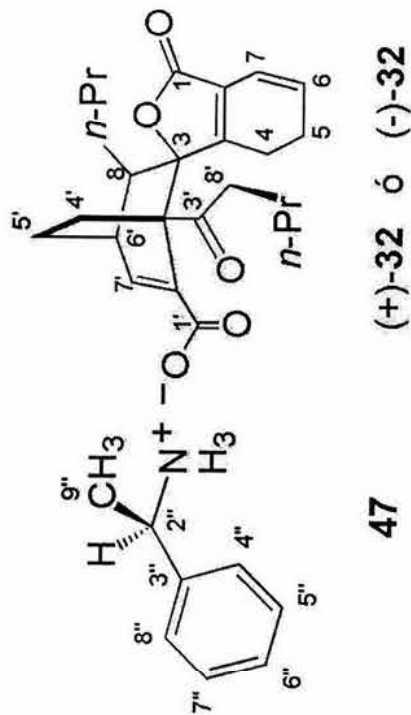
Espectro 46. RMN ¹H Ceto ácido 32





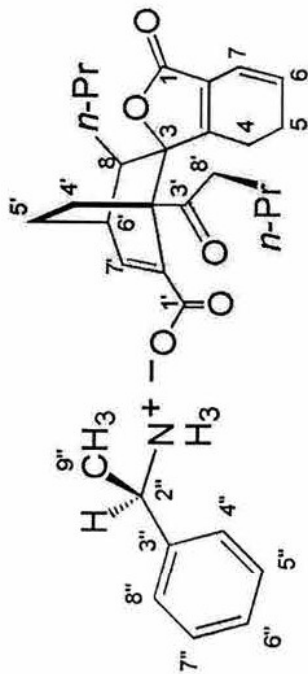
Espectro 48. RMN ^{13}C (DEPT) Ceto ácido 32

Sal diastereoisomérica

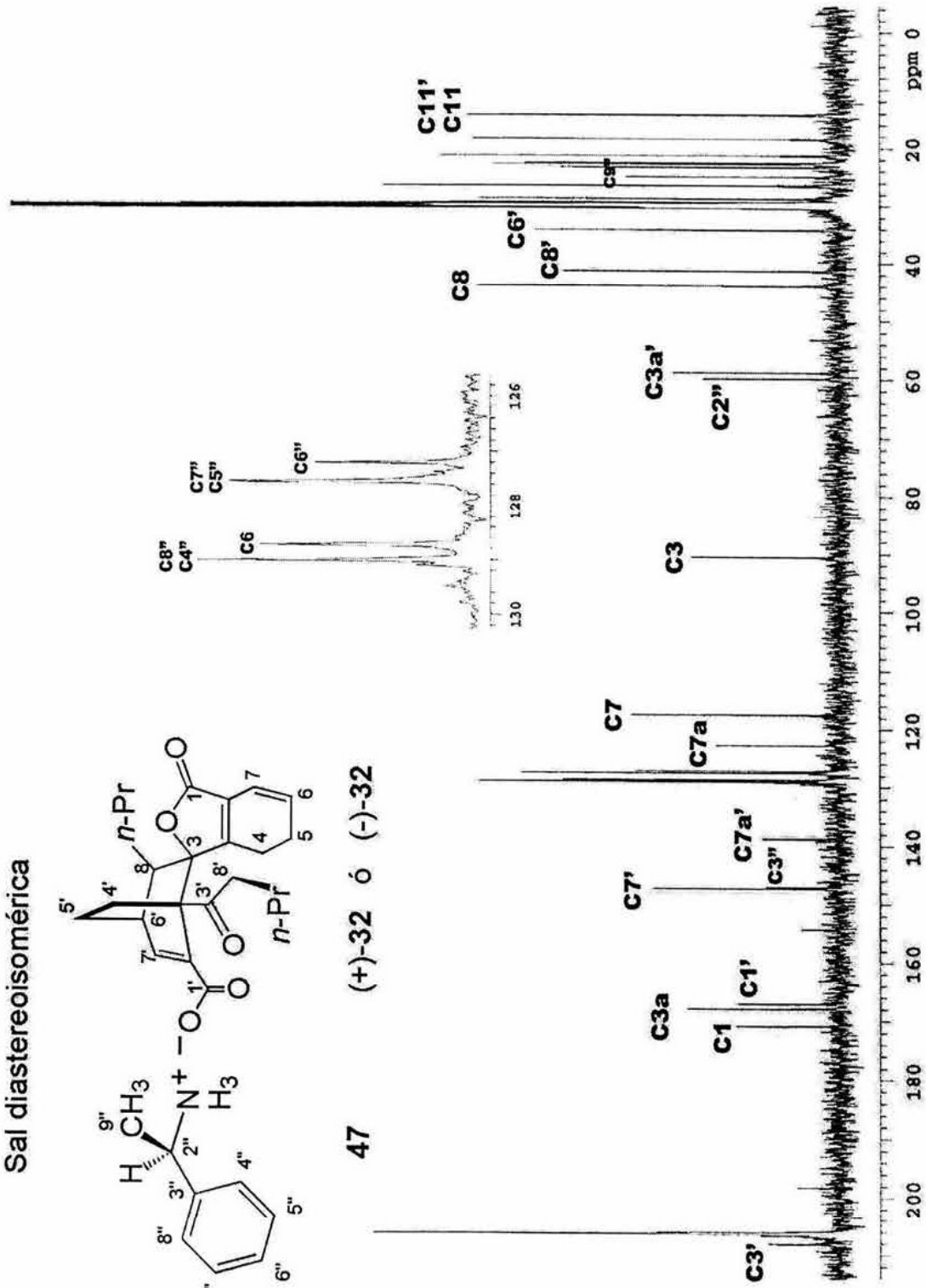


Espectro 49. RMN ¹H de la sal diastereoisomérica del ceto ácido 32 con la amina quiral 47

Sal diastereoisomérica

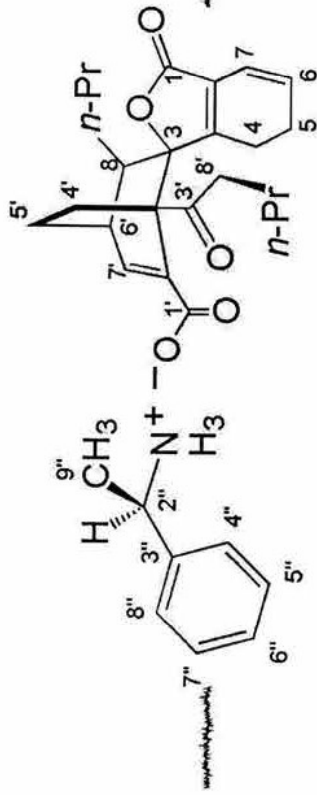


47 (+)-32 ó (-)-32

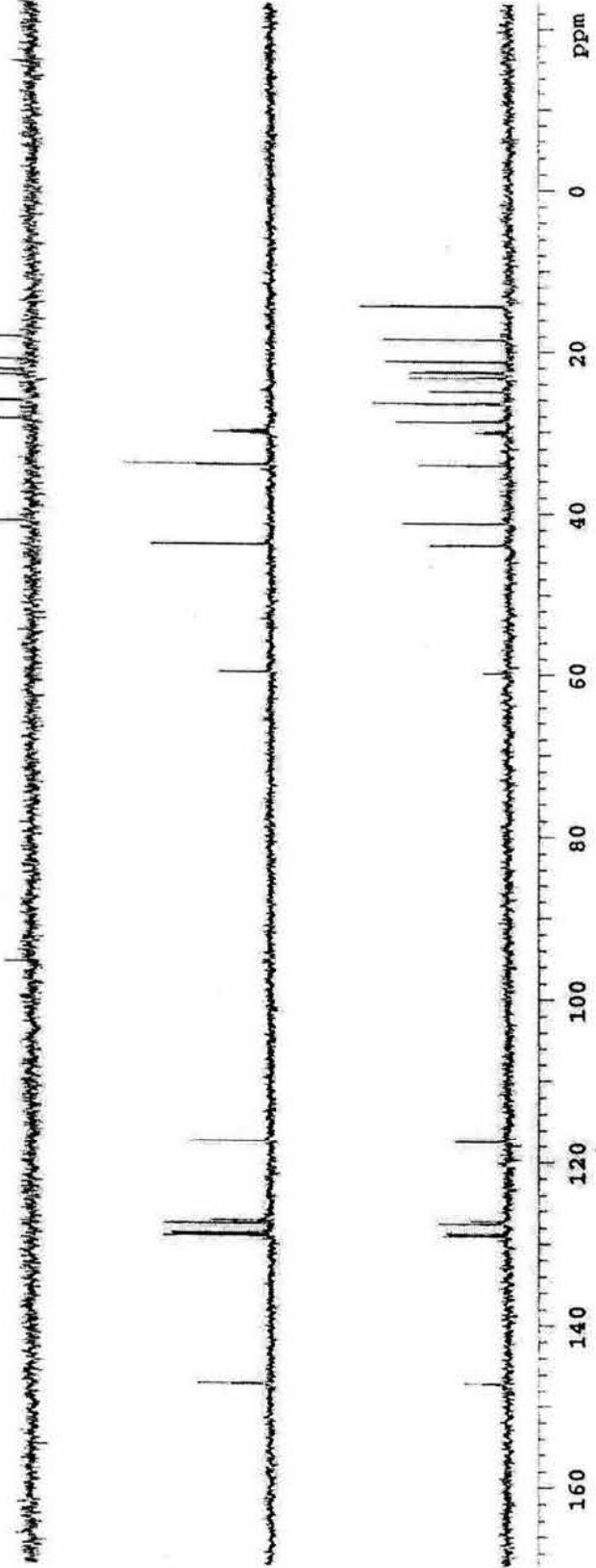


Espectro 50. RMN ^{13}C de la sal diastereoisomérica del ceto ácido 32 con la amina quiral 47

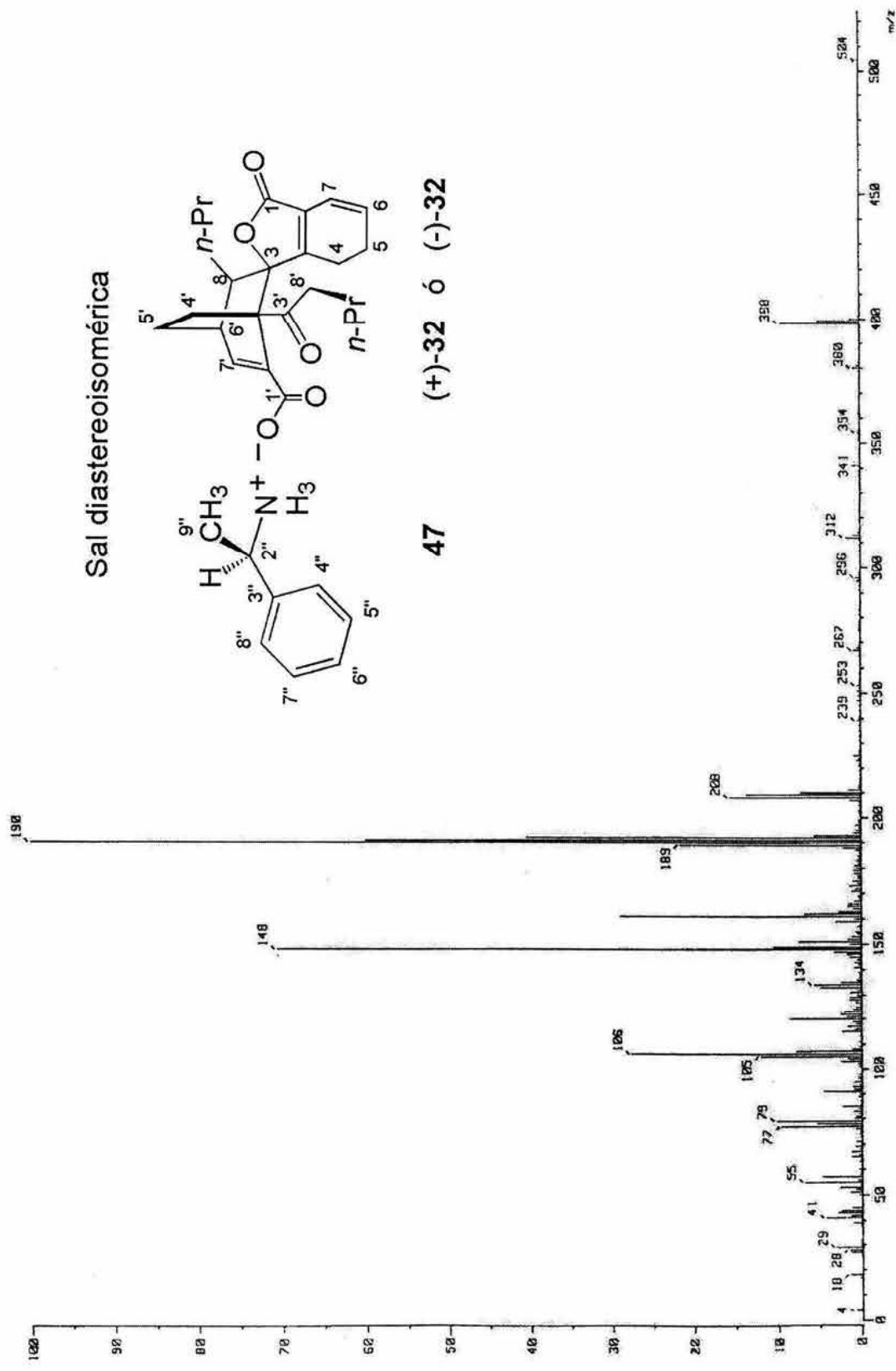
Sal diastereoisomérica



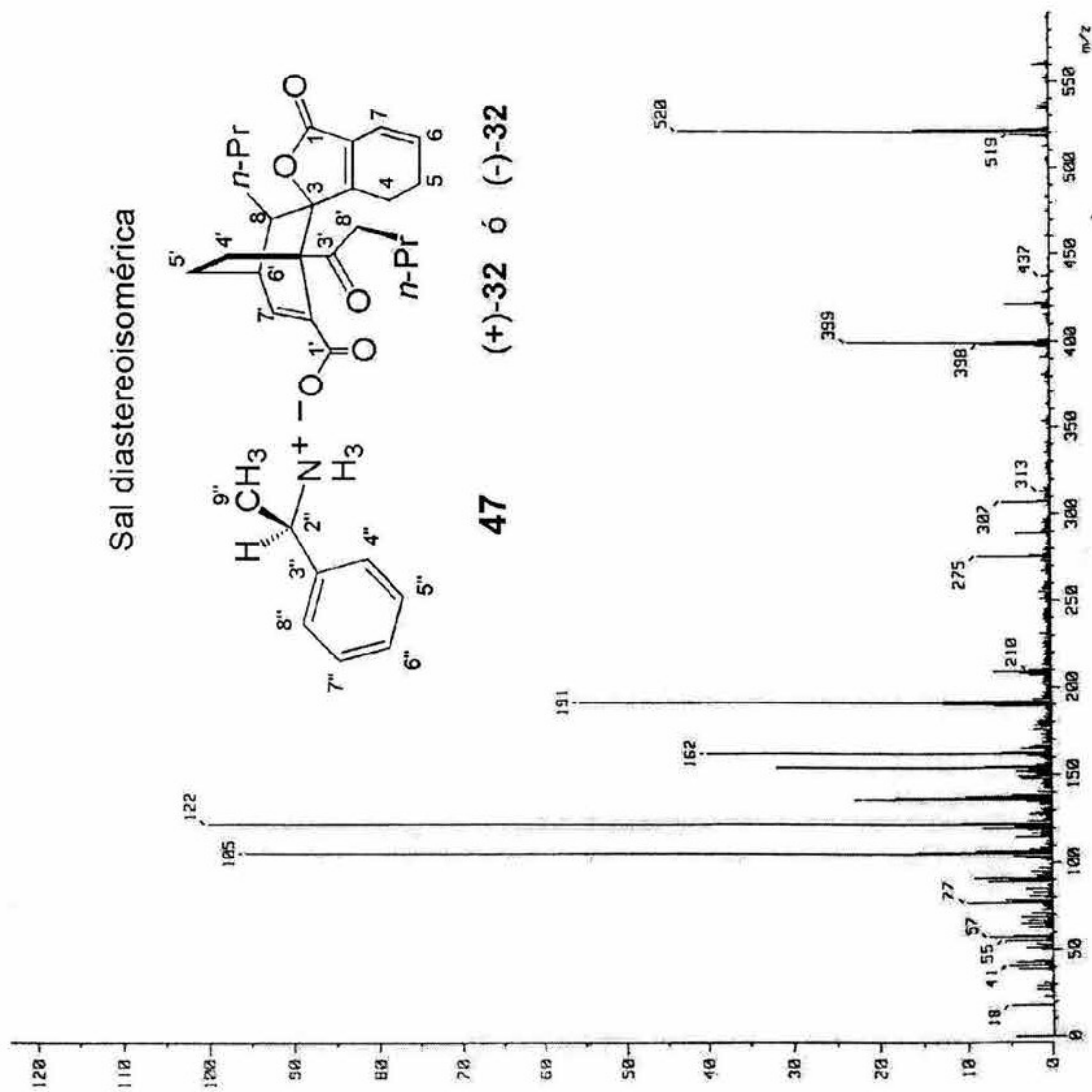
47 (+)-32 ó (-)-32



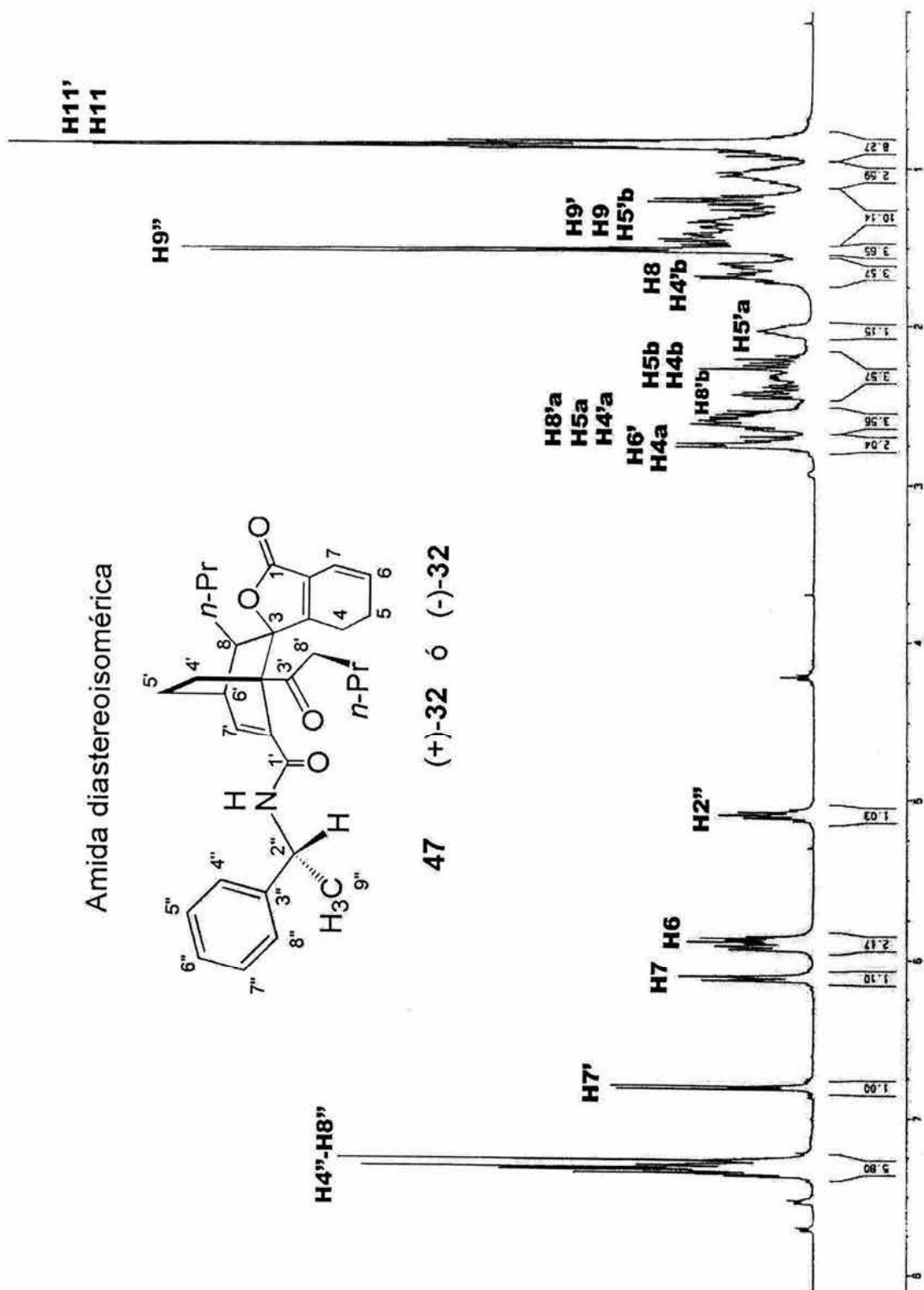
Espectro 51. RMN ¹³C (DEPT) de la sal diastereoisomérica del ceto ácido 32 con la amina quiral 47



Espectro 52. Masas (IE) de la sal diastereoisomérica del ceto ácido 32 con la amina quiral 47

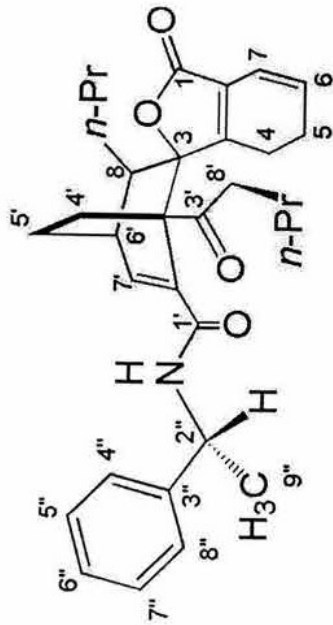


Espectro 53. Masas (FAB) de la sal diastereoisomérica del ceto ácido 32 con la amina quiral 47

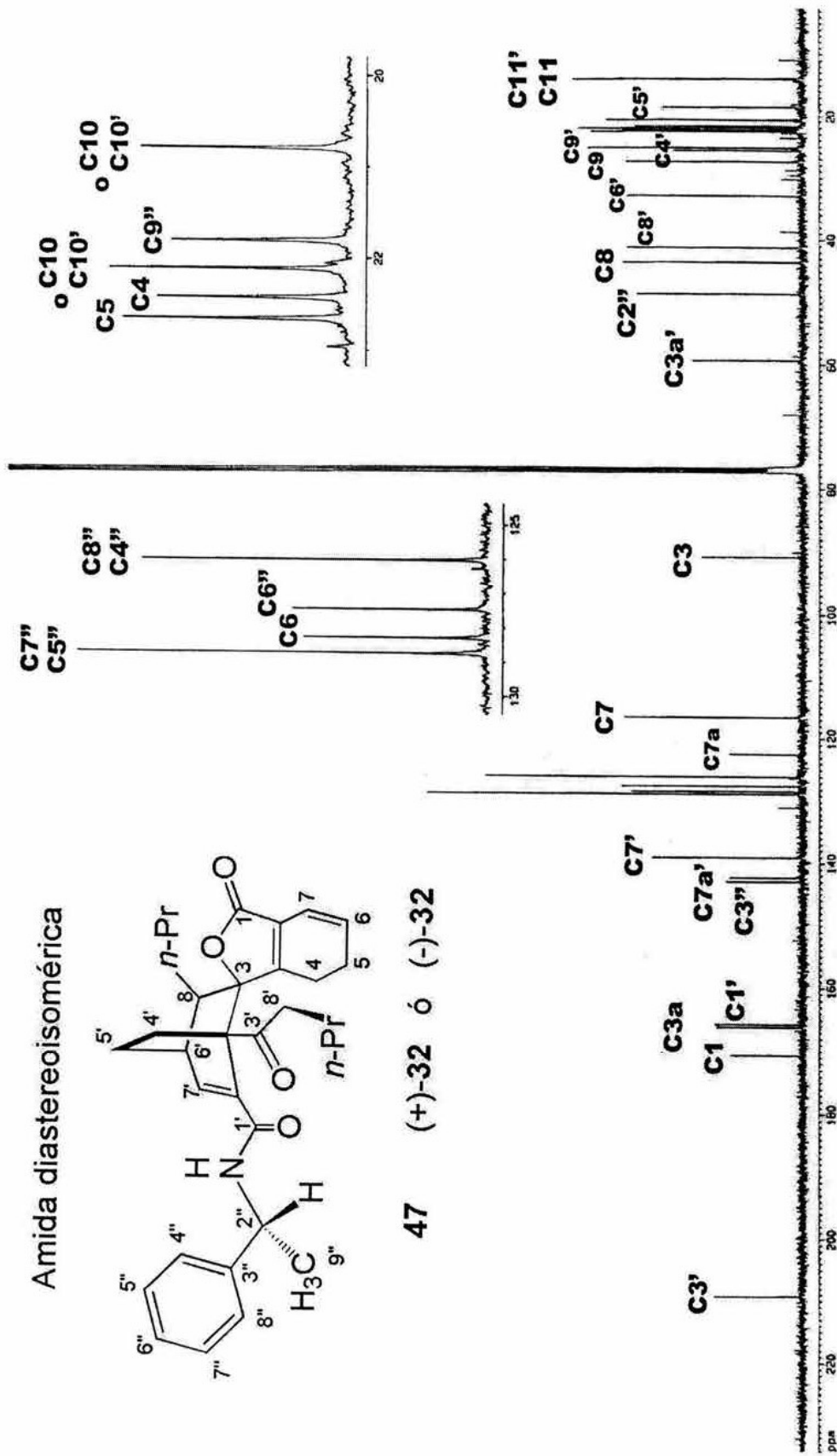


Espectro 54. RMN ¹H de la amida diastereoisomérica del ceto ácido 32 y la amina quiral 47

Amida diastereoisomérica

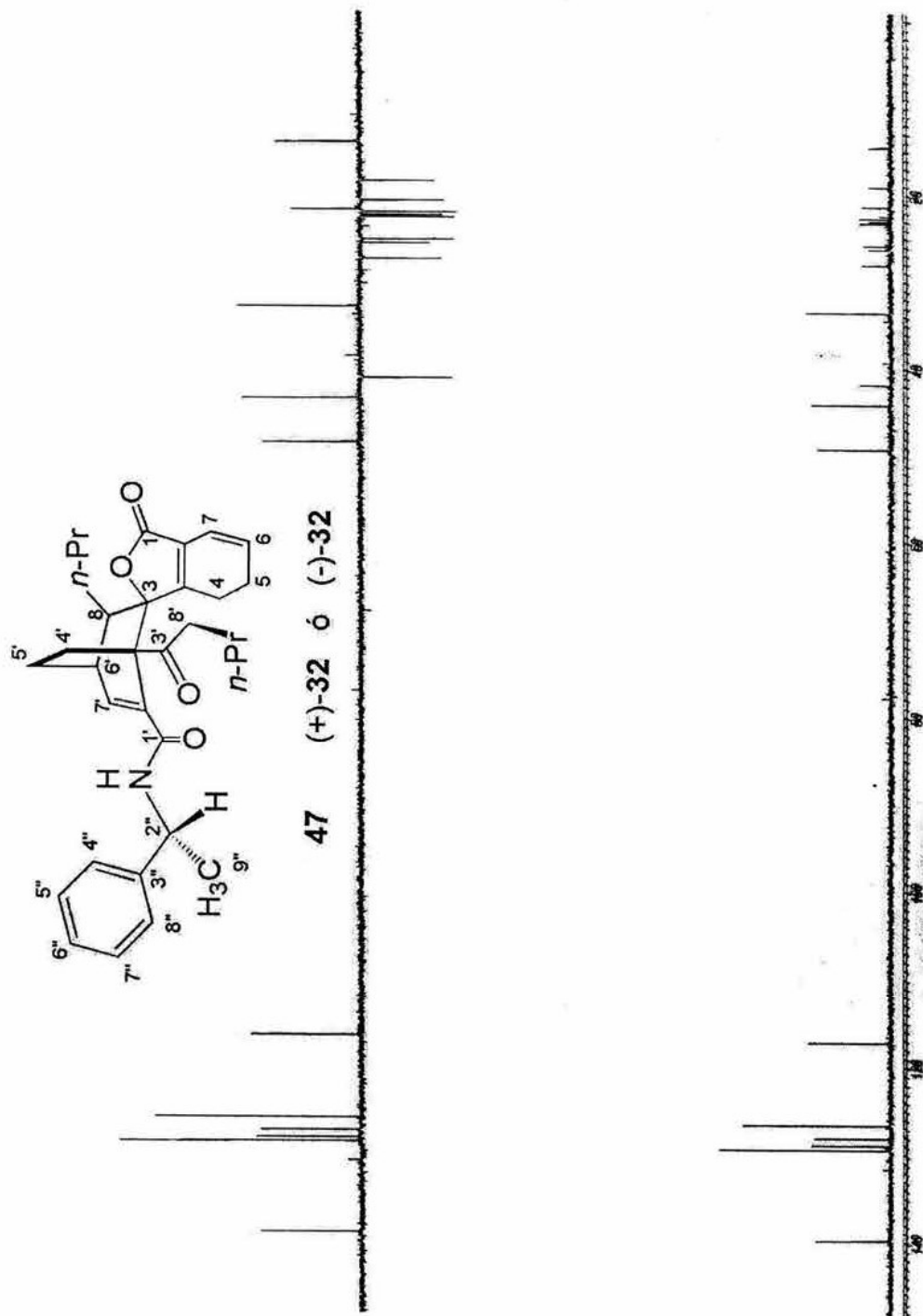


47 (+)-32 ó (-)-32



Espectro 55. RMN ¹³C de la amida diastereoisomérica del ceto ácido 32 y la amina quiral 47

Amida diastereoisomérica



Espectro 56. RMN ¹³C (DEPT) de la amida diastereoisomérica del ceto ácido 32 y la amina quiral 47

REFERENCIAS

Referencias

1. Mitsuhashi, H.; Nomura, M. "Studies on the Constituents of Umbelliferae Plants. XII. Biogenesis of 3-Butylphthalide". *Chem. Pharm. Bull.* **1966**, *14*, 777-778.
2. Gijbels, M. J.; Scheffer, J. J. C.; Svendsen B. "Phthalides in Umbelliferae". *Rivista Italiana E. P. P. O. S.* **1979**, 335-341. Chem. Abstr. 92:90817y.
3. Kaouadji, M.; Puech-Baronnat, M.; Mariotte, A.-M. "Z-Ligustilidiol, Nouveau Phthalide Hydroxyle Isole de *Ligusticum wallichii* Franch" *Tetrahedron Lett.* **1983**, *24*, 4675-4676.
4. Pushan, G.; Xuanliang, W.; Yihiong, Y.; Fukuyama, I.; Miura, M.; Sugawara, M. "Phthalides from the Rhizome of *Ligusticum wallichii*". *Phytochemistry* **1984**, *23*, 2033-2038.
5. Kaouadji, M.; De Pachtere, F.; Pouget, C.; Chulia, A. J.; Lavaitte, S. "Three Additional Derivatives, an Epoximonomer and two Dimers, from *Ligusticum wallichii* Rhizomes". *J. Nat. Prod.* **1986**, *49*, 872-877.
6. Huang, Y.; Pu, F. "The Analysis of the Chemical Components of Essential Oils from Three *Ligusticum* Species". *Yaowu Fenxi Zazhi* **1989**, *9*, 147-151. Chem. Abstr. 112:33325u.
7. Naito, T.; Katsuhara, T.; Niitsu, K.; Ikeya, Y.; Okada, M.; Mitsuhashi, H. "Phthalide Dimers from *Ligusticum chuangxiong* Hort". *Heterocycles* **1991**, *32*, 2433-2442.
8. Delgado, G; Reza-Garduño, R. G.; Rios, M. Y.; del Río, F. "Phthalides and Monoterpenes of the Hexane Extract of the Roots of *Ligusticum porteri*". *Planta Med.* **1992**, *58*, 570-571.
9. Naito, T.; Katsuhara, T.; Niitsu, K.; Ikeya, Y.; Okada, M.; Mitsuhashi, H. "Two Phthalides from *Ligusticum chuangxiong*" *Phytochemistry* **1992**, *31*, 639-642.
10. Naito, T.; Niitsu, K.; Ikeya, Y.; Okada, M.; Mitsuhashi, H. "A Phthalide and 2-farnesyl-6-methyl benzoquinone from *Ligusticum chuangxiong*" *Phytochemistry* **1992**, *31*, 1787-1789.
11. Gijbels, M. J. M.; Scheffer, J. J. C.; Svendsen A. B. "Analysis of Phthalides from Umbelliferae by Combined Liquid-Solid and Gas-Liquid Chromatography" *Chromatographia* **1981**, *14*, 452-454.
12. Gijbels, M. J. M.; Scheffer, J. J. C.; Svendsen A. B. "Phthalides in the Essential Oil from Roots of *Levisticum officinale*". *Planta Med.* **1982**, *44*, 207-211.

13. Banerjee, S. K.; Grupta, B. D.; Sheldrick, W. S.; Höfle, G. "Angeolide, a Novel Lactone from *Angelica glauca*". *Liebigs Ann. Chem.* **1982**, 699-707.
14. Gijbels, M. J. M.; Fischer, F. C.; Scheffer, J. J. C.; Svendsen A. B. "Phthalides in Roots of *Apium graveolens*, *A. graveolens* var. *rapaceum*, *Bifora testiculata* and *Prettoselium crispum* var. *tuberosum*". *Fitoterapia* **1985**, 56, 17-23.
15. Segebrecht, S.; Schilder, H. "Ligustilide: Guiding Component for Preparations of *Levisticum roots*". *Planta Med.* **1989**, 55, 572-573.
16. Hon, P.-M.; Lee, C.-M.; Choang, T. F.; Chui K.-Y.; Wong, H. N. C. " A Ligustilide dimer from *Angelica sinensis*". *Phytochemistry* **1990**, 29, 1189-1191.
17. Shin, S.-W.; Park, B. "The Production of Essential Oils by Tissue Culture of *Cnidium officinale*". *Yakhak Hoechi* **1994**, 38, 179-183. Chem. Abstr. 122:235312e.
18. Appelt, G. A. "Pharmacological Aspects of Selected Herbs Employed in Hispanic Folk Medicine in the San Luis Valley of Colorado, USA: I. *Ligusticum porteri* (Osha) and *Matricaria chamomilla* (Manzanilla)". *J. Ethnopharmacol.* **1985**, 13, 51-55.
19. Bye, R. A.; Linares, E. "Ethnobotanical Notes from the Valley of San Luis, Colorado". *J. Ethnobiol.* **1986**, 6, 289-306.
20. Linares, E.; Bye, R. A. "A Study of four Medicinal Plants Complexes of Mexico and Adjacent United States". *J. Ethnopharmacol.* **1987**, 19, 153-198.
21. Bye, R. A. "Medicinal Plants of the Sierra Madre: Comparative Study of Tarahumara and Mexican Market Plants". *Economic Botany* **1986**, 40, 103-124.
22. Mitsuhashi, H.; Nagai, U.; Muramatsu, T.; Tashiro, H. "Studies on the Constituents of Umbelliferae Plants. II. Isolation of the Active Principles of *Ligusticum* Root". *Chem. & Pharm. Bull.* **1960**, 8, 243-245.
23. Li, Q.; Xiong, W.; Yi, Y.; Pan, J. "Chemical Components of Chaxiong (*Ligusticum sinense*)". *Zhongcaoyao* **1992**, 24, 180-182. Chem. Abstr. 119:45263e.
24. Mo, Ch.-W.; Shei, S.-J. "A Comparative study on Processed *Ligusticum* Rhizoma". *Chin. Pharm. J. (Taipei)* **1994**, 46, 155-164. Chem. Abstr. 121:286699y.
25. Luo, Y.; Zhang, J.; Pan, J.; Yao, S.; Huang, H.; Zhu, Y.; Li, Q. "The Constituents of *Ligusticum Oliv* cv. *Chaxiong*". *Zhongguo Yaoxue Zazhi* **1994**, 29, 714-716. Chem. Abstr. 122:209769q.
26. Kaouadji, M.; Reutenauer, H.; Chulia, A. J.; Marsura, A. "(Z,Z') Diligustilide, Nouveau Dimere Isole de *Ligusticum wallichii* Franch". *Tetrahedron Lett.* **1983**, 24, 4677-4678.

27. Cichy, M.; Wray, V.; Höfle, G. "Neue Inhaltsstoffe von *Levisticum officinale* Koch (Liebstöckel)". *Liebigs Ann. Chem.* **1984**, 397-400.
28. Fischer, F. C.; Gijbels, M. J. M. "cis- and trans-Neocnidilide; ¹H- and ¹³C-NMR Data of Some Phthalides". *Planta Med.* **1987**, 49, 77-80.
29. Delgado, G.; Reza-Garduño, R. G.; Toscano, R. A.; Bye, R.; Linares, E. "Secondary Metabolites from the Roots of *Ligusticum porteri* (Umbelliferae). X-Ray Structure of Z-6.6'-7.3'a-Diligustilide". *Heterocycles* **1988**, 27, 1305-1312.
30. Tsuchida, T.; Kobayashi, M.; Kaneko, K.; Mitsuhashi, H. "Studies on the Constituents of Umbelliferae Plants XVI. Isolation and Structures of Three New Ligustilide Derivatives from *Angelica acutiloba*". *Chem. Pharm. Bull.* **1987**, 35, 4460-4464.
31. Beck, J. J.; Stermitz, F. R. "Addition of Methyl Thioglycolate and Benzylamine to (Z)-ligustilide, A Bioactive Unsaturated Lactone Constituent of Several Herbal Medicines. An Improved Synthesis of (Z)-ligustilide". *J. Nat. Prod.* **1995**, 58, 1047-1055.
32. Ozaki, Y.; Sekita, S.; Harada, M. "Centrally Acting Muscle Relaxant Effect of Phthalides (ligustilide, cnidilide and senkyunolide) Obtained from *Cnidium officinale*". *Makino. Yakugaku Zasshi* **1989**, 109, 402-406. Chem. Abstr. 111:90319y.
33. Kobayashi, M.; Kaneko, H. Tsuchida, T.; Mihashi, H. "Isolation of Ligustilide Compounds as Central Nervous System Traquilizers". *Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP* 01,254,671 [89,254,671]. Chem. Abstr. 112:223247t.
34. Ogawa, Y.; Chin, M.; Hosaka, K.; Kubota, K. "Phthalides as Prostaglandins F_{2α} Inhibitors and their Preparations". *Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP* 01,199,958 [89,199,958]. Chem. Abstr. 112:98368e.
35. Kubota, K.; Ogawa, Y.; Hosaka, K.; Chin, M. "Preparation of 3-butylphthalide derivatives as Prostaglandins F_{2α} Inhibitors". *Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP* 01,50,818 [89,50,818]. Chem. Abstr. 112:76923e.
36. Ogawa, Y.; Chin, M.; Hosaka, K.; Kubota, K. "Preparation of Phthalide as Prostaglandins F_{2α} Inhibitors". *Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP* 04,77,480 [92,77,480]. Chem. Abstr. 117:69721n.
37. Daunter, B. "Butylphthalide, Sedanolid, Sedenanolide, and Related Compounds as Therapeutic Agents for Treatment of Inflammation. *PCT Int. Appl. WO* 95,00,157 (Cl.A61K35/78). Chem. Abstr. 122:178384d.

38. Kobayashi, S; Mimura, Y.; Notoya, K.; Kimura, I.; Kimura, M. "Antiproliferative Effects of the Traditional Chinese Medicine Shimotsu-To, its Component *Cnidium* Rhizome and Derived Compounds on Primary Cultures of Mouse Aorta Smooth Muscle Cells". *Jpn. J. Pharmacol.* **1992**, *60*, 397-401.
39. Kimura, M.; Kimura, Y.; Ogawa, Y.; Naito, T.; Hosaka, K.; Mihashi, H. "Preparation of Phthalide Derivatives as cell growth inhibitors". *Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 04,208,278* [92,208,278]. Chem. Abstr. 118:191531m.
40. Kimura, M.; Harada, M.; Sekida, S.; Yuda, M. "Pharmaceuticals Containing Butylidenphthalide, Senkyunolide, or Ligustilide for Treatment of Arteriosclerosis". *Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 01,207,233* [89,207,233]. Chem. Abstr. 111:239574n.
41. Murahashi, M.; Harada, K.; Hirogami, K. "Novel Phthalide Derivative as NGF enhancer from *Apium graveolens*". *Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 04,334,378* [92,334,378]. Chem. Abstr. 118:240924c.
42. Nakai, K. "Preparation of Phthalides as Mouth Preparations Containing Them for Prophylaxis of Periodontal diseases". *Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 04,69,325* [92,69,325]. Chem. Abstr. 118:240924c.
43. Kayima, T.; Ando, M.; Nishizawa, Y.; Hattori, M. "Preparation of 3-substituted Phthalides and Hair Growth Preparations Containing Them". *Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 03,135,907* [91,135,907]. Chem. Abstr. 115:286936z.
44. Naito, T., Iketani, Y.; Yanagisawa, T.; Mihashi, H. "Isolation of Farnesylbenzoquinone and Biligustilide Derivatives from Japanese-Sino Medicine Senkyu as Inhibitors for peroxidation of Lipids". *Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 05,51,346* [93,51,346]. Chem. Abstr. 119:103313j.
45. Tortoriello, J. Unidad de Investigación Biomédica del Sur. IMSS. Xochitepec, Morelos, México. Resultados aún no publicados.
46. Ríos, M. Y.; Delgado, G.; Toscano, R. A. "Chemical Reactivity of Phthalides. Relay Synthesis of Diligustilide, *Rel*-(3'*R*)-3',8'-Dihydrodiligustilide and Wallichilide". *Tetrahedron* **1998**, *54*, 3355-3366.
47. Rideout, D. C.; Breslow, R. "Hydrophobic Acceleration of Diels-Alder Reactions". *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 7816-7817.
48. Rios, M. Y.; Delgado, G. "Lewis Acid Catalyzed Transformations of Z-Ligustilide" *Rev. Soc. Quím. Méx.* **1999**, *43*, 127-132.

49. Luche, J. L.; Rodríguez Hahn, L.; Crabbé, P. "Reduction of Natural Enones in the Presence of Cerium Trichloride". *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1978**, 601-602.
50. Rios, M. Y.; Delgado, G.; Espinosa-Pérez, G. "Base-Catalyzed Intramolecular Condensations of Diligustilide". *Tetrahedron Lett.*, **1998**, 39, 6605-6608.
51. Ogawa, Y.; Mori, Y.; Maruno, M.; Wakamatsu, T. "Diels-Alder Reaction of Ligustilide Giving Levistolide A and Tokinolide B". *Heterocycles* **1997**, 45, 1869-1872.
52. Delgado, G.; Hernández, L. Resultados no publicados.
53. Wiley, R. H. "The chemistry of heterocyclic compounds. Pyrazoles, pyrazolines, pyrazolidines, indazoles and condensed rings". Interscience Publisher **1967**, 177-271.
54. Delgado, G.; Figueroa, R.; Quiroz-García, B. Resultados no publicados.
55. Baldwin, J. E.; Lusch, M. J. "Rules for ring closure: application to intramolecular aldol condensations in polyketonic substrates". *Tetrahedron* **1982**, 38, 2939-2947.
56. Quiroz-García, B.; Hernández, L.; Toscano, R. A.; Sterner, O.; Delgado, G. "Base-Catalyzed Intramolecular Condensation of Tokinolide B". *Tetrahedron Lett.* **2003**, 44, 2509-2512.
57. Quiroz-García, B.; Hernández-Ortega, S.; Sterner, O.; Delgado, G. "Transformations of the natural dimeric phthalide diligustilide" *Tetrahedron* **2004**, 60, 3681-3688.
58. Eliel, E. L.; Wilen, S. H. "Stereochemistry of Organic Compounds". Wiley-Interscience Publisher, New York **1994**, Capítulos 5 y 7.
59. Juaristi, E.; Escalante, J.; León-Romo J. L.; Reyes, A. "Recent applications of α -phenylethylamine (α -PEA) in the preparation of enantiopure compounds. Part 1: Incorporation in chiral catalysts. Part 2: α -PEA and derivatives as resolving agents" *Tetrahedron Asymmetry* **1998**, 9, 715-740.
60. Acs, M.; von dem Bussche, C.; Seebach, D. "An efficient Method of Preparing (*R*)- and (*S*)-4,4,4-Trifluoro-3-hydroxybutanoic Acid: Resolution with (*R*)- or (*S*)-1-Phenylethylamine". *Chimia* **1990**, 44, 90-92.
61. Muñoz-Muñiz, O.; Juaristi, E. "Enantioselective protonation of prochiral enolates in the asymmetric synthesis of (*S*)-naproxen". *Tetrahedron Lett.* **2003**, 44, 2023-2026.
62. Reyes, A.; Juaristi, E. "Use of (*S*)- α -methylbenzylamine in the resolution of racemic 2-octanol and α -methylbenzyl alcohol". *Synth. Commun.* **1995**, 25, 1053-1058.
63. Jursic, B. S., Zdravkovski, Z. "A Simple Preparation of Amides from Acids and Amines by Heating of their Mixture". *Synth. Commun.* **1993**, 23, 2761-2770.

64. Lin, L-Z.; H, X-G.; Lian, L-Z; King, W.; Elliot, J. "Liquid Chromatographic-electrospray mass spectrometric study of phthalides of *Angelica sinensis* and chemical changes of Z-ligustilide". *J. Chromat. A* **1998**, *810*, 71-79.
65. *Gaussian 98, Revision A.7*, M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, V. G. Zakrzewski, J. A. Montgomery, Jr., R. E. Stratmann, J. C. Burant, S. Dapprich, J. M. Millam, A. D. Daniels, K. N. Kudin, M. C. Strain, O. Farkas, J. Tomasi, V. Barone, M. Cossi, R. Cammi, B. Mennucci, C. Pomelli, C. Adamo, S. Clifford, J. Ochterski, G. A. Petersson, P. Y. Ayala, Q. Cui, K. Morokuma, D. K. Malick, A. D. Rabuck, K. Raghavachari, J. B. Foresman, J. Cioslowski, J. V. Ortiz, A. G. Baboul, B. B. Stefanov, G. Liu, A. Liashenko, P. Piskorz, I. Komaromi, R. Gomperts, R. L. Martin, D. J. Fox, T. Keith, M. A. Al-Laham, C. Y. Peng, A. Nanayakkara, C. Gonzalez, M. Challacombe, P. M. W. Gill, B. Johnson, W. Chen, M. W. Wong, J. L. Andres, C. Gonzalez, M. Head-Gordon, E. S. Replogle, and J. A. Pople, *Gaussian, Inc., Pittsburgh PA*, **1998**.
66. Estas figuras fueron obtenidas con: Molekel 4.0, Flükiger, P.; Lüthi, H. P.; Portmann, S.; Weber, J. *Swiss Center for Scientific Computing*, Manno, Suiza, **2000**.
67. March, J. *Advanced Organic Chemistry* 3a. Ed., Wiley-Interscience, New York, **1985**. Capitulo 7.
68. Mulliken, R.S. *J. Chem. Phys.* **1955**, *23*, 1841.
69. Mulliken, R.S. *J. Chem. Phys.* **1967**, *36*, 3428.
70. Baker, J. *Theor. Chim. Acta* **1985**, *68*, 221.
71. Fleming, I. *Frontier Orbitals and Organic Chemical Reactions*; Wiley, New York, **1976**. Capitulo 6.
72. Caldwell, R. A., Ghali, N. I., Chien, C. K., De Marco, D., Smith, L. "Photocycloaddition of β -methylstyrenes to some 9-cyano phenanthrenes. Chemical consequences of exciplex formation". *J. Am. Chem. Soc.* **1978**, *100*, 2857-2863.

PUBLICACIONES



Pergamon

SCIENCE @ DIRECT®

Tetrahedron Letters 44 (2003) 2509–2512

TETRAHEDRON
LETTERS

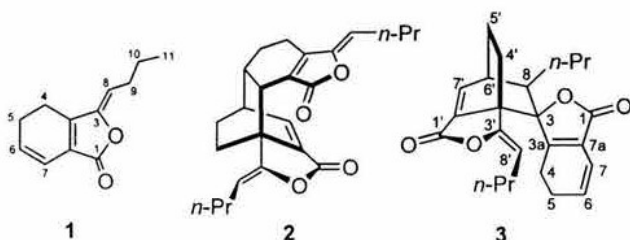
Base-catalyzed intramolecular condensation of tokinolide B[☆]

Beatriz Quiroz-García,^a Liliana Hernández,^a Rubén A. Toscano,^a Olov Sterner^{b,*} and Guillermo Delgado^{a,*}^aInstituto de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México, Circuito Exterior, Ciudad Universitaria, Coyoacán 04510 México, D. F., Mexico^bDepartment of Organic and Bioorganic Chemistry, Lund University, PO Box 124, SE 221 00 Lund, Sweden

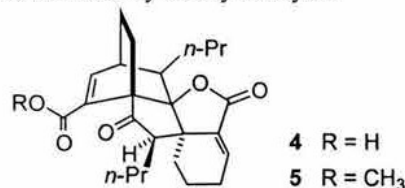
Received 21 December 2002; revised 31 January 2003; accepted 31 January 2003

Abstract—The novel pentacyclic compound cyclotokinolide B was obtained from the natural phthalide tokinolide B under basic conditions, via the chemoselective γ -enol lactone opening followed by a Michael addition of the generated carbanion to the enone and subsequent equilibration. This result confirms that some dimeric phthalides undergo intramolecular cyclizations in basic media. © 2003 Elsevier Science Ltd. All rights reserved.

Several phthalides have been isolated from *Ligusticum porteri* (Apiaceae), an important medicinal herb widely used in northern Mexico and southwest USA for the treatment of various ailments.^{1,2} The major chemical constituent of this species, *Z*-ligustilide (**1**) displays bioactivity in a broad number of screens, that include sedative evaluations, antispasmodic, antiasthmatic,³ as well as antiviral and antimicrobial activities.⁴ The chemical reactivity of phthalides have also been investigated,^{4–6} and some years ago, a number of novel intramolecular carbon–carbon bond and oxygen–carbon bond forming reactions mediated by base were uncovered for the dimeric phthalide diligustilide (**2**).⁷ In this context, we were interested in probing the intramolecular condensation towards other [$\pi 4s+\pi 2s$] dimeric phthalides with suitable fragments. Therefore, we attempted this transformation in tokinolide B (**3**),⁸ a natural substance isolated from *L. porteri* and previously characterized from *Angelica acutiloba*⁹ and *L. chuangxiang*,¹⁰ and here we report the results.



Treatment of tokinolide B (**3**) with NaOH in THF/MeOH⁷ resulted in the product **4**,¹¹ named cyclotokinolide B, derived from intramolecular condensation according to the following spectroscopic evidence. The molecular formula of **4** (C₂₄H₃₀O₅, established by HRMS), indicated the addition of water with respect to the starting material (**3**, C₂₄H₂₈O₄), and the DEPT ¹³C NMR data for **4** sorted the expected 24 signals into three carbonyls (a carboxylic acid, a lactone and a ketone), five quaternary carbons, five methines, nine methylenes and two methyl groups. The disappearance of the ¹³C NMR signals assigned to the C(6)–C(7), C(3a)–C(7a) and C(3')–C(8') double bonds in the starting material (**3**) clearly indicated that these bonds were involved in the transformation. Treatment of **4** with ethereal diazomethane afforded the corresponding methyl ester **5**,¹² confirming the presence of the carboxylic acid. In addition, the signals for a ketone (IR: 1712 cm⁻¹; δ_C : 212.6) α - to a methine (δ_H 2.63, dd; δ_C 57.2) and for a γ -lactone (IR: 1755 cm⁻¹; δ_C : 168.8) conjugated with a trisubstituted olefin (δ_C : 132.1, 137.1; δ_H 6.91) suggested the formation of a cyclopentanone via C(8')–C(3a) bond formation, to afford structure **4**. The *R*-relative configuration at C(8') was determined by the observed crosspeak between H-8' and *pro-R* H-4 in the NOESY spectrum of **4**, and the *R*-relative configuration at C(3a) was established by the diastereodifferentiated addition of the carbanion to C(3a). The structure and stereochemistry of this compound was confirmed by X-ray analysis.¹³



[☆] Contribution 1759 from the Institute of Chemistry, UNAM. Taken in part from the Ph.D. thesis of B.Q.-G.

* Corresponding authors. Tel.: (52)(55)-56-22-44-46 (G.D.); Tel.: +46-46-222-8213; fax: +46-46-222-8209 (O.S.); e-mail: olov.sterner@bioorganic.lth.se; delgado@servidor.unam.mx

Figure 1 shows the 8*R*,8'*R* stereoisomer of compound 4. Cyclotokinolide B is comprised of a pentacyclic skeleton with the five-membered rings adopting twisted conformations, while the conformation of the cyclohexene ring is intermediate between envelope and half-chair conformations. Both *n*-propyl chains are fully extended and point toward the same face of the molecule. That attached to the [2.2.2] bicyclic moiety displays an *exo*-orientation, while a bisectonal orientation is observed for that attached to C8'. The carboxylic acid is essentially co-planar with the conjugated to the C7'–C7'A double bond (angle between planes: 2.8°) and has a close contact (O1'...C3': 2.694(8) Å) with the carbonyl of the cyclopentanone.

A mechanistic rationale for the formation of 4 is presented in Scheme 1. The chemoselective nucleophilic attack of the hydroxide on the C(1) carbonyl affords the enolate (A). Although it is known that this nucleophilic entity A, can follow different pathways (*C*- and *O*- alkylation; or *C*- and *O*- acylation), in this case, Michael addition of the carbanion to the enone (a favored 5-*exo*-trigonal cyclization)¹⁵ produces intermediate B and subsequent equilibration affords compound 4.

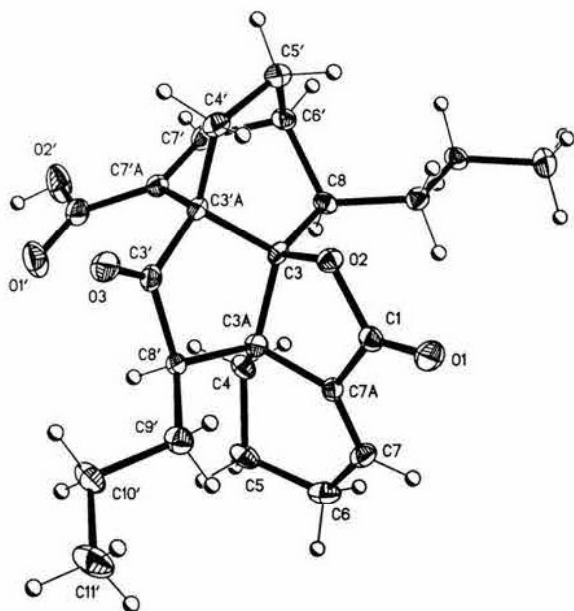
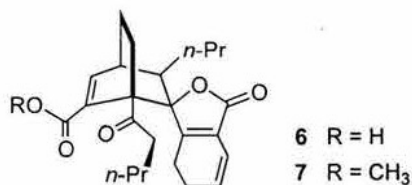


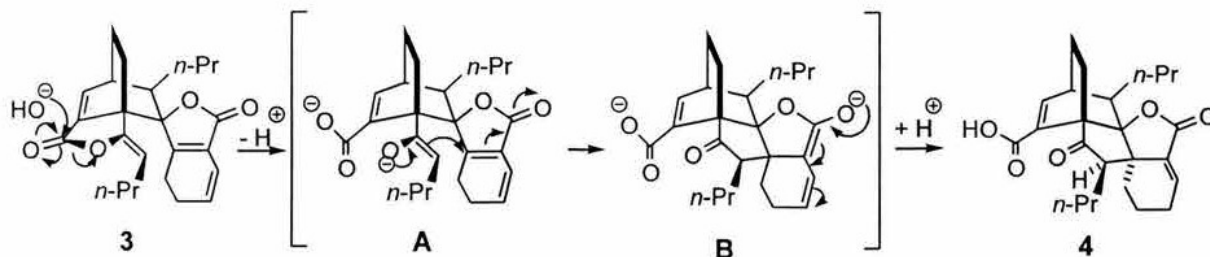
Figure 1. ORTEP-like view of cyclotokinolide B. Thermal ellipsoids at 20% probability level.

The hydrolysis of tokinolide B (Na_2CO_3 , $\text{CH}_3\text{COCH}_3/\text{H}_2\text{O}$ (1:1)) afforded the keto acid 6 (84%).¹⁶ The γ -enol lactone of tokinolide B (3) is hydrolyzed easier in comparison with that of diligustilide (2), since under the same conditions, diligustilide affords lower yields of the corresponding keto acids.⁵ It is interesting to note that the spiro- γ -lactone of 3 is unreactive under several hydrolytic conditions, due to the steric hindrance of both faces of the C(1) carbonyl group, exerted by the *n*-propyl at C(8) and the alkylidene substituent at C(3'). The same phenomenon is observed for angeolide, which is the C-8 epimer of 3.¹⁷ Treatment of tokinolide B (3) with sodium methoxide in MeOH afforded the corresponding keto ester (7)¹⁸ at room temperature, which in turn did not afford the cyclization product. Refluxing this reaction mixture produced extensive decomposition. Therefore, the carboxylic acid at C(1') is necessary for the cyclization reaction. A favorable complexation of the carboxylate and the enolate intermediate (A) with the cation (Na^+ or K^+) that favors the C(3a)–C(8') σ -bond formation could explain this observation. Supporting this requirement, when the keto ester (7) is treated with the conditions used for the cyclization of tokinolide B (3), cyclotokinolide B (4) was obtained in similar yield, due to the initial hydrolysis of the methyl ester, followed by formation of the C(8')–C(3a) bond. These results indicate that the intramolecular cyclizations of some dimeric phthalides may be considered a general feature for these substances.



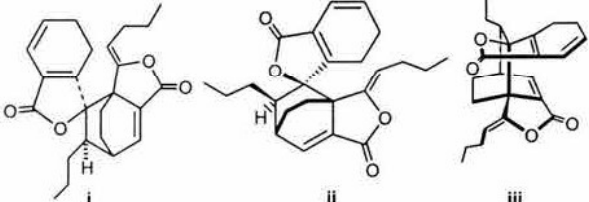
Acknowledgements

Financial support from Universidad Nacional Autónoma de México (DGAPA (PASPA) and PAEP 208330) and from STINT (Sweden) is gratefully acknowledged. We thank Rocío Patiño, María Isabel Chávez, Héctor Ríos, Angeles Peña, Luis Velasco and Javier Pérez Flores for technical assistance.



Scheme 1.

References

- Delgado, G.; Reza-Garduño, R. G.; Toscano, R. A.; Bye, R. A.; Linares, E. *Heterocycles* **1988**, *27*, 1305–1311.
 - Linares, E.; Bye, R. A. *J. Ethnopharmacol.* **1987**, *19*, 153–198.
 - Li, S.; Wang, Z.; Fang, X. *Synth. Commun.* **1993**, *23*, 2909–2913.
 - Beck, J. J.; Stermitz, F. R. *J. Nat. Prod.* **1996**, *58*, 1047–1055.
 - Rios, M. Y.; Delgado, G.; Toscano, R. A. *Tetrahedron* **1998**, *54*, 3355–3366.
 - Rios, M. Y.; Delgado, G. *Rev. Soc. Quím. Méx.* **1999**, *43*, 127–132.
 - Rios, M. Y.; Delgado, G.; Espinosa-Pérez, G. *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 6605–6608.
 - The structure of tokinolide has been published with different representations (i,⁹ ii¹⁰ and iii⁶), and we adopted here representation **3** to emphasize the feasibility of the formation of the new carbon–carbon σ bond.
- 
- Tsuhida, T.; Kobayashi, M.; Kaneko, K.; Mitsuhashi, H. *Chem. Pharm. Bull.* **1987**, *35*, 4460–4464.
 - Naito, T.; Katsuhara, T.; Niitsu, K.; Ikeya, Y.; Okada, M.; Mitsuhashi, H. *Heterocycles* **1991**, *32*, 2433–2442.
 - Preparation of cyclotokinolide B (**4**). Tokinolide B (**3**, 150.0 mg, 0.39 mmol) was treated with NaOH (205.7 mg, 5.14 mmol), in THF (10 mL) and MeOH (1 mL). After 2 h of refluxing under nitrogen, a more polar product was observed. The heterogeneous mixture was concentrated at reduced pressure. Methylene chloride was added and the organic phase was washed with diluted HCl (10%), with brine, dried with Na₂SO₄ and concentrated in vacuum. The residue was purified by column chromatography eluted with *n*-hexane–EtOAc gradient and subsequent preparative TLC (*n*-hexane–EtOAc 1:1, twice) to afford cyclotokinolide B (**4**), as a white solid (90.0 mg, 57%). The same product was formed, although in lower yield (36%), by refluxing with KOH under the same conditions. **4**: mp: 172–173°C, *R*_f: 0.40 (CH₂Cl₂–MeOH, 95:5); UV (EtOH) λ_{max} nm (ϵ): 217 (18988). IR (CHCl₃) ν_{max} cm⁻¹: 2961, 2873, 1753, 1709, 1684, 1612, 1362, 1327, 1267, 943. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃; assignments by COSY and HETCOR) δ : 7.76 (1H, d, *J*=7.0 Hz, H-7'), 6.91 (1H, t, *J*=3.8, H-7), 2.92 (1H, m, H-6'), 2.63 (1H, dd, *J*=9.0 and 4.0 Hz, H-8'), 2.36 (1H, m, H-6a), 2.24 (1H, m, H-6b), 2.15 (1H, m, H-4'), 1.92 (2H, m, H-5, H-5'), 1.85 (1H, m, H-8), 1.72 (1H, m, H-10'), 1.59 (3H, m, H-4, H-5, H-9), 1.41 (5H, m, H-4, H-4', H-9', H-10, H-10'), 1.26 (1H, m, H-5'), 1.19 (1H, m, H-10), 0.99 (2H, m, H-9, H-9'), 0.88 (6H, t, *J*=7.2, H-11 and H-11'). ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃, assignments by DEPT, HETCOR and FLOCK) δ : 212.6 (C-3'), 168.8 (C-1), 166.3 (C-1'), 154.3 (C-7'), 137.1 (C-7), 134.1 (C-7'a), 132.1 (C-7a), 93.9 (C-3), 57.2 (C-8'), 56.0 (C-3'a), 50.8 (C-3a), 42.0 (C-8), 35.7 (C-6'), 32.5 (C-4), 31.5 (C-9'), 28.8 (C-9), 24.7 (C-6), 23.9 (C-4'), 22.0 (C-10'), 20.7 (C-10), 17.7 (C-5), 16.1 (C-5'), 14.0 (C-11 and C-11'). EIMS *m/z* (rel. int.): 398 [M⁺] (21), 380 (9), 356 (100), 338 (65), 309 (11), 296 (13), 271 (15), 253 (10), 207 (5), 190 (38), 189 (10), 149 (7), 91 (5), 79 (5). HRMS FAB⁺ (PEG): Found 399.2193. Calcd for C₂₄H₃₀O₅+H⁺ 399.2171 (MH⁺).
 - Preparation of cyclotokinolide B methyl ester (**5**). To a warmed solution (55°C) of NaOH (1.25 g), H₂O (2 mL) and MeOH (6.5 mL), was added a solution of diazald (5.2 g) in ether (30 mL). The solution of diazomethane in ether (15 mL) was added (20 min) to a solution of **4** (20.0 mg, 0.05 mmol) in ether–MeOH (1:1, 5 mL). The reaction mixture was concentrated and the residue was purified by prep. TLC (*n*-hexane–EtOAc, 4:1) to give **5** (14 mg, 70%). Yellow oil, *R*_f: 0.40 (*n*-hexane–EtOAc 75:25). IR (CHCl₃) ν_{max} cm⁻¹: 2958, 2873, 1755, 1712, 1681, 1614, 1462, 1438, 1327, 1307, 1101, 1078, 974, 943. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃; assignments by COSY, HETCOR, HMBC, NOESY) δ : 7.59 (1H, d, *J*=7.0, H-7'), 6.90 (1H, t, *J*=3.5, H-7), 3.74 (3H, s, -OCH₃), 2.89 (1H, m, H-6'), 2.64 (1H, dd, *J*=9.0, 4.0, H-8'), 2.36 (1H, m, H-6), 1.73 (1H, m, H-6), 2.16 (1H, m, H-4'), 1.90 (2H, m, H-5, H-5'), 1.84 (2H, m, H-8, H-10'), 1.57 (3H, m, H-4, H-5, H-9), 1.42 (4H, m, H-4', H-9', H-10, H-10'), 1.25 (1H, m, H-5'), 1.19 (1H, m, H-10), 0.99 (2H, m, H-9, H-9'), 0.90 (3H, t, *J*=7.0, H-11'), 0.88 (3H, t, *J*=7.0, H-11). ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃, assignments by DEPT, HETCOR, HMBC) δ : 212.9 (C-3'), 168.9 (C-1), 163.4 (C-1'), 151.2 (C-7'), 136.9 (C-7), 135.0 (C-7'a), 132.3 (C-7a), 94.2 (C-3), 57.3 (C-8'), 56.2 (C-3'a), 51.9 (CH₃OOC-), 50.8 (C-3a), 42.1 (C-8), 35.4 (C-6'), 32.4 (C-4), 31.6 (C-9), 28.9 (C-9), 24.7 (C-6), 24.0 (C-4'), 22.1 (C-10'), 20.7 (C-10), 17.7 (C-5), 16.1 (C-5'), 14.2 (C-11'), 14.1 (C-11). EIMS *m/z* (rel. int.): 412 [M⁺] (23), 280 (9), 370 (100), 352 (5), 338 (32), 309 (6), 296 (12), 285 (11), 254 (7), 221 (8), 190 (36), 189 (13), 149 (12), 105 (6), 91 (5), 77 (4), 55 (4).
 - X-Ray analysis data of compound **4**. All data were collected on a Siemens P4/PC diffractometer with graphite monochromated Mo K α radiation (λ =0.71073 Å) using the θ – 2θ scan technique at 293(2) K. The structure was solved and refined by using SHELXTL.¹⁴ Compound **4** belongs to the monoclinic system, space group *P*₂₁/*c* with *a*=15.755(2), *b*=9.750(2), *c*=16.983(2) Å and, β =101.18(1)°. The structure refines to *R*=0.0766 for reflections (*I*>2 σ) and *R*=0.1025 for all data (3341) with a goodness-of-fit (GOF) of 1.028. Crystallographic data for the structure reported in this paper has been deposited with the Cambridge Crystallographic Data Centre as supplementary publication no. CCDC 199813. Copies of the data can be obtained free of charge on application to CCDC, 12 Union Road, Cambridge CB2 1EZ, UK (fax: +44-1223-336-033; e-mail: deposit@ccdc.cam.ac.uk).
 - SHELXTL, Version 5.1; Bruker Analytical X-ray Systems, Copyright 1998.
 - (a) Baldwin, J. E. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1976**, 734–736; (b) Baldwin, J. E.; Thomas, R. C.; Kruse, L. I.; Silberman, L. *J. Org. Chem.* **1977**, *42*, 3846–3852; (c) Baldwin, J. E.; Lusch, M. J. *Tetrahedron* **1982**, *38*, 2939–2947.

16. Preparation of ketoacid **6**. To a solution of **3** (150 mg, 0.39 mmol) in acetone (15 mL) was added a solution of Na_2CO_3 in H_2O (10%, 15 mL, 14.15 mmol), and the mixture was stirred at reflux for 40 min. The reaction mixture was acidified with diluted HCl (10%, pH 4) and extracted with EtOAc. The organic layer was washed with brine, dried with Na_2SO_4 and concentrated in vacuum. The resultant material was recrystallized (EtOAc–*n*-hexane) to afford **6** (132 mg, 84%) as a white solid (stored at 0–5°C and under nitrogen). Mp: 187–189°C, R_f : 0.30 (*n*-hexane–EtOAc, 3:2). IR (CHCl_3) ν_{max} cm^{-1} : 3514, 2960, 2875, 1747, 1706, 1689, 1651, 1612, 1435, 1276, 1072. ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3 ; assignments by COSY, HETCOR) δ : 7.48 (1H, d, $J=7$, H-7'), 6.12 (1H, dt, $J=9.7$, 1.8, H-7), 5.86 (1H, dt, $J=9.7$, 3.9, H-6), 2.88 (1H, m, H-6'), 2.35 (2H, m, H-8'), 1.64 (1H, m, H-9'), 1.60 (1H, m, H-8), 1.42 (1H, m, H-9'), 1.25 (1H, m, H-10'), 1.08 (1H, m, H-10'), 0.86 (3H, t, $J=6.8$, H-11 or H-11'), 0.85 (3H, t, $J=6.8$, H-11 or H-11'). ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3 , assignments by DEPT and HETCOR) δ : 208.2 (C-3'), 170.7 (C-1), 169.8 (C-1'), 166.6 (C-3a), 149.5 (C-7'), 136.0 (C-7'a), 128.3 (C-6), 122.2 (C-7a), 116.4 (C-7), 90.2 (C-3), 58.5 (C-3'a), 42.6 (C-8), 40.9 (C-8'), 33.5 (C-6'), 27.5 (- CH_2 -), 25.2 (2 - CH_2 -), 22.6 (- CH_2 -), 22.1 (- CH_2 -), 21.9 (- CH_2 -), 20.7 (- CH_2 -), 18.2 (- CH_2 -), 14.0 (C-11 or C-11'), 13.9 (C-11 or C-11'). EIMS m/z (rel. int.): 398 [M^+] (7), 191 (50), 190 (100), 148 (64), 120 (6), 105 (10), 77 (7), 55 (10).
17. Banerjee, S. K.; Gupta, B. D.; Sheldrick, W. S.; Höfle, G. *Liebigs Ann. Chem.* **1982**, 699–707.
18. Preparation of the ketoester **7**. To a solution of **3** (76.5 mg, 0.2 mmol) in anhyd. MeOH (2 mL) was added a solution of sodium (50 mg) and MeOH (2.5 mL). After the mixture had been shaken for 1 h, a slightly less polar product than the starting material was formed. The reaction mixture was neutralized with diluted HCl (10%), the MeOH was evaporated at reduced pressure and the residue was extracted with EtOAc. The combined organic extracts were washed with brine, dried with Na_2SO_4 and concentrated in vacuum. The residue was purified by prep. TLC (*n*-hexane–EtOAc 85:15, twice) to afford **7** (42 mg, 51%) as a pale yellow oil (stored at 0–5°C and under nitrogen). R_f : 0.38 (*n*-hexane–EtOAc, 75:25). IR (CHCl_3) ν_{max} cm^{-1} : 2960, 2936, 2874, 1747, 1719, 1438, 1268, 1075. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3 ; assignments by COSY, HETCOR and FLOCK) δ : 7.26 (1H, d, $J=6.9$, H-7'), 6.10 (1H, dt, $J=9.6$, 1.8, H-7), 5.85 (1H, dt, $J=9.6$, 3.9, H-6), 3.69 (3H, s, CH_3O -), 2.83 (1H, m, H-6'), 2.51 (2H, m, H-8'), 1.65 (2H, m, H-8, H-9'), 1.42 (1H, m, H-9'), 1.25 (1H, m, H-10'), 1.06 (1H, m, H-10'), 0.86 (6H, 2t, $J=6.9$, H-11 or H-11'). ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3 , assignments by DEPT, HETCOR and FLOCK) δ : 208.5 (C-3'), 170.6 (C-1), 166.6 (C-3a), 165.7 (C-1'), 146.3 (C-7'), 136.9 (C-7'a), 128.4 (C-6), 122.3 (C-7a), 116.5 (C-7), 90.4 (C-3), 58.9 (C-3'a), 51.9 (CH_3O -), 42.7 (C-8), 40.9 (C-8'), 33.3 (C-6'), 27.7 (- CH_2 -), 25.2 (2 - CH_2 -), 22.6 (- CH_2 -), 22.0 (2 - CH_2 -), 20.7 (- CH_2 -), 18.3 (- CH_2 -), 14.0 (C-11 or C-11'), 13.8 (C-11 or C-11'). EIMS m/z (rel. int.): 412 [M^+] (10), 222 (43), 190 (100), 189 (16), 165 (31), 148 (52).

Transformations of the natural dimeric phthalide diligustilide

Beatriz Quiroz-García,^a Simón Hernández-Ortega,^a Olov Sterner^b and Guillermo Delgado^{a,*}

^aInstituto de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México, Circuito Exterior, Ciudad Universitaria, Coyoacán 04510 México, DF, Mexico

^bDepartment of Organic and Bioorganic Chemistry, Lund University, P.O. Box 124, SE 221 00 Lund, Sweden

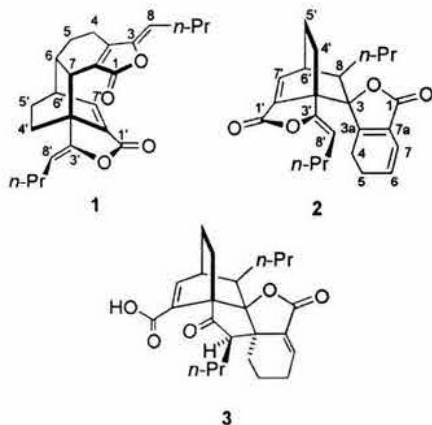
Received 4 February 2004; revised 24 February 2004; accepted 24 February 2004

Abstract—A series of intramolecular condensation products were obtained by base-catalyzed treatment of the natural bioactive dimeric phthalide diligustilide (**1**) using different reaction conditions and the yields remarkably depend on these. The reaction conditions to obtain selectively the intramolecular condensation derivatives or the hydrolysis products of diligustilide (**1**) are described.

© 2004 Elsevier Ltd. All rights reserved.

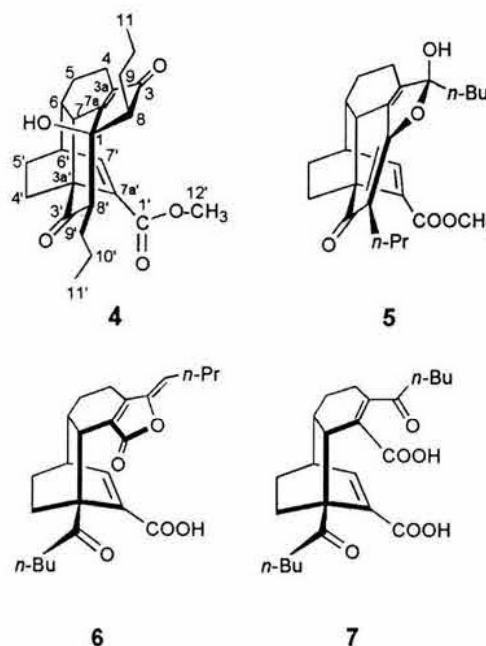
1. Introduction

The natural bioactive dimeric phthalides diligustilide (**1**) and tokinolide B (**2**) were isolated as racemic mixtures, among other constituents, from the roots of *Ligusticum porteri* (Umbelliferae),^{1,2} and together with *Myroxylon balsamum* (Leguminosae), both species comprise the 'chuchupate' complex which is used by the Tarahumara in the treatment of various ailments.^{3–6} However, in spite of their pharmacological importance, little is known regarding their synthesis and chemical reactivity.



Recently, we reported the formation of a novel pentacyclic compound, cyclotokinolide B (**3**), obtained by treatment of the natural phthalide tokinolide B (**2**) under basic con-

ditions,² and some years ago, the treatment of the dimeric phthalide diligustilide (**1**) with base afforded the crystalline mixture of **4+5** with novel intramolecular carbon–carbon and oxygen–carbon connectivities, which was analyzed by X-ray.⁷ By the same time, we reported the hydrolysis of **1** in basic media, affording a mixture of demethylwallichilide (**6**) and the diketo diacid **7** in a 1.6:1 ratio, respectively.⁸ In this context, we were interested in finding better conditions for obtaining the intramolecular condensation products **4** and **5** in a separated form, besides the hydrolysis products **6** and **7** in good yield. Therefore, we attempted different reaction conditions and herein we describe the results.

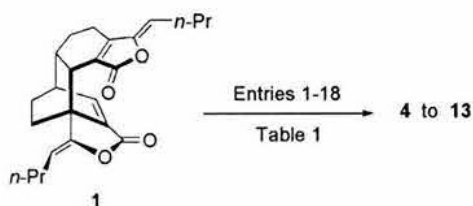


Keywords: Diligustilide; Dimeric phthalides; Intramolecular condensations; Hydrolysis.

* Corresponding author. Tel.: +52-55-56-22-44-46; fax: +52-55-56-16-22-17; e-mail address: delgado@servidor.unam.mx

2. Results and discussion

Previously, we had already obtained the compound **4** from **1** (see Scheme 1),⁷ however, we found that only 3.8 equiv. of methanol were enough and that an anhydrous medium was necessary (entry 1, Table 1). Under these conditions a white solid was obtained (94%). Recrystallization from ethyl acetate/*n*-hexane afforded colourless crystals, and the X-ray analysis confirmed the structure of the intramolecular condensation product **4** (depicted in Fig. 1).⁹ Analysis of the NMR spectral data of **4** (not previously reported) allowed the unambiguous assignments of the signals (see Section 4).



Scheme 1.

On the other hand, we tried to obtain compound **5** in a separated form, since it had been identified as a crystalline mixture with **4** (entry 2, Table 1). For that purpose, we attempted different experiments taking into account that the presence of water in the reaction mixture allows the formation of the intramolecular condensation product **5** (entries 1 and 2, Table 1). However, the use of a less polar solvent like tetrahydrofuran in the reaction mixture inhibits the formation of **5**, even in presence of water (entries 1 and 3, Table 1). Considering this last result, a series of experiments were performed using methanol and water as the reaction solvent mixture, and we found that increasing the amount of water the yield of the product **4** was reduced with an increase of **5**, although in all the cases its epimer **8** was obtained. Whereas compound **4** was separated from the epimeric mixture of **5** and **8** by column chromatography using methylene chloride/acetonitrile as the eluting system, the epimeric mixture was not (entries 4–7, Table 1). However, when the epimeric mixture was recrystallized from ethyl acetate/*n*-hexane, the X-ray analysis of the

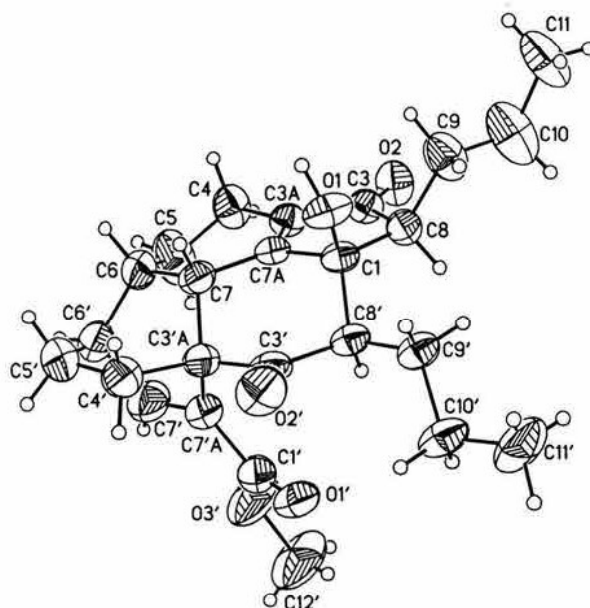


Figure 1. ORTEP-like view of compound **4**.

crystals obtained showed only the epimer with the hydroxy group at the β -position (**5**, Fig. 2).¹⁰ At the same time, the ¹H NMR spectrum of a fresh prepared sample of the material recovered from the X-ray analysis showed the presence of only **5** and let us distinguish the signals of both epimers from the spectroscopic data of the mixture.

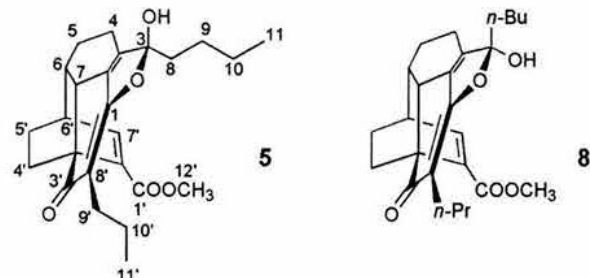


Table 1. Base-catalyzed treatment of diligustilide (**1**)

Entry	Conditions	4	5	8	10	11	12	13	6	7	9	1 (rec.)
1	NaOH (2.3 equiv.) MeOH anh. (3.8 equiv.) THF anh. reflux, 2 h	94%	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2	Na ₂ CO ₃ (8.9 equiv.) Acetone/MeOH/H ₂ O (12:1:10) reflux, 3 h	65%	—	—	—	—	—	—	9%	10%	—	—
3	Na ₂ CO ₃ (6 equiv.) THF/MeOH/H ₂ O (5:1:5) reflux, 30 min	69%	—	—	—	—	—	—	8%	7%	6%	—
4	Na ₂ CO ₃ (12 equiv.) MeOH/H ₂ O (10:1) reflux, 1 h	13%	31%	—	—	—	—	—	—	—	31%	—
5	Na ₂ CO ₃ (6 equiv.) MeOH/H ₂ O (1:1) reflux, 30 min	10%	55%	—	—	—	—	—	—	—	32%	—
6	Na ₂ CO ₃ (12 equiv.) MeOH/H ₂ O (2:1) reflux, 3.5 h	14%	57%	—	—	—	—	—	—	—	—	—
7	Na ₂ CO ₃ (12 equiv.) MeOH/H ₂ O (1:1) reflux, 3.5 h	3%	59%	4%	11%	11%	—	—	—	3%	—	—
8	Na ₂ CO ₃ (3.7 equiv.) Acetone/H ₂ O (1:1) reflux, 3.5 h	—	—	—	—	—	—	—	45%	18%	—	—
9	Na ₂ CO ₃ (1.5 equiv.) Acetone/H ₂ O (2.5:1) reflux, 3.5 h	—	—	—	—	—	—	—	40%	36%	—	14%
10	Na ₂ CO ₃ (6 equiv.) Acetone/H ₂ O (1:1) reflux, 3.5 h	—	—	—	—	—	—	—	28%	66%	—	—
11	Na ₂ CO ₃ (12 equiv.) Acetone/H ₂ O (1:1) reflux, 8 h	—	—	—	—	—	—	—	17%	68%	—	—
12	Na ₂ CO ₃ (6 equiv.) THF/H ₂ O (1:1) reflux, 3.5 h	—	—	—	—	—	—	—	23%	12%	—	56%
13	NaOH (12 equiv.) Acetone/H ₂ O (1:1) reflux, 4 h	—	—	—	—	13%	20%	—	—	59%	—	—
14	NaOH (2.6 equiv.) Acetone/H ₂ O (1:1) reflux, 1 h	—	—	—	—	17%	22%	—	—	52%	—	—
15	NaOH (2.7 equiv.) Acetone/H ₂ O (1:1) rt, 2 h	—	—	—	—	—	—	32%	—	36%	—	—
16	NaOH (2.7 equiv.) Acetone/H ₂ O (1:1) rt, 10 h	—	—	—	—	—	—	19%	—	35%	—	—
17	NaOH (2.9 equiv.) THF/H ₂ O (1:1) rt, 2 h	—	—	—	—	—	—	21%	—	48%	—	—
18	NaOH (3.0 equiv.) THF/H ₂ O (1:1) reflux, 30 min	—	—	—	—	—	—	—	—	33%	—	—

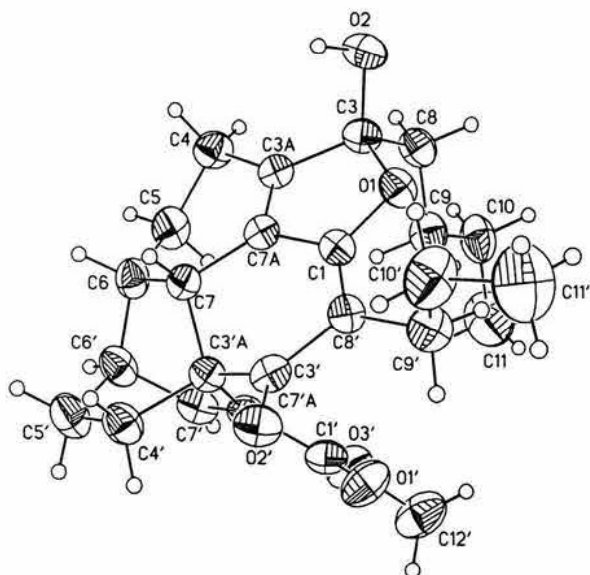
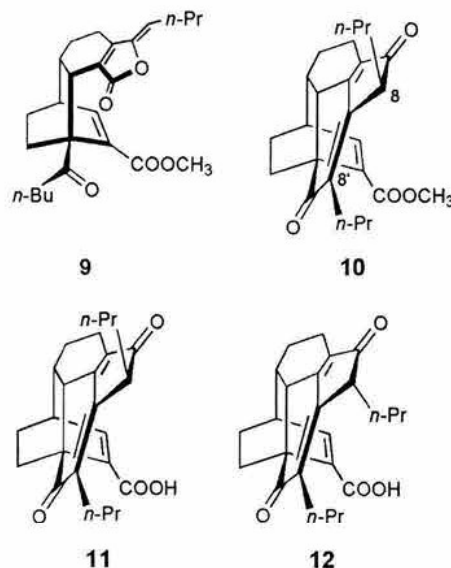


Figure 2. ORTEP-like view of compound 5.

Furthermore, the assays gave evidence that a short reaction time (entries 4 and 5, Table 1) produces the methanolysis of the starting material (1), affording Wallichilide (9)⁸ and low yields of the intramolecular condensation products, comparing with longer reaction times (entries 6 and 7, Table 1). Moreover, the spectroscopic data analysis of some minor products obtained in the experiment 7 (Table 1), allowed the isolation and characterization of additional products which

corresponded to the intramolecular condensation compounds 10, 11 and 12.



The molecular formula of 10 ($C_{25}H_{30}O_4$, established by HRMS), indicated the loss of water with respect to the intramolecular condensation product 4 ($C_{25}H_{32}O_5$). The DEPT ^{13}C NMR data for 10 showed five methines and the main difference with the DEPT ^{13}C NMR data for 4 is the disappearance of the ^{13}C NMR signal assigned to the methine C(8') in 4 (δ_c 54.1). Besides, the ^{13}C NMR data of

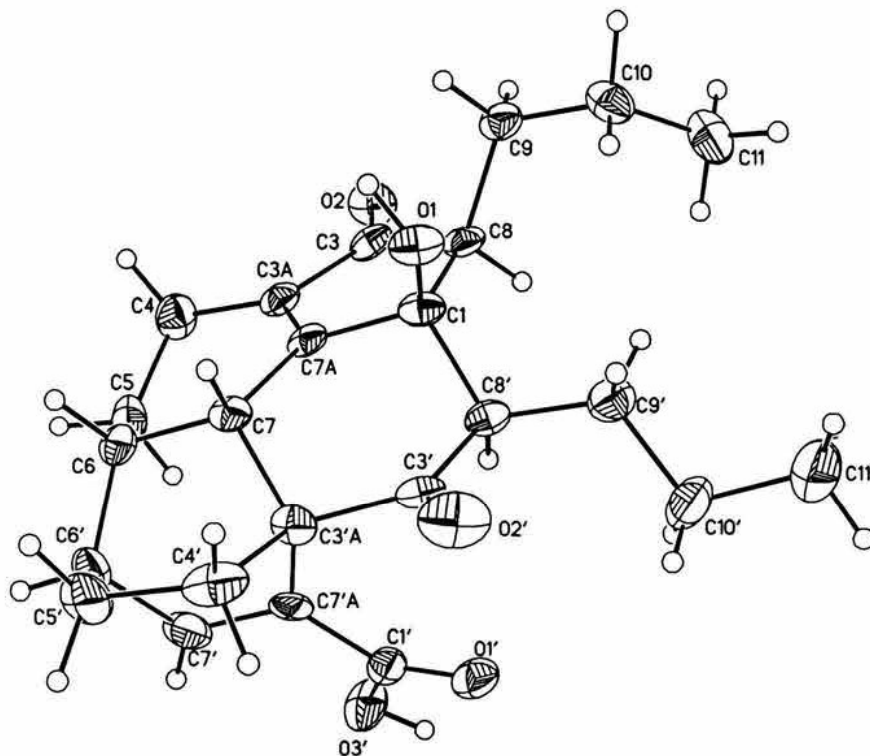
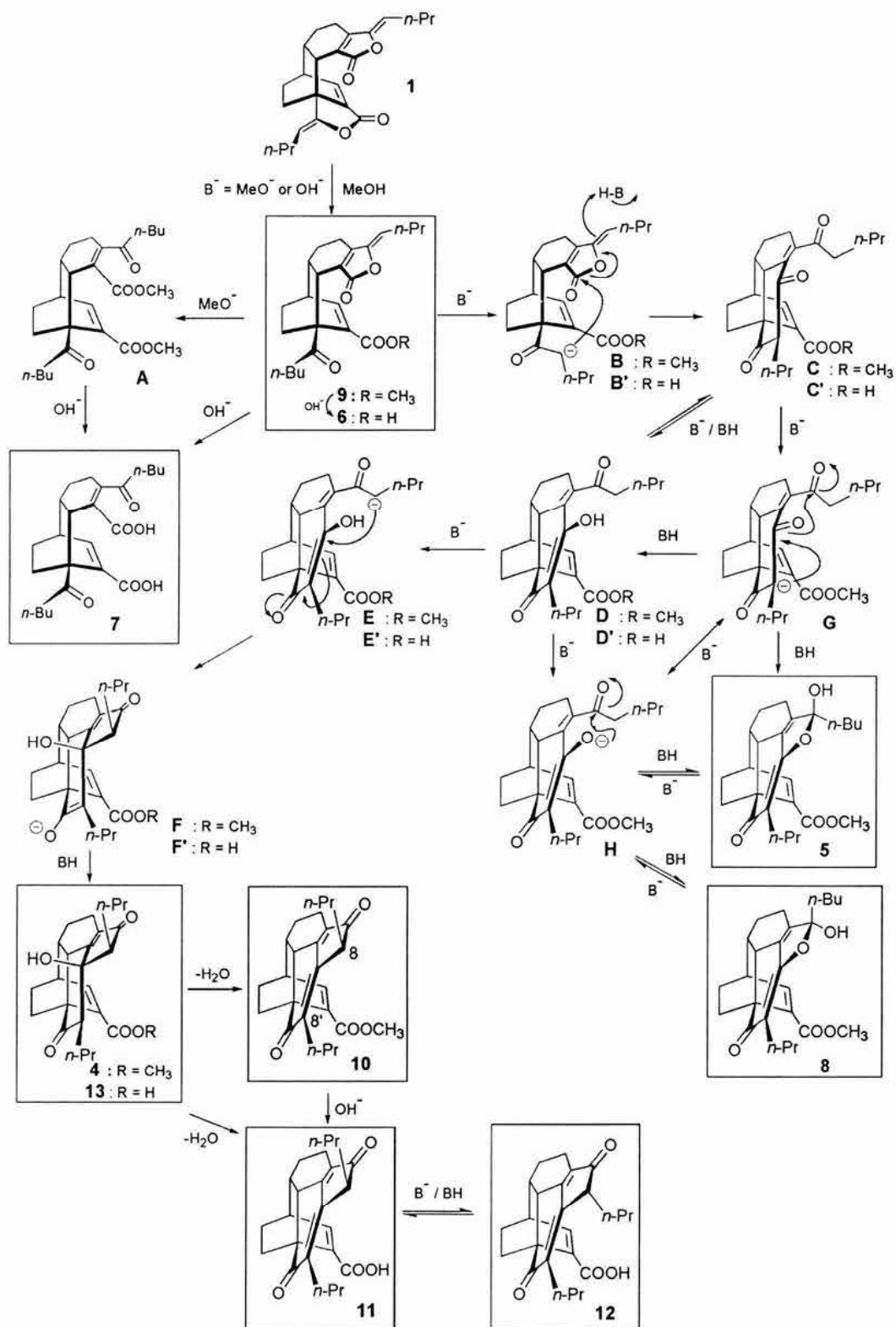


Figure 3. ORTEP-like view of compound 13.

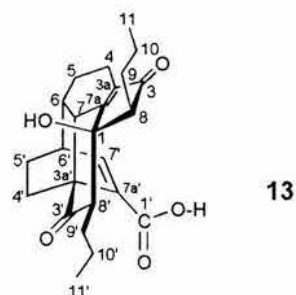


Scheme 2.

10 showed an additional quaternary carbon (δ_c 147.0) with respect to **4**, assigned to C(8'). Furthermore, the ^1H NMR spectra of both compounds **4** and **10** showed the chemical shift to low field of methine C(8) from δ_H 2.50 in **4** to δ_H 3.14 in **10**, as a result of the double bond produced by the dehydration of **4**. Concerning to compound **11**, its ^1H NMR did not show the signal assigned to the methoxy group (singlet at δ_H 3.59) in **10**, and the molecular formula for **11** ($\text{C}_{24}\text{H}_{28}\text{O}_4$, established by HRMS) agreed with the acid's structure. Finally, the spectroscopic data for the epimer of **11** (**12**) differed only by the chemical shift of the proton H(8) (δ_H 3.13 in **11** and δ_H 3.07 in **12**) since the negative shielding of the carboxyl group in **11** shifts the proton H(8) to low field, whereas in the epimer **12** the effect of the carboxyl group is not evident because the distance to the proton H(8) is longer.

In addition, treatment of diligustilide (**1**) under hydrolysis conditions led to a mixture of demethylwallichilide (**6**) and the diketo diacid **7**, favored in a mixture of acetone/water (entries 8–12, Table 1), presumably due to comparable rates of nucleophilic attack on both carbonyl groups, and the intramolecular condensation products were not detected. Presumptively, the absence of methanol in the reaction mixture does not favor the intramolecular condensation of diligustilide (**1**). However, during the experimentation to optimize the yield of **7**, the use of a stronger base than Na_2CO_3 (NaOH , entries 13 and 14, Table 1) afforded the epimers **11** and **12**, produced by the intramolecular condensation of **1**, besides the diketo diacid **7**. Less drastic reaction conditions (at room temperature) produced an additional intramolecular condensation product **13**, together with **7** (entries 15 and 16, Table 1). Product **13** was recrystallized from acetonitrile and the X-ray analysis of the crystals obtained confirmed the structure (Fig. 3).¹¹ In order to avoid the condensation of the solvent in a strong basic media, tetrahydrofuran was used instead of acetone. However the yield of the diketo diacid **7** was not notably improved, even under reflux, where compound **13** was transformed in a series of minor products not characterized (entries 17 and 18, Table 1). Moreover, treatment of **7** with NaOH in tetrahydrofuran/water for four hours at room temperature did not undergo any intramolecular condensation product and the starting material was recovered.

From the mechanistic point of view, wallichilide (**9**) is formed by methanolysis of diligustilide (**1**, Scheme 2) which could react either with another molecule of methoxy ion giving a diketo diester intermediate (**A**) and hydrolysis of both compounds would afford the acids demethylwallichilide (**6**) and the diketo diacid **7** respectively, or **9** undergoes intramolecular aldol reaction, by deprotonation of the acidic methylene at C(8') (intermediate **B**) and opening of the lactone by addition to the carbonyl to produce tautomeric intermediates **C** and **D**, which in turn could react to give **4** via Michael-type addition of the carbanion at C(8) and equilibration (intermediates **E** and **F**, Scheme 2). Dehydration of **4** produces **10** and hydrolysis of the last one affords the epimers **11** and **12**. The formation of the enol ether **5** and its epimer **8** can be rationalized by the addition of the enolate to the ketone at C(3) (intermediates **G** or **H**, Scheme 2).



When the reaction is performed in absence of methanol the hydrolysis of diligustilide (**1**, Scheme 2) is accomplished and demethylwallichilide (**6**) is formed. An excess of base could open the other lactone affording the diketo diacid **7**. Otherwise, the use of a strong base promotes the intramolecular condensation of **6** through intermediates **B'** to **F'** to produce **13** and the epimers **11** and **12** by dehydration of the former.

3. Conclusions

The reactivity of the natural dimeric phthalide diligustilide (**1**) in a basic media was studied, and the results showed that the isolated products were mainly solvent dependent. Under anhydrous conditions the formation of the intramolecular condensation product **4** was favoured, whereas in an aqueous and more polar system the epimeric mixture of **5** and **8** is obtained.

On the other hand, demethylwallichilide (**6**) and the diketo diacid **7**, products of the hydrolysis of diligustilide (**1**), were favored in a mixture of acetone/water, while the presence of methanol in the reaction mixture or the use of a strong base afford the intramolecular condensation of the starting material (**1**).

4. Experimental

Diligustilide (**1**) was isolated from the acetonic extract of the roots of *Ligusticum porteri* by successive column chromatographies, as described previously.¹ Melting points were determined on a Fisher Johns apparatus and are uncorrected. The NMR spectra were recorded on a Varian Unity-300 spectrometer at 300 MHz (^1H) and at 75 MHz (^{13}C), a Bruker DRX400 spectrometer (at 400/100 MHz) and a Bruker ARX500 spectrometer (at 500/125 MHz), and the chemical shifts are expressed in parts per million (δ) relative to tetramethylsilane. Infrared spectra were recorded with a FTIR Bruker TENSOR 27 instrument. Ultraviolet spectra were determined on a SHIMADZU UV160U instrument. MS (FAB^+) and HRMS (FAB^+) spectra were recorded on a JEOL JMS-SX 102 A mass spectrometer, and the accurate mass was calculated using polyethylene glycol 400 as standard. Flash chromatography was performed on 60 Å 35–70 μm Matrex silica gel (Grace Amicon). The solvent system is specified in each experiment. Thin layer chromatography analyses (TLC) were made on Silica Gel 60 F₂₅₄ (Merck) plates and visualization was accomplished

with either a UV lamp or a solution of sulfuric acid (10%) as spray reagent and heating. Crystallographic data were recorded on a Bruker SMART with CCD area detector, with graphite monochromated Mo K α radiation, using omega scan for data collection with θ range scan 1.50–25.00°. Data were processed with SAINT program and corrected for Lorentz and polarization effects. Structures were solved by direct methods, and expanded using Fourier synthesis difference techniques. The non-hydrogen atoms were refined anisotropically. Positional parameters of hydrogen atoms were refined, and calculated geometrically and fixed with $U_{iso}=1.2$ times U_{eq} Å² of the preceding normal atom non-hydrogen. All calculations were performed using the SHELXS-97 and SHELXTL crystallographic package of Bruker AXS,¹² Inc.

All reactions were carried out under an atmosphere of nitrogen.

4.1.1. Preparation of 4. *Entry 1.* Under anhydrous conditions, to a mixture of diligustilide (**1**, 100 mg, 0.26 mmol) and NaOH (24 mg, 0.60 mmol) was added anh. THF (10 mL) and anh. MeOH (0.04 mL, 32 mg, 1 mmol). The heterogeneous mixture was refluxed and after 2 h the reaction mixture was coloured yellow. The reaction mixture was separated from the NaOH, and CH₂Cl₂ (40 mL) was added. The solution was washed with brine (2×10 mL), dried with Na₂SO₄ and concentrated in vacuum to afford **4**,^{7,9} (102 mg, 94%) as a white solid.

Compound 4: mp: 150–152 °C. IR (CHCl₃) ν_{max} (cm⁻¹): 3684, 3055, 2962, 2873, 1711, 1672, 1521, 1437, 1277, 1088, 928. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃; assignments by COSY and HMQC) δ : 7.36 (1H, d, $J=6.9$ Hz, H-7'), 3.64 (3H, s, OCH₃), 2.90 (1H, m, H-6'), 2.88 (1H, m, H-7), 2.50 (1H, dd, $J_1=12.0$ Hz, $J_2=1.8$ Hz, H-8'), 2.39 (1H, m, H-6), 2.25 (2H, m, H-8, H-4), 2.18 (1H, m, H-9'), 2.00 (1H, m, H-4'), 1.75 (3H, m, H-4, H-5, H-5'), 1.50 (4H, m, H-9, H-10), 1.45 (2H, m, H-4', H-5'), 1.22 (4H, m, H-5, H-9', H-10'), 0.93 (3H, t, $J=6.7$ Hz, H-11 or H-11'), 0.92 (3H, t, $J=7.0$ Hz, H-11 or H-11'). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃, assignments by DEPT, HMQC and HMBC) δ : 207.5 (C-3'), 206.2 (C-3), 169.0 (C-7'a), 164.1 (C-1'), 148.6 (C-7'), 138.5 (C-7a), 134.9 (C-3a), 81.8 (C-1), 59.1 (C-8'), 54.1 (C-8), 53.6 (C-3'a), 51.8 (C-12'), 40.5 (C-7), 38.4 (C-6), 37.6 (C-6'), 29.9 (C-9), 29.3 (C-4'), 26.4 (C-9'), 26.2 (C-5), 23.7 (C-5'), 21.4 (C-10), 20.6 (C-10'), 17.6 (C-4), 14.5 (C-11), 14.2 (C-11'). EIMS m/z (rel. int.): 412 [M⁺] (69), 394 (11), 380 (10), 369 (30), 351 (6), 337 (13), 323 (17), 295 (4), 222 (100), 190 (58), 189 (14), 161 (28), 148 (20), 133 (5), 105 (11), 91 (8), 77 (8), 55 (12), 43 (6), 28 (28), 18 (15).

Entry 3. To a stirred solution of diligustilide (**1**, 100.8 mg, 0.26 mmol) in THF (5 mL) and MeOH (1 mL) was added a solution of Na₂CO₃ (165 mg, 1.56 mmol) in H₂O (5 mL). After refluxing for 30 min, the TLC of the reaction mixture did not show starting material and a more polar product was formed mainly. The mixture was cooled to room temperature and was neutralized with diluted HCl (10% to pH 3) and then extracted with EtOAc (4×10 mL). The organic layer was washed with saturated NaHCO₃ and brine, dried (Na₂SO₄) and evaporated under reduced pressure. The residue was purified by flash chromatography (*n*-heptane/

EtOAc 7:3) to obtain **4**⁷ (75 mg, 69%), demethylwallichilide (**6**,⁸ 16 mg, 8%), the diketo diacid **7**⁸ (8 mg, 7%) and wallichilide (**9**,⁸ 7 mg, 6%) as white solids.

4.1.2. Preparation of the epimers, 5 and 8. *Entry 7.* To a stirred solution of diligustilide (**1**, 202 mg, 0.53 mmol) in MeOH (10 mL) was added a solution of Na₂CO₃ (678 mg, 6.39 mmol) in H₂O (10 mL). The yellow heterogeneous reaction mixture was refluxed for 3.5 h. The reaction mixture was cooled to room temperature, neutralized with HCl (10% to pH 3), and extracted with EtOAc (5×15 mL). The organic phases were joined and washed with brine, dried over Na₂SO₄ and concentrated under reduced pressure to obtain a yellow oil. The crude product was purified by flash chromatography (CH₂Cl₂/CH₃CN gradient) and the following products were isolated: the epimeric mixture of **5** and **8** (1: 1, white solid, mp: 112–114, 118–123 °C, 129 mg, 59%), **4**⁷ (6.8 mg, 3%), **7**⁸ (7 mg, 3%), **10** (white semisolid, 8.6 mg, 4%), and the epimers **11** (pale yellow semisolid, 23 mg, 11%) **12** (pale yellow semisolid, 23 mg, 11%).

Compound 5¹⁰: mp: 132–137 °C. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃; assignments by COSY and HMQC) δ : 7.28 (1H, d, $J=6.9$ Hz, H-7'), 3.57 (3H, s, OCH₃), 2.85 (1H, m, H-6'), 2.66 (1H, m, H-7), 2.39 (1H, m, H-6). ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃, assignments by HMQC, HMBC, NOESY) δ : 200.5 (C-3'), 165.2 (C-1), 163.8 (C-1'), 146.5 (C-7'), 141.8 (C-3a), 136.7 (C-7'a), 133.7 (C-7a), 116.7 (C-3), 112.5 (C-8'), 51.5 (–OCH₃), 49.6 (C-3'a), 38.3 (C-6), 35.8 (C-8), 36.4 (C-6'), 36.3 (C-7), 29.4 (C-5), 27.9 (C-5'), 26.1 (C-9'), 25.2 (C-9), 24.0 (C-4'), 22.4 (C-10), 21.6 (C-10'), 20.1 (C-4), 14.4 (C-11'), 13.8 (C-11).

Compound 8: ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃; assignments by COSY and HMQC) δ : 7.10 (1H, d, $J=6.8$ Hz, H-7'), 3.55 (3H, s, OCH₃), 2.83 (1H, m, H-6'), 2.64 (1H, m, H-7), 2.38 (1H, m, H-6). ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃, assignments by HMQC, HMBC, NOESY) δ : 200.4 (C-3'), 166.1 (C-1'), 165.7 (C-1), 146.3 (C-7'), 143.3 (C-3a), 137.0 (C-7'a), 132.4 (C-7a), 117.3 (C-3), 111.7 (C-8'), 51.8 (–OCH₃), 50.3 (C-3'a), 38.1 (C-6), 37.0 (C-8), 36.6 (C-7), 36.4 (C-6'), 29.6 (C-5), 27.3 (C-5'), 26.1 (C-9'), 25.5 (C-9), 24.4 (C-4'), 22.5 (C-10), 22.0 (C-10'), 20.4 (C-4), 14.2 (C-11'), 13.9 (C-11).

Compound 10: UV (MeOH) λ_{max} nm (ϵ): 304 (15288), 218.5 (8666), 207 (8644). IR (CHCl₃) ν_{max} (cm⁻¹): 3524, 2959, 3873, 1709, 1675, 1629, 1439, 1258, 1090, 910. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃; assignments by COSY and HMQC) δ : 7.36 (1H, d, $J=6.9$ Hz, H-7'), 3.59 (3H, s, –OCH₃), 3.14 (1H, m, H-8), 2.94 (1H, m, H-7), 2.91 (1H, m, H-6'), 2.50 (2H, m, H-6, H-9'), 2.43 (1H, m, H-4), 2.31 (1H, m, H-9'), 1.99 (2H, m, H-9, H-5), 1.91 (1H, m, H-4), 1.81 (4H, m, H-4', H-5', H-9), 1.63 (2H, m, H10'), 1.49 (1H, m, H-5'), 0.98 (3H, t, $J=7.4$ Hz, H-11') 0.90 (1H, m, H-5), 0.85 (2H, m, H-10), 0.80 (3H, t, $J=7.2$ Hz, H-11). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃, assignments by DEPT, HMQC and HMBC) δ : 203.5 (C-3), 200.6 (C-3'), 164.7 (C-7'a), 163.6 (C-1'), 147.8 (C-7'), 147.0 (C-8'), 142.4 (C-3a), 136.2 (C-1), 136.0 (C-7a), 51.6 (CH₃OOC–), 49.5 (C-3'a), 48.0 (C-8), 41.0 (C-7), 39.5 (C-6), 37.0 (C-6'), 29.9 (C-9'), 29.7 (C-9), 29.4 (C-5), 27.4 (C-4'), 24.3 (C-5'), 22.1 (C-10'), 18.9 (C-4), 17.3 (C-10), 14.5 (C-11'), 14.2 (C-11). MS (FAB⁺) m/z (rel.

int.): 395 [M⁺+1] (100), 394 (43), 363 (35), 352 (16), 333 (8), 307 (15), 289 (11), 279 (11), 263 (6), 215 (7), 178 (12), 154 (86), 136 (73), 107 (33), 91 (42), 57 (55), 55 (62), 44 (62), 31 (17). HRMS (FAB⁺) *m/z*: Found 395.2219. Calcd for C₂₅H₃₀O₄+H⁺ 395.2222 (MH⁺).

Compound 11: UV (MeOH) λ_{max} nm (ε): 304 (14288), 207 (9480). IR (CHCl₃) ν_{max} (cm⁻¹): 3517, 2962, 2934, 2874, 1692, 1631, 1461, 1342, 1259, 1091, 909. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃; assignments by COSY and HMQC) δ: 7.53 (1H, d, *J*=6.9 Hz, H-7'), 3.13 (1H, m, H-8), 2.93 (1H, m, H-6'), 2.91 (1H, m, H-7), 2.51 (1H, m, H-6), 2.43 (2H, m, H-4, H-9'), 2.30 (1H, m, H-9'), 1.99 (2H, m, H-5, H-9), 1.88 (1H, m, H-4), 1.79 (4H, m, H-4', H-5', H-9), 1.61 (2H, m, H-10'), 1.49 (1H, m, H-5'), 0.97 (3H, t, *J*=7.3 Hz, H-11') 0.89 (3H, m, H-5, H-10), 0.70 (3H, t, *J*=7.2 Hz, H-11). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃, assignments by DEPT, HMQC and HMBC) δ: 203.4 (C-3), 200.1 (C-3'), 167.5 (C-1'), 164.4 (C-7'a), 151.1 (C-7'), 147.3 (C-8'), 142.5 (C-3a), 136.1 (C-1), 135.2 (C-7a), 49.2 (C-3'a), 48.1 (C-8), 40.8 (C-7), 39.6 (C-6), 37.2 (C-6'), 29.9 (C-9'), 29.7 (C-9), 29.3 (C-5), 27.6 (C-4'), 24.0 (C-5'), 21.8 (C-10'), 18.9 (C-4), 17.4 (C-10), 14.6 (C-11'), 14.1 (C-11). MS (FAB⁺) *m/z* (rel. int.): 381 [M⁺+1] (26), 380 (6), 363 (5), 338 (5), 307 (24), 289 (12), 191 (4), 165 (7), 154 (100), 136 (68), 120 (10), 107 (20), 89 (18), 77 (17), 55 (6), 51 (5), 39 (5). HRMS (FAB⁺) *m/z*: Found 381.2068. Calcd for C₂₄H₂₈O₄+H⁺ 381.2066 (MH⁺).

Compound 12: UV (MeOH) λ_{max} nm (ε): 302.5 (13444), 207 (9916). IR (CHCl₃) ν_{max} (cm⁻¹): 3521, 2962, 2933, 2873, 1692, 1630, 1422, 1343, 1258, 1169, 1087, 908. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃; assignments by COSY and HMQC) δ: 7.52 (1H, d, *J*=6.8 Hz, H-7'), 3.07 (1H, m, H-8), 2.96 (1H, m, H-7), 2.92 (1H, m, H-6'), 2.49 (1H, m, H-6), 2.43 (1H, m, H-4), 2.29 (2H, m, H-9'), 1.95 (2H, m, H-5, H-9), 1.87 (1H, m, H-4), 1.78 (3H, m, H-4', H-5'), 1.71 (1H, m, H-9), 1.51 (1H, m, H-5'), 1.38 (2H, m, H-10'), 1.11 (1H, m, H-10), 0.99 (3H, t, *J*=7.3 Hz, H-11'), 0.88 (2H, m, H-5, H-10), 0.84 (3H, t, *J*=7.3 Hz, H-11). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃, assignments by DEPT, HMQC and HMBC) δ: 203.8 (C-3), 200.3 (C-3'), 167.6 (C-1'), 164.1 (C-7'a), 151.0 (C-7') 147.9 (C-8') 142.1 (C-3a), 135.6 (C-1), 135.0 (C-7a), 49.8 (C-3'a), 48.3 (C-8), 40.7 (C-7), 39.7 (C-6), 37.1 (C-6'), 31.9 (C-9), 30.7 (C-9'), 28.6 (C-5), 28.5 (C-4'), 23.6 (C-5'), 22.5 (C-10'), 18.8 (C-4), 18.0 (C-10), 14.8 (C-11'), 14.1 (C-11). MS (FAB⁺) *m/z* (rel. int.): 381 [M⁺+1] (78), 380 (26) 363 (25), 338 (31), 336 (10), 307 (18), 289 (11), 178 (8), 155 (28), 154 (100), 136 (77), 109 (21), 95 (37), 81 (42), 69 (66), 55 (85), 44 (81), 42 (61), 31 (18). HRMS (FAB⁺) *m/z*: Found 381.2068. Calcd for C₂₄H₂₈O₄+H⁺ 381.2066 (MH⁺).

4.1.3. Hydrolysis of diligustilide (1). Preparation of demethylwallichilide (6) and the diketo diacid 7.

Entry 11. To a solution of diligustilide (1, 100 mg, 0.26 mmol) in acetone (5 mL) was added a solution of Na₂CO₃ (330 mg, 3.12 mmol) in water (5 mL), and the mixture was stirred and refluxed for 8 h. After cooling to room temperature the reaction mixture was acidified with a solution of HCl (10%, pH 3) and extracted with EtOAc (3×10 mL). The organic phases were washed with brine, dried (Na₂SO₄) and concentrated under reduced pressure. The residue (yellow

solid) was purified by flash chromatography (CH₂Cl₂/MeOH, gradient) to obtain demethylwallichilide (6,⁸ 18 mg, 17%) and the diketo diacid 7,⁸ (74 mg, 68%).

4.1.4. Preparation of 13. **Entry 15.** To a solution of diligustilide (1, 100 mg, 0.26 mmol) in acetone (5 mL) was added a solution of NaOH (28.5 mg, 0.71 mmol) in water (5 mL), and the heterogeneous yellow mixture was stirred at room temperature. After 2 h the reaction mixture became homogeneous, then was acidified with a solution of HCl (10%, pH 1) and extracted with EtOAc (3×10 mL). The organic phases were washed with brine, dried (Na₂SO₄) and concentrated under reduced pressure. The residue (yellow oil) was purified by preparative TLC (CH₂Cl₂/MeOH 95:5, three times) to afford the diketo diacid 7,⁸ (39 mg, 36%) and the intramolecular condensation product 13,¹¹ as a white solid, mp: 188–190 °C. UV (MeOH) λ_{max} nm (ε): 305.5 (2020), 232.5 (2655). IR (CHCl₃) ν_{max} (cm⁻¹): 3693, 3603, 3515, 2962, 2874, 1705, 1603, 1425, 1063, 926. ¹H NMR (300 MHz, CD₃OD; assignments by COSY and HETCOR) δ: 7.37 (1H, d, *J*=6.9 Hz, H-7'), 2.93 (1H, m, H-6'), 2.91 (1H, m, H-7), 2.55 (1H, dd, *J*₁=9.9 Hz, *J*₂=2.1 Hz, H-8'), 2.44 (1H, m, H-6), 2.24 (2H, m, H-8, H-9'), 2.15 (1H, m, H-4), 1.95 (1H, m, H-4'), 1.81 (3H, m, H-4, H-5, H-5'), 1.68 (1H, m, H-10), 1.54 (3H, m, H-9, H-10, H-10'), 1.44 (2H, m, H-4', H-5'), 1.35 (2H, m, H-5, H-9), 1.24 (2H, m, H-9', H-10'), 0.95 (3H, t, *J*=6.9 Hz, H-11), 0.90 (3H, t, *J*=6.9 Hz, H-11'). ¹³C NMR (75 MHz, CD₃OD, assignments by DEPT, HETCOR and FLOCK) δ: 209.7 (C-3'), 209.1 (C-3), 172.4 (C-7'a), 167.1 (C-1'), 149.2 (C-7'), 138.8 (C-7a), 137.2 (C-3a), 82.4 (C-1), 60.6 (C-8'), 55.8 (C-8), 54.8 (C-3'a), 41.9 (C-7), 39.7 (C-6), 39.0 (C-6'), 30.9 (C-9), 30.2 (C-4'), 27.9 (C-9'), 27.4 (C-5), 25.0 (C-5'), 22.6 (C-10), 21.7 (C-10'), 18.6 (C-4), 14.9 (C-11), 14.6 (C-11'). MS (FAB⁺) *m/z* (rel. int.): 399 [M⁺+1] (12), 381 (22), 363 (10), 329 (4), 307 (26), 289 (14), 191 (7), 176 (6), 154 (100), 136 (66), 120 (10), 107 (20), 89 (17), 77 (16), 55 (7), 41 (6), 39 (6). HRMS (FAB⁺) *m/z*: Found 399.2175. Calcd for C₂₄H₃₀O₅+H⁺ 399.2171 (MH⁺).

Acknowledgements

Contribution 2463 from the Institute of Chemistry, UNAM. Taken in part from the PhD thesis of B. Q.-G. Financial support from Universidad Nacional Autónoma de México (DGAPA-PASPA, and PAEP 208322) and from STINT (Sweden) is gratefully acknowledged. We thank Rocío Patiño, Héctor Ríos, María Isabel Chávez, Angeles Peña, Elizabeth Huerta, Luis Velasco and Javier Pérez Flores for technical assistance.

References and notes

- Delgado, G.; Reza-Garduño, R. G.; Toscano, R. A.; Bye, R.; Linares, E. *Heterocycles* **1988**, *27*, 1305–1312.
- Quiroz-García, B.; Hernández, L.; Toscano, R. A.; Sterner, O.; Delgado, G. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 2509–2512.
- Appelt, G. A. *J. Ethnopharmacol.* **1985**, *13*, 51–55.
- Bye, R. A.; Linares, E. *J. Ethnobiol.* **1986**, *6*, 289–306.

5. Linares, E.; Bye, R. A. *J. Ethnopharmacol.* **1987**, *19*, 153–198.
6. Bye, R. A. *Econ. Bot.* **1986**, *40*, 103–124.
7. Rios, M. Y.; Delgado, G.; Espinosa-Pérez, G. *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 6605–6608.
8. Rios, M. Y.; Delgado, G.; Toscano, R. A. *Tetrahedron* **1998**, *54*, 3355–3366.
9. X-ray data for compound **4**: $C_{25}H_{32}O_5$, $M=412.51$, $T=291$ K, crystal system monoclinic, space group $P2_1/c$, (No. 14), $a=9.8420(9)$ Å, $b=9.6724(9)$ Å, $c=23.419(2)$ Å, $\beta=93.013(2)^\circ$, $V=2226.3(4)$ Å³, $Z=4$, $D_c=1.231$ g/cm³, $\mu=0.084$ mm⁻¹, $F(000)=888.17743$ reflections were collected and 3925 [$R_{int}=0.0381$] reflections were independent, $S=1.017$, $R=0.0714$, $R_w=0.2118$. Largest diff. peak and hole were 0.693 and -0.284 e Å⁻³. Crystallographic data have been deposited with Cambridge Crystallographic Centre as supplementary publication number CCDC 228132.
10. X-ray data for compound **5**: $C_{25}H_{32}O_5 \cdot 1/2C_6H_{14}$, $M=455.59$, $T=291(2)$ K, crystal system monoclinic, space group $C2/c$ (No. 15), $a=26.0298(16)$ Å, $b=11.1079(7)$ Å, $c=21.4951(13)$ Å, $\beta=122.5960(10)^\circ$, $V=5236.1(6)$ Å³, $Z=8$, $D_c=1.156$ g/cm³, $\mu=0.078$ mm⁻¹, $F(000)=1976$. 20998 reflections were collected and 4618 [$R_{int}=0.0614$] reflections were independent, $S=0.953$, $R=0.0577$, $R_w=0.1004$. Largest diff. peak and hole were 0.157 and -0.140 e Å⁻³. CCDC registration number 228133.
11. X-ray data for compound **13**: $C_{48}H_{60}O_{10}$, $M=796.96$, $T=291$ K, crystal system orthorhombic, space group, $Pna2_1$ (No. 33), $a=15.6297(9)$ Å, $b=13.5568(8)$ Å, $c=19.3275(11)$ Å, $V=4095.3(4)$ Å³, $Z=4$, $D_c=1.293$ g/cm³, $\mu=0.089$ mm⁻¹, $F(000)=1712$, 32270 reflections were collected and 7210 [$R_{int}=0.0872$] reflection were independent s, $S=0.890$, $R=0.0597$, $R_w=0.0743$. Largest diff. peak and hole were 0.186 and -0.187 e Å⁻³. CCDC registration number 228134. Copies of the data can be obtained, free of charge on application to CCDC, 12 Union Road, Cambridge CB2 1EZ, UK (fax: +44-123-336033 or email: deposited@ccdc.cam.ac.uk).
12. *SHELXTL V 6.10* BRUKER AXS Inc, 5465 East Cheryl Parkway, Madison, WIS.