



Síntesis de un derivado diosfenólico a partir de la 7β,9α-dihidroxi-longipin-2-en-1-ona

Pablo Chacón-Morales*, Juan M. Amaro-Luis

Laboratorio de Productos Naturales. Departamento de Química. Facultad de Ciencias.
Universidad de Los Andes. Mérida 5101, Venezuela

(* pablochacon@ula.ve)

Recibido: 02/11/2014

Revisado: 24/11/2014

Aceptado: 27/02/2015

Resumen

A partir de la hidrólisis básica de una de las fracciones de mediana polaridad de la cromatografía general de un extracto de *Stevia lucida*, se obtuvo un longipineno identificado como la 7β,9α-dihidroxi-longipin-2-en-1-ona [1]. La oxidación con permanganato de potasio del compuesto [1], condujo a la formación de una mezcla compleja de productos de reacción, de la cual se aisló el diosfenol [2]. La estructura de los compuestos fue establecida mediante el análisis detallado de sus espectros de Infrarrojo (IR) y de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) uni- y bidimensional. Se discute brevemente la propuesta del mecanismo seguido para la transformación de [1] en diosfenol [2].

Palabras clave: diosfenoles; longipinanos; síntesis; *Stevia*; RMN

Abstract

The basic hydrolysis of a fraction obtained of general chromatography of the extract from *Stevia lucida* affords 7β,9α-dihydroxy-longipin-2-en-1-one [1]. The oxidation of the compound [1] with potassium permanganate affords a complex mixture of oxidation products. The diosphenol [2] was isolated from the reaction mixture by preparative thin layer chromatography. These compounds were characterized on the basis of spectroscopic studies, including 1D- and 2D-NMR experiments. A plausible reaction mechanism for the transformation of [1] to diosphenol [2] is discussed.

Keywords: Diosphenoles; Longipinane; Synthesis; *Stevia*, NMR

Introducción

Los diosfenoles son α-dicetonas, en las cuales uno de los carbonilos está enolizado; los mismos forman parte de la estructura de diversos productos de origen natural y sintético^{1,2,3}. Estos compuestos presentan gran utilidad en el campo de la síntesis orgánica, debido a que pueden experimentar reagrupamientos tipo Claisen⁴, adiciones tipo Michael⁵, reacciones de Wittig⁶, reacciones fotoquímicas⁷ y reacciones de expansión y contracción de anillos⁸. La presencia de diosfenoles en productos naturales es frecuente, y algunos estudios de relación estructura-actividad, han determinado que este rasgo estructural es clave en su actividad biológica^{9,10}. Debido a las propiedades químicas y biológicas que poseen las α-dicetonas enolizadas, se procedió a sintetizar alguna de ellas, empleado como sustrato de partida un sesquiterpeno de la serie del longipinano (compuesto [1]), extraído de las partes aéreas de la *Stevia lucida* Lagasca. Estos compuestos poseen un esqueleto tricíclico que frecuentemente se encuentra funcionalizado con cetonas, dobles enlaces y grupos hidroxilos esterificados, que incorporan restos acetato, angelato, senecioato o tigliato.

Dado que los longipinanos poseen un anillo ciclobutánico y están altamente funcionalizados, son moléculas interesantes para estudiar conversiones de grupos funcionales, y en particular, para ensayar reacciones de reagrupamiento molecular bajo diferentes condiciones experimentales, con resultados realmente sorprendentes, en lo que respecta a la generación de nuevos esqueletos sesquiterpénicos¹¹.

Materiales y métodos

Equipos

La determinación de los puntos de fusión se hizo en un instrumento Fisher-Johns. Los espectros de IR se realizaron en KBr en un espectrofotómetro Perkin-Elmer modelo FT-1725X. Para los espectros de RMN se utilizó un equipo Bruker-Advance DRX 400 de 400 MHz para ¹H y 100 MHz para ¹³C. Las separaciones cromatográficas se hicieron en columnas empacadas con gel de sílice Merck 60 (63-200 μm, 70-230 mesh). Para la cromatografía de capa fina (TLC), se utilizaron placas Merck de gel de sílice HF 254 (0.25 mm espesor). Las placas fueron reveladas con una mezcla v/v CH₃COOH - H₂O - H₂SO₄ (20:4:1) y calentadas sobre placa térmica a 120 °C durante unos minutos. Las

placas para cromatografía preparativa se montaron suspendiendo gel de sílice fluorescente (HF 254) en agua destilada (relación 1:2 p/p), y extendiendo luego la mezcla en piezas de vidrio. Las placas fueron activadas a 120 °C durante 24 horas.

Material vegetal

El material vegetal (hojas y ramas) se colectó en el Páramo de la Negra, Municipio Autónomo Rivas Dávila, Estado Mérida. La especie fue determinada como *Stevia lucida* Lagasca [sin. *Stevia glutinosa* H.B.K.]. Una muestra botánica como *Voucher Specimen* de referencia (J. M. Amaro-Luis, N° 1582) se encuentra depositada en el herbario MERF de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Los Andes (ULA), Mérida, Venezuela.

Extracción del material vegetal

El material vegetal fresco se dispersó sobre una superficie plana recubierta con papel adsorbente y se mantuvo al aire, a temperatura ambiente y a la sombra, durante quince días. Las hojas y ramas ($\cong 7,0$ kg), fueron extraídas hasta agotamiento en un sohxlet, con etanol. La disolución obtenida fue filtrada y concentrada al vacío en un rotavapor a temperatura no mayor a 50 °C, para generar un extracto crudo ($\cong 1.800$ g), el cual fue preadsorbido en gel de sílice y sucesivamente extraído con éter de petróleo, acetona y metanol, hasta agotamiento en cada caso. Cada una de las disoluciones obtenidas fue concentrada al vacío para generar los subextractos respectivos.

Cromatografía del subextracto en acetona

Una parte del subextracto en acetona ($\cong 300$ g) fue readsorbido en gel de sílice y cromatografiado en columna al vacío, siguiendo la técnica de Coll & Bowden¹², utilizando como solventes hexano y mezclas hexano-acetato de etilo (AcOEt) en orden de polaridad creciente (100:0 \rightarrow 0:100) y posteriormente mezclas AcOEt-metanol (80:20 \rightarrow 0:100) (tabla 1). Se recogieron 117 fracciones de 1L hasta agotar la elución y las mismas se concentraron al vacío en un rotavapor, a temperatura no mayor de 40 °C. Las fracciones fueron analizadas por TLC, y sobre la base de este análisis, fueron adecuadamente reunidas para generar 11 reuniones (A, B, C,...K) (tabla 1). El análisis cromatográfico de la reunión C (fracciones: 21-28, eluyente: hexano-AcOEt 17:1, masa: 32,7 g), reveló que la misma era rica en diésteres de la 7 β ,9 α -dihidroxi-longipin-2-en-1-ona, caracterizados a través del estudio de su espectro de RMN-¹H.

Obtención de la 7 β ,9 α -dihidroxi-longipin-2-en-1-ona [1]

La reunión C (32,7 g), fue disuelta en metanol ligeramente caliente, luego se añadieron 60 g de KOH (disueltos en agua) y la mezcla se sometió a reflujo. El curso de la reacción fue monitoreado por TLC detectándose que el sustrato había reaccionado en su totalidad después de media

hora de calentamiento. Transcurrido este tiempo se dejó enfriar la mezcla de reacción y luego fue vertida sobre agua y acidificada con HCl (10 %) hasta alcanzar un pH ligeramente ácido. A continuación fue extraída con CH₂Cl₂ y lavada con NaHCO₃ (10 %). La capa orgánica fue separada en embudo de decantación y secada sobre MgSO₄ anhidro. La evaporación del disolvente condujo a la formación de un sólido blanco [1] ($\cong 3,5$ g): P. F. = 174-175 °C. IR, ν_{\max} . (cm⁻¹): 3.528-3.332 (OH); 1.669 (C=O); 1.620 (C=C) y 844 (=C-H). RMN-¹H (figura 1; tabla 2); RMN-¹³C (tabla 2).

Obtención de la 2,7 β ,9 α -trihidroxi-longipin-2-en-1-ona [2]

A una disolución en acetona de [1] ($\cong 300$ mg), se le añadió, gota a gota y bajo agitación constante, una solución de permanganato de potasio (KMnO₄) en ácido clorhídrico concentrado (HCl). El curso de la reacción fue monitoreado por TLC hasta observar la desaparición del sustrato. Las nuevas manchas que se observaron sobre la TLC revelaron que la mezcla de reacción estaba conformada por varios productos de oxidación de similares Rf. Mediante cromatografía de placa preparativa [hexano-AcOEt (1:1)] se obtuvo el compuesto [2] ($\cong 27$ mg): Compuesto resinoso de color marrón claro; IR, ν_{\max} . (cm⁻¹): 3.417 (OH); 1.693 y 1.681 (C=O); 1.604 (C=C); RMN-¹H (tabla 2); RMN-¹³C (tabla 2).

Resultados y discusión

Los datos de RMN-¹H (fig. 1; tabla 2) y RMN-¹³C (tabla 2) del compuesto [1] permitieron determinar el número de hidrógenos y de carbonos presentes en la molécula, y también, el grado de hibridación y tipo de sustitución de cada carbono, con lo cual fue posible establecer la fórmula molecular C₁₅H₂₂O₃. Dos de las cinco insaturaciones que exige esta fórmula molecular, corresponden a un grupo carbonilo [IR, ν_{\max} : 1.669 cm⁻¹ (C=O); RMN-¹³C, δ_C : 204,0 ($\underline{C=O}$; C-1)] y a un doble enlace trisustituido [IR, ν_{\max} : 1.620 cm⁻¹ (C=C) y 844 cm⁻¹ (=C-H); RMN-¹H: δ_H : 5,96, c, J = 1,4 Hz (=CH; H-2); RMN-¹³C, δ_C : 123,0 (=CH; C-2) y δ_C : 171,7 (=C<; C-3)]; en consecuencia, se concluye que se trata de un compuesto tricíclico. La presencia en la molécula de un metilo situado sobre un doble enlace [RMN-¹H: δ_H : 1,95, d, J = 1,4 Hz (=C-CH₃; H-12); RMN-¹³C, δ_C : 23,2 (-CH₃; C-12)], un metilo cuaternario [RMN-¹H: δ_H : 1,33, s, (-CH₃; H-15); RMN-¹³C, δ_C : 22,1 (-CH₃; C-15)] y un gem-dimetilo [RMN-¹H: δ_H : 1,16 y 1,18, s, (H₃C-C-CH₃; H-13 y H-14); RMN-¹³C, δ_C : 0,95 y 0,97 (H₃C-C-CH₃; C-13 y C-14)], junto con señales características de tres metinos incluidos en un anillo ciclobutánico [RMN-¹H: δ_H : 2,66, d, J = 6,8 Hz (>CH-; H-4), δ_H : 2,43, s, (>CH-; H-5) y δ_H : 3,62, d, J = 6,8 Hz (>CH-; H-11); RMN-¹³C, δ_C : 49,3 (>CH-; C-4), δ_C : 62,7 (>CH-; C-5) y δ_C : 53,8 (>CH-; C-11)], permitieron

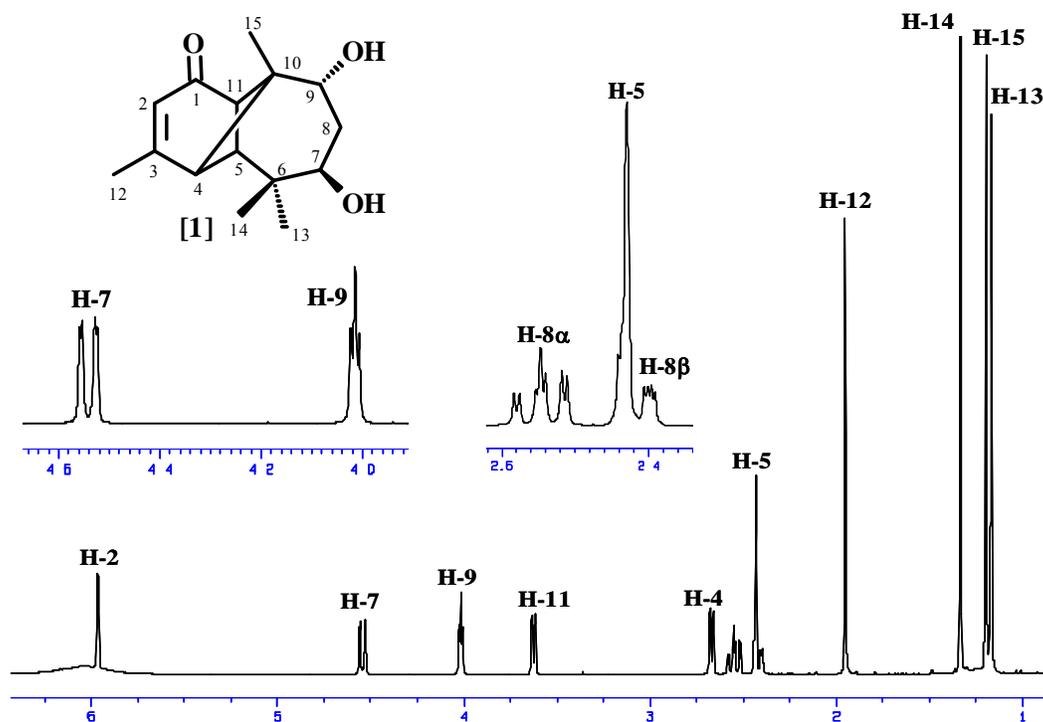


Fig. 1: Espectro de RMN-¹H (C₅D₅N, 400 MHz) de la 7β,9α-dihidroxi-longipin-2-en-1-ona [1]

caracterizar al compuesto como un sesquiterpeno de la serie del longipinano¹³. Por otro lado, fue posible caracterizar en la molécula dos hidroxilos secundarios [IR, ν_{\max} : 3.528-3.332 cm⁻¹ (OH); RMN-¹H: δ_{H} : 4,54, *dd*, $J = 11,6$ y 2,0 Hz (>CH-OH; H-7) y δ_{H} : 4,01, *t*, $J = 3,4$ Hz (>CH-OH; H-9); RMN-¹³C, δ_{C} : 69,1 (>CH-OH; C-7) y δ_{C} : 73,3 (>CH-OH; C-9)] situados sobre sendos carbonos que se interconectan a través de un metileno [RMN-¹H: δ_{H} : 2,64, *m*, (H-8α) y δ_{H} : 2,39, *m*, (H-8β); RMN-¹³C, δ_{C} : 40,6 (>CH₂; C-8)]. La ubicación de estos hidroxilos y su estereoquímica (C-7, β-OH y C-9, α-OH) fue establecida sobre la base de las constantes de acoplamiento de sus hidrógenos geminales, y confirmada mediante el análisis detallado de los espectros de RMN-¹H bidimensionales [¹H,¹H-COSY, HMQC, HMBC y NOESY]. Este análisis también confirmó la existencia en la molécula, de una ciclohexenona conjugada C-1/C-2/C-3. Con ello fue posible concluir que el compuesto en estudio era la 7β,9α-dihidroxi-longipin-2-en-1-ona [1]. Los datos de RMN-¹H y RMN-¹³C del compuesto [1] (tabla 2) concuerdan con los reportados en la bibliografía para la 7β,9α-dihidroxi-longipin-2-en-1-ona¹⁴.

El producto [2], separado de la mezcla de reacción de [1] con KMnO₄/H⁺, se purificó como un sólido resinoso de color marrón. Su fórmula molecular, determinada a través del análisis detallado de sus espectros de RMN (tabla 2), resultó ser C₁₅H₂₂O₄, a la cual también corresponden tres grados de insaturación. El análisis comparativo de los espectros de RMN uni- y bidimensionales de este

compuesto frente a los de [1], puso en evidencia que no hubo cambios en el anillo cicloheptánico, el cual conserva los dos grupos hidroxilos secundarios en C-7 y C-9 [IR, ν_{\max} : 3.417 cm⁻¹ (OH); RMN-¹H: δ_{H} : 3,91, *d*, $J = 11,9$ Hz (>CH-OH; H-7) y δ_{H} : 3,85, *s ancho*, (>CH-OH; H-9); RMN-¹³C, δ_{C} : 69,4 (>CH-OH; C-7) y δ_{C} : 73,4 (>CH-OH; C-9)]. De igual manera el esqueleto carbonado persiste, dado que las señales de los cuatro metilos permanecen prácticamente invariables [RMN-¹H: δ_{H} : 2,16, *s*, (=C-CH₃; H-12), δ_{H} : 1,05, *s*, (-CH₃; H-15), δ_{H} : 0,95 y 0,97, *s*, (H₃C-C-CH₃; H-13 y H-14); RMN-¹³C, δ_{C} : 21,1 (-CH₃; C-12), δ_{C} : 21,7 (-CH₃; C-15)], δ_{C} : 26,5 y 17,7 (H₃C-C-CH₃; C-13 y C-14)]. La variación detectada se centra en el anillo de ciclohexano, concretamente en el sistema alquénico, el cual se convirtió en un doble enlace tetrasustituido dado que no se detectan en el espectro RMN-¹H señales de protones olefinicos; sin embargo se aprecian, en su espectro RMN-¹³C, dos picos atribuibles a carbonos sp² olefinicos cuaternarios [RMN-¹³C, δ_{C} : 164,3 (=C-O-; C-2) y δ_{C} : 126,7 (=C<; C-3)]. Hay dos hechos destacables en los datos de RMN-¹³C que sustentan este cambio: 1) el desapantallamiento del pico atribuido a C-2, el cual es justificable si se interpreta, en congruencia con la fórmula molecular del compuesto [2], a la sustitución del hidrógeno olefinico (presente en [1]) por un hidroxilo enólico (presente en [2]), y 2) el notable apantallamiento de la señal asignada a C-3 (δ_{C} : 126,7, $\Delta\delta$: -45 ppm respecto a C-3 en [1], δ_{C} : 171,7), entendible en función del efecto dador de electrones (por resonancia), del grupo hidroxilo (fig. 2).

Tabla 1: Resultados de la cromatografía general del extracto en acetona obtenido de las hojas y ramas de *Stevia lucida*¹⁵

Reuniones	Fracciones	Masa (g)	Eluyente	Productos
A	1-12	22,3	hexano 100 %	ceras
B	13-20	14,6	hexano-AcOEt (19:1)	alcoholes alifáticos
C	21-28	32,7	hexano-AcOEt (17:1)	(+)-Melleina y mezclas de diésteres de la 7β,9α-dihidroxi-longipin-2-en-1-ona
D	29-36	25,7	hexano-AcOEt (4:1)	Lactonas sesquiterpénicas (Farinosina, alantolactona e isoalantolactona)
E	37-48	26,8	hexano-AcOEt (7:3) hexano-AcOEt (3:2)	Flavonoides (Pectolinaringenina, isosacuranetina)
F	49-63	18,4	hexano-AcOEt (1:1) hexano-AcOEt (2:3) hexano-AcOEt (3:7)	Flavonoides (Hispidulina)
G	64-84	35,5	hexano-AcOEt (1:4) AcOEt (100%)	mezclas complejas
H	85-90	19,0	AcOEt-metanol (4:1)	mezclas complejas
I	91-96	22,5	AcOEt-metanol (7:3)	mezclas complejas
J	97-106	26,8	AcOEt-metanol (1:1) AcOEt-metanol (1:3)	mezclas complejas
K	107-117	38,2	metanol (100 %)	productos polares

Tabla 2: Valores de RMN (¹H y ¹³C) de los productos [1] y [2]

Posición C/H	RMN- ¹³ C [δ_c (ppm)]		RMN- ¹ H [δ_H (ppm; <i>J</i> en Hz)]	
	7β,9α-dihidroxi-longipin-2-en-1-ona [1]	2,7β,9α-trihidroxi-longipin-2-en-1-ona [2]	7β,9α-dihidroxi-longipin-2-en-1-ona [1]	2,7β,9α-trihidroxi-longipin-2-en-1-ona [2]
1	204,0	196,3	-	-
2	123,0	164,3	5,96 (<i>c</i> ; 1,4)	-
3	171,7	126,7	-	-
4	49,3	49,9	2,66 (<i>d</i> ; 6,8)	2,72 (<i>d</i> ; 7,3)
5	62,7	66,1	2,43 (<i>s</i>)	2,32 (<i>s</i>)
6	39,0	38,8	-	-
7	69,1	69,4	4,54 (<i>dd</i> ; 11,6; 2,0)	3,91 (<i>d</i> ; 11,9)
8	40,6	38,3	H-8α= 2,64 (<i>m</i>) H-8β= 2,39 (<i>m</i>)	H-8α= 1,91 (<i>d</i> ; 14,3) H-8β= 2,23 (<i>t</i> ; 14,3)
9	73,3	73,4	4,01 (<i>t</i> ; 3,4)	3,85 (<i>s</i> ancho)
10	57,9	58,5	-	-
11	53,8	52,8	3,62 (<i>d</i> ; 6,8)	3,23 (<i>d</i> ; 7,3)
12	23,2	21,1	1,95 (<i>d</i> ; 1,4)	2,16 (<i>s</i>)
13	27,1	26,5	1,16 (<i>s</i>)	0,95 (<i>s</i>)
14	18,4	17,7	1,18 (<i>s</i>)	0,97 (<i>s</i>)
15	22,5	21,7	1,33 (<i>s</i>)	1,05 (<i>s</i>)

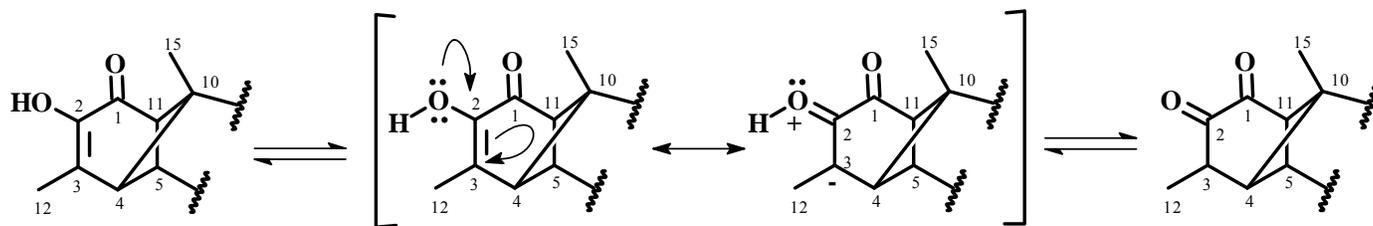


Fig. 2: Estructuras resonantes en el equilibrio ceto-enólico del diosfenol [2]

Es evidente, en concordancia con la figura 2, que el diosfenol existe como una mezcla en equilibrio ceto-enólico (en el espectro IR se detectan dos absorciones asignables a carbonilos a ν_{\max} : 1.693 cm^{-1} y 1.681 cm^{-1}), notablemente desplazado hacia la forma enólica. En consecuencia, la estructura de este diosfenol quedó establecida como la 2,7 β ,9 α -trihidroxi-longipin-2-en-1-ona [2]. El análisis de los espectros de RMN bidimensionales [^1H , ^1H -COSY, HMQC (fig. 3) y HMBC (fig. 4)] confirmó inequívocamente dicha estructura.

La oxidación de dobles enlaces con permanganato de potasio para generar glicoles es una reacción ampliamente conocida en química orgánica¹⁶. Por esta razón, el mecanis-

mo propuesto para la generación del diosfenol [2] (esquema 1) inicia con el ataque del ión permanganato al doble enlace C-2/C-3 del compuesto [1] (estructura [I]), para obtener el correspondiente 1,2-diol (estructura [II]). El medio ácido protona al grupo hidroxilo ubicado en C-3 haciéndolo buen grupo saliente (estructura [III]). El protón α al carbonilo cetónico, debido a su carácter ácido, es sustraído por una molécula de agua del medio de reacción, originando una β eliminación (estructura [IV]) que conduce a la formación de la 2,7 β ,9 α -trihidroxi-longipin-2-en-1-ona [2].

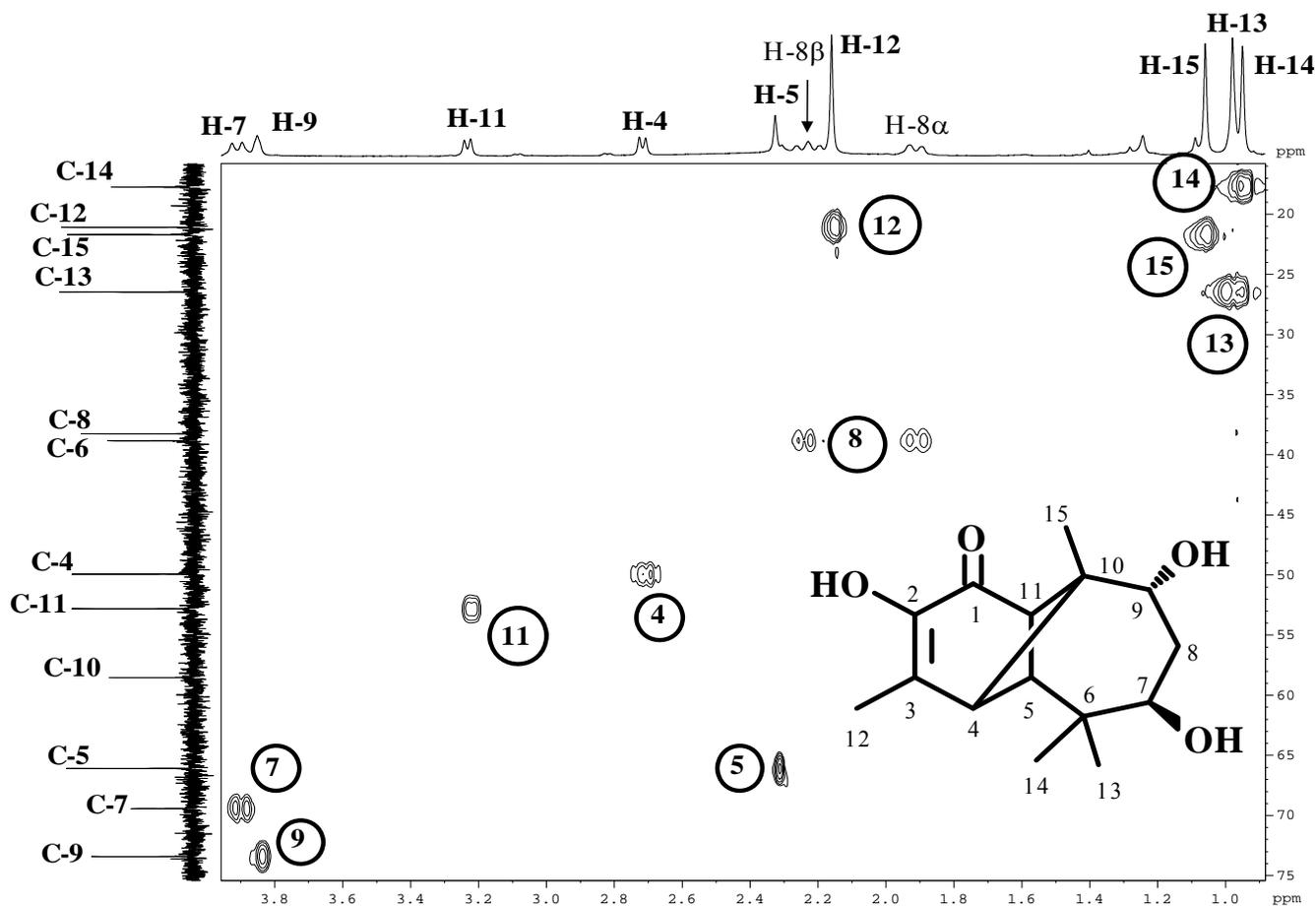


Fig. 3: Espectro HMQC (CDCl_3) de la 2,7 β ,9 α -trihidroxi-longipin-2-en-1-ona [2].

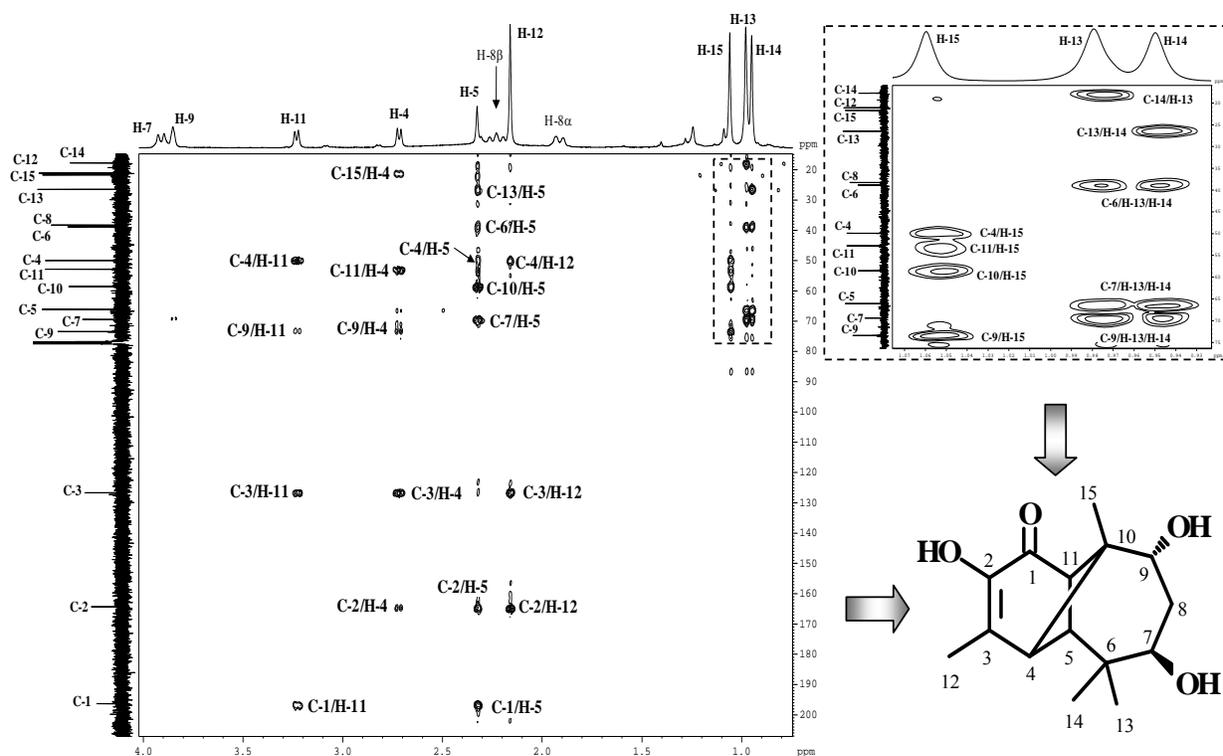
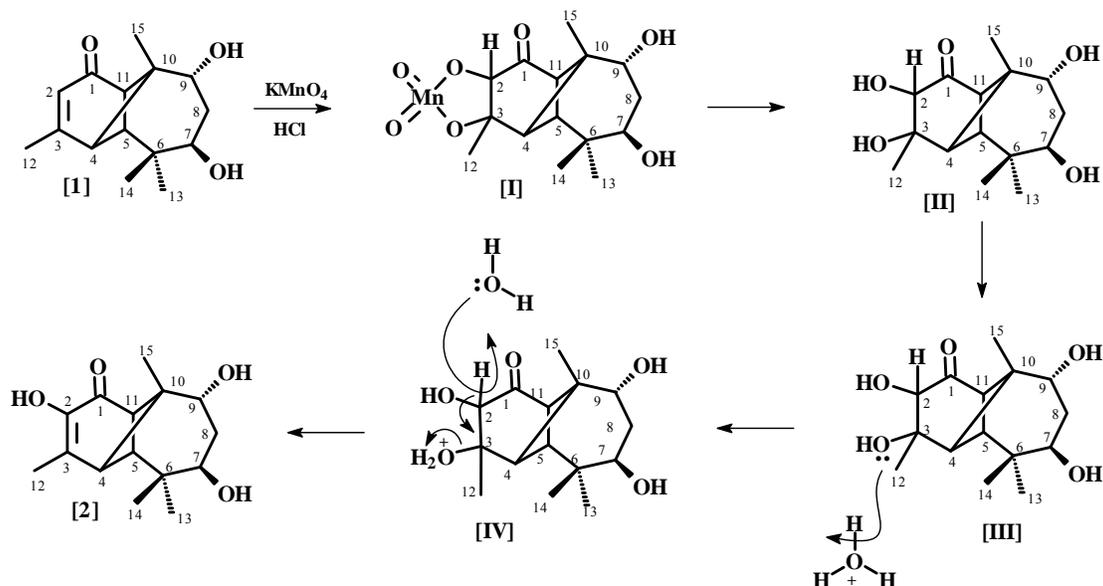


Fig. 4: Espectro HMBC (CDCl₃) de la 2,7β,9α-trihidroxi-longipin-2-en-1-ona [2].



Esquema 1. Mecanismo propuesto para la formación de 2,7β,9α-trihidroxi-longipin-2-en-1-ona [2].

Conclusiones

Las partes aéreas de *Stevia lucida* son una fuente importante para obtener longipinenos esterificados en C-7 y C-9. La metodología seguida para el desarrollo de la cromatografía general en la cual se obtuvo la reunión C (material de partida para generar el diol [1] mediante hidrólisis básica), estaba orientada al estudio fitoquímico minucioso de las partes aéreas, tal como puede observarse en los resultados que se presentan en la tabla 1. Sin embargo, el

procedimiento para obtener el compuesto [1], puede simplificarse descartando todos aquellos pasos del fraccionamiento cromatográfico que no estén relacionados con la obtención de la reunión C. Esto implicaría un ahorro significativo de tiempo y solventes.

Esta es la primera vez que se genera una α-dicetona enolizada sobre un esqueleto de la serie del longipinano. Dada la amplia versatilidad que tiene este tipo de funcionalización en la síntesis orgánica, sumado al potencial para

las transformaciones químicas que poseen los sesquiterpenos tricíclicos de esta serie, hacen que la 2,7 β ,9 α -trihidroxi-longipin-2-en-1-ona [2] sea un sustrato prometedor en lo referente a la generación de nuevas estructuras.

Es notable el hecho de que no se oxidan los alcoholes secundarios presentes en la 7 β ,9 α -dihidroxi-longipin-2-en-1-ona [1]. Esto debe a que la evolución de la reacción fue seguida por TLC en función de la desaparición del sustrato, en consecuencia, la adición del agente oxidante se detiene al consumirse todo el sustrato de partida. En presencia de un exceso de agente oxidante es muy probable que la reacción continúe evolucionando a la formación de otros productos de oxidación. Además, en la mezcla de reacción de la cual fue aislado el compuesto [2], fueron detectados por TLC otros productos que presentaban valores de R_f muy similares entre sí lo cual ha dificultado el proceso de aislamiento y caracterización de los mismos. Así pues, es lógico pensar que formen parte de la mezcla de reacción productos oxidados en las posiciones C-2/C-7; C-2/C-9; C-2/C-7/C-9 y también productos en los cuales se ha producido la oxidación total de la olefina lo que conduciría a la formación de un ácido carboxílico y una cetona (sobre C-2 y C-3 respectivamente).

Actualmente, nuestra investigación se centra en optimizar los rendimientos de reacción y los métodos de purificación de los productos obtenidos, para promover ensayos de que permitan estimar su potencial biológico.

Agradecimientos

Expresamos nuestro sincero agradecimiento al Ministerio del Poder Popular para Ciencia, Tecnología e Innovación (MPPCTI) por el financiamiento otorgado para el desarrollo nuestros proyectos de investigación (Subvención N° 2008000937).

Referencias

1. J Arnarp, BM Dahlin, CR Enzell, T Pettersson, G Weidemann. Tobacco Smoke Chemistry. 6. Alkyl-Substituted 2-Hydroxy-2-cyclohexenones Found in Cigarette Smoke Condensate. *Acta Chem. Scand.*, **45**, 105-107 (1991).
2. ZN De Hernandez, LR Hernandez, CAN Catalan, TE Gedris, W Herz. Guaianolides and germacradienolides from *Stevia sanguinea* *Phytochemistry*, **46**, 721-727 (1997).
3. A Galindo, N Villegas, H Mansilla. Cucurbitacins from *Bryonia verrucosa*. Isomerization of 2-Hydroxy-3-Keto-Cucurbitacins *Nat. Prod. Lett.*, **13**, 285-292 (1999).
4. BM Trost, GM Schroeder. Cyclic 1,2-Diketones as Building Blocks for Asymmetric Synthesis of Cycloalkenones. *J. Am. Chem. Soc.*, **122**, 3785-3786 (2000).
5. M Utaka, H Kuriki, T Sakai, A Takeda. New synthesis of jasmine lactone and related δ -lactones from 1,2-cyclohexanedione. Preparation and dye-sensitized photo-oxygenation of 3-(2-alkenyl)- and 3-(2-alkynyl)-1,2-cyclohexanediones. *J. Org. Chem.*, **51**, 935-938 (1986).
6. RW Saalfrank, P Schierling, P Schatzlein. 4-Ylidenbutenolid-Synthesen, I. Einfache Synthese ungesättigter bicyclischer Orthoester und deren saure Hydrolyse zu anellierten 4-Alkyliden-2-buten-4-oliden. *Chem. Ber.*, **116**, 1463-1467 (1983).
7. A Feigenbaum, Y Fort, J Pete, D Scholler. Photochemical cyclization of 2-alkyl-3-aryl-2-cyclohexenones and 2-alkoxy-3-aryl-2-cyclohexenones. *J. Org. Chem.*, **51**, 4424-4432 (1986).
8. S Takano, S Hatakeyama, K Ogasawara. Synthesis of the non tryptamine moiety of the *Aspidosperma*-type indole alkaloids via cleavage of a cyclic alpha-diketone monothioacetal. An efficient synthesis of (\pm)-quebrachamine and a formal synthesis of (\pm)-tabersonine. *J. Am. Chem. Soc.*, **101**, 6414-6420 (1979).
9. M Urban, J Sarek, J Klinot, G Korinkova, M Hajduch. Synthesis of A-Seco Derivatives of Betulinic Acid with Cytotoxic Activity. *J. Nat. Prod.*, **67**, 1100-1105 (2004).
10. S Bawm, H Matsuura, A Elkhateeb, K Nabeta, Subeki, N Nonaka, Y Oku, K Katakura, 2008. In vitro antitrypanosomal activities of quassinoid compounds from the fruits of a medicinal plant, *Brucea javanica* *Veterinary Parasitology*, **158**, 288-294 (2008).
11. P Joseph-Nathan, CM Cerda-García-Rojas. Molecular rearrangements in longipinane derivatives. *Pure Appl. Chem.*, **66**, 2361-2364 (1994).
12. JC Coll, BF Bowden. The Application of Vacuum Liquid Chromatography to the Separation of Terpenes Mixtures. *J. Nat. Prod.*, **49**, 934-936 (1986).
13. R Faure, EJ Vincent, EM Gaydou, O Rakotonirainy. Two-Dimensional NMR of Sesquiterpenic Compounds. I-Application to Complete Assignment of ¹H and ¹³C Spectra of α -Longipinene. *Magn. Res. Chem.*, **24**, 883-889 (1986).
14. LU Román, RE del Rio, JD Hernandez, CM Cerda-Garcia, D Cervantes, R Castañeda, P Joseph-Nathan. Structural and Stereochemical Studies of Naturally Occurring Longipinene Derivatives. *J. Org. Chem.*, **50**, 3965-3972 (1985).
15. PA Chacón-Morales, JM Amaro-Luis. Metabolitos Secundarios de la *Stevia lucida* Lagasca. Reacciones de Longipinenos. Tesis de Grado. Facultad de Ciencias. Universidad de Los Andes. Mérida, República Bolivariana de Venezuela (2008).
16. S Dash, S Patel, BK Mishra. Oxidation by permanganate: synthetic and mechanistic aspects. *Tetrahedron*, **65**, 707-739 (2009).