



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO

**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS
QUÍMICAS**

“ESTUDIO COMPUTACIONAL DE LA BIOGÉNESIS TERMINAL DE TERPENOIDES”

TESIS
PARA OPTAR POR EL GRADO DE
DOCTOR EN CIENCIAS

PRESENTA

M. en C. JOSÉ ENRIQUE BARQUERA LOZADA



TUTOR: DR. GABRIEL E. CUEVAS GONZÁLEZ BRAVO
AÑO: 2009

Contenido

Agradecimientos.....	iii
Resumen.....	vii
Abstract.....	ix
1. Introducción.....	1
2. Antecedentes Generales.....	5
Terpenoides.....	5
Sesquiterpenos	8
Estudios Biogénéticos.....	9
Teoría de Funcionales de la Densidad	11
Superficie de Energía Potencial	14
Teoría del Estado de Transición	16
3. Objetivos.....	19
Objetivo General.....	19
Objetivos Específicos	19
4. Estudio del Mecanismo de Reacción de la Biogénesis Terminal de la 8- Epiconfertina	21
Antecedentes	21
Germacranos	21
Elección de un funcional de la densidad	25
Condiciones de cálculo	26
Resultados y Análisis de Resultados	27
Comparación de Métodos Computacionales.....	46
Conclusiones.....	50
5. Estudio conformacional de la 6-<i>epi</i>-desacetil-laurenobiolida	53
Antecedentes	53
Equilibrio conformacional de germacranos.....	53
Resonancia magnética nuclear dinámica (RMND)	57
Condiciones de cálculo y metodología experimental	61
Resultados y Análisis de Resultados	62

Conclusiones.....	74
6. Estudio de la transposición de Cope en germacranólidas con geometrías Z,E y E,E.....	77
Antecedentes.....	77
Transposición de Cope.....	77
Formación de elemanólidas.....	78
Condiciones de cálculo.....	81
Resultados y Análisis de resultados.....	82
Conclusiones.....	97
7. Estudio del Mecanismo de Reacción de la Biogénesis Terminal del Sesquiterpeno Tricíclico, Ácido Terrecíclico.....	99
Antecedentes.....	99
Humulenóides.....	99
Ácido Terrecíclico.....	101
Condiciones de cálculo.....	105
Resultados y Análisis de Resultados.....	105
Conclusiones.....	114
8. Conclusión General.....	115
Referencias.....	117
Apéndices.....	129
Espectros de RMN.....	129
Artículos publicados.....	133

Agradecimientos

Esta tesis se desarrolló en el Instituto de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México, bajo la dirección de *Dr. Gabriel E. Cuevas González Bravo* a quien le agradezco sus asesorías, su apoyo y la confianza depositada en mí. Agradezco también al *Dr. Leovigildo Quijano* por sus siempre muy pertinentes apuntes y por la obtención del compuesto utilizado en los experimentos de RMN. A la *Dra. Beatriz Quiroz García* por su completa disposición y apoyo para la realización de los experimentos de RMN. A los miembros del jurado por sus valiosos comentarios. Finalmente, agradezco al *Dr. Guillermo Delgado Lamas* y al *Dr. Jesús Hernández Trujillo*, miembros de mi comité tutelar, por sus valiosas aportaciones para el desarrollo de este trabajo.

Al CONACyT por la beca otorgada durante el periodo 2006-2009, en el cual realicé los estudios de doctorado.

A la DGSCA por el tiempo de supercómputo otorgado para la realización de este trabajo.

KNOWING is a barrier which prevents learning.

— Teaching of the Bene Gesserit

(Gaussian 03)

Resumen

El establecimiento de los mecanismos de reacción que están involucrados en la biosíntesis de los productos naturales es fundamental. Este cuerpo de conocimiento está constituido por un conjunto de hipótesis que fueron formuladas teniendo a la mano resultados experimentales muy limitados. A estas se les conoce como hipótesis biogénicas y hasta hace poco no habían sido valoradas a través del análisis riguroso de los mecanismos de reacción. Algunas hipótesis biogénicas constituyen la contribución científica más relevante de muchos investigadores prestigiados que dedicaron muchos de sus recursos intelectuales y económicos para aportar pruebas que pudieran apoyarlas. Las discusiones que generaron sus propuestas llegaron a ser acaloradas cuando las posiciones eran encontradas. Por ello es fascinante que hoy en día, gracias al desarrollo de la química computacional, sea posible aportar pruebas contundentes que permitan apoyar unas y descartar sus opuestas. En este trabajo se aborda la biogénesis de lactonas sesquiterpénicas del tipo de la guayanólidas a partir de las germacranólidas, la transformación de germacranólidas a través de la reacción de Cope y la transformación del humuleno en un sesquiterpeno tricíclico.

Usando el funcional de tercera generación mPW1B95, se estudió el mecanismo asociado a la biogénesis de las pseudoguayanólidas. Los resultados presentados en el Capítulo 4 apoyan la teoría de Hendrickson y Fischer, mientras que ponen en duda la propuesta de Herz. El desempeño del funcional antes mencionado fue comparado con los funcionales B3LYP, B97-2 y B1B95, así como con el método MP2. Se encontró que para estos sistemas, el funcional mPW1B95 es el más adecuado para determinar la magnitud de la energía de activación y la habilidad de mapear la superficie de energía potencial.

Los germacranólidos pueden existir como una mezcla de cuatro distintos conformeros. Los resultados presentados en el Capítulo 5 apoyan la hipótesis biogénica de Fischer del origen de las pseudoguayanólidas: ambrosinólidas y helenanólidas. La hipótesis dice que cada uno de estos grupos de pseudoguayanólidas requieren de una enzima específica que seleccione el conformero correcto requerido para la ciclización electrofílica. Los valores de ΔH , ΔG , ΔH^\ddagger y ΔG^\ddagger del intercambio conformacional que se determinaron experimentalmente mediante RMN Dinámica son muy similares a aquellos obtenidos computacionalmente con el funcional mPW1B95, lo que comprueba que el nivel de teoría es adecuado.

La transformación de germacranos en elemanos a través de una transposición de Cope es una de las transformaciones biogénicas y biomiméticas más importantes. Se encontró que los *Z,E*-germacranólidos son mucho más estables que los *E,E*-germacranólidos y que los elemanólidos. Contrariamente a lo que las hipótesis biogénicas han planteado hasta ahora, y pese a que la conformación de bote del estado de transición en la transposición de Cope es energéticamente desfavorable, se encontró que en algunos casos esta conformación conduce a la formación del elemanólido más estable. También se encontró que el anillo de lactona desestabiliza a las elemanólidas pero modifica muy poco a los estados de transición de la transposición de Cope.

El humuleno se transforma en ácido terrecíclico por un mecanismo que ha sido difícil de elucidar. Hasta la fecha existen dos hipótesis biogénicas que concuerdan con los datos experimentales existentes. En el Capítulo 7 se demuestra que dado el perfil energético calculado para los intermediarios y los estados de transición de ambas hipótesis, se puede descartar la hipótesis de Cane y se obtienen pruebas de que la de Coates es la correcta.

Abstract

The establishment of reaction mechanisms that are involved in the biosynthesis of natural products is fundamental. This topic is constituted by a group of hypotheses that were formulated with very limited experimental results. These were known as biogenetic hypotheses and until now they have not been evaluated through a rigorous analysis of reaction mechanisms. Some of these biogenetic hypotheses are the most relevant scientific contribution of prestigious scientists that dedicated a lot of intellectual and economic resources to contribute with proofs that were able to support them. The discussions generated by their proposals gained a high tone when the positions were opposite. This is why it is fascinating that nowadays, thanks to the advances in computational chemistry, it is possible to provide irrefutable proofs that allow to support or to dismiss different proposals. In this thesis are presented the biogenesis of guaianolide type sesquiterpene lactones from germacranolides, the germacranolides transformation through a Cope rearrangement, and the humulene transformation in a tricyclic sesquiterpene.

Using the third generation functional mPW1B95, the mechanism associated to the pseudoguaianolide biogenesis was studied. The results presented in Chapter 4 support Hendrickson and Fischer's theory, while Herz proposal is placed under question. The performance of the formerly functional was compared to B3LYP, B97-2, and B1B95 functionals as well as with the MP2 method. For this system, it was found that the mPW1B95 functional is better in determining the magnitude of the activation energy and mapping the potential energy surface.

The germacranolides can exist as a mixture of four different conformers. The results presented on Chapter 5 support Fischer's biogenetic hypothesis on the origin of the pseudoguaianolides: hambrosinolides and helenanolides. This hypothesis states that each one of these groups requires a specific enzyme that selects the correct conformer that is required for the electrophilic cyclization. The experimental ΔH , ΔG , ΔH^\ddagger , and ΔG^\ddagger values of the conformational exchange determined with Dynamic NMR match very well with those calculated with the mPW1B95 functional, proving that the theory level is adequate.

The germacrane transformation to elemanolides through Cope rearrangement is one of the most important biogenetic and biomimetic transformations. It was found that Z,E-germacranolides are much more stable than the E,E-germacranolides and the elemanolides. Contrary to what has been proposed by different biogenetic hypotheses and even through the boat shape transition state for Cope rearrangement is energetically disfavored, it was found that in some cases they produce the most stable elemanolide. It was also found that the lactone ring destabilizes the elemanolides but only barely modifies the Cope rearrangement transition states.

The humulene is transformed into terrecyclic acid through a mechanism that has been difficult to elucidate. Until these days there exist two biogenetic hypotheses that match the existing experimental information. On Chapter 7 it is demonstrated, through the calculated energetic profile for the intermediaries and the transition states from both hypotheses, that Cane's biogenetic hypothesis can be dismissed, while obtaining proofs to support Coates' hypothesis.

1. Introducción

La vida en la Tierra está sustentada en un conjunto complejo de reacciones químicas. Los laboratorios químicos celulares producen miles de moléculas, algunas con funciones fundamentales para la vida de la célula, otras para modular su adaptación al medio ambiente. A estas moléculas se les denomina en forma general como productos naturales. Las estructuras de estos compuestos químicos van desde las más simples como son el ácido pirúvico, el acético y el gliceraldehído, hasta estructuras tan complejas que al ser humano le han sido difícil comprender y en muchos casos no las ha podido sintetizar, como son las proteínas y el ADN. La síntesis de compuestos tan complejos que efectúan los seres vivos es sorprendente, ya que a partir de unos cuantos compuestos muy simples, formados principalmente de carbono, hidrógeno, oxígeno, nitrógeno, fósforo y azufre, los seres vivos son capaces de sintetizar los miles de productos naturales que existen. La secuencia de reacciones que estos bloques de construcción de estructura simple tienen que seguir para formar a los más complejos productos naturales es intrincada y elegante a la vez. Algo realmente extraordinario es que las células en su afán de ahorrar energía sintetizan muchos productos naturales con una sola secuencia de reacciones, y no sólo eso, las células también optimizan cada una de las reacciones para obtener rendimientos que son el sueño de cualquier químico sintético: las reacciones se producen a temperatura ambiente, con total control de la estereoquímica, son absolutamente selectivas y suceden en medios acuosos.

La diversidad de funciones que los productos naturales cumplen en los organismos vivos es casi tan variada como su número. Hay que remarcar el hecho de que la función de un determinada sustancia cambia radicalmente con un pequeño cambio en la estructura, por ejemplo, la *R*-talidomida es un sedante: sin embargo, la *S*-talidomida, que es la imagen especular de la primera, es teratogénica.

Dada la diversidad de funciones que cumplen los productos naturales, en muchas ocasiones producen distintos efectos en los seres vivos, siendo estos efectos de vital importancia en

los seres humanos. Desde hace miles de años los seres humanos han utilizado los productos naturales como medicamentos para disminuir el dolor de los seres queridos o el propio, como venenos para eliminar a los enemigos o como alucinógenos para evadir la realidad y hablar con seres místicos. Obviamente, en aquellos remotos días los seres humanos no tenían conciencia de que se estaban usando productos naturales, ya que estos se utilizaban en forma de extractos de plantas o animales. El ser humano comenzó a preguntarse cual era el contenido de éstos extractos que los hacia tan especiales, y fue hasta el siglo XVIII que se pudieron aislar los primeros productos naturales en forma pura. En ese siglo, Karl Wilhelm Scheele, un químico alemán, aisló ácido láctico (leche), ácido oxálico (espinacas), ácido tartárico (zumo de uva), ácido cítrico (limón) y glicerol (grasas). Ya en el siglo XIX Friederich Sertürner aisló morfina de la amapola y en ese mismo siglo Pelletier y Caventou aislaron estriquina (usado como pesticida), quinina (usada en el tratamiento contra la malaria) y cafeína.

En México las civilizaciones prehispánicas tenían una gran tradición en el uso de plantas medicinales. Parte de este conocimiento se encuentra plasmado en un libro elaborado en 1552 conocido como Códice Badiano y en el Códice Florentino elaborado por Fray Bernardino de Sahagún. Entonces no es de sorprender que en México haya mucho interés por el estudio de los productos naturales. En 1840 el mexicano Vicente Ortigosa, trabajando en Alemania, obtuvo la fórmula química para la nicotina que había aislado de la planta de tabaco. Unos años después, en 1852, Leopoldo Rio de la Loza aisló el ácido pipitzóico, el primer producto natural aislado en América, el cual es muy buen purgante y cuyo descubrimiento le hizo acreedor a la medalla de primera clase de la Sociedad Universal Protectora de las Artes Industriales de Londres. De importancia mundial fue el desarrollo que se dio en México de los esteroides, que permitió la fabricación de la píldora anticonceptiva, la cual dio libertad sexual a la mujer. El precursor en la síntesis es un producto natural que se aísla de la planta Mexicana llamada “Cabeza de negro”.

La química de los productos naturales ha cambiado significativamente desde la segunda mitad del siglo XX. El uso de modernos métodos cromatográficos y de métodos

espectroscópicos, como la espectroscopía infrarroja o el ultravioleta/visible, pero sobretodo la resonancia magnética nuclear, han hecho que el aislamiento y caracterización de los productos naturales sea mucho más eficiente. Lo anterior ha llevado a que la cantidad de productos naturales descubiertos hasta la fecha sea varios cientos de miles. El interés por los productos naturales está lejos de acabarse. Aproximadamente el 50% de los medicamentos comerciales son de origen natural y las ventas globales de estos medicamentos está asociado a un mercado de alrededor de los 20 mil millones de dólares. En esta industria multimillonaria los productos naturales pueden utilizarse en su forma pura o como precursores para preparar moléculas más complejas o para establecer el mecanismo que origina su actividad farmacológica y así poder diseñar nuevos compuestos más potentes de interés farmacéutico. El descubrimiento de nuevos productos naturales también está lejos de terminar, ya que apenas se ha analizado un pequeño porcentaje de las especies tanto animales como vegetales, y es pertinente mencionar que aún no se conocen todas las especies que habitan la tierra. El conocimiento de su biosíntesis es aún más limitado en comparación a la caracterización de productos naturales, por lo que en este campo hay mucho más que investigar.

En años recientes la simulación de procesos químicos por medio de la computadora y los programas desarrollados para dicho fin son una herramienta muy útil. La aplicación de esta herramienta, llamada química computacional, se ha extendido exponencialmente gracias al desarrollo de computadoras cada vez más rápidas en el procesamiento de datos y a la optimización de los algoritmos que resuelven a las ecuaciones que describen a los complicados sistemas químicos. Aunque las ecuaciones que describen a las moléculas están descritas desde principios del siglo pasado, estas sólo se han podido resolver aproximadamente, ya que las soluciones son muy complejas. Es hasta finales del siglo pasado que estas aproximaciones son lo suficientemente buenas para aplicarlas a sistemas químicos reales. En estos días la química computacional sigue creciendo con cada vez mejores aproximaciones. Esta forma de hacer química tiene la ventaja de que se puede acceder a etapas de una reacción que sería imposible en un experimento. Además permite planear mejor los experimentos, lo que desde el punto de vista económico abarata los

costos de éstos. Con los avances actuales en química computacional es posible estudiar problemas tan complejos como es la biogénesis de productos naturales, como se demuestra en este trabajo.

2. Antecedentes Generales

Terpenoides

Los terpenoides son productos naturales que están formados por unidades de cinco átomos de carbono llamadas isopreno (Figura 2.1). En la mayoría de los terpenoides las unidades de isopreno están unidos por enlaces cabeza-cola además de algunos enlaces complementarios. La clasificación de los terpenoides es a través del número de unidades de isopreno que tiene; así, los que tienen una sola unidad de isopreno se les conoce como hemiterpenos, los de dos como monoterpenos, los de tres como sesquiterpenos, los de cuatro como diterpenos, los de cinco como sesterpenos, los de seis como triterpenos, los de ocho como carotenos y los de más de ocho como n-poliisoprenoides.¹

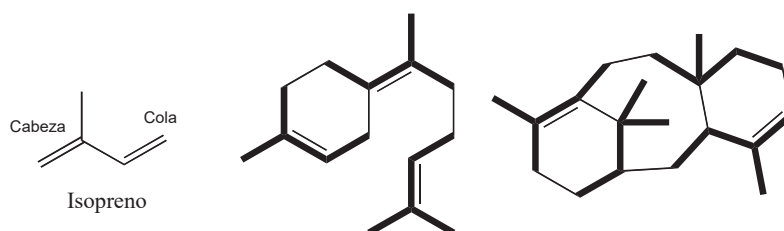
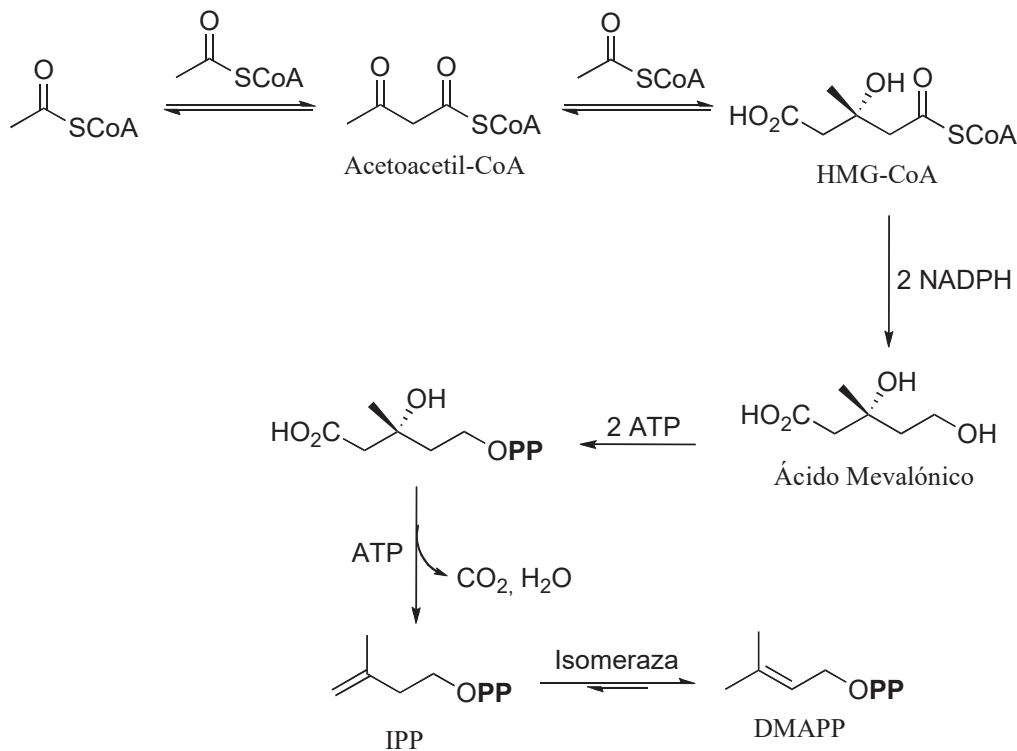


Figura 2.1 Unidad de isopreno y estructura general de los terpenoides.

Los terpenoides son metabolitos secundarios que a diferencia de los metabolitos primarios, no son estrictamente esenciales para la supervivencia de un ser vivo, sin embargo, los metabolitos secundarios juegan un papel muy importante en la guerra evolutiva que protagonizan entre sí todas las especies. Aunque la cantidad de distintos terpenoides se cuenta por miles, la función que desempeñan muchos de estos compuestos en los organismos es aún desconocida. Algunas de las funciones que se sabe cumplen en los seres vivos son: mediadores en el crecimiento de plantas, transportadores de electrones en la fotosíntesis, receptores en procesos visuales en animales, en la comunicación intercelular, hormonas sexuales, insecticidas, antibióticos, etc.^{2,3} Comercialmente los terpenoides han tenido diversas aplicaciones a través de la historia, se han usado como cosméticos,

saborizantes, pigmentos, desinfectantes, detergentes, suplementos vitamínicos, anticancerígenos, entre otros.

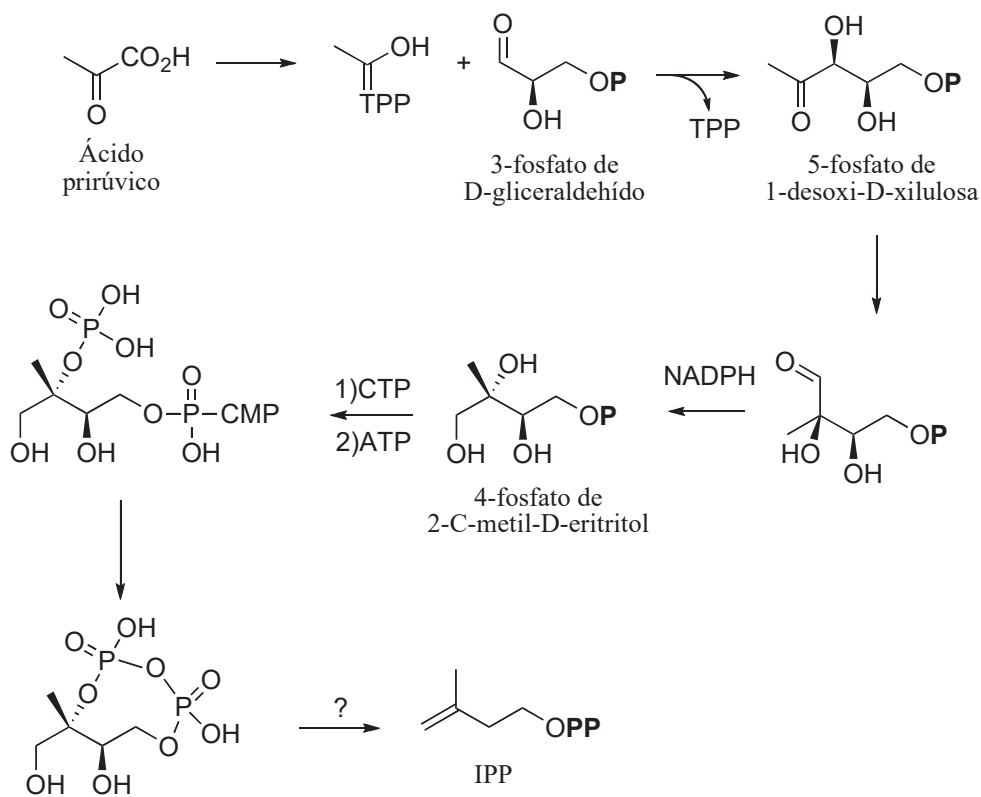
Las unidades de isopreno pueden ser obtenidas por dos rutas metabólicas, por la ruta del ácido mevalónico y por la ruta del 5-fosfato de 1-desoxi-D-xilulosa. Los animales usan exclusivamente la ruta del ácido mevalónico, pero en plantas y otros organismos inferiores se utilizan ambas rutas.^{4,5}



Esquema 2.1 Ruta del mevalonato.

La ruta del ácido mevalónico comienza con una molécula de acetil coenzima-A (CoA) que se une a otra molécula de acetil CoA, a través de una condensación tipo Claisen para formar acetoacetil CoA (Esquema 2.1). Una tercera molécula de acetil CoA se une de manera estereoespecífica para producir el β -hidroxi- β -metilglutaril CoA (HMG-CoA). Posteriormente, el HMG-CoA se reduce a través de dos moléculas de NADPH a ácido

mevalónico. El ácido mevalónico tiene seis átomos de carbono mientras que el isopreno sólo cinco, por lo que el primero tiene que perder un átomo de carbono. Esto sucede a través de la fosforilación del ácido mevalónico y la posterior descarboxilación por medio de una molécula de ATP. De este modo se obtiene el difosfato de isopentilo (IPP) y el difosfato de dimetilalilo (DMAPP), que son las unidades bioquímicamente activas de isopreno.

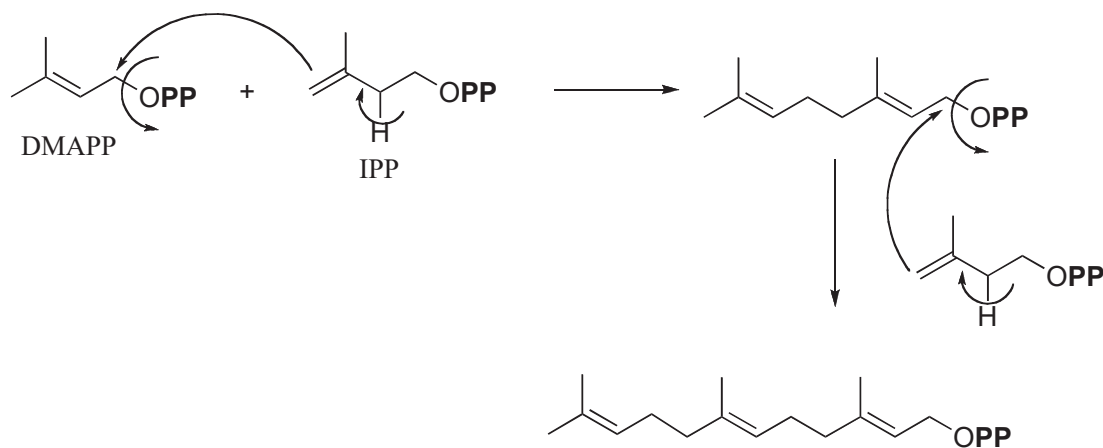


Esquema 2.2 Ruta del 5-fosfato de 1-desoxi-D-xilulosa

En la ruta de la 5-fosfato de 1-desoxi-D-xilulosa, el 3-fosfato de D-gliceraldehído reacciona con ácido pirúvico activado con difosfato de tiamina (TPP), para formar la 5-fosfato de 1-desoxi-D-xilulosa (Esquema 2.2). Esta última se transforma en 4-fosfato de 2-C-metil-D-eritritol a través de un reordenamiento tipo pinacol seguido de su reducción. El eritritol reacciona con trifosfato de citidina (CTP) para posteriormente ser fosforilado. El

producto de esta última reacción pierde fosfato de citidina y forma un fosfatoanhidro cíclico, el cual se transforma en IPP por un mecanismo que todavía no está establecido.

Una vez que se tiene al IPP y el DMAPP, éstos se unen cabeza-cola para formar terpenoides cada vez con un número mayor de carbonos, la unión es controlada por las poliprenil difosfato sintetasas (Esquema 2.3). La enzima controla también la geometría de los enlaces dobles y se puede formar tanto el isómero *E* como el *Z* pero normalmente es el isómero *E* el que se produce, ya que es más estable.⁵



Esquema 2.3 Ruta biogénica de los distintos grupos de terpenoides.

Sesquiterpenos

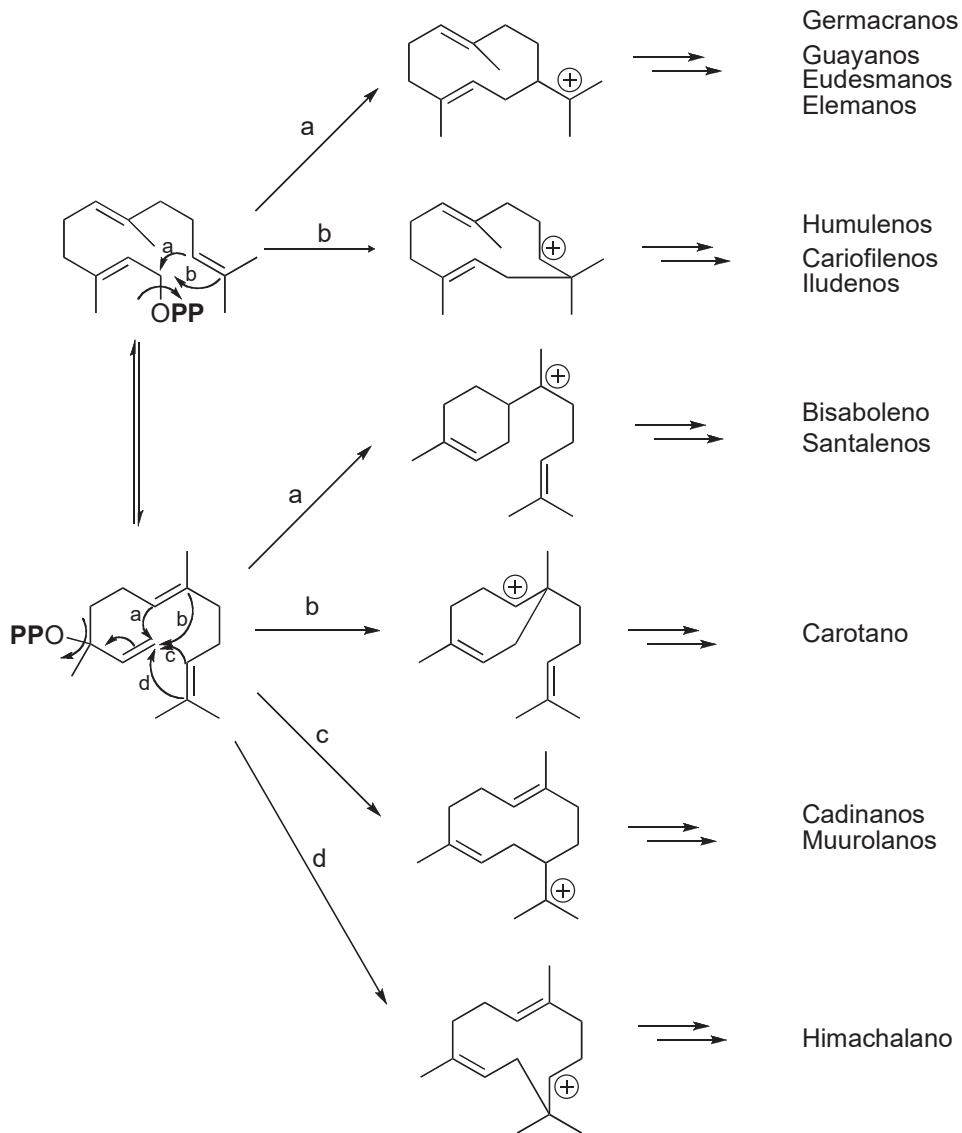
Los sesquiterpenos son el grupo más numeroso de terpenoides, por lo que han sido ampliamente estudiados. Éstos llevan a cabo diversas funciones fisiológicas, como son: la regulación del crecimiento, la de antibióticos, la de antifúngicos, la de insecticidas naturales, etc. Las enzimas denominadas sesquiterpen sintetasas forman a todos los terpenos a partir del pirofosfato de farnesilo (FPP).^{2,6} Este compuesto se puede ciclizar en una gran cantidad de formas, lo que genera estructuras mono, bi y tricíclicas. El FPP tiene que perder el anión pirofosfato antes de ciclizarse y una vez que esto ocurre el carbenio resultante es

atacado electrofílicamente por el enlace doble más distante para formar un anillo de 10 u 11 miembros. El ataque electrofílico también podría suceder a través del enlace doble central del *trans,trans*-FPP, pero esto generaría anillos de 6 y 7 miembros con un enlace doble de geometría *trans*, los cuales serían muy poco estables. Para formar anillos de 6 y 7 miembros, el *trans,trans*-FPP sufre una isomerización que lo transforma en difosfato de nerodilo (NPP), el cual tiene la geometría adecuada para formar dichos anillos (Esquema 2.4). El NPP también puede ciclarse para formar anillos de 10 y 11 miembros con la diferencia de que un enlace doble en el anillo será *cis*. Cuando el FPP es ciclado por alguna ciclase específica a un anillo de 10 miembros, ésta puede formar cuatro grupos de compuestos distintos, los cuales sólo difieren en la isomería de los dos enlaces dobles, siendo éstos (*E,E*)-germacranos, (*Z,E*)-germacranos, (*E,Z*)-germacranos y (*Z,Z*)-germacranos.^{7,8} Lo que no se sabe hasta ahora es si cada grupo de germacranos se derivan de su respectivo (*E,E*), (*Z,E*), (*E,Z*) y (*Z,Z*)-FPP o si la isomerización es posterior a la formación del germacrano.

Estudios Biogénéticos

Las hipótesis biogénéticas de los productos naturales están basadas en proponer mecanismos de reacción razonables que permitan explicar la formación de un compuesto a partir de otro que usualmente se encuentra en la misma fuente natural. Para sustentar una hipótesis biogénética, los investigadores llevan a cabo una secuencia de reacciones en el laboratorio con la premisa de que estas reacciones siguen, en general, los mismos principios que las reacciones que ocurren en los seres vivos. El problema con este esquema es que, en la realidad, al interior de las células casi todas las reacciones están catalizadas por enzimas. Las enzimas hacen una gran diferencia, ya que cuando una reacción es catalizada por una enzima la cantidad de producto que se pueden formar es mucho mayor comparada con la misma reacción llevada a cabo en un laboratorio.⁹ A pesar de esto la modelación biomimética es un buena aproximación para sustentar hipótesis biogénéticas, ya que en muchos casos el control enzimático no es necesario para regular aspectos como la *situ*, *estereo* y *regio*-selectividad. Las enzimas parecen ser fundamentales para la selección del

confórmero inicial y para explicar los elevados rendimientos químicos con que proceden estas transformaciones.



Esquema 2.4 Rutas generales en la biosíntesis de sesquiterpenos.

De algunos años a la fecha es posible disponer de cantidades suficientes de la enzima, lo que permite el estudio directo de algunas etapas de las transformaciones. Sin embargo, aun en estos casos las únicas pruebas de un mecanismo biogénico son la estructura de los compuestos iniciales y finales de la reacción. En algunos casos se puede disponer de los

compuestos marcados isotópicamente. A pesar de esto no se puede tener evidencia directa de que es lo que pasa exactamente durante la transformación.

La utilidad de los métodos computacionales en el estudio de mecanismos de reacción que ocurren en la biogénesis terminal de productos naturales ha sido demostrada recientemente por Gao,¹⁰ Truhlar,¹¹ Tantillo,¹²⁻¹⁵ Corey¹⁶ y Hess.¹⁷⁻²⁰ Los métodos computacionales son una muy buena alternativa ante la falta de datos experimentales. Esta metodología puede también evaluar la participación de sistemas enzimáticos que controlan estas transformaciones. Hasta donde se tiene conocimiento, la primera aplicación de esta metodología al estudio de transformaciones de sesquiterpenos la hicieron Khasenov y Turdybekov.²¹

Teoría de Funcionales de la Densidad

Uno de los métodos mecánico cuánticos más populares en estos días para estudiar problemas en química es la teoría de funcionales de la densidad (TFD), sólo en el 2008 se publicaron alrededor de 10,000 trabajos que utilizaron esta teoría. El porqué de esto, es una pregunta más o menos sencilla de responder, la TFD es la metodología que tiene mejor relación precisión-costo computacional. A diferencia de la mayoría de los métodos en química cuántica la TFD plantea utilizar como descriptor absoluto de un sistema químico a la densidad electrónica en lugar de utilizar a la función de onda. La densidad electrónica tiene la ventaja de que es una propiedad *observable*, por lo que es mucho más fácil de comprender que la función de onda que no es un *observable*. Hay que aclarar, que si bien lo anterior es la filosofía de la TFD, prácticamente todos los métodos que están dentro del marco de esta teoría utilizan a la función de onda como punto de partida para obtener a la densidad electrónica.

Hohenberg y Kohn demostraron que la densidad electrónica determina de forma univaluada al operador hamiltoniano y por lo tanto, todas las propiedades del sistema. Además, plantearon que la energía del sistema (E_0) se puede separar en una parte que

depende del sistema y otra parte que es universal, ya que no depende ni del número de electrones, ni del radio atómico ó del número atómico.^{22,23} A esta última parte se le llamó funcional universal $F[\rho]$.

$$E_o[\rho] = E_{Ne}[\rho] + F[\rho]$$

$$F[\rho] = T[\rho] + E_{ee}[\rho]$$

Donde $E_{Ne}[\rho]$ es la energía de interacción núcleo-electrón, $E_{ee}[\rho]$ es la energía de interacción electrón-electrón y $T[\rho]$ es la energía cinética. La $E_{Ne}[\rho]$ se conoce de forma exacta, por lo que si se conociera la forma exacta de $F[\rho]$ se podría conocer la energía exacta para cualquier sistema. Desafortunadamente, no se conoce la forma exacta de $F[\rho]$.

La forma de aproximar el término $F[\rho]$ la propusieron Kohn y Sham.^{22,23} En primer lugar separan $E_{ee}[\rho]$ en una parte clásica $J[\rho]$, de la cual se sabe la solución, y una no clásica. En segundo lugar, para calcular $T[\rho]$, definen un sistema de referencia no interactuante. Dicho sistema se puede resolver utilizando el determinante de Slater, ya que se puede demostrar que los determinantes de Slater son la función de onda exacta para fermiones no interactuantes. A diferencia de Hartree-Fock, Kohn-Sham no supone que el determinante de Slater es la función de onda, sino que éste determina la energía de un sistema de electrones no interactuantes ($T_{ni}[\rho]$). Por último, la diferencia entre ($T[\rho]$) y ($T_{ni}[\rho]$), la corrección de auto interacción, y todos los términos no clásicos de $E_{ee}[\rho]$ (el intercambio y la correlación) los introducen en un funcional llamado energía de intercambio y correlación (E_{xc}).

$$F[\rho] = T_{ni}[\rho] + J[\rho] + E_{xc}[\rho]$$

Ahora, lo único desconocido es E_{xc} y su correspondiente potencial V_{xc} . Por esto es que el objetivo principal en TFD es generar cada vez mejores aproximaciones para E_{xc} y V_{xc} .

Una de las formas de aproximar a E_{xc} es plantear un sistema hipotético como un gas de electrones uniforme, en el que los electrones se mueven en una distribución de carga positiva. A ésta se le llama aproximación de densidad local (LDA por sus siglas en inglés). Con este modelo se puede describir muy bien un metal ideal cuyos electrones de valencia

se mueven a través de una celda homogénea de núcleos positivos. Esta aproximación es muy útil en la física del estado sólido, en donde TFD tiene amplias aplicaciones.

El modelo anterior no es adecuado para sistemas en los que la distribución de carga de las moléculas no es homogénea. No fue sino hasta que aparecieron las aproximaciones de gradiente generalizado (GGA por sus siglas en inglés) que se difundió el uso de TFD ampliamente en química. A diferencia de LDA, en GGA la distribución de carga sí varía con la posición. Algunos funcionales de intercambio propuestos en esta aproximación son: B86 (Becke 1986), P (Perdew y Wang 1986), B (Becke 1988), PBE (Perdew, Burke y Ernzerhof 1996,1997), PW (Burke, Perdew y Wang 1998), entre otros. Entre los funcionales de correlación más empleados están: P86 (Perdew 1986), LYP (Lee, Yang y Parr 1988), PW91 (Perdew y Wang 1992).²²

La última aproximación en aparecer en el marco de la TFD es la llamada meta-GGA. Los funcionales propuestos bajo esta aproximación incluyen dos variables no consideradas en las anteriores aproximaciones, el laplaciano de la densidad ($\nabla^2\rho$) y la densidad de energía cinética:

$$\tau_{\sigma} \square \frac{1}{2} \sum_i^{\text{ocupados}} |\nabla\Psi_{i\sigma}|^2$$

Algunos de estos funcionales son; el VSXC, el HCTH, el TPSS, el M06-L, entre otros.^{22,24}

Uno de los principales problemas con la TFD es que todos los funcionales antes mencionados evalúan deficientemente las propiedades no locales, como la energía de intercambio. Para corregir esto aparecieron los métodos híbridos, los cuales utilizan el hecho de que la energía de intercambio de un determinante de Slater se puede calcular de forma exacta. Así,

$$E_{xc} \square E_x^{HF} \square a(E_{xc}^{DFT} - E_x^{HF})$$

El segundo término del miembro de la derecha es el término que completa a la energía de intercambio de Hartree-Fock (E_x^{HF}), donde a es un coeficiente de ajuste empírico. Siguiendo con esta misma idea, se han planteado varios funcionales híbridos, como son los

GGA: B3PW91, B3LYP, PW1PW91 y los meta-GGA: B1B95, mPW1B95, BMK, M06, entre otros.^{22,24}

Superficie de Energía Potencial

En química la superficie de energía potencial (SEP) es la energía de una molécula representada como una hipersuperficie que tiene como variables a las posiciones de los átomos en el espacio. El estudio de la SEP es muy importante en química computacional, ya que sobre esta superficie se encuentran las posiciones de los átomos de una molécula que minimizan la energía, que no es más que la geometría de equilibrio. A través de una búsqueda en la SEP se pueden encontrar la geometría de un estado de transición (ET) que se encuentra en un trayecto sobre la SEP que une a dos geometrías de equilibrio.

El concepto de SEP surge al utilizar la aproximación de Born-Oppenheimer. En esta aproximación se postula que debido a que los núcleos en los átomos son mucho más grandes que los electrones, los primeros permanecerán quietos en la escala de tiempo que se mueven los segundos, por lo que al moverse el núcleo de un átomo la densidad electrónica alrededor de éste se redistribuirá instantáneamente. Lo anterior permite plantear para cada estado electrónico no degenerado un Hamiltoniano electrónico independiente del tiempo, con lo que la energía de una molécula dependerá exclusivamente de los grados de libertad que tengan los núcleos. Debido a que para cada estado electrónico existe una SEP la aproximación de Born-Oppenheimer será una buena aproximación siempre y cuando las distintas SEP no se acerquen demasiado o se crucen.

En general la totalidad de la SEP no se puede visualizar, ya que esta superficie está en un espacio de $N+1$ dimensiones, donde N son los grados de libertad de los núcleos de una molécula. Lo que normalmente se hace para visualizar la SEP es sólo graficar dos de los grados de libertad y la energía, con lo que la SEP asemeja a un paisaje montañoso (Figura 2.2). Los valles (mínimos) son las estructuras de equilibrio de una molécula. El trayecto de mínima energía entre dos valles es a lo que se conoce como coordenada de reacción. En

este trayecto el punto de máxima energía se le conoce como punto de silla y corresponde con la geometría del ET. Siguiendo una trayectoria de reacción la diferencia de energía entre un valle y otro, permite conocer la energía de reacción y la diferencia entre un valle y un punto de silla, se asocia con la energía de activación de la reacción. La forma del valle permite calcular el espectro vibracional.^{25,26}

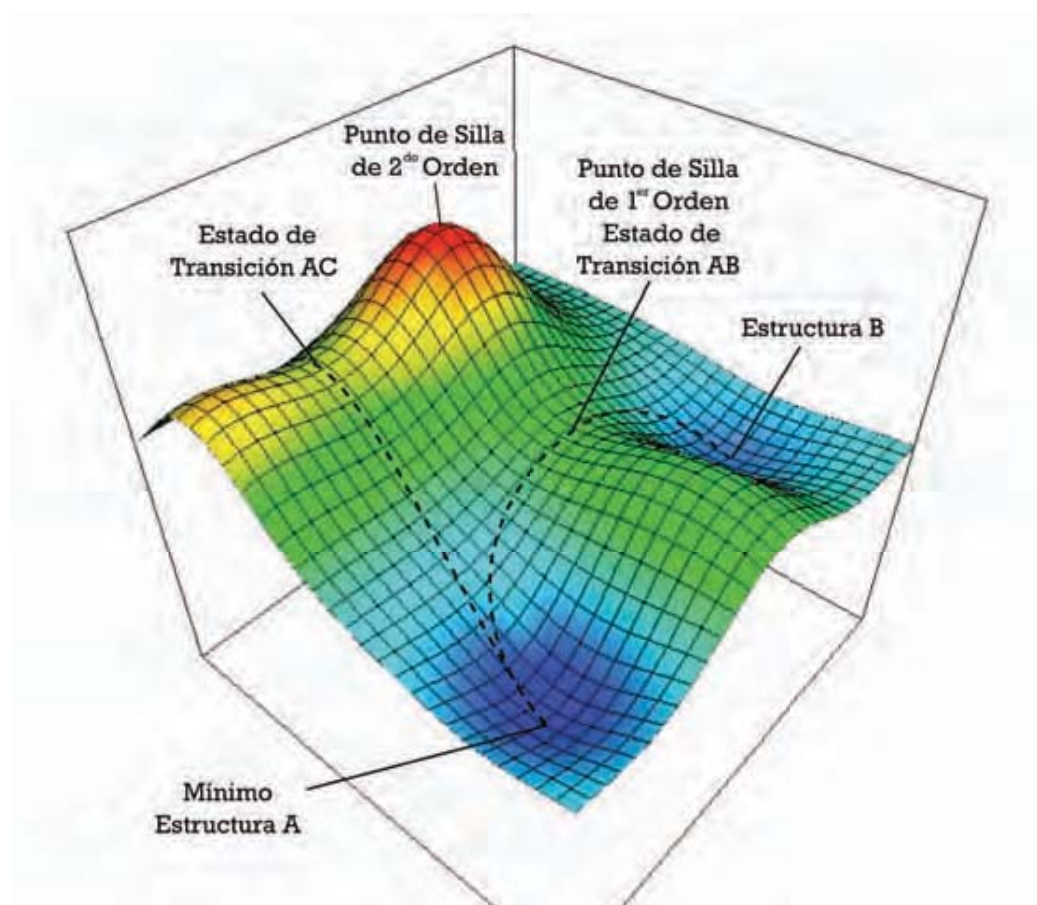


Figura 2.2 Superficie de energía potencial y puntos estacionarios.

La SEP aporta elementos clave para estudiar una determinada reacción química. La coordenada de reacción muestra paso a paso como una molécula se transforma de reactivos a productos. En general, los mecanismos de reacción son un conjunto de reacciones elementales, con un solo ET. Conociendo la SEP se puede saber cuantos ET, o lo que es lo

mismo, cuantas reacciones elementales involucra un determinado mecanismo, así como también, saber las características de cada una de estas reacciones elementales. Por ejemplo, en una reacción elemental de sustitución hay un enlace que se rompe y uno que se forma, la SEP permite saber si la formación del enlace sucede al mismo tiempo que la ruptura del otro enlace (sincrónicamente) o si ambos procesos suceden en tiempos distintos (asincrónicamente). Cuando dos procesos ocurren en una sola reacción elemental, como en el ejemplo anterior, se dice que la reacción es concertada.

El que la SEP permita estudiar las reacciones, no quiere decir que las reacciones sean gobernadas exclusivamente por la energía potencial de una sola molécula, de hecho las reacciones están gobernadas por la energía libre de un conjunto de moléculas y la energía potencial de cada molécula es sólo una parte de esta energía. Entonces, la SEP se tiene que entender como la superficie sobre la cual van a reposar el conjunto de moléculas y que dependiendo de la energía libre será el tamaño de la distribución de energías de las moléculas. Lo anterior quiere decir que una molécula no tiene por qué moverse en la SEP y que esta podrá estar muy por encima de la SEP si la energía libre de las moléculas así lo permite.

Teoría del Estado de Transición

Para comparar de forma rigurosa y cuantitativa los resultados de un experimento con la SEP se necesita conocer una gran cantidad de puntos de la SEP alrededor de toda la coordenada de reacción y calcular un número significativo de trayectorias con esta SEP que se promediarán para obtener una constante de rapidez de reacción (k) comparable con la medida experimentalmente. Esto resulta computacionalmente impráctico incluso para moléculas medianas. La teoría que se usa con más frecuencia para simplificar este problema es la teoría del estado de transición (TET).

En 1930, el mexicano Henry Eyring planteó la TET. Con esta teoría sólo se necesita conocer la SEP en las regiones de los mínimos y el máximo en una coordenada de reacción.

La teoría postula que todas las moléculas de reactivos que alcancen la energía del ET se convertirán en productos. Entonces, el ET estará en equilibrio con los reactivos pero reaccionará irreversiblemente hacia los productos (Figura 2.3).

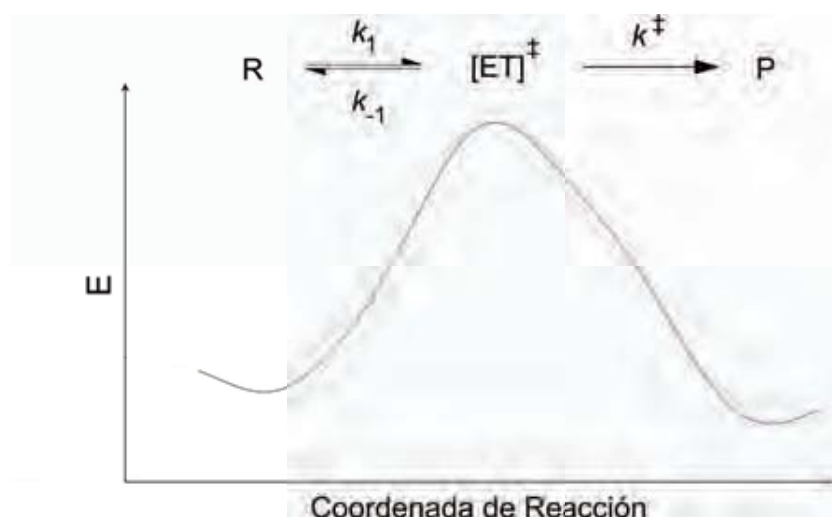


Figura 2.3 Postulado fundamental de la teoría de Eyring.

El ET es un máximo en una de las coordenadas de la SEP y un mínimo en todas las demás, por lo que las frecuencias vibracionales de un ET serán todas positivas, a excepción de una que será imaginaria. La TET considera a la parte real de esta frecuencia imaginaria (ω^\ddagger) como la constante real inversa del tiempo, asociada al movimiento en la coordenada de reacción, por lo que $k^\ddagger = \omega^\ddagger$. Considerando todo lo anterior se puede plantear la ecuación canónica de la TET²²

$$k \square \frac{k_B T}{h} \frac{Q^\ddagger}{Q_R} e^{-(U_{\ddagger,0} - U_{R,0})/k_B T}$$

Donde Q_R es la función de partición de los reactivos, Q^\ddagger es la función de partición reducida del ET, k_B es la constante de Boltzman, h es la constante de Plank y U es la energía. Rearreglando la ecuación anterior se tiene que

$$k \square \frac{k_B T}{h} e^{-\Delta H^\ddagger / RT} e^{\Delta S^\ddagger / RT}$$

Esta expresión es comparable con la expresión empírica de Arrhenius que se utiliza para calcular k experimentalmente:

$$k \approx Ae^{-E_a/RT}$$

por lo que,

$$E_a \approx \Delta H^{\ddagger} \approx RT$$

$$A \approx \frac{k_B T}{h} e^{(\Delta S^{\ddagger}/R)}$$

Todo lo anterior son los aspectos básicos que permiten abordar el estudio del mecanismo de reacción con bases físicas, por lo que a continuación se aborda la biogénesis terminal de algunos terpenoides de interés fundamental para entender el funcionamiento de la maquinaria enzimática celular.

3. Objetivos

Objetivo General

Modelar por métodos computacionales algunas de las etapas de transformación de los productos naturales pertenecientes al grupo de los sesquiterpenos, con la finalidad de contribuir al conocimiento de los mecanismos de reacción involucrados.

Objetivos Específicos

Modelar computacionalmente la transformación biogenética de las germacranólidas en pseudoguayanólidas para elucidar la naturaleza del mecanismo de dicha transformación.

Estudiar el equilibrio conformacional de la 6-epidesacetillaurenobiólida a través de resonancia magnética nuclear y métodos computacionales, con el fin de entender las características que hacen más estable a un conformero en relación a otro y como influye esto en la biogénesis de los compuestos derivados de los germacranos.

Modelar computacionalmente la transformación biogenética de las (*Z,E*) y (*E,E*) germacranólidas en elemanólidas para entender cuáles son los factores estructurales y como es que estos factores limitan esta transformación.

Elucidar el mecanismo de la transformación biogenética del humuleno en ácido terrecíclico y compuestos relacionados. Además de aportar elementos para entender los equilibrios conformacionales del catión humilo.

4. Estudio del Mecanismo de Reacción de la Biogénesis Terminal de la 8-Epiconfertina

Antecedentes

Germacranos

Los germacranos son sesquiterpenos monocíclicos de 10 miembros, los cuales son precursores de muchos otros sesquiterpenos. Este hecho hace que tengan un papel central en la biosíntesis de sesquiterpenos por lo que hay un gran interés en estudiarlos.^{7,27,28} La mayoría de los germacranos tienen una configuración C1-*E*, C4-*E* (Figura 4.1), los cuales se conocen como (*E,E*)-germacranos (**1**), pero en la naturaleza también existen con configuración C1-*E*, C4-*Z* (*E,Z*)-germacranos, (**2**), C1-*Z*, C4-*E* (*Z,E*)-germacranos, (**3**) y C1-*Z*, C4-*Z* (*Z,Z*)-germacranos, (**4**).

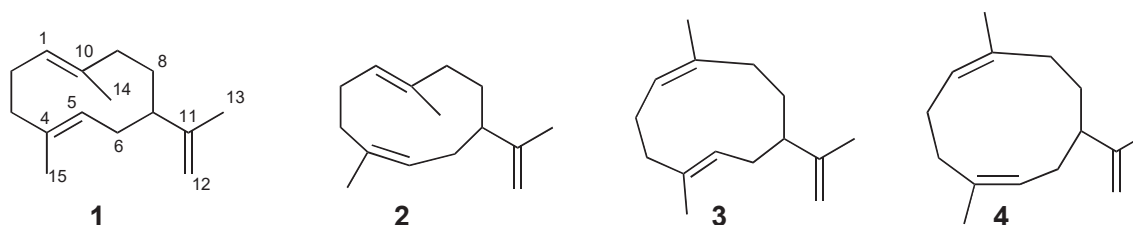
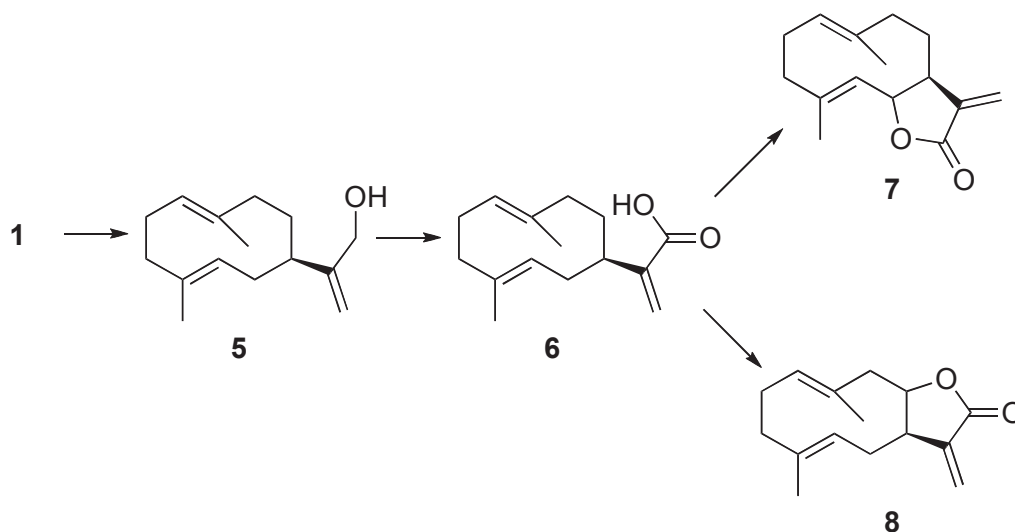


Figura 4.1 Distintas configuraciones de los germacranos.

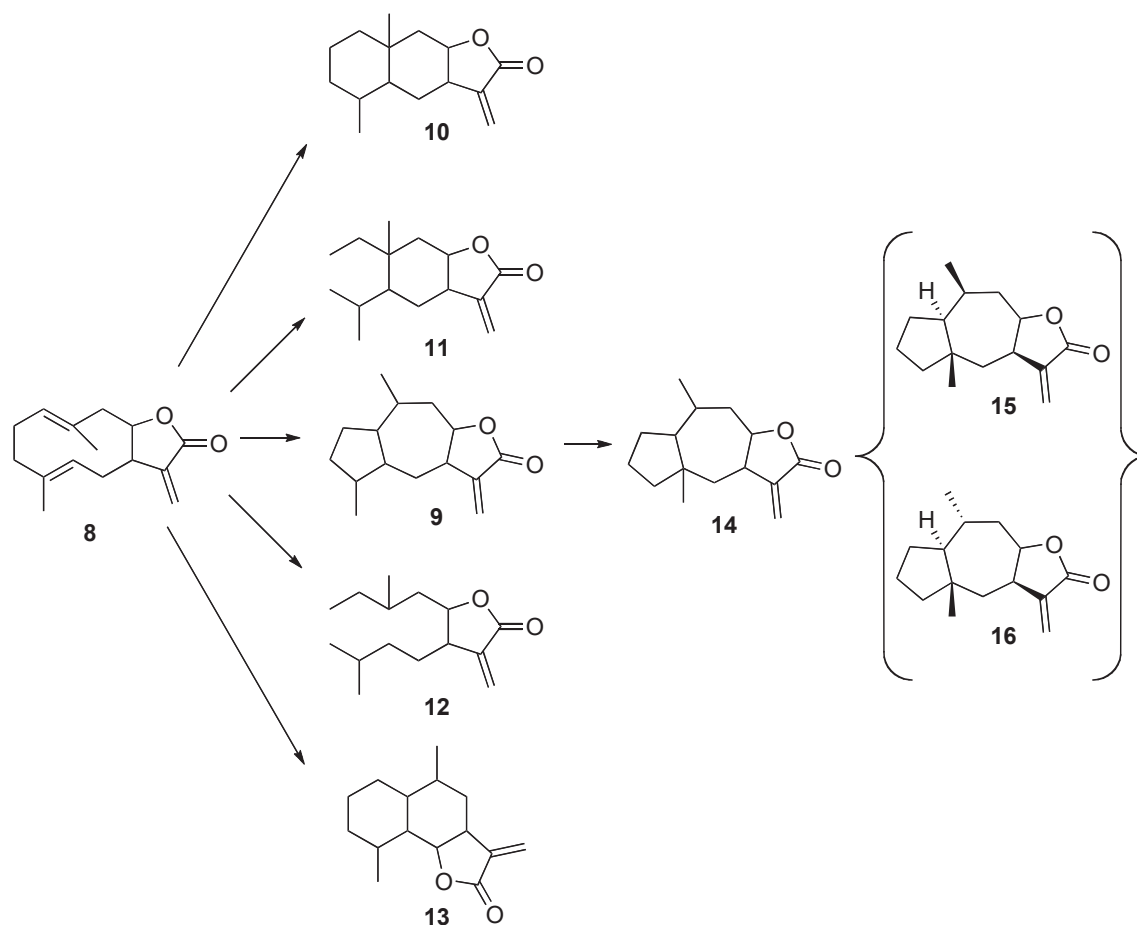
En la naturaleza, una gran cantidad de germacranos poseen un grupo lactona de 5 miembros en C7 y éste se cicliza hacia C6 o hacia C8 (Esquema 4.1). A este grupo de germacranos se les conoce como germacranólidas. Se ha propuesto que el anillo de lactona se forma al oxidarse el enlace doble en C12 del germacrano y que posteriormente hay una reducción para formar un alcohol alílico (**5**), que se vuelve a oxidar para formar el ácido carboxílico (**6**) y es éste el que se lactoniza en C6 o C8 (**7** y **8**, respectivamente).⁷



Esquema 4.1 Ruta biogénica para la formación del anillo de lactona.

En un segundo paso biogénico en la transformación de sesquiterpenos, los germacranólidas se transforman en guayanólidas (9), eudesmanólidas (10), elemanólidas (11), seco-germacranólidas (12) o cadinanólidas (13) (Esquema 4.2).^{2,7,29} Se ha propuesto que las guayanólidas se producen a través de un ataque electrofílico del enlace doble C1-C10 al C5 o del enlace doble C4-C5 al C1. Las pseudoguayanólidas (14) se forman en un tercer paso biogénico a partir de las guayanólidas a través de la migración del metilo de la posición C4 a la C5.^{7,8} Al ciclarse las germacranólidas en guayanólidas la fusión puede ser *cis* o *trans*, lo que genera que se forme uno u otro epímero en la posición 10 dependiendo del tipo de fusión. En la naturaleza se encuentran ambos tipos de productos, cuando el grupo metilo en C10 adopta una posición β es una lactona del tipo de las ambrosanólidas (15). Por el contrario, si el metilo adopta una posición α , lo que se tiene es una lactona del tipo de las helenanólidas (16). La estereoquímica absoluta del centro estereogénico al que se encuentra unido el grupo metilo es *S* para las ambrosanólidas, mientras que es *R* para las helenanólidas. Existen dos hipótesis biogénicas de como es que se forman ambos epímeros en la naturaleza. La primera fue propuesta por Parker *et al.*,³⁰ en esta se plantea que las ambrosanólidas provienen de germacradienos con configuración 1-*E*, 4-*E* mientras que las helenanólidas se forman a partir de germacranólidas con configuración *Z* en el enlace doble C1-C10 (melampólida). La otra propuesta fue planteada por Fischer,^{8,29} y

establece que son dos distintos conformémeros de la misma (*E,E*)-germacranólida los que producen a los dos epímeros. En lo que respecta al cierre del anillo, Hendrickson propuso que la formación de los anillos fusionados de 5 y 7 miembros debía ocurrir de forma concertada.³¹ Hasta ahora no se ha establecido cual de estas hipótesis es verdadera.

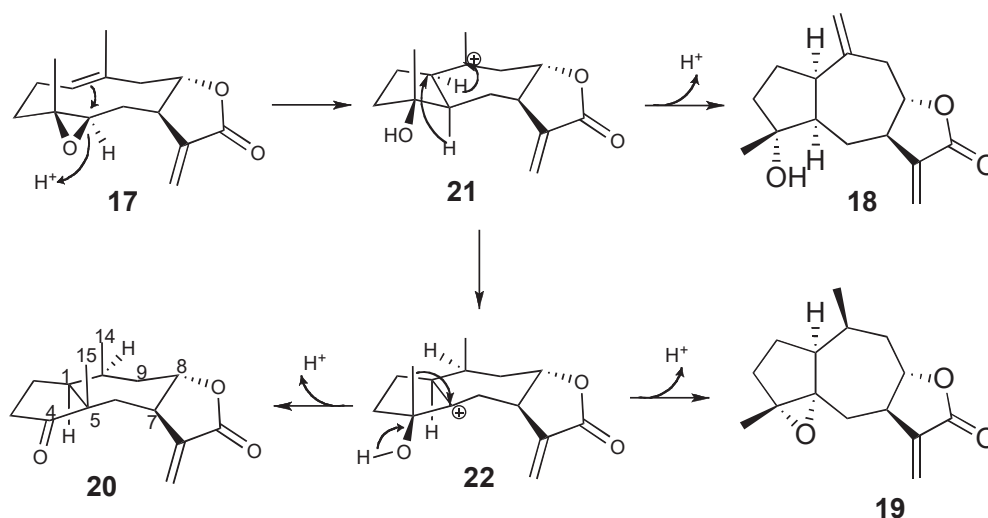


Esquema 4.2 Ruta biogénica de pseudoguayanólidas a partir de germacranólidas.

La transformación de 4,5-epoxigermacranólidas en guayanólidas, utilizando para la ciclización ácidos de Lewis, es relativamente fácil.³²⁻³⁶ Sin embargo, la transformación biomimética desde germacranólidas hasta pseudoguayanólidas es muy difícil.³⁷ El primer experimento exitoso de dicha transformación fue realizado por Ortega y Maldonado,³⁸ en éste fue posible transformar la $4\alpha,5\beta$ -epoxiununólida (Esquema 4.3, **17**), aislada de la *Stevia tephrophylla*, en inuiscólida (**18**), $4\alpha,5\alpha$ -epoxi- $10\alpha,14H$ -inuiscólida (**19**) y en la

pseudoguayanólida 8-epiconfertina (**20**), usando como catalizador una tierra bentonítica de carácter ácido. Si se asume que la conformación de **17** es similar a la conformación de la laurenobiólida,³⁹ la cual tiene a ambos metilos en disposición β (arriba del plano del ciclodecadieno) y al enlace doble y al epóxido con orientación cruzada, (según la nomenclatura de Samek,⁴⁰ éste confórmero se denominaría $^{15}D_{5,1}D^{14}$) la estereoquímica del producto de ciclización sería *S*.

Apoyados en las estructuras de los productos aislados, Ortega y Maldonado⁴¹ propusieron un mecanismo de reacción (Esquema 4.3). En este mecanismo se propone que en el primer paso hay una ciclización del confórmero $^{15}D_{5,1}D^{14}$ de **17** que produce al carbocatión con fusión *cis* **21**, que a su vez produce al compuesto **18** si el grupo metilo participa en una reacción de eliminación; **18** es el producto principal cuando se usa un ácido de Lewis o uno de Brønsted. Después de dos migraciones de hidrógeno consecutivas, el carbocatión **21** se convierte al catión **22**, el cual a través de un ataque electrofílico intramolecular produce el epóxido **19**. Finalmente, el carbocatión **22** sufre una transposición guiada por la formación del grupo carbonilo que produce la migración del grupo metilo. Ortega y Maldonado no mencionan a ningún otro carbocatión intermediario, ya que no tienen pruebas de la existencia de ningún otro. Contraria a esta propuesta biogénica, Herz^{42,43} propuso que la transformación de las germacranólidas en pseudoguayanólidas ocurre de manera concertada, esto significa que la transformación del alcohol en cetona y la concomitante migración del grupo metilo y la de los dos hidrógenos ocurre en un sólo paso sin la participación de intermediarios.



Esquema 4.3 Mecanismo propuesto por Ortega y Maldonado para la transformación de **17** en **20**.

Elección de un funcional de la densidad

El funcional de la densidad más utilizado es el B3LYP. Este funcional ha permitido calcular ET de carbocationes, energías de reacción y de activación para transferencia de hidrógenos.^{12,14,15,44-46} Sin embargo, se ha demostrado que este funcional tiene varias desventajas. Algunas de éstas son: la tendencia a subestimar las barreras de activación por alrededor de 4 kcal/mol,⁴⁷⁻⁴⁹ la incapacidad de describir complejos de van der Waals, como el dímero de metano,⁵⁰⁻⁵³ y que los resultados obtenidos para compuestos con metales de transición no son alentadores.⁵⁴ De hecho en sistemas similares a los descritos arriba, el funcional B3LYP falla en la descripción de epóxidos protonados^{55,56} y en la energía de ciclización de triterpenos.⁵⁷ Lamentablemente, a pesar de sus fallas bien documentadas, este funcional sigue siendo muy utilizado, ya sea por desconocimiento o por falta de interés por parte de la comunidad científica.

En fechas recientes se han generado una gran cantidad de funcionales que tratan de corregir las deficiencias que tiene el funcional B3LYP. Algunas de las estrategias que se han seguido para mejorar los funcionales son: satisfacción de condiciones límite (ser exacto

para un gas uniforme de electrones, estar libre de auto-correlación para un electrón, comportamiento asintótico, etc.), modelado del hueco de intercambio-correlación, ajustes empíricos y mezclado de intercambio de HF y de TFD. Algunos de estos nuevos funcionales incluyen formalmente la densidad de energía cinética, que corrige en gran medida el error por auto-interacción, este error es la causa principal de que los funcionales subestimen las energías de activación.⁵⁸ Algunos estudios recientes han demostrado que los funcionales GGA híbridos B97-2, B98, mPW1PW91 y los funcionales meta-GGA híbridos B1B95, mPW1B95, BMK, M06-2X, por mencionar algunos, producen datos más precisos que los obtenidos con el funcional B3LYP.^{24,49,59} Queda claro entonces que dentro del marco de la TFD hay una gran cantidad de funcionales que muestran mejor desempeño que el muy socorrido B3LYP, como se demostrará aquí.

Condiciones de cálculo

Todos los cálculos químico cuánticos se realizaron con Gaussian 03.⁶⁰ Todas las geometrías fueron optimizadas sin restricciones usando los métodos híbridos de TFD B3LYP,⁶¹ B97-2,⁶² B1B95⁶³ y mPW1B95⁶⁴ y el método de teoría de perturbaciones MP2.⁶⁵⁻⁶⁷ Para la optimización y el cálculo de frecuencias se utilizó el conjunto de bases con funciones polarizadas y difusas 6-31+G(d,p). Todas las energías están corregidas por la energía de punto cero y no están escaladas para efectos de comparación. Se utilizó el conjunto de bases 6-31+G(d,p), ya que se ha demostrado que el uso de funciones difusas es más importante que incrementar a tres ζ las bases de valencia cuando se calculan energías de reacción y de activación con TFD.⁶⁸ Se compararon las energías y las geometrías de los ET calculados con la TFD con los obtenidos por el método MP2 para averiguar si los nuevos funcionales corrigen en la dirección correcta la energía de activación de sistemas grandes como los estudiados aquí. La comparación resulta útil, ya que se sabe que el método MP2 tiende a ser inexacto cuando evalúa la energía en la dirección contraria a la TFD. El análisis NBO se llevó a cabo con la versión 3.1 incluida en Gaussian 03.⁶⁹

Resultados y Análisis de Resultados

En principio, se determinó si el mecanismo propuesto por Ortega y Maldonado⁴¹ es energéticamente factible. En la Figura 4.2 se muestran las geometrías totalmente optimizadas a nivel mPW1B95/6-31+G(d,p) de los intermediarios y los ET para el mecanismo en el que se transforma el catión de la epoxiunólida protonada en el catión de la 8-epiconfertina protonada, la energía relativa de éstos a cinco distintos niveles de teoría está descrita en la Tabla 4.1. Como referencia, se usó el catión **23** en todos los casos. Al nivel mPW1B95/6-31+G(d,p) la distancia transanular entre C1 y C5 es 2.93 Å en el conformero silla-silla ¹⁵D_{5,1}D¹⁴. Después de la protonación del epóxido en el átomo de oxígeno, el siguiente paso que parece razonable es la ruptura del enlace C5-O, lo que dejaría como intermediario a un carbocatión clásico en C5. Todos los intentos por localizar este carbocatión en la SEP terminaron por convergir en **23** o en un intermediario donde la deficiencia de carga se encuentra en C10 (**24**). Lo anterior indica que la transformación de **23** a **24** ocurre en un solo paso. Por tal motivo, se buscó en la SEP al ET que uniera a estos dos mínimos, el cual se muestra en la Figura 4.2 como **ET23-24**.

Tabla 4.1 Energías relativas a **23** (kcal/mol).

catión	B3LYP		B97-2		B1B95		mPWB95		MP2	
	ΔE	ΔE+ZPE	ΔE	ΔE+ZPE	ΔE	ΔE+ZPE	ΔE	ΔE+ZPE	ΔE	ΔE+ZPE
23	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
ET23-24	0.79	0.52	1.34	0.94	1.71	1.02	1.83	1.00	4.06	1.76
24	-14.62	-14.15	-16.49	-16.11	-16.05	-16.28	-16.26	-16.53	-16.50	-13.74
ET24-25	-	-	-	-	-12.63	-13.68	-12.84	-13.89	-15.97	-10.05
25	-	-	-	-	-12.69	-13.85	-12.99	-14.14	-	-
ET25-29	-9.64	-11.04	-12.96	-14.22	-12.50	-14.18	-12.82	-14.54	-	-
29	-19.40	-19.66	-22.04	-22.35	-21.39	-21.93	-21.77	-22.32	-25.80	-19.19
ET29-30	-14.56	-15.91	-18.27	-19.60	-18.06	-19.79	-18.42	-20.21	-20.83	-18.13
30	-18.80	-19.52	-21.47	-22.09	-21.26	-22.29	-21.66	-22.79	-24.83	-18.60
ET30-32	-13.56	-12.99	-16.83	-16.34	-18.63	-18.38	-19.07	-18.92	-16.82	-16.45
32	-27.91	-25.92	-31.03	-29.13	-32.08	-30.29	-32.62	-30.89	-34.50	-29.47

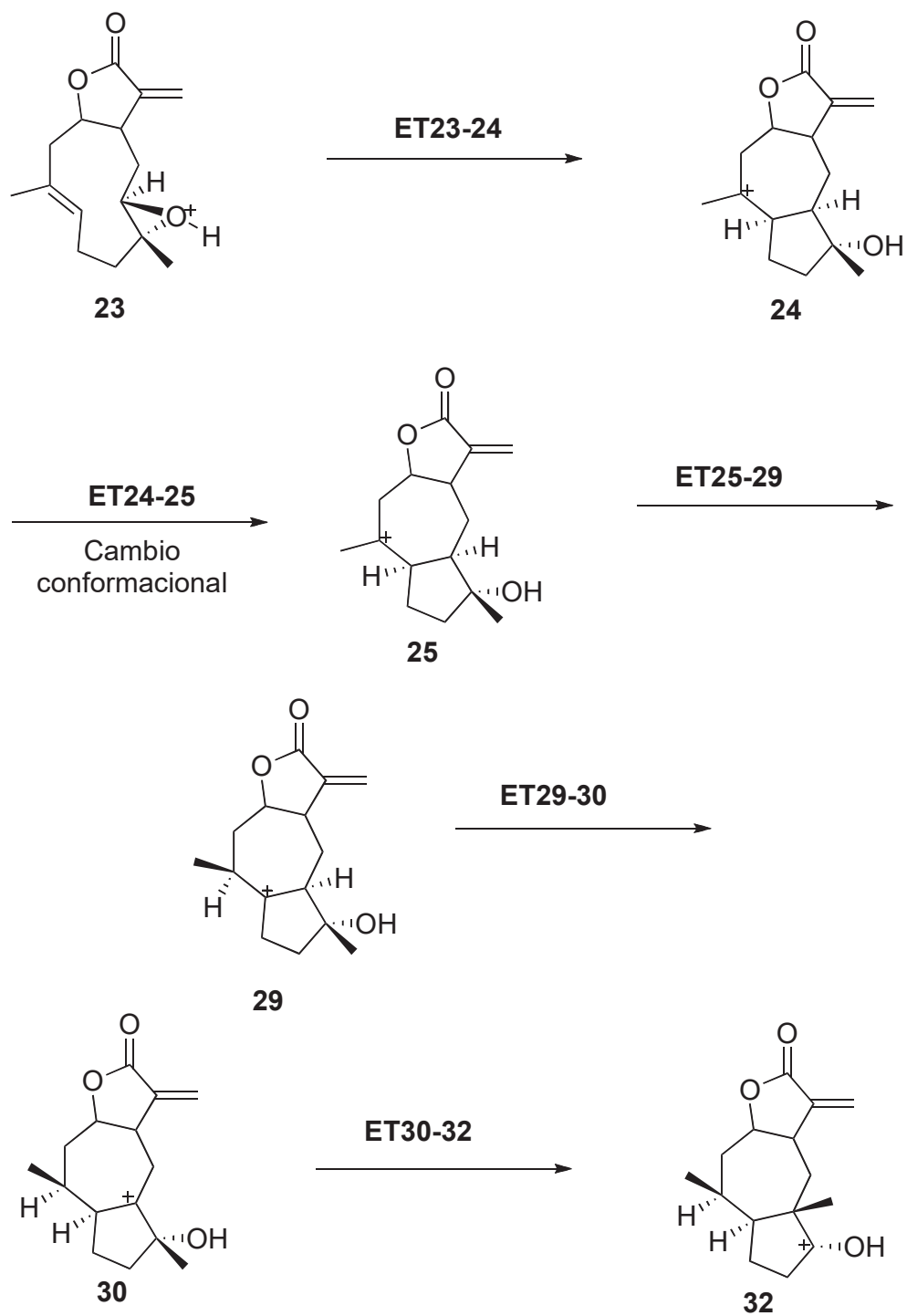


Figura 4.2a Estructuras simplificadas de la Figura 4.2b.

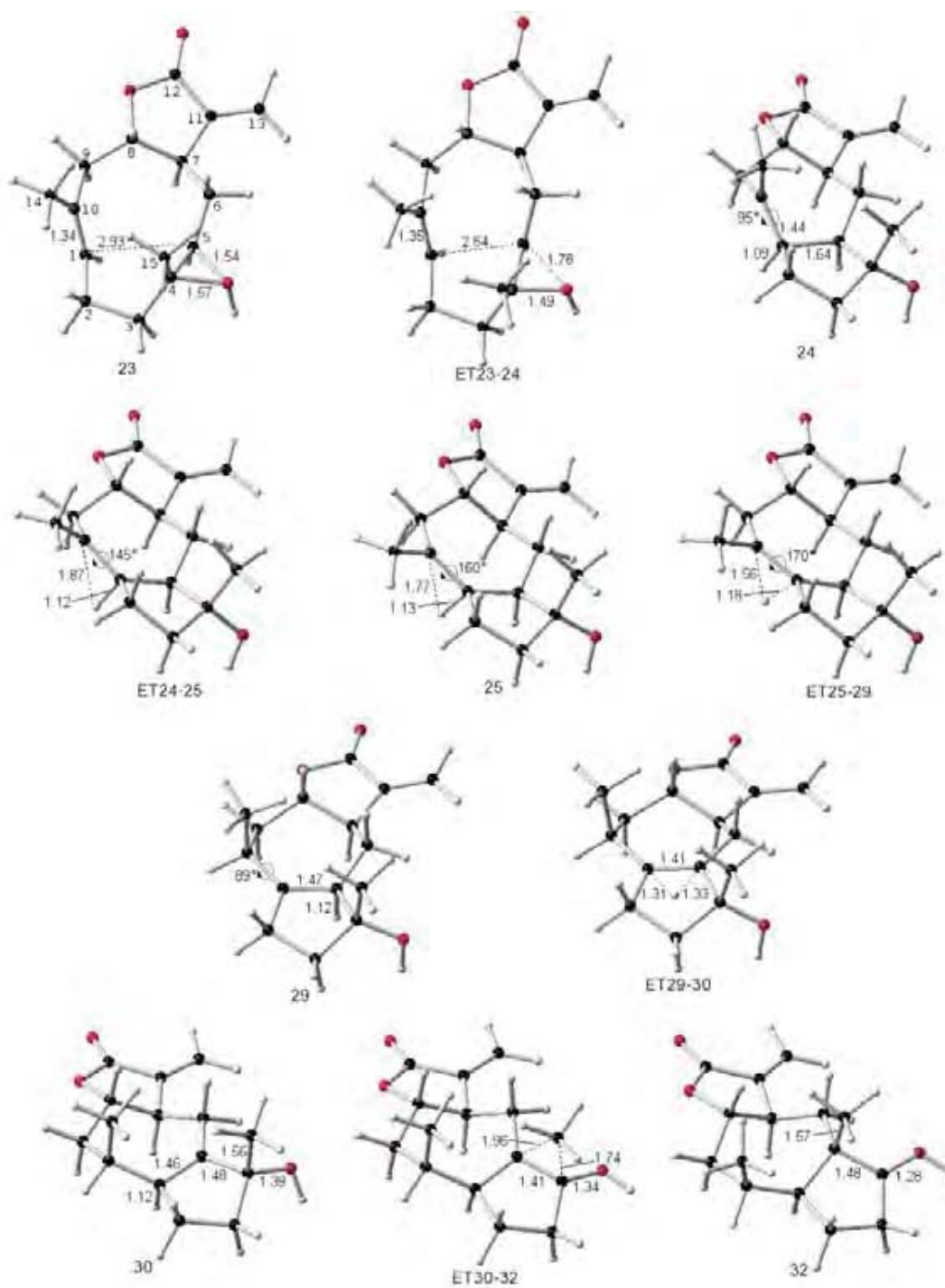


Figura 4.2b Estructuras de intermediarios de reacción y ET para la conversión del catión de la epoxiununólida **23** al catión de la 8-epiconfertina **32** al nivel mPW1B95/6-31+G(d,p). Las distancias están en Å y el ángulo diedro C14-C10-C1-C5 en grados.

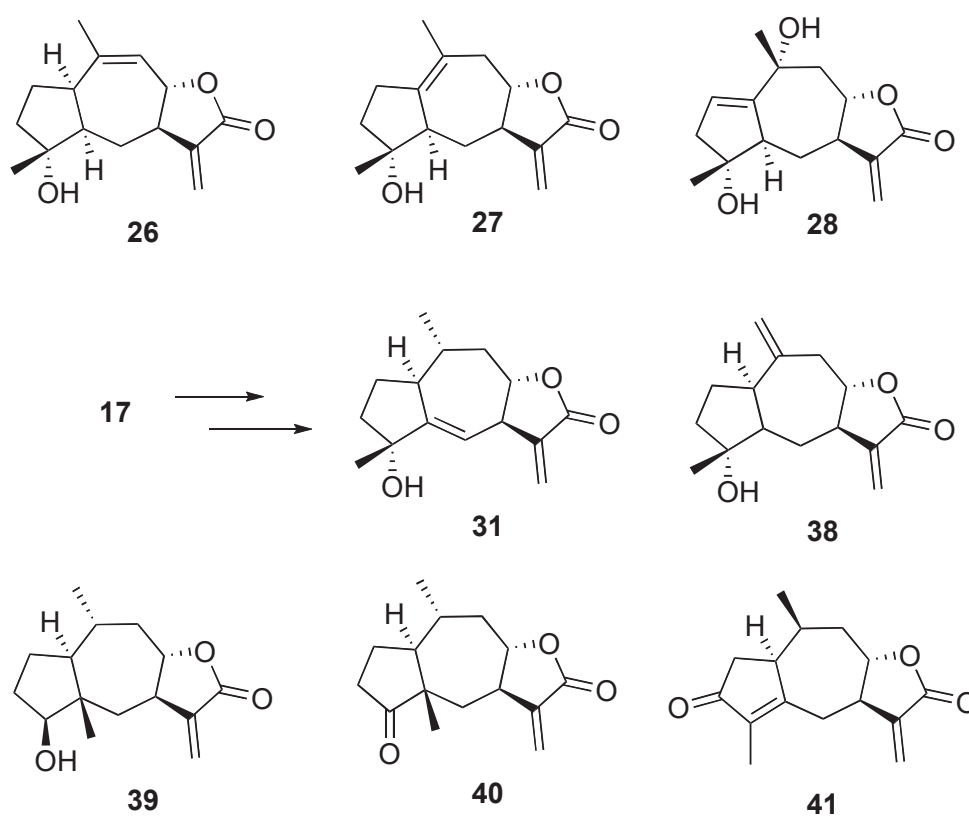
En **ET23-24** la distancia C1-C5 se acorta mientras que la distancia C5-O se incrementa, la distancia de la interacción transanular va desde 2.93 Å en **23** a 2.64 Å en **ET23-24** y termina formando un enlace C-C de 1.64 Å en **24**. Este paso elemental pasa a través de **ET23-24** que es un ET muy deslocalizado. La energía de activación para este paso es muy pequeña, a pesar de que ocurren una gran cantidad de cambios en la estructura de los cationes involucrados. La energía relativa de este ET a nivel MP2 es la más alta y a nivel B3LYP es la más baja. Los otros 3 funcionales en evaluación aquí predicen energías relativas que caen entre estos dos valores.

El siguiente paso en la transformación, es la transferencia de hidrógeno [1,2]. Se puede advertir de inmediato que el intermediario **24** no tiene la conformación adecuada para esta transferencia. En este intermediario el plano que forman C1-C10-C14 es paralelo al enlace C-H que es el que se debe transferir. Esta transferencia tiene un requerimiento estereoelectrónico por lo que se necesita que el enlace C-H sea perpendicular a este plano. Recientemente se describió que el análisis conformacional requiere que se considere al proceso conformacional como una secuencia de pasos conformacionales elementales.^{70,71} Luego entonces, es necesario establecer como es que los mínimos en la SEP están interconectados a través de un ET. En la Figura 4.2 se muestra como es que el catión **24** se transforma en el confórmero **25** a través del estado estacionario **ET24-25**. En este ET el ángulo diedro C14-C10-C1-C5 alcanza el valor de 145° (a nivel mPW1B95). El catión **ET24-25** se estabiliza por la hiperconjugación de tres enlaces, dos σ_{C-C} con los enlaces C1-C5 y C8-C9 y una σ_{C-H} con uno de los enlaces C-H del metilo.⁷² Al nivel mPW1B95/6-31+G(d,p) la distancia C1-C5 es 1.64 Å, la C8-C9 es 1.55 Å y la C15-H es 1.10 Å, la cual es más larga que las otras distancias C15-H. A este mismo nivel, el análisis NBO de estas interacciones $\sigma \rightarrow \pi$ establece valores de 25.4, 13.4 y 15.8 kcal/mol, respectivamente para cada interacción.

En el catión **25** (Figura 4.2), que es el producto del cambio conformacional, hay tres enlaces C-H que se hiperconjugan con el orbital π vacío para estabilizar al catión. La distancia de C1-H es 1.13 Å, la del C9-H es 1.10 Å y la de C15-H es 1.10 Å, esto coincide

con las energías de estabilización calculadas con el análisis NBO al nivel mPW1B95, las cuales son 54.8, 14.8 y 18.0 kcal/mol, respectivamente.

Si sucediera una reacción de eliminación en **25**, se produciría alguna de las tres olefinas posibles. En el caso en estudio, la olefina **18** (Esquema 4.3) se genera a partir de la pérdida de un átomo de hidrógeno del grupo metilo. Para las otras dos rutas de eliminación también se han reportado compuestos, en la Esquema 4.4 se muestra a la lactona **26**, aislada de *Postia bombycina*⁷³ y al sesquiterpeno **27**, aislado de *Helichrysum dasyanthum*.⁷⁴ Cuando el catión **25** es atrapado por una molécula de agua, se pueden formar compuestos similares a **28**, aislado de *Inula thapsoides*.⁷⁵



Esquema 4.4 Guayanólidas y pseudoguayanólidas aisladas de fuentes naturales cuyo origen biogénico puede ser un catión del tipo del intermediario **17**.

El cambio conformacional intercambia los enlaces que estabilizan por hiperconjugación al carbocatión.⁷⁶ Dos enlaces C-C son intercambiados por dos enlaces C-H, los cuales de acuerdo al análisis NBO son más eficientes en la estabilización del catión. Entonces, ¿cuál es la razón de que **24** sea más estable que **25**? De acuerdo al análisis NBO el átomo C10 de **25** tiene una hibridación sp^2 , pero el ángulo de enlace C1-C9-C10 es 125.9° . En contraste, para **24** este mismo ángulo mide 120.1° , siendo que la hibridación para C10 es, al igual que en el caso de **25**, sp^2 . Esto mismo sucede de forma más notoria en el caso del C1, ya que el ángulo C10-C1-C5 en **24** es 107.2° y en **25** es de 128.4° a pesar de que según NBO la hibridación de C1 es ligeramente superior a sp^2 . El porque de la menor estabilidad de **25** estriba en que éste pierde mucha energía por tensión angular, lo que invierte la tendencia debida a la hiperconjugación.

Una vez que se tiene la conformación adecuada, se produce la transferencia de hidrógeno a través de ET **ET25-29** (Figura 4.2), en el cual el hidrógeno a transferirse está a una distancia de 1.18 \AA del C1 y a 1.56 \AA del C10 (al nivel mPW1B95). La migración ocurre de forma concertada, pero no sincrónica, con el ajuste del ángulo diedro C14-C10-C1-C5, el cual pasa de 170° en **ET25-29** a 89° en **29**. Las cargas naturales del hidrógeno que migra son 0.32, 0.42 y 0.31 para **25**, **ET25-29** y **29**, respectivamente. Mientras que para C1 son -0.38 , -0.25 y 0.51 y para C10 son 0.48, 0.32 y -0.38 para los compuestos **25**, **ET25-29** y **29**, respectivamente (al nivel mPW1B95/6-31+G(d,p)). De aquí que se concluya que la carga positiva en el ET esté principalmente distribuida sobre los dos átomos de carbono y no sobre el hidrógeno. Aparentemente el hidrógeno no migra como hidruro como normalmente se plantea en los libros de texto.⁷⁷ Es más, en el ET el hidrógeno se vuelve más positivo. Queda claro entonces que más que una migración de hidruro el ET se estabiliza por una interacción 3-centros-2-electrones. La estabilidad del catión **29** proviene de la hiperconjugación con un enlace σ_{C-C} y con dos enlaces σ_{C-H} .

Se encontró que el número de pasos elementales en la transformación de **24** en **29** depende en gran medida del método de cálculo utilizado. Al nivel mPW1B95 y al nivel B1B95 se encontraron dos ET. El primero corresponde al cambio conformacional (**ET24-25**) y el

segundo corresponde a la transferencia de hidrógeno (**ET25-29**). Sin embargo, al nivel B3LYP y B97-2 no se encontró el **ET24-25** y al nivel MP2, **ET25-29** no existe (Tabla 4.1). Inclusive, cuando se corrige la energía con la corrección de punto cero tanto al nivel mPW1B95 como al nivel B1B95 predicen que el intermediario **25** tiene una energía mayor que el estado de transición **ET25-29**.

En la trayectoria de reacción que describe la transformación del intermediario **24** en el intermediario **29** al nivel mPW1B95/6-31+G(d,p) (Figura 4.3) se localizan los estados estacionarios asociados a **ET24-25** y a **ET25-29**. Como era de esperarse, la distancia C1-H permanece prácticamente constante mientras sucede el cambio conformacional y sólo hasta que el segundo proceso comienza, la distancia C1-H sufre cambios importantes. Por otro lado, el perfil energético es completamente diferente al nivel B3LYP/6-31+G(d,p) (Figura 4.3). En el primer segmento de la trayectoria, suceden los cambios conformacionales y el enlace C1-H cambia muy poco, pero la energía aumenta hasta alcanzar una geometría parecida a **ET25-29** (**ET25'-29'**, Figura 4.4). Este es el punto máximo de energía en todo el segmento y una vez que se le alcanza, la energía disminuye hasta el mínimo que tiene esencialmente la misma geometría que **29**. El método B3LYP no es capaz de describir con los ET el proceso conformacional que sucede antes de la migración del átomo de hidrógeno, ya que como se había mencionado antes, en este método no existe un ET asociado al cambio conformacional. En la Figura 4.3, también se muestra la curva correspondiente al cálculo al nivel M05-2x/6-31+G(d,p),⁷⁸ ésta es similar a la obtenida al nivel mPW1B95, debido a que también separa el proceso conformacional de la migración. El último segmento de las curvas, describe el reajuste conformacional con un cambio muy pronunciado en el ángulo diedro C14-C10-C1-C2 y cambios pequeños en la distancia del enlace C1-H, una vez que la migración ha ocurrido. Como se había mencionado, al contrario de B3LYP, al nivel MP2 solo existe el ET asociado al cambio conformacional (**ET24''-25''**, Figura 4.4) y no existe ningún ET asociado a la migración del hidrógeno.

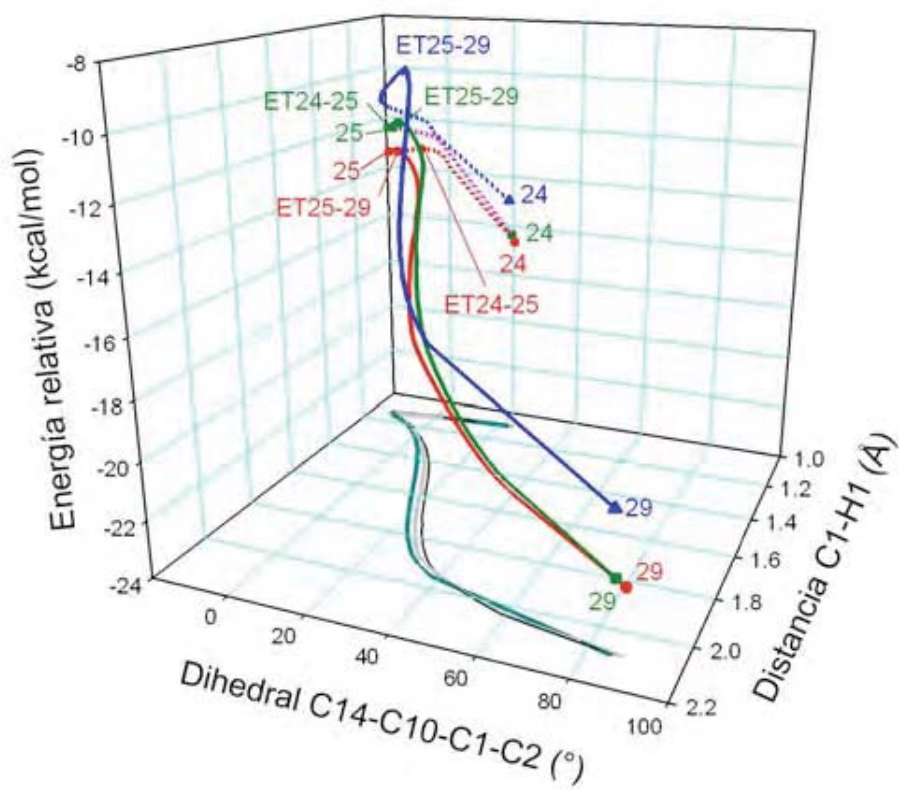


Figura 4.3 Coordenada de reacción para la transformación del catión **24** en el catión **29** con los funcionales mPW1B95 (rojo), B3LYP (azul) y M05-2x (verde). Proyección sobre el plano xy de la coordenada de reacción para los funcionales mPW1B95 (Gris claro), B3LYP (Gris oscuro) y M05-2x (negro).

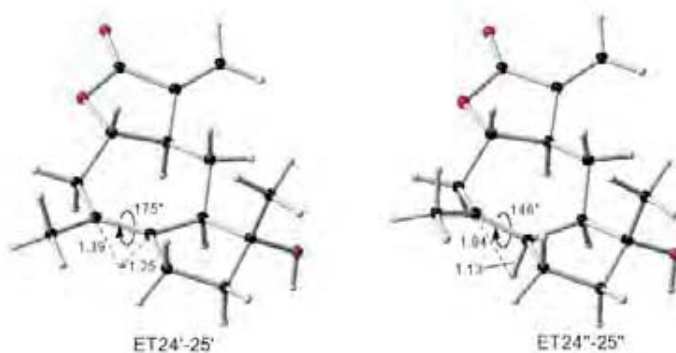


Figura 4.4 ET de la primera transferencia de hidrógeno a los niveles B3LYP y MP2.

Finalmente, la razón por la cual el perfil de la trayectoria de reacción del segmento **24** a **29** es tan sensible al nivel de teoría, es porque la SEP es muy plana en la región de los ET. Hay que señalar que el patrón geométrico de la reacción es común para todas las curvas. Esto muestra que el fenómeno físico es el mismo, pero los diferentes métodos de cálculo muestran distintos tipos de capacidades al describir el fenómeno. Las trayectorias del cambio en la geometría con el transcurso de la reacción para distintos funcionales se muestra en la Figura 4.3, éstas son prácticamente paralelas para los tres funcionales, incluso para B3LYP que podría tener una trayectoria distinta, ya que el perfil energético es muy distinto al de los otros dos funcionales. Esta trayectoria hipotética podría ser más corta o más directa para unir a los intermediarios **24** y **29** (Figura 4.5), debido a que en el caso de B3LYP sólo hay un ET. Por este motivo surge una nueva pregunta; ¿por qué las trayectorias son paralelas? A pesar de que los distintos métodos no localizan los mismos estados estacionarios, sí son capaces de reconocer el hecho de que el primer segmento de la reacción corresponde a un cambio conformacional, lo que alinea los orbitales hasta que los requerimientos estereoelectrónicos son satisfechos,⁷⁹ y que el segundo segmento del mecanismo corresponde a la transferencia del átomo de hidrógeno. Es evidente que el caso hipotético en el que la transferencia de hidrógeno ocurre al mismo tiempo que el cambio conformacional, debe ser descartado, porque éste requeriría una trayectoria que es completamente diferente a la calculada y presupone que la distancia del enlace C1-H cambiara al mismo tiempo que cambia el ángulo diedro C14-C10-C1-C2 (Figura 4.5).

Aunque el funcional B3LYP no encuentra estados estacionarios relacionados con el cambio conformacional, la trayectoria de reacción involucra a la alineación inicial de los orbitales. Si la alineación no fuera relevante como lo propone Tantillo,⁸⁰ habría una trayectoria de reacción completamente independiente del cambio conformacional entre los estados estacionarios **24** y **29**. Esta sugerencia errónea de que la migración del átomo de hidrógeno no está sujeta a control estereoelectrónico, tiene sus orígenes en que sólo se analizaron los perfiles energéticos de las trayectorias de reacción, sin analizar a su vez el perfil geométrico de la trayectoria de reacción. Si sólo se analiza el perfil energético se pueden llegar a conclusiones erróneas, cuando se utiliza un método que no describa un ET por cada proceso

elemental. Adicionalmente, tratar de definir grupos de tipos de coordenadas de reacción, como son casi-plana, hombro bien definido, hombro suave o sin hombro,⁸⁰ para sistematizar su estudio resulta inadecuado, ya que como se ha demostrado, el perfil energético de la trayectoria de reacción depende del método de cálculo y en zonas relativamente planas de la SEP esto es más dramático. El describir el perfil energético de la trayectoria de reacción como se ha propuesto generaría controversias, que solo podrían ser resueltas, asegurándose que el funcional utilizado es el correcto (lo que es imposible) u obteniendo información experimental acerca de los intermediarios. Esta segunda opción es muy difícil de llevar a cabo, ya que en una zona muy planas de la SEP los estados estacionarios están muy cerca energéticamente hablando y su manipulación desde el punto de vista experimental es muy compleja.

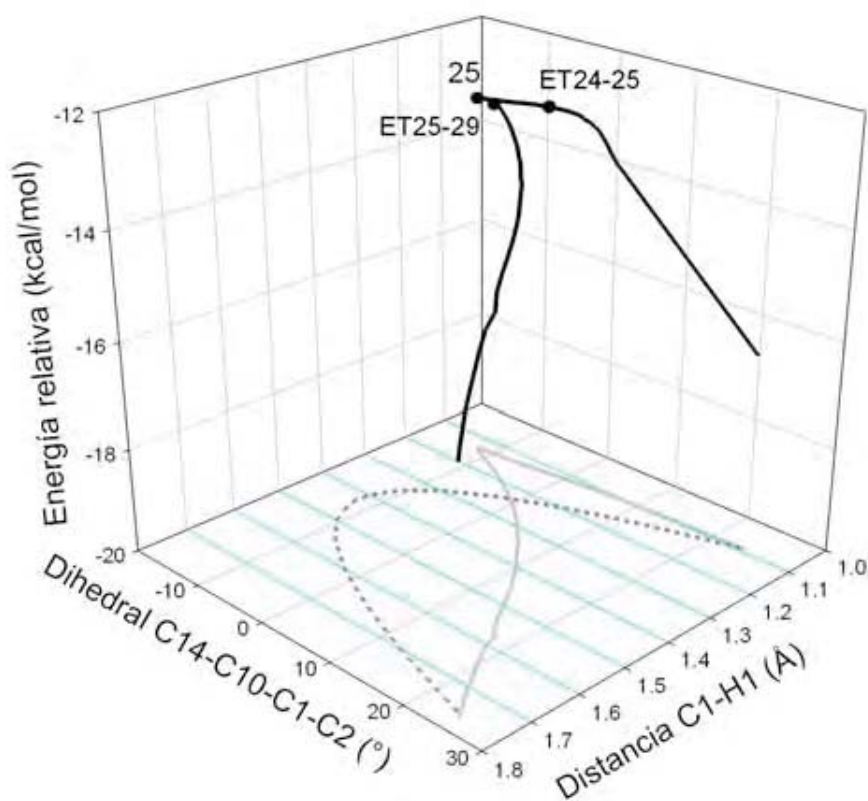


Figura 4.5 Trayectoria ideal e hipotética (línea punteada) para la transformación de **24** en **29**.

Retomando el mecanismo de interés, el carbocatión **29** tiene las características adecuadas para que ocurra la segunda migración de hidrógeno. El hidrógeno que migra mantiene una relación *syn* respecto al hidrógeno que migró de C1 a C10. En éste, los intermediarios **29** y **30** (Figura 4.2) son casi isoenergéticos y el tamaño de la barrera es más pequeña que en otros casos parecidos ya descritos.^{12,44,46} Esta migración es muy simétrica, dado que en el ET (**ET29-30**) la distancia C1-H es 1.31 Å y la distancia C5-H es 1.33 Å. La simetría respecto a la distancia C-H de **ET29-30** se debe al hecho de que los dos cationes interconectados por este ET, tienen una patrón de sustitución muy similar a primeros vecinos. La existencia del catión **30** está claramente comprobada por el aislamiento del epóxido **19**, el producto de la eliminación de este carbocatión también ha sido aislado en su forma epimérica **31** (Esquema 4.4).⁸¹

El mecanismo concluye cuando el grupo metilo de **30** migra de C4 a C5 con la formación concurrente del grupo carbonilo para formar al catión de la 8-epiconfertina (**32**). En el ET el grupo metilo que migra se ubica 1.74 Å del átomo de origen y 1.94 Å del átomo de destino, esto lo hace más parecido a **30** que al producto **32**. Esta tendencia también se observa en el enlace O-H del grupo carbonilo que pasa de 1.39 Å en **30** a 1.34 Å en el ET y termina 1.28 Å en **32**. Por tal motivo, y de acuerdo al postulado de Hammond, se espera que el proceso sea exotérmico cuando se produce el producto. Se tiene que apuntar, que la deficiencia de carga en el catión **32** está concentrada entre C4 y el oxígeno en C3, ya que la carga natural de C4 va de 0.17 en **30** a 0.74 en **32** y la carga del átomo de hidrógeno se modifica desde -0.74 en **30** a -0.59 en **32**.

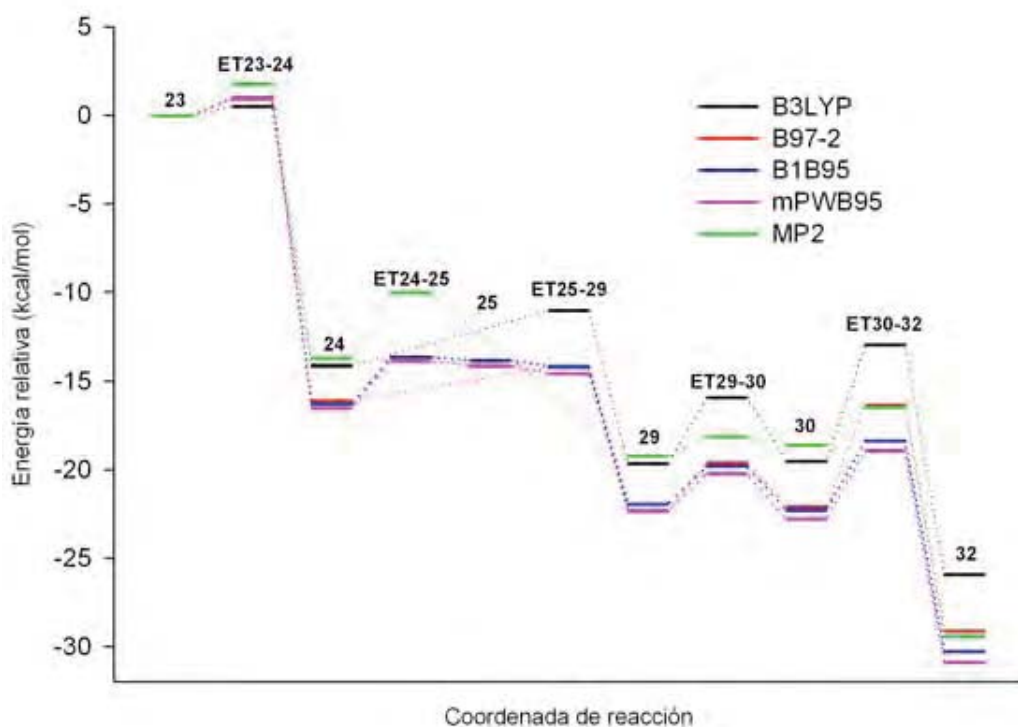


Figura 4.6 Diagrama de energía para la conversión del catión **23** al **32** a distintos niveles de teoría.

El mecanismo arriba descrito está completamente de acuerdo con los resultados experimentales,⁴¹ por el hecho de que hay un intermediario por cada producto reportado. Lo que queda por responder es si esta reacción necesita catálisis enzimática para llevarse a cabo. A primera vista pareciera que no lo necesita, ya que el mecanismo completo es tipo “cascada” (Figura 4.6). Todas las barreras son muy pequeñas, menores a 4 kcal/mol y la energía de activación para el primer paso es incluso más pequeña. De hecho, la energía térmica ambiental sería más que suficiente para superar esta barrera. Así que, una vez que la molécula es protonada toda la reacción puede ocurrir sin la intervención de una enzima. Sin embargo, las enzimas no sólo tienen funciones catalíticas, sino que también desempeñan un papel fundamental en el ajuste conformacional de los reactivos, lo cual genera la selectividad de las ciclizaciones subsecuentes. La enzima es fundamental para la selección del conformero de partida, si es que el conformero con el que se compete es próximo en energía.

De fuentes vegetales se han aislado dos distintos grupos de pseudoguianólidas las ambrosanólidas y las helenanólidas, que presentan una relación epimérica en C10. Se ha postulado que ambos grupos provienen del mismo germacrano pero de un conformero distinto⁸ pero también se pueden formar apartir de un isomero diferente. Resulta entonces pertinente calcular la geometría y la energía del conformero de **23** que produciría al epímero en C10 de **32**, el cual debe asumir la conformación ¹⁵D₅,¹D₁₄ (**33**). Al nivel mPW1B95/6-31+G(d,p) **33** es sólo 0.89 kcal/mol menos estable que el conformero **23**. El perfil energético para el cierre del anillo para ambos conformeros se muestra en la Figura 4.7. La energía de activación para el equilibrio conformacional entre **23** y **33** es de 12.21 kcal/mol. El análisis de los modos normales de vibración permite asegurar que **ET23-33** es el ET que interconectan a **23** y **33**. Los sustituyentes del enlace doble C1-C10 en **ET23-33** están prácticamente en el plano de la molécula con el átomo de hidrógeno de C1 orientado hacia dentro del anillo de diez miembros, lo que evita el impedimento estérico que el grupo metilo generaría. El ET asociado al grupo metilo hacia dentro del anillo se buscó y no existe.

Recapitulando, los conformeros **23** y **33** son de gran interés porque el cierre de éstos determina la estereoquímica de C10. Cuando el cierre del anillo ocurre en el conformero más estable **23** se produce el catión **24**, como ya se discutió. En el caso de que sea el conformero menos estable (**33**) el que se cierre, el mecanismo de reacción pasará por el ET **ET33-34** y este mecanismo, al igual que en el caso de **23**, sucederá de forma concertada (Figura 4.7). El catión **ET33-34** está a 1.18 kcal/mol del conformero que lo produce y a 2.04 kcal/mol de **23**. El ET **ET23-24** es más estable que **ET33-34**, a pesar de que se podría decir que **ET23-33** está desfavorecido estéricamente, ya que en este ET los dos metilos están uno enfrente del otro. El resultado anterior concuerda con los resultados de Cortés-Guzmán *et al.* que sugieren que la llamada repulsión 1,3-syndiaxial no tiene un papel fundamental en la conformación.⁸² Las propiedades conformacionales del sistema están regidas por el anillo de 10 miembros que adopta una conformación silla-silla, la cual se favorece por la proximidad del enlace doble y el epóxido.

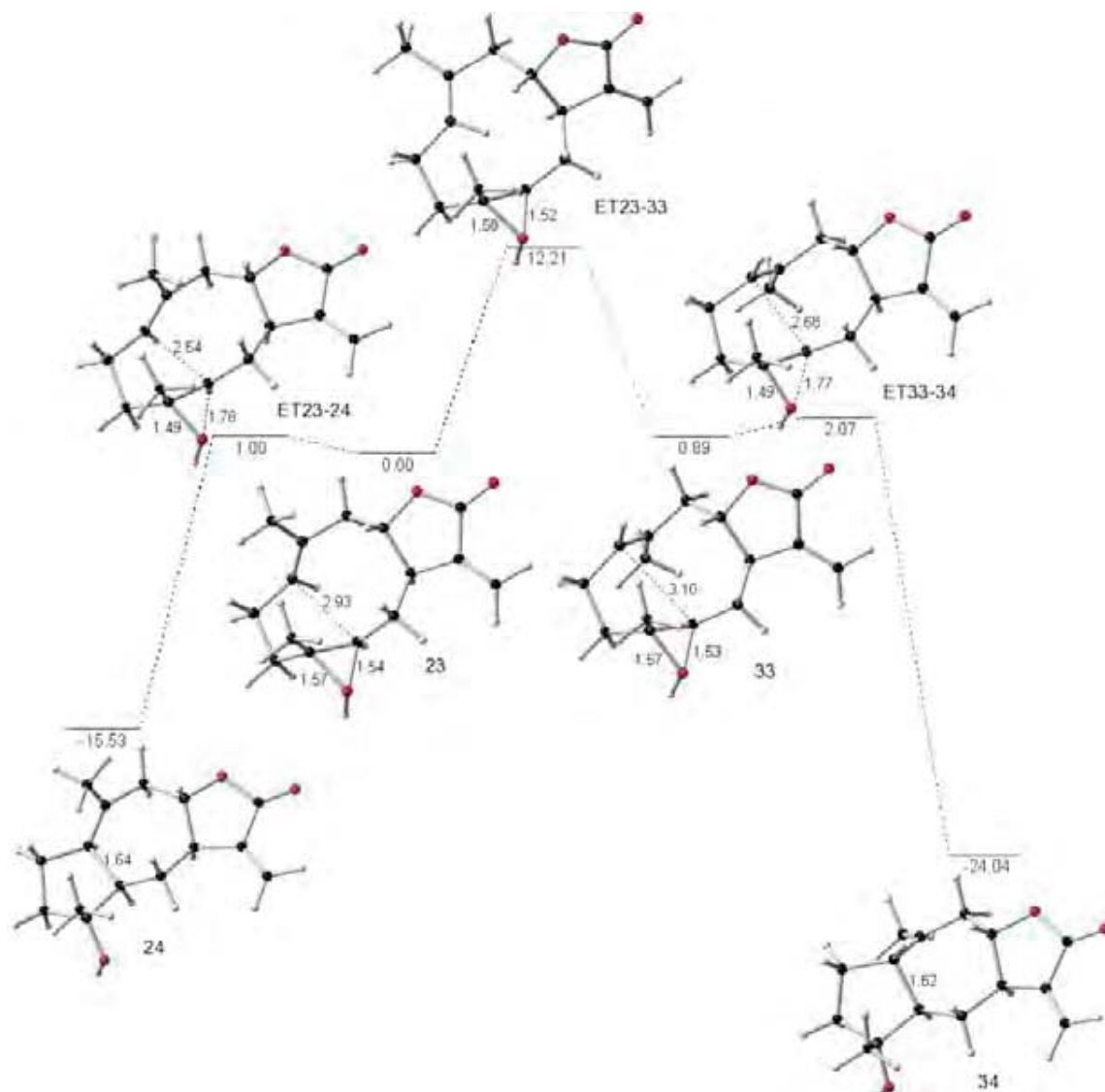


Figura 4.7 Estructuras de intermediarios de reacción y ET asociados a la ciclización de los conformeros **23** y **33** al nivel mPW1B95/6-31+G(d,p). Las distancias están en Å. Las energías relativas en kcal/mol.

El ET menos favorecido **ET33-34** genera el producto termodinámico **34** que es 7.51 kcal/mol más estable que el producto cinético **24**. El producto cinético le debe su inestabilidad en parte a que los grupos metino que se fusionan están prácticamente eclipsados, el ángulo diedro H-C1-C5-H es de apenas 9° . El siguiente paso para el

carbocación **34** es distinto al que lleva a cabo su epímero **24**, ya que a diferencia de **24** el cambio conformacional y la transferencia de hidrógeno suceden en un solo paso elemental. El intermediario **34** se transforma en **35** a través de un solo ET (**ET34-35**, Figura 4.8). En la Figura 4.9 se muestra la trayectoria de reacción para la transformación de **34** en **35** al nivel mPW1B95. En dicha figura se muestra como es que la migración del hidrógeno sólo sucede después de que el cambio conformacional ocurre. Lo expuesto por Tantillo, de que un mecanismo concertado requiere la alineación simultánea de todos los orbitales relevantes,⁸⁰ no siempre es cierto. Por ejemplo, en el caso que se acaba de describir, la migración no sucede hasta que ocurre el cambio conformacional.

En el intermediario **35** el metilo adopta la posición pseudo-ecuatorial a diferencia de su epímero (**25**) en donde el metilo mantiene la posición pseudo-axial y dado que, una vez que migra el hidrógeno deja de existir la posibilidad de que los enlaces C1-H y C5-H se eclipsen, la diferencia de energía entre ambos epímeros se reduce a sólo 1.12 kcal/mol (Tabla 4.2). La diferencia en energía que persiste se puede deber a que un grupo metilo en posición pseudo-ecuatorial es más estable que uno en posición pseudo-axial. Las siguientes dos transferencias (la de hidrógeno y la del metilo) proceden de forma muy similar a lo que sucede con el epímero *S*. Una de las ligeras diferencias, es el hecho de que el ET de la migración del segundo hidrógeno (**ET35-36**) no es tan simétrico como en el caso del epímero *S*. Por último, hay que apuntar que una vez que sucede la migración del metilo el catión resultante (**37**) vuelve a ser mucho más estable que su epímero *S* (**32**), por 4.27 kcal/mol.

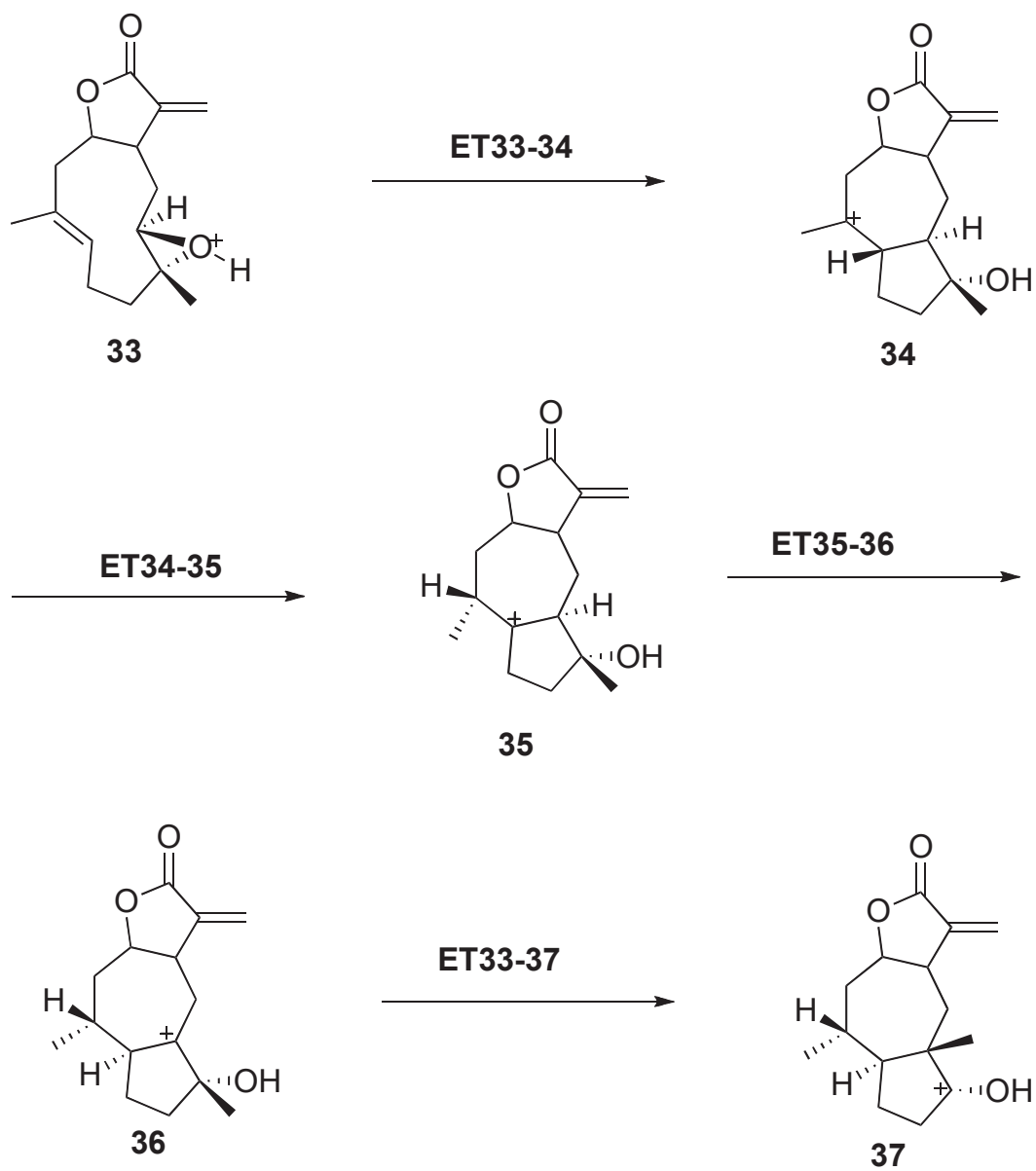


Figura 4.8a Estructuras simplificadas de la Figura 4.8b

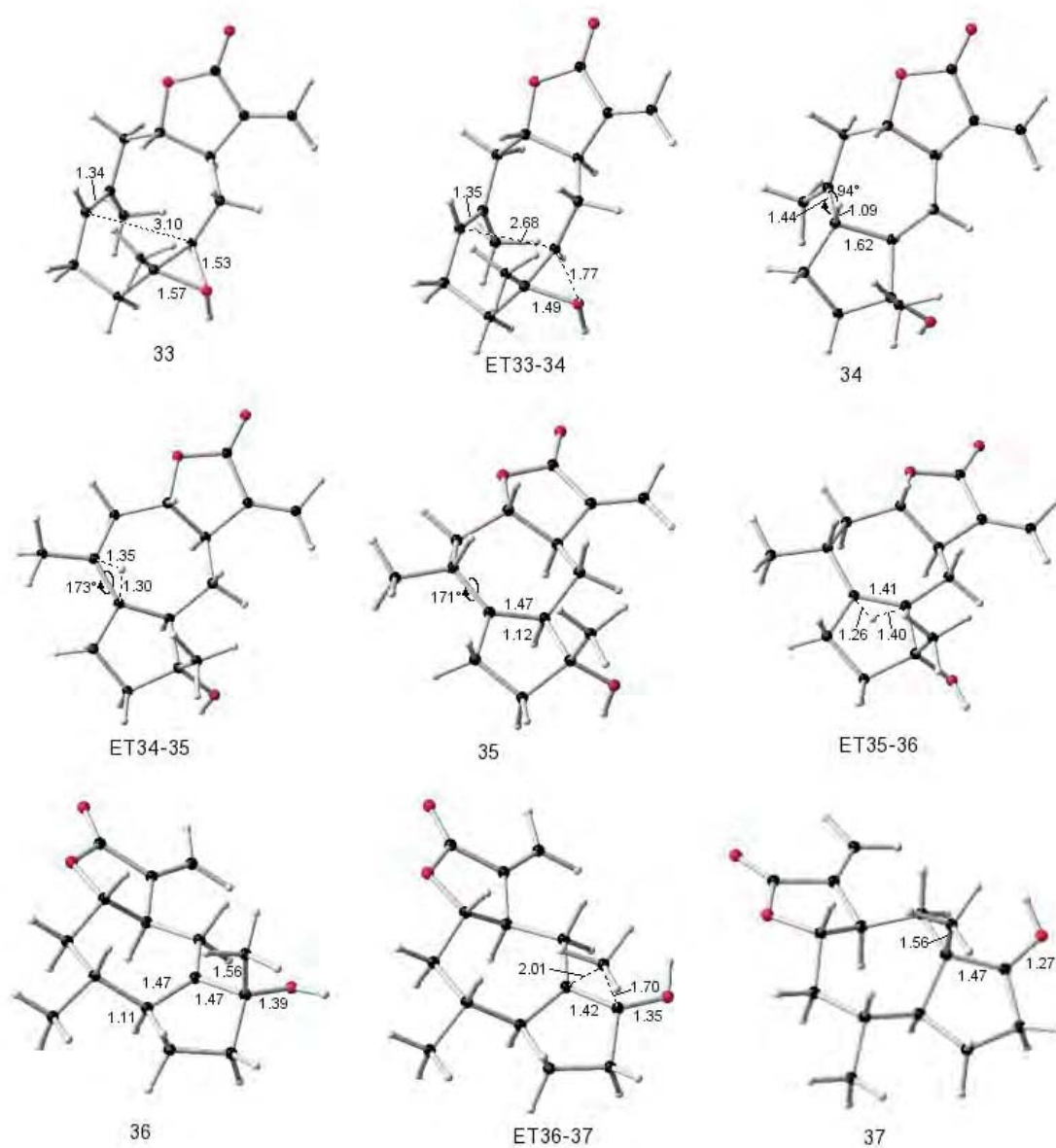


Figura 4.8b Estructuras de intermediarios de reacción y ET para la conversión del catión de la epoxiunólida **33** al catión de la 8-epiconfertina **37** al nivel mPW1B95/6-31+G(d,p). Las distancias y el ángulo diedro C14-C10-C1-C5 están en Å y en grados, respectivamente.

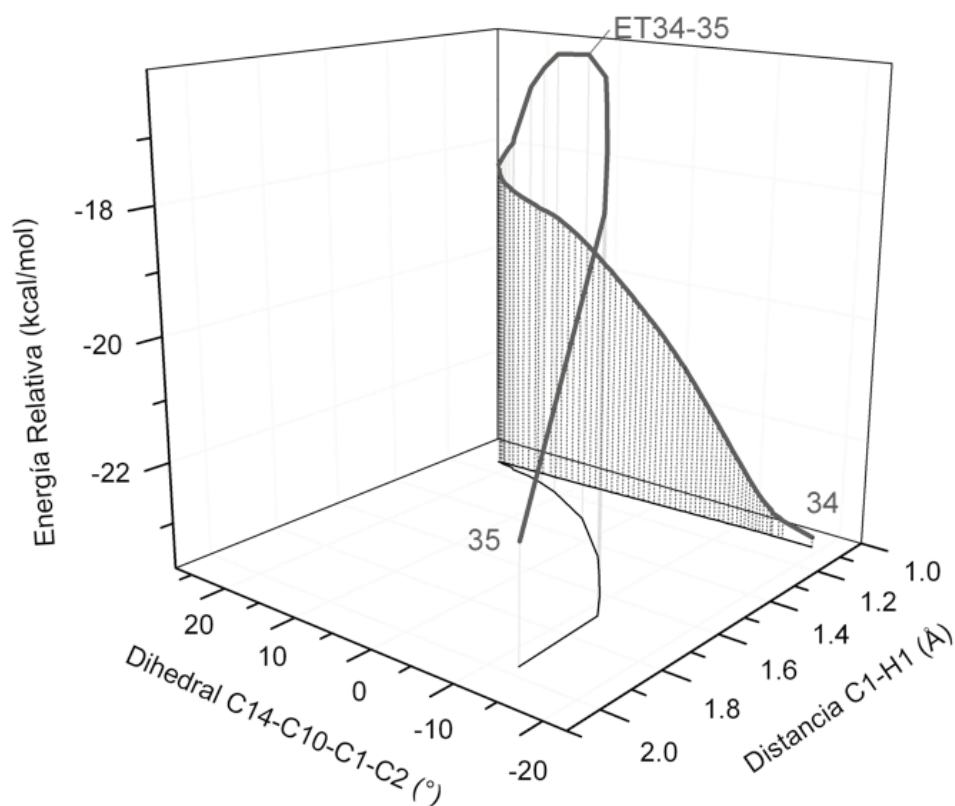


Figura 4.9 Coordenada de reacción para la transformación del catión **34** en **35** con el funcional mPW1B95.

Por lo discutido hasta el momento, las ambrosanólidas y las helenanólidas se originan de un conformero específico de los germacradienos. Debido a las pequeñas diferencias de energía entre los ET **ET(23-24)** y **ET(33-34)** y tomando en cuenta el principio de Curtin-Hammet, se espera que los dos epímeros en C10 coexistan en una misma especie. En general esto no ocurre; por sorprendente que parezca, usualmente sólo se encuentra uno de los dos epímeros en una fuente natural. De este resultado se infiere la relevancia que tiene la enzima que cataliza este proceso. Resulta interesante que el compuesto obtenido por Ortega et al.⁴¹ usado tierras bentoníticas implique sólo al conformero más estable, lo cual es posible debido a la estructura tridimensional de la tierra bentonítica.

Tabla 4.2 Energías relativas al nivel mPW1B95/6-31+G(d,p) para los intermediarios y ET en el mecanismo de formación de los cationes epiméricos **32** y **37**.

Epímero S		Epímero R	
catión	$\Delta E+ZPE$	catión	$\Delta E+ZPE$
23	0.00	33	0.89
ET23-24	1.00	ET33-34	2.07
24	-16.53	34	-24.04
ET24-25	-13.89	-	
25	-14.14	-	
ET25-29	-14.54	ET34-35	-18.09
29	-22.32	35	-23.44
ET29-30	-20.21	ET35-36	-21.70
30	-22.79	36	-24.58
ET30-32	-18.92	ET36-37	-16.96
32	-30.89	37	-35.16

Sin evidencia clara que lo soporte, Bohlmann *et al.*⁸¹ propusieron que las lactonas **31** y **38** (Esquema 4.4) aisladas de las partes aéreas de *Apalochlamys spectabilis*, deberían tener su origen biogenético en el compuesto **17**. Estos compuestos provienen claramente de un confórmero similar a **33** que se transforma en los cationes de las guayanólidas que originarán los intermediarios aislados. El mismo Bohlmann, en otro trabajo, también aisló de las partes aéreas de *Ondetia linearis* a los compuestos **39-41**.⁸³ Estos productos intermediarios demuestran que el mecanismo de reacción para el confórmero **33** es similar al del confórmero **23**. Lo relevante de este caso es que es posible, pero no usual, encontrar guayanólidas y sus derivados con ambas configuraciones en C10 en la misma planta. Por consiguiente, los mecanismos de reacción para ambos isómeros pueden coexistir tal y como establecen los cálculos.

El mecanismo que se acaba de describir apoya la hipótesis propuesta por Fischer de que la transposición ocurre a través de confórmeros distintos.⁸ La propuesta biogenética de que la transformación de guayanólidas a pseudoguayanólidas ocurre en un solo paso^{42,43} queda totalmente descartada, ya que además de lo ya discutido, todos los intentos por obtener el

ET en donde todos los procesos antes descritos ocurrieran en un sólo paso fueron infructuosos. Esto se podría deber en gran medida, al hecho de que en el intermediario **24** el C10 no satisface los requerimientos estereoelectrónicos que permite la migración del hidrógeno de C1 a C10 y, por lo tanto, se inhibe la transformación concertada. Entonces en el mecanismo concertado propuesto por Herz^{42,43} los requerimientos estereoelectrónicos no se cumplen y su propuesta es errónea.

En todas las estructuras hasta ahora descritas no se ha tomado en cuenta la rotación del hidroxilo y sólo se han tratado las estructuras derivadas del ataque del protón por debajo del epóxido, ya que éste es 0.58 kcal/mol más estable que el catión derivado del ataque por arriba del epóxido. Sin embargo, es de esperarse que en algunos pasos del mecanismo, la participación del enlace O-H sea sustituida por la participación de los pares libres del oxígeno. Se encontró que cuando un par libre del oxígeno es antiperiplanar a C15, para **29**, **ET29-30** y **30**, se producen disminuciones significativas en la energía y éstas son 2.54, 1.80 y 0.78 kcal/mol, respectivamente. Lo anterior generaría que la barrera energética de **29** a **ET29-30** aumentara de 2.12 a 2.86 kcal/mol y la barrera energética de **30** a **ET30-32** pase de 3.87 a 4.65 kcal/mol. La estabilización en **29** viene dada de acuerdo con las energías de deleción NBO, por la interacción σ_{C5-H} con el orbital π vacío del carbocatión que pasa de 31.61 a 36.16 kcal/mol cuando el par libre del oxígeno está antiperiplanar a C15. En cambio la estabilización de **30** no viene dada por este motivo, ya que la energía de σ_{C4-C15} con el orbital π vacío del carbocatión disminuye al pasar de 18.15 a 16.73 kcal/mol cuando el par libre del oxígeno está antiperiplanar a C15. Entonces, dado que en **30** la hiperconjugación con el orbital π vacío del carbocatión se debilita y en **29** se fortalece, **29** se estabiliza más que **30**.

Comparación de Métodos Computacionales

Se realizó la comparación de los métodos computacionales utilizados para tener una idea de qué tan adecuados son cada uno de los funcionales para estudiar sistemas grandes y mecanismos de reacción similares a los que se estudiaron aquí. Dicha comparación se hizo

entre las energías y las geometrías de los ET calculados con TFD y los calculados con el método MP2. Se tomó en cuenta el hecho de que en general B3LYP y MP2 dan errores en direcciones opuestas para moléculas orgánicas, por ejemplo, si B3LYP subvalúa una barrera energética, MP2 la sobrevaluará.⁸⁴ Esto se debe a que mientras el método MP2 sobreestima la energía de estructuras deslocalizadas, el funcional B3LYP sobreestima la energía de estructuras localizadas.⁸⁴ Entonces, lo que se busca es que los otros funcionales produzcan resultados que caigan entre los resultados producidos por estos dos niveles de teoría.

A pesar de que la forma del perfil energético de la reacción es similar (Figura 4.6), se encontraron diferencias significativas entre las energías de activación calculadas empleando el método MP2 y el funcional B3LYP (Tabla 4.3). Se observaron diferencias en las energías de activación hasta del 70 % aproximadamente entre el método MP2 y el funcional B3LYP. Sin embargo, las diferencias son mucho más pequeñas entre MP2 y funcionales meta-GGA (mPW1B95 y B1B95). La diferencia más grande entre las barreras energéticas es de aproximadamente el 45 %. Como ya se discutió, mPW1B95 y B1B95 fueron los únicos funcionales que lograron describir el estado estacionario **ET24-25**, el cual también existe en la SEP del MP2. Además, estos funcionales encontraron a **ET25-29** que no existe en la SEP de MP2, pero sí en la del funcional B3LYP.

Tabla 4.3 Energía de activación para la transformación de **23** en **24** con distintos métodos de cálculo (kcal/mol).

ET	B3LYP	B97-2	B1B95	mPW1B95	MP2
ET23-24	0.52	0.94	1.02	1.00	1.76
ET24-25^a	-	-	2.60	2.63	3.69
ET25-29^b	3.11	1.88	2.10	1.98	-
ET29-30	3.75	2.75	2.14	2.12	1.06
ET30-32	6.53	5.75	3.92	3.87	2.15

^a Diferencia energética entre **24** y **ET24-25**.

^b Diferencia energética entre **24** y **ET25-29**.

Las geometrías de todos los intermediarios son muy similares en todos los casos (Tabla 4.4 y 3.5), sin embargo, hay diferencias significativas entre las geometrías de los ET calculados con TFD y las calculadas con MP2. Al igual que en el caso de la energía, la diferencia es mayor para el caso del funcional B3LYP. Con este funcional, la diferencia más grande en distancia de enlace es 0.20 Å, entre ángulos de enlace es 9° y entre diedrales es 22° (Tabla 4.5). Con respecto al funcional mPW1B95 estas diferencias son más pequeñas. La mayor diferencia entre distancias es de 0.16 Å, entre ángulos de enlace es de 3° y entre diedrales es de 12°.

Tabla 4.4 Diferencias promedio entre las distancias, ángulos y diedrales calculadas por la teoría MP2 y los distintos funcionales de la densidad.

catión	Dif. Distancia (Å)				Dif. Ángulos (°)				Dif. Diedrales (°)			
	B3LYP	B97-2	B1B95	mPW1B95	B3LYP	B97-2	B1B95	mPW1B95	B3LYP	B97-2	B1B95	mPW1B95
23	0.006	0.004	0.005	0.006	0.39	0.39	0.33	0.32	2.1	2.1	2.2	2.1
ET23-24	0.012	0.009	0.007	0.008	0.99	0.83	0.50	0.47	5.4	4.6	1.5	1.4
24	0.006	0.004	0.004	0.005	0.43	0.44	0.35	0.36	2.0	1.9	1.3	1.2
29	0.006	0.004	0.004	0.005	0.41	0.40	0.29	0.29	1.6	1.4	1.2	1.2
ET29-30	0.011	0.010	0.011	0.012	0.55	0.54	0.48	0.47	3.1	2.9	2.4	2.3
30	0.006	0.004	0.004	0.005	0.47	0.42	0.31	0.31	2.1	1.5	1.0	1.0
ET30-32	0.010	0.008	0.007	0.008	0.70	0.63	0.46	0.45	2.7	2.3	1.4	1.3
32	0.005	0.003	0.004	0.005	0.34	0.35	0.25	0.26	0.8	0.9	0.9	0.9

Como se esperaba, las diferencias mayores entre las coordenadas internas son aquellas directamente relacionadas con la coordenada de reacción. En el caso de B3LYP, las diferencias mayores en coordenadas internas las tiene el catión **ET23-25**, ya que es el ET con el anillo más grande lo que se traduce en una mayor libertad conformacional. Esto contrasta con el hecho, de que las diferencias mayores en el caso de los funcionales mPW1B95 y B1B95 se encuentran en **ET29-30**. En general, los valores de las coordenadas

internas de los ET calculados por los funcionales mPW1B95 y B1B95 están entre los valores obtenidos para MP2 y B3LYP, pero en el caso de las transferencias de hidrógeno y de metilo las diferencias siguen siendo muy grandes y la geometría no es muy diferente a la calculada por los métodos B3LYP. Debido a esto, es posible proponer que los funcionales mPW1B95 y B1B95 son mejores funcionales para calcular energías de activación y geometrías de ET para sistemas similares que el B3LYP.

Tabla 4.5 Máximas diferencia entre una distancia, ángulo o ángulo diedro calculada por la teoría MP2 y los distintos funcionales de la densidad.

catión	B3LYP		B97-2		B1B95		mPW1B95	
Distancia (Å)								
23	C4-O1	0.04	C5-O1	0.03	C5-O1	0.03	C5-O1	0.04
ET23-24	C5-C1	0.20	C5-C1	0.14	C5-C1	0.08	C5-C1	0.07
24	C10-C1	0.02	C10-C1	0.02	O2-C12	0.02	O2-C12	0.03
29	C4-C5	0.02	O2-C12	0.02	O2-C12	0.02	O2-C12	0.03
ET29-30	C5-H5)	0.15	C5-H5)	0.15	C5-H5)	0.16	C5-H5)	0.16
30	C10-C1	0.02	O2-C12	0.02	O2-C12	0.02	O2-C12	0.03
ET30-32	C4-C15	0.12	C5-C15	0.08	C5-C15	0.09	C5-C15	0.09
32	C5-C1	0.02	O2-O1	0.02	O2-O1	0.02	O2-O1	0.02
Ángulos (°)								
23	C4-O1-H(O)	1.5	C4-O1-H(O)	1.4	C5-O1-H(O)	1.8	C5-O1-H(O)	2.0
ET23-24	C5-C1-H1)	9.0	C5-C1-H1)	7.6	C5-C4-O1	2.8	C5-C4-O1	2.5
24	C10-C1-H1)	2.1	C10-C1-H1)	2.5	C10-C1-H1)	1.5	C10-C1-H1)	1.4
29	C14-C10-C1	2.5	C14-C10-C1	2.3	C1-C5-H5)	1.8	C1-C5-H5)	1.7
ET29-30	C5-C4-C15	2.6	C5-C4-C15	2.2	C5-C4-C15	1.8	C5-C4-C15	1.7
30	C5-C1-H5)	2.5	C5-C4-C15	1.5	C5-C1-H5)	1.6	C5-C1-H5)	1.7
ET30-32	C4-C15-H15	5.1	C4-C15-H15	4.1	C4-C15-H15	3.2	C4-C15-H15	3.2
32	C6-C7-C11	1.0	C6-C7-C11	1.0	C9-C8-O2	1.0	C4-C15-H15	1.1
Ángulos diedros (°)								
23	C5-C4-C15-H15	6	H7-C7-C11-C13	5	C11-C7-C8-H8	6	C11-C7-C8-H8	6
ET23-24	C9-C10-C14-H14	22	C9-C10-C14-H14	20	C15-C4-C5-C6	5	C15-C4-C5-C6	4
24	C8-C9-C10-C1	7	C8-C9-C10-C14	6	C9-C10-C14H14	5	C9-C10-C14H14	5
29	C1-C10-C14-H14	5	C1-C10-C14-H14	4	C10-C1-C2-H2	5	C10-C1-C2-H2	5
ET29-30	C14-C10-C1-C5	13	C14-C10-C1-C5	13	C6-C5-C1-C10	12	C6-C5-C1-C10	12
30	H6-C6-C5-C1	7	C5-C4-O1-H(O)	5	C8-C7-C11-C13	3	H6-C6-C5-C4	3
ET30-32	C3-C4-O1-H(O)	10	O1-C4-C5-C6	8	C3-C4-O1-H(O)	6	C3-C4-O1-H(O)	6
32	H3-C3-C2-H1)	3	H3-C3-C4-C15	3	C1-C10-C14-H14	3	C1-C10-C14-H14	3

Conclusiones

Las teorías biogénéticas planteadas por Fischer y Hendrickson son completamente apoyadas por los cálculos realizados en este trabajo, ya que sus teorías concuerdan con el mecanismo de reacción aquí descrito. Los resultados computacionales explican el origen de los intermediarios aislados por Ortega y Maldonado.

El mecanismo de la reacción es guiado por el hecho de que el producto de un paso elemental siempre es más estable que su antecesor y que las barreras energéticas son pequeñas. Estos resultados sugieren que el papel de las enzimas que catalizan esta reacción en los sistemas biológicos es el de seleccionar al conformero inicial y estabilizar a los cationes intermediarios. Esto hace posible que éstos sufran transposiciones en lugar de eliminaciones como sucede con el compuesto **18**.

El mecanismo de transformación que produce pseudoguayanólidas a partir del catión **21** no ocurre de manera concertada porque no se encontró un ET que sincrónicamente transformara en un solo paso a **21** en el producto. En contraste, sí se encontraron los ET para las dos transferencias de hidrógeno y la transferencia de metilo.

Del análisis minucioso de las trayectorias de reacción se demostró que las moléculas sufren todos los cambios conformacionales necesarios para que las condiciones estereoelectrónicas de una migración se cumplan. Esto es cierto incluso cuando sólo existe el ET correspondiente a la migración y no existe el ET que corresponde al equilibrio conformacional. Lo anterior pone de manifiesto la importancia que en algunas circunstancias tiene el análisis completo de la coordenada de reacción, tanto en la parte geométrica como en la energética.

No queda duda de que el funcional meta-GGA mPW1B95 es una buena elección para tratar sistemas similares, ya que mostró un mejor desempeño en comparación a los otros

funcionales analizados aquí. Este funcional mejora la descripción de las barreras energéticas y de las geometrías de los ET cuando se compara con el funcional B3LYP.

5. Estudio conformacional de la 6-*epi*-desacetil-laurenobiólida

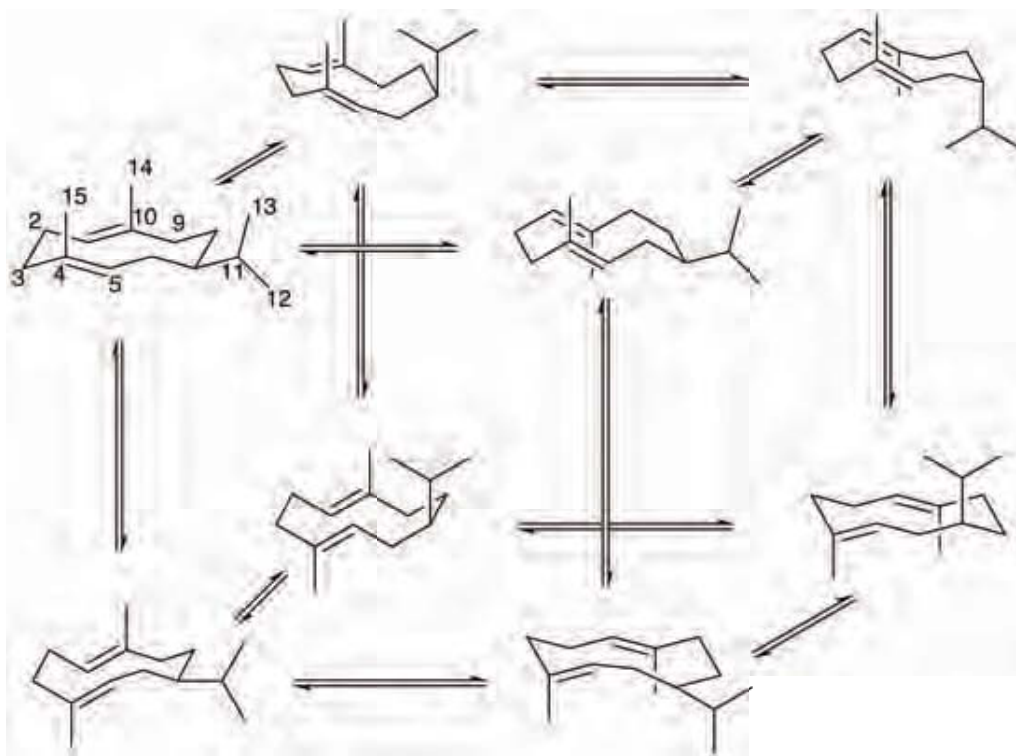
Antecedentes

Equilibrio conformacional de germacranos

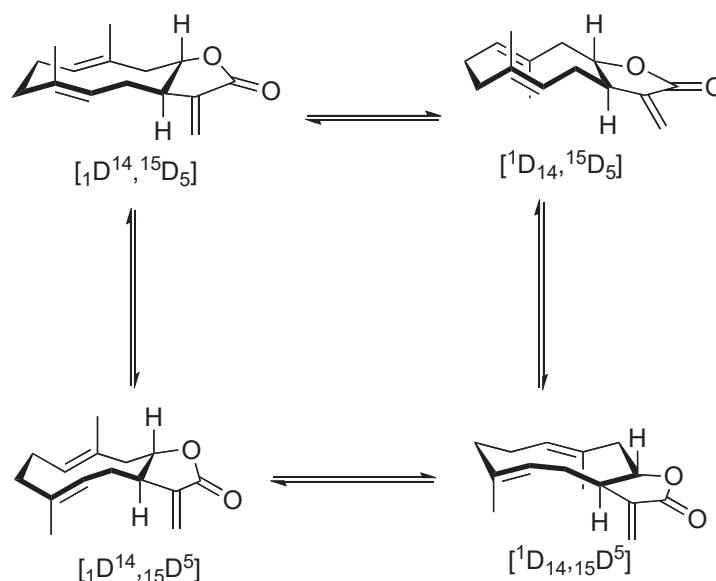
Como se mencionó en el capítulo anterior, las germacranólidas son precursores biogénicos de sesquiterpenos cíclicos. En su estructura las germacranólidas tienen un ciclodecadieno, que puede adoptar varias conformaciones muy cercanas en energía, además, las barreras energéticas para la interconversión entre conformeros es pequeña. Por tal motivo, a temperatura ambiente los germacranóidos son una mezcla de varios conformeros que se intercambian entre si rápidamente.⁸⁵⁻⁸⁷ Además del ciclodecadieno, las germacranólidas tienen unido al anillo de 10 miembros una γ lactona en C7 que puede cerrar a un anillo en posición 6 o en posición 8, lo que le confiere menor libertad conformacional. El anillo de lactona incrementa la energía de interconversión entre conformeros, por lo que una gran cantidad de estas germacranólidas presentan más de un conformero estable a temperatura ambiente.⁸⁸⁻⁹⁸ Por ejemplo: Tori *et al.* encontraron pruebas de que en solución una germacranólida, la laurenobiólida, se presenta en cuatro conformaciones distintas.⁸⁹ Como ya se discutió en el capítulo anterior, se sabe que la estereoquímica de los sesquiterpenos cíclicos depende en gran medida de la conformación de la germacranólida precursora.^{7,8,39,95,96,99-104} Por lo anterior, es de suma importancia conocer el comportamiento conformacional de este tipo de compuestos y hace indispensable describir rigurosamente la SEP asociada.

Las posibles conformaciones para un *trans-trans*-germacrano son ocho (Esquema 5.1).¹⁰⁵ Estas ocho conformaciones corresponden a las posibles combinaciones entre las posiciones de C11, C14 y C15. Los metilos 14 y 15 pueden estar en posición α o β y C11 puede estar en posición pseudo-axial o pseudo-ecuatorial. Sin embargo, debido a que las

germecranólidas tienen un anillo de γ -lactona condensado al ciclodecadieno, su libertad conformacional se restringe en principio a sólo cuatro conforméromos, producto de la disposición de los grupos metilo.^{7,89,95} Según la nomenclatura de Samek⁴⁰ estos cuatro conforméromos serían [$^1D^{14}, ^{15}D_5$] y [$^1D_{14}, ^{15}D^5$], en los cuales los enlaces dobles C1-C10 y C4-C5 tienen orientación cruzada, en tanto que en los conforméromos [$^1D^{14}, ^{15}D^5$] y [$^1D_{14}, ^{15}D_5$] los enlaces dobles son paralelos (Esquema 5.2). Estos conforméromos se transforman entre sí, por la rotación de los enlaces sencillos vecinos a los enlaces dobles C1-C10 y C4-C5. Se ha propuesto que los grupos voluminosos en C7 generalmente prefiere colocarse en posición pseudo-ecuatorial.¹⁰⁶



Esquema 5.1 Posibles conforméromos de los *trans-trans*-germacradienos



Esquema 5.2 Conformaciones principales de las *trans-trans*-germacranólidas. Nomenclatura propuesta por Samek.

En la Figura 5.1 se indican las conformaciones principales para distintos germacranos.^{89,92-94,98,107-109} Como lo muestra dicha figura, la conformación predominante en un germacranano determinado depende en gran medida del patrón de sustitución de éste.¹¹⁰ Inclusive, se da el caso de que la conformación principal de dos epímeros sea distinta. Por ejemplo, el compuesto **1** (Figura 5.1) es epímero en C1 del compuesto **6** y la conformación observada experimentalmente es distinta. Otro muy buen ejemplo es lo que pasa entre los compuestos **2**, **7** y **14**, ya que la diferencia estructural entre **2** y **14** es sólo el enlace doble C11-C13 que tiene **14** y la diferencia entre **7** y **14** es que en **7** C15 pertenece a un grupo carbonilo y en **14** C15 está unido a un hidroxilo. Sin embargo, aunque los cambios son menores los tres compuestos tienen distintas conformaciones principales. Los equilibrios conformacionales son tan sensibles que en algunos casos el sólo hecho de cambiar de disolvente ocasiona un cambio en la conformación observada. La conformación principal del compuesto **14** en CHCl_3 es $[1D^{14}, 15D^5]$, pero en acetona es $[1D_{14}, 15D^5]$.⁹³ A pesar de que existen varios estudio, experimentales^{88,89,91-94,97,98,103} y teóricos (modelos empíricos^{93,95,97,103,111-114} y ab-initio¹¹⁵) del análisis conformacional de las germacranólidas, ninguno de estos equilibrios se describen a detalle a través del estudio de la superficie de energía potencial de estos

equilibrios conformacionales, la cual es de suma importancia para entender su reactividad biológica.

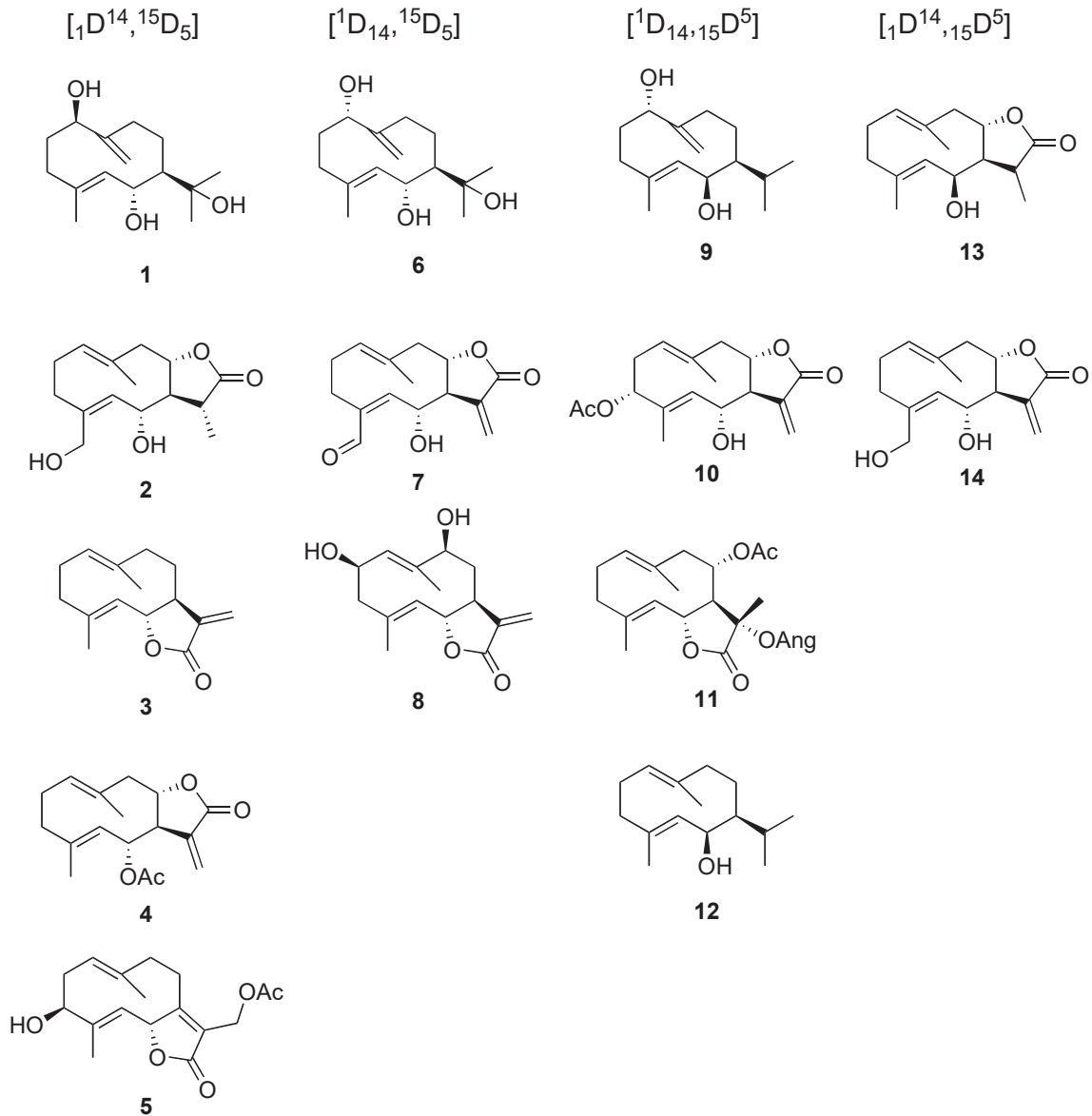


Figura 5.1 Algunos *trans-trans*-germacranos y su conformación principal reportada.

La 6-*epi*-desacetil-laurenobiólida (**15**) es una lactona sesquiterpénica aislada de *Montanoa grandiflora* (Figura 5.2) que ha sido estudiada en el Instituto de Química. A través de

espectrometría de masas y RMN ^1H se determinó su estructura, lo cual fue confirmado con difracción de rayos X de monocristal.¹⁰⁹ En estado sólido **15** presenta la conformación bote-bote [$^1\text{D}^{14}, ^{15}\text{D}^5$], la cual no es una conformación frecuente. En dicha conformación el metilo en C4 está en posición α , mientras que el metilo en C10 está en posición β . En contraste, la laurenobiólida (**4**), que se produce cuando el epímero de la posición 6 de **15** es acetilado, tiene como conformación principal en solución al conformero que tiene a ambos metilos en disposición β ($[\text{}^1\text{D}^{14}, ^{15}\text{D}_5]$). Se ha demostrado que en solución, **4** presenta las cuatro conformaciones posibles con una distribución 5 : 4 : 3 : 1 que corresponde a $[\text{}^1\text{D}^{14}, ^{15}\text{D}_5]$, $[\text{}^1\text{D}_{14}, ^{15}\text{D}_5]$, $[\text{}^1\text{D}_{14}, ^{15}\text{D}^5]$ y $[\text{}^1\text{D}^{14}, ^{15}\text{D}^5]$, respectivamente.⁸⁹ Entonces, para **4** la conformación menos estable es $[\text{}^1\text{D}^{14}, ^{15}\text{D}^5]$ mientras que para su epímero desacetilado (**15**) esta conformación es la más estable, por lo menos en el estado sólido. Un espectro de ^1H RMN de alta resolución puede arrojar mucha más información acerca del comportamiento conformacional de **15**.

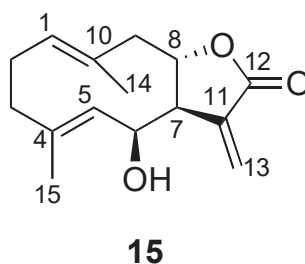


Figura 5.2 Estructura de la 6-epidesacetillaurenobiólida.

Resonancia magnética nuclear dinámica (RMND)

La RMN, además de ser una herramienta muy útil para elucidar la estructura molecular, también resulta muy útil para estudiar los aspectos dinámicos, tanto de procesos conformacionales como de las reacciones químicas. Algunos ejemplos de esto son la interconversión silla-bote del ciclohexano,¹¹⁶ la isomerización *cis-trans* de la N,N-dimetilacetamida,¹¹⁷ las reacciones de intercambio de protones, como es la protonación de

amidas,¹¹⁸ la tautomerización ceto-enol¹¹⁹ y la complejación.¹²⁰ Para que un proceso conformacional pueda ser estudiado por RMN, se tiene que cumplir que el núcleo en estudio cambie de ambiente magnético, para que el desplazamiento químico de dicho núcleo cambie y sean distinguibles entre sí. Otra condición es que la interconversión sea lo suficientemente rápida o lo suficientemente lenta (dependiendo del punto de vista que se vea), para que las señales del espectro de RMN se ensanchen. Esto significa que la rapidez de reacción debe oscilar entre los valores de 10^0 y 10^4 s⁻¹, o lo que es lo mismo, la magnitud de la energía de activación de la interconversión debe mantenerse en el orden de 4 a 25 kcal/mol.¹²¹

El ancho de un pico de un espectro de RMN depende normalmente de la relajación espín-matriz y espín-espín. Sin embargo, si hay una reacción química o un equilibrio conformacional lo suficientemente rápido o lento, el ancho del pico también se verá afectado por la rapidez de reacción.¹²¹ Si dos núcleos X (Figura 5.3) no se intercambian o lo hacen muy lentamente, en el espectro de RMN aparecerán dos señales, una para cada núcleo X (Figura 5.4), o lo que es lo mismo, se estaría obteniendo un espectro de RMN con dos moléculas distintas. Por el contrario, si el intercambio de estos dos núcleos ocurre muy rápido, en el espectro de RMN sólo se verá una sola señal (que es el promedio de las dos señales), ya que el experimento no alcanza a distinguir entre los dos núcleos debido a que el tiempo en que se intercambian es mucho más corto que el tiempo en el que se mide el espectro. Si la rapidez de reacción está entre estos dos extremos es posible estudiar su dinámica mediante RMN.

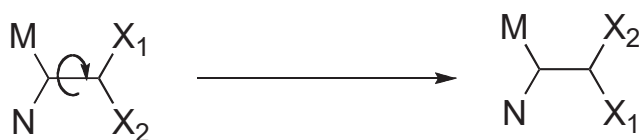


Figura 5.3

La ecuación que define la forma de la línea de un espectro de RMN se puede obtener a través de la mecánica cuántica por medio de la ecuación de Schrödinger dependiente del tiempo, o a través de la mecánica clásica con las ecuaciones de Bloch. Por ejemplo, a partir de las ecuaciones de Bloch se puede derivar la intensidad ($I(\nu)$) a la frecuencia ν para el caso del intercambio entre dos núcleos equivalentes que no se acoplan:

$$I(\nu) \propto \frac{Ck(\Delta\nu_0)^2}{k^2 \left[\left(\frac{\nu_A + \nu_B}{2} \right) - \nu \right]^2 + 4\pi(\nu_A - \nu)^2(\nu_B - \nu)^2}$$

en donde C es una constante de normalización, k es la constante de la rapidez de intercambio, ν_A y ν_B son los desplazamientos químicos en el límite en donde el intercambio entre los núcleos equivalentes A y B es muy lento y $\Delta\nu_0 = \nu_A - \nu_B$. Esta ecuación es válida siempre y cuando el ensanchamiento de la señal debida a cualquier otro proceso que no sea el intercambio de los núcleos, sea despreciable.

La ecuación que se acaba de plantear permite entender qué es lo que pasa conforme aumenta k . Cuando k es más o menos diez veces más pequeño que $\Delta\nu_0$ se está en el límite de intercambio lento y las moléculas están prácticamente quietas por lo que, como ya se mencionó, se verán dos señales cuya anchura estará determinada por la relajación espín-espín (Figura 5.4a). Conforme aumenta k las señales se van ensanchando y se van acercando una a la otra (Figura 5.4b). La separación entre las señales ($\Delta\nu$) cuando la velocidad de intercambio es moderadamente lenta está dado por:

$$\Delta\nu \propto \sqrt{\Delta\nu_0^2 - \frac{k^2}{2\pi^2}}$$

Los picos se siguen acercando conforme aumenta k hasta que coalescen (Figura 5.4c) lo que significa que $\Delta\nu = 0$, por lo que de la ecuación anterior se obtiene que $k \propto \pi\sqrt{2}\Delta\nu_0$. Si se sigue aumentando k el pico se comienza a afilar (Figura 5.4d). En este régimen de intercambio rápido-moderado, el ancho del pico tiene su origen en la rapidez de intercambio. El ancho del pico a la mitad de la intensidad ($\nu_{1/2}$) está dado por:

$$\nu_{1/2} \propto \nu_{1/2}^0 \propto \frac{\pi\Delta\nu_0^2}{k}$$

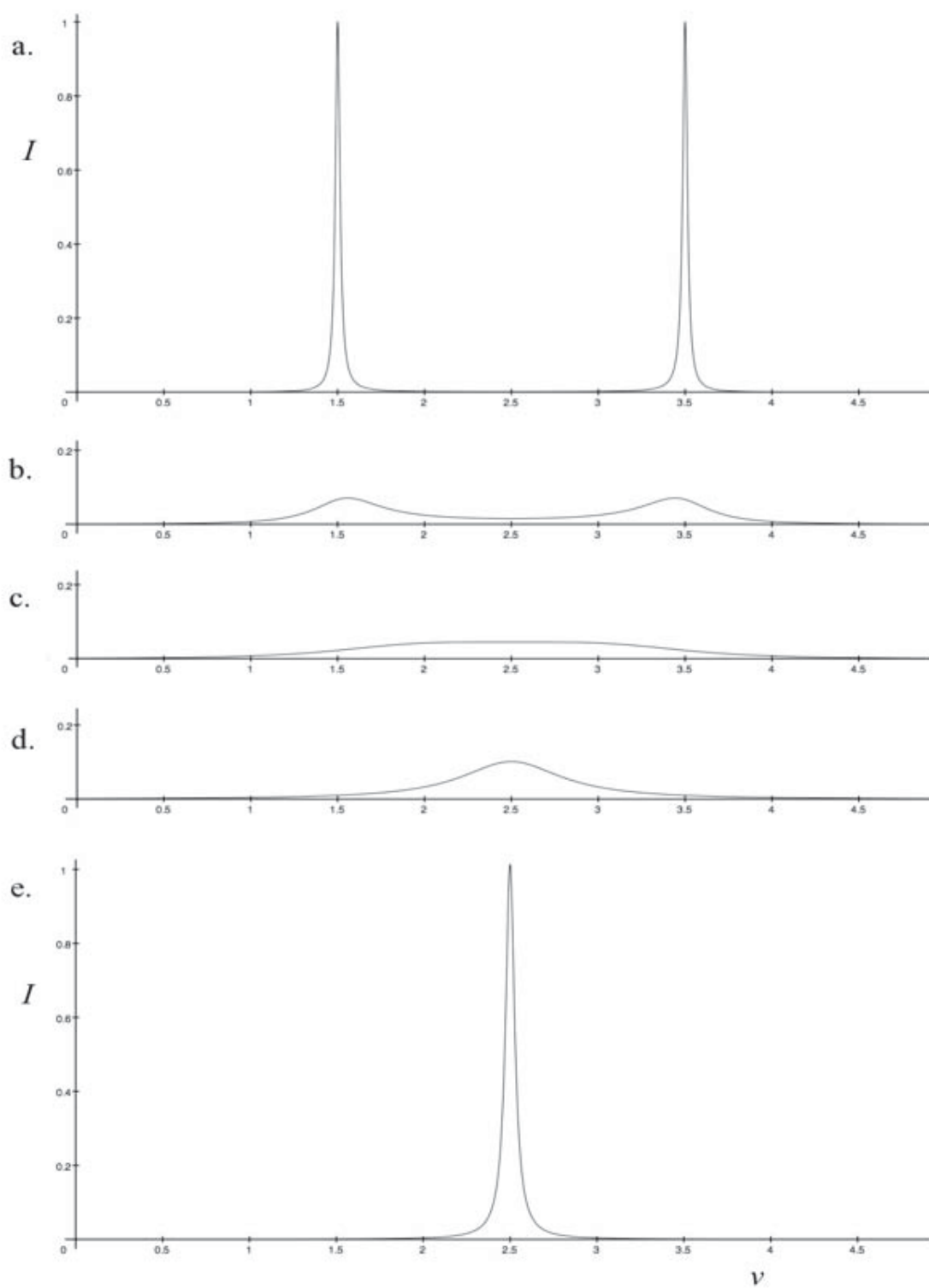


Figura 5.4 Modificación del espectro de RMN con el aumento de la temperatura en un equilibrio químico.

donde $\nu_{1/2}^0$ es el ancho debido a la relajación espin-espin. Finalmente cuando k es más o menos cien veces más grande que $\Delta\nu_0$ el segundo término de la derecha es despreciable, por lo que $\nu_{1/2} \approx \nu_{1/2}^0$. Es en este momento cuando se alcanzará el límite de intercambio rápido (Figura 5.4e). Con lo hasta ahora expuesto, es evidente que si se quiere analizar la forma de la línea de un espectro de RMN para obtener k (en el rango de velocidades donde esto es válido) es necesario primero obtener las variables del espectro de RMN cuando el intercambio está en el límite de intercambio muy lento.

Condiciones de cálculo y metodología experimental

Todos los cálculos químico-cuánticos se realizaron con Gaussian 03.⁶⁰ Todas las geometrías fueron optimizadas sin restricciones usando el método híbrido de TFD mPW1B95.⁶⁴ En el capítulo anterior se demostró que el funcional mPW1B95 es adecuado para el cálculo de energías de activación. Para la optimización y el cálculo de frecuencias se utilizó el conjunto de bases con bases polarizadas y difusas 6-31+G(d,p). Todas las energías están corregidas por la energía de punto cero y no están escaladas para efectos de comparación. El análisis NBO se llevó a cabo con la versión 3.1 incluida en Gaussian 03.⁶⁹

Los desplazamientos químicos de RMN teóricos fueron calculados al nivel VSXC/6-311+G(2d,2p) con la geometría calculada al nivel mPW1B95/6-31+G(d,p). Estudios recientes han demostrado que el funcional VSXC tiene un mejor desempeño para calcular desplazamientos químicos que otros funcionales más utilizados.¹²² Las constantes de acoplamiento spin-spin fueron calculadas al nivel B3LYP/cc-pVTZ con la geometría calculada al nivel mPW1B95/6-31+G(d,p). El método B3LYP/cc-pVTZ predice con buena precisión los acoplamientos $J(\text{HH})$.^{123,124}

Las mediciones de los espectros de RMN se hicieron utilizando como estándar interno TMS. Los espectros de ^1H fueron obtenidos a 500 MHz y los espectros de ^{13}C a 125 MHz.

Los datos fueron obtenidos a partir de soluciones de CDCl_3 , Tolueno-*d*8 y CD_3CN . Las asignaciones de cada señal se hicieron a partir de los espectros de RMN de dos dimensiones COSY, DEPT, HMBC y MC.

Se hicieron experimentos de RMN a temperatura variable para determinar el ΔG , el ΔH , el ΔG^\ddagger y el ΔH^\ddagger de los equilibrios conformacionales. Se hicieron dos series de dicho experimento para soluciones de Tolueno-*d*8. El ΔG y el ΔH se calcularon a través de la integración de las señales de los espectros de RMN a distintas temperaturas. Para calcular el ΔG^\ddagger y el ΔH^\ddagger se hizo un análisis de la forma de la línea de los espectros de RMN a las distintas temperaturas con el programa gNMR.¹²⁵ Solo se tomaron en cuenta temperaturas que estuvieran cercanas a la temperatura de coalescencia, ya que es en esta región donde los errores en el cálculo de la k se reducen. En una serie se utilizó como límite de intercambio lento al espectro de $-50\text{ }^\circ\text{C}$ y en la otra al espectro de $-15\text{ }^\circ\text{C}$, lo que no varió significativamente el resultado obtenido, como se verá más adelante.

Resultados y Análisis de Resultados

El espectro de ^1H a 500 MHz de **15** a temperatura ambiente muestra señales anchas, mientras que el espectro de ^{13}C muestra 28 señales cuando sólo deberían aparecer 15 señales, lo que sugiere un equilibrio conformacional en solución. Para saber cuales son los conformeros que participan en el equilibrio conformacional, se hizo un estudio computacional a nivel mPW1B95/6-31+G(d,p) de los posibles conformeros y se encontró que a este nivel de teoría el conformero más estable es el que tiene a C15 en posición α y a C14 en posición β [$^1\text{D}^{14}$, $^{15}\text{D}^5$] (**16**) (Figura 5.5) que es el mismo conformero que está presente en fase cristalina. Este conformero es prácticamente isoenergético con el conformero que tiene a los dos metilos en posición α [$^1\text{D}_{14}$, $^{15}\text{D}^5$] (**17**) (Figura 5.5), el cual es sólo 0.39 kcal/mol menos estable que **16**. Mucho más arriba en energía están los conformeros [$^1\text{D}_{14}$, $^{15}\text{D}_5$] (**18**) y [$^1\text{D}^{14}$, $^{15}\text{D}_5$] (**19**) (Figura 5.5), que son 3.72 y 3.87 kcal/mol menos estables que **16**, respectivamente.

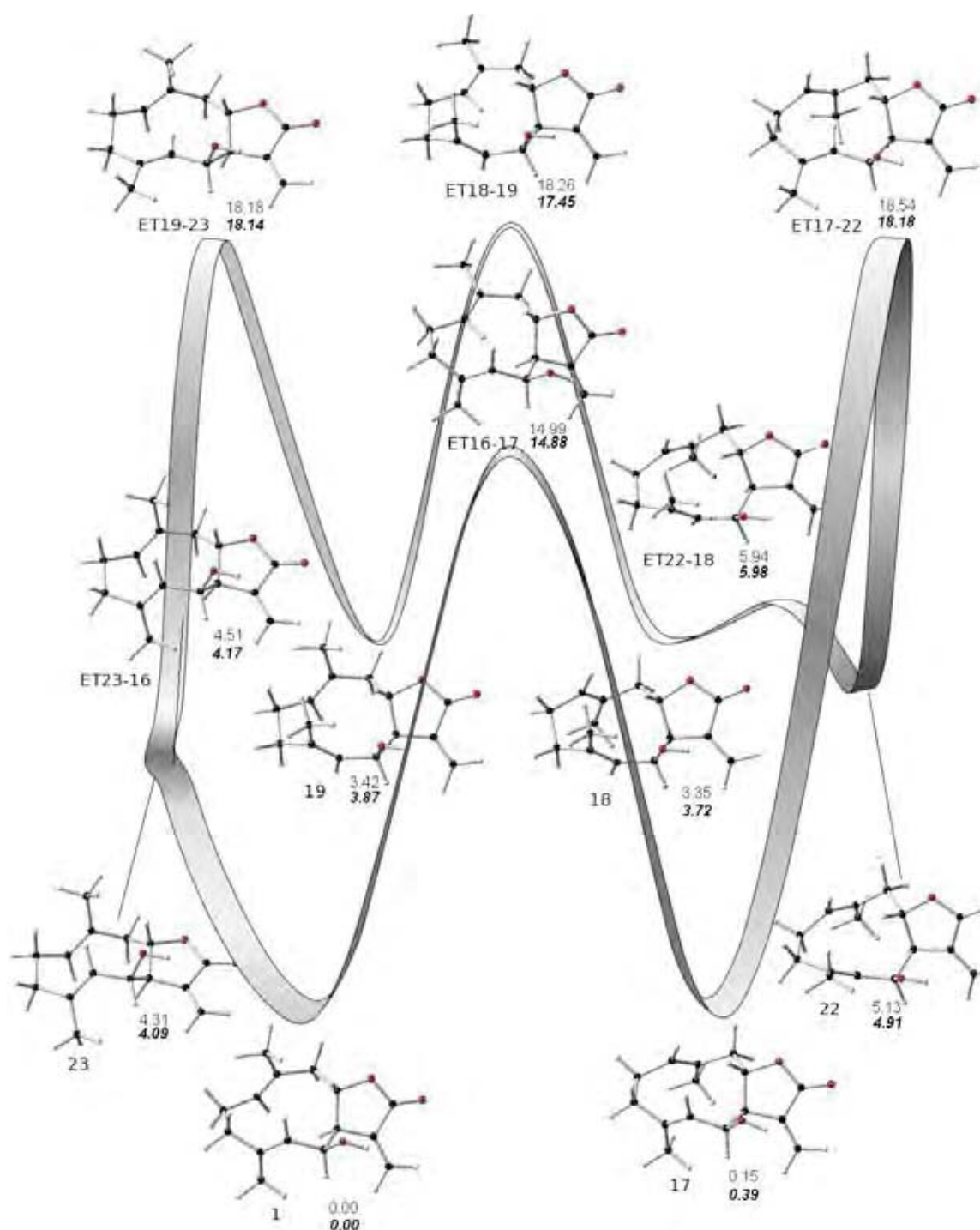


Figura 5.5 Conforméres y estados de transición en el equilibrio conformacional de **15**. Energía relativa en kcal/mol y en negritas la energía relativa con corrección del punto cero.

Desde el punto de vista teórico, las diferencias energéticas entre los cuatro conformeros parece deberse sólo a la rotación del enlace doble C4-C5, ya que cuando gira el enlace C1-C10 la energía prácticamente no cambia, lo que podría descartar la posibilidad de que la estabilización tenga su origen en una interacción transanular. La estabilización podría deberse a la interacción del enlace doble con los grupos vecinos con los que está directamente enlazado, a lo que se llama tensión alílica ($A^{1,3}$).¹²⁶⁻¹²⁸ Para evaluar esto se estudió el 4-Metil-3-penten-2-ol (**20**, Figura 5.6) como modelo del segmento C3-C4(C15)-C5C6-C7 libre de interacciones transanulares, por lo que **20** es útil para evaluar en qué grado la diferencia energética es debida sólo a la interacción entre grupos vecinos. Para eliminar la tensión debida al anillo se optimizó la geometría de cuatro conformeros de **20** en los cuales se fijó el ángulo diedro C4-C5-C6-O6 con el valor encontrado para los conformeros **16**, **17**, **18** y **19** en el mismo segmento. La diferencia de energía entre los conformeros en los cuales el enlace C6-H es el que se encuentra eclipsado con el enlace doble y los conformeros en los que el enlace C6-O se encuentra eclipsado con el doble enlace, es alrededor de 2 kcal/mol (Tabla 5.1). Cui, *et al.* encontraron que para un sistema similar (pent-3-en-2-ol) la diferencia entre el conformero en el que el enlace doble se encuentra eclipsado con C-H y en el que se encuentra eclipsado con C-O es de 2.28 kcal/mol al nivel B3LYP/6-31+G(d,p).¹²⁹ Lo anterior indica que la diferencia de energía entre los conformeros de **15** en los que C15 tiene orientación α y los que tienen orientación β se debe principalmente, aunque no exclusivamente, a que el enlace doble C4-C5 prefiere estar eclipsado con el enlace C6-H que estar eclipsado con el enlace C6-O, lo que es un ejemplo de $A^{1,3}$. El resto en la diferencia de energía entre **16** y **19** y entre **17** y **18** parece provenir del segmento que contiene al enlace doble C10-C1 (**21**, Figura 5.6), ya que los conformeros de **21** con la geometría de **16** y **17** son mucho más estables que los otros dos (Tabla 5.1) en este segmento la diferencia se debe a la tensión anular (*vide supra*).

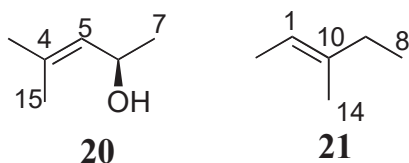


Figura 5.6 Modelos usados para evaluar interacciones independientes del anillo.

Tabla 5.1. Energía de las moléculas **20** y **21** usadas como modelos de lo segmentos de **15**. El ángulo diedro C4-C5-C6-O está fijo al valor encontrado en los conformeros **16**, **17**, **18** y **19**. Puntos simples de energía para **20** y **21** con la geometría que tiene en los conformeros **16**, **17**, **18** y **19**.

Modelo	Variables Fijas	Valor	Energía(kcal/mol)
20		-159°	0.00
	C4-C5-C6-O	-168°	0.22
		13°	1.96
		17°	1.95
		Como en 16	0.00
	Todas	Como en 17	0.04
		Como en 18	1.43
Como en 19		1.57	
21	Todas	Como en 16	0.00
		Como en 17	0.93
		Como en 18	2.08
		Como en 19	1.89

Las diferencias en energía entre **16** y **17** y entre **18** y **19** se deben a la rotación del enlace doble C10-C1. Este enlace doble sólo se puede eclipsar con enlaces C-H, por lo que las interacciones con el enlace doble son todas iguales y la diferencia en energía tendría que provenir, ya sea de la tensión debida al anillo o de la interacción transanular. La molécula **21** permite estimar la energía debida a la tensión anular en el segmento en cuestión. En este caso sólo se calculó un punto de energía de los conformeros de **21** con la geometría de **16**, **17**, **18** y **19** (Tabla 5.1) sin hacer optimización de geometría. La diferencia de energía entre **16** y **17** no puede deberse sólo a las diferencias en energía en el segmento que modela **21**, ya que la diferencia en este segmento para **21** es muy grande, mientras que las diferencias en el segmento que modela **20** de **16** y **17** es prácticamente nula (Tabla 5.1), por lo que la diferencia tan grande en el segmento **21** debe disminuir de alguna forma. La energía debida

a la interacción transanular de los dobles enlaces podría ser la causa; de hecho, al hacer el análisis NBO de la interacción $\pi_{C4=C5} \rightarrow \pi^*_{C1=C10}$ se encontró que para **16** dicha interacción es de 0.2 kcal/mol mientras que para **17** es de 0.89 kcal/mol, lo que disminuiría la diferencia de energía en el segmento que modela **21** de **16** y **17**. En el caso de los conformeros **18** y **19** sucede algo similar, dicha interacción tiene un valor de 0.1 kcal/mol para **18** y 0.6 kcal/mol para **19**. Por lo tanto, las diferencias en energía entre **16** y **17** y entre **18** y **19** se deben tanto a la tensión anular como a la interacción transanular.

La diferencia en energía entre los conformeros de menor energía de **15** indica que ambos coexisten en solución. Como se verá, el estudio de RMN ^1H a temperatura variable en un equipo de 500 MHz confirma esto, aunque no establece que conformeros son los presentes. De acuerdo a la predicción teórica, al bajar la temperatura se deben de ver señales bien definidas que correspondan a cada uno de los conformeros presentes en solución. De estos experimentos se pudo comprobar la existencia de dos conformeros, ya que a $-20\text{ }^\circ\text{C}$ en CD_3CN se observaron dos conjuntos de señales independientes, esto es, señales duplicadas para casi todos los átomos de hidrógeno en la molécula. Por ejemplo, a campo bajo se observan cuatro dobletes, dos de éstos corresponden a los átomos $\text{H13}\alpha$ de cada uno de los conformeros (δ 5.83 y 5.85) y los otros dos a $\text{H13}\beta$ (δ 6.30 y 6.28) (Tabla 5.2). A campos un poco más altos se observan una señal triple (δ 5.12) que corresponde a H1 del conformero mayoritario (que correspondería a **16** si se cumple lo predicho por la teoría) y dos señales dobles anchas superpuestas (δ 5.07 y 5.04) que corresponden a los protones H5 y H1 del conformero minoritario (que correspondería a **17** si se cumple lo predicho por la teoría), respectivamente. En δ 4.89 se encuentra la señal doble ancha correspondiente a H5 del conformero mayoritario. En δ 4.71 y 4.72 se observan dos señales superpuestas, correspondientes a H6 del conformero mayoritario y H8 del conformero minoritario, respectivamente, mientras que a δ 4.62 y 4.56, claramente resueltas se observan las señales correspondiente a H6 y H8 para los conformeros minoritario y mayoritario, respectivamente. (Figura 5.7a). En el espectro a $-20\text{ }^\circ\text{C}$ en tolueno- d_8 se encuentra un situación similar con la diferencia de que en este caso se presentan desplazamientos diamagnéticos y paramagnético debidos al carácter aromático del disolvente y como

consecuencia se observa una mejor resolución de algunas señales. Así, las señales de H5 se observan bien resueltas y separadas como señales dobles a δ 4.89 y 5.07 para el conformero mayoritario y minoritario, respectivamente (Figura 5.7b). Integrando ambas señales es posible determinar la población de ambos conformeros, que en este caso es de 62:38.

Tabla 5.2 Asignación del espectro de ^1H de **15** en CD_3CN a -20°C .

H	Conformero Mayoritario	Conformero Minoritario
1	5.12	5.04
2	2.38	2.43
	2.15	2.10
3	2.15	2.15
	2.15	2.10
5	4.89	5.07
6	4.71	4.62
7	2.79	2.76
8	4.56	4.72
9 α	2.53	2.88
9 β	2.15	1.65
13	5.83	5.85
	6.30	6.28
14	1.64	1.63
15	1.55	1.55

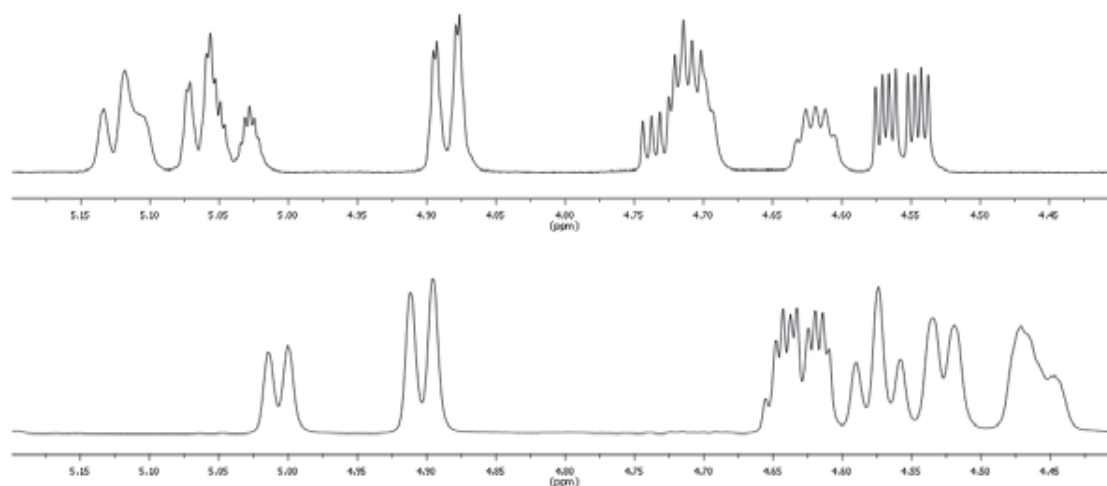


Figura 5.7 Región de 4.40 a 5.20 ppm del espectro de ^1H de **15** a -20°C a) en CD_3CN y b) en Tolueno- d_8

Para determinar que conformeros están presentes en solución, aparte del cálculo de energías de cada uno de ellos, se calcularon los desplazamientos químico de ^{13}C de los cuatro conformeros a nivel VSXC/6-311+G(2d,2p) y se compararon con los desplazamientos químicos experimentales en CD_3CN a $-20\text{ }^\circ\text{C}$. La raíz cuadrada media (RCM) de las diferencias entre los desplazamientos químicos experimentales y los calculados (Tabla 5.3), muestran que las señales que corresponden al conformero minoritario corresponden al conformero **17**, ya que es este conformero el que tiene la menor RCM. Para el caso de las señales que corresponden al conformero mayoritario, éstas concuerdan más adecuadamente con los desplazamientos químicos calculados para el conformero **16**. Por ejemplo, el C1 que es uno de los carbonos que rota en el equilibrio conformacional y que por lo tanto ve modificado su ambiente químico en cada uno de los conformeros. La diferencia entre el valor calculado para el conformero **16** con la señal experimental del conformero más abundante es de 4.38 ppm, mientras que con la señal del conformero minoritario es mucho mayor, en este caso 9.56 ppm. En el caso del conformero **17** sucede lo contrario al comparar el desplazamiento calculado para C1 con la señal de los conformeros de interés, ya que para el más abundante este valor es de 4.53 mientras que para el menos abundante es de apenas 0.65. También se calcularon las constantes de acoplamiento al nivel B3LYP/cc-pVTZ y se compararon con las constantes de acoplamiento experimentales $^3J(\text{H5-H6})$, $^3J(\text{H6-H7})$, $^3J(\text{H7-H8})$, $^3J(\text{H8-H9}\alpha)$, $^3J(\text{H8-H9}\beta)$ y $^3J(\text{H9}\alpha\text{-H9}\beta)$ (Tabla 5.4), que son las constantes que deben modificarse más intensamente con el cambio conformacional. En este caso el RCM de las diferencias entre constantes de acoplamiento calculadas y experimentales indican con más claridad que el conformero **16** es el más estable, y que el que le sigue en estabilidad es **17**.

Tabla 5.3 Diferencias entre los desplazamientos químicos de ^{13}C de **15** medidos en CD_3CN a $-20\text{ }^\circ\text{C}$ con respecto a los calculados al nivel VSXC/6-311+G(2d,2p) para los conformeros **16**, **17**, **18** y **19**.

Conformero mayoritario					
	Exp.	$\Delta 16$	$\Delta 17$	$\Delta 18$	$\Delta 19$
C1	126.25	4.38	-4.53	1.00	-2.90
C2	24.63	-7.34	-6.14	-5.49	-5.82
C3	37.22	-8.29	-8.85	-10.29	-10.55
C4	135.76	-1.49	-2.91	-3.47	-4.03
C5	129.92	3.96	1.85	7.06	4.88
C6	70.02	-7.51	-10.00	-12.11	-11.42
C7	51.52	-7.81	-5.42	-9.30	-11.27
C8	76.91	-1.80	-4.99	-9.92	-4.16
C9	46.45	-8.09	-0.31	-3.26	-8.40
C10	133.32	-2.78	3.76	-0.99	1.29
C11	137.85	0.48	0.79	0.44	-0.28
C12	170.84	10.54	10.03	10.78	10.63
C13	123.38	6.41	5.52	6.80	7.20
C14	17.36	-3.07	-8.43	-7.11	-3.01
C15	16.42	-2.95	-3.92	-2.26	-2.26
RCM		5.91	5.97	7.12	6.93
Conformero minoritario					
	Exp.	$\Delta 16$	$\Delta 17$	$\Delta 18$	$\Delta 19$
C1	131.43	9.56	0.65	6.18	2.28
C2	25.04	-6.93	-5.73	-5.08	-5.41
C3	38.77	-6.74	-7.30	-8.74	-9.00
C4	135.99	-1.26	-2.68	-3.24	-3.80
C5	131.73	5.77	3.66	8.87	6.69
C6	70.89	-6.64	-9.13	-11.24	-10.55
C7	49.26	-10.07	-7.68	-11.56	-13.53
C8	79.31	0.60	-2.59	-7.52	-1.76
C9	40.90	-13.64	-5.86	-8.81	-13.95
C10					
C11	137.70	0.33	0.64	0.29	-0.43
C12					
C13	123.70	6.73	5.84	7.12	7.52
C14	21.18	0.75	-4.61	-3.29	0.81
C15	16.56	-2.81	-3.78	-2.12	-2.12
RCM		6.82	5.27	7.28	7.49

Tabla 5.4 Diferencias entre las constantes de acoplamiento indicadas medidas en CD₃CN a -20 °C con respecto a los calculados al nivel B3LYP/cc-pVTZ para los conformeros **16**, **17**, **18** y **19**.

Conformero mayoritario						
Tipo de acoplamiento	Exp.	Δ 16	Δ 17	Δ 18	Δ 19	
³ J(H5-H6)	7	-0.06	-1.57	-3.23	-2.28	
³ J(H6-H7)	3	-0.3	0.3	-0.58	-1.17	
³ J(H7-H8)	5	-1.04	-2.84	-1.06	-0.42	
³ J(H8-H9 β)	2.5	0.07	3.67	1.55	2.72	
³ J(H8-H9 α)	12	-1.67	-1.36	-1.74	-3.63	
³ J(H9 α -H9 β)	12	-0.3	1.5	0.71	0.49	
	RCM	0.822	2.168	1.724	2.143	
Conformero minoritario						
	Exp.	Δ 16	Δ 17	Δ 18	Δ 19	
³ J(H5-H6)	7	-0.06	-1.57	-3.23	-2.28	
³ J(H6-H7)	3	-0.3	0.3	-0.58	-1.17	
³ J(H7-H8)	3	0.96	-0.84	0.94	1.58	
³ J(H8-H9 β)	6	-3.43	0.17	-1.95	-0.78	
³ J(H8-H9 α)	11.5	-1.17	-0.86	-1.24	-3.13	
³ J(H9 α -H9 β)	13.5	-1.8	0	-0.79	-1.01	
	RCM	1.702	0.819	1.714	1.848	

La superficie de energía potencial brinda una buena idea de como es que **16**, **17**, **18** y **19** se intercambian entre sí, por lo que se buscaron los estados de transición que unen a los conformeros antes descritos. Los ET se generan al rotar los enlaces vecinos a los enlaces dobles C4-C5 y C1-C10. En todos los ET encontrados el átomo hidrógeno del enlace doble queda orientado hacia adentro del anillo. No se encontró ningún estado de transición donde los metilos C14 o C15 quedarán orientado hacia adentro del anillo (Figura 5.5). Al hacer la búsqueda de los estados de transición que unirían al conformero **17** con el **18**, se encontró un mínimo de energía que en forma similar al conformero **18** tiene a C14 en posición α y a C15 en posición β —la única diferencia entre ellos es que el ángulo diedro H2 β -C2-C3-H3 β está rotado 80.8° en el sentido de las manecillas del reloj (**1**, Figura 5.5). El intermediario **22** es necesario para que suceda el intercambio entre **17** y **18**, ya que no fue posible ubicar ningún estado de transición que uniera directamente a **17** con **18**. Algo similar ocurre cuando el conformero **19** se intercambia con el conformero **16**, en este caso la rotación del

dihedro H2 β -C2-C3-H3 β es en sentido opuesto a las manecillas del reloj y permite localizar el estado estacionario **23**.

La barrera energética para el intercambio entre **16** y **17** es de 14.99 kcal/mol (ver Tabla 5.5), la cual es suficientemente grande como para que a temperatura ambiente pueda observarse la interconversión entre éstos. En comparación, la barrera conformacional en el ciclohexano es del orden de 10 kcal/mol.⁷¹ La barrera energética cuando **17** se intercambia con el intermediario **22** es de 18.39 kcal/mol, por lo que es de mayor energía. Además, **17** es mucho más estable que **22** (4.99 kcal/mol). La energía de activación entre los conformeros **22** y **18** es muy pequeña, menos de 1 kcal/mol, por lo que siendo **18** 1.79 kcal/mol más estable que **22**, éste se transformará rápidamente en **18**. Las energías de activación para los pasos elementales conformacionales que intercambian **18** con **19** y **19** con **23** son muy parecidas y están en el orden de 15 kcal/mol. La energía de activación entre **23** y **16** es muy pequeña. De hecho, al corregir la energía con la energía punto cero la barrera desaparece del todo, además **16** es sustancialmente más estable que **23**, por lo que una vez que se forma éste la población conformacional de **16** se incrementaría rápidamente. Cabe resaltar que aunque la energía de activación para que el ángulo diedro H2 β -C2-C3-H3 β rote es muy pequeña, esta rotación sólo ocurre cuando los enlaces que rotan son vecinos al enlace doble C4-C5, sin embargo, cuando la rotación está asociada al enlace doble C1-C10 el ángulo diedro H2 β -C2-C3-H3 β no necesita rotar. La causa de que la rotación de H2 β -C2-C3-H3 β suceda es que para el conformero **16** el ángulo transanular C10-C5-H es 73°, mientras que para **23** es 56°. Algo similar ocurre al comparar los estados estacionarios **18** y **22**, en este caso, para **18**, dicho ángulo es igual a 74° mientras, que para el segundo es de 53°. Entonces, lo que desestabiliza a **22** y **23** es que el enlace C5-H está apuntando hacia el interior del anillo, mientras que en el caso de **18** y **16** prácticamente no, por lo que resulta forzoso que cuando se forma **22** o **23** se dé la rotación del ángulo diedro para estabilizarse.

Tabla 5.5 Energías de activación en kcal/mol calculadas al nivel mPWB95/6-31+G(d,p) con respecto al conformero inmediato anterior.

	E_{act}	$E_{act+cero}$
ET16-17	14.99	14.88
ET17-22	18.39	17.79
ET22-18	0.81	1.06
ET18-19	14.90	14.02
ET19-23	14.76	14.28
ET23-16	0.20	-0.09

Dado que las señales de H5 son las que mejor se separan para ambos conformeros en el espectro que se registró en tolueno-*d*8, se integraron estas señales para calcular el valor de ΔH y de ΔG asociados al equilibrio conformacional, los cuales se compararon con los obtenidos con el funcional mPW1B95 (Tabla 5.6). No fue posible determinar el valor del ΔH , ya que el valor de las integraciones de las señales antes mencionadas no varía apreciablemente con la temperatura, por lo que el ΔH debe tener un valor próximo a cero.

Tabla 5.6 ΔG , ΔH^\ddagger y ΔG^\ddagger en kcal/mol experimentales y calculadas con el funcional mPW1B95.

	mPW1B95	Exp
ΔG	1.04	0.32
ΔG^\ddagger	15.79	15.71
ΔH^\ddagger	14.43	14.66

Para obtener el valor experimental de ΔH^\ddagger y ΔG^\ddagger se hizo el análisis completo de la forma de la línea de los espectros de ^1H NMR a distintas temperaturas. En la Figura 5.8 se presentan los espectros experimentales y los simulados con el programa gNMR en la región donde aparecen las señales de H5 a distintas temperaturas. El ΔG^\ddagger experimental a 25 °C se obtuvo directamente del valor de k obtenido con el programa gNMR. El ΔH^\ddagger experimental se obtuvo ajustando los valores de k obtenidos a distintas temperaturas con la ecuación (Figura 5.9)

$$\ln \frac{k}{T} \square - \frac{\Delta H^\ddagger}{R} \left(\frac{1}{T} \right) \square \frac{\Delta S^\ddagger}{R} \square \ln \left(\frac{k_B}{h} \right)$$

Los datos calculados concuerdan bien con los datos experimentales y predicen adecuadamente el orden de estabilidad, lo que indica que el nivel de teoría fue el adecuado. La diferencia entre el ΔH^\ddagger y ΔG^\ddagger experimental y el calculado es muy pequeña (Tabla 5.6). En el caso del ΔG la diferencia entre el experimental y el calculado también es muy pequeña, aunque en este caso es mucho más significativa ya que el valor del ΔG es muy pequeño.

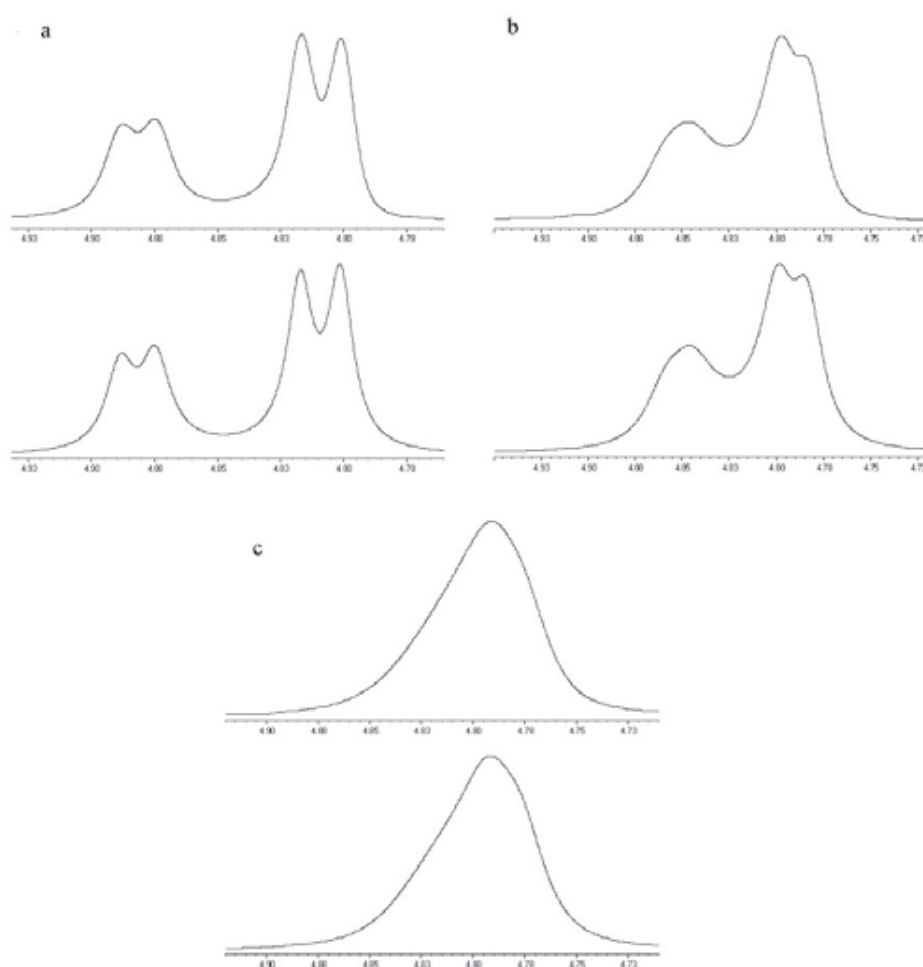


Figura 5.8 Arriba, espectro experimental, abajo, espectro teórico. a) A 12 °C, b) a 24 °C y c) a 36 °C.

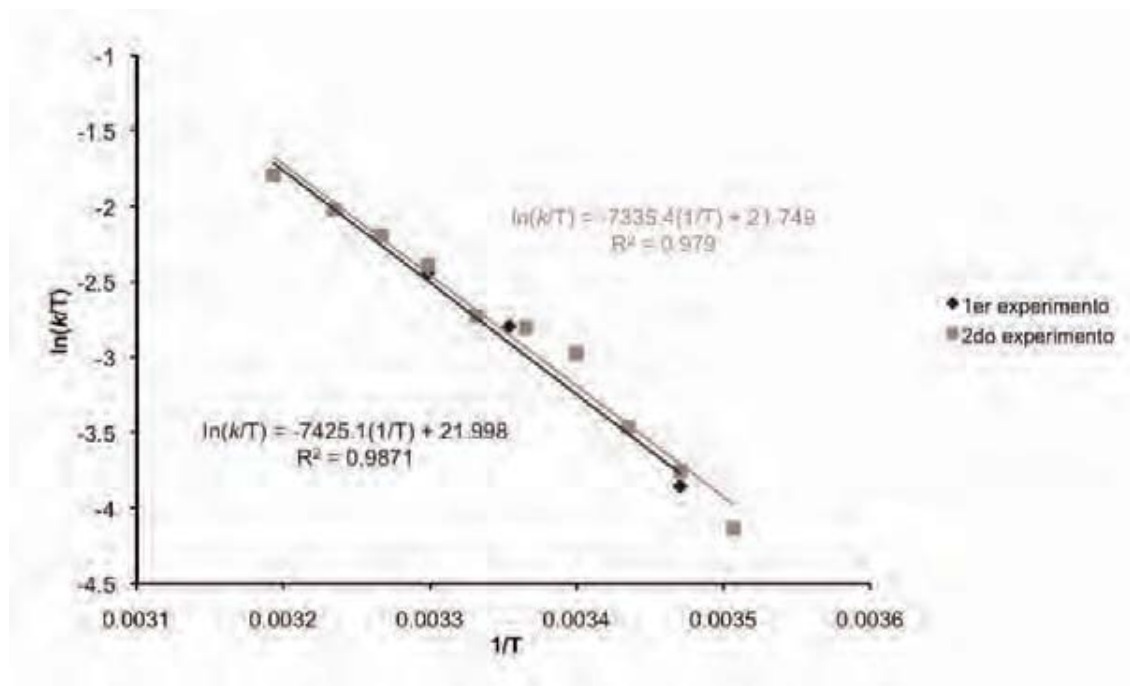


Figura 5.9 Ajuste lineal para las k obtenidas experimentalmente a distintas temperaturas.

Conclusiones

La propuesta biogenética de Fischer encuentra un amplio apoyo con los resultados aquí presentados, dado que los dos confórmeros responsables de los epímeros en C10 de las pseudoguayanólidas del grupo de las ambrosanólidas y helananólidas coexisten en solución, por lo que las plantas que las producen requieren de la incorporación de enzimas capaces de seleccionar exclusivamente uno de los confórmeros posibles.

En solución, la 6-*epi*-desacetil-laurenobiólida (**15**) existe como una mezcla de los confórmeros **16** y **17** mientras que los otros cuatro confórmeros posibles no son detectables (**18**, **19**, **22** y **23**). Tanto en el confórmero **16** como en el **17**, el átomo C15 está en posición α por lo que la orientación β es mucho menos estable, esto se debe principalmente a la tensión alílica que se genera cuando el metilo 15 está eclipsado con el oxígeno del hidroxilo. Las pequeñas diferencias en energía entre los confórmeros **16** y **17** se deben a un

balance entre efectos: por un lado, las interacciones transanulares que favorecen a **17** y, por el otro la tensión que se genera en el segmento **21** a causa del anillo favorece a **16**.

Al analizar la superficie de energía potencial de **15** se encontraron dos conformeros, (**22** y **23**) que hasta donde sabemos nunca antes se habían descrito. Aunque, **22** y **23** no son energéticamente favorecidos, éstos son intermediarios en los equilibrios conformacionales entre **17** y **18** y entre **19** y **16**, respectivamente.

La determinación inequívoca de que los conformeros **16** y **17** son los que están presentes en solución se logró comparando tanto los desplazamientos químicos de ^{13}C calculados al nivel VSCX/6-311+G(2d,2p) como los acoplamientos $^1\text{J}_{\text{H-H}}$ calculados al nivel B3LYP/cc-pVTZ con los espectro experimentales de RMN. Lo anterior es notable, ya que podría haber realizado todo el análisis conformacional únicamente con el espectro de ^1H y los cálculos TFD.

El ΔH^\ddagger , ΔG^\ddagger y el orden de estabilidad calculados con el nivel de teoría mPW1B95/6-31+G(d,p) concuerdan adecuadamente con los determinados experimentalmente, por lo tanto este funcional resulta ser adecuado para estudiar equilibrios conformacionales de este tipo.

6. Estudio de la transposición de Cope en germacranólidas con geometrías *Z,E* y *E,E*

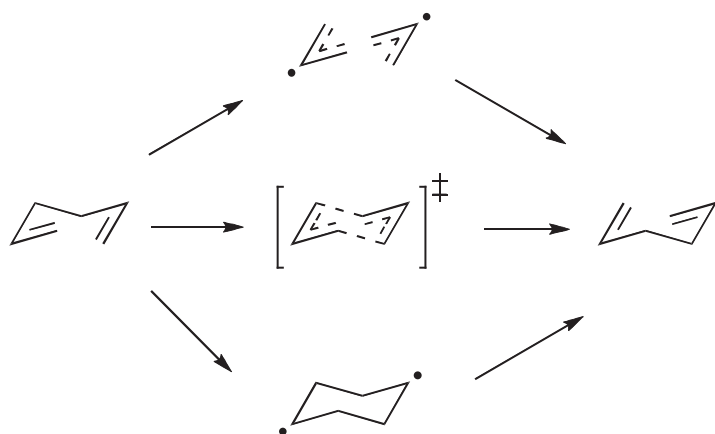
Antecedentes

Transposición de Cope

La transposición de Cope es una reacción sigmatrópica [3,3], esto es el producto neto de la reacción que corresponde al desplazamiento de un enlace sigma recorriendo tres átomos por cada uno de sus extremos. Se ha propuesto que esta transposición procede a través de un intermediario o un ET en forma de un anillo de seis miembros. La mayoría de las veces la reacción procede a través de un mecanismo donde sólo hay un ET, en el cual la densidad electrónica está deslocalizada entre los 6 átomos de carbono. También se ha propuesto que el ET en forma de silla es siempre el de menor energía comparado con el de bote. Se ha estimado que esta diferencia es de aproximadamente 12 kcal/mol.^{27,130-137} El mecanismo concertado puede tener contribuciones importantes por parte de otros dos mecanismos alternos (Esquema 6.1), sobre todo si el dieno está sustituido por grupos estabilizadores de radicales libres.^{135,138,139} En el primero de estos mecanismos, se propone como primer paso que el enlace entre los carbonos alílicos se rompe formando dos radicales alilo como intermediarios para que posteriormente éstos se recombinen entre sí formando un nuevo enlace C-C. En el segundo mecanismo se propone que inicialmente se forme el enlace C-C formando como intermediario un diradical 1,4-dialilciclohexano.

La entalpía de activación experimental para la transposición de Cope del 1,5-hexadieno es de 33.5 kcal/mol.¹⁴⁰ Este valor para la entalpía de activación descarta el mecanismo que propone la formación de dos radicales alilo, ya que la estimación para la disociación del 1,5-hexadieno en los dos radicales está alrededor de las 60 kcal/mol, lo que supera por mucho el valor experimental. Discernir si el mecanismo en el cual se forma el diradical 1,4-diilciclohexano era la contribución más importante o no, fue más difícil, ya que

cálculos CCSD(T) daban una diferencia de apenas 0.1 kcal/mol entre este diradical y el ET deslocalizado.¹⁴¹ La naturaleza de esta reacción se obtuvo al analizar la función de onda de un cálculo CASSCF, la cual indicó que la parte aromática es la que más contribuye a la función de onda.¹⁴²



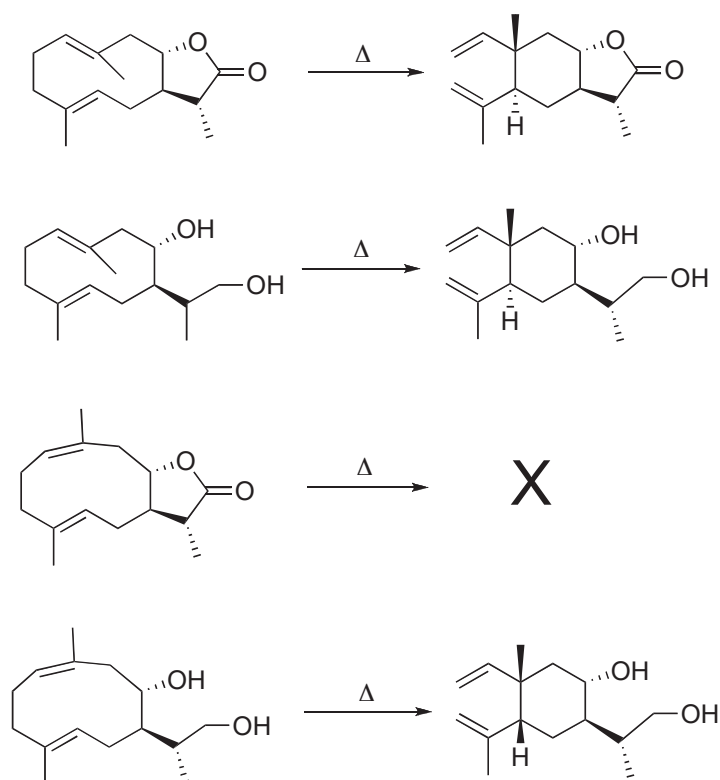
Esquema 6.1 Distintos mecanismos para la transposición de Cope

Formación de elemanólidas

Se ha postulado que los germacranos son precursores biogénicos de los elemanos,^{7,27,28,143} ya que los germacranos se transforman al calentarlos en elemanos por medio de la transposición de Cope (Esquema 6.2). De hecho, en algunas ocasiones la transformación es tan fácil que en muchos casos los elemanos son meramente artefactos creados en el momento de la extracción.^{133,144-146} También se sabe que en varias ocasiones los elemanos y los germacranos se encuentran en equilibrio,^{147,148} lo cual indica que éstos tienen energías similares y que la energía de activación es baja. Debido a que la reacción de Cope es concertada, la configuración de los elemanos formados a partir de germacranos sólo depende del conformero del germacrano que lleva a cabo la transposición de Cope.^{134,137,149} Para dienos en sistemas abiertos los conformeros que normalmente reaccionan son los que tienen los dobles enlaces cruzados, ya que son éstos los que pueden generar el ET en forma de silla. Otro factor que influye en determinar cual es el conformero de partida, es el hecho

de que los germacranos prefieren a los sustituyentes voluminosos en posición pseudo-equatorial.^{106,144,150} Por todo lo anterior, normalmente los germacranos sólo adoptan una, o si acaso, dos de las configuraciones posibles del elemmano.

Debido a que el ET en forma de silla es la conformación preferida por la transposición de Cope, se sabe que los *E,E*-germacranos sometidos a esta transposición producen principalmente el *trans*-elemmano correspondiente, mientras que los *Z,E*-germacranos producen el *cis*-elemmano con algunas cuantas excepciones.¹⁵¹⁻¹⁵⁴ Takeda et al. demostraron que el anillo de lactona de 5-miembros en los *Z,E*-germacranos tiene un efecto muy importante en la transposición de Cope.¹⁵³ Los *E,E*-germacranos, con o sin anillo de lactona, producen el elemmano correspondiente (a y b, Esquema 6.2), mientras que los *Z,E*-germacranos sólo producen el elemmano correspondiente cuando el anillo de lactona está ausente (c y d, Esquema 6.2).



Esquema 6.2 Transposición de Cope para *E,E*-germacranólidas, *E,E*-germacranos, *Z,E*-germacranólidas y *Z,E*-germacranos.

La eschkuriólida (**1**) (Figura 6.1) es una lactona sesquiterpénica del grupo de las melampólidas que se ha encontrado que coexiste en la misma fuente natural con la elemanoeschkuriólida (**2**), una elemanólida con estereoquímica $C_{14}\alpha H_{\beta}$ la cual es similar estructuralmente a la eschkuriólida. Con el fin de saber si **1** y **2** están relacionadas biogénicamente, Delgado *et al.* realizaron el estudio biomimético de dicha transformación calentando a 200 °C por 10 minutos el compuesto **1**, lo que produjo una pequeña cantidad del compuesto **2**; estos resultados sugieren de manera importante que **1** es precursor biogénico de **2**.¹⁵¹ Esta transformación resulta muy interesante, ya que hay pocos casos reportados de transformaciones biomiméticas de un germacradieno en un elemano en donde se puede postular un ET en forma de bote, ya que sólo este ET explica la estereoquímica observada en el elemano (Esquema 6.3a).^{150,151,155} Para explicar la transformación de **1** en **2** también se ha postulado que en lugar de que se forme el ET en conformación de bote, la melampólida primero se isomeriza al germacrano (isomerización *cis-trans*) y que es esta última la que efectúa la reacción de Cope, pues ésta sí puede generar el ET en forma de silla y dar la estereoquímica correcta del elemano (Esquema 6.3b).¹⁵²⁻¹⁵⁴

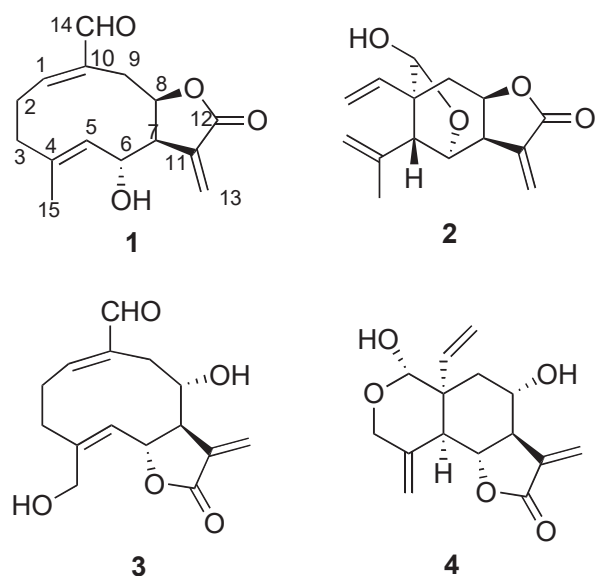
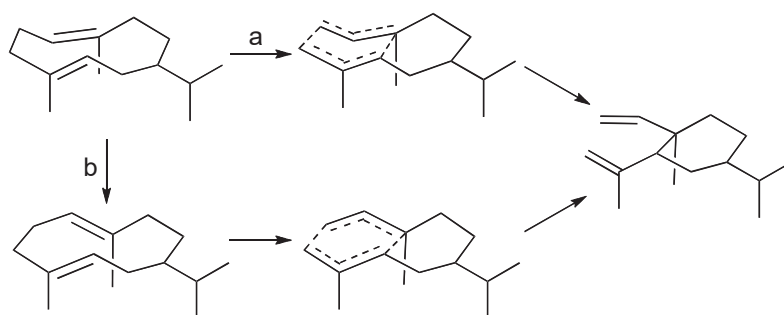


Figura 6.1 Gemacranólidas y elemanólidas estudiadas.

La melampólida **3** (Figura 6.1) se extrajo de *Jurinea leptoloba*, al igual que la elemanólida **4**, por lo que se propuso que **3** debe ser el precursor biogénico de **4**, ya que ambas coexisten en la misma fuente natural.¹⁵⁶ El producto de la isomerización de **3** no ha sido detectado en la planta. Este caso resulta ser muy similar al de la transformación de **1**, ya que además de ser la transformación de una melampólida en una elemanólida en donde se puede postular un ET de Cope en forma de bote, también en este caso una vez que sucede la reacción de Cope la elemanólida se hemiacetaliza, la diferencia estriba en que en este caso la lactona mantiene una estereoquímica *trans* en C6.



Esquema 6.3 Posibles mecanismos para la transformación de un *Z,E*-germacrano en un *trans*-elemano. a) A través de un ET en forma de bote. b) A través de una isomerización *cis-trans* y un ET en forma de silla.

Condiciones de cálculo

Todos los cálculos químico cuánticos se realizaron con Gaussian 03.⁶⁰ Todas las geometrías fueron optimizadas sin restricciones usando el método híbrido de TFD mPW1B95.⁶⁴ En los capítulos anteriores se demostró que el funcional mPW1B95 es adecuado para el cálculo de energías de activación. Para la optimización de geometría y el cálculo de modos normales de vibración se utilizó el conjunto de bases con bases polarizadas y difusas, 6-31+G(d,p). Todas las energías están corregidas por la energía de punto cero y no están escaladas para efectos de comparación. Se calculó la coordenada intrínseca de reacción (CIR) si el ET no mostraba con claridad que éste unía a dos intermediarios en específico.

Resultados y Análisis de resultados

Para comenzar el estudio, se determinó si el mecanismo en el cual se postula un ET en forma de bote (Esquema 6.3a) es energéticamente factible para la transformación de **1** en **2**. En la Figura 6.2 se muestra la energía de los mínimos y los ET involucrados en dicha transformación. Como referencia se tomó al conformero **1a**. Se hizo el estudio conformacional de **1**, ya que se sabe que la esteoquímica del producto, en este caso **2**, va a depender del conformero del germacrano que reacciona.

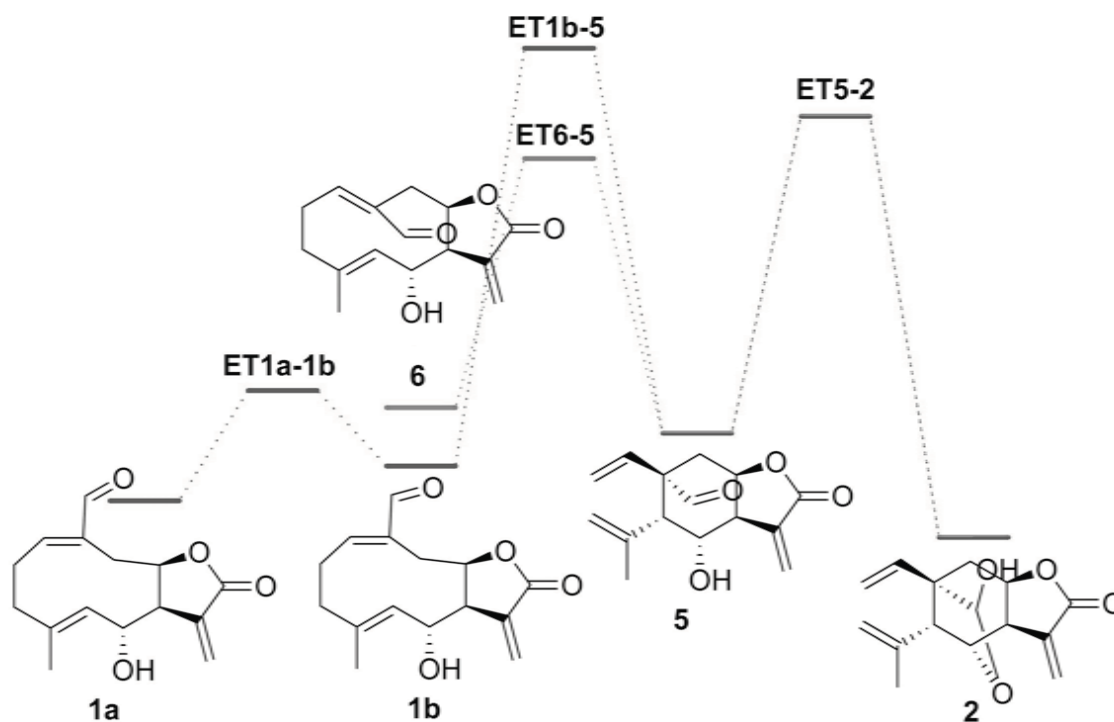


Figura 6.2a Estructuras simplificadas de la Figura 6.2b

El conformero más estable es el que tiene una conformación silla-bote, según la nomenclatura de Samek es [$^{15}D_{5,1}D_{14}$] (**1a**), lo cual coincide con lo reportado en el estudio conformacional en disolución.¹⁵⁷ El conformero **1a** no tiene la geometría adecuada para

generar directamente la estereoquímica observada en **2**. El conformero **1a** tiene que rotar el segmento que contiene al enlace doble C10-C1 para generar al conformero bote-bote (**1b**) que tiene una conformación [${}_{15}D^5, {}_1D_{14}$], el cual es 3.4 kcal/mol menos estable que **1a**. El conformero **1b** sí posee la conformación adecuada para generar la estereoquímica observada en **2**.

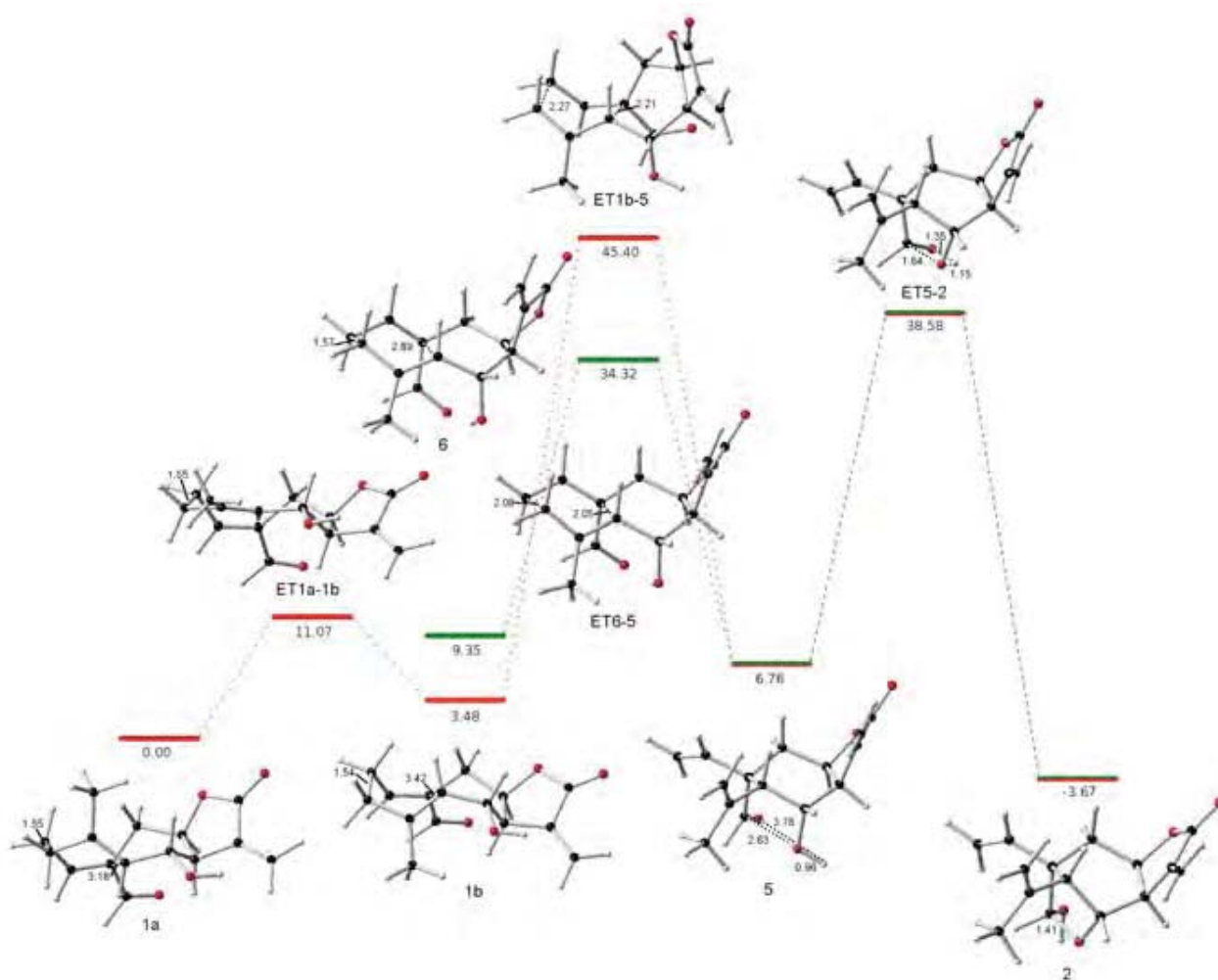


Figura 6.2b Estructuras de intermediarios y ET optimizadas participantes en la transformación de **1** en **2** (rojo) y de **6** en **2** (verde) a través de un mecanismo donde la transposición de Cope es anterior a la hemiacetalización. Distancias seleccionadas en Å. Energías relativas a **1a** en kcal/mol.

A pesar de que en **1b** la distancia transanular C10-C5 es bastante considerable (3.42 Å), se determinó el ET para transformación de Cope (**ET1b-5**). El ET **ET1b-5** tiene una energía relativa muy elevada (45.40 kcal/mol), por lo que la transformación de **1** en **5** a través de este ET es poco probable a 200 °C, temperatura a la cual Delgado *et al.* realizó la transformación de Cope. El intermediario **5** es mucho menos estable que **1a** (6.8 kcal/mol), luego entonces no sería factible obtener **5** de forma directa a partir de **1**, lo cual concuerda con lo observado en el experimento, ya que el compuesto **5** no fue detectado en la mezcla de productos de la transformación de Cope.¹⁵⁷ Además, el compuesto **5** no se ha detectado en el material vegetal.¹⁵⁷ Esta diferencia tan grande de energía entre melampólidas y elemanólidas da una muy buena explicación del porque se obtienen con muy poca frecuencia elemanólidas a partir de melampólidas. Con este resultado también queda claro que la formación de elemanólidas a partir de melampólidas es mas un problema termodinámico que uno cinético.

El siguiente paso en la transformación de **1** en **2** es la hemiacetalización de **5**. Para este paso se encontró un solo ET(**ET5-2**) que transforma a **5** en **2**, por lo que la formación del enlace C14-O6 se da de forma concertada con la migración del H de O6 a O14 (Figura 6.3), en las condiciones que se simula el cálculo. Se analizó la coordenada intrínseca de reacción del paso anterior y se observó que el mecanismo es sincrónico debido a que O6 se acerca a C14 prácticamente de manera conjunta con la transferencia del átomo de hidrógeno. La energía relativa del ET **ET5-2** es más pequeña que la del ET de Cope (**ET1b-5**), por lo que para este mecanismo, el paso que determina la rapidez de la reacción es la transposición de Cope.

El elemano **2** es 3.7 kcal/mol más estable que la melampólida **1** en su conformación más estable, luego entonces **2** se puede formar directamente a partir de **1**. El otro posible producto de la transposición de Cope de **1** es el epímero en C5 de **5** (**5'**, Figura 6.3), el cual tendría una estereoquímica producto de un Cope normal (ET en forma de silla). Dicho epímero es 4.7 kcal/mol menos estable respecto a **1a**, por lo que **5'**, al igual que **5** no puede ser obtenido de forma directa a partir de **1**, y a diferencia de **5** el epímero **5'** al

hemiacetalizarse forma un elemano (**2'**) el cual tiene una energía superior a 1.0 kcal/mol con respecto a **1a** debido a que tiene al grupo propenilo del C5 en posición axial (Figura 6.3). El elemano **2'** es menos estable que **1**, por lo que éste no se puede obtener directamente de **1**. Expuesto todo lo anterior, resulta entonces que la formación del hemiacetal es fundamental para la formación del elemano, de hecho Delgado *et al.* hicieron varios intentos infructuosos por obtener el producto de Cope de **1A**, **1B**, **1C**, **1D** (Figura 6.4), los cuales no pueden experimentar la reacción de hemiacetalización debido a que el grupo OH unido a C6 está sustituido.¹⁵⁸

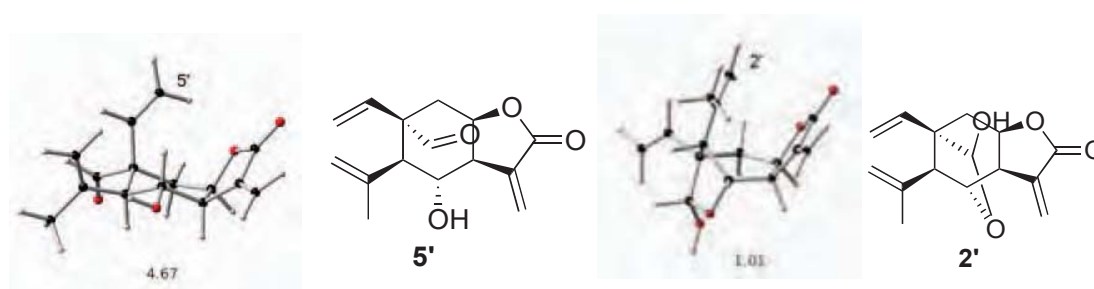


Figura 6.3 Estructuras de epimeros en el C5 de **5** y **2**. Energías relativas respecto a **1a** en kcal/mol.

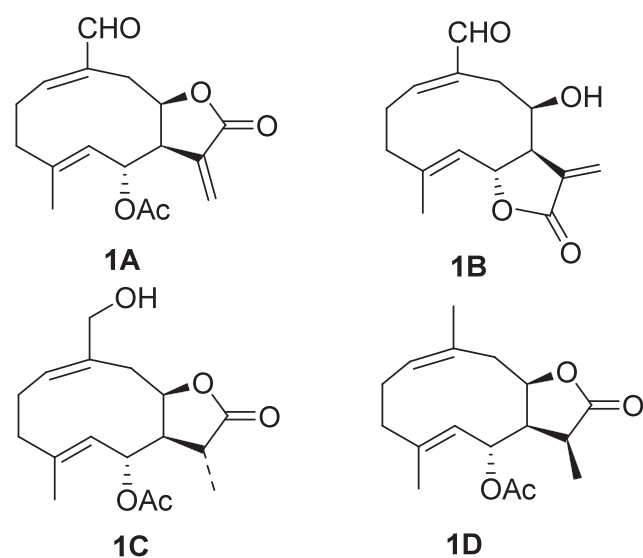


Figura 6.4 Derivados de **1** con la imposibilidad de llevar a cabo la hemiacetalización.

En la literatura se ha planteado que la configuración de un elemmano producto de una transposición de Cope se debe al confórmero más estable del germacradieno del que proviene.^{39,153} Se sabe que esto no es generalizable y que en algunas ocasiones un confórmero con mayor energía es el que reacciona. Para explicar este comportamiento se ha argumentado que en realidad es la conformación del ET de la reacción de Cope más favorable la que determina la configuración del elemmano.^{27,159} Sin embargo, ninguno de estos dos argumentos explica la configuración de **2**, ya que **2** no tiene la configuración producto del confórmero de **1** más estable (**1a**), ni la configuración producto del confórmero del ET de Cope de menor energía (ET en forma de silla). El compuesto **2** se deriva de un confórmero de **1** que no es el más estable (**1b**) y de un ET de Cope en forma de bote que, como ya se expuso, está desfavorecido frente al ET en forma de silla. Entonces, ¿cuál es la razón de que el compuesto **2** tenga esa configuración en particular? La respuesta es bastante simple, aunque no obvia. La configuración de **2** se debe exclusivamente a que esta configuración permite la hemiacetalización lo que estabiliza a **2** notablemente, por lo que la configuración de **2** es la configuración más estable entre todas las configuraciones posibles. Luego entonces, la energía de las distintas configuraciones de un determinado elemmano también es un factor que hay que considerar a la hora de predecir la configuración de dicho elemmano producto de una transposición de Cope de un germacradieno.

Como ya se mencionó, se ha propuesto otro mecanismo para la formación de una elemanólida a partir de una melampólida (Esquema 6.3b). En dicha propuesta se dice que la melampólida se isomeriza a la germacranólida correspondiente y es ésta la que lleva a cabo la transposición de Cope. Se realizaron los cálculos para dicho mecanismo en el cual se parte del isómero *trans* de **1** (**6**). El confórmero de **6** que resultó ser el más estable, es precisamente el que generaría la configuración de **2**. Resalta el hecho de que **6** es mucho menos estable que **1** (9.4 kcal/mol, Figura 6.2), por lo que **1** no se puede transformar en **6** a menos que se presenten otras reacciones acopladas. Hasta donde se sabe no hay ningún caso reportado en el que se transforme una germacranólida en una melampólida, pero en

sentido opuesto sí,^{158,160,161} lo que concuerda perfectamente con la diferencia de energía entre **1** y **6**.

La energía de activación para que **6** alcance el ET de la transposición de Cope (**ET6-5**) es de 25 kcal/mol, pero debido a que **6** es menos estable que **1** el ET **ET6-5** tiene una energía relativa con respecto a **1a** de 34.3 kcal/mol. A pesar de esto **ET6-5** sigue siendo de menor energía que **ET1b-5**, por lo que pareciera ser que, al analizar sólo las energías de los ET, el mecanismo donde es **6**, y no **1**, el que lleva a cabo la transposición de Cope, es factible. Siguiendo con el análisis del mecanismo de reacción, hay que apuntar que **5** es 2.5 kcal/mol más estable que **6**, luego entonces la elemanólida sin hemiacetalizar sí se puede formar directamente a partir de la germacranólida, al contrario de lo que ocurre con la melampólida. Para modelar el paso de la isomerización *cis-trans* se calculó la energía de excitación de **1** a nivel CIS/6-31+G(d,p), ya que al calentar a 200°C al vacío el compuesto **1**, el único mecanismo posible para la isomerización *cis-trans* es en el que **1** se excite y una vez en el estado excitado se lleve a cabo la isomerización. La energía de excitación para **1a** resultó ser de 113.48 kcal/mol, lo cual es mucho más energía que la de la barrera energética de cualquiera de las transposiciones de Cope aquí discutidas. Una energía de excitación tan alta hace completamente improbable que al calentar **1** éste se isomericé antes de descomponerse completamente.

Ninguno de los mecanismos discutidos hasta el momento explica en su totalidad los resultados obtenidos experimentalmente. Se planteó entonces otro mecanismo de reacción en el cual primero sucede la hemiacetalización y posteriormente la transposición de Cope. La formación del hemiacetal podría disminuir la barrera energética de la transposición de Cope. El mecanismo se calculó tanto para la melampólida **1** como para la germacranólida **6**. El conformero de **1** que reacciona en la hemiacetalización es muy parecido a **1b** con la única diferencia de que el anillo de lactona se encuentra pseudo-axial (**1b'**), para el caso de **6** es el mismo conformero el que reacciona. Como se puede ver en la Figura 6.5, tanto para el caso de **1** como para **6**, la barrera energética para la hemiacetalización crece significativamente, lo cual no es tan relevante, ya que la barrera de la hemiacetalización

puede disminuir si un grupo hidroxilo de otra molécula cercana o de una molécula de agua participa como donador y aceptor del protón que se transfiere. De hecho en estado sólido **1** cocrystaliza con una molécula de H₂O.¹⁶²

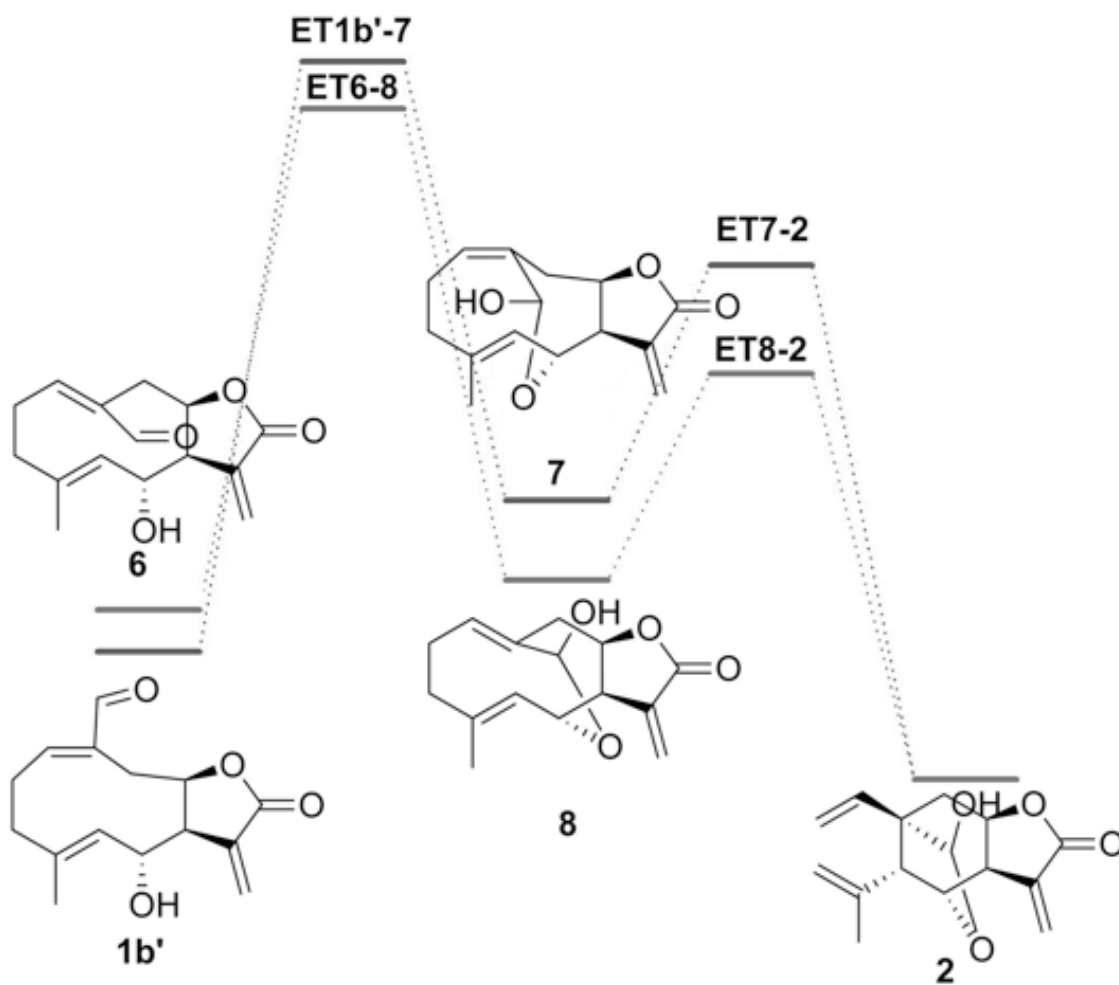


Figura 6.5a Estructuras simplificadas de la Figura 6.5b

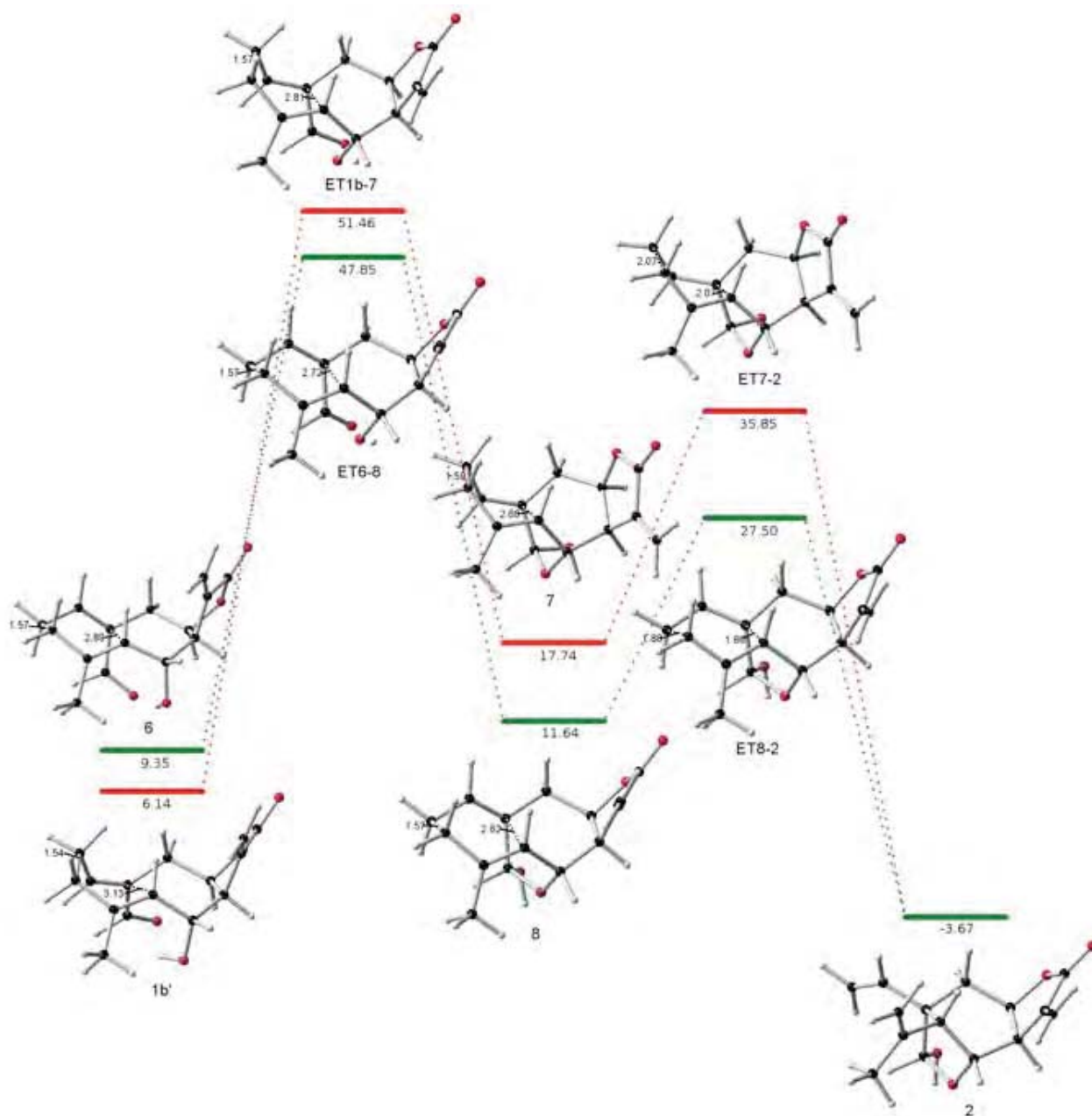


Figura 6.5b Estructuras de intermediarios y ET optimizadas de la transformación de **1** en **2** (rojo) y de **6** en **2** (verde) a través de un mecanismo donde la transposición de Cope es posterior a la hemiacetalización. Distancias seleccionadas en Å. Energías relativas a **1a** en kcal/mol.

Para modelar la participación de un grupo hidroxilo, se hizo interaccionar una molécula de H₂O con el protón que se transfiere en la hemiacetalización y con el O14 (Figura 6.6). Los resultados de la Tabla 6.1 indican que la barrera energética de la hemiacetalización

disminuye alrededor de 15 kcal/mol cuando hay una molécula de agua que cataliza la reacción. Por lo que, teniendo en cuenta esto, el valor de la energía asociada al ET de **1** y **6** oscilaría entre las 30 y 40 kcal/mol respecto a **1a**. Los hemiacetales formados *cis* (**7**) y *trans* (**8**) son menos estables que **1** y **6**, respectivamente, lo cual concuerda con el hecho de que experimentalmente no se observa ni a **7** ni a **8** en la mezcla final de productos.

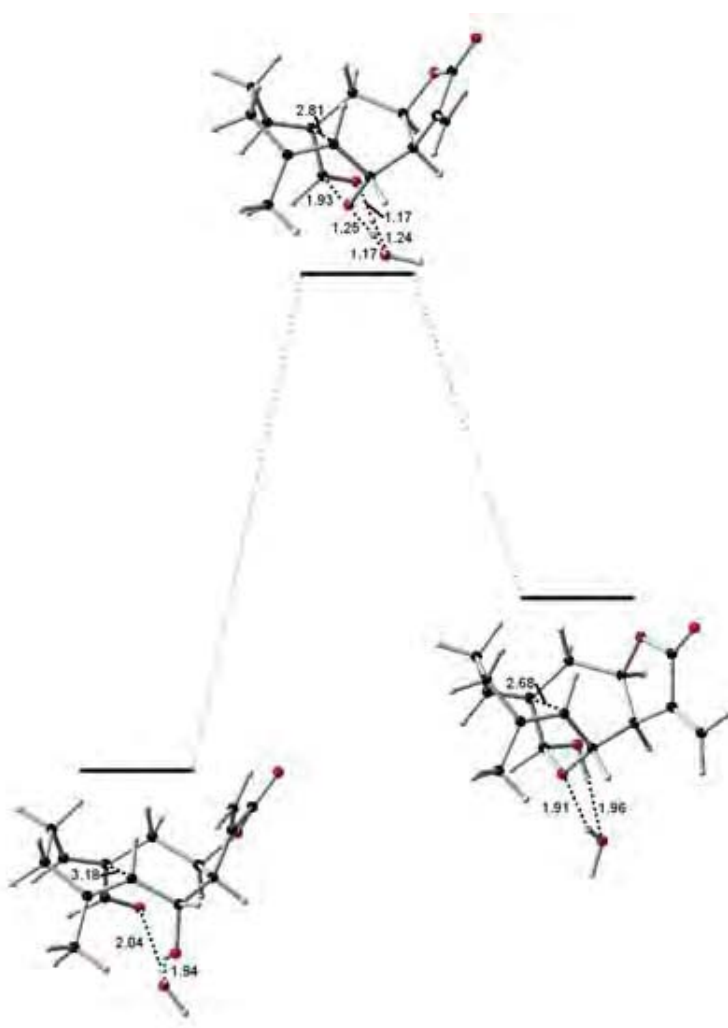


Figura 6.6 Mecanismo de hemiacetalización catalizado con H₂O. Distancias seleccionadas en Å.

Tabla 6.1 Energías de activación para la hemiacetalización con y sin H₂O que catalice la reacción.

	ΔE^\ddagger (sin H ₂ O)	ΔE^\ddagger (con H ₂ O)
1b ET1b-5	31.76	17.90
1b' ET1b'-7	42.32	31.06
6 ET6-5	31.81	15.68
6 ET6-8	38.50	24.28

Como se puede ver en la Figura 6.5, los ET correspondientes a la transposición de Cope (**ET7-2** y **ET8-2**) disminuyen significativamente en energía en comparación con los ET de la transposición de Cope en el que aún no se ha formado el hemiacetal (**ET1b-5** y **ET6-5**, Figura 6.2). La diferencia en energía entre **ET7-2** y **ET8-2** es muy similar a la que hay entre **ET1b-5** y **ET6-5**, por lo que el ET en forma de silla sigue siendo más estable, pero la energía del ET en forma de bote (**ET7-2**) disminuye hasta 35 kcal/mol, lo cual es una barrera lo suficientemente pequeña para que a 200°C sea superada. Entonces, además de resultar indispensable la hemiacetalización para la estabilización del elemano frente a la melampólida, también disminuye la energía de activación para la transposición de Cope, lo que hace posible que la reacción se lleve a cabo a una temperatura menor. Con esto queda demostrado que el mecanismo donde **1** se transforma en el intermediario **7**, para posteriormente formar a **2** a través de la transposición de Cope, explica satisfactoriamente los resultados obtenidos experimentalmente.^{151,157}

Como ya se había expuesto, si la transposición de Cope se hace partiendo de la germacranólida **6** no es necesaria la hemiacetalización, ya que la elemanólida sin hemiacetalizar es más estable que la germacranólida. Lo anterior da una explicación del hecho de que en muchos casos el *E,E*-germacrano sufra una transposición de Cope al ser calentado mientras que el *Z,E*-germacrano no.^{153,163-165} La transposición de Cope reportada por Delgado *et al.* es la única que se conoce para un *Z,E*-germacrano con un anillo de lactona de 5-miembros fusionado.¹⁵¹ A la vista de lo discutido hasta el momento, es posible decir que la transformación de melampólida en elemanólida requiere de alguna

condición especial (en nuestro caso la hemiacetalización) para que la elemanólida se estabilice frente a la melampólida.

Desde luego, en la fuente vegetal la isomerización *cis-trans* en germacranos con un grupo carbonilo alfa al enlace doble podría producirse por un mecanismo diferente al ya expuesto; por ejemplo, esta isomerización ha sido catalizada biomiméticamente en medio ácido o usando SeO_2 .^{41,146,160,166,167} Sin embargo, debido a la mucho menor estabilidad de **6** frente a **1**, una vez formado **6**, éste tendría que transformarse inmediatamente por medio de una transposición de Cope. La enzima que realizará estos procesos tendría que ejecutar ambas reacciones en el mismo lugar. Con los resultados aquí expuestos, lo más favorable energéticamente para las plantas sería que tanto **1** como **2** se generasen a partir de **6**. La labilidad del intermediario **6**, es probablemente la razón de que éste no se puede encontrar en la planta. Incluso debido a la labilidad de **6** los compuestos **2**, **1** o ambos podrían ser solo artefactos que se generaron al extraer a **6** de la planta, como ya se ha planteado que puede ocurrir para este tipo de compuestos.^{133,144-146}

Takeda *et al.* realizó una serie de experimentos donde se probó que el anillo de lactona de 5-miembros en las melampólidas tiene un efecto muy importante en la transposición de Cope.¹⁵³ Se decidió entonces, hacer el estudio de la transposición de Cope para melampólidas y germacranólidas que tuvieran el anillo de lactona abierto, para lo cual se estudió el mecanismo de la transposición de Cope de **9** y **10** (Figura 6.7), que son los análogos de **1** y **6**, respectivamente. De la Figuras 6.2 y 6.7 se puede ver que la diferencia en energía entre el isómero *cis* y el isómero *trans* no varía significativamente. Cuando se abre el anillo de lactona, esta diferencia pasa de 9.3 kcal/mol cuando está cerrado a 8.6 kcal/mol cuando está abierto, por lo que la apertura del anillo no favorece más a un isómero que a otro. La elemanólida **11** producto de la transposición de Cope **9** y **10** resulta estar mucho más cerca en energía a la melampólida cuando el anillo de lactona está abierto, ya que la diferencia en energía entre **1** y **5** es 6.8 kcal/mol, mientras que entre **9** y **11** es de apenas 2.3 kcal/mol. Entonces, una explicación del porque la transposición de Cope no se

da en las melampólidas con la lactona cerrada pero sí con la lactona abierta, es que el anillo de lactona desestabiliza a la elemanólida.

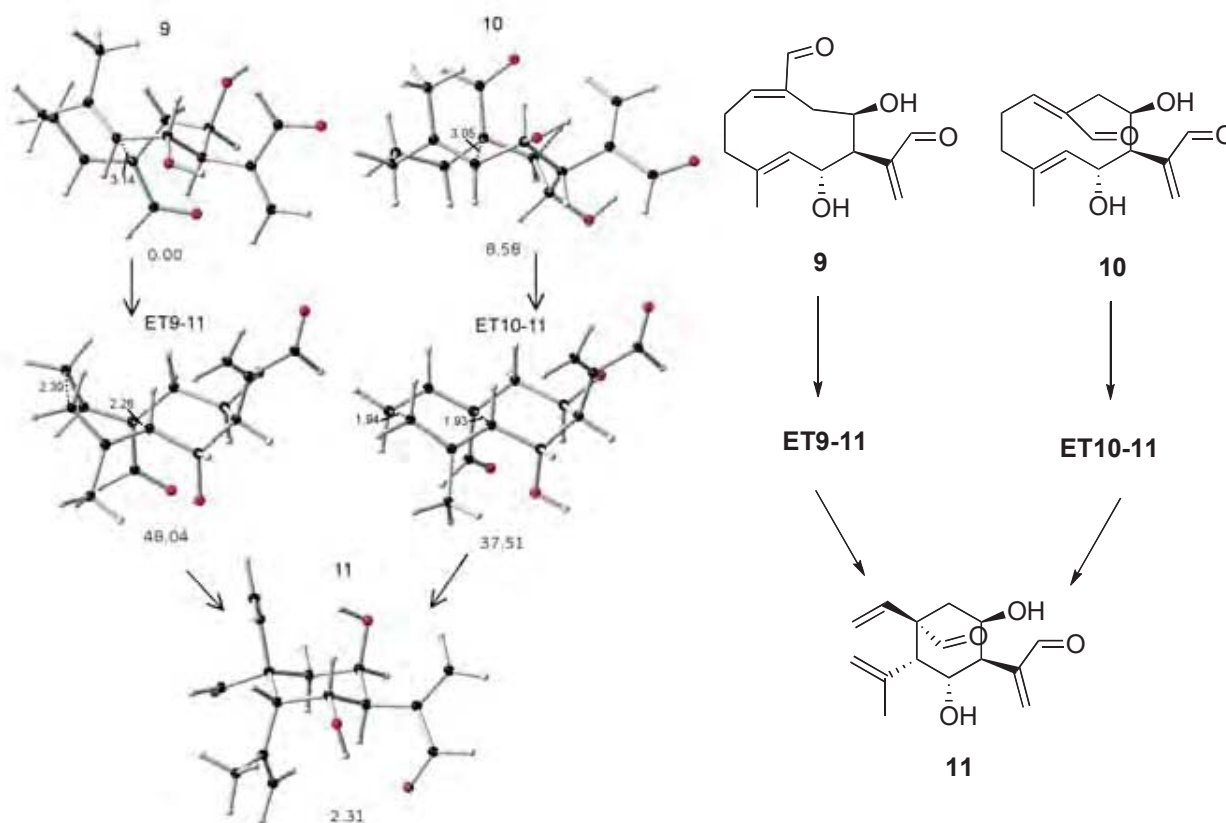


Figura 6.7 Estructuras de intermediarios y ET optimizadas de la transformación de **9** y **10** en **11**. Distancias seleccionadas en Å. Energías relativas a **9** en kcal/mol.

Otra explicación posible del porque el anillo de lactona inhibe la transposición de Cope (como ya había planteado Takeda *et al.* anteriormente) es que el anillo de lactona aumentara la energía del ET de Cope, ya que el anillo de lactona tensa al anillo del germacradieno.¹⁵³ Al comparar la energía relativas de los ET **ET9-11** y **ET10-11** (lactona abierta) con las de los ET **ET1-5** y **ET6-5** (lactona cerrada), es claro que la energía relativa a la germacradienólida correspondiente de los ET no solo no aumenta cuando se cierra la lactona sino que se incrementa un poco. De lo anterior se concluye que el efecto del anillo de lactona de 5-miembros en la transposición de Cope de germacradienos es el de

desestabilizar al elemano correspondiente y el anillo de lactona tiene poco o ningún efecto en el ET de la transposición de Cope. Es posible extrapolar esta conclusión a cualquier anillo de 5-miembros o menor. De hecho, este resultado era de esperarse si se tiene en cuenta que entre más pequeño es un anillo, más susceptible es a la tensión generada por un segundo anillo (de 5-miembros o menor) fusionado al primero, por lo que el efecto del anillo de lactona es mucho mayor en el anillo de elemano (6-miembros) que en el ET de Cope (10-miembros).

La transformación de **3** y de **12** en **4** (Figura 6.8) es un caso similar al discutido previamente, por lo que permite generalizar con más certeza las observaciones ya discutidas. Como ya se mencionó, en el caso de **3** y **12** el anillo de lactona está fusionado en forma *trans* en C6 en lugar de en forma *cis* en C8. De la Figura 6.8 se puede concluir que el anillo de lactona en C6 no modifica la gran diferencia en estabilidad entre melampólidas y germacranólidas, ya que la diferencia entre el isomero *cis* (**3**) y el *trans* (**12**) es 8.5 kcal/mol, sólo 0.9 kcal/mol menos que en el caso de **1** y **6**. Como se esperaba, el ET de Cope en forma de silla (**ET12-13**) es más estable que el de bote (**ET3-13**, 12.3 kcal/mol más estable). Como en el caso de **1** la energía de la gemacranólida y de la elemanólida sin hemiacetalizar es muy similar pero es mucho mayor que la de la melampólida, esto coincide con la factibilidad de obtener melampólidas a partir de germacranos^{41,160,166,167} y elemanos,^{165,168} los cuales en muchas ocasiones se encuentran en equilibrio.^{147,148,165}

Se dice que el anillo de lactona unido a C6 y C7 de forma *trans* tensa más al anillo de 10-miembros que cuando el anillo de lactona está unido a C7 y C8. De hecho, se han reportado que germacranólidas similares a **12** no producen el producto de la transposición de Cope, pero si se abre el anillo de lactona el Cope sí sucede.^{169,170} Una de las posibles explicaciones a este comportamiento es que el ET de Cope tenga una mayor energía cuando se tiene un anillo fusionado en C6 en lugar de en C8, sin embargo la barrera para la transposición de Cope para **3** (44.5 kcal/mol) y **12** (23.8 kcal/mol) disminuye muy poco comparada con la de **1** (45.4 kcal/mol) y **6** (25.0 kcal/mol), respectivamente. Entonces la

altura de la barrera para la transformación de Cope no parece ser la razón del porque es más difícil llevar a cabo la transposición de Cope cuando hay un anillo de lactona unido en C6.

La otra explicación posible, a la imposibilidad de sufrir transposición de Cope en compuestos similares a **12**, es que la elemanólida se vuelve menos estable con respecto a la germacranólida cuando tiene un anillo de lactona unido de forma *trans* a C6. Esta última explicación concuerda con los resultados aquí obtenidos, ya que la elemanólida **13** es apenas 0.05 kcal/mol más estable que la germacranólida **12**, mientras que la elemanólida **5** es 2.5 kcal/mol más estable que la germacranólida **6**. Entonces, una vez más se llega a la conclusión de que el anillo de lactona de 5-miembros desestabiliza a la elemanólida y no a los ET de Cope. Además, en este caso también se puede apuntar que un anillo fusionado *trans* desestabiliza más a la elemanólida que un anillo fusionado en forma *cis*.

Como en el caso de **1**, al formarse el hemiacetal la elemanólida (**4**) se estabiliza más que la melampólida (**3**), por lo que como en el caso anterior se necesita una reacción acoplada (hemiacetalización) para estabilizar a la elemanólida. Para este caso, el mecanismo en el cual se forma primero el hemiacetal para posteriormente llevar a cabo la reacción de Cope no resultó favorable, ya que en este caso la energía de los ET de Cope **ET14-4** y **ET15-4** no disminuye en comparación a los ET de Cope **ET3-13** y **ET12-13**. Esto se explica si se considera que en este caso el anillo de hemiacetal es de 6-miembros en lugar de 5-miembros como en el caso de **2**, por lo que el anillo de hemiacetal no acerca de forma significativa a C5 y C10 en **14** y **15** (Figura 6.8) como sucede en el caso de **7** y **8** (Figura 6.5). Debido a que en este caso la formación del hemiacetal no disminuye, la barrera de la transposición de Cope es de esperar que la transformación de **3** en **4** suceda a unos 100 °C más que para el caso de **1**.

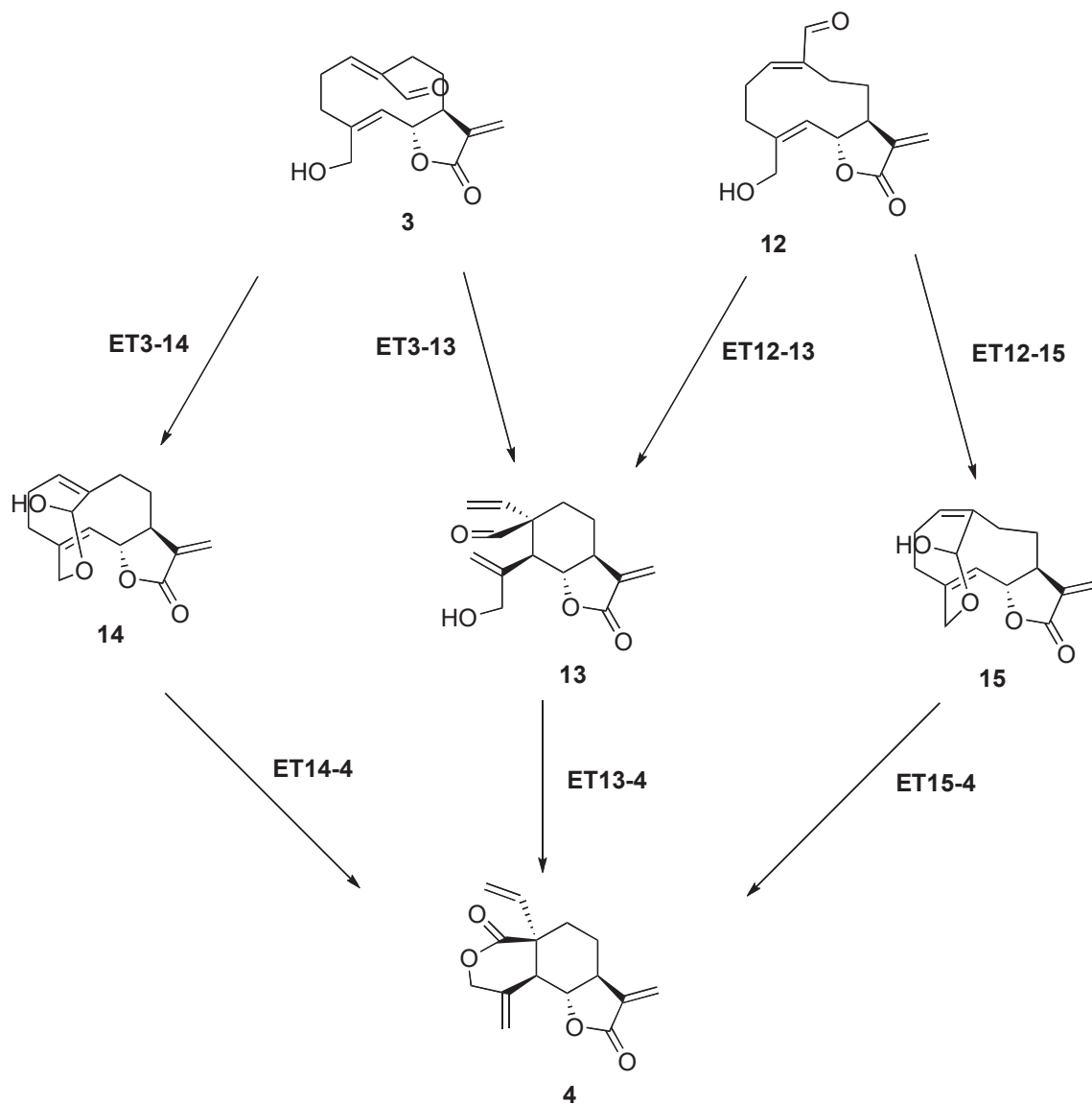


Figura 6.8a Estructuras simplificadas de la Figura 6.8b

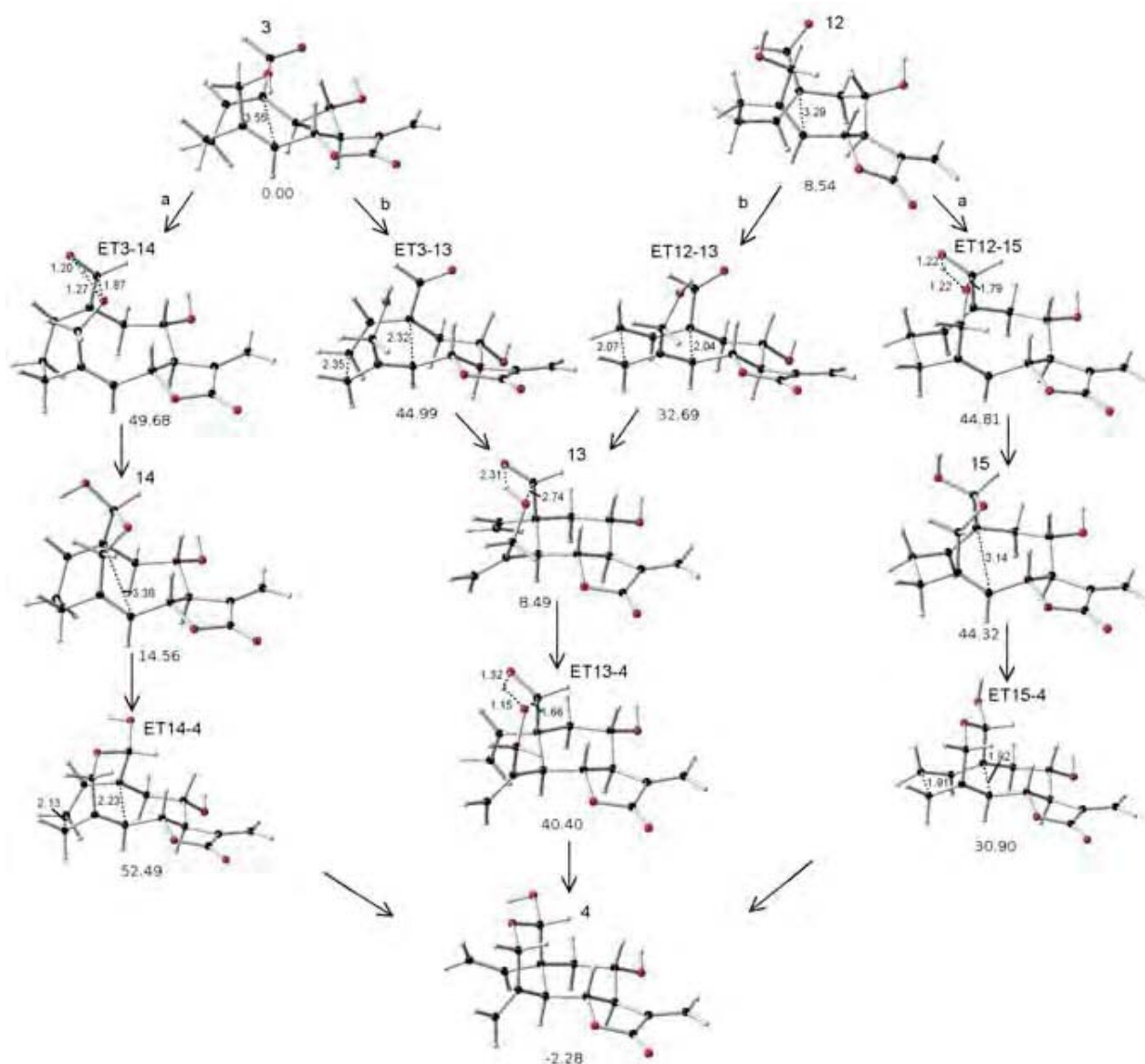


Figura 6.8b Estructuras de intermediarios y ET optimizadas de la transformación de 3 en 4 y de 12 en 4 a través de un mecanismo donde la transposición de Cope es: a) posterior a la hemiacetalización, b) anterior a la hemiacetalización. Distancias seleccionadas en Å. Energías relativas de 3 en kcal/mol.

Conclusiones

La transposición de Cope se ha utilizado en muchas ocasiones para determinar la configuración en solución de un germacradieno, ya que se ha postulado que la

configuración del elemano formado es producto de la conformación del germacradieno. Sin embargo, para que lo anterior siempre sea cierto, se tienen que cumplir dos condiciones: la primera de ellas cinética y la otra termodinámica. La primera es que la conformación ET de Cope con más baja energía coincida con la conformación del germacradieno de energía más baja. La segunda condición es que la configuración del elemano más estable coincida con la conformación del germacradieno más estable, sino el elemano tendrá una configuración producto de un conformero del germacrano que no es el más estable, como sucede en el caso de la transformación de **1** en **2**.

Debido a la diferencia energética entre germacrano y melampólidas la isomerización *cis-trans* de los mismos sólo puede ir en el sentido germacrano → melampólidas, y si bien es cierto que biomimética o biogenéticamente esta isomerización puede darse por diversos mecanismos, la isomerización por calentamiento que involucre estados excitados queda completamente descartada. Sin embargo, cuando se habla de lactonas sesquiterpénicas es factible que la isomerización se dé por medio de un ET de Cope siguiendo la secuencia germacránolida → elemanólida → melampólida, debido a que la energía disminuye en ese sentido y las barreras de la transposición de Cope son superables.

Al tener un anillo de lactona fusionado, el grupo de las melampólidas no es capaz de transformarse en elemanólidas a menos que haya una reacción acoplada que estabilice a la elemanólida, como es la hemiacetalización en el caso aquí discutido. La transformación melampólida → elemanólida sí es factible cuando el anillo de lactona está abierto, esto debido a que cuando el anillo de lactona está abierto la elemanólida se estabiliza. A diferencia de lo que se ha propuesto en otros trabajos, la imposibilidad de llevar a cabo la transposición de Cope cuando hay anillos pequeños fusionados a las melampólidas no es debido a la barrera energética de la reacción de Cope, ya que la altura de esta barrera no varía significativamente respecto al caso en el que los anillos fusionados están ausentes, sino que se debe a la desestabilización que sufren los elemanos debido a la tensión producida por el anillo. Para resumir, los anillos pequeños modifican mucho más la energía de los elemanos que la de los ET de Cope de los germacrano.

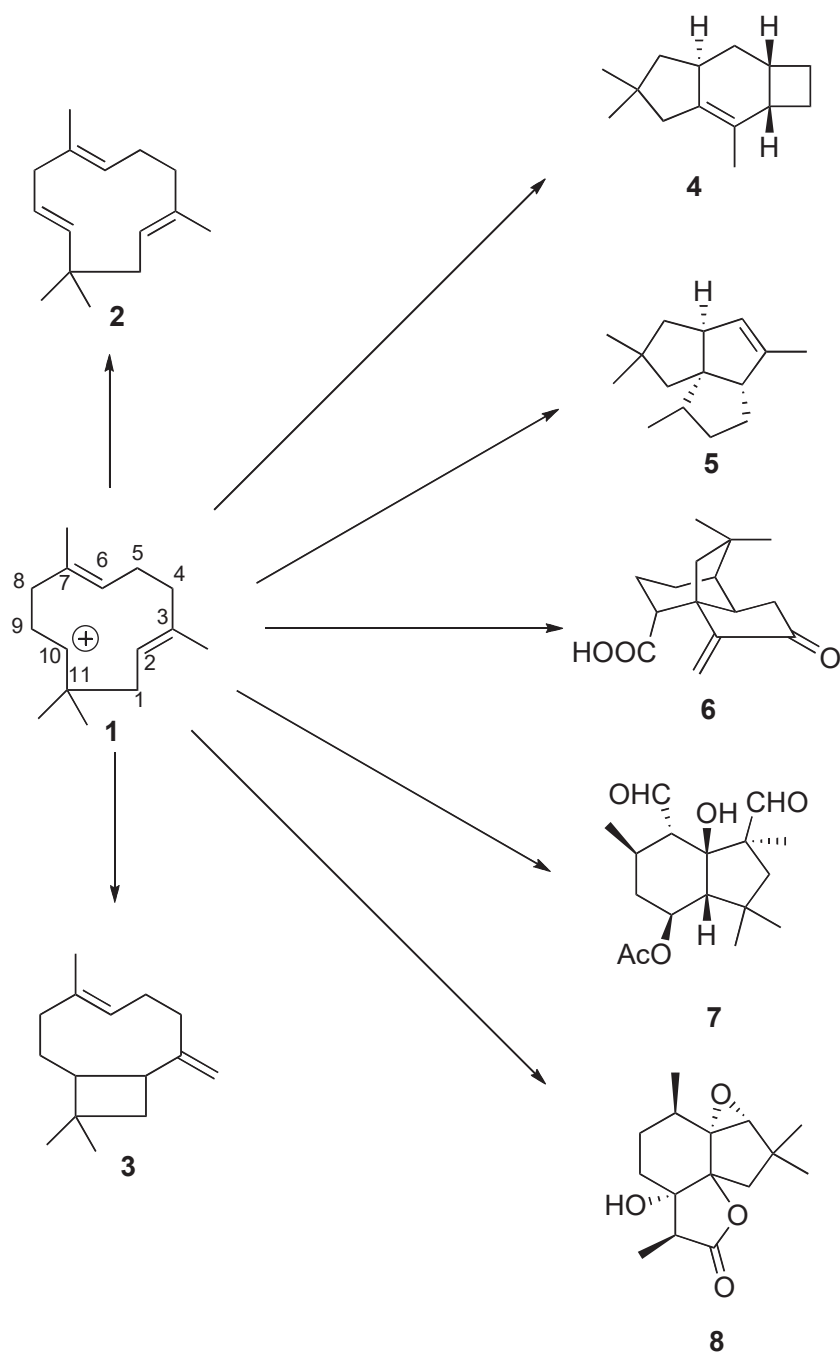
7. Estudio del Mecanismo de Reacción de la Biogénesis Terminal del Sesquiterpeno Tricíclico, Ácido Terrecíclico.

Antecedentes

Humulenóides

Como ya se había mencionado, el FPP se puede ciclizar en un carbocatión con un anillo de once miembros (**1**, Esquema 7.1) a través de la humuleno sintetasa.¹⁷¹ Al sesquiterpeno formado por la α eliminación del catión humilo (**1**) se le conoce como humuleno (**2**). Por el contrario, si el catión **1** sufre un ataque por el enlace doble 2,3 y el metilo unido a C3 del carbocatión formado se desprotona, se forma el β -cariofileno (**3**). Tanto el compuesto **2** como **3** se encuentran abundantemente en la naturaleza.²

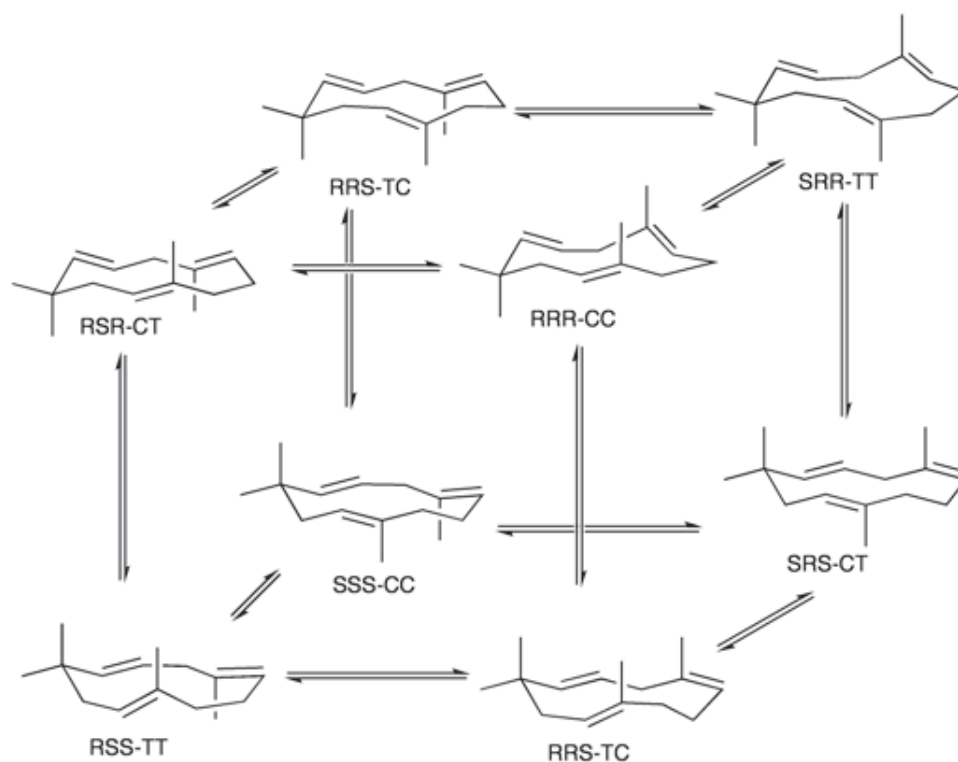
Al ser un anillo de once miembros, el humuleno tiene una gran libertad conformacional, de hecho debe tener mayor libertad conformacional que los germacranos, ya que éstos están formados por anillos con un carbono menos. Shirahama *et al.* plantean que **2** debe de tener ocho conformaciones distintas.¹⁰³ Los ocho conformeros corresponden a las ocho posibles combinaciones que se generan de rotar los tres enlaces dobles *trans* (Esquema 7.2). De estas ocho conformaciones, cuatro son conformeros enantioméricos de los otros cuatro. En el artículo de Shirahama se nombra a estos cuatro conformeros como RSR-CT, RRR-CC, RRS-TC, RSS-TT. En este mismo artículo se determinó, a través de cálculos de mecánica molecular, que el conformero CT es el más estable, aunque el conformero CC está muy cercano en energía. Los cálculos coinciden con que en estado sólido el conformero que se observa es CT.¹⁷² En solución se ha encontrado que a temperatura ambiente existen dos conformeros en equilibrio rápido.¹⁷³



Esquema 7.1 Derivados biogénicos del humuleno.

Además de lo que ya se ha mencionado, el catión humilo es precursor biogénico de un número importante de sesquiterpenos que son productos de ciclizaciones posteriores (Esquema 7.1). La gran libertad conformacional que tiene el catión 1 se ve reflejada en que

muchos de sus productos biogénicos son estructuras tricíclicas como son el esterpureno **4**, pentaleneno **5** y el ácido terrecíclico **6**.²

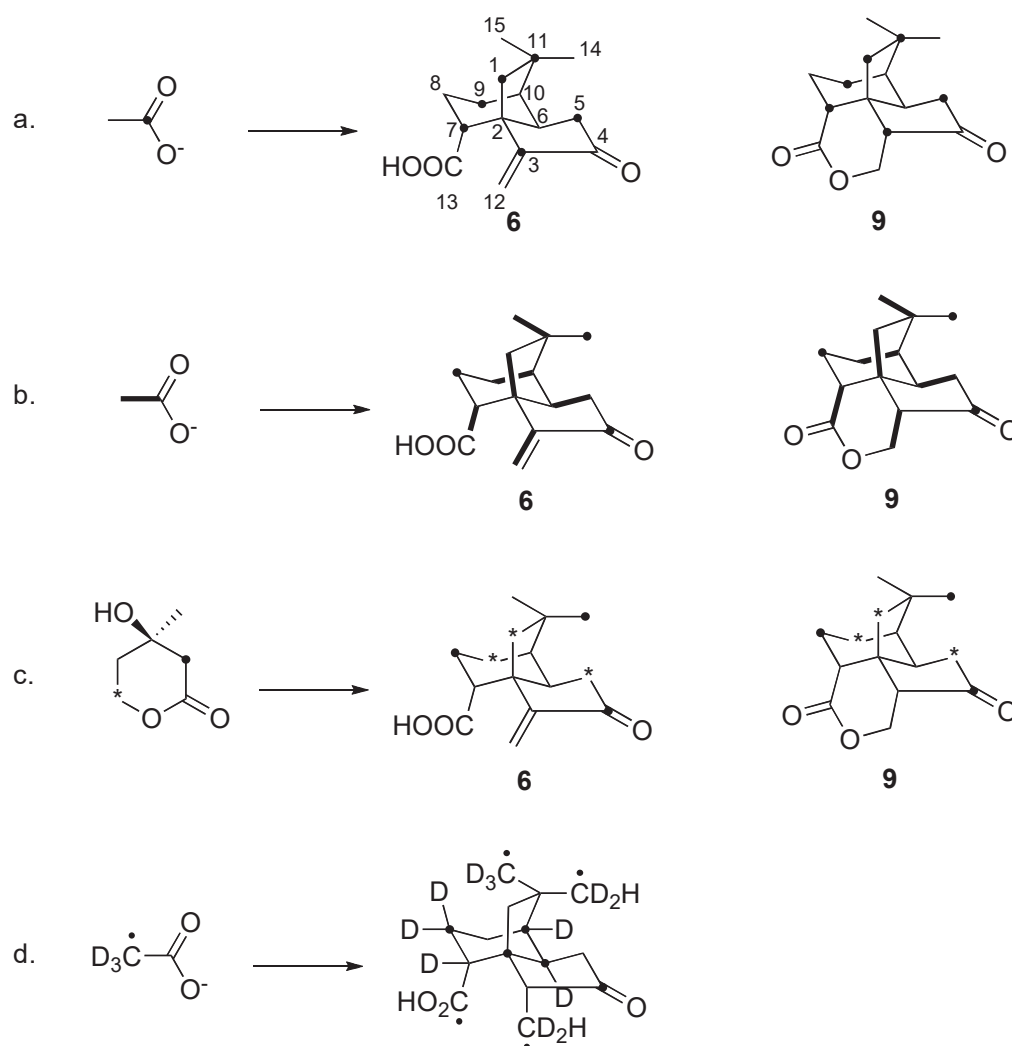


Esquema 7.2 Equilibrios conformacionales del humuleno

Ácido Terrecíclico

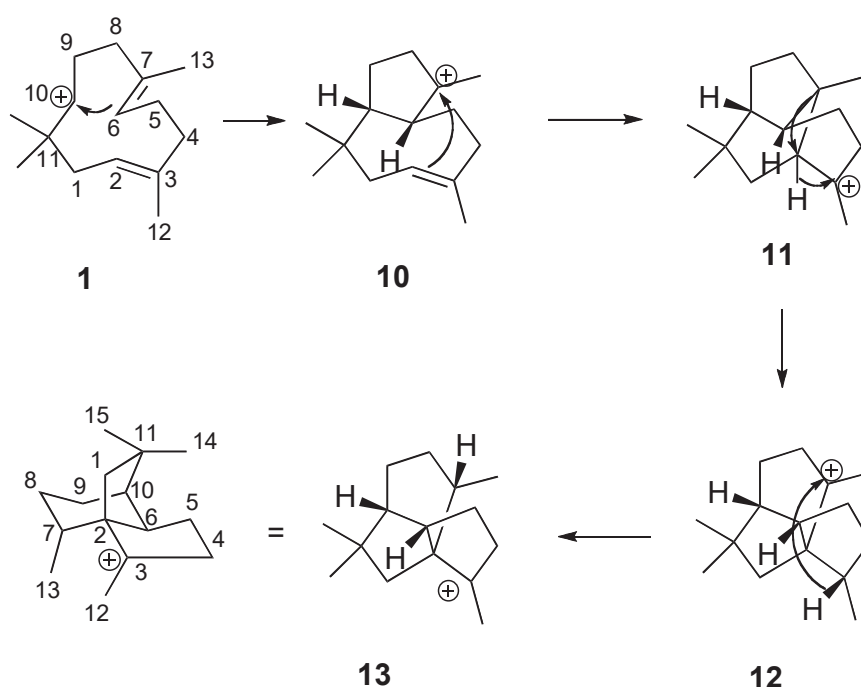
En 1982 se aisló del hongo *Aspergillus terreus* al ácido terrecíclico (**6**),¹⁷⁴ unos años antes se había aislado de esta misma fuente natural a la quadrona (**9**, Esquema 7.3), la cual tiene una estructura muy similar a **6**.¹⁷⁵ Ambos compuestos, además de presentar actividad antitumoral moderada, tienen una estructura tricíclica muy interesante y su origen biogénico no ha sido fácil de elucidar. Varios grupos de investigación han trabajado en la elucidación de la biogénesis de **6**, para esto han incorporado a los cultivos de *Aspergillus terreus* acetato y mevalonato marcado isotópicamente.¹⁷⁶⁻¹⁷⁹ En el esquema 7.3a se muestra que al incorporar [1-¹³C] acetato los carbonos que ven aumentada su señal en el espectro de RMN son 1, 3, 5, 7, 9 y 11, mientras que si se incorpora [1,2-¹³C₂] acetato todas las señales

aumentaron pero sólo las correspondientes a los carbonos 4, 8 y 14 serán singuletes (Esquema 7.3b).¹⁷⁷ La incorporación de [2-¹³C] y [5-¹³C] mevalonato determina donde están las uniones cabeza-cola entre las unidades de isopreno (Esquema 7.3c).¹⁷⁹ Adicionalmente a esto, Hirota *et al.* incorporaron [2-²H₃] y [2-²H₃, 2-¹³C] acetato lo que mostró que uno de los hidrógenos marcados migra a C7 en algún punto del mecanismo (Esquema 7.3d).¹⁸⁰



Esquema 7.3 Estudios de la biogénesis de **6** y **9** a través de marcaje isotópico. Los carbonos marcados indican la posición de los isótopos de ¹³C.

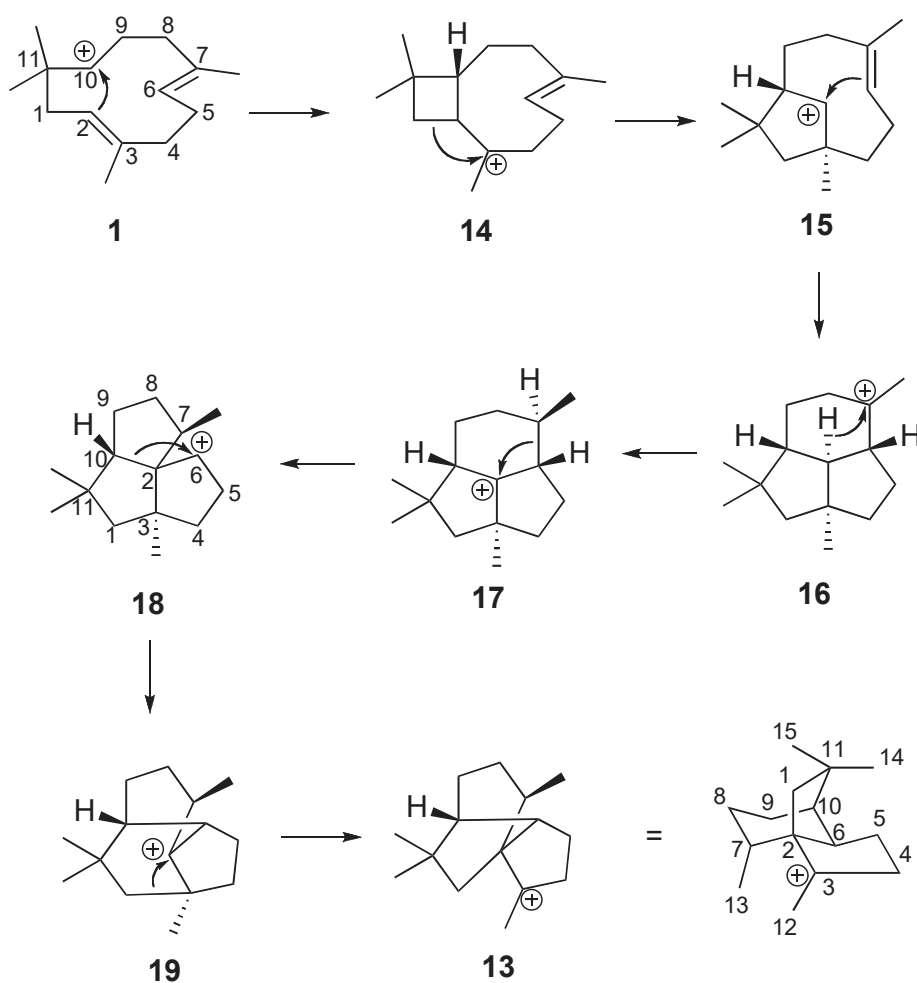
Se han propuesto dos mecanismos distintos para explicar el marcaje molecular observado. En el primero se plantea que el carbono con deficiencia electrónica del catión humilo sufre el ataque del enlace doble 6,7 formando un catión bicíclico con un anillo de ocho y uno de cinco miembros (**10**, Esquema 7.4). Posteriormente, C7 es atacado por el enlace doble 2,3 para formar el enlace C2-C7 (**11**). Al mismo tiempo que C6 se transpone de C7 a C2, el átomo de hidrógeno unido a C2 migra a C3 (**12**). Por último, uno de los átomos de hidrógeno de C12 se elimina para que el átomo de hidrógeno unido a C3 sufra una migración [1,3] de hidrógeno, lo que lo dejaría unido a C7.¹⁷⁷



Esquema 7.4 Mecanismo de reacción propuesto por Cane *et al.* para la formación del ácido terrecíclico.

El segundo mecanismo toma en parte el mecanismo propuesto para la formación de otro sesquiterpeno, el botridial (**7**).¹⁸¹ En el mecanismo para la formación de **7** se ha propuesto que el catión **1** sufre un ataque del enlace doble 2,3 para formar un anillo de 4 y un anillo de 9 miembros (**14**). En el siguiente paso C1 se traspone de C2 a C3 formando **15**, el cual sufre el ataque del enlace doble 6,7 formando así el enlace C2-C6 (**16**). El catión **16** sufre

una migración [1,3] de hidrógeno de C2 a C7 formando así al catión **17**. Es aquí donde la biosíntesis de **6** y la de **7** toman caminos separados. Para formar **6** se propone que una vez formado **17** ocurren tres transposiciones consecutivas. Primero se transpone C7 de C6 a C2 (**17**), luego C10 se transpone de C2 a C6 (**19**) y por último C1 se vuelve a transponer de C3 a C2 (**13**).¹⁸²⁻¹⁸⁴ El catión **13** tiene esencialmente la estructura de **6**.



Esquema 7.5 Mecanismo de reacción propuesto por Coates *et al.* para la formación del ácido terrecíclico

Condiciones de cálculo

Todos los cálculos químico cuánticos se realizaron con Gaussian 03.⁶⁰ Todas las geometrías fueron optimizadas sin restricciones usando el método híbrido de TFD mPW1B95.⁶⁴ En los capítulos anteriores se demostró que el funcional mPW1B95 es adecuado para el cálculo de energías de activación. Para la optimización y el cálculo de frecuencias se utilizó el conjunto de bases con bases polarizadas y difusas 6-31+G(d,p). Todas las energías están corregidas por la energía de punto cero y no están escaladas para efectos de comparación. Se calculó la CIR si el ET no mostraba con claridad que éste unía a dos intermediarios en específico.

Resultados y Análisis de Resultados

Por ser el catión humilo una estructura muy flexible se tomaron 130 conformaciones iniciales y se hizo una optimización de la geometría de cada una de éstas. Para escoger a estas 130 estructuras se protonaron a los confórmeros del humuleno que tuvieran una diferencia con respecto al confórmero más estable de menos de 10 kcal/mol. De las 130 estructuras iniciales sólo 17, con sus respectivos enantiómeros conformacionales, conservaron la conectividad de **1**, ya que en muchos casos se transpuso uno de los metilos exocíclicos de C11 a C10. De estas 17 estructuras, las de menor energía presentan distancias transanulares muy cortas lo que las asemeja más a un catión del β -cariofileno (Figura 7.1). Este resultado indica que no es estrictamente necesario que primero se forme el catión humilo antes de que se forme el catión del β -cariofileno. Según la conformación que adopte el FPP, al ciclizarse se formará el catión humilo o el catión del β -cariofileno. Habría que resaltar que aunque solo se considerara a los confórmeros que tienen distancias transanulares menores a los 1.8 Å (a esta distancia se puede considerar que ya no existe enlace), el número de conformaciones es mayor a cuatro (10 confórmeros distintos).

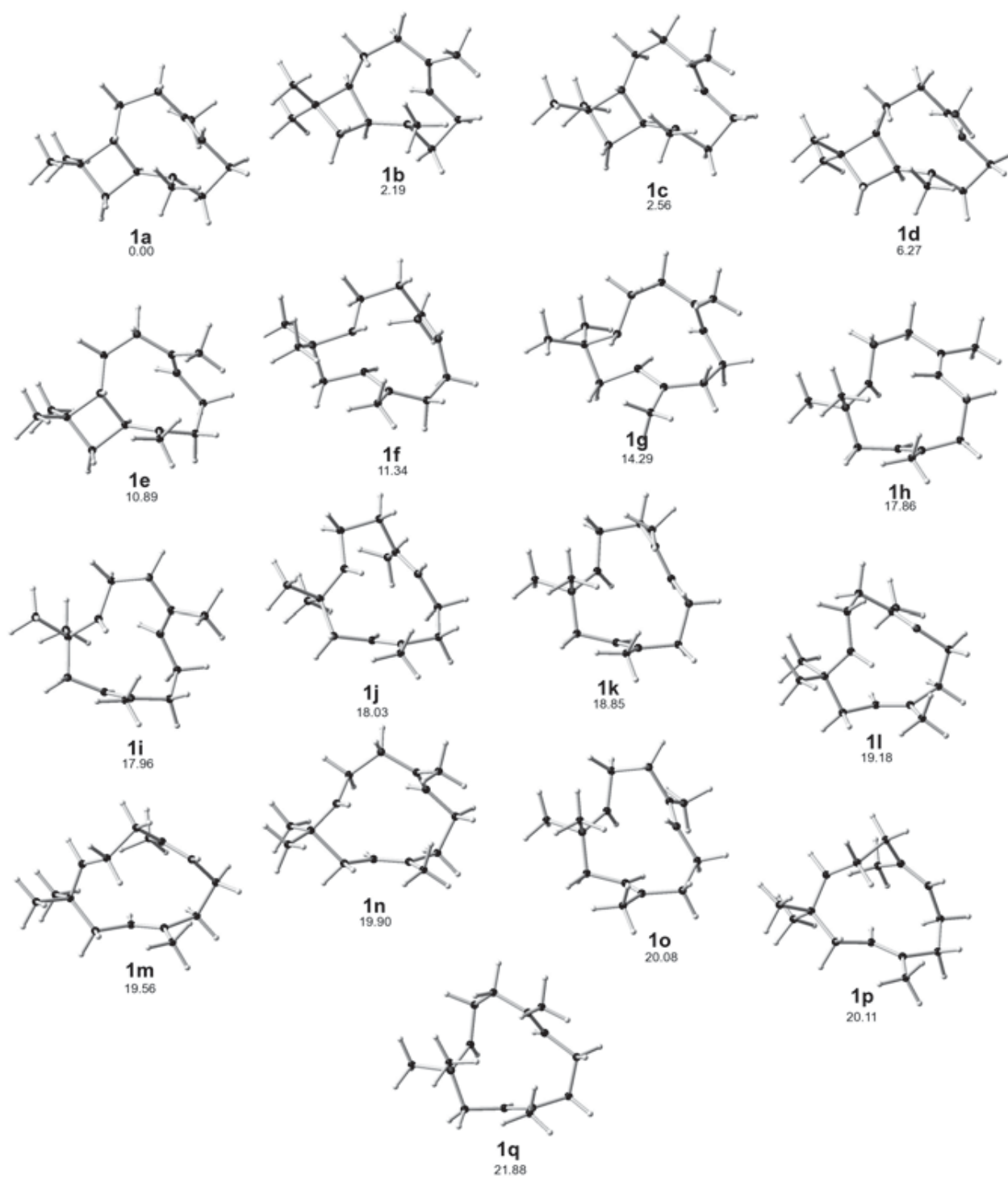


Figura 7.1 Conformeros del catión humilo

Para modelar el mecanismo propuesto por Cane *et al.* (Esquema 7.4) se tomó al conformero **11**, ya que éste tiene la conformación más adecuada para seguir el mecanismo propuesto y generar la configuración observada en **6**. El catión **11** produce el biciclo **10**, para este paso la energía de activación es pequeña sólo un poco más de 2 kcal/mol (Figura 7.2). La distancia C2-C7 en el catión **10** no es muy grande, lo que favorece el que estos dos carbonos reaccionen. La energía de activación para que esto suceda es un poco más de 1 kcal/mol.

El triciclo formado **11** es muy estable pero también muy rígido. El problema con que **11** sea muy rígido es que no se encontró ningún conformero de **11** que tuviera la geometría adecuada para que al migrar el hidrógeno unido a C2 se genere la configuración que se postula debe tener el intermediario **12** (*S*). El conformero que tiene la geometría más cercana a la necesaria, tiene al enlace C2-H prácticamente perpendicular al plano del carbono C3. Los otros conformeros de **11** generarían la configuración contraria. A pesar de esto, se buscó un ET que correspondiera a la migración [1,2] de hidrógeno de C2 a C3 y que generara la configuración *S*. Para nuestra sorpresa se encontró dicho ET (**ET11-12**). En este ET, además de que el hidrógeno en cuestión migra, el enlace C6-C7 también se está rompiendo, ya que la distancia C-C ha crecido a 1.65 Å. Luego entonces la migración del hidrógeno es concertada con la transposición del C6 de C7 a C2. A pesar de que sí existe el ET, la energía de éste es muy grande debido principalmente a que la conformación no es la adecuada para la migración.

El catión **12** tiene una distancia C6-C2 muy grande aunque es bastante estable. Ninguna de las conformaciones que puede adoptar **12** (que en realidad son muy pocas) tiene la geometría adecuada para que suceda la migración [1,3] de hidrógeno, ya que según las reglas de Woodward-Hoffman la migración [1,3] debe de suceder de forma antarafacial. Se buscó el ET para dicha migración y como era de esperarse se encontró un ET (**ET12-13**) cuya energía es muy elevada. Al analizar la geometría de este ET se puede ver que la migración del hidrógeno es suprafacial. Para que se pudiera dar una migración antarafacial, los carbonos involucrados en la migración deben de estar uno enfrente del otro, o lo que es

lo mismo, el ángulo entre los planos que contienen a dichos carbono debe ser cercano a cero; por el contrario, para que haya migración suprafacial el ángulo debe ser cercano a 180° . Para **ET12-13** el ángulo entre el plano formado por el C2, C7 y C8 y el plano formado por C2, C3 y C4 es de 160° , lo cual es indicativo de una migración suprafacial que según las reglas de Woodward-Hoffman es desfavorable para una migración [1,3].

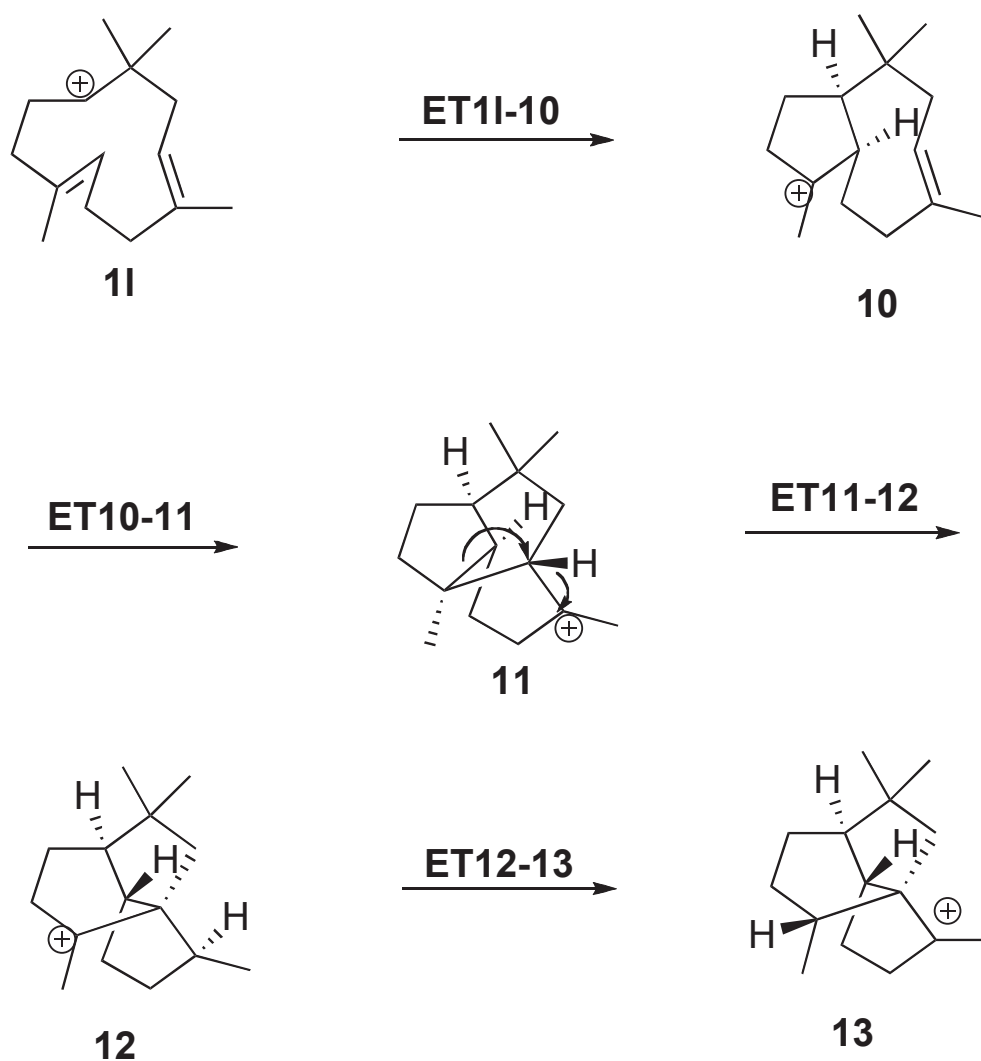


Figura 7.2a Estructuras simplificadas de la Figura 7.2b.

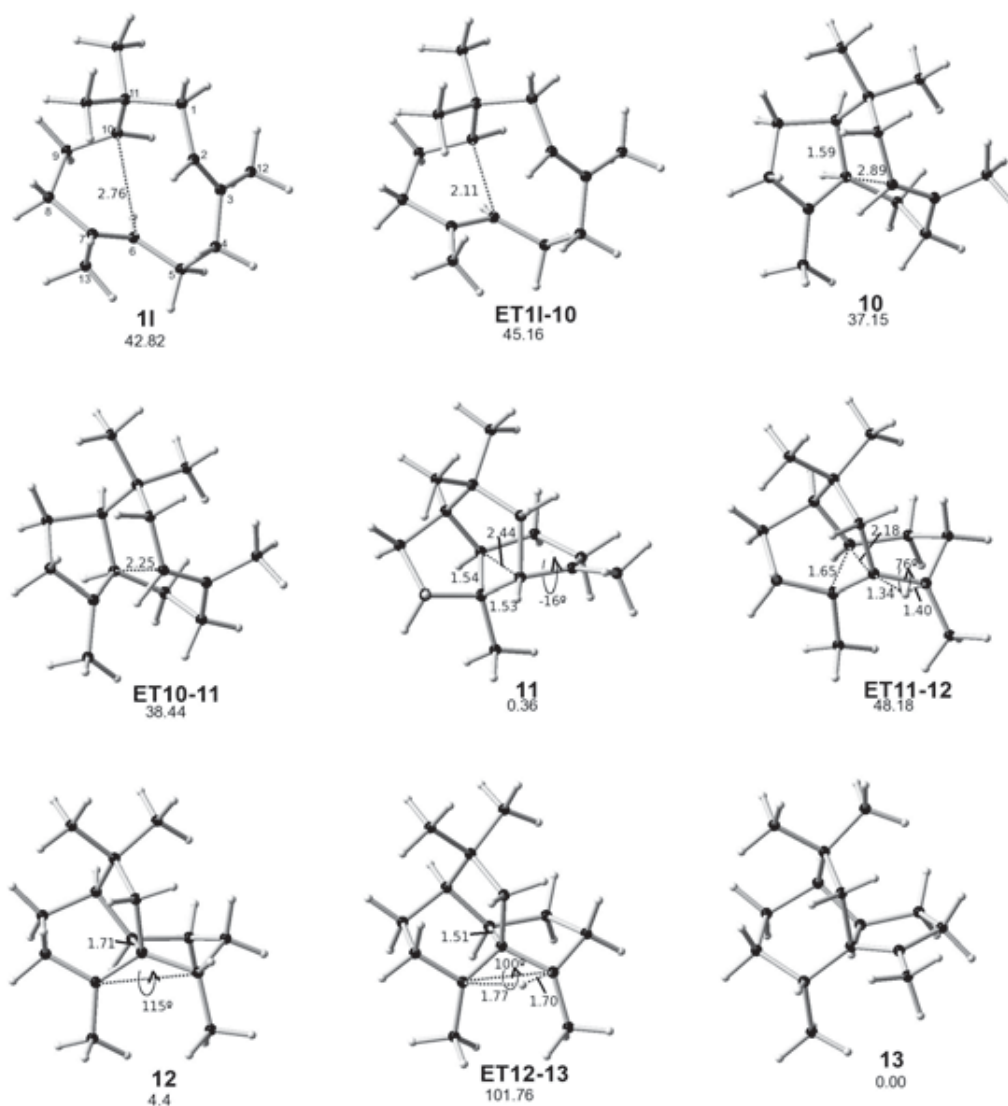


Figura 7.2b Intermediarios y ET optimizados al nivel mPW1B95/6-31+G(d,p) a partir del mecanismo de reacción propuesto por Cane *et al.* para la formación del ácido terrecíclico. Las distancias y los ángulos diedros H-C2-C3-C12 y C7-C2-C3-H están en Å y en grados, respectivamente.

El mecanismo propuesto por Coates *et al.* (esquema 7.5) parte de un carbocatión cercano en geometría al β -cariofileno, es por esto que se escogió como conformero de partida a **1f**. El conformero **1f** tiene la geometría adecuada para producir la configuración observada en **6**. El mecanismo planteado en el esquema 7.5 muestra que en el intermediario **16** el hidrógeno y el metilo unidos a C2 y a C3, respectivamente, tienen la misma dirección. En un principio

C2-C3 es un enlace doble *trans*, por lo que en algún punto del mecanismo antes de llegar a **16** este enlace tiene que rotar para que el hidrógeno y el metilo apunten en la misma dirección. Se planteó entonces que el primer paso fuera la rotación del enlace C2-C3 para producir el intermediario **1f'** (Figura 7.3), en el cual tanto el hidrógeno como el metilo tienen la misma dirección.

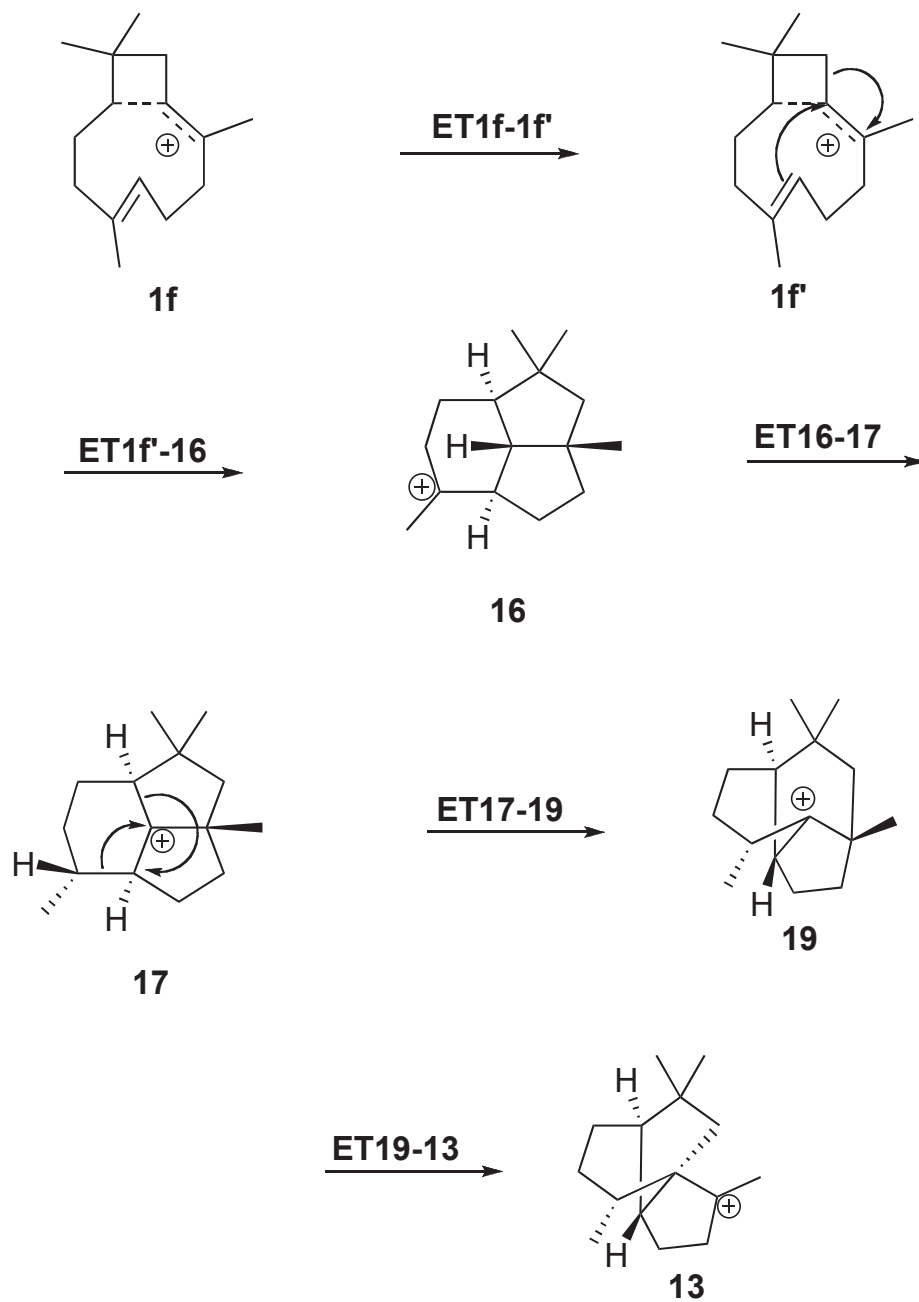


Figura 7.3a Estructuras simplificadas de la Figura 7.3b.

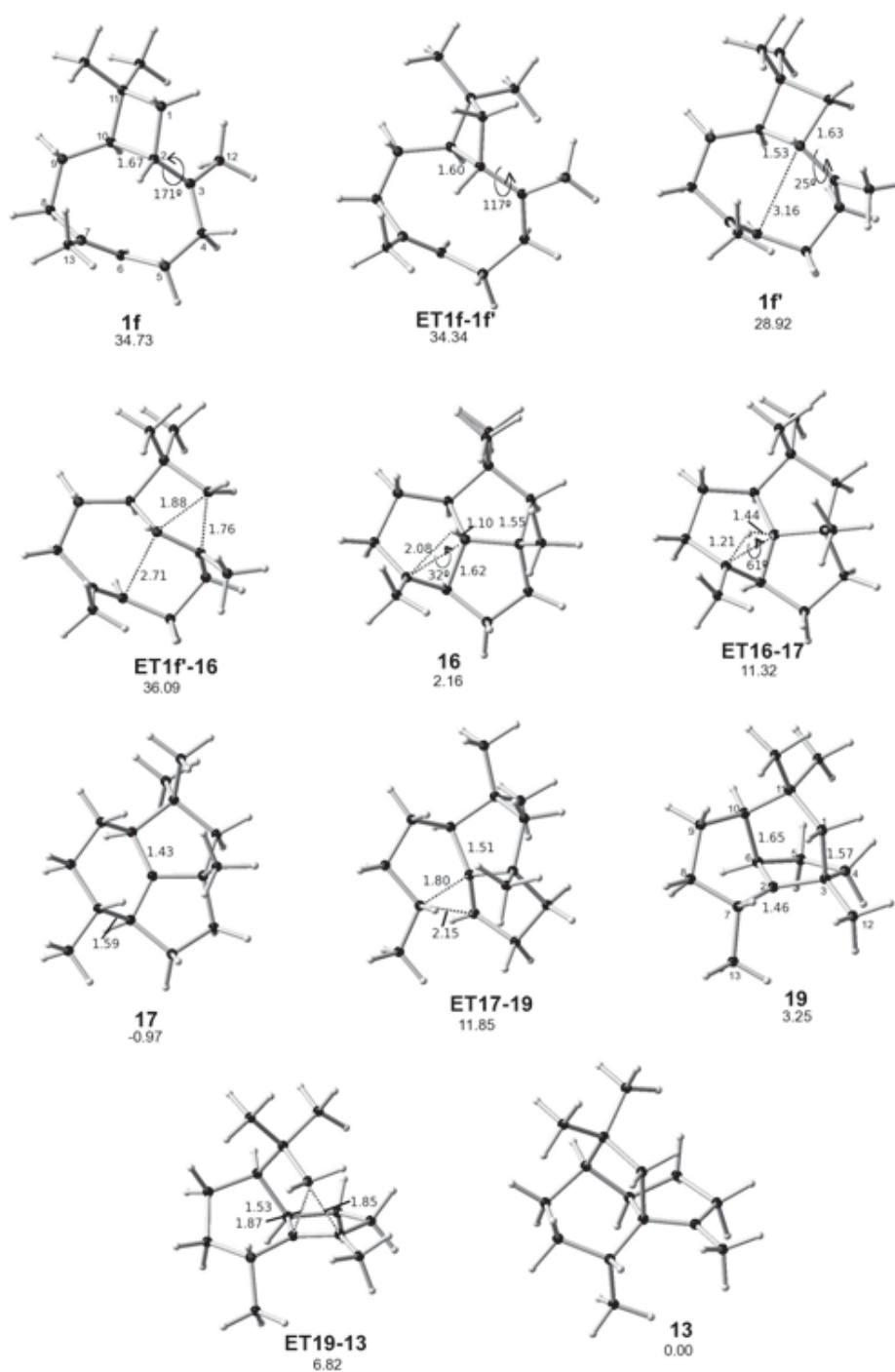


Figura 7.3b Intermediarios y ET optimizados al nivel mPW1B95/6-31+G(d,p) a partir del mecanismo de reacción propuesto por Cane *et al.* para la formación del ácido terrecíclico. Las distancias y los ángulos diedros H-C2-C3-C12 y C13-C7-C2-H están en Å y en grados, respectivamente.

En el siguiente paso se planteó la formación de **15**, sin embargo, nunca se logró encontrar un intermediario con la geometría que tiene **15**, todos los intentos terminaron en el intermediario **16**. En el ET que une a los intermediarios **1f** y **16** (**ET1f-16**) se puede notar como la distancia C2-C6 disminuye al mismo tiempo que C1 se transpone (Figura 7.3), por lo que se puede plantear que la formación del enlace C2-C6 y la transposición del enlace C1 suceden de manera concertada. El que este paso sea concertado es una de las razones del porque se plantea que la rotación del enlace C2-C3 suceda antes de la transposición de C1.

El intermediario **16** tiene que sufrir una migración [1,3] de hidrógeno para formar a **17**. El primer mecanismo también planteaba una migración [1,3], cuyo ET (**ET12-13**) resultó tener una energía muy grande. Sin embargo, para este caso el ET para la migración [1,3] (**ET16-17**) no tiene una energía tan grande. La diferencia estriba en el hecho de que en **ET16-17** el ángulo entre el plano formado por C2, C3 y C6 y el plano formado por C6, C7 y C13 es de 72°. Un ángulo de ese tamaño es indicativo de una migración mayoritariamente antarafacial, la cuál está favorecida para una migración [1,3].

Según lo planteado por Coates *et al.*, una vez formado **17**, éste sufrirá la transposición de C7 para formar en principio al intermediario **18**. Sin embargo, todos los intentos por encontrar a este intermediario fueron infructuosos. Lo que sí se encontró fue un ET cuya estructura es similar a la estructura que tendría que tener **18** (**ET17-19**) aunque la distancia C2-C7 es un poco larga (1.8Å). La frecuencia imaginaria de **ET17-19** sólo indica la migración de C7, pero al revisar la CIR queda claro que una vez que sucede la migración de C7 comienza la migración de C10 para finalmente formar al intermediario **19**. No resulta extraño que los dos intermediarios **15** y **18** (planteados en el mecanismo original) no sean mínimos en la superficie de energía potencial, ya que ambos son carbocationes secundarios. Si el sistema tiene la posibilidad de formar un carbocatión terciario lo formará, ya que éste es más estable. El último paso que consiste en la transposición de C1 ocurre de forma simétrica y con una barrera bastante pequeña.

Si se comparan ambos mecanismos desde el punto de vista energético (Figura 7.4), se puede concluir que el mecanismo planteado por Cane *et al.* queda completamente descartado, ya que los dos últimos pasos, y sobre todo, el último paso tiene barreras energéticas muy grandes que serían muy difíciles de superar. Por otro lado, en el mecanismo planteado por Coates *et al.* ninguna de sus barreras energéticas es muy grande. Sin embargo, hay un pequeño problema con este mecanismo, ya que el intermediario **17** es más estable que el producto final **13**. Esto no descarta a este mecanismo, ya que la diferencia de energía entre **13** y **17** es menor de 1 kcal/mol.

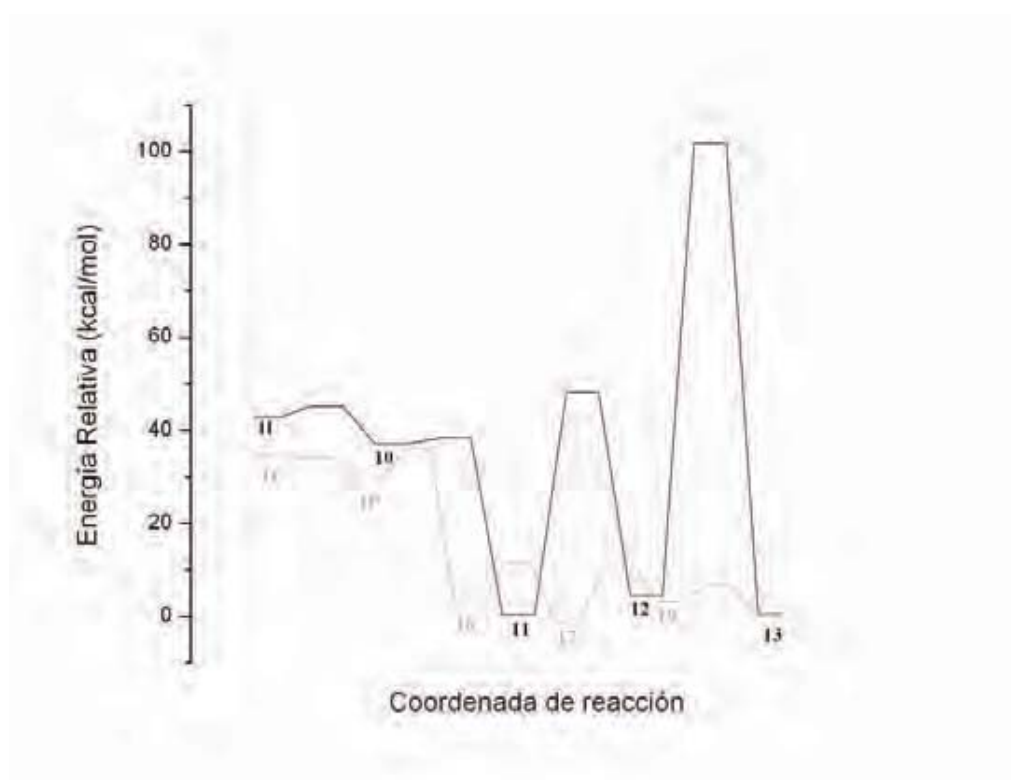


Figura 7.4 Perfil energético de los mecanismos de reacción para la formación de ácido terrecíclico. Cane (Negro) y Coates (Gris).

Conclusiones

El catión humilo tiene más de ocho conformaciones posibles. Varias de estas conformaciones son más parecidas al β -cariofileno, ya que al ser el humilo un carbocatión secundario, éste reaccionará instantáneamente si su conformación permite que un enlace doble esté muy cerca del carbono con deficiencia electrónica.

El ángulo entre los planos que contiene a los carbonos entre los cuales va a suceder una migración, indica claramente que tipo de migración, ya sea antarafacial o suprafacial, está sucediendo en un ET determinado.

Los resultados teóricos aquí expuestos descartan la hipótesis biogenética de Cane *et al.*¹⁷⁷ y apoyan la hipótesis de Coates *et al.* con algunas modificaciones.¹⁸³ Estas modificaciones estriban en el hecho de que ninguno de los carbocationes secundarios planteados por Coates son mínimos en la superficie de energía potencial, por lo que los pasos que involucran a éstos se dan de manera concertada. El mecanismo planteado por Coates con las modificaciones planteadas aquí explican satisfactoriamente los experimentos con marcajes isotópicos.

8. Conclusión General

Se ha desarrollado una metodología computacional para abordar el estudio de mecanismos de reacción para la biogénesis terminal de terpenos. El nivel mPW1B95 es adecuado y permite establecer la validez de las hipótesis biogénicas propuestas.

Referencias

1. Connolly, J. D.; Hill, R. A., *Dictionary of Terpenoids*. Dictionary of Terpenoids: 1991.
2. Cane, D. E., *Comprehensive Natural Products Chemistry*. Barton, S. D.; Nakanishi, K., Eds. Elsevier: 1999; Vol. 2, pp 155-200.
3. Mann, J.; Davidson, S.; Hobbs, J.; Banthorpe, D.; Harborne, J., *Natural Products: Their Chemistry and Biological Significance*. Pretince Hall: 1994.
4. Dewick, P. M., The biosynthesis of C-5-C-25 terpenoid compounds. *Natural Product Reports* **2002**, 19, (2), 181-222.
5. Manitto, P.; Sammes, P. G., *Biosynthesis of Natural Products*. Halsted Press: New York, 1981.
6. Cane, D. E., Enzymic formation of sesquiterpenes. *Chemical Reviews* **1990**, 90, (7), 1089-103.
7. Fischer, N. H., Sesquiterpene lactones: biogenesis and biomimetic transformations. *Recent Advances in Phytochemistry* **1990**, 24, (Biochem. Mevalonic Acid Pathway Terpenoids), 161-201.
8. Fischer, N. H., On the biogenesis of pseudoguaianolides. *Revista Latinoamericana de Quimica* **1978**, 9, (2), 41-6.
9. de la Torre, M. C.; Sierra, M. A., Comments on recent achievements in biomimetic organic synthesis. *Angewandte Chemie-International Edition* **2004**, 43, (2), 160-181.
10. Gao, D. Q.; Pan, Y. K.; Byun, K.; Gao, J. L., Theoretical evidence for a concerted mechanism of the oxirane cleavage and A-ring formation in oxidosqualene cyclization. *Journal of the American Chemical Society* **1998**, 120, (16), 4045-4046.
11. Allemann, R. K.; Young, N. J.; Ma, S. H.; Truhlar, D. G.; Gao, J. L., Synthetic efficiency in enzyme mechanisms involving carbocations: Aristolochene synthase. *Journal of the American Chemical Society* **2007**, 129, (43), 13008-13013.
12. Gutta, P.; Tantillo, D. J., Theoretical studies on farnesyl cation cyclization: Pathways to pentalenene. *Journal of the American Chemical Society* **2006**, 128, (18), 6172-6179.
13. Gutta, P.; Tantillo, D. J., A promiscuous proton in taxadiene biosynthesis? *Organic Letters* **2007**, 9, (6), 1069-1071.
14. Ho, G. A.; Nouri, D. H.; Tantillo, D. J., The cationic cascade route to longifolene. *Journal of Organic Chemistry* **2005**, 70, (13), 5139-5143.
15. Hong, Y. J.; Tantillo, D. J., Which is more likely in trichodiene biosynthesis: Hydride or proton transfer? *Organic Letters* **2006**, 8, (20), 4601-4604.
16. Kurti, L.; Chein, R. J.; Corey, E. J., Conformational energetics of cationic backbone rearrangements in triterpenoid biosynthesis provide an insight into enzymatic control of product. *Journal of the American Chemical Society* **2008**, 130, (28), 9031-9036.

17. Hess, B. A., Concomitant C-ring expansion and D-ring formation in lanosterol biosynthesis from squalene without violation of Markovnikov's rule. *Journal of the American Chemical Society* **2002**, 124, (35), 10286-10287.
18. Hess, B. A., Formation of the C ring in the lanosterol biosynthesis from squalene. *Organic Letters* **2003**, 5, (2), 165-167.
19. Hess, B. A., Formation of the B ring in steroids and hopanoids from squalene (May, pg 2239, 2004). *European Journal of Organic Chemistry* **2004**, (12), 2747-2747.
20. Hess, B. A.; Smentek, L., Concerted nature of AB ring formation in the enzymatic Cyclization of squalene to hopenes. *Organic Letters* **2004**, 6, (11), 1717-1720.
21. Khasenov, B. B.; Turdybekov, K. M., Modelling transannular cyclization of 1(10)E,4E-germacranolide costunolide into eudesmane derivatives. *Chemistry of Natural Compounds* **2001**, 37, (5), 451-454.
22. Cramer, C. J., *Essentials of Computational Chemistry: Theories and Models*. second ed.; Wiley: Chichester, 2004.
23. Koch, W.; Holthausen, M. C., *A Chemist's Guide to Density Functional Theory*. Wiley-VCH: Weinheim, 2000.
24. Zhao, Y.; Truhlar, D. G., The M06 suite of density functionals for main group thermochemistry, thermochemical kinetics, noncovalent interactions, excited states, and transition elements: two new functionals and systematic testing of four M06-class functionals and 12 other functionals. *Theoretical Chemistry Accounts* **2008**, 120, (1-3), 215-241.
25. Jensen, F., *Introduction to Computational Chemistry*. John Wiley & Sons: Chichester, 1999.
26. Schlegel, H. B., Exploring potential energy surfaces for chemical reactions: An overview of some practical methods. *Journal of Computational Chemistry* **2003**, 24, (12), 1514-1527.
27. Adio, A. M., Germacrenes A-E and related compounds: thermal, photochemical and acid induced transannular cyclizations. *Tetrahedron* **2009**, 65, (8), 1533-1552.
28. Bulow, N.; Konig, W. A., The role of germacrene D as a precursor in sesquiterpene biosynthesis: investigations of acid catalyzed, photochemically and thermally induced rearrangements. *Phytochemistry* **2000**, 55, (2), 141-168.
29. Fischer, N. H.; Olivier, E. J.; Fischer, H. D., The biogenesis and chemistry of sesquiterpene lactones. *Fortschritte der Chemie Organischer Naturstoffe* **1979**, 38, 47-390.
30. Parker, W.; Roberts, J. S.; Ramage, R., Sesquiterpene biogenesis. *Q. Rev., Chem. Soc.* **1967**, 21, (3), 331-63.
31. Hendrickson, J. B., Stereochemical implications in sesquiterpene biogenesis. *Tetrahedron* **1959**, 7, 82-9.
32. Geissman, T. A.; Griffin, T. S., Sesquiterpene lactones. Acid-catalyzed color reactions as an aid in structure determination. *Phytochemistry* **1971**, 10, (10), 2475-85.
33. Govindachari, T. R.; Joshi, B. S.; Kamat, V. N., Structure of parthenolide. *Tetrahedron* **1965**, 21, (6), 1509-19.
34. Griffin, T. S.; Geissman, T. A.; Winters, T. E., Chemistry of a structurally diagnostic color reactions of xanthinin and related sesquiterpene lactones. *Phytochemistry* **1971**, 10, (10), 2487-95.

35. Irwin, M. A.; Lee, K.-H.; Simpson, R. F.; Geissman, T. A., Sesquiterpene lactones of Artemisia. Ridentin. *Phytochemistry* **1969**, 8, (10), 2009-12.
36. White, E. H.; Winter, R. E. K., Natural products from Achillea lanulosa. *Tetrahedron Letters* **1963**, 137-40.
37. Fischer Nikolaus, H.; Wiley, R. A.; Perry, D. L., Sesquiterpene lactones from Melampodium (Compositae, Heliantheae), structural and biosynthetic considerations. *Revista Latinoamericana de Quimica* **1976**, 7, (2), 87-93.
38. Ortega, A.; Maldonado, E., One step transformation of 4 α ,5 β - epoxygermacranolide into pseudoguaianolide. *Heterocycles* **1989**, 29, (4), 635-8.
39. Takeda, K., Stereospecific Cope rearrangement of the germacrene-type sesquiterpenes. *Tetrahedron* **1974**, 30, (12), 1525-34.
40. Samek, Z.; Harmatha, J., Terpenes. Part CCLIII. Use of structural changes for stereochemical assignments of natural α -exomethylene g-lactones of the germacra-1(10),4-dienolide type on the basis of allylic and vicinal couplings of bridgehead protons. Hydrogenation of endocyclic double bonds. *Collection of Czechoslovak Chemical Communications* **1978**, 43, (10), 2779-99.
41. Maldonado, E.; Flores, A. M.; Ortega, A., A germacrolide from Gochnatia hypoleuca and its transformation into a melampolide. *Phytochemistry* **1988**, 27, (3), 861-3.
42. Herz, W., Biogenetic aspects of sesquiterpene lactone chemistry. *Israel Journal of Chemistry* **1977**, 16, (1), 32-44.
43. Herz, W., Sesquiterpene Lactones Biogenesis. En *Pharmacognosy and Phytochemistry*, Wagner, H.; Horhammer, L., Eds. Springer-Verlag: West Berlin and Heidelberg, 1971; p 64.
44. Vrcek, I. V.; Vrcek, V.; Siehl, H. U., Quantum chemical study of degenerate hydride shifts in acyclic tertiary carbocations. *Journal of Physical Chemistry A* **2002**, 106, (8), 1604-1611.
45. Vrcek, V., DFT study of rearrangements in cyclopentylheptyl carbocations. *International Journal of Quantum Chemistry* **2007**, 107, (8), 1772-1781.
46. Vrcek, V.; Vrcek, I. V.; Siehl, H. U., Quantum chemical study of solvent and substituent effects on the 1,5-hydride shift in 2,6-dimethyl-2-heptyl cations. *Journal of Physical Chemistry A* **2006**, 110, (5), 1868-1874.
47. Durant, J. L., Evaluation of transition state properties by density functional theory. *Chemical Physics Letters* **1996**, 256, (6), 595-602.
48. Lynch, B. J.; Fast, P. L.; Harris, M.; Truhlar, D. G., Adiabatic connection for kinetics. *Journal of Physical Chemistry A* **2000**, 104, (21), 4811-4815.
49. Zhao, Y.; Truhlar, D. G., Design of density functionals that are broadly accurate for thermochemistry, thermochemical kinetics, and nonbonded interactions. *Journal of Physical Chemistry A* **2005**, 109, (25), 5656-5667.
50. Check, C. E.; Gilbert, T. M., Progressive systematic underestimation of reaction energies by the B3LYP model as the number of C-C bonds increases: Why organic chemists should use multiple DFT models for calculations involving polycarbon hydrocarbons. *Journal of Organic Chemistry* **2005**, 70, (24), 9828-9834.
51. Grimme, S., Seemingly simple stereoelectronic effects in alkane isomers and the implications for Kohn-Sham density functional theory. *Angewandte Chemie-International Edition* **2006**, 45, (27), 4460-4464.

52. Schreiner, P. R.; Fokin, A. A.; Pascal, R. A.; de Meijere, A., Many density functional theory approaches fail to give reliable large hydrocarbon isomer energy differences. *Organic Letters* **2006**, 8, (17), 3635-3638.
53. Wodrich, M. D.; Corminboeuf, C.; Schleyer, P. V., Systematic errors in computed alkane energies using B3LYP and other popular DFT functionals. *Organic Letters* **2006**, 8, (17), 3631-3634.
54. Schultz, N. E.; Zhao, Y.; Truhlar, D. G., Density functionals for inorganometallic and organometallic chemistry. *Journal of Physical Chemistry A* **2005**, 109, (49), 11127-11143.
55. Carlier, P. R.; Deora, N.; Crawford, T. D., Protonated 2-methyl-1,2-epoxypropane: A challenging problem for density functional theory. *Journal of Organic Chemistry* **2006**, 71, (4), 1592-1597.
56. Zhao, Y.; Truhlar, D. G., How well can new-generation density functionals describe protonated epoxides where older functionals fail? *Journal of Organic Chemistry* **2007**, 72, (1), 295-298.
57. Matsuda, S. P. T.; Wilson, W. K.; Xiong, Q. B., Mechanistic insights into triterpene synthesis from quantum mechanical calculations. Detection of systematic errors in B3LYP cyclization energies. *Organic & Biomolecular Chemistry* **2006**, 4, (3), 530-543.
58. Zhao, Y.; Truhlar, D. G., Density functionals with broad applicability in chemistry. *Accounts of Chemical Research* **2008**, 41, (2), 157-167.
59. Zhao, Y.; Pu, J. Z.; Lynch, B. J.; Truhlar, D. G., Tests of second-generation and third-generation density functionals for thermochemical kinetics. *Physical Chemistry Chemical Physics* **2004**, 6, (4), 673-676.
60. Frisch, M. J. T., G. W.; Schlegel, H. B.; Scuseria, G. E.; Robb, M. A.; Cheeseman, J. R.; Montgomery, Jr., J. A.; Vreven, T.; Kudin, K. N.; Burant, J. C.; Millam, J. M.; Iyengar, S. S.; Tomasi, J.; Barone, V.; Mennucci, B.; Cossi, M.; Scalmani, G.; Rega, N.; Petersson, G. A.; Nakatsuji, H.; Hada, M.; Ehara, M.; Toyota, K.; Fukuda, R.; Hasegawa, J.; Ishida, M.; Nakajima, T.; Honda, Y.; Kitao, O.; Nakai, H.; Klene, M.; Li, X.; Knox, J. E.; Hratchian, H. P.; Cross, J. B.; Bakken, V.; Adamo, C.; Jaramillo, J.; Gomperts, R.; Stratmann, R. E.; Yazyev, O.; Austin, A. J.; Cammi, R.; Pomelli, C.; Ochterski, J. W.; Ayala, P. Y.; Morokuma, K.; Voth, G. A.; Salvador, P.; Dannenberg, J. J.; Zakrzewski, V. G.; Dapprich, S.; Daniels, A. D.; Strain, M. C.; Farkas, O.; Malick, D. K.; Rabuck, A. D.; Raghavachari, K.; Foresman, J. B.; Ortiz, J. V.; Cui, Q.; Baboul, A. G.; Clifford, S.; Cioslowski, J.; Stefanov, B. B.; Liu, G.; Liashenko, A.; Piskorz, P.; Komaromi, I.; Martin, R. L.; Fox, D. J.; Keith, T.; Al-Laham, M. A.; Peng, C. Y.; Nanayakkara, A.; Challacombe, M.; Gill, P. M. W.; Johnson, B.; Chen, W.; Wong, M. W.; Gonzalez, C.; and Pople, J. A. *Gaussian 03, Revision D.01*, Gaussian, Inc: Wallingford CT, 2004.
61. Becke, A. D., Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange. *Journal of Chemical Physics* **1993**, 98, (7), 5648-52.
62. Wilson, P. J.; Bradley, T. J.; Tozer, D. J., Hybrid exchange-correlation functional determined from thermochemical data and ab initio potentials. *Journal of Chemical Physics* **2001**, 115, (20), 9233-9242.
63. Becke, A. D., Density-functional thermochemistry .4. A new dynamical correlation functional and implications for exact-exchange mixing. *Journal of Chemical Physics* **1996**, 104, (3), 1040-1046.

64. Zhao, Y.; Truhlar, D. G., Hybrid meta density functional theory methods for thermochemistry, thermochemical kinetics, and noncovalent interactions: The MPW1B95 and MPWB1K models and comparative assessments for hydrogen bonding and van der Waals interactions. *Journal of Physical Chemistry A* **2004**, 108, (33), 6908-6918.
65. Head-Gordon, M.; Head-Gordon, T., Analytic MP2 frequencies without fifth-order storage. Theory and application to bifurcated hydrogen bonds in the water hexamer. *Chemical Physics Letters* **1994**, 220, (1-2), 122-8.
66. Head-Gordon, M.; Pople, J. A.; Frisch, M. J., MP2 energy evaluation by direct methods. *Chemical Physics Letters* **1988**, 153, (6), 503-6.
67. Saebo, S.; Almlof, J., Avoiding the integral storage bottleneck in LCAO calculations of electron correlation. *Chemical Physics Letters* **1989**, 154, (1), 83-9.
68. Lynch, B. J.; Zhao, Y.; Truhlar, D. G., Effectiveness of diffuse basis functions for calculating relative energies by density functional theory. *Journal of Physical Chemistry A* **2003**, 107, (9), 1384-1388.
69. Glendening, E. D.; Reed, A. E.; Carpenter, J. E.; Weinhold, F. *NBO*, 3.1.
70. Fernandez-Alonso, M. D.; Asensio, J. L.; Canada, F. J.; Jimenez-Barbero, J.; Cuevas, G., G2 and DFT rigorous description of the inversion process of oxane and thiane used as simple ring systems to model sugar components. *ChemPhysChem* **2003**, 4, (7), 754-757.
71. Fernandez-Alonso, M. D.; Canada, J.; Jimenez-Barbero, J.; Cuevas, G., Theoretical study of inversion and topomerization processes of substituted cyclohexanes: The relevance of the energy 3D hypersurface. *ChemPhysChem* **2005**, 6, (4), 671-680.
72. Laube, T., X-Ray Crystal-Structures of Carbocations Stabilized by Bridging or Hyperconjugation. *Accounts of Chemical Research* **1995**, 28, (10), 399-405.
73. Rustaiyan, A.; Zare, K.; Biniyaz, T.; Fazlalizadeh, G., A seco-guaianolide and other sesquiterpene lactones from *Postia bombycina*. *Phytochemistry* **1989**, 28, (11), 3127-9.
74. Jakupovic, J.; Zdero, C.; Grenz, M.; Tschritzis, F.; Lehmann, L.; Hashemi-Nejad, S. M.; Bohlmann, F., Twenty-one acylphloroglucinol derivatives and further constituents from South African *Helichrysum* species. *Phytochemistry* **1989**, 28, (4), 1119-31.
75. Topcu, G.; Oksuz, S.; Herz, W.; Diaz, J. G., Structurally Related Guaianolides from *Inula Thapsoides*. *Phytochemistry* **1995**, 40, (6), 1717-1722.
76. Juaristi, E.; Cuevas, G., Manifestations of stereoelectronic interactions in (1)J(C-H) one-bond coupling constants. *Accounts of Chemical Research* **2007**, 40, (10), 961-970.
77. Smith, M. B.; March, J., *March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure*. 5th ed.; Wiley-Interscience: 2001.
78. Zhao, Y.; Schultz, N. E.; Truhlar, D. G., Design of Density Functionals by Combining the Method of Constraint Satisfaction with Parametrization for Thermochemistry, Thermochemical Kinetics, and Noncovalent Interactions. *Journal of Chemical Theory and Computation* **2006**, 2, (2), 364-382.
79. Deslongchamps, P., *Stereoelectronic Effects in Organic Chemistry*. Pergamon Press: Oxford, 1983.
80. Tantillo, D. J., Recent excursions to the borderlands between the realms of concerted and stepwise: carbocation cascades in natural products biosynthesis. *Journal of Physical Organic Chemistry* **2008**, 21, (7-8), 561-570.

81. Zdero, C.; Bohlmann, F.; King, R. M., Eudesmane derivatives and other constituents from *Apalochlamys spectabilis* and *Cassinia* species. *Phytochemistry* **1990**, *29*, (10), 3201-6.
82. Cortes-Guzman, F.; Hernandez-Trujillo, J.; Cuevas, G., The nonexistence of repulsive 1,3-diaxial interactions in monosubstituted cyclohexanes. *Journal of Physical Chemistry A* **2003**, *107*, (44), 9253-9256.
83. Zdero, C.; Bohlmann, F., Eremophilanolides, eudesmanolides, guaianolides and other constituents from *Ondetia linearis*. *Phytochemistry* **1989**, *28*, (6), 1653-60.
84. Farcasiu, D.; Lukinskas, P.; Pamidighantam, S. V., Bridged and open carbocation structures as a function of the correlation level in ab initio calculations: The 4-methyl-2-pentyl cation. *Journal of Physical Chemistry A* **2002**, *106*, (47), 11672-11675.
85. Brown, J.; Pawar, D. M.; Noe, E. A., Conformational study of 1,2-cycloundecadiene by dynamic NMR spectroscopy and computational methods. *Journal of Organic Chemistry* **2003**, *68*, (9), 3420-3424.
86. Nori-Shargh, D.; Amini, M. M.; Deyhimi, F.; Jameh-Bozorgi, S.; Aminzadeh, S., Ab initio study of the conformational properties of (Z,Z)-cyclodeca-1,6-diene and its heterocyclic analogue containing oxygen. *THEOCHEM* **2005**, *716*, (1-3), 211-215.
87. Yavari, I.; Hosseini-Tabatabaei, M. R.; Nori-Shargh, D.; Jabbari, A., AM1 study of conformational properties of ZZ-, E,E- and E,Z-cyclodeca-1,6-diene. *Journal of Molecular Structure-Theochem* **2001**, *574*, 9-17.
88. Appendino, G.; Valle, M. G.; Gariboldi, P., Structural and conformational studies of sesquiterpenoid esters from *Laserpitium halleri* Crantz subsp. *halleri*. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1* **1986**, (8), 1363-72.
89. Tori, K.; Horibe, I.; Tamura, Y.; Kuriyama, K.; Tada, H.; Takeda, K., Re-investigation of the conformation of laurenobiolide, a ten-membered ring sesquiterpene lactone by variable-temperature carbon-13 NMR spectroscopy. Evidence for the presence of four conformational isomers in solution. *Tetrahedron Letters* **1976**, (5), 387-90.
90. Horibe, I.; Shigemoto, H.; Tori, K., Proton NMR solvent shifts induced by hexafluorobenzene in germacrones, ten-membered ring sesquiterpenes. *Tetrahedron Letters* **1975**, (33), 2849-52.
91. Ugliengo, P.; Appendino, G.; Chiari, G.; Viterbo, D., Conformational study of shiromodiol and related epoxygermacranes: x-ray, molecular mechanics, and NMR analyses. *Journal of Molecular Structure* **1990**, *222*, (3-4), 437-52.
92. Watson, W. H.; Kashyap, R. P., Conformations of germacra-1(10),4-dien-6,12-olides and -8,12-olides. A comparison of x-ray diffraction, NMR, and molecular mechanics derived conformations. *Journal of Organic Chemistry* **1986**, *51*, (13), 2521-4.
93. Jimeno, M. L.; Aprea-Rojas, M. D.; Cano, F. H.; Rodriguez, B., NMR and x-ray conformational study of artemisiifolin and three other related germacranolides. *Magnetic Resonance in Chemistry* **2004**, *42*, (5), 474-483.
94. Wong, H. F.; Brown, G. D., Germacranolides from *Artemisia myriantha* and their conformation. *Phytochemistry* **2002**, *59*, (5), 529-536.
95. Tashkhodzhaev, B. T.; Abduazimov, B. K., Stereochemistry of germacrane-type sesquiterpenes. *Khimiya Prirodnykh Soedinenii* **1997**, (4), 497-506.
96. Marco, J. A.; Sanzervera, J. F.; Garcialliso, V.; Domingo, L. R.; Carda, M.; Rodriguez, S.; Lopezortiz, F.; Lex, J., Influence of Conformational Factors on Acid-

Catalyzed Cyclizations of Germacranolides - Molecular-Structure of the Cyclization Products of Gallicin and 8-Alpha-Hydroxygallicin (Shonachalin-a). *Liebigs Annalen* **1995**, (10), 1837-1841.

97. Faraldos, J. A.; Wu, S.; Chappell, J.; Coates, R. M., Conformational analysis of (+)-germacrene A by variable-temperature NMR and NOE spectroscopy. *Tetrahedron* **2007**, 63, (32), 7733-7742.

98. Barrero, A. F.; Herrador, M. M.; Quilez, J. F.; Alvarez-Manzaneda, R.; Portal, D.; Gavin, J. A.; Gravalos, D. G.; Simmonds, M. S. J.; Blaney, W. M., Bioactive sesquiterpenes from *Santolina rosmarinifolia* subsp. *Canescens*. A conformational analysis of the germacrane ring. *Phytochemistry* **1999**, 51, (4), 529-541.

99. Barquera-Lozada, J. E.; Cuevas, G., Biogenesis of Sesquiterpene Lactones Pseudoguaianolides from Germacranolides: Theoretical Study on the Reaction Mechanism of Terminal Biogenesis of 8-Epiconfertin. *Journal of Organic Chemistry* **2009**, 74, (2), 874-883.

100. Messerotti, W.; Pagnoni, U. M.; Trave, R.; Zanasi, R.; Andreetti, G. D.; Bocelli, G.; Sgarabotto, P., Conformations of ten-membered-ring sesquiterpenes. Crystal and molecular structures of agerol diepoxide and ageratriol. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2: Physical Organic Chemistry (1972-1999)* **1978**, (3), 217-24.

101. Takeda, K., Sesquiterpenes having a five-membered ether ring in the molecule. *Pure and Applied Chemistry* **1970**, 21, (2), 181-203.

102. El-Ferally, F.; Benigni, D. A.; McPhail, A. T., Biogenic-type synthesis of santonin, chrysanolide, dihydrochrysanolide, tulirinol, arbusculin-C, tanacetin, and artemin. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1: Organic and Bio-Organic Chemistry (1972-1999)* **1983**, (2), 355-64.

103. Shirahama, H.; Osawa, E.; Matsumoto, T., Conformational studies on humulene by means of empirical force field calculations. Role of stable conformers of humulene in biosynthetic and chemical reactions. *Journal of the American Chemical Society* **1980**, 102, (9), 3208-13.

104. Takeda, K.; Horibe, I.; Minato, H., Cope rearrangement of some germacrane-type furan sesquiterpenes. I. *Journal of the Chemical Society [Section] C: Organic* **1970**, (8), 1142-7.

105. Wharton, P. S.; Poon, Y.-C.; Kluender, H. C., Conformational isomerism in dihydropregeijerene and hedycaryol. *Journal of Organic Chemistry* **1973**, 38, (4), 735-40.

106. Piet, D. P.; Minnaard, A. J.; van der Heyden, K. A.; Franssen, M. C. R.; Wijnberg, J. B. P. A.; de Groot, A., Biotransformation of (\pm)-4,8-dimethylcyclodeca-3(E),7(E)-dien-1[β]-ol and (+)-hedycaryol by *Cichorium intybus*. *Tetrahedron* **1995**, 51, (1), 243-254.

107. Tori, K.; Horibe, I.; Tamura, Y.; Tada, H., Simultaneous application of the nuclear Overhauser effect and an NMR shift reagent. Conformations of costunolide and dihydrocostunolide in solution. *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications* **1973**, (17), 620-1.

108. Tashkhodzhaev, B.; Abduazimov, B. K., Stereochemistry of sesquiterpenes of the germacrane type. *Chemistry of Natural Compounds (Translation of Khimiya Prirodnykh Soedinenii)* **1998**, 33, (4), 382-388.

109. Quijano, L.; Calderon, J. S.; Federico Gomez, G.; Jesus Lopez, P.; Rios, T.; Fronczek, F. R., The crystal structure of 6-epi-deacetyl-laurenobiolide, a germacra-1(10),4-diene-12,8a-olide from *Montanoa grandiflora*. *Phytochemistry* **1984**, 23, (9), 1971-4.
110. Guzman-Napoles, S. Sintesis Estereoselectiva de Oplopanos (3-Etil-5-Isopropil-8-Metil-Biciclo[4.3.0]Nonanos) a Partir de Reacciones Transanulares de Germacradienos. (Tesis) Universidad Nacional Autonoma de México, 1999.
111. Milosavljevic, S.; Juranic, I.; Aljancic, I.; Vajs, V.; Todorovic, N., Conformational analysis of three germacranolides by the PM3 semi-empirical method. *Journal of the Serbian Chemical Society* **2003**, 68, (4-5), 281-289.
112. Tashkhodzhaev, B.; Makhmudov, M. K., Conformation analysis of E,E-germacranes by the molecular mechanics technique. *Khimiya Prirodnikh Soedinenii* **1997**, (3), 379-382.
113. Turdybekov, K. M.; Edilbaeva, T. T., Conformational analysis of sesquiterpene lactones of the germacrane type 1. 1(10)E,4E-germacranolides. *Russian Chemical Bulletin* **1996**, 45, (12), 2741-2744.
114. Turdybekov, K. M.; Edilbaeva, T. T., Conformational analysis of sesquiterpene lactones of germacrane type .2. 1(10)Z,4Z-germacranolides. *Russian Chemical Bulletin* **1997**, 46, (2), 254-257.
115. Maggio, A. M.; Barone, G.; Bruno, M.; Duca, D.; Rosselli, S., Conformational analysis and DFT calculations of 8 alpha-hydroxy-germacradiene-6,12-olide derivatives. *Journal of Physical Organic Chemistry* **2005**, 18, (11), 1116-1122.
116. Anet, F. A. L.; Ahmad, M.; Hall, L. D., Ring inversion in cyclohexane. *Proceedings of the Chemical Society, London* **1964**, (May), 145-6.
117. Gasparro, F. P.; Kolodny, N. H., NMR determination of the rotational barrier in N,N-dimethylacetamide. A physical chemistry experiment. *Journal of Chemical Education* **1977**, 54, (4), 258-61.
118. Saika, A., Rate processes and nuclear magnetic resonance spectra. III. Proton exchange and hydrolysis of amides. *Journal of the American Chemical Society* **1960**, 82, 3540-4.
119. Chickos, J. S.; Winter, R. E. K., Nuclear magnetic resonance studies of the mechanism of keto-enol tautomerism in 3-hydroxy-2,4-dimethylcyclobutenone. II. Solvent and pH effects. *Journal of the American Chemical Society* **1973**, 95, (2), 506-11.
120. McGarrity, J. F.; Ogle, C. A., High-field proton NMR study of the aggregation and complexation of n-butyllithium in tetrahydrofuran. *Journal of the American Chemical Society* **1985**, 107, (7), 1805-10.
121. Lambert, J. B.; Mazzola, E. P., *Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy: An Introduction to Principles, Applications, and Experimental Methods*. Pearson Education: New Jersey, 2002.
122. Zhao, Y.; Truhlar, D. G., Improved description of nuclear magnetic resonance chemical shielding constants using the M06-L meta-generalized-gradient-approximation density functional. *Journal of Physical Chemistry A* **2008**, 112, (30), 6794-6799.
123. Bagno, A.; Rastrelli, F.; Saielli, G., Toward the complete prediction of the H-1 and C-13 NMR spectra of complex organic molecules by DFT methods: Application to natural substances. *Chemistry-a European Journal* **2006**, 12, (21), 5514-5525.

124. Suardiaz, R.; Perez, C.; Crespo-Otero, R.; de la Vega, J. M. G.; Fabian, J. S., Influence of density functionals and basis sets on one-bond carbon-carbon NMR spin-spin coupling constants. *Journal of Chemical Theory and Computation* **2008**, 4, (3), 448-456.
125. Budzelaar, P. H. M. *gNMR*, 5.0.6.0; IvorySoft: 2006.
126. Allinger, N. L.; Hirsch, J. A.; Miller, M. A.; Tyminski, I. J., Conformational analysis. LXIV. Calculation of the structures and energies of unsaturated hydrocarbons by the Westheimer method. *Journal of the American Chemical Society* **1968**, 90, (21), 5773-80.
127. Anslyn, E. V.; Dougherty, D. A., *Modern Physical Organic Chemistry*. University Science Books: Sausalito, 2006.
128. Johnson, F., Allylic strain in six-membered rings. *Chem. Rev.* **1968**, 68, (4), 375-413.
129. Cui, M.; Adam, W.; Shen, J. H.; Luo, X. M.; Tan, X. J.; Chen, K. X.; Ji, R. Y.; Jiang, H. L., A density-functional study of the mechanism for the diastereoselective epoxidation of chiral allylic alcohols by the titanium peroxy complexes. *Journal of Organic Chemistry* **2002**, 67, (5), 1427-1435.
130. Goldstein, M. J.; Benzon, M. S., Boat and chair transition states of 1,5-hexadiene. *Journal of the American Chemical Society* **1972**, 94, (20), 7147-9.
131. Takeda, K.; Horibe, I.; Minato, H., Cope rearrangement of germacrane-type furan sesquiterpenes. IV. Preparation of cyclodeca-cis,trans-diene derivatives and their Cope rearrangements. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1: Organic and Bio-Organic Chemistry* **1973**, (19), 2212-20.
132. de Kraker, J. W.; Franssen, M. C. R.; de Groot, A.; Konig, W. A.; Bouwmeester, H. J., (+)-Germacrane A biosynthesis - The committed step in the biosynthesis of bitter sesquiterpene lactones in chicory. *Plant Physiology* **1998**, 117, (4), 1381-1392.
133. Hackl, T.; Konig, W. A.; Muhle, H., Isogermacrane A, a proposed intermediate in sesquiterpene biosynthesis. *Phytochemistry* **2004**, 65, (15), 2261-2275.
134. Sutherland, J. K., Regio- and stereo-specificity in the cyclisation of medium ring 1,5-dienes. *Tetrahedron* **1974**, 30, (12), 1651-1660.
135. Houk, K. N.; Gonzalez, J.; Li, Y., Pericyclic Reaction Transition States: Passions and Punctilios, 1935-1995. *Accounts of Chemical Research* **1995**, 28, (2), 81-90.
136. Terada, Y.; Yamamura, S., An application of molecular mechanics calculations on thermal reactions of ten-membered ring sesquiterpenes. *Bulletin of the Chemical Society of Japan* **1982**, 55, (8), 2495-9.
137. Takeda, K.; Tori, K.; Horibe, I.; Ohtsuru, M.; Minato, H., Cope rearrangement of some germacrane-type furan sesquiterpenes. II. Relation between conformations of carbocyclic ten-membered rings in germacrane-type furan sesquiterpenes and the stereochemistry of their Cope rearrangement products. *Journal of the Chemical Society [Section] C: Organic* **1970**, (19), 2697-703.
138. Bachrach, S. M., *Computational Organic Chemistry*. Wiley: 2007; pp 133-148.
139. Borden, W. T., *Theory and Applications of Computational Chemistry*. Clifford, E. D.; Gernot, F.; Kwang, S. K.; Gustavo, E. S., Eds. Elsevier: Amsterdam, 2005; pp 859-873.
140. Doering, W. v. E.; Toscano, V. G.; Beasley, G. H., Kinetics of the Cope rearrangement of 1,1-dideuteriohexa-1,5-diene. *Tetrahedron* **1971**, 27, (22), 5299-306.

141. McGuire, M. J.; Piecuch, P., Balancing Dynamic and Nondynamic Correlation for Diradical and Aromatic Transition States: A Renormalized Coupled-Cluster Study of the Cope Rearrangement of 1,5-Hexadiene. *Journal of the American Chemical Society* **2005**, *127*, (8), 2608-2614.
142. Jiao, H.; Schleyer, P. v. R., The Cope rearrangement transition structure is not diradicaloid, but is it aromatic? *Angewandte Chemie, International Edition in English* **1995**, *34*, (3), 334-7.
143. Minnaard, A. J.; Wijnberg, J. B. P. A.; de Groot, A., The synthesis of germacrane sesquiterpenes and related compounds. *Tetrahedron* **1999**, *55*, (8), 2115-2146.
144. de Kraker, J. W.; Franssen, M. C. R.; de Groot, A.; Shibata, T.; Bouwmeester, H. J., Germacrenes from fresh costus roots. *Phytochemistry* **2001**, *58*, (3), 481-487.
145. Geissmann, T. A.; Saitoh, T.; Waddell, T. G.; Herz, W.; Bhat, S. V., Sesquiterpene lactones of *Eriophyllum confertiflorum*. *Revista Latinoamericana Quimica* **1971**, *2*, (2), 69-80.
146. Rosselli, S.; Maggio, A.; Raccuglia, R. A.; Bruno, M., Rearrangement of germacranolides. Synthesis and absolute configuration of elemene and heliangolane derivatives from cnicin. *European Journal of Organic Chemistry* **2003**, (14), 2690-2694.
147. Fischer, N. H.; Mabry, T. J., Structure of tamaulipin-B, a new germacranolide and the thermal conversion of a trans-1,2-divinylcyclohexane derivative into a cyclodeca-1,5-diene system. *Chemical Communications* **1967**, (23), 1235-6.
148. Jain, T. C.; Banks, C. M.; McCloskey, J. E., Dehydrosaussurea lactone from costunolide and reversibility in the germacranolide-cope reaction. *Tetrahedron Letters* **1970**, *11*, (11), 841-844.
149. Takeda, K. i., Stereospecific cope rearrangement of the germacrene-type sesquiterpenes. *Tetrahedron* **1974**, *30*, (12), 1525-1534.
150. Kodama, M.; Yokoo, S.; Matsuki, Y.; Itô, S., Synthesis of macrocyclic terpenoids by intramolecular cyclization V. transannular reactions of hedycaryol isomers. *Tetrahedron Letters* **1979**, *20*, (19), 1687-1690.
151. Delgado, G.; Hernandez, H.; Romo de Vivar, A., Structure of elemanschkuhriolide. Melampolides as possible biogenetic precursors of C₁₄.α.,H₅.β. elemanolides. *The Journal of Organic Chemistry* **1984**, *49*, (16), 2994-2996.
152. Minato, H.; Takeda, K.; Horibe, I., Abnormal Cope rearrangement of cis,trans-cyclodeca-1,5-diene derivatives with a furan ring. *Journal of the Chemical Society D* **1971**, (2), 88-9.
153. Takeda, K.; Horibe, I., Cope rearrangement of germacrane-type furan sesquiterpenes. V. Preparation and thermal rearrangement of cis,trans-germacranolides. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1: Organic and Bio-Organic Chemistry* **1975**, (9), 870-6.
154. Takeda, K.; Horibe, I.; Minato, H., Cope rearrangement of some germacrane-type furan sesquiterpenes. III. Rearrangement of cis,trans-cyclodeca-1,5-diene derivatives. *Journal of the Chemical Society [Section] C: Organic* **1970**, (19), 2704-7.
155. Niwa, M.; Nishiyama, A.; Iguchi, M.; Yamamura, S., Sesquiterpenes from *Acorus calamus*. *Bulletin of the Chemical Society of Japan* **1975**, *48*, (10), 2930-4.
156. Rustaiyan, A.; Saberi, M.; Habibi, Z.; Jakupovic, J., Melampolides and other constituents from *Furinea leptoloba*. *Phytochemistry* **1991**, *30*, (6), 1929-1932.

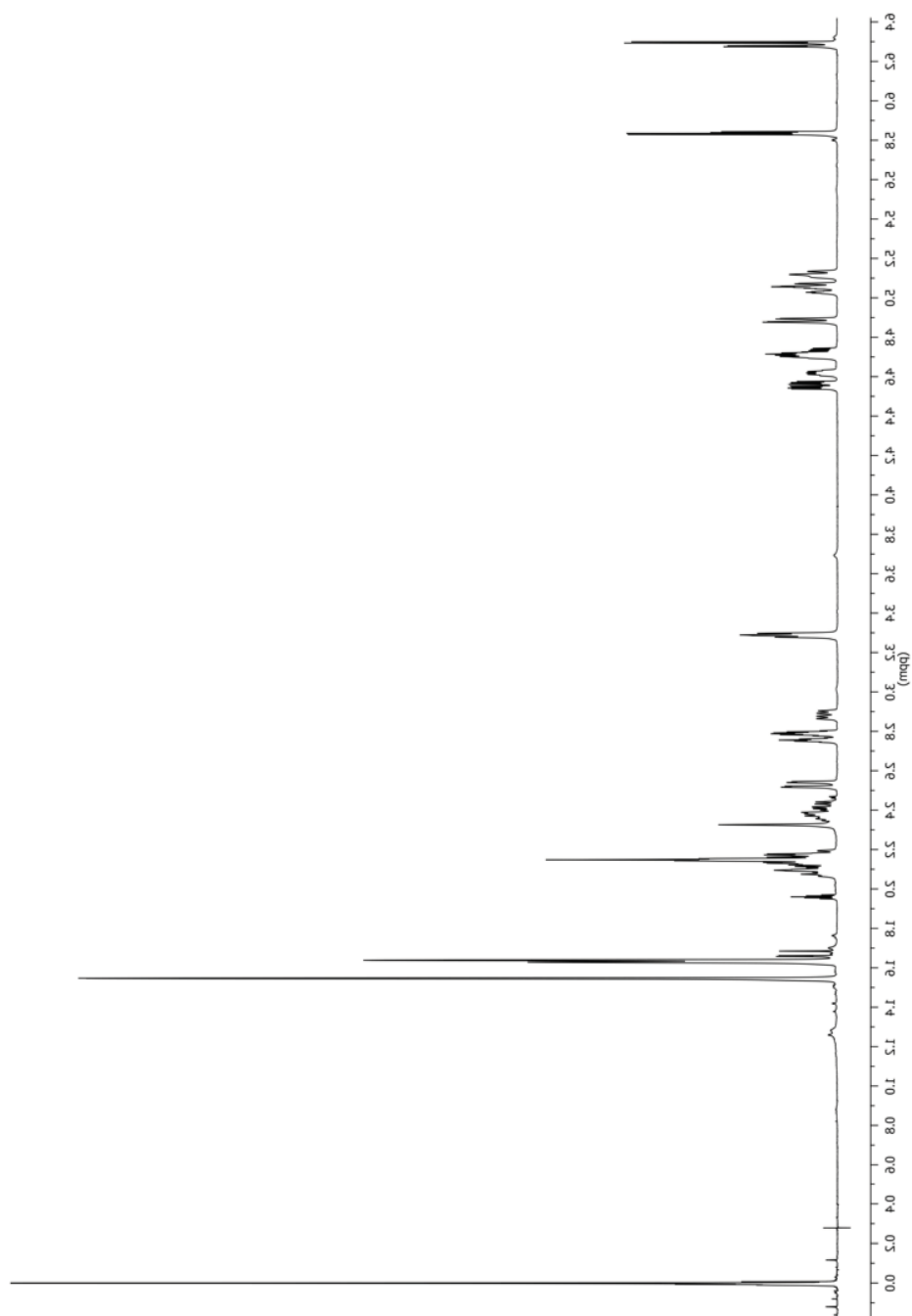
157. Delgado, G. Simulación química de la biogénesis terminal de algunos terpenoides. (Tesis) Universidad Nacional Autónoma de México, México, 1989.
158. Delgado, G.; Alvarez, L.; Guzman, S., Some biomimetic and acid catalyzed transformations of melampolides and heliangolides. *Trends in Organic Chemistry* **1995**, *5*, 1-10.
159. Osawa, E.; Shimada, K.; Kodama, M.; Itô, S., Conformation of hedycaryol isomers. *Tetrahedron Letters* **1979**, *20*, (25), 2353-2354.
160. Krishnan, S.; Paknikar, S. K.; Bhattacharyya, S. C.; Hall, A. L.; Herz, W., Biogenetic-type transformation of germacranolide to melampolides. *Journal of the Indian Chemical Society* **1978**, *55*, (11), 1142-7.
161. Steele, J. W.; Stenlake, J. B.; Williams, W. D., Chemistry of the Aristolochia species. IV. The structure of aristolactone. *Journal of the Chemical Society* **1959**, 3289-99.
162. Rychlewska, U., Crystal and molecular structure of schkuhriolide monohydrate, a cis,trans-germacra-1(10),4-dien-cis-8,12-olide. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2 Physical Organic Chemistry (1972-1999)* **1982**, (12), 1641-4.
163. Barrero, A. F.; Oltra, J. E.; Alvarez, M.; Rosales, A., Synthesis of (+)-8-deoxyvernonolepin and its 11,13-dihydroderivative. A novel reaction initiated by sulfene elimination leads to the 2-oxa-cis-decalin skeleton. *Journal of Organic Chemistry* **2002**, *67*, (16), 5461-5469.
164. Iguchi, M.; Nishiyama, A.; Yamamura, S.; Hirata, Y., Conversion of elemene-type sesquiterpenes into cadinene-type compounds and formation of ten-membered germacrone-type intermediates. *Tetrahedron Letters* **1969**, *10*, (49), 4295-4298.
165. Nishimura, K.; Shinoda, N.; Hirose, Y., New sesquiterpene, bicyclogermacrene. *Tetrahedron Letters* **1969**, (36), 3097-100.
166. Delgado, G.; Guzman, S., Stereoselective entry to the bicycle [4.3.0] skeleton of oplopanes using a transannular cyclization strategy. *Synlett* **1999**, (Spec.), 1006-1008.
167. Neukirch, H.; Kaneider, N. C.; Wiedermann, C. J.; Guerriero, A.; D'Ambrosio, M., Parthenolide and its photochemically synthesized 1(10)Z isomer: Chemical reactivity and structure-activity relationship studies in human leucocyte chemotaxis. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2003**, *11*, (7), 1503-1510.
168. Gopalan, A.; Magnus, P., Synthesis of (.+.-)-linderalactone, (.+.-)-isolinderalactone, and (.+.-)-neolinderalactone. *Journal of the American Chemical Society* **1980**, *102*, (5), 1756-1757.
169. Bohlmann, F.; Schmeda-Hirschmann, G.; Jakupovic, J.; King, R. M.; Robinson, H., Germacranolides from *Gochnatia vernonioides*. *Phytochemistry* **1984**, *23*, (9), 1989-93.
170. Delgado, G.; Guzmán, S.; De Vivar, A. R., Schkuhridin A and schkuhridin B, C-14[β],H-5[α]-elemanolides from *schkuhria schkuhrioides*. *Phytochemistry* **1987**, *26*, (3), 755-759.
171. Dehal, S. S.; Croteau, R., Partial purification and characterization of two sesquiterpene cyclases from sage (*Salvia officinalis*) which catalyze the respective conversion of farnesyl pyrophosphate to humulene and caryophyllene. *Archives of Biochemistry and Biophysics* **1988**, *261*, (2), 346-56.
172. McPhail, A. T.; Sim, G. A., Sesquiterpenoids. IV. The stereochemistry of humulene. X-ray analysis of the humulene-silver nitrate adduct. *Journal of the Chemical Society B* **1966**, (1), 112-20.

173. Dev, S.; Anderson, J. E.; Cormier, V.; Damodaran, N. P.; Roberts, J. D., Nuclear magnetic resonance spectroscopy. The conformational mobility of humulene and zerumbone. *Journal of the American Chemical Society* **1968**, 90, (5), 1246-8.
174. Nakagawa, M.; Hirota, A.; Sakai, H.; Isogai, A., Terrecyclic acid A, a new antibiotic from *Aspergillus terreus*. I. Taxonomy, production, and chemical and biological properties. *Journal of Antibiotics* **1982**, 35, (7), 778-82.
175. Calton, G. J.; Ranieri, R. L.; Espenshade, M. A., Quadrone, a new antitumor substance produced by *Aspergillus terreus*. Production, isolation and properties. *Journal of Antibiotics* **1978**, 31, (1), 38-42.
176. Hirota, A.; Nakagawa, M.; Sakai, H.; Isogai, A., Studies on the biosynthesis of terrecyclic acid A. Part I. The biosynthesis of terrecyclic acid A, a novel sesquiterpene antibiotic. *Agricultural and Biological Chemistry* **1984**, 48, (3), 835-7.
177. Cane, D. E.; Whittle, Y. G.; Liang, T. C., Sesquiterpene biosynthesis: the biosynthesis of quadrone and terrecyclic acid. *Bioorganic Chemistry* **1986**, 14, (4), 417-28.
178. Cane, D. E.; Whittle, Y. G.; Liang, T. C., The biosynthesis of quadrone and terrecyclic acid. *Tetrahedron Letters* **1984**, 25, (11), 1119-22.
179. Beale, J. M., Jr.; Chapman, R. L.; Rosazza, J. P. N., Studies on the biosynthesis of terrecyclic acid A, an antitumor antibiotic from *Aspergillus terreus*. *Journal of Antibiotics* **1984**, 37, (11), 1376-81.
180. Hirota, A.; Nakagawa, M.; Sakai, H.; Isogai, A.; Furihata, K.; Seto, H., Studies on the biosynthesis of terrecyclic acid A. II. Confirmation of the cyclization mechanism and hydrogen shifts using [2-2H₃]acetate and [2-13C₂H₃]acetate. *Tetrahedron Letters* **1985**, 26, (32), 3845-8.
181. Bradshaw, A. P. W.; Hanson, J. R.; Nyfeler, R.; Sadler, I. H., Use of deuterium-carbon-13 NMR coupling patterns in terpenoid biosynthesis. *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications* **1981**, (13), 649-50.
182. Klobus, M.; Zhu, L.; Coates, R. M., Solvolytic rearrangement of silphin-2 α -yl methanesulfonate to α -terrecyclene: a probable biogenetic relationship between silphinene and quadrone. *Journal of Organic Chemistry* **1992**, 57, (16), 4327-9.
183. Coates, R. M.; Ho, Z.; Klobus, M.; Wilson, S. R., Stereochemistry and reactions of presilphiperfolanol: A branch point marker in triquinane sesquiterpene biogenesis. *Journal of the American Chemical Society* **1996**, 118, (39), 9249-9254.
184. Coates, R. M.; Ho, J. Z.; Klobus, M.; Zhu, L., Carbocationic Rearrangements of Silphinane Derivatives. *Journal of Organic Chemistry* **1998**, 63, (25), 9166-9176.

Apéndices

Espectros de RMN

Figura 1 Espectro ^1H de la 6-epi-desacetil-laurenobiólida en CD_3CN a $-20\text{ }^\circ\text{C}$



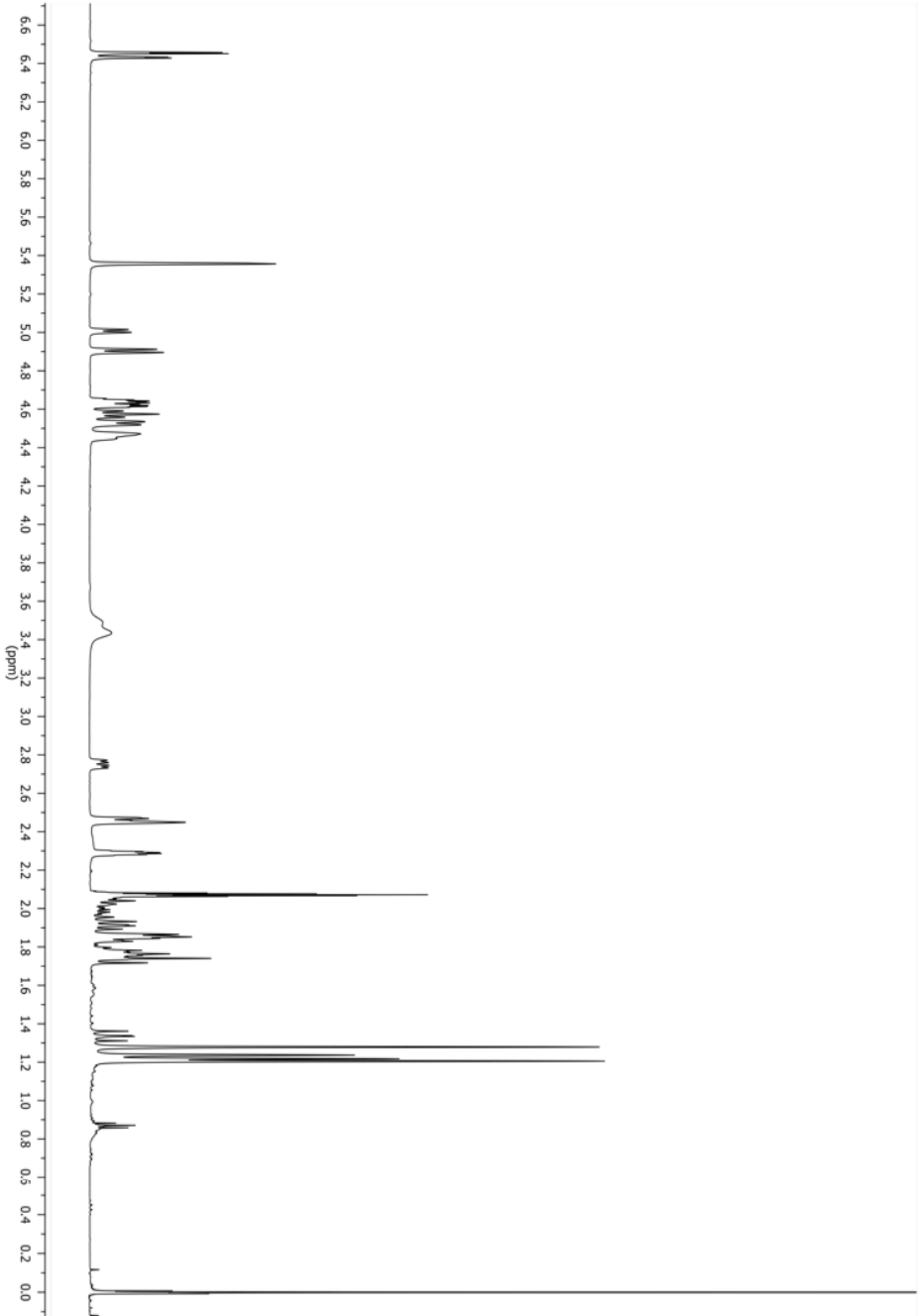
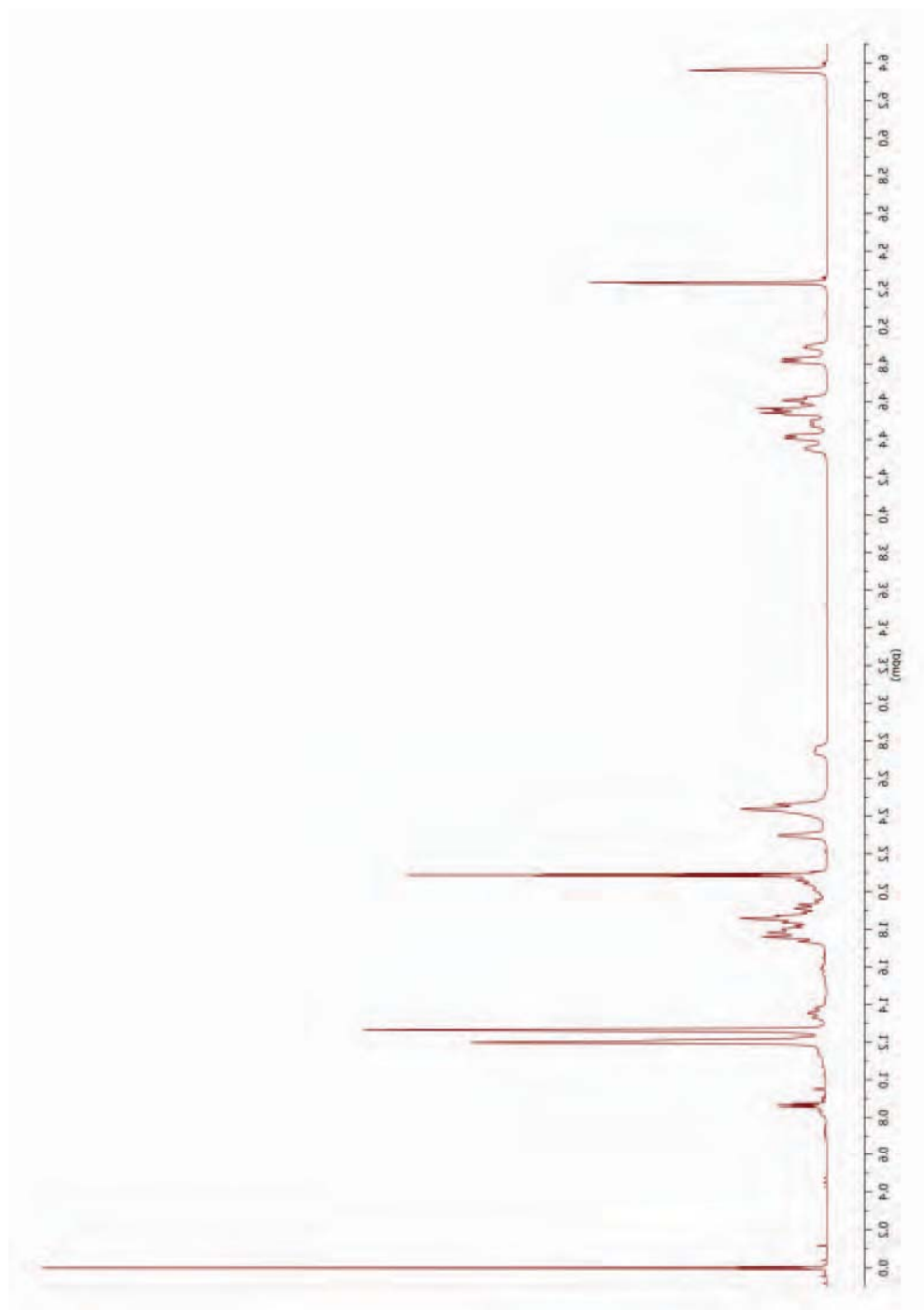


Figura II Espectro ^1H de la 6-epi-desacetil-laurenobionólida en Tolueno- d_8 a -20°C

Figura III Espectro ^1H de la 6-epi-desacetil-laurenobiólida en Tolueno- d_8 a 15 °C



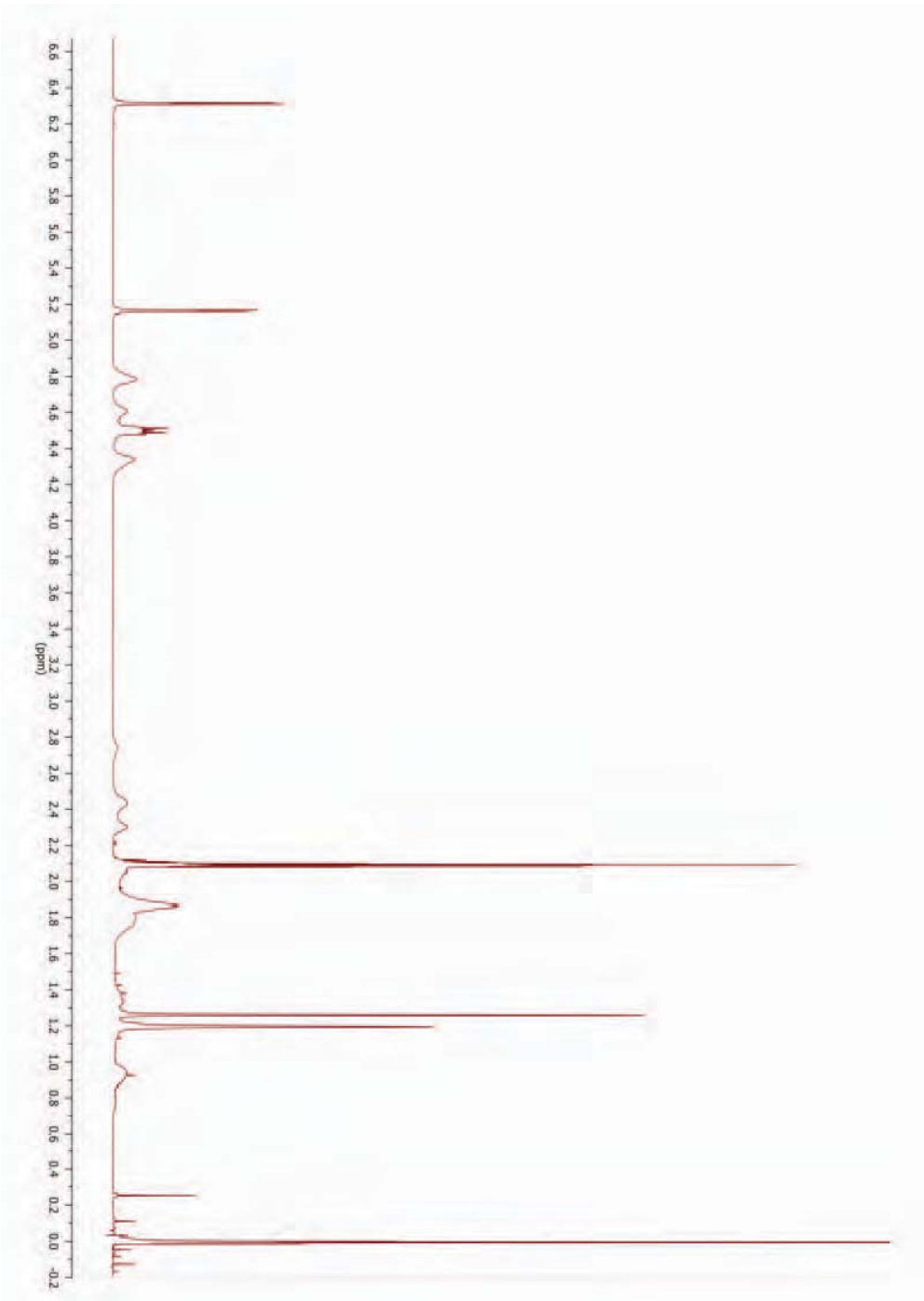


Figura IV Espectro ^1H de la 6-epi-desacetil-laurenobíolida en Tolueno- d_8 a 36°C

Artículos publicados

Biogenesis of Sesquiterpene Lactones Pseudoguaianolides from Germacranolides: Theoretical Study on the Reaction Mechanism of Terminal Biogenesis of 8-Epiconfertin

José Enrique Barquera-Lozada and Gabriel Cuevas*

Instituto de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, Apdo. Postal 70213, 04510, Coyoacán, Circuito Exterior, México D.F. México

gecgb@servidor.unam.mx

Received November 2, 2008



The fundamental study of the biogenetic origin of natural products has always been limited from the experimental point of view because proposed reaction mechanisms have only been supported on the molecular structures of reagents and the reaction products. In a seminal contribution, Ortega and Maldonado (Ortega, A.; Maldonado, E. *Heterocycles*, **1989**, 29, 635–638.) described an experiment relevant for the development of the biogenetic theory of sesquiterpene lactones. They were able to obtain the one-pot transformation of a pseudoguaianolide sesquiterpene lactone from a germacranolide using bentonitic earth as the catalyst. This transformation involved two steps in the biogenesis of these compounds (germacranolide \rightarrow guaianolide \rightarrow pseudoguaianolide) and is significant because when Brønsted or Lewis acids are used, it is only possible to isolate the product of the next step of the biogenesis. The results presented here support the biogenetic theories by Hendrickson and Fischer and question the concerted nature of the Herz proposal. Some questions about the mechanisms still remain unanswered; mainly because it was only possible to isolate a few stable byproducts. Using the third generation functional mPWB95 developed by Truhlar, it was possible to study the mechanisms associated with the biogenesis of pseudoguaianolides. Its application can explain the origin of all the byproducts obtained in the original experiment and establish the validity of the original biogenetic hypothesis. The performance of the above-mentioned functional was compared to B3LYP, B97–2, and B1B95 functionals and the MP2 method, finding that mPWB95 competes successfully with all the latter in both, the determination of the magnitude of the activation energies and the ability to map the potential energy surface. Therefore, the mPWB95 method can be considered good to deal with this type of study.

Introduction

Natural products have a wide variety of chemical structures that characterize the various species inhabiting the world. Curiously, such a diverse variety of chemical compounds is produced using only a very limited number of biosynthetic routes.¹ This may be, yet another example of the efficiency that commonly prevails in Nature.² For example, mevalonic acid is the origin of all terpenes and terpenoids in superior organisms while 1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate is used by lesser organisms.^{3,4}

On the other hand, all the sesquiterpenes used by superior organisms have their origin in either farnesol (specifically the farnesyl pyrophosphate FPP, **1-a** Scheme 1) or nerolidyl pyrophosphate.^{5–7} Natural products, particularly secondary metabolites, condition the adaptability of species and thus, their

(1) Richards, J. H.; Hendrickson, J. B. *The biosynthesis of steroids, terpenes and acetogenins*; Benjamin: New York, 1964.

(2) Lehninger, A. L. *Biochemistry*; Worth Publisher: New York, 1970; p 483.

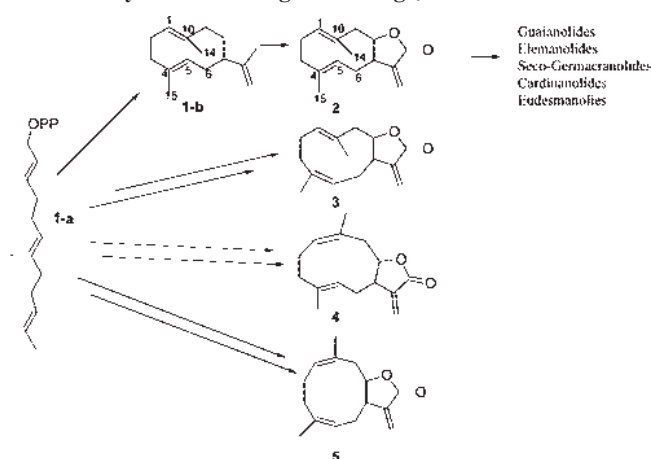
(3) Kuzuyama, T.; Seto, H. *Nat. Prod. Rep.* **2003**, 20, 171–183.

(4) Rohmer, M.; Seemann, M.; Horbach, S.; Bringer-Meyer, S.; Sahn, H. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, 118, 2564–2566.

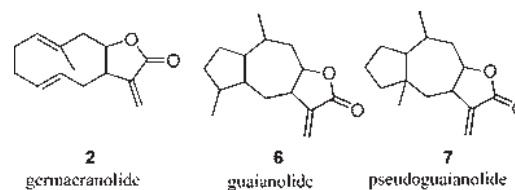
(5) Cane, D. E. *Pure Appl. Chem.* **1989**, 61, 493–496.

(6) Fischer, N. H.; Olivier, E. J.; Fischer, H. D. The Biogenesis and Chemistry of sesquiterpene Lactones. In *Progress in the Chemistry of Organic Natural Products*; Herz, W., Grisebach, H., Kirby, G. W., Eds.; Springer-Verlag: Wien, 1979; p 47.

(7) Romo de Vivar, A. *Rev. Latinoam. Quim.* **1977**, 8, 63–73; *Chem Abst.* **1977**, 87, 18934.

SCHEME 1. Structure of the Configurational Isomers Produced by the First Biogenetic Stage, the Closure of FPP


survival and evolution. Nowadays, several fundamental aspects of the mevalonate and nonmevalonate pathways such as the enzymes that catalyze their transformation and the genes that codify for them are well-known.⁸ The terminal biogenesis of the different natural products responsible for the great structural diversity of compounds has been rarely studied and there are still many unanswered questions on the mechanisms responsible for generating such a variety of molecules.^{9–18} Chemical simulation of biogenetic processes is based on the fact that the reactions that take place *in vivo* follow the same general principles of *in vitro* transformations.¹⁹ Using this technique, one can demonstrate that, in many cases, a complex enzymatic system is not really necessary to maintain control of several aspects such as *in situ*, *stereo* and *regio*-selectivity. Enzymes seem fundamental for the selection of the starting conformer and explain the high chemical yields of these transformations; however, one or two steps of the biogenetic process can be simulated *in vitro*.^{20–22}

CHART 1


Sesquiterpene synthetases generate cyclic compounds from FPP (1-a, Scheme 1) and control their subsequent transformation into more than 300 different sesquiterpenes. These enzymes and their action have been widely studied.²³ *Trans,trans*-germacradiene (1-b, Scheme 1) is obtained from the direct cyclization process of *trans,trans*-FPP (or *E,E*-FPP), an intermediate that is transformed by enzymatic oxidative modification to yield the corresponding lactones. Two possible biogenetic routes have been suggested for the formation of the lactone ring of these sesquiterpenoids.^{13,15,16} On the first biogenetic stage, there are four possible configurational isomers: the germacranolides of configuration C1-E, C4-E (2, Scheme 1), the heliangolides (3) (C1-E, C4-Z), the melampolides (4) (C1-Z, C4-E) and the *Z,Z* germacranolides (5). This was demonstrated by the isolation of compounds with four possible configurations.²⁴

According to Fischer,^{16,24} on the second biogenetic stage, five different types of skeletons are produced from the germacranolide. These are the guaianolides, eudesmanolides, elemanolides, seco-germacranolides, and cadinanolides (Scheme 1).

In this paper, we approach the study of the ring closure suffered by the germacranolides (2) to produce guaianolides (6, Chart 1). This is the second stage in the biogenesis that evolves to the third stage when the methyl at position C4 migrates to position C5 originating pseudoguaianolides (7, Chart 1). This study evaluates the proposed biogenetic theories for the formation of guaianolides and pseudoguaianolides^{9,25} using computational methods. We also study the formation of such structural diverse compounds that can exert a wide variety of biological functions in nature (antifeedant, cytotoxic, insecticide, etc.) and that serve as useful chemical markers for the classification of plants and the establishment of their taxonomic relations and level of evolution.²⁶

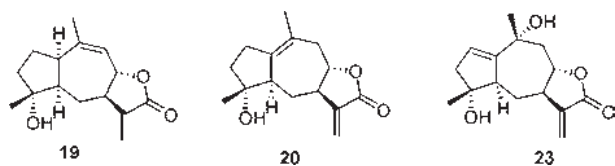
The recent seminal contributions of Gao^{27,28} and Truhlar,^{23,29} Tantillo,^{30–33} Corey,³⁴ Jorgensen,³⁵ and Hess^{36–39} where the biogenesis of natural products is approached using computational methods show the potential application of this methodology due to its usefulness in establishing the reaction mechanisms by which these transformations occur. Computational methods are a good alternative to the lack of experimental data frequently experienced. Moreover, the new functionals developed by Truhlar allow substantial improvements in the description of reactive systems as it will be shown in this paper. The methodology can also be used to evaluate the participation of the enzymatic systems that control these transformations.

To the best of our knowledge, the first application of computational methods oriented to the study of the transforma-

- (8) Cane, D. E. *Chem. Rev.* **1990**, *90*, 1089–1103.
 (9) Hendrickson, J. B. *Tetrahedron* **1959**, *7*, 82–89.
 (10) Barton, D. H. R.; Bockmann, O. C.; de Mayo, P. *J. Chem. Soc.* **1960**, 2263–2271.
 (11) (a) Ruzicka, L. *Experientia* **1953**, *9*, 357–367. (b) Ruzicka, L. *Pure Appl. Chem.* **1963**, *6*, 493–523.
 (12) Parker, W.; Roberts, J. S.; Ramaje, R. *Quart. Rev.* **1967**, *21*, 331–363.
 (13) (a) Herz, W. *Sesquiterpene Lactones Biogenesis*. In *Pharmacognosy and Phytochemistry*; Wagner, H., Horhammer, L., Eds.; Springer-Verlag: West Berlin and Heidelberg, 1971; p 64. (b) Herz, W. *Isr. J. Chem.* **1977**, *16*, 32–44.
 (14) Hanson, J. R. *Terpenoid Biosynthesis in Comprehensive Organic Chemistry*; Barton, D. H. R., Ed.; Academic Press, New York 1979; Chapter 29.
 (15) Geissman, T. A. *Rec. Adv. Phytochem.* **1973**, *6*, 65–95.
 (16) Fischer, N. H.; Oliver, E. J.; Fischer, H. D. *Prog. Chem. Org. Nat. Prod.* **1979**, *38*, 77–390.
 (17) (a) Cane, D. E. *Isoprenoids Including Carotenoids and Steroids*; Cane, D. E., Ed.; Comprehensive Natural Products Chemistry, Vol. 2; Elsevier: Oxford, 1999; p 155. (b) Felicetti, B.; Cane, D. E. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 7212.
 (18) (a) Goodwin, T. W., Ed. *Natural substances formed biologically from mevalonic acid*; Biochemical Symposia No. 29; Academic Press: New York, 1970. (b) MacMillan, J. *Recent Adv. Phytochem.* **1974**, *7*, 1–19. (c) Delgado, G. *Investigación sobre la Química de productos naturales en el Instituto de Química de la UNAM. Estudios iniciales y química de eremofilanos, bisabolanos y sesquiterpenos relacionados*. In *Química de la flora mexicana*; Romo de Vivar, A., Ed.; Instituto de Química: México, 2006. (d) Christianson, D. W. *Chem. Rev.* **2006**, *106*, 3412–3442. (e) Dewick, P. M. *Nat. Prod. Rep.* **1999**, *16*, 97–130. (f) Dewick, P. M. *Nat. Prod. Rep.* **2002**, *19*, 181–272. (g) Steel, C. L.; Crock, J.; Bohlman, J.; Croteau, R. *J. Biol. Chem.* **1998**, *273*, 2078. (h) Starcks, C. M.; Back, K.; Chapell, J.; Noel, J. P. *Science* **1997**, *277*, 1815–1820.
 (19) (a) Herrera, A. L. *Science* **1942**, *96*, 2479–14. (b) Negrón-Mendoza, A. *J. Biol. Phys.* **1994**, *20*, 11–15.
 (20) Coates, R. M. *Prog. Chem. Org. Nat. Prod.* **1976**, *33*, 73–230.
 (21) Goldsmith, D. *Prog. Chem. Org. Nat. Prod.* **1971**, *29*, 363–394.

- (22) Money, T. *Prog. Org. Chem.* **1973**, *8*, 29–77.
 (23) (a) Allermann, R. K.; Young, N. J.; Ma, S.; Truhlar, D. G.; Gao, J. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 13008–13013. (b) Chapell, J. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* **1995**, *46*, 521–547. (c) McCaskill, D.; Croteau, R. *Planta* **1995**, *197*, 49–56. (d) vanKlink, J.; Becker, H.; Anderson, S.; Boland, W. *Org. Biomol. Chem.* **2003**, *1*, 1503–1508.
 (24) Fischer, N. H. *Rev. Latinoam. Quím.* **1978**, *9*, 41–46.
 (25) Fischer, H. H.; Wu-Shih, Y. F.; Chiari, G.; Fronczek, F. R.; Watkins, S. F. *J. Nat. Prod.* **1981**, *44*, 104–110.
 (26) Zdero, C.; Bohlmann, F. *Phytochemistry* **1989**, *28*, 1653–1660.

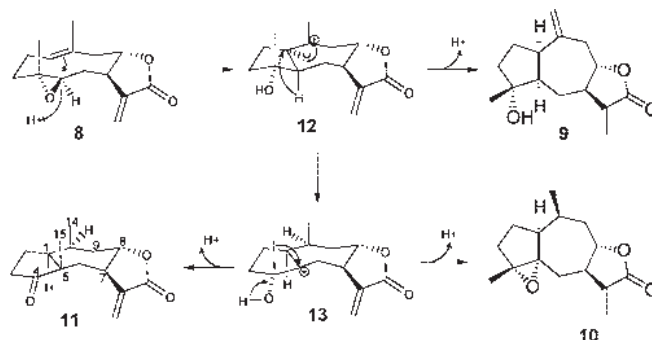
CHART 2



tion of sesquiterpene lactones was reported by Khasenov and Turdybekov.⁴⁰ They used semiempirical calculations to study the transannular cyclization of 1(10)E,4E-germacranolide costunolide into eudesmanolides and calculated the associated conformers and the energetic barriers. However, they did not approach the problem of the biogenetic origin of the different compounds under study. In contrast, this study will approach the biogenesis of pseudoguaianolides from germacranolides using computational methods as well as experimental data to evaluate the importance of enzymatic participation in the process of cyclization and transposition. The capability of the density functional theory (DFT) hybrid methods: B3LYP,⁴¹ B97-2,⁴² B1B95⁴³ and mPWB95⁴⁴ functionals and the MP2⁴⁵ method to describe the potential energy surface associated with these compounds (PES) was also evaluated.

It is relatively easy to transform 4,5-epoxygermacranolides to guaianolides using cyclizations catalyzed by Lewis acids.⁴⁶ The same is true for the transformation of 4,5-epoxyguaianolide to pseudoguaianolides.⁴⁷ However, the biomimetic transformations of a germacranolide into the third biogenetic stage are rare. Pseudoguaianolides are formed from the third biogenetic stage and typically contain a nonregular isoprene skeleton with a methyl group at C5. The first successful experiment for the transformation of a germacranolide derivative into a pseudoguaianolide was the transformation of 4 α ,5 β -epoxyinunolide (**8**,

SCHEME 2. Proposed Mechanism for the Transformation of 4 α ,5 β -Epoxyinunolide (**8**) into Inuviscolide (**9**), 4 α ,5 α -Epoxy-10 α ,14H-inuviscolide (**10**) and 8-Epiconfertine (**11**) through Cations **12** and **13**⁴⁸



Scheme 2), isolated from *Stevia tephrophylla* Blake into inuviscolide (**9**, yield 1.8%), 4 α ,5 α -epoxy-10 α ,14H-inuviscolide (**10**, yield 1%) and 8-epiconfertine (**11**), a pseudoguaianolide (yield 4.1%) using a bentonitic earth.⁴⁸ The stereochemistry of the cyclization products is expected if it is assumed that the most stable conformation of the precursor **8** is similar to the conformation of laurenobiolide,⁴⁹ in which both methyl groups are above the plane of the cyclodecadiene and the double bond and the epoxide have a crossed orientation, which in Samek's nomenclatures is described as ¹⁵D_{5,1}D¹⁴ (**8**).⁵⁰

The proposed mechanism is presented in Scheme 2 and is supported in the structure of the isolated byproducts.⁴⁸ Within this mechanism, it is proposed that in the first step there is a cyclization of the ¹⁵D_{5,1}D¹⁴ conformer which produces a *cis*-fused carbocation **12** that yields compound **9** if the methyl group takes part in the elimination reaction. This is the main product when the Lewis or Brönsted acids are used.

Carbocation **12** after two consecutive hydride shifts (Scheme 2) produces carbocation **13**, which through an intramolecular nucleophilic attack generates epoxide **10**. Finally carbocation **13** suffers a transposition driven by the formation of the carbonyl group that produces the methyl group migration. Due to the fact that Ortega and Maldonado⁴⁸ did not have any more proof of the existence of any other carbocation that takes part in the process, they did not mention other cationic intermediates that would be likely to take part in the process. Then, the issues are which carbocations really exist as intermediates and what is the nature of the transition states (TSS) involved in the process in terms of structure and energy. The other issue that needs to be answered is if this reaction needs enzymatic catalysis or if it is only a "cascade" pathway in which the main role of the enzyme is to start the process activating the electrophilic reaction and stabilizing cationic intermediates to enable the required transpositions. In this case, it is interesting to analyze the role of bentonitic earth because it has two major effects. The first effect is selectivity. Although it lacks the complementary structure, similar to the pattern characteristic of proteins, the bentonitic earth is able to select the starting conformer of the germacranolide. The second one is the capability to stabilize the intermediate cations that might increase their average lifetime. This is why the system may undergo transposition reactions

(27) Gao, D.; Pan, Y.-K.; Byun, K.; Gao, J. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 4045–4046.

(28) Rajamani, R.; Gao, J. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 12768–12781.

(29) Zhao, Y.; Truhlar, D. G. *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 295–298.

(30) Ho, G. A.; Nouri, D. H.; Tantillo, D. J. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 5139–5143.

(31) Gutta, P.; Tantillo, D. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 6172–6179.

(32) Gutta, P.; Tantillo, D. J. *Org. Lett.* **2007**, *9*, 1069–1071.

(33) Hong, Y. J.; Tantillo, D. J. *Org. Lett.* **2006**, *8*, 4601–4604.

(34) Kürti, L.; Chein, R.-J.; Corey, E. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 9031–9036.

(35) Jenson, C.; Jorgensen, W. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 10846–10854.

(36) Hess, B. A., Jr. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 10286–10287.

(37) Hess, B. A., Jr. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 165–167.

(38) Hess, B. A., Jr. *Eur. J. Org. Chem.* **2004**, *223*, 9–2242.

(39) Hess, B. A., Jr.; Smentek, L. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 1717–1720.

(40) Khasenov, B. B.; Turdybekov, K. M. *Chem. Nat. Prod.* **2001**, *37*, 451–454.

(41) Becke, A. D. *J. Chem. Phys.* **1993**, *98*, 5648–5652.

(42) Wilson, P. J.; Bradley, T. J.; Tozer, D. J. *J. Chem. Phys.* **2001**, *115*, 9233–9242.

(43) Becke, A. D. *J. Chem. Phys.* **1996**, *104*, 1040–1046.

(44) (a) Zhao, Y.; Truhlar, D. G. *J. Phys. Chem. A* **2004**, *108*, 6908–6918. See also: (b) Zhao, Y.; Truhlar, D. G. *Acc. Chem. Res.* **2008**, *41*, 157–167.

(45) (a) Head-Gordon, M.; Pople, J. A.; Frisch, M. J. *Chem. Phys. Lett.* **1988**, *153*, 503–506. (b) Frisch, M. J.; Head-Gordon, M.; Pople, J. A. *Chem. Phys. Lett.* **1990**, *166*, 275–280. (c) Frisch, M. J.; Head-Gordon, M.; Pople, J. A. *Chem. Phys. Lett.* **1990**, *166*, 281–289. (d) Head-Gordon, M.; Head-Gordon, T. *Chem. Phys. Lett.* **1994**, *220*, 122–128. (e) Saebo, S.; Almlof, J. *Chem. Phys. Lett.* **1989**, *154*, 83–89.

(46) For the transformation of epoxygermacranolides into guaianolides see: (a) White, E. H.; Winter, R. E. K. *Tetrahedron* **1963**, *19*, 137–141. (b) Govindachari, T. R.; Josi, B. S.; Kamat, V. N. *Tetrahedron* **1965**, *21*, 1509–1519. (c) Gaissman, T. A.; Ellestad, G. A. *Phytochemistry* **1971**, *10*, 2475–2485. (d) Griffin, T. S.; Geissman, T. A.; Winters, T. W. *Phytochemistry* **1971**, *10*, 2487–2495. (e) Irwin, M. A.; Lee, K. H.; Simpson, R. F.; Geissman, T. A. *Phytochemistry* **1969**, *8*, 2009–2012.

(47) For the transformation of 4,5-epoxyguaianolide into pseudoguaianolides see: Fischer, N. H.; Wiley, R. A.; Perry, D. L. *Rev. Latinoam. Quim.* **1976**, *7*, 87–93.

(48) Ortega, A.; Maldonado, E. *Heterocycles* **1989**, *29*, 635–638.

(49) Takeda, K. *Tetrahedron* **1974**, *30*, 1525–1534.

(50) Samek, Z.; Harmatha, J. *Collect. Czech. Chem. Commun.* **1978**, *43*, 2779–2799.

before undergoing eliminations and, as a consequence, the formation of more advanced biogenetic derivatives.

Methods

All the quantum chemical calculations were performed with Gaussian 03.⁵¹ Geometries were optimized without geometry constraints using the DFT hybrid method with B3LYP, B97-2, B1B95 and mPWB95 functionals and the MP2 method. The double split valence polarized and diffuse 6-31+G(d,p) basis set was used for geometry optimization and frequency calculations. All energies were reported with zero-point energy corrections and are not scaled for comparative purpose. The 6-31+G(d,p) basis functions were used due to the fact that addition of diffuse functions to double split valence basis has shown to be more important than increasing to a triplet split valence basis when calculating reaction energies and activation energies with DFT.⁵²

The B3LYP functional has been used to calculate structures for TSs of carbocations, reaction energies and activation energies of hydride shifts and cyclization energies.^{30,31,33,53-56} However it is well-known that the popular B3LYP method usually underestimates barrier heights.^{57,58} Moreover, other studies have shown that the B3LYP method fails on the prediction of the structure of a protonated epoxide^{29,59} and of triterpene cyclization energies.⁶⁰ On the other hand, newer functionals have been developed such as mPWB95 and B1B95 that include the kinetic energy density of electrons as correction factor. Recent studies in small systems have shown that the second generation B97-2 functional and third generation B1B95 and mPWB95 functionals produce more reliable results than the B3LYP functional.^{61,62}

We compared DFT TS energies and structure with the MP2 method to find if new functionals in such large systems correct activation energies in the right direction because it is well known that the MP2 method tends to be inaccurate in the energy evaluation for such systems in the opposite direction from DFT.⁶³ Finally, NBO analysis was carried out with version 3.1 included in Gaussian 03.⁶⁴

Results and Discussion

First, we determined whether the mechanism proposed by Ortega and Maldonado⁴⁸ (Scheme 2) is energetically feasible. The energy of the fully geometry-optimized intermediates and

TSs for the pathway from protonated epoxyinunolide cation to protonated 8-epiconfertifin cation are shown in Figure 1 and the relative energy is in Table 1. As a reference point we used cation **14**. In conformer ¹⁵D₅, ¹D¹⁴, with chair-chair arrangement (see **8**, Scheme 2), the transannular distance between C1 and C5 is merely 2.93 Å at mPWB95/6-31+G(d,p). A reasonable first step in this mechanism after protonation of the epoxide at the oxygen atom could be a C5-O bond break; this would leave a classical secondary carbocation at C5 as intermediate. However, all attempts to find the carbocation at C5 converge in **14** or in an intermediate in which the charge deficiency is located at C10 (**16**). This indicates that the global transformation occurs in only one step. Therefore, we searched throughout the Potential Energy Surface (PES) for the TS that allows the interchange between these two minima, shown as **15** in Figure 1.

In TS **15** we show how distance C1-C5 is shortened with the corresponding increase of the C5-O distance, so the distance of the transannular interaction goes from 2.93 Å in **14** to 2.64 in **15** and forms a C-C bond of 1.64 Å in **16**. It can be stated that this elementary reaction occurs through the TS **15** with high delocalization. Even when many changes occur in the molecular structure of the compounds involved, the activation energy is low (Table 2). Results at MP2 level suggest a higher relative energy, while functional B3LYP the lowest. The second and third generation functionals predict energies that fall between these two methods.

Intermediate **16** lacks the proper conformational arrangement to allow the required [1,2] hydrogen shift, the next step in the transformation. The plane that forms C1-C10-C14 is parallel to the C-H that must be transferred, and this chemical process requires that the transferring bond be perpendicular to the plane of the referred atoms. Recently, it was described that the undertaking of conformational analysis requires considering the conformational process as a sequence of elementary conformational steps.⁶⁵ Hence, it is necessary to establish the way in which the stationary states of minimum energy are interconnected through the TS. This is feasible for cation **16** which is transformed into conformer **18** through TS **17** (Figure 2). In this TS, the angle C14-C10-C1-C5 reaches a value of 145° (level mPWB95). The stabilization of cation **17** is due to hyperconjugation by the participation of two σ_{C-C} bonds (C1-C5 and C8-C9) and a σ_{C-H} bond of the methyl group.⁶⁶ At mPW95/6-31+G(d,p) level the distance C1-C5 is 1.64 Å, the C8-C9 of 1.55 Å and C15-H is 1.10 Å, larger than C15-H distance of the other hydrogen atoms of the methyl group. The NBO analysis of these $\sigma_{C-H} \rightarrow \pi$ interactions establishes values of 25.4, 13.4 and 15.8 kcal/mol respectively for each interaction at mPWB95/6-31+G(d,p).

In cation **18** (Figure 1), the product of the conformational change, there are three hydrogen atoms that hyperconjugate to produce stabilization. The C1-H distance is 1.13 Å, the C9-H is 1.10 Å and C15-H is 1.10 Å and coincides with the energy stabilization values determined by NBO analysis at mPW95/6-31+G(d,p) level which are 54.8, 14.8 and 18.0 kcal/mol, respectively.

The elimination reaction would take place in **18**, generating any of the 3 possible olefins. In the case under study, compound **9** (Scheme 2) is originated through the loss of one of the

(51) Frisch, M. J.; et al. *Gaussian 03*, revision D.01; Gaussian, Inc.: Wallingford, CT, 2004.

(52) Lynch, B. J.; Zhao, Y.; Truhlar, D. G. *J. Phys. Chem. A* **2003**, *107*, 1384-1388.

(53) Vrček, V. *Int. J. Quantum Chem.* **2007**, *107*, 1772-1781.

(54) Joshi, Y. V.; Bhan, A.; Thomson, K. T. *J. Phys. Chem. B* **2004**, *108*, 971-980.

(55) Vrček, I. V.; Vrček, V.; Siehl, H. *J. Phys. Chem. A* **2002**, *106*, 1604-1611.

(56) Vrček, V.; Vrček, I. V.; Siehl, H. *J. Phys. Chem. A* **2006**, *110*, 1868-1874.

(57) Durant, J. L. *Chem. Phys. Lett.* **1996**, *256*, 595-602.

(58) Lynch, B. J.; Fast, P. L.; Harris, M.; Truhlar, D. G. *J. Phys. Chem. A* **2000**, *104*, 4811-4815.

(59) Carlier, P. R.; Deora, N.; Crwford, T. D. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 1592-1597.

(60) Matsuda, S. P. T.; Wilson, W. K.; Xiong, Q. *Org. Biomol. Chem.* **2006**, *4*, 530-543.

(61) Zhao, Y.; Pu, J.; Lynch, B. J.; Truhlar, D. G. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2004**, *6*, 673-676.

(62) Zhao, Y.; Truhlar, D. G. *J. Phys. Chem. A* **2005**, *109*, 5656-5667.

(63) Fărcașiu, D.; Lunkinskas, P.; Pamidighantam, S. V. *J. Phys. Chem. A* **2002**, *106*, 11672-11675.

(64) (a) Carpenter, J. E.; Weinhold, F. *J. Mol. Struct. (Theochem)* **1988**, *169*, 41-62. (b) Foster, J. P.; Weinhold, F. *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 7211. (c) Carpenter, J. E. PhD thesis, University of Wisconsin, Madison, WI, 1987. (d) Reed, A. E.; Weinhold, F. *J. Chem. Phys.* **1983**, *78*, 4066-4073. (e) Reed, A. E.; Weinhold, F. *J. Chem. Phys.* **1985**, *83*, 1736-1740. (f) Reed, A. E.; Weinstock, R. B.; Weinhold, F. *J. Chem. Phys.* **1985**, *83*, 735-746. (g) Reed, A. E.; Curtiss, L. A.; Weinhold, F. *Chem. Rev.* **1988**, *88*, 899-926.

(65) (a) Fernández-Alonso, M. C.; Asensio, J. L.; Cañada, F. J.; Jiménez-Barbero, J.; Cuevas, G. *Chem. Phys. Chem.* **2003**, *4*, 748-753. (b) Fernández-Alonso, M. C.; Cañada, J.; Jiménez-Barbero, J.; Cuevas, G. *Chem. Phys. Chem.* **2005**, *6*, 671-681.

(66) Laube, T. *Acc. Chem. Res.* **1995**, *28*, 399-405.

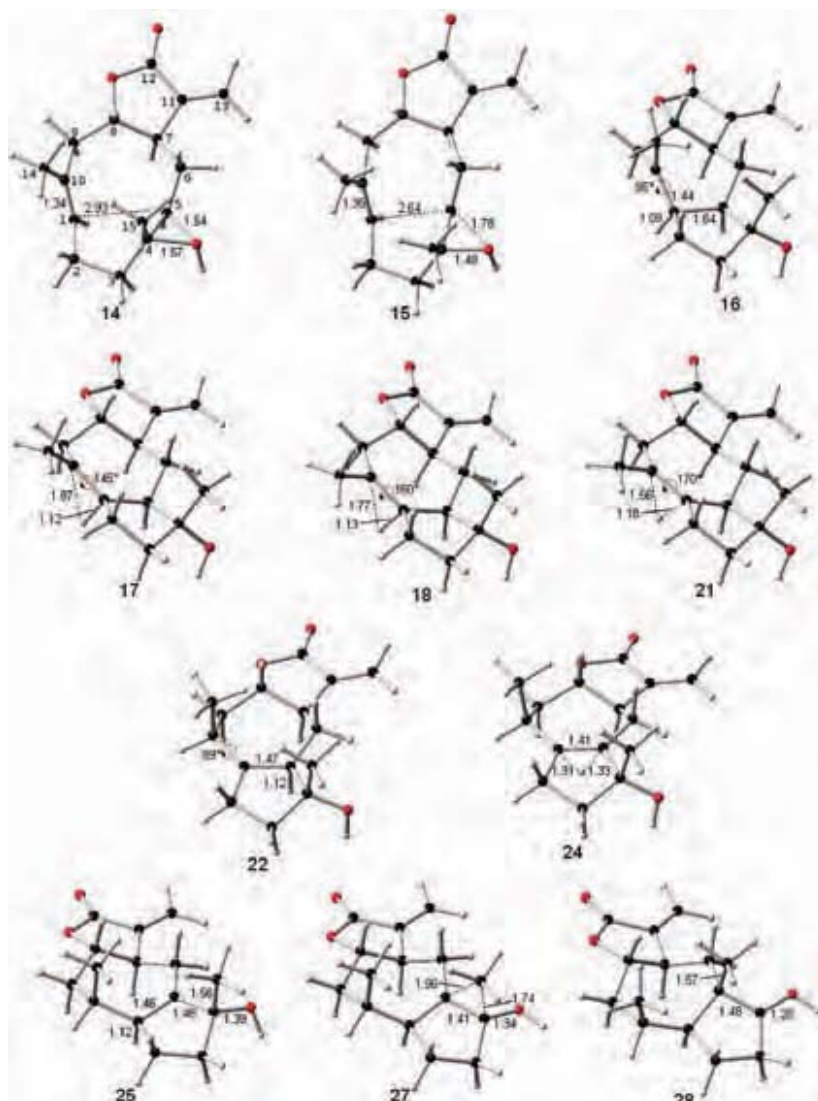


FIGURE 1. Reaction intermediates and TS structures for the conversion of epoxyinunolide cation **14** to 8-epiconfertifin cation **28** at mPWB95/6-31+G(d,p) level. Selected distances and C14-C10-C1-C5 dihedral are shown in Å and in degrees, respectively.

TABLE 1. Calculated Relative Energies (in kcal/mol)

cation	B3LYP		B97-2		B1B95		mPWB95		MP2	
	ΔE	$\Delta E + ZPE$	ΔE	$\Delta E + ZPE$	ΔE	$\Delta E + ZPE$	ΔE	$\Delta E + ZPE$	ΔE	$\Delta E + ZPE$
14	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
15	0.79	0.52	1.34	0.94	1.71	1.02	1.83	1.00	4.06	1.76
16	-14.62	-14.15	-16.49	-16.11	-16.05	-16.28	-16.26	-16.53	-16.50	-13.74
17	-	-	-	-	-12.63	-13.68	-12.84	-13.89	-15.97	-10.05
18	-	-	-	-	-12.69	-13.85	-12.99	-14.14	-	-
21	-9.64	-11.04	-12.96	-14.22	-12.50	-14.18	-12.82	-14.54	-	-
22	-19.40	-19.66	-22.04	-22.35	-21.39	-21.93	-21.77	-22.32	-25.80	-19.19
24	-14.56	-15.91	-18.27	-19.60	-18.06	-19.79	-18.42	-20.21	-20.83	-18.13
25	-18.80	-19.52	-21.47	-22.09	-21.26	-22.29	-21.66	-22.79	-24.83	-18.60
27	-13.56	-12.99	-16.83	-16.34	-18.63	-18.38	-19.07	-18.92	-16.82	-16.45
28	-27.91	-25.92	-31.03	-29.13	-32.08	-30.29	-32.62	-30.89	-34.50	-29.47

hydrogen atoms of the methyl group, but the described lactones **19** (Chart 2), isolated from *Postia bombycina*,⁶⁷ and **20**, isolated from *Helichrysum dasyanthum*,⁶⁸ correspond to the other two

elimination routes. Lactone **23**, isolated from *Inula thapsoides*,⁶⁹ is a good example of the product generated when the cation is trapped by water, but with larger oxidation state at the cyclopentane ring.

(67) Rustaiyan, A.; Zare, K.; Biniyaz, T.; Fazlalizadeh, G. *Phytochemistry* **1989**, *28*, 3127-3129.

(68) Jakupovic, J.; Zdero, C.; Grenz, M.; Tschirritiz, F.; Lehmann, L.; Hashemi-Nejad, M.; Bohlmann, F. *Phytochemistry* **1989**, *28*, 1119-1131.

(69) Topcu, G.; Öksüz, S.; Herz, W.; Diaz, J. G. *Phytochemistry* **1995**, *40*, 1717-1722.

TABLE 2. Calculated Activation Energies ΔE^\ddagger for the Conversion of 14 to 28 (in kcal/mol)

TS	B3LYP	B97-2	B1B95	mPWB95	MP2
15	0.52	0.94	1.02	1.00	1.76
17 ^a	–	–	2.60	2.63	3.69
21 ^b	3.11	1.88	2.10	1.98	–
24	3.75	2.75	2.14	2.12	1.06
27	6.53	5.75	3.92	3.87	2.15

^a Energy difference between 17 and 16. ^b Energy difference between 17 and 21.

Through the conformational change, it is possible to modify the substitution pattern of the bond type that participates in the stabilization of the cation by hyperconjugation.⁷⁰ Two C–C bonds were changed to two C–H bonds that according with NBO analysis are more efficient for the stabilization of the cation. In accordance with the NBO analysis, C10 has an sp^2 hybridization. Nevertheless, the bond angle C1–C9–C10 is 125.9°. This contrasts with the 120.1° measured by the same angle in cation 16. NBO analysis makes it possible to establish an sp^2 hybridization for the same atom. This is most dramatic when considering C1, since the C10–C1–C5 angle in 16 is 107.2° and in 18 it is 128.4°. The C1 hybridization is of a slightly higher order than sp^2 . The energy gained by hyperconjugation is smaller than the energy lost by angular tension; hence, 16 is 2.38 kcal/mol more stable than 18.

With the adequate conformation, an [1,2]-hydrogen shift is experienced through TS 21 (Figure 1), where the hydrogen atom is found at a distance of 1.18 Å (at a mPWB95/6–31+G(d,p) level) and barely at 1.56 Å of the destination carbon. Concurrently with migration, an adjustment of angle C14–C10–C1–C5 is produced, which goes to 170° in TS 21 and finishes at 89° in product 22. The asynchrony of TS 21 is noteworthy. The natural charge of the hydrogen atom which migrates is 0.42 in TS 21, while in 22, it is of 0.31 and in 16 it is of 0.32. At C1 the charge is –0.38, –0.25, 0.51 and in C10 is 0.48, 0.32 and –0.38 for compounds 16, 21 and 22 respectively, at mPWB95/6–31+G(d,p) level of theory. From the above, it can be concluded that in the TS the positive charge is delocalized mainly between the two carbons; even if it is also delocalized toward the hydrogen atom. Apparently, the hydrogen atom instead of migrating as a hydride as it is usually believed, migrates as a proton. However, the charge found using the computational methods may not be a definitive criterion. The stability of cation 22 comes from the hyperconjugation of one σ_{C-C} bond and two σ_{C-H} bonds.

In this global process, we found that the number of elementary steps strongly depends on the calculation method (Figure 2). Curiously, the reaction trajectories that describe the two levels are parallel and can be partially superposed (see the IRC projection on the lower part of the scheme). However, while intermediates 17 and 18 are stable stationary states at the mPW95/6–31+G(d,p) level, (Figure 2a) at the B3LYP/6–31+G(d,p) level they are only another point on the reaction trajectory (Figure 2b). Additionally, the position of TS 21 is different at the two levels of theory.

At the mPWB95 and B1B95 levels we found two TSs. The first one corresponds to the conformation rearrangement (17) and the other corresponds to the hydrogen shift (21). But at B3LYP and B97-2 we did not find 17 and at the MP2 level, 21 does not exist. This is because the potential energy surface

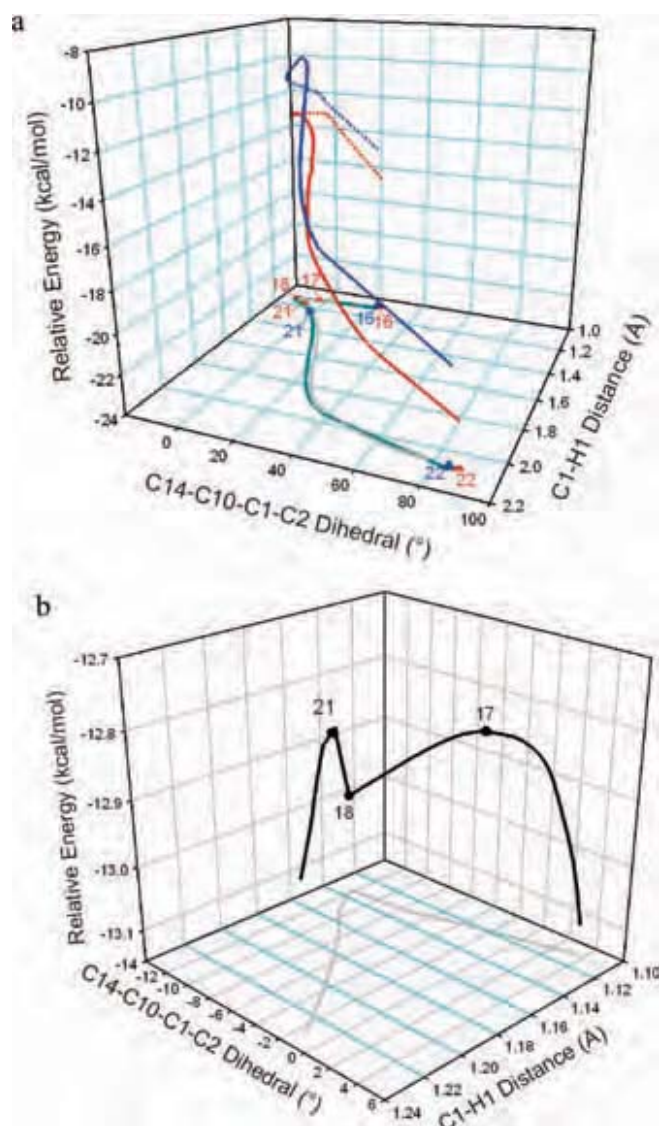
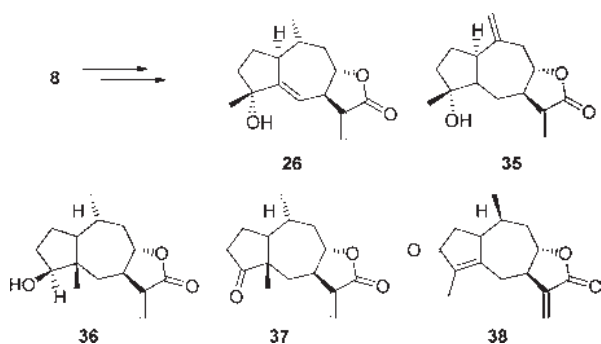


FIGURE 2. (a) Intrinsic reaction coordinate (IRC) for the transformation of cation 16 to cation 22 at mPWB95/6–31+G(d,p) (red) and B3LYP/6–31+G(d,p) (blue) levels of theory and projection of the IRC at mPWB95/6–31+G(d,p) in dark gray and projection of the IRC at B3LYP/6–31+G(d,p) in gray. All energies are relative to 14. (b) Enlargement of the 17–18–21 intermediates section at mPWB95/6–31+G(d,p) level.

is too flat in the TS region (Figure 2 and Table 1), and the shape of the potential surface in this region depends extremely on the level of calculation. Even at mPWB95 and B1B95 levels, the zero-point corrected energy of intermediate 18 is higher than the zero-point corrected energy of 21 (Table 1). Although at some theory levels, there is only a single-step.

At this point, the conditions that favor the occurrence of the second migration are present in intermediate 22, the hydrogen atom that will take part in that migration has the required geometry for this purpose as it maintains a *syn* relation respect to the hydrogen atom that migrates from C1 to C10. In this case, 22 and 25 are almost isoenergetic and the barrier height is smaller than that of other similar cases.^{31,55,56} This migration is highly symmetric, since in the TS the C1–H distance is 1.31 Å and the C5–H distance is 1.33 Å. This stems from the fact that the two cations connected by TS 24 have a similar substitution pattern at the level of first neighbors. The existence of cation 25 is certainly proven by the isolation of epoxide 10

(70) Juaristi, E.; Cuevas, G. *Acc. Chem. Res.* 2007, 40, 961–970.

SCHEME 3. Lactones Isolated from the Aerial Parts of *Apalochlamys spectabilis* (Labill.) J.H. Willis


(Scheme 2), but the elimination product has also been found in **26** (epimer of carbocation **25**, Scheme 3).⁷¹

Finally, 8-epiconfertifin cation (**28**) is accessed through [1,2]-methyl shift from **25**. The methyl group is found in the TS at 1.74 Å from the origin and at 1.96 Å from the destination atom. This makes it more similar to **25** than to the product **28**. Therefore, in accordance with Hammond's postulate, an exothermic reaction is expected when the product is generated. This is evident by the observations where the process concludes with the hydrogen atom joined to the carbonyl group. In fact, this bond evolved from 1.39 Å in the intermediate, to 1.34 Å in the TS and finally to 1.28 Å in the product. It is worth noting that the depletion of charge in cation **28** is concentrated between C4 and O, since the C4 natural charge goes from 0.17 in **25** to 0.74 in **28** and the charge of the oxygen atom goes from -0.74 in **25** to -0.59 in **28**.

In general, this last step has the largest activation energy in 8-epiconfertifin formation. This may explain why it is possible to isolate the products where epoxide **10** is formed (by trapping the cation).

This mechanism is in complete agreement with experimental results⁴⁸ due to the fact that there is an intermediate for each byproduct. Then one question that remains unanswered is if this transformation needs enzymatic catalysis. It might seem that it is not necessary because the whole process occurs like a "cascade" pathway (Figure 3). All barrier heights are very small, less than 4 kcal/mol, and the activation energy for the first step is even smaller. In fact, ambient thermal energy would be enough to reach this barrier. So once the molecule is protonated, the whole process occurs without help of any enzyme. Nevertheless, it has been suggested that the enzyme has more than a catalytic function, a fundamental role in the conformational adjustment which generates the selectivity of the subsequent cyclizations. Is this function relevant?

Two fused *trans*-pseudoguaianolide groups are well-known. The first one is the ambrosanolides, belonging to the subtribe Ambrosinae and genus *Parthenium*. The second group includes the helenanolides, belonging to tribe Heleniae. The structural difference between the two groups resides in the stereochemistry of the methyl group at position C10. The absolute stereochemistry of the stereogenic center supporting the methyl group in the ambrosanolides is *S* while in helenanolides is *R* (Chart 3). It is very interesting to underline the fact that the scheme originally proposed by Hendrickson does not explain the stereochemistry of the lactone group denominated as helenanolide. Parker et al.¹² proposed a first hypothesis where they should biogenetically

(71) Zdero, C.; Bohlmann, F.; King, R. M. *Phytochemistry* **1990**, *29*, 3201–3206.

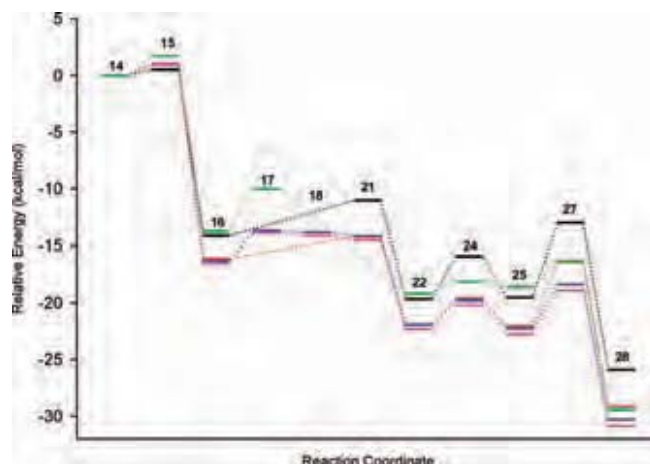
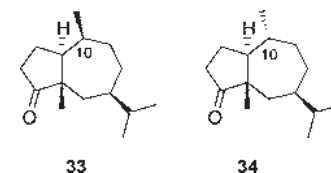


FIGURE 3. Energy diagram for the conversion of epoxyinunolide cation **14** to 8-epiconfertifin cation **28**. All energies are relative to **14**. Black lines are results from B3LYP, red from B97-2, blue from B1B95, pink from mPWB95 and green from MP2.

CHART 3


come from a germacradiene with a *Z* configuration at the C1–C10 double bond (melampolide, **4**, Scheme 1). Fischer²⁴ proposed a different alternative suggesting that a different conformer of the same germacradiene is responsible for the second series of compounds.

The mechanism described here starts from conformer **14** (¹⁵D₅, ¹D¹⁴) (Figure 4). At a mPWB95/6-31+G(d,p) level, the 4 α ,5 β -epoxyinunolide with ¹⁵D₅,¹D₁₄ conformation (**30**) is only 0.89 kcal/mol less stable than **14**. The relative energy for the ring closure process of both conformers is shown in Figure 4, where the conformational equilibrium between **14** and **30** have a activation energy of 12.21 kcal/mol. The analysis of the normal modes of this TS makes it possible to establish that stationary states **14** and **30** are interconnected through TS **29**. In **29**, the substituents at the double bond C1–C10 are practically located in the molecular plane with the hydrogen atom at carbon C1 oriented inside the 10-member ring avoiding the steric crowding associated with the methyl group.

Conformers **14** and **30** are of main interest because their closure defines the stereochemistry of the methyl group at position 10. When the reaction occurs through the more stable conformer **14**, the intermediates presently discussed are produced, leading to carbocation **16**. Nevertheless, when the less stable conformer **30** is analyzed, the ring closure mechanism also occurs in a concerted way through TS **31** (Figure 4) which can be found at 1.18 kcal/mol in relation to the conformer that produces it, and at a 2.07 kcal/mol in relation to conformer **14**. The more stable TS shows the methyl groups confront each other, a sterically disfavored relationship. This is in agreement with published results, making possible to establish that the so-called 1,3-syndiaxial repulsion does not have a main role in the conformation.⁷² The conformational properties of this system

(72) Cortés-Guzmán, F.; Hernández-Trujillo, J.; Cuevas, G. *J. Phys. Chem. A* **2003**, *107*, 9253–9256.

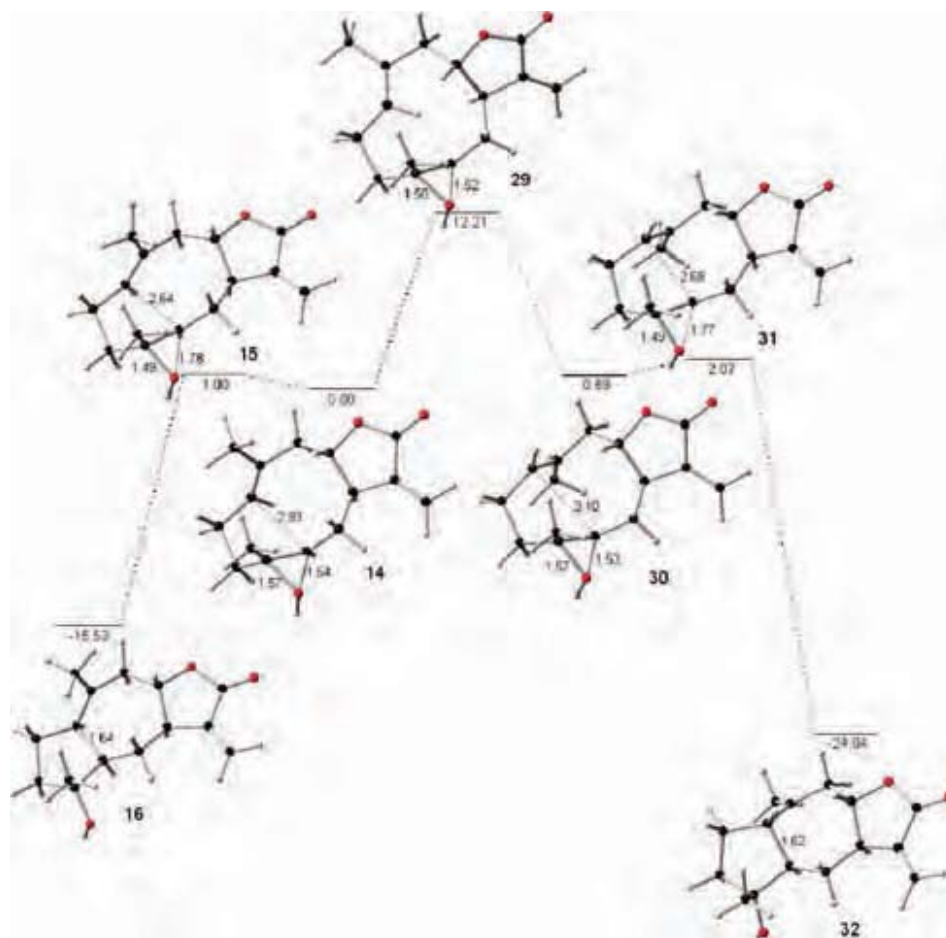


FIGURE 4. Relative energies of conformers **14** and **30**, stationary states associated with the cyclization mechanisms. Relative energy in kcal/mol determined at mPWB95/6-31+G(d,p).

is due to the fact that the 10-member ring (rigid in three points, one of them due to the double bond, the second one due to the epoxide and the third one due to the *trans*-diequatorial lactone) adopts a chair-chair conformation favoring the proximity of the olefin and the epoxide.

Coming back to the annular closure problem, TS **31** generates the thermodynamic product **32** that is 7.51 kcal/mol more stable than the kinetic product **16**. Intermediate **32** generates the epimeric compounds of the whole series. The kinetic product owes part of its instability to the contribution of the methyne groups forming the fusion that are found practically eclipsed. This eclipsing is the origin of the rotational barrier of ethane. In our case, the H-C1-C5-H angle is 9°.

Therefore, ambrosanolides and helenanolides have their origin, in accordance with what is hereby described, in the germacradiene conformer selected (or its corresponding monoepoxide). The application of the Curtin-Hammet principle over the small difference in energy between transition states **15** and **31** (even when the corrections that allow the calculation of enthalpy and the determination of the entropy are not considered), we could expect that the two C10 epimers can coexist in each species. In general this does not happen because usually only one epimer is found in each natural source. From these results, the relevance of the enzyme that catalyzes the process can be inferred. Interestingly, the compounds obtained by chemical transformation employing bentonitic earth in the paper by Ortega and Maldonado⁴⁸ imply the more stable conformer.

Bohlmann et al.⁷¹ also proposed the hypothesis, without clear evidence to support it, that lactones **26** and **35** (Scheme 3) isolated from the aerial parts of *Apalochlamys spectabilis* (Labill.) J.H. Willis, should have a biogenetic origin in compound **8**. This is clear from conformer ¹⁵D_{5,1}D¹⁴ (**30**) and by the isolation of intermediates originated by cations derived from guaianolides. Bohlmann et al.²⁶ also described the isolation of lactones **36–38** from the aerial parts of *Ondetia lineariz*. These intermediate products demonstrate that the reaction mechanism for conformer **30** is similar to that described for conformer **14**. The relevant aspect of lactone **36–38** is that it is possible, but unusual, to find natural products with both configurations at C10 within the same plant. Therefore, the mechanisms of reaction of both isomers can coexist.

The mechanisms described hereby support the hypothesis of Fischer,²⁴ who proposed that the transposition occurs through a different conformer. There is an additional proposal suggesting that the transformation of the guaianolide to pseudoguaianolide occurs in only one step.¹³ The migration of the methyl group at C4 as well as the migration of the two hydrogen atoms with the elimination of a nucleofuge previously added to cation **16** requires only one TS. This is impossible, based on the results presented in this paper, since several attempts to optimize this TS were fruitless. This would be due to the fact that carbon C10 does not satisfy the stereochemical requirement that allows the migration of the hydrogen atom from position 1. It is necessary to remember that at mPWB95/6-31+G(d,p) level, intermediate **16** must be transformed into conformer **18** through

TS 17. In this case a concerted mechanism, as those proposed by Herz,¹³ requires the fulfillment of all stereochemical requirements and this is not the case, or even worst, **16** is not transformed in **28** in one step. On the other hand Tantillo described that this is not always true and that the connected mechanism requires simultaneous alignment for all relevant orbitals.⁷³ The reaction trajectories that are described by the mPWB95 and B3LYP levels are somewhat parallel even when in the case of the B3LYP functional a new trajectory could be formed. This new trajectory could be more direct or even shorter between intermediates **16** and **21**. This brings about a new question; why are these trajectories almost parallel? One plausible explanation would be that during the course of the reaction a conformational change happens. This change allows the correct alignment of the orbitals that favors the migration of the hydrogen atom that is under stereoelectronic control.⁷⁴ Even when B3LYP is not able to establish stationary states in this case, the trajectory brings about the alignment of the orbitals involved in the migration. If the alignment were not relevant, the reaction trajectory would be completely independent of the conformational change between stationary states **16** and **22**. The assertion of Tantillo is true if the structure of intermediate **16** is taken into account. In **16** the relevant orbitals for the migration of the hydrogen atom are not aligned, however the transference of the hydrogen atom does not occur until the conformational change (a point in the IRC, Figure 2) that allows the proper orientation of the σ_{C-H} orbital and the empty π orbital happens. The proper orientation of the orbitals involved is really required for the hydrogen migration.

In all the stationary states analyzed hereby the disposition of the O–H bond was restricted to the conformer that maintains an antiperiplanar arrangement in relation to C4–Me bond, a product of the approximation of the proton below the epoxide, since it is 0.58 kcal/mol more stable than the cation derived from the approximation of the proton above of the epoxide. Nevertheless, it must be expected that in some steps of the mechanism, the participation of the OH bond is superseded by the participation of the lone pair at the oxygen atom. It was found that when a lone pair at oxygen atom is antiperiplanar to methyl C15 in the stationary states **22**, **24** and **25**, a decrease of energy is produced in a magnitude of 2.54, 1.80 and 0.78 kcal/mol, respectively at the mPWB95/6–31+G(d,p) level of theory. These changes generate an increase of the energetic barrier associated to **22** and **24** from 2.12 to 2.86 kcal/mol, while the energetic barrier of **25** to **27** goes from 3.87 to 4.65 kcal/mol. The stabilization of **22** is given mainly, according to the deletion energies obtained by the NBO analysis, by the interaction of σ_{C5-H} with the empty orbital of the carbocation that goes from 31.61 to 36.16 kcal/mol, when the lone pair at oxygen is antiperiplanar to C15. On the other hand, the stabilization of **25** is not produced for this reason, since the interaction σ_{C4-C15} bond with the empty orbital of the carboca-

tion decreases, going from 18.15 to 16.73 kcal/mol at mPWB95/6–31+G(d,p) level of theory when the referred lone pair is maintained antiperiplanar in relation to C15. Due to the fact that in **25** the hyperconjugation with the empty orbital at the carbocation is weakened, **22** is stabilized more than **25**.

Evaluation of the Computational Methods. To get an idea of how reliable are our results obtained with DFT in such a large system and complex mechanisms, we compared the activation energies and TS geometries calculated with DFT and those calculated with MP2 theory. This comparison was done because it is well-known that in general B3LYP and MP2 give errors in opposite directions for organic molecules when the energy is evaluated.⁶³ This is because the MP2 method overestimates the delocalized structures while B3LYP overestimates the localized structures just as it has been described by Fărcașiu et al.⁶³ So if the other functionals produce results between these two levels of theory we have, in our opinion, a better functional to calculate activation energies and TS geometries for such systems. Although the reaction pathway is similar in shape for all functionals and MP2 (Figure 3), we found significant differences between activation energies at MP2 theory and B3LYP functional (Table 2). Differences in barrier height energies around 70% in relation to the activation energy of the method with highest activation energy were observed. However, the difference is much smaller between MP2 and meta-GGA functionals (mPWB95 and B1B95). The difference between barrier heights is approximately only 45% of the height barrier. Geometries of all intermediates are very similar in all cases. However, there are significant differences between DFT TSs geometries and MP2 geometries. As in the case of energies, the geometry difference is greater with the B3LYP functional. With this functional, the largest differences between bond lengths is 0.2 Å, between bond angles is 9° and between dihedral angles is 22°. With the mPWB95 functional, the largest difference between bond length is 0.16 Å, between bond angles is 3° and between dihedral angles is 12°. The largest differences between internal coordinates are those directly related with the reaction coordinate, as we expected. Compound **15** has the largest differences between B3LYP geometry and MP2 geometry because it is the TS with the largest ring, therefore it has more conformational freedom. Although with B1B95 and mPWB95, the largest difference between geometry is with TS **24**. In general, TS geometries calculated by B1B95 and mPWB95 functionals are between MP2 and B3LYP geometries. Although in the case of hydrogen and methyl shifts, the difference is still large and the geometry is not too different from B3LYP geometry. As we have discussed before, mPWB95 and B1B95 are the only functionals that can find compound **17** which also exists at MP2 potential energy surface. Moreover, these functionals find TS **21** which does not exist at the MP2 potential energy surface but exist at B3LYP. For all these reasons, we thought that mPWB95 and B1B95 are better functionals than B3LYP to calculate activation energies and geometries of TSs of similar systems.

Conclusions

The Hendrickson and Fischer theories to explain the biogenetic origin of guaianolides and pseudoguaianolides have full computational support since they characterize all the intermediates and TSs associated with the reaction mechanism. The computational results explain the origin of the intermediates isolated for the first time by Ortega and Maldonado,⁴⁸ who in

(73) Tantillo, D. J. *J. Phys. Org. Chem.* **2008**, *21*, 561–570.

(74) (a) Deslongchamps, P. *Stereoelectronic Effects in Organic Chemistry*; Pergamon Press: Oxford, 1983. (b) Szarek, W. A., Horton, D., Eds. *Anomeric Effect. Origin and Consequences*; ACS Symposium Series No. 87; American Chemical Society: Washington, DC, 1979. (c) Kirby, A. J. *The Anomeric Effect and Related Stereoelectronic Effects at Oxygen*; Springer: New York, 1983. (d) Juaristi, E.; Cuevas, G. *Tetrahedron* **1992**, *48*, 5019–5087. (e) Thatcher, G. R. J., Ed. *The Anomeric and Associated Stereoelectronic Effects*; American Chemical Society: Washington, DC, 1993. (f) Graczyk, P. P.; Mikolajczyk, M. *Top. Stereochem.* **1994**, *21*, 159–349. (g) Juaristi, E.; Cuevas, G. *The Anomeric Effect*; CRC Press: Boca Raton, FL, 1995. (h) Chattopadhyaya, J. *Stereoelectronic Effects in Nucleosides and Their Structural Implications*; Uppsala University Press: Uppsala, NY, 1999. (i) Perrin, C. L. *Acc. Chem. Res.* **2002**, *35*, 28–34.

a one pot transformation employing bentonitic earth achieved the advancement of 3 biogenetic stages of these compounds, as is described in the introduction: FPP \rightarrow germacranolide, germacranolide \rightarrow guaianolide, guaianolide \rightarrow pseudoguaianolide. In this instance, the transformation occurs through the more stable conformer which is $^{15}D_5$, $^{1}D_{14}$. According to our results, some of the roles of the enzymes which catalyze these reactions at a biological level would be the selection of the starting conformer and the stabilization of the intermediate cations. This makes it possible for them to undergo the transposition instead of the elimination reactions, as is the case for the origin of compound **9** (Scheme 2). Hence, only the next biogenetic stage is observed experimentally.

The transformation mechanism to produce pseudoguaianolides from cation **12** cannot occur in a concerted manner because the conformational adjustment and the migration of hydrogen atoms occur in elemental steps and an only TS that explains the transformation could not be found. The mechanism is driven since the reaction product is always more stable than its antecessor and because barriers are low. The higher barrier is for the migration of the [1,2]-methyl group with the formation of the carbonyl group, the final step in the biogenesis of pseudoguaianolides.

Finally, there is no doubt that the third generation functional mPWB95 recently developed by Truhlar is a good choice because it is the one that show the best performance of the theoretical methods used here to undertake the problems described hereby. It improves the description of the energetic barriers when compared to the B3LYP functional and makes it possible to undertake the study of very planar segments of the potential energy surface where this functional tends to fail.

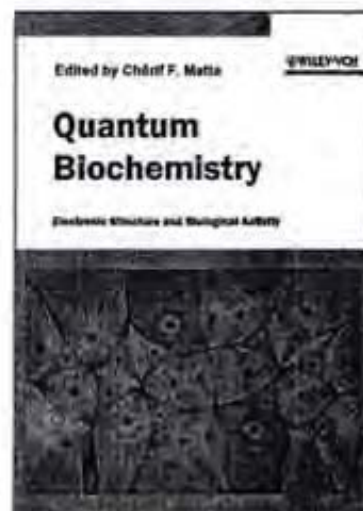
Acknowledgment. J.E.B.L. acknowledges Conacyt for financial support. We also thank the referees, Prof. Alfredo Ortega and Prof. Leovigildo Quijano, for useful comments. This work was supported by Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) for financial support via grants 49921-Q, and DGAPA grant IN-209606. We are also grateful to DGSCA, UNAM for supercomputer time. We are grateful to Dra. Rebeca López-García and Raquel Feregrino for the revision of the English version of this manuscript.

Supporting Information Available: Energy, Zero Point Energy, and fully optimized geometries of all compounds here described and full ref 51. This material is available free of charge via the Internet at <http://pubs.acs.org>.

JO802445N

Halifax, 1 July 2009

Professor Gabriel Cuevas
Instituto de Química
Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM)
Apdo. Postal 70213, 04510, Coyoacán, Circuito Exterior
México D.F.
México
Tel. (525)-622-46-49
FAX: (525)-616-22-03



Your Chapter in the Book:
“Quantum Biochemistry”, Wiley-VCH (2009).

Dear Professor Cuevas,

This letter is an acknowledgement of receipt and acceptance for publication, essentially as is (subject to minor editorial touch-ups) of your chapter entitled:

**Computational Simulation of the Terminal Biogenesis of Sesquiterpenes:
The Case of 8-Epiconfertifin**

by

José Enrique Barquera-Lozada and Gabriel Cuevas*

which will appear in the above-mentioned collective work that I am editing.

I would like to thank you very much for your invaluable contribution to this book.

Sincerely,



Chérif F. Matta, HDR, PhD
Associate Professor of Chemistry
Mount Saint Vincent University
&
Adjunct Professor of Chemistry
Dalhousie University

E-mail: cherif.matta@dal.ca

URL: <http://www.chem.utoronto.ca/~cmatta/>

Computational Simulation of the Terminal Biogenesis of Sesquiterpenes: The Case of 8-Epiconfertifin.

*José Enrique Barquera-Lozada and Gabriel Cuevas**

Instituto de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, Apdo. Postal 70213, 04510, Coyoacán, Circuito Exterior, México D.F. México.

Introduction

Amongst chemists there has always been a fascination with the origin of compounds associated with life. Ever since Alfonso Herrera performed the first experiments designed to establish the origin of life on Earth, it was noted that physicochemical principles are followed in both, the reactions inside as flask and in cellular processes. [1,2] The origin of several primary metabolites including proteins, carbohydrates, lipids, and others has been deeply studied mainly because the processes obey physicochemical principles and thus, it has been possible to rigorously establish the metabolic routes that form them.[3] This has been possible because many of the enzymes that catalyze these processes have been isolated and characterized. In addition, the genes that codify for their biosynthesis are well known and it has been possible to determine the mechanisms that regulate their activity.

Secondary metabolites are a group of chemical compounds that do not participate in the basic functions of growth and reproduction but participate in functions that facilitate the organism's adaptation to the environment.[4] Some compounds perform defense functions against pathogens and predators. Others attract insects that contribute to polinization, disperse seeds and have allelopathic functions. Since secondary metabolites have diverse structures, they have been used as taxonomic markers and have been useful to determine the degree of evolution of different species.[5] Based on the biogenetic origin of secondary metabolites, they can be classified in three groups, terpenoids, alkaloids and phenylpropanoids,[6,7] among other possible classifications.[8]

Curiously, such a diverse variety of chemical compounds is produced using only a very limited number of biosynthetic routes.[9] This may be, yet another example of the efficiency that commonly prevails in Nature.[3] For example, mevalonic acid is the origin of all terpenes and terpenoids in superior organisms while 1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate is used by lesser organisms.[10,11] On the other hand, all the sesquiterpenes used by superior organisms have their origin in either farnesol (specifically the farnesyl pyrophosphate FPP, **1** Scheme 1) or nerolidyl pyrophosphate.[12-14]

The first biogenetic hypothesis to explain the origin of terpenes is Ruzicka's rule of isoprene.[15,16] According to this rule, three molecules of acetylcoenzyme A are successively condensed to produce 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A through the action of HMG-CoA synthetase that through reduction generates mevalonic acid. A decarboxylation-elimination reaction generates isopentenyl pyrophosphate that can be isomerized to dimethylallyl pyrophosphate through the participation of isopentenylpyrophosphate isomerase.[3,4] The latter two compounds allow the construction of all terpenoids in superior organisms. The so-called hemiterpenes directly derive from any of the two compounds while sesquiterpenes have their origin in the condensation of three of these molecules. This condensation also allows the biosynthesis of farnesyl pyrophosphate (**1**, Scheme 1) or of its isomer nerolidyl pyrophosphate.[17]

Nowadays, several fundamental aspects of the mevalonate and nonmevalonate pathways such as the enzymes that catalyze their transformation and the genes that codify for them are well-known.[18] The terminal biogenesis of the different natural products responsible for the great structural diversity of compounds has been rarely studied and there are still many unanswered questions on the mechanisms responsible for generating such a variety of molecules.[15,16,19-32]

Chemical simulation of biogenetic processes is based on the fact that the reactions that take place *in vivo* follow the same general principles of *in vitro* transformations.[1] Using this concept, one can demonstrate that, in many cases, a complex enzymatic system is not really necessary to maintain control of several aspects such as *in situ*, *stereo* and *regio*-selectivity. Enzymes seem fundamental for the selection of the starting conformer and explain the high chemical yields of these transformations; however, one or two steps of the biogenetic process can be simulated *in vitro*. [33-35]

Sesquiterpene synthetases generate cyclic compounds from FPP (**1**, Scheme 1) and control their subsequent transformation into more than 300 different sesquiterpenes.[36] Thus, it has been proposed that an enzyme of this type transforms FPP into a derivative of cyclodecadiene. This hypothesis has been proven through the isolation of (+)-germacrene A synthetase isolated from chicory roots (*Cichorium intybus L.*).[37] These kinds of enzymes and their action have been widely studied.

Scheme 1. Biogenetic origin of pseudoguaianolides.

Trans,trans-germacradiene (**2**, Scheme 1) is obtained from the direct cyclization process of *trans,trans*-FPP (or *E,E*-FPP), an intermediate that is transformed by enzymatic oxidative modification to yield the corresponding lactones. Two possible biogenetic routes have been suggested for the formation of the lactone ring of these sesquiterpenoids.[23-25] On the first biogenetic stage, there are four possible configurational isomers: the germacrolides of configuration C1-E, C4-E (**6**, Scheme 1), the heliangolides (**7**) (C1-E, C4-Z), the melampolides (**8**) (C1-Z, C4-E) and the *Z,Z* germacranolides (**9**). This was demonstrated by the isolation of compounds with four possible configurations.[38] Costunólide[39] (**10**) and tamaulipin [40] (**11**) are examples of *E,E*-germacradiene, frutescin [41] (**12**) and Schkuriolide [41] (**13**) are examples of C1-Z, C4-E lactones, nobilin[42] (**14**) and eupaformonin[43] (**15**) are examples of C1-E, C4-Z lactones and melcanthin C(**16**)[44] and artemisiifolin [45] (**17**) are examples of *Z,Z* germacranolides.

Figure 1. Natural sesquiterpenic lactones with the four possible configurations of the double bonds.

According to Fischer,[25,38] on the second biogenetic stage, five different types of skeletons are produced from the germacranolide. These are the guaianolides (**18**), eudesmanolides (**19**), elemanolides (**20**), seco-germacranolides (**21**), and cadinanolides (**22**) (Scheme 1). It has been proposed that, for example, guaianolide and eudesmanolides are produced through electrophilic attacks of the double bonds of cyclodecadiene or any of its epoxides while elemanolides require a Cope type reaction.

Pseudoguaianolides (**23**, Scheme 1) are formed from the third biogenetic stage and typically contain a non-regular isoprene skeleton with a methyl group at C5. A fundamental fact that

arises is that it is possible to isolate from Nature both, guaianolides with *cis* and *trans* fusion and epimeric pseudoguaianolides at position 10. For example, when the methyl group at C10 adopts the β position a lactone of the ambrosianolide type is obtained (**24**, Figure 2). This compound is abundant in the Ambrosiinae subtribe and the genus *Parthenium*. However, if the methyl adopts an α position, it is possible to obtain a skeleton typical of the helenanolides (**25**), that is related to some members of the Heleniae tribe.

Figure 2. The absolute stereochemistry of the stereogenic center supporting the methyl group in the ambrosianolides is *S* (**24**) while in helanolides is *R* (**25**).

The biogenetic hypotheses of natural products have their base on the proposition of reasonable reaction mechanisms that allows obtaining the product under study from a precursor that is usually found in the same natural source. In order to support the biogenetic hypothesis, it is usual to have the structure of the precursor and the product, so available experimental information is very limited. For this, the use of computational models makes sense since it is possible to simulate the reaction mechanism supported always in experimental results. Without the experimental data, the results of calculations are mere speculations.

In the laboratory, it is relatively easy to transform 4,5-epoxygermacranolides to guaianolides using cyclizations catalyzed by Lewis acids.[46] The same is true for the transformation of 4,5-epoxyguaianolide to pseudoguaianolides.[47] However, the biomimetic transformations of a germacranolide into the third biogenetic stage are rare. The first successful experiment for the transformation of a germacradiene derivative into a pseudoguaianolide was the transformation performed by Ortega and Maldonado[48] of 4 α ,5 β -epoxyinunolide (**26**, Scheme 2), isolated from *Stevia tephrophylla* Blake into inuviscolide (**27**, yield 1.8%), 4 α ,5 α -epoxy-10 α ,14H-inuviscolide (**28**, yield 1%) and 8-epiconfertine (**29**), a pseudoguaianolide (yield 4.1%) using a bentonitic earth.

The stereochemistry of the cyclization products is expected if it is assumed that the most stable conformation of the precursor **26** is similar to the conformation of laurenbiolide,[49] in which both methyl groups are above the plane of the cyclodecadiene and the double bond and the epoxide have a crossed orientation, which in Samek's nomenclatures is described as $^{15}D_5$, $^1D^{14}$ (**26**).[50]

Scheme 2. Proposed mechanism for the transformation of 4 α ,5 β -epoxyinunolide (**26**) into inuviscolide (**27**), 4 α ,5 α -epoxy-10 α ,14H-inuviscolide (**28**) and 8-epiconfertine (**29**) through cations **30** and **31**.^[48]

Reaction Mechanism

The proposed mechanism is presented in Scheme 2 and is supported in the structure of the isolated byproducts.^[48] Within this mechanism, it is proposed that in the first step there is a cyclization of the ¹⁵D₅, ¹D¹⁴ conformer which produces a *cis*-fused carbocation **30** that yields compound **27** if the methyl group takes part in the elimination reaction. This is the main product when the Lewis or Brønsted acids are used.

Carbocation **30** after two consecutive hydrogen shifts (Scheme 2) produce carbocation **31**, which through an intramolecular nucleophilic attack generates epoxide **28**. Finally carbocation **31** suffers a transposition driven by the formation of the carbonyl group that produces the methyl group migration. Due to the fact that Ortega and Maldonado^[48] did not have any more proof of the existence of any other carbocation that takes part in the process, they did not mention other cationic intermediates that would be likely to take part in the process. Finally, Herz has proposed that the transformation of pseudoguaianolides to guaianolides occurs in a concerted fashion,^[23] in other words, the transformation of alcohol into ketone and the migration of the methyl and the two hydrogen atoms occurs in a single step without the participation of intermediates.

Then, the issue is which carbocations really exist as intermediates and what is the nature of the transition states (TSs) involved in the process in terms of structure and energy. The other issue that needs to be answered is if this reaction needs enzymatic catalysis or if it is only a “cascade” pathway in which the main role of the enzyme is to start the process activating the electrophilic reaction and stabilizing cationic intermediates to enable the required transpositions. In this case, it is interesting to analyze the role of bentonitic earth because it has two major effects. The first effect is selectivity. Although it lacks the complementary structure, similar to the pattern characteristic of proteins, the bentonitic earth is able to select the starting conformer of the germacradiene. The second one is the capability to stabilize the intermediate cations that might increase their average lifetime. This is why the system may undergo transposition reactions before undergoing eliminations and, as a consequence, the formation of more advanced biogenetic derivatives. It is important to establish the conformational properties of compound **26**,

since, according to Fischer,[38] the formation of the epimers at C10 depend on conformer $^{15}D_5$, $^1D^{14}$ (**26**) transforming into conformer $^{15}D_5$, $^1D^{14}$ (**32**, Figure 3).

Regarding the establishment of the terminal biogenesis of pseudoguaianolides, it is very important to study the previous biogenetic proposals. First, it has been proposed that the electrophilic close that generates the fused rings of 5 and 7 members occurs in a concerted fashion. In other words, without the existence of intermediates.[25] It is extremely interesting to point out the fact that Hendrickson's scheme does not explain the stereochemistry of the group of lactones known as heleanolide.[19] Parker et al.[51] proposed a first hypothesis that stated that these molecules should come from a germacradiene with a *Z* configuration in the double bond C1-C10. (melampolide, **8**, Scheme 1). This is, the origin of the relative stereochemistry associated with the *cis* and *trans* fusion of the skeleton of guaianolides associated with the geometry of double bonds in the starting compounds. Thus, the *cis* guaianolides are originated in germacradienes with olefins of 1-E,4-E configuration (**6**, Scheme 1) and the *trans* guaianolides have their origin in germacradienes with geometry 1-Z, 4-E (**8**, Scheme 1). In contrast, a third hypothesis put forth by Fischer[38,52] suggests a different alternative suggesting that it is a different conformer of the same germacradiene **6** that is responsible for the second series of compounds.

In a study recently published,[53] it was demonstrated that this type of problems can be approached using computational methods and that the mPWB95 functional developed by Truhlar et al.[54] and the double split valence polarized and diffuse base 6-31+G(d,p) constitute a reasonable level of theory with better performance than the MP2 method. All energies were reported with zero point energy corrections and are not scaled for comparative purpose. The 6-31+G(d,p) basis functions were used due to the fact that addition of diffuse functions to double split valence basis has shown to be more important than increasing to a triplet split valence basis when calculating reaction energies and activation energies with DFT.[55] All the calculations included in this chapter were performed using the Gaussian 03 program.[56]

Recently, the conformational process that converts the two conformers of the protonated 4 α ,5 β -epoxyinunolide at the epoxide's oxygen through the rotation of the bonds neighboring the C1-C10 double bonds. In other words, the process that interconverts the $^{15}D_5$, $^1D^{14}$ (**26**) conformer from a chair-chair conformation that is, in fact, the most stable into the $^{15}D_5$, $^1D^{14}$ (**32**) conformer that is less stable by 0.89 kcal/mol and maintains its boat-chair conformation.[53]

Figure 3. Conformational barrier for the interchange between $^{15}D_5, {}^1D^{14}$ (**26**) and $^{15}D_5, {}^1D_{14}$ (**32**) conformers and the first electrophilic ring closure. Relative energy in kcal/mol.

The corresponding conformational TS (**33**, Figure 3) maintains the trisubstituted ethylene on the molecule's plane and is located 12.21 kcal/mol from the most stable conformer. This barrier is reasonable in regard to the interconversion energy of cyclodecane[57] if it is considered that both, the double bond as well as the lactone of *trans* fusion and the epoxide confer rigidity to the ring.

The transformation mechanism of conformer $^{15}D_5, {}^1D^{14}$ into the corresponding protonated pseudoguaianolide implies a group of stationary states that are presented on Figure 4 and have been fully described.[53] Figure 5 presents the intermediates that take to the formation of an epimer at C10 of the 8-epiconfertifin. Scheme 3 presents the relative energy of each of the stationary states in relation to compound **26**, that is used here as a reference.

Scheme 3. Energetic pathway for the formation of 8-epiconfertifin cation and its C10 epimer from $^{15}D_5, {}^1D^{14}$ (**26**) and $^{15}D_5, {}^1D_{14}$ (**32**) conformers of $\alpha,5\beta$ -epoxyinunolide. Relative energy in kcal/mol.

One of the consequences derived from the conformation adopted by compounds **26** and **32** is the different *trans*-annular distance (2.93 Å in **26** and 3.10 Å in **32**), even when the O-C5 distance is the same. The transition state for the electrophilic closure associated with each conformer (**34** and **44** respectively) shows the decrease of the *trans*-annular distance and the increase of the C5-OH distance that ends in the *cis* fusion product (**35**) with a C1-C5 distance of 1.64 Å and the *trans* fusion product (**45**) with a C1-C5 distance of 1.62 Å. This is the first elemental step in the mechanism with product **45** being more stable than **35** by a difference of 8.41 kcal/mol. The transition states for the *trans*-annular closure differ barely by 1.07 kcal/mol. The lower stability of **35** in relation to **45** can be associated to the fact that **35** presents a *cis* fusion which implies a partial eclipsing of the C10-C1-C5-C6 ($\tau = 5.37^\circ$), H-C1-C5-H ($\tau = 9.18^\circ$) and C2-C1-C5-C4 ($\tau = 2.92^\circ$) segments. In addition, the methyl group joined to C10, an atom that has lost its charge, adopts an arrangement close to methylene C6. This arrangement would be expected to be more energetic than that of **45** where the methyl is oriented in an opposing direction respect to the C6 methylene and the segments associated to the fusion maintain an *anti* disposition. On the next stage, the reaction mechanisms are different and will not be similar

again until the hydrogen atom at position 1 is located at position 10 where it is the base for the methyl group at C14. For the system originated in the β epimer, this transformation requires two elemental steps[53] while for epimer α , only one elemental step is required. Intermediates **35** and **45** lack the proper conformational arrangement to allow the required {1,2}-hydrogen shift, the next step in the transformation. The plane that forms C1-C10-C14 is parallel to the C-H that must be transferred, and this chemical process requires that the transferring bond be perpendicular to the plane of the referred atoms. Thus, for **35** the H-C1-C10-C9 angle is of 31.2 and of 23.6 for **45**. Recently, it was described that the undertaking of conformational analysis requires considering the conformational process as a sequence of elementary conformational steps.[58,59] Hence, it is necessary to establish the way in which the stationary states of minimum energy are interconnected through the TS. This is feasible for cation **35**, which is transformed into conformer **37** through TS **36** (Figure 4). In this TS, the angle C14-C10-C1-C5 reaches a value of 145°. The stabilization of cation **36** is due to hyperconjugation[60] by the participation of two σ_{C-C} bonds (C1-C5 and C8-C9) and a σ_{C-H} bond of the methyl group.[61] At mPW95/6-31+G(d,p) level the distance C1-C5 is 1.64 Å, the C8-C9 of 1.55 Å and C15-H is 1.10 Å, larger than C15-H distance of the other hydrogen atoms of the methyl group. The NBO analysis[62] of these $\sigma_{C-H} \rightarrow \pi$ interactions establishes values of 25.4, 13.4 and 15.8 kcal/mol respectively for each interaction.

In cation **37** (Figure 4), the product of the conformational change, there are three hydrogen atoms that hyperconjugate to produce stabilization. The C1-H distance is 1.13 Å, the C9-H is 1.10 Å and C15-H is 1.10 Å and coincides with the energy stabilization values determined by NBO analysis at mPW95/6-31+G(d,p) level which are 54.8, 14.8 and 18.0 kcal/mol, respectively.

With the adequate conformation, an {1,2}-hydrogen shift is experienced through TS **38** (Figure 4), where the hydrogen atom is found at a distance of 1.18 Å (at a mPWB95/6-31+G(d,p) level) and barely at 1.56 Å of the destination carbon. Concurrently with migration, an adjustment of angle C14-C10-C1-C5 is produced, which goes to 170° in TS **38** and finishes at 89° in product **39**. The asynchrony of TS **38** is noteworthy. The natural charge of the hydrogen atom, which migrates, is 0.42 in TS **38**, while in **39**, it is of 0.31 and in **37** it is of 0.32. At C1 the charge is -0.38, -0.25, 0.51 and in C10 is 0.48, 0.32 and -0.38 for compounds **37**, **38** and **39** respectively, at mPWB95/6-31+G(d,p) level of theory. From the above, it can be concluded that in the TS the charge is delocalized mainly between the two carbons; even if it is also delocalized towards the

hydrogen atom. Apparently, this intermediate, stabilized through a process of three-center, two-electrons bond (3c-2e); the hydrogen atom instead of migrating as a hydride as it is usually is accepted,[63,64] migrates as a proton. In chemical language, this is denominated {1,2}-hydride shift.

To confirm this, the charges adjusted to the electrostatic potential were determined.[65] For **38** the hydrogen atom under study has a charge of 0.17, while C1 has a charge of -0.08 and C10 of 0.32.

Figure 4. Reaction intermediates and TS structures for the conversion of the conformer $^{15}D_5, ^1D_{14}$ of epoxyinunolide cation **26** to 8-epiconfertifin cation **43** at mPWB95/6-31+G(d,p) level. Selected distances and C14-C10-C1-C5 dihedral are shown in Å and in degrees, respectively. Relative energy in kcal/mol.

Figure 5. Reaction intermediates and TS structures for the conversion of the conformer $^{15}D_5, ^1D_{14}$ of the epoxyinunolide cation **32** to 10-epimero of 8-epiconfertifin cation **51** at mPWB95/6-31+G(d,p) level. Selected distances and C14-C10-C1-C5 dihedral are shown in Å and in degrees, respectively. Relative energy in kcal/mol.

For the case of the α epimer, it is possible to find only one transition state (**46**) for the whole process. It would seem then that the stereoelectronic requirement [66] that must be satisfied by the C-H bond that migrates is not necessary.

Figure 6 presents the reaction trajectory for the transformation of the intermediate **35** into **39** calculated at various levels of theory. At the mPWB95/6-31G(d,p) level, it is possible to locate the stationary states associated with TSs **36** and **38**. As it would be expected, as the conformational change occurs, the C1-H distance remains practically unmodified and only suffers an important change until the second stage of the process. At the B3LYP/6-31G(d,p) level, this process is completely different. In the first segment of the trajectory, the conformational change occurs with minor changes in the C1-H distance and a constant increase in the energy until TS **38**, (**52**, Figure 7) is reached. This is the point of maximum energy for the whole segment. From this moment, the relaxation of the system continues until minimum **39** is reached. The method is not capable of describing the conformational process previous to the migration of the hydrogen atom and locating an intermediate point of maximum energy that could be associated with the transition state of the conformational process. The third curve

corresponds to the calculation at M05-2x/6-31+G(d,p)[67] level and is similar to that obtained with the mPWB95/6-31G(d,p) functional because it separates the conformational process from the migration. The last segment of the curves describes the conformational readjustment with a pronounced change in the dihedral angle C14-C10-C1-C2 and a slight change in the C1-H distance once the migration has occurred.

Figure 6. Intrinsic reaction coordinate (IRC) for the transformation of cation **26** to cation **43** at mPWB95/6-31+G(d,p) (red), B3LYP/6-31+G(d,p) (blue) and M05-2x/6-31+G(d,p) (green) levels of theory. Projection of the IRC at mPWB95/6-31+G(d,p) in dark gray, projection of the IRC at B3LYP/6-31+G(d,p) in gray and projection of IRC at M05-2x/6-31+G(d,p) in black.

Figure 7. Transition states located in the reaction path of the reaction at B3LYP/6-31+G(d,p) (**52**) and MP2/6-31+G(d,p) (**53**) levels.

Finally, when the mechanism is studied at MP2 level, it is not possible to determine the transition state associated with the migration of the hydrogen atom. However, it is possible to determine the stationary state associated with the conformational change (**53**, Figure 7). Thus, the profile of the trajectory of reaction is very sensible to the level of theory used. This is because the potential energy surface is too flat in the TS region. It must be acknowledged that there is a reaction pattern common to all curves. This shows that the physical phenomena is similar in all cases but the methods of calculation show different types of deficiencies when the phenomenon is described. The reaction trajectories that are described by the three levels of theory are shown in Figure 6 and are approximately parallel even when for the case of the B3LYP functional, a new trajectory, with a single TS could be generated. This trajectory could in fact be more direct or shorter to connect intermediates **35** and **38**. Now, a new question arises; why are these trajectories parallel? Even if the different methods do not locate the same stationary states, they do recognize the fact that the first segment of the reaction corresponds to the conformational change (this aligns the orbitals until the stereoelectronic requirements are satisfied) and the second segment corresponds to the transfer of a hydrogen atom. Evidently, a trajectory where the proton transference occurs at the same time as the conformational change should be discarded because it requires a reaction trajectory that is completely different from the previous because the changes in the distance of the C1-H bond would happen at the same time as the changes in the C14-C10-C1-C2 angle which is not observed here. This hypothetical case is

illustrated in Figure 8. If the migration and the conformational change were simultaneous, the expected trajectory would be totally different.

Figure 8. Concerted (dotted line) and calculated trajectory for the transformation of **35** in **39**.

Although the B3LYP functional does not allow establishing stationary states for the conformational change, the trajectory involves the alienation of orbitals. If this alienation were not relevant as proposed by Tantillo,[68] there would be a reaction trajectory completely independent from the conformational change between stationary states **35** and **39**. Thus, the misconceived suggestion that the migration of the hydrogen atom is not subject to stereoelectronic control has its origin in the analysis of only one or just a few of the reaction trajectories obtained using methodologies that do not adequately describe the potential energy surface such as the B3LYP functional. In addition, a group of types of reaction coordinates denominated nearly plateau, well-defined shoulder, slight shoulder or no shoulder has been proposed in an attempt to systematize their description.[68] However, the trajectories depend so much on the level of theory that the controversy that arises can only be resolved in two ways. One is ensuring that the functional is correct for a specific surface of potential energy which is impossible due to the small energetic difference between the different stationary state, and the second one is gaining experimental information about the intermediaries, that is difficult due to the close energetic proximity between the stationary states.

Figure 9 presents the reaction trajectory generated by the β epimer calculated at the mPWB95/6-31+G(d,p) level. As it can be observed, the reaction trajectory shows that the migration of the hydrogen atom happens only after the stereoelectronic requirements have been adjusted. Tantillo has stated that a concerted mechanism requires simultaneous alignment for all relevant orbitals it is not always true. However, this does not seem to be the case here since the migration does not happen until the conformational change does happen.[68]

Figure 9. Intrinsic reaction coordinate (IRC) for the transformation of cation **45** to cation **47** at mPWB95/6-31+G(d,p). In this case, ones again the conformational arrangement is followed by the transference of the hydrogen atom.

At this point, the conditions that favor the occurrence of the second migration are present in intermediates **39** and **47**. For **39**, the hydrogen atom that will take part in that migration has the required geometry for this purpose as it maintains a *syn* relation respect to the hydrogen atom

that migrates from C1 to C10. In this case, **39** and **41** are almost isoenergetic and the barrier height is smaller than for other similar cases.[69-71] This migration is highly symmetric, since in the TS the C1-H distance is 1.31 Å and the C5-H distance is 1.33 Å. This stems from the fact that the two cations connected by TS **40** have a similar substitution pattern at the level of first neighbors. The existence of cation **41** is certainly proven by the isolation of epoxide **28** (Scheme 2). In contrast, in TS **48** the symmetry associated with its epimer **40** is lost. Again, the epimer with the C14 methyl in pseudoequatorial position is more stable than the one that maintains it in a pseudo-axial position by 1.49 kcal/mol. The charges adjusted to the electrostatic potential of the hydrogen atoms that migrate is again positive for both cases, 0.11 for **40** and 0.20 for **48**.[65] Now, it is relevant to insist on the conceptual problem if it is a hydride or a proton the species that migrates. In order to analyze the nature of the migrating atom, the TS of **54** to **56** that interconvert the corresponding cations were studied and are shown in Figure 10. For all cases, the charges adjusted to the electrostatic potential[65] show that the hydrogen atom that migrates has lost the charge and this is distributed between the carbon atoms that participate in the process. It is a case of stabilization by 3c-2e intermediates and not the migration of a hydride. This is an example of the case where the application of the so-called chemical language violates fundamental principles of physics and this should be corrected.

Figure 10. Transition states associated with the {1-2} transference of hydrogen. In all cases the atom's charge is positive.

Finally, protonated 8-epiconfertifin (**43**) is accessed through {1,2}-methyl shift from **41**. The methyl group is found in the TS at 1.74 Å from the origin and at 1.96 Å from the destination atom. This makes it more similar to **41** than to the product **43**. Therefore, in accordance with Hammond's postulate, an exothermic reaction is expected when the product is generated. This is evident by the observations where the process concludes with the hydrogen atom joined to the carbonyl group. In fact, this bond evolved from 1.39 Å in the intermediate, to 1.34 Å in the TS and finally to 1.28 Å in the product. It is worth noting that the depletion of charge in cation **43** is concentrated between C4 and O, since the C4 natural charge goes from 0.17 in **41** to 0.74 in **43** and the charge of the oxygen atom goes from -0.74 in **41** to -0.59 in **43**.

A similar migration was determined in the elemental step that includes the stationary states **49-50-51**. As it is the case of migration of proton **48**, in **50** the transition state loses symmetry but gains stability. In all stationary states hereby analyzed the disposition of the O-H bond was

restricted to the conformer that maintains an antiperiplanar arrangement in relation to C4-Me bond, a product of the approximation of the proton below the epoxide, since it is 0.58 kcal/mol more stable than the cation derived from the approximation of the proton above of the epoxide. Nevertheless, it must be expected that in some steps of the mechanism, the participation of the OH bond is superseded by the participation of the lone pair at the oxygen atom. It was found that when a lone pair at oxygen atom is antiperiplanar to methyl C15 in the stationary states **41**, **42** and **43**, a decrease of energy is produced in a magnitude of 2.54, 1.80 and 0.78 kcal/mol, respectively at the mPWB95/6-31+G(d,p) level of theory. These changes generate an increase of the energetic barrier associated to **41** and **42** from 2.12 to 2.86 kcal/mol, while the energetic barrier of **42** to **43** goes from 3.87 to 4.65 kcal/mol. The stabilization of **41** is given mainly, according to the deletion energies obtained by the NBO analysis, by the interaction of σ_{C5-H} with the empty orbital of the carbocation that goes from 31.61 to 36.16 kcal/mol, when the lone pair at oxygen is antiperiplanar to C15. On the other hand, the stabilization of **43** is not produced for this reason, since the interaction σ_{C4-C15} bond with the empty orbital of the carbocation decreases, going from 18.15 to 16.73 kcal/mol at mPWB95/6-31+G(d,p) level of theory when the referred lone pair is maintained antiperiplanar in relation to C15. Due to the fact that in **42** the hyperconjugation with the empty orbital at the carbocation is weakened, **41** is stabilized more than **43**.

Conclusions

The Hendrickson[19] and Fischer[25,38] theories to explain the biogenetic origin of guaianolides and pseudoguaianolides have full computational support since they characterize all the intermediates and TSs associated with the reaction mechanism. The computational results explain the origin of the intermediates isolated for the first time by Ortega and Maldonado,[48] who in a one pot transformation employing bentonitic earth achieved the advancement of 3 biogenetic stages of these compounds, as is described in the introduction: FPP → germacranolide, germacranolide → guaianolide, guaianolide → pseudoguaianolide (Scheme 1). In this instance the transformation occurs through the more stable conformer which is $^{15}D_5$, $^1D_{14}$. According to our results, some of the roles of the enzymes which catalyze these reactions at a biological level would be the selection of the starting conformer and the stabilization of the intermediate cations. This makes it possible for them to undergo the transposition instead of the

elimination reactions, as is the case for the origin of compound **27** (Scheme 2). Hence, only the next biogenetic stage is observed experimentally.

The transformation mechanism to produce pseudoguaianolides from cation **35** cannot occur in a concerted manner because the conformational adjustment and the migration of hydrogen atoms occur in elemental steps and an only one TS that explains the transformation could not be found. The mechanism is driven since the reaction product is always more stable than its antecessor and because barriers are low. The higher barrier is for the migration of the {1,2}-methyl group with the formation of the carbonyl group, the final step in the biogenesis of pseudoguaianolides.

The mechanisms described hereby support the hypothesis of Fischer,[25,38] who proposed that the reaction occurs through a different conformer. There is an additional proposal suggesting that the transformation of the guaianolide to pseudoguaianolide occurs in only one step.[23] The migration of the methyl group at C4 as well as the migration of the two hydrogen atoms with the elimination of a nucleofuge previously added to cation **35** requires only one TS. This is impossible, based on the results presented in this chapter, since several attempts to optimize this singular TS were fruitless. This would be due to the fact that carbon C10 does not satisfy the stereochemical requirement that allows the migration of the hydrogen atom from position 1. It is necessary to remember that at mPWB95/6-31+G(d,p) level, intermediate **16** must be transformed into conformer **37** through TS **36**. In this case a concerted mechanism, as those proposed by Herz,[23] requires the fulfillment of all stereochemical requirements and this is not the case, or even worst, **35** is not transformed in **43** in one step. On the other hand Tantillo[68] described that this is not always true and that the concerted mechanism requires simultaneous alignment for all relevant orbitals. The reaction trajectories that are described by the mPWB95 and B3LYP levels are somewhat parallel even when in the case of the B3LYP functional a new trajectory could be formed. This new trajectory could be more direct or even shorter between intermediates **35** and **39**. During the course of the reaction a conformational change happens. This change allows the correct alignment of the orbitals that favors the migration of the hydrogen atom that is under stereoelectronic control.[66] Even when B3LYP is not able to establish stationary states in this case, the trajectory brings about the alignment of the orbitals involved in the migration. If the alignment were not relevant, the reaction trajectory would be completely independent of the conformational change between stationary states **35** and **39**. The proper orientation of the orbitals

involved is really required for the hydrogen migration. Finally, the Ortega and Maldonado proposal is fully supported by computational methods.

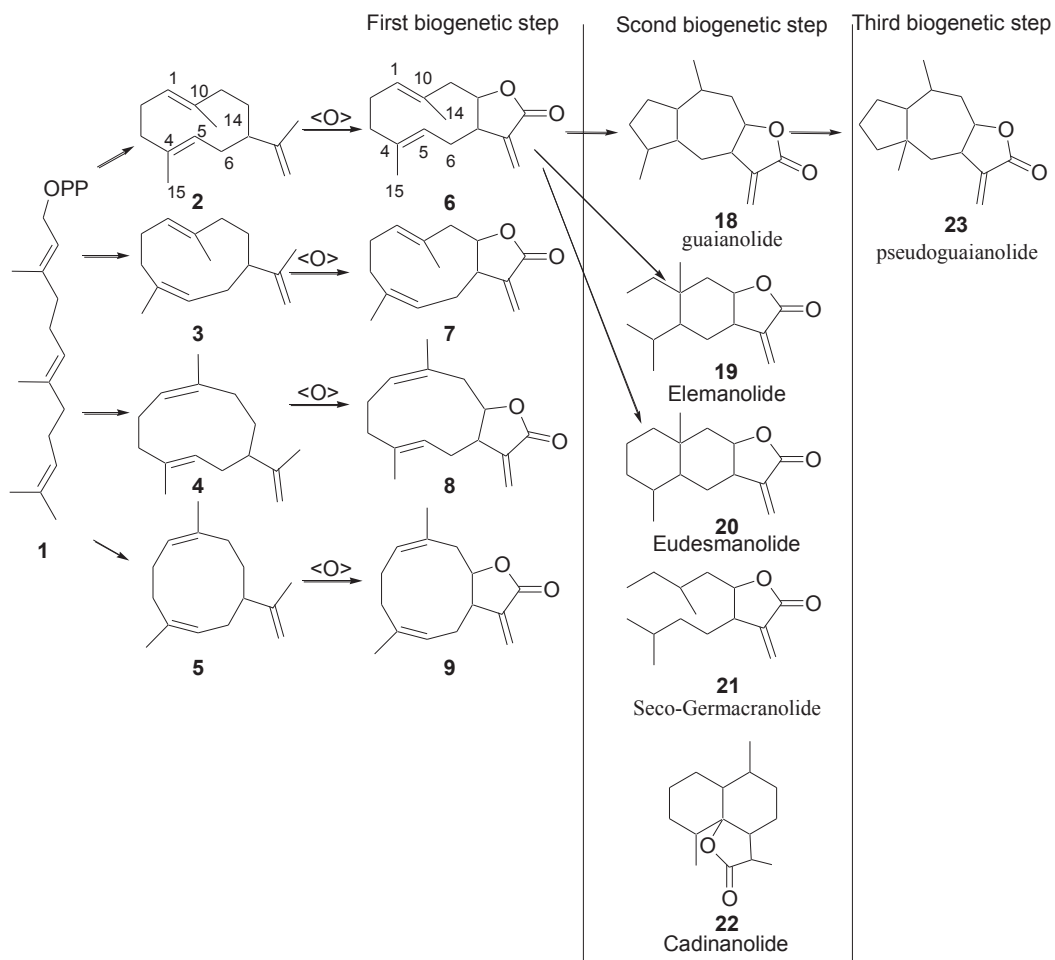
References.

1. Herrera A. L. *Science*, **1942**, *96*, 14.
2. Negrón-Mendoza, A. *J. Biol. Phys.* **1994**, *20*, 11-15
3. Lehninger, A.L. *Biochemistry*. Worth Publisher, New York, **1970**. pg. 483
4. Manitto, P. *Biosynthesis of Natural Products*. John Wiley & Sons, New York, 1981. pg. 10.
5. Clement, J.S.; Mabry, T.J.; Wyler, H.; Dreiding, A.S. 1994. *Chemical review and evolutionary significance of the betalains* in: *Caryophyllales*, Behnke, H.D.; Mabry, T.J (Eds.) Springer, Berlin **1994**, 247-261.
6. Croteau, R.; Kutchan, T. M.; Lewis, G.N. *Natural Products (Secondary Metabolites)* in: Buchanan, B.B.; Grissem, W.; Jones, R.L. (Eds). *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*. American Society of Plant Physiologists. Rockville, Maryland, New York. **2000**. Chapter 24.
7. "Secondary Metabolites and Plant Defense". In: Taiz, Lincoln y Eduardo Zeiger. *Plant Physiology, Fourth Edition*. Sinauer Associates, Inc. 2006. Chapter 13
8. Judd, W. S. Campbell, C. S. Kellogg, E. A. Stevens, P.F. Donoghue, M. J. *Secondary Plant Compounds in Plant systematics: a phylogenetic approach*, Sinauer Assoc, New York. **2002**. Chapter 4.
9. Richards, J.H.; Hendrickson, J.B. *The biosynthesis of steroids, terpenes and acetogenins*. Benjamín, New York **1964**.
10. Kuzuyama, T.; Seto, H. *Nat. Prod. Rep.* **2003**, *20*, 171-183.
11. Rohmer, M.; Seemann, M.; Horbach, S.; Bringer-Meyer, S.; Sahm, H. *J. Am. Chem. Soc.*, **1996**, *118*, 2564-2566.
12. Cane, D.E. *Pure Appl. Chem.* **1989**, *61*, 493-496.
13. Fischer, N.H.; Olivier, E.J.; Fischer, H.D. *The Biogenesis and Chemistry of sesquiterpene Lactones*. In *Prog. Chem. Org. Nat. Prod.* Herz, W.; Grisebach, H.; Kirby, G.W. (Eds.) Springer-Verlag, Wien, **1979**. pg. 47.
14. Romo de Vivar, A. *Rev. Latinoamer. Quim.* **1977**, *8*, 63-73. *Chem Abst.* **1977**, *87*, 18934p.
15. Ruzicka, L. *Experientia*, **1953**, *9*, 357-367.
16. Ruzicka, L.; *Pure Appl. Chem.* **1963**, *6*, 493-523.
17. Cane, D.E. *Pure Appl. Chem.* **1989**, *61*, 493-496.
18. Cane, D. E. *Chem. Rev.* **1990**, *90*, 1089-1103.
19. Hendrickson, J.B.; *Tetrahedron*, **1959**, *7*, 82-89.
20. Barton, D.H.R.; Bockmann, O.C.; de Mayo, P. *J. Chem. Soc.* **1960**, 2263-2271.
21. Parker, W.; Roberts, J.S.; Ramaje, R. *Quart. Rev.* **1967**, *21*, 331-363.
22. Herz, W. *Sesquiterpene Lactones Biogenesis* in: *Pharmacognosy and Phytochemistry*. Wagner, H. Horhammer, L. (Eds.) Springer-Verlag, West Berlin and Heildelberg. **1971**, pg. 64. Herz, W. *Isr. J. Chem.* **1977**, *16*, 32-44.
23. Hanson, J.R. *Terpenoid Biosynthesis* in *Comprehensive Organic Chemistry*. Barton, D.H.R. (Ed.) Ch. 29. Academic Press, New York **1979**.

24. Geissman, T.A. *Rec. Adv. Phytochem.* **1973**, *6*, 65-95.
25. Fischer, N.H.; Oliver, E.J. Fischer, H.D. *Prog. Chem. Org. Nat. Prod.* **1979**, *38*, 77-390.
26. Cane, D.E. *Isoprenoids Including Carotenoids and Steroids*. Cane, D.E.; Ed. *Comprehensive Natural Products Chemistry*. Vol. 2; Elsevier, Oxford, **1999**; p 155. Felicetti, B.; Cane, D. E. *J. Am. Chem. Soc.*, **2004**, *126*, 7212.
27. Goodwin, T.W. (ed) *Natural substances formed biologically from mevalonic acid. Biochemical Symposia No. 29*. Academic Press, **1970**. MacMillan, J. *Recent aspects on the chemistry and biosynthesis of the Gibberellins*. In *Rec. Adv. Phytochem.* **1974**, *7*, 1-19.
28. Delgado, G. *Investigación sobre la Química de productos naturales en el Instituto de Química de la UNAM. Estudios iniciales y química de eremofilanos, bisabolanos y sesquiterpenos relacionados*. In *Química de la flora mexicana*, Instituto de Química, Alfonso Romo de Vivar (ed.) **2006**.
29. Christianson, D. W. *Chem. Rev.*, **2006**, *106*, 3412-3442.
30. Dewick, P. M. *Nat. Prod. Rep.*, **1999**, *16*, 97-130. Dewick, P. M. *Nat. Prod. Rep.*, **2002**, *19*, 181-272.
31. Steel, C. L.; Crock, J.; Bohlman, J.; Croteau, R. *J Biol. Chem.* **1998**, *273*, 2078.
32. Starcks, C. M.; Back, K.; Chapell, J.; Noel, J. P. *Science*, **1997**, *277*, 1815-1820.
33. Coates, R.M. *Prog. Chem. Org. Nat. Prod.* **1976**, *33*, 73-230.
34. Goldsmith, D. *Prog. Chem. Org. Nat. Prod.* **1971**, *29*, 363-394.
35. Money, T. *Prog. Org. Chem.* **1973**, *8*, 29-77.
36. Allermann, R.K.; Young, N.J.; Ma, S.; Truhlar, D.G.; Gao, J. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 13008-13013. Chapell, J. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* **1995**, *46*, 521-547. McCaskill, D.; Croteau, R. *Planta* **1995**, *197*, 49-56. vanKlink, J. Becker, H.; Anderson, S.; Boland, W. *Org. Biomol. Chem.* **2003**, *1*, 1503-1508.)
37. de Kraker, J. -W.; Franssen, M.C.F.; de Groot, A.; König, W.A.; Bouwmeester, H.J. *Plant. Physiol.* **1998**, *117*, 1381-1392.
38. Fischer, N.H. *Rev. Latinoamer. Quím.* **1978**, *9*, 41-46.)
39. Rao, A.S.; Keilkar, G.R.; Bhattacharyya, S.C. *Tetrahedron* **1960**, *9*, 275-283.)
40. Fischer, N.H.; Mabry, T.J.; Kagan, H.B. *Tetrahedron* **1968**, *24*, 4091-4097.)
41. Delgado, G.; Tejada, V.; Salas, A.; Chavez, M.I.; Guzmán, S.; Bolaños, A.; Aguilar, M.I.; Navarro, V.; Villareal, M.L. *J. Nat. Prod.* **1998**, *61*, 1082-1085.)
42. Benesova, V.; Samek, Z.; Herout, V.; Sorm, F. *Tetrahedron Lett.* **1970**, *11*, 5017-5020.
43. McPhail, A.T.; Onan, K.D.; Lee, K.H.; Ibuka, T.; Huang, H.-Ch. *Tetrahedron Lett.* **1974**, *15*, 3203-3206.
44. Fischer, N.H.; Seaman, F.C.; Wiley, R.A.; Haegele, K.D. *J. Org. Chem.* **1978**, *43*, 4984-4987.
45. González-González A.; Arteaga, J.M.; Breton-Funes, J.L. *Phytochemistry* **1973**, *12*, 2997
46. For the transformation of epoxygermacranolides in to guaianolides see: White, E.H.; Winter, R.E.K. *Tetrahedron*, **1963**, *19*, 137-141. Govindachari, T.R.; Josi, B.S.; Kamat, V.N. *Tetrahedron*, **1965**, *21*, 1509-1519. Gaissman, T.A.; Ellestad, G.A. *Phytochemistry*, **1971**, *10*, 2475-2485 Griffin, T.S.; Geissman, T.A.; Winters, T.W. *Phytochemistry*. **1971**, *10*, 2487-2495. Irwin, M.A.; Lee, K.H.; Simpson, R.F.; Geissman, T.A. *Phytochemistry*, **1969**, *8*, 2009-2012.)
47. For the transformation of 4,5-epoxyguaianolide in to pseudoguaianolides see: Fischer, N.H.; Wiley, R.A.; Perry, D.L. *Rev. Latinoamer. Quím.* **1976**, *7*, 87-93.)
48. Ortega, A.; Maldonado, E. *Heterocycles*, **1989**, *29*, 635-638.
49. Takeda, K. *Tetrahedron*, **1974**, *30*, 1525-1534.
50. Samek, Z.; Harmatha, J. *Coll. Czech. Chem. Commun.* **1978**, *43*, 2779-2799.

51. Parker, W.; Roberts, J.S.; Ramaje, R. *Quart. Rev.* 1967, 21, 331.
52. Fischer, H.H.; Wu-Shih, Y.F.; Chiari, G.; Fronczek, F.R. Watkins, S.F. *J. Nat. Prod.* **1981**, 44, 104-110.
53. Barquera-Lozada, J.E.; Cuevas, G. *J. Org. Chem.* **2009**, 72, 874-883.
54. Zhao, Y.; Truhlar, D. G. *J. Phys. Chem. A*, **2004**, 108, 6908-6918. b. Zhao, Y.; Truhlar, D.G. *Acc. Chem. Res.* **2008**, 41, 157-167.
55. Lynch, B. J.; Zhao, Y.; Truhlar, D. G. *J. Phys. Chem. A*, **2003**, 107, 1384-1388.
56. Frisch, M. J.; Trucks, G. W.; Schlegel, H. B.; Scuseria, G. E.; Robb, M. A.; Cheeseman, J. R.; Montgomery, Jr., J. A.; Vreven, T.; Kudin, K. N.; Burant, J. C.; Millam, J. M.; Iyengar, S. S.; Tomasi, J.; Barone, V.; Mennucci, B.; Cossi, M.; Scalmani, G.; Rega, N.; Petersson, G. A.; Nakatsuji, H.; Hada, M.; Ehara, M.; Toyota, K.; Fukuda, R.; Hasegawa, J.; Ishida, M.; Nakajima, T.; Honda, Y.; Kitao, O.; Nakai, H.; Klene, M.; Li, X.; Knox, J. E.; Hratchian, H. P.; Cross, J. B.; Bakken, V.; Adamo, C.; Jaramillo, J.; Gomperts, R.; Stratmann, R. E.; Yazyev, O.; Austin, A. J.; Cammi, R.; Pomelli, C.; Ochterski, J. W.; Ayala, P. Y.; Morokuma, K.; Voth, G. A.; Salvador, P.; Dannenberg, J. J.; Zakrzewski, V. G.; Dapprich, S.; Daniels, A. D.; Strain, M. C.; Farkas, O.; Malick, D. K.; Rabuck, A. D.; Raghavachari, K.; Foresman, J. B.; Ortiz, J. V.; Cui, Q.; Baboul, A. G.; Clifford, S.; Cioslowski, J.; Stefanov, B. B.; Liu, G.; Liashenko, A.; Piskorz, P.; Komaromi, I.; Martin, R. L.; Fox, D. J.; Keith, T.; Al-Laham, M. A.; Peng, C. Y.; Nanayakkara, A.; Challacombe, M.; Gill, P. M. W.; Johnson, B.; Chen, W.; Wong, M. W.; Gonzalez, C.; and Pople, J. A. Gaussian 03, Revision D.01, Gaussian, Inc., Wallingford CT, **2004**.
57. Pawar, D.M.; Smith, S.V.; Mark, H.L.; Odom, R.M.; Noe, E.A. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, 120, 10715-10720.
58. Fernández-Alonso, M. C.; Asensio, J.L.; Cañada, F.J.; Jiménez-Barbero, J.; Cuevas, G. *Chem. Phys. Chem.* **2003**, 4, 748-753.
59. Fernández-Alonso, M. C.; Cañada, J.; Jiménez-Barbero, J.; Cuevas, G. *Chem. Phys. Chem.* **2005**, 6, 671-681.
60. Juaristi, E.; Cuevas, G. *Acc. Chem. Res.* 2008, 40, 961-970.
61. Laube, T. *Acc. Chem. Res.* **1995**, 28, 399-405.
62. Carpenter, J.E.; Weinhold, F. *J. Mol. Struct. (Theochem)* **1988**, 169, 41-62. Foster, J.P.; Weinhold, F. *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, 102, 7211. Carpenter, J.E. PhD thesis, University of Wisconsin, Madison, WI, **1987**. Reed, A.E.; Weinhold, F. *J. Chem. Phys.* **1983**, 78, 4066-4073. Reed A.E.; Weinhold, F. *J. Chem. Phys.* 1985, 83, 1736-1740. Reed, A.E.; Weinstock, R.B.; Weinhold, F. *J. Chem. Phys.* **1985**, 83, 735-746. Reed, A.E.; Curtiss, L.A.; Weinhold F. *Chem. Rev.* **1988**, 88, 899-926.
63. Smith, M.B.; March, J. *March's Advanced Organic Chemistry. Reactions, mechanisms and structure.* Wiley, New York. **2007**. P. 1581.
64. Carey, F.C.; Sundberg, R.J. *Advanced Organic Chemistry.* Part A. Plenum. **1990**. p. 317.
65. Breneman, C.M.; Wiberg, K.B. *J. Comp. Chem.* **1990**, 11, 361-373.
66. (a) Deslongchamps, P. *Stereoelectronic Effects in Organic Chemistry.* Pergamon Press: Oxford **1983**. (b) Szarek, W.A.; Horton, D., Eds. *Anomeric Effect. Origin and Consequences*; ACS Symposium Series No. 87; Am. Chem. Soc.: Washington, 1979. (c) Kirby, A.J. *The Anomeric Effect and Related Stereoelectronic Effects at Oxygen*; Springer: New York, 1983. (d) Juaristi, E.; Cuevas, G. *Tetrahedron* **1992**, 48, 5019-5087. (e) Thatcher, G. R. J.; Ed. *The Anomeric and Associated Stereoelectronic Effects*; Am. Chem. Soc.; Washington, 1993. (f) Graczyk, P. P.; Mikolajczyk, M. *Topics in Stereochem.* **1994**, 21, 159-349. (g) Juaristi, E.; Cuevas, G. *The Anomeric Effect*; CRC Press: Boca Raton, FL. (h) Chattopadhyaya, J. *Stereoelectronic Effects in Nucleosides and Their Structural*

- Implications*; Uppsala University Press: Uppsala, **1999**. (i) Perrin, C. L. *Acc. Chem. Res.* **2002**, *35*, 28-34.)
67. Zhao, Y., Schultz, N. E., Truhlar, D. G. *J. Chem. Theory Comput.* **2006**, *2*, 364.
 68. Tantillo, D.J. *J. Phys. Org. Chem.* **2008**, *21*, 561-570.
 69. Gutta, P.; Tantillo, D.J. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 6172-6179.
 70. Vrček, I. V.; Vrček, V.; Siehl, H. *J Phys Chem A*, **2002**, *106*, 1604-1611.
 71. Vrček, V.; Vrček, I. V.; Siehl, H. *J Phys Chem A*, **2006**, *110*, 1868-1874.



Scheme 1.

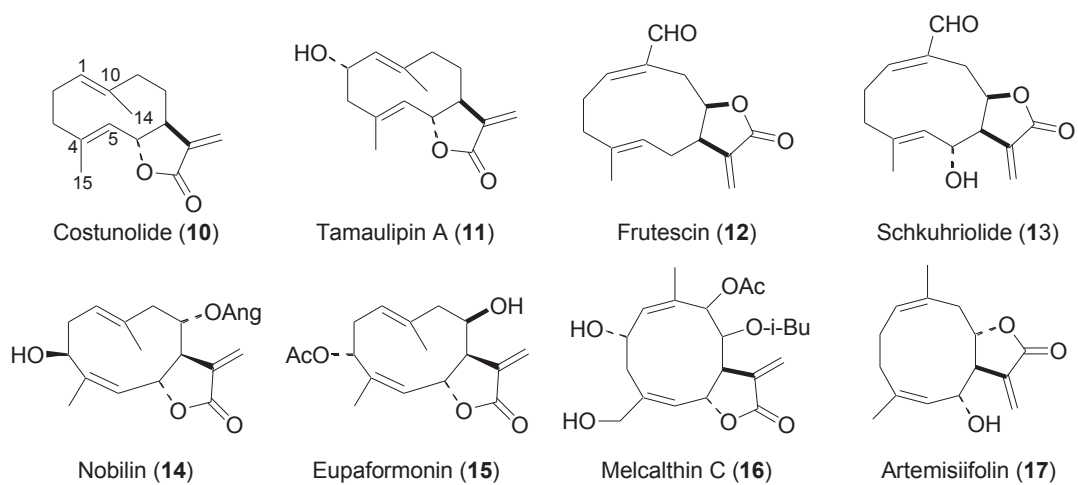


Figure 1.

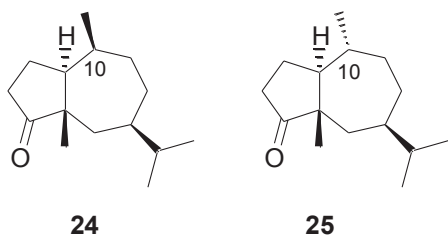
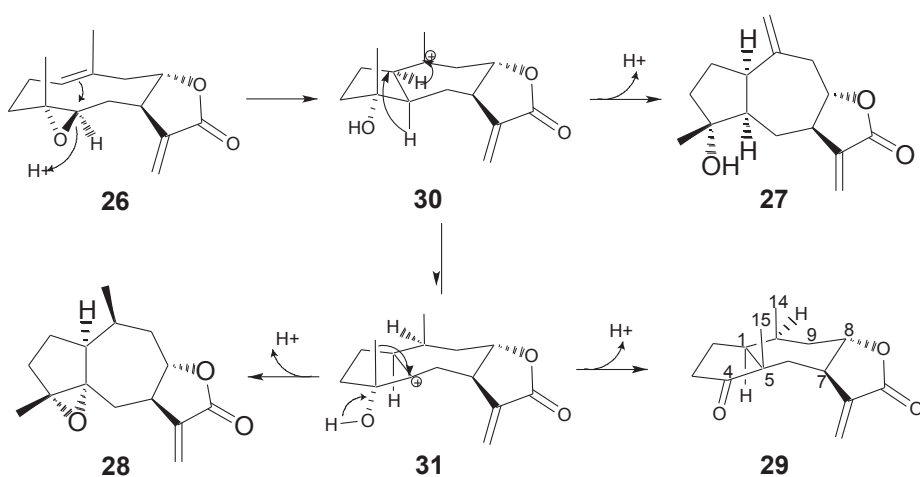


Figure 2.



Scheme 2

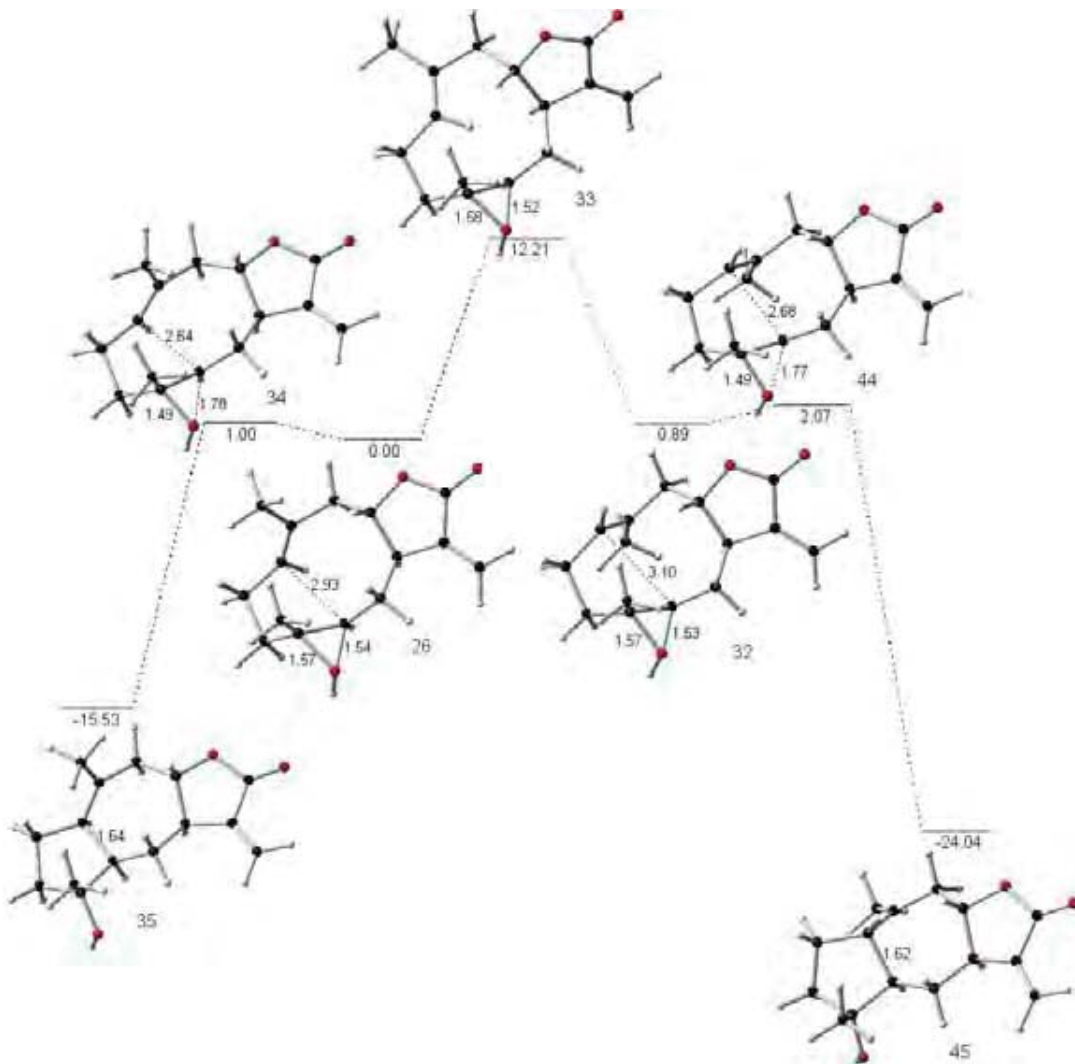
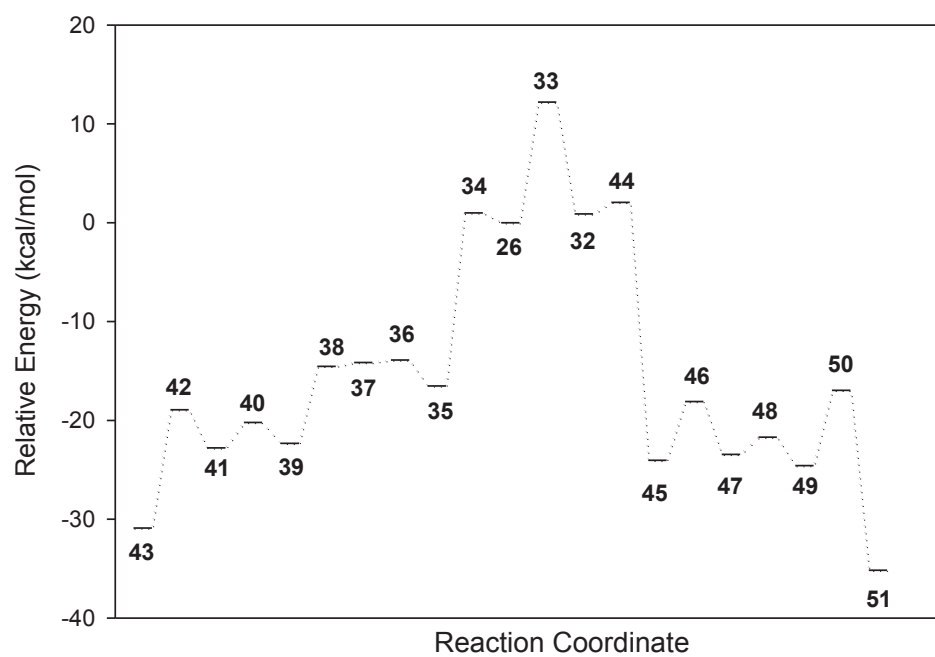


Figure 3



Scheme 3

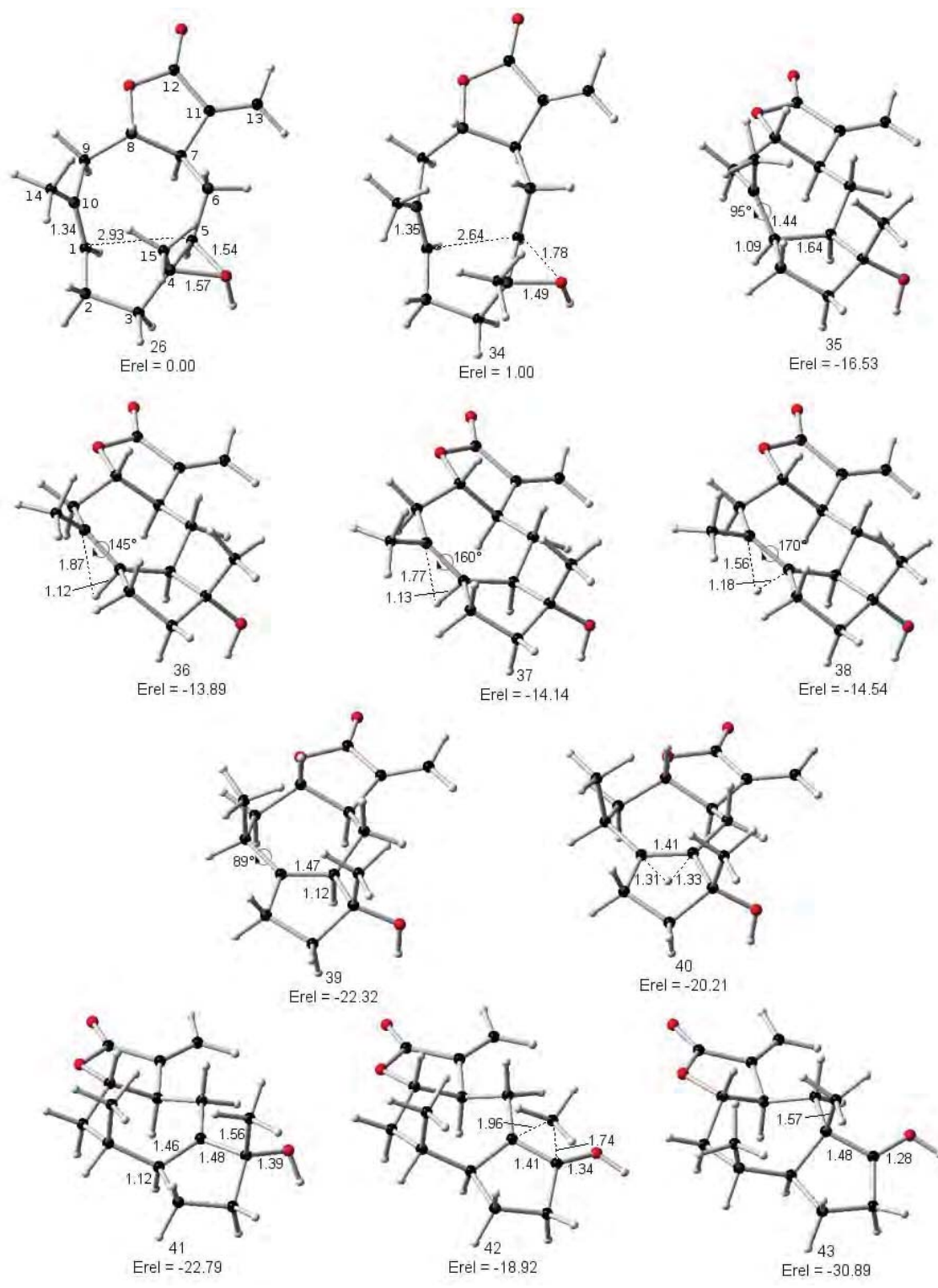


Figure 4

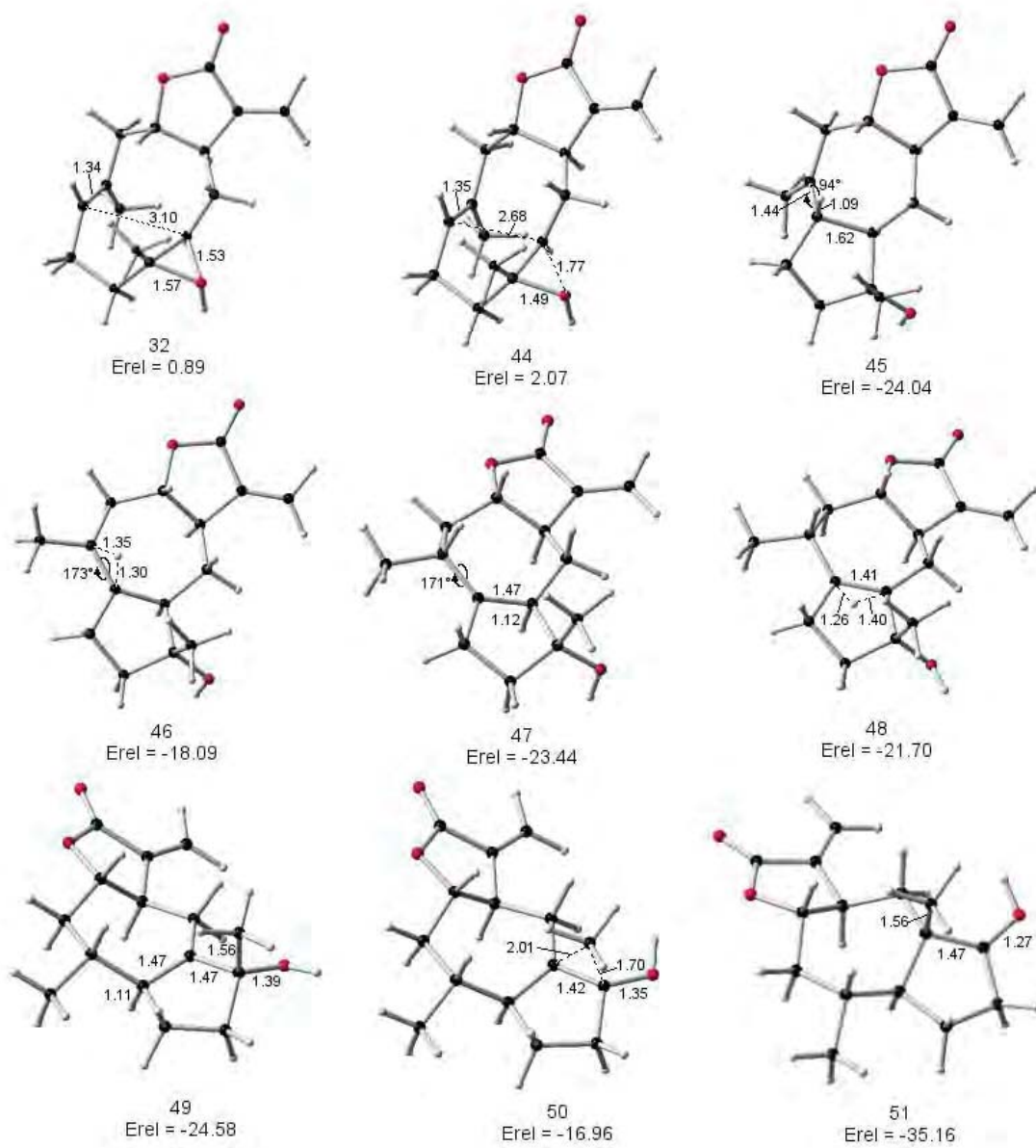


Figure 5

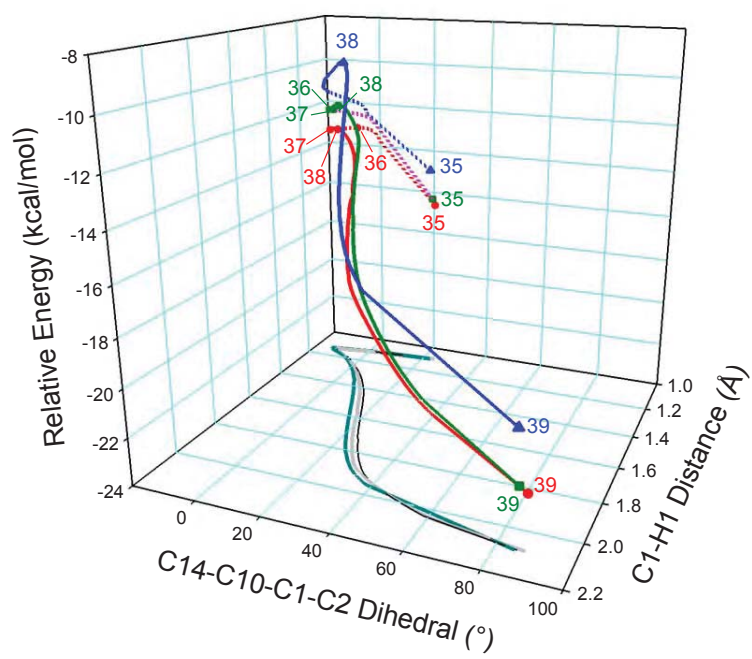


Figure 6

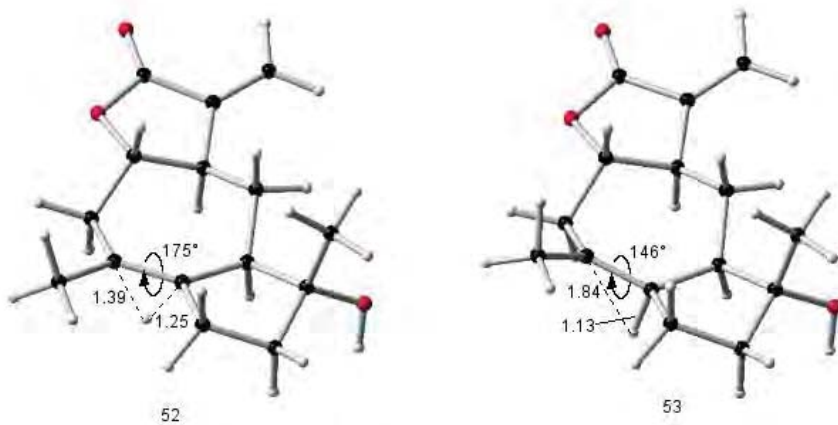


Figure 7

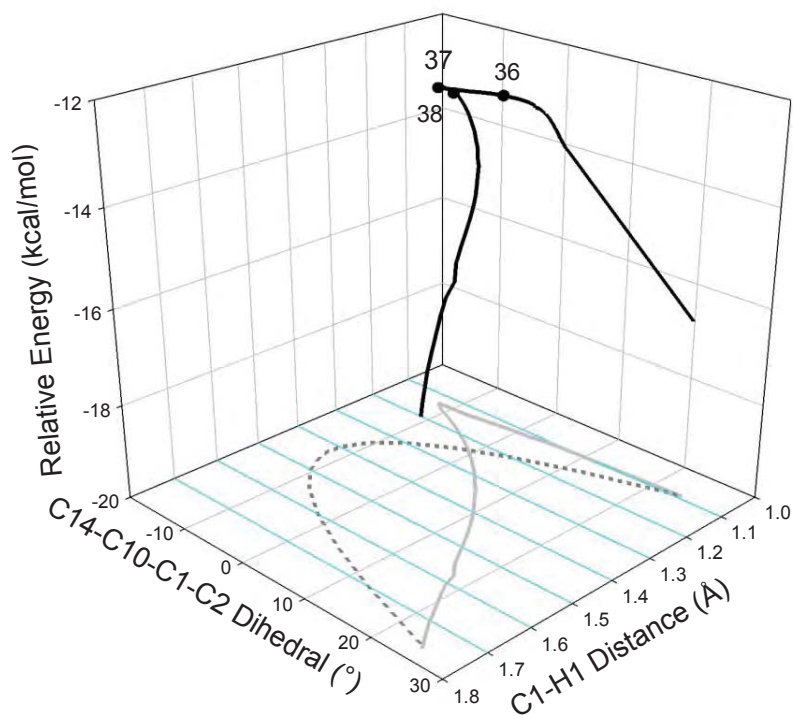


Figure 8

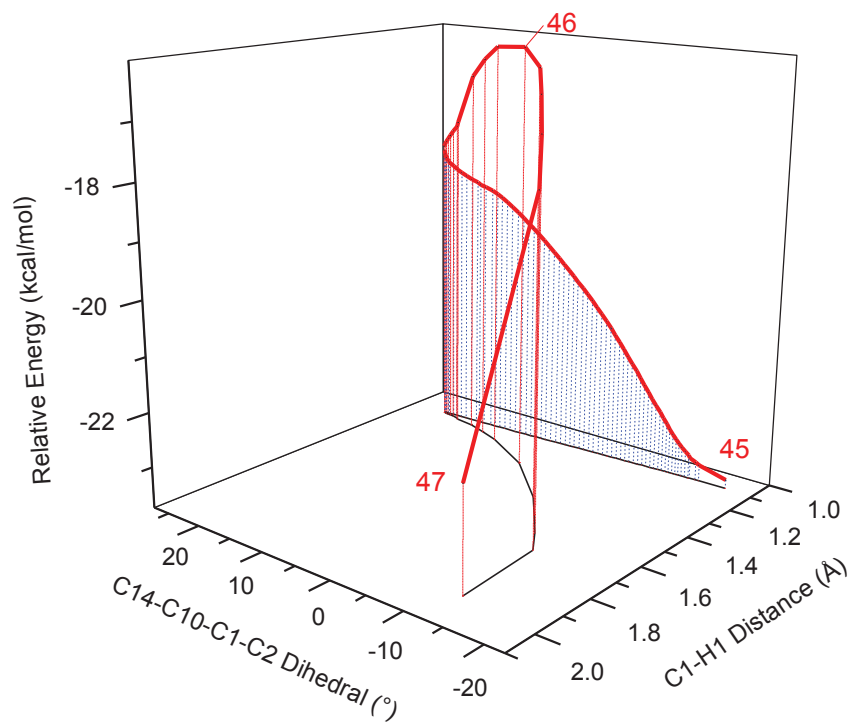


Figure 9

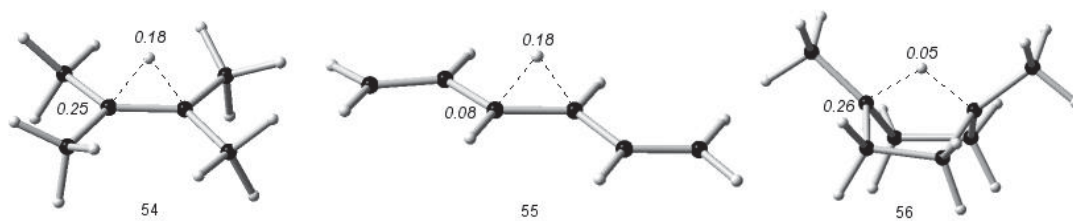


Figure 10

Biogenetic Origin of Ambrosianolides and Helenanolides sesquiterpene lactones: The Conformational Properties of Germacradienes, a case of 1,5-cyclodecadiene-Lactone.

*José E. Barquera-Lozada , Beatriz Quiroz-García, Leovigildo Quijano and Gabriel Cuevas **

Contribution from Instituto de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, Apdo. Postal 70213, 04510, Coyoacán, Circuito Exterior, México D.F. México.

E-mail: gecgb@servidor.unam.mx

Abstract: The knowledge on the conformational properties of 1(10),4-cyclodecadien γ -lactones is highly important because of the biogenetic and evolutionary implications on the different groups of sesquiterpene lactones. In spite of this fact, there is no physicochemical data on the conformational dynamic and the potential energy surface associated with the conformational changes of the cyclodecadiene ring. Fischer's biogenetic theory on the origin of ambrosanolides and helenanolides has support in the results presented here, since the conformers giving place to both groups of sesquiterpene lactones coexist in solution, as demonstrated by dynamic NMR experiments. The Fischer's proposal states that the biosynthesis of each group of pseudoguaianolides requires an specific enzyme to select the right conformer required for the electrophilic cyclization.

It has been described that germacra-1(10),4-dien-12,8 α -olides, can exist as a mixture of four different conformations, [¹⁵D_{5,1}D¹⁴], [₁₅D⁵,¹D₁₄], [₁₅D⁵,₁D¹⁴], and [¹⁵D₅,¹D₁₄], according to Samek's nomenclature, it is also known that configuration of trans-annular cyclization depends on the conformation of the precursor. In the study presented in this paper it was found that 6-epi-desacetyllaurenobiolide exists in solution at room temperature as a mixture of two stable conformers, [₁₅D⁵,¹D₁₄] and [₁₅D⁵,₁D¹⁴], which are more stable due to the diminishing of the so-called allylic tension. Analysis of the potential energy surface associated with the conformational interchange showed two extra conformers, intermediaries in the equilibria between [₁₅D⁵,¹D₁₄]/[¹⁵D₅,¹D₁₄] and [¹⁵D_{5,1}D¹⁴]/[₁₅D⁵,₁D¹⁴], which indicates the presence of six instead of four different conformers participating in the global process. The experimental values of ΔH^\ddagger , ΔG^\ddagger , ΔH_{conf} and ΔG_{conf} of the conformational exchange and those calculated at mPW1B95/6-31+G(d,p) level of theory are very similar, indicating that such level of theory is adequate for the description of these type of conformational equilibrium.

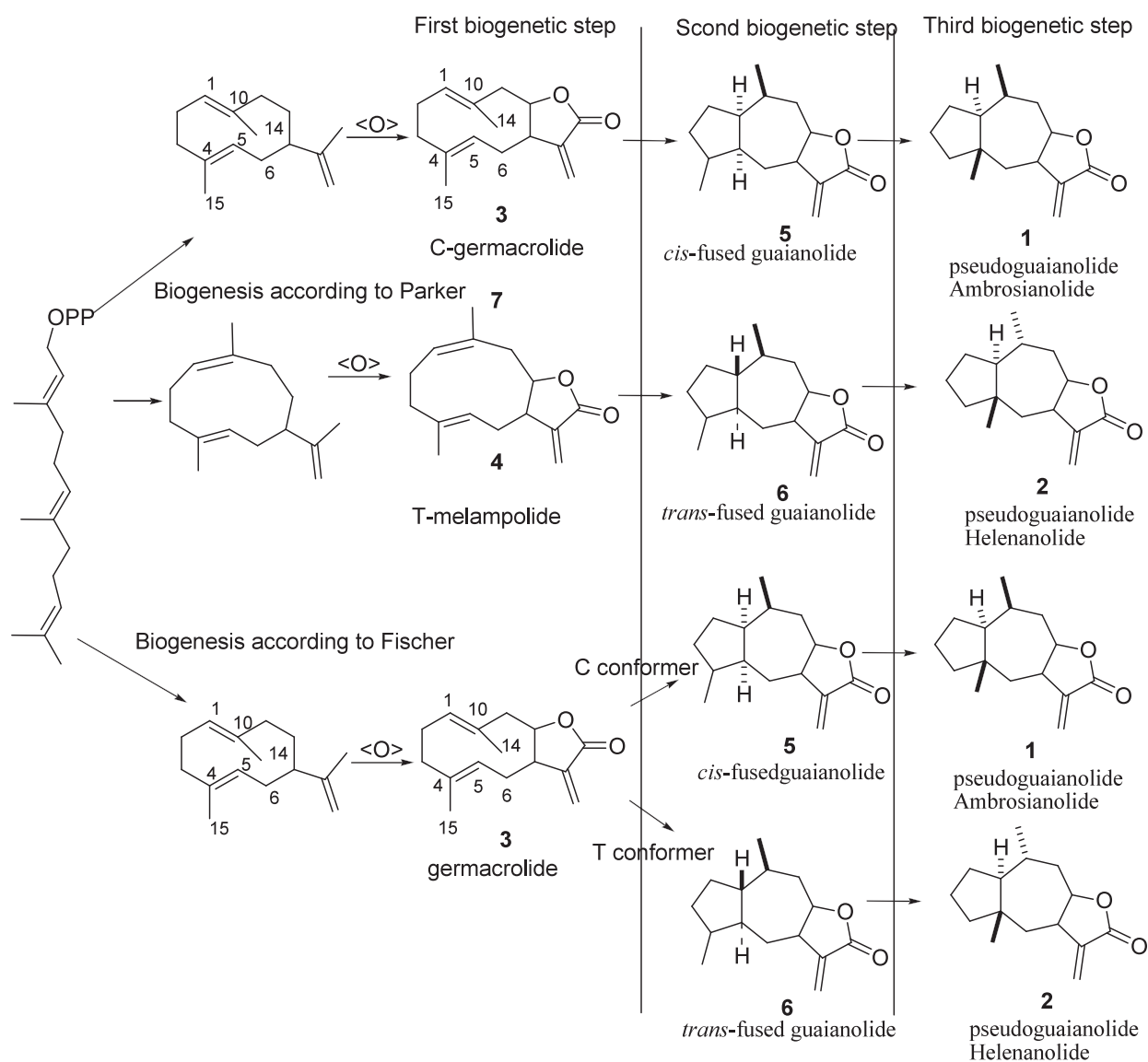
Introduction.

Since life appeared on the planet, living organisms have been subjected to continuing changes tending to a better adaptation to the environment. This observation constitutes the bases of Darwin's theory of evolution published in 1859 in his classic *The Origin of Species*, which remains as a robust description of evolution by natural selection.¹

Secondary metabolites are chemical compounds which are not essential for basic functions of growing and reproduction, but participate in functions that facilitate the organism's adaptation to the environment.² Some compounds perform defense functions against pathogens and predators. Others attract insects that contribute to polinization or dispersion of seeds and others have allelopathic functions, among others. Since secondary metabolites have diverse structures, they have been used as taxonomic markers and have been useful to determine the degree of evolution of different species.³

Based on the biogenetic origin of secondary metabolites, they can be classified in three main groups: terpenoids, alkaloids and phenylpropanoids,^{4,5} among other possible classifications.⁶

Curiously, such a diverse variety of chemical compounds is produced using only a very limited number of biosynthetic routes.⁷ This may be yet another example of the efficiency that commonly prevails in Nature.⁸ So, it is very likely that different species have the capacity to modify the molecular structure of compounds in order to have a better chance when interacting with the environment. This means that chemical evolution must follow the general principle -molecule that does not adapt to the environment "is extinguished" or disappears. For example, the plant family Asteraceae produces a wide variety of sesquiterpene lactones as characteristic secondary metabolites (Scheme 1). Among this variety, the genus *Parthenium* belonging to subtribe Ambrosiinae produces pseudogauainolides of the so-called ambrosanolide type (**1**, Scheme 1), while some members of the tribe Heleniae produce pseudogauaianolides of the so-called helenanolide type (**2**, Scheme 1). Both groups of compounds are epimeric isomers at C-10. Helenanolides adopt *R* configuration with the methyl group at C-10 α -oriented, while in the epimeric ambrosanolides the methyl group at C-10 is β -oriented, corresponding to *S* configuration. Ambrosianolides commonly occur in the subtribe Ambrosiinae, mainly in the genus *Parthenium* while helenanolides are characteristic of members in the tribe Heleniae.⁹



Scheme 1. Possible routes to explain the biogenetic origin of Ambrosianolides and Helenanolides.

Parker *et al.*¹⁰ proposed a first hypothesis to explain the origin of ambrosianolides and helenanolides where they should biogenetically come from a germacradienolide with a different configuration at the C1-C10 double bond (i.e. germacrolide **3** or melampolide, **4**, Scheme 1). Fischer¹¹ proposed a different alternative suggesting that different conformers of the same germacradiene (**3**) give rise to different series of compounds.¹¹⁻²⁰

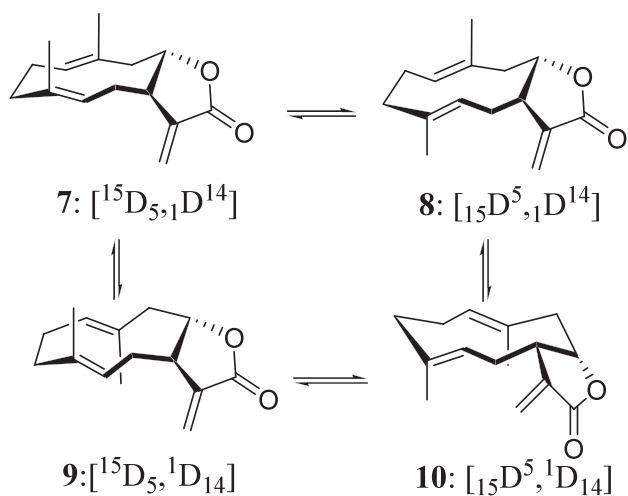
This is a critical issue because under Parker's hypothesis, plants that produce helenanolides shall be provided with an enzyme system capable of producing melampolides and not germacrolides or *vice*

versa. While according to Fischer's hypothesis, the different plants need for an enzyme system capable of selectively stabilize one of the conformers of the germacrolide which suffer the ring closure producing the [3.2.0]-bicyclodecane. A recent study on the mechanisms associated with the biogenesis of guaianolides and pseudoguaianolides using computational methods, fully supported Fischer's proposal.²¹ At the same time it showed the lack of knowledge on the conformational processes in 1,5-cyclodecadien-12,8-olides.

Compounds containing 1,5-cyclodecadienes in their structures can exist as a mixture of several conformers very close in energy, which interchange between each other through small energy barriers. Spectroscopic methods can be useful in studies of conformational mixtures and their rapid dynamic exchange.²²⁻²⁸

As mentioned before, germacranolides are characteristic metabolites of Asteraceae, and precursors of guaianolides, pseudoguaianolides, eudesmanolides, elemanolides, as well as eremofilanolides and cadinanolides.^{13,21,29}

Cyclodecadienes, as well as germacranolides, can have large conformational freedom. However, this freedom is restricted because of the endocyclic double bonds and the γ -lactone ring fused to the cyclodecadiene. Four different main conformational forms have being proposed.^{13,15,30} Which, according with Samek's nomenclature³¹ are described as the conformers [¹⁵D_{5,1}D¹⁴] and [₁₅D⁵,¹D₁₄] in which the double bonds C1-C10 and C4-C5 are cross oriented, and the conformers [₁₅D⁵,₁D¹⁴] and [¹⁵D₅,¹D₁₄] in which the double bonds are parallel oriented (Scheme 2). The four conformers are interchanged in a dynamic equilibrium, by rotation of the bonds neighboring the C1-C10 and C4-C5 double bonds. Several experimental^{19,30,32-38} and theoretical (semiempirical models^{15,19,33,34,39-42} and *ab initio*⁴³) studies on conformational analysis of germacranolides have been published, but none describe in detail the potential energy surface of this conformational equilibrium, which is of major importance to understand the biological reactivity of cyclodecadienes.



Scheme 2. Conformational equilibrium of germacranolides

In a previous paper, we published the structure of the sesquiterpene lactone 6-epi-desacetyl-laurenobiolide (Figure 1, **11**) a 6-hydroxy-germacra-1(10),4-dien-12,8 α -olide, isolated from *Montanoa grandiflora*.⁴⁴ Its structure was confirmed by single crystal X-ray diffraction. The X-ray data demonstrated that the ten member ring exist in the crystal in a highly unusual boat-boat $[^{15}D^5, {}^1D^{14}]$ conformation (**8**), in which the methyl group at C-4 is α -oriented and the methyl group at C-10 is β -oriented, in contrast with the common conformation $[^{15}D_5, {}^1D^{14}]$ (**7**, Scheme 2) of the costunolide-type structure (germacra-1(10),4-dien-12,6 α -olides), with both methyl groups above the plane of the ten member ring (β -oriented). It is known that sesquiterpene lactones of costunolide-type are quite rigid structures, while germacra-1(10),4-dien-12,8 α -olides are flexible.

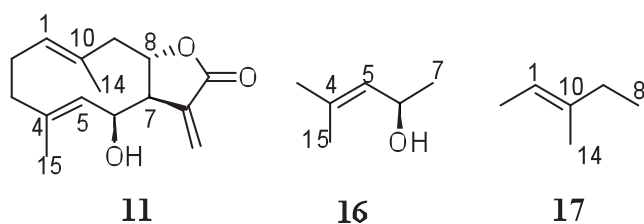


Figure 1

In order to know about the conformational behaviour of these kinds of cyclodecadienes we studied the 6-epi-desacetyllaurenobiolide (**11**) in solution. The high resolution ^1H NMR spectrum showed broadened signals while the ^{13}C NMR spectrum displayed 28 signals, almost double than the expected for a sesquiterpene lactone. These facts suggest that compound **11** must exist at room temperature and in solution as a conformational mixture in a dynamic equilibrium.

Methods

All the quantum chemical calculations were performed with Gaussian 03.⁴⁵ Geometries were optimized without geometry constraints using the density functional theory (DFT) hybrid method with mPWB95 functional.⁴⁶ Recent studies in small systems and in systems such as the molecules studied here have shown that the third generation mPWB95 functional produces more reliable thermochemical kinetic data than B3LYP functional.^{47,48} The double split valence polarized and diffuse 6-31+G(d,p) basis set was used for geometry optimization and frequency calculations. All energies were reported with zero-point energy corrections and are not scaled. We used 6-31+G(d,p) basis functions due to the fact that addition of diffuse functions to double split valence basis has shown to be more important than increasing to a triplet split valence basis when calculating reaction energies and activation energies with DFT.⁴⁹

Theoretical NMR chemical shielding data were calculated with VSXC/6-311+G(2d,2p) level with geometry calculated at mPWB95/6-31+G(d,p) level. The VSXC functional has better performance for calculating chemical shielding than other functionals, as recent studies have proved.⁵⁰ The spin-spin coupling constants were calculated with B3LYP/cc-pVTZ method which predicted with good accuracy $J(\text{HH})$ couplings.^{51,52}

Compound **11** was obtained from *M. grandiflora* as is described in reference 44.

^1H and ^{13}C NMR spectra were measured at 500 MHz and 125 MHz, respectively, in CDCl_3 , toluene- d_8 , and CD_3CN solutions, using TMS as internal standard. All signals were assigned based on 1D and 2D NMR experimental data (DEPT, COSY, HSQC and HMBC).

Thermochemical parameters ΔG , ΔH , ΔG^\ddagger and ΔH^\ddagger of conformational equilibria were determined from variable-temperature ^1H NMR experiments measured in toluene-*d*₈. ΔG and ΔH were calculated by direct integration of the NMR signals at different temperatures, while for ΔG^\ddagger and ΔH^\ddagger were determined by line shape analysis using the gNMR program⁵³ in the coalescence proximity, where the experimental error in the determination of k is small.

Results and discussion.

The ^1H NMR spectrum of compound **11** at 500 MHz and room temperature showed broadened signals, while the ^{13}C spectrum showed 28 signals instead of the 15 signals expected for a sesquiterpene, suggesting a conformational equilibrium in solution. In order to find out which conformers take place in such conformational equilibrium, a computational study at mPW1B95/6-31+G(d,p) level of theory was carried out. The results indicated that conformer [$^{15}\text{D}^5, ^1\text{D}^{14}$](**12**), the one with C15 α -oriented and C14 β -oriented (Figure 2), is more stable. This is the conformer observed in the solid state.⁴⁴ Conformer **12** is almost isoenergetic with conformer [$^{15}\text{D}^5, ^1\text{D}_{14}$](**13**), which has both methyl groups (C-15 and C-14) α -oriented (Figure 2), since it is only 0.39 kcal/mol less stable than the former **12**. Conformers [$^{15}\text{D}_5, ^1\text{D}_{14}$](**14**) and [$^{15}\text{D}_{5,1}, ^1\text{D}^{14}$](**15**) (Figure 2) were found to be much higher in energy, 3.72 and 3.87 kcal/mol less stable than **12**, respectively.

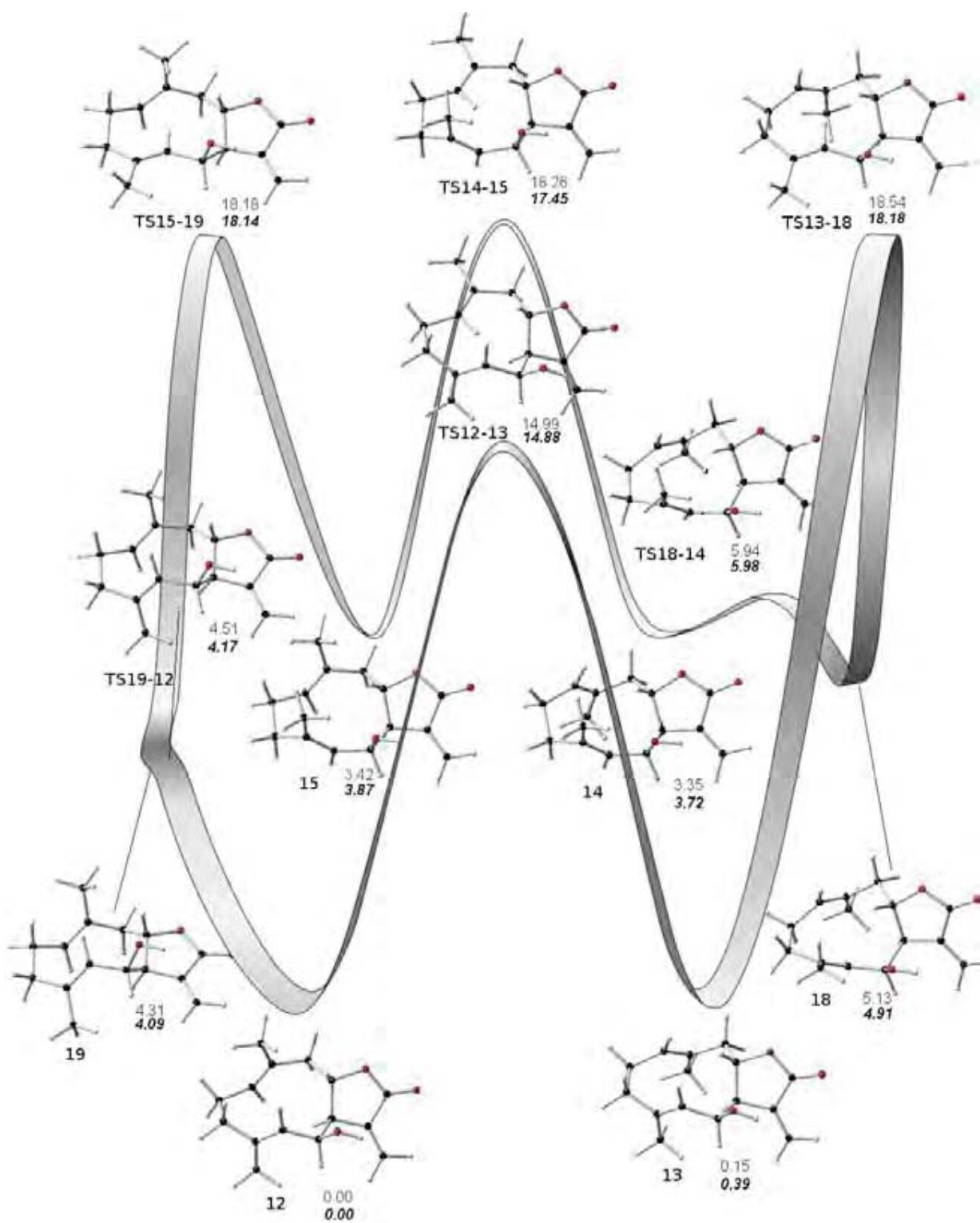


Figure 2. Conformers and conformational transition states in the potential energy surface of compound 11. Relative energy and ZPE corrected relative energy (Bold) in kcal/mol.

Differences in energy among four conformers are very likely due to the rotation of the neighboring bonds to the double bond C4-C5, since rotation of the C1-C10 neighboring bonds practically does not change the energy. This behavior would discard the possibility that the stabilization could be due to a trans-annular interaction. Thus, the stabilization must be due to interaction of the double bond with the neighboring groups directly attached to it, i.e. the named allylic tension ($A^{1,3}$).⁵⁴⁻⁵⁶ In order to evaluate these interactions, the 4-methyl-3-penten-2-ol (**16**, Figure 1) was studied as a model of the C3-C4(C15)-C5C6-C7 segment of compound **11** but free of trans-annular interactions. Compound **16**, was chosen as a good model for evaluating the degree of contribution to the energy difference due only to the interaction between neighboring groups. To eliminate the tension due to the ring, the four conformers of **16** were optimized using the dihedral angle C4-C5-C6-O6 frozen at the geometries found for conformers **12**, **13**, **14** and **15**. The energy difference between conformers with the C6-H bond eclipsed with the double bond and conformers with the bond C6-O eclipsed, is about 2 kcal/mol (Table 1). At B3LYP/6-31+G(d,p) level, Cui et al.⁵⁷ found a similar value of 2.28 kcal/mol, for the energy difference between both corresponding conformers in a similar system, pent-3-en-2-ol. The above findings indicate that the energy difference between conformers with C15 α -oriented (**12**, **13**) and those with C-15 β -oriented (**14**, **15**) in compound **11**, is due to the $A^{1,3}$ tension. The rest of the energy difference between conformers **12/15** and **13/14** should be due to the other segment containing the double bond C10-C1 in the molecule (**17**, Figure 1). This assumption was supported by the calculated energies for those conformers in compound **17** with the corresponding frozen geometry of **12** and **13**, which showed higher stability compared with **15** and **14**, respectively. In this segment of the molecule, the energy difference must be due to the ring tension (*vide supra*). Then, the energy difference between **12/15** and **13/14** is due to ring tension and $A^{1,3}$ tension.

Table 1. Energies of molecules **16** and **17** used as models of two fragments of molecule **11**. The dihedral C4-C5-C6-O was frozen with dihedrals of conformers **12**, **13**, **14** and **15**. The energy of fragments **16**

and **17** were also estimated by a single point calculation with the geometry obtained from conformers **12**, **13**, **14** and **15**.

Model	Frozen Variables	Dihedral	Energies (kcal/mol)
16	C4-C5-C6-O	-159°	0.00
		-168°	0.22
		13°	1.96
		17°	1.95
	All		0.00
			0.04
			1.43
17	All		1.57
			0.00
			0.93
			2.08
		1.89	

Small differences in energy between **12/13** and **14/15** are due to rotation in the vicinity of the C10-C1 double bond, which has only one type of interaction, since it can be eclipsed only by C-H bonds. This fact suggested that the energy difference should come either from the ring tension or the trans-annular interaction. Molecule **17** allowed the estimation of the ring tension in the fragment C8-C9-C10(C14)-C1-C2 in molecule **11**. In this case, a single point energy determination for the conformers of **17** with the geometry corresponding to **12**, **13**, **14**, and **15** (Table 1) were calculated. Molecule **16** with all coordinates frozen allowed the estimation of ring tension plus A^{1,3} tension.

The energy difference between **12** and **13** cannot be only due to the energy difference calculated from the model molecule **17**, because the difference is quite large, while the difference taking as model, the all frozen molecule **16**, is very small. Then, the energy difference could be due also to the trans-annular

interaction of the double bonds. This is supported by the NBO analysis of the interaction $C4=C5 \rightarrow C1=C10^*$ which was found to be 0.2 kcal/mol for **12**, while the same interaction for **13** was 0.89 kcal/mol, that would account for the energy difference between **12** and **13** when molecule **17** is taking as model. Similarly, in case of conformers **14** and **15**, such interactions are 0.1 kcal/mol for **14** and 0.6 kcal/mol for **15**. In this way, the energy differences between **12/13** and **14/15** must be due to the balance of the ring tension and the trans-annular interaction.

The energy difference between **12** and **13** cannot be only due to the energy difference calculated from the model molecule **17**, because the difference is quite large, while the difference taking as model, the all frozen molecule **16**, is very small. Then, the energy difference could be due also to the trans-annular interaction of the double bonds. This is supported by the NBO analysis of the interaction $C4=C5 \rightarrow C1=C10^*$ which was found to be 0.2 kcal/mol for **12**, while the same interaction for **13** was 0.89 kcal/mol, that would account for the energy difference between **12** and **13** when molecule **17** is taking as model. Similarly, in case of conformers **14** and **15**, such interactions are 0.1 kcal/mol for **14** and 0.6 kcal/mol for **15**. In this way, the energy differences between **12/13** and **14/15** must be due to the balance of the ring tension and the trans-annular interaction.

The small energy difference between the conformers of lower energy indicates that they must coexist in solution. In order to confirm the above assumption, a variable temperature ^1H NMR study at 500 MHz was carried out. At -20° in CD_3CN , duplicated signals were observed for almost all hydrogen atoms in the molecule indicating the existence of two different conformers (See S.I.). For example, at higher frequencies, the typical pair of doublets due to the exocyclic methylene protons conjugated with the γ -lactone (H13a and H13b), were observed as two pairs of doublets at δ 5.83/5.85 (H-13a) and 6.28/6.30 (H13b). A triplet at δ 5.12 is assigned to H1 of the main conformer (**12**), while, two overlapped doublets at δ 5.07 and 5.04, were assigned to H5 and H1 of the minor conformer (**13**), respectively (Figure 3a). The broad doublet at δ 4.89 corresponds to H5 of the main conformer. Two overlapped signals at δ 4.71 and 4.72 are assigned to H6 and H8 of main and minor conformers,

respectively, while well resolved signals for H6 and H8 for the minor and main conformers appeared at δ 4.62 and 4.56, respectively.

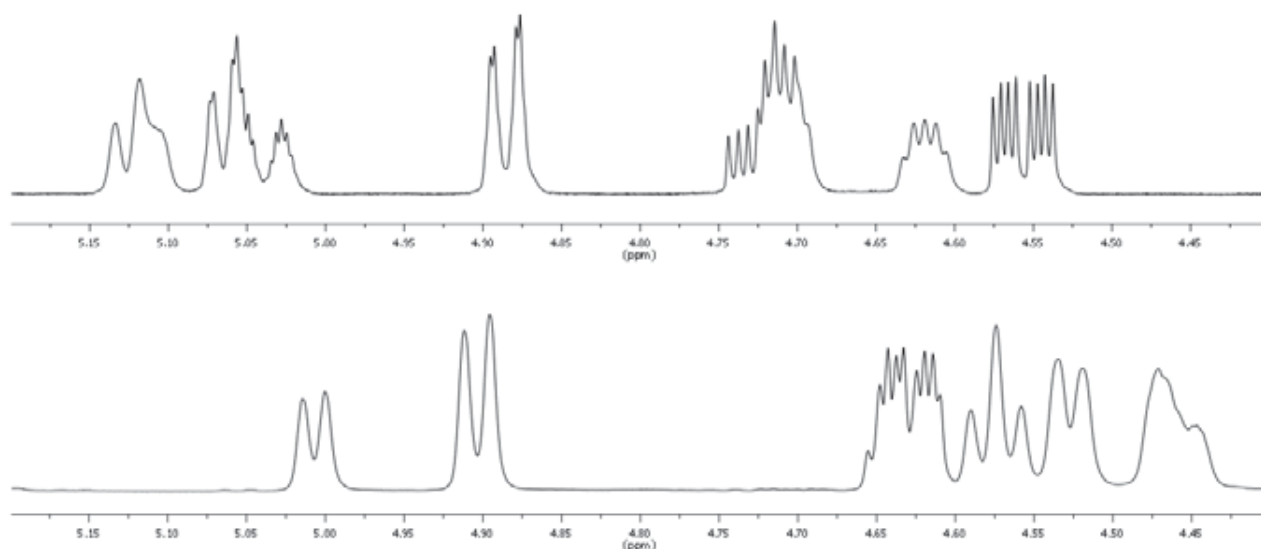


Figure 3. a) ^1H spectrum region from 4.49 to 5.18 ppm of **11** in CD_3CN at -20°C . b) ^1H spectrum region from 4.39 to 5.8 ppm of **11** in Toluene- d_8 at -20°C .

The spectrum recorded at -20°C in toluene- d_8 (see S.I.), showed similar results, but in this case diamagnetic and paramagnetic shifts due to the aromatic character of the solvent promote better resolution of some other signals. Therefore, very well resolved signals for H5 belonging to the main and minor conformers were observed at δ 4.89 and 5.07, respectively (Figure 3b). Thus, the integration of both signals gave the relative proportions of conformers **12:13** as 62:38.

In order to confirm which conformers were present in solution, besides the theoretical calculation of their energies, ^{13}C chemical shifts of the four conformers (**12-15**) were calculated at level VSXC/6-311+G(2d,2p) and compared with the experimental ones measured in CD_3CN at -20° . The smaller root mean squares (RMS) of the differences between experimental and calculated chemical shifts correspond with the signals of the minor conformer **13** (Table 2). In case of the signals corresponding to the main

conformer, these are in good agreement with the calculated chemical shifts for conformer **12**. For example C1, which is one of the carbon atoms directly involved in the conformational equilibrium, drastically changes its chemical environment in both conformers, showing a difference between calculated and experimental values of 4.38 ppm for the main conformer **12** and 9.56 ppm for the minor one. Conversely, in case of conformer **13**, the differences are 4.53 and 0.65 ppm, respectively.

Table 2 Differences between ^{13}C chemical shifts of **11** dissolved in CD_3CN at -20°C and chemical shifts of **11** calculated at VSXC/6-311+G(2d,2p) level.

Main conformer					
	Exp.	Δ 12	Δ 13	Δ 14	Δ 15
C1	126.25	4.38	-4.53	1.00	-2.90
C2	24.63	-7.34	-6.14	-5.49	-5.82
C3	37.22	-8.29	-8.85	-10.29	-10.55
C4	135.76	-1.49	-2.91	-3.47	-4.03
C5	129.92	3.96	1.85	7.06	4.88
C6	70.02	-7.51	-10.00	-12.11	-11.42
C7	51.52	-7.81	-5.42	-9.30	-11.27
C8	76.91	-1.80	-4.99	-9.92	-4.16
C9	46.45	-8.09	-0.31	-3.26	-8.40
C10	133.32	-2.78	3.76	-0.99	1.29
C11	137.85	0.48	0.79	0.44	-0.28
C12	170.84	10.54	10.03	10.78	10.63
C13	123.38	6.41	5.52	6.80	7.20
C14	17.36	-3.07	-8.43	-7.11	-3.01
C15	16.42	-2.95	-3.92	-2.26	-2.26
	RMS	5.91	5.97	7.12	6.93
Minor conformer					

	Exp.	Δ 12	Δ 13	Δ 14	Δ 15
C1	131.43	9.56	0.65	6.18	2.28
C2	25.04	-6.93	-5.73	-5.08	-5.41
C3	38.77	-6.74	-7.30	-8.74	-9.00
C4	135.99	-1.26	-2.68	-3.24	-3.80
C5	131.73	5.77	3.66	8.87	6.69
C6	70.89	-6.64	-9.13	-11.24	-10.55
C7	49.26	-10.07	-7.68	-11.56	-13.53
C8	79.31	0.60	-2.59	-7.52	-1.76
C9	40.90	-13.64	-5.86	-8.81	-13.95
C10					
C11	137.70	0.33	0.64	0.29	-0.43
C12					
C13	123.70	6.73	5.84	7.12	7.52
C14	21.18	0.75	-4.61	-3.29	0.81
C15	16.56	-2.81	-3.78	-2.12	-2.12
	RMS	6.82	5.27	7.28	7.49

RMS's of chemical shifts differences provide a good estimation of which signals belong to each conformer, but they are not conclusive because the difference between RMS's is in some cases too small. For this reason coupling constants $^3J(\text{H5-H6})$, $^3J(\text{H6-H7})$, $^3J(\text{H7-H8})$, $^3J(\text{H8-H9}\alpha)$, $^3J(\text{H8-H9}\beta)$, and $^3J(\text{H9}\alpha\text{-H9}\beta)$ which are the ones directly involved in the conformational change, were also calculated at level B3LYP/cc-pVTZ level and compared with the experimental values (Table 3). In this case, the RMS of the differences between calculated and experimental coupling constants clearly indicated that conformer **12** is the most stable, followed by conformer **13**.

Table 3. Differences between ^1H couplings of **11** dissolved in CD_3CN at -20°C and chemical shifts of **11** calculated at B3LYP/cc-pVTZ level.

Main conformer					
Coupling	Exp.	Δ 12	Δ 13	Δ 14	Δ 15
$^3J(\text{H5-H6})$	7	-0.06	-1.57	-3.23	-2.28
$^3J(\text{H6-H7})$	3	-0.3	0.3	-0.58	-1.17
$^3J(\text{H7-H8})$	5	-1.04	-2.84	-1.06	-0.42
$^3J(\text{H8-H9}\beta)$	2.5	0.07	3.67	1.55	2.72
$^3J(\text{H8-H9}\alpha)$	12	-1.67	-1.36	-1.74	-3.63
$^3J(\text{H9}\alpha\text{-H9}\beta)$	12	-0.3	1.5	0.71	0.49
	RMS	0.822	2.168	1.724	2.143
Minor conformer					
	Exp.	Δ 12	Δ 13	Δ 14	Δ 15
$^3J(\text{H5-H6})$	7	-0.06	-1.57	-3.23	-2.28
$^3J(\text{H6-H7})$	3	-0.3	0.3	-0.58	-1.17
$^3J(\text{H7-H8})$	3	0.96	-0.84	0.94	1.58
$^3J(\text{H8-H9}\beta)$	6	-3.43	0.17	-1.95	-0.78
$^3J(\text{H8-H9}\alpha)$	11.5	-1.17	-0.86	-1.24	-3.13
$^3J(\text{H9}\alpha\text{-H9}\beta)$	13.5	-1.8	0	-0.79	-1.01
	RMS	1.702	0.819	1.714	1.848

The potential energy surface gives a good idea of the interchange of conformers **12**, **13**, **14**, and **15**. In all transition states (TS) generated by rotation of the C4-C5 and C1-C10 neighboring bonds, the hydrogen attached to the double bond is oriented inside the ring (Figure 2). The energetic barrier for interchanging conformers **12** and **13** was found to be 14.99 kcal/mol (Table 4). This is a value large enough to allow the observation of the interchange between them. Comparatively, the conformational barrier for cyclohexane is about 10 kcal/mol.⁵⁸

Table 4. Activation energies (kcal/mol) at mPW1B95/6-31+G(d,p)

	E_{act}	$E_{\text{act}}+\text{zero}$
TS12-13	14.99	14.88
TS13-18	18.39	17.79
TS18-14	0.81	1.06
TS14-15	14.90	14.02
TS15-19	14.76	14.28
TS19-12	0.20	-0.09

Between conformers **13** and **14**, it was found a energy minimum corresponding to an intermediate conformer (**18**), similar to **14** with C14 α -oriented and C15 β -oriented, but a dihedral angle H2 β -C2-C3-H3 β rotated clockwise by 80.8° (Figure 2). Intermediate **18** is necessary for interchanging conformers **13** and **14**. Similarly, in the interchange between conformers **15** and **12**, a TS corresponding to intermediate **19** was found. Here the rotation of the dihedral angle H2 β -C2-C3-H3 β is counter clockwise.

The energetic barrier for transformation of conformer **13** to **18** was found to be higher (18.39 kcal/mol), with conformer **13** being more stable than **18** ($\Delta E = 4.99$ kcal/mol). On other hand, the energetic barrier between conformers **18** and **14** is less than 1 kcal/mol. Besides, conformer **14** is 1.79 kcal/mol more stable than **18**, indicating a fast equilibrium between them. The activation energies for the elemental steps in the conformational interchange **14/15** and **15/19** are very similar with values around 15 kcal/mol. In the case of **19/12** it is very small; so the correction by zero point energy causes the barrier to disappear, leading to a quick accumulation of **12** due to its higher stability when compared with **19**. Although the energetic barrier for dihedral H2 β -C2-C3-H3 β rotation is very small, this happens only when the C4-C5 double bond change its orientation, but there is no rotation when the C1-C10 double bond changes. This is because the C10-C5-H transannular angle value in conformer **12** is

73°, while in **19** it is 56°. Similarly, in case of conformers **14** and **18**, these values are 53° and 74°, respectively. The instability of conformers **18** and **19** is due to the inside orientation of C5-H bond, which is closer to the plane of the ring compared with **12** and **14**.

The ΔH , ΔG , ΔH^\ddagger , and ΔG^\ddagger calculated values of the conformational equilibrium between the stationary states **12** and **13** at level mPW1B95/6-31+G(d,p) were compared with the experimental values obtained using the ^1H NMR spectral data measured in toluene-*d*8. Integration of the well resolved signals for both conformers, H5, allowed the determination of experimental values of ΔH and ΔG associated with the conformational equilibrium (Table 5). Determination of ΔH was not possible because integration values of the signals do not show significant changes with temperature, so ΔH value must be close to zero.

Table 5. Experimental and calculated energies (kcal/mol)

	mPW1B95	Exp
ΔG	1.04	0.32
ΔG^\ddagger	15.79	15.71
ΔH^\ddagger	14.43	14.66

Experimental values of ΔH^\ddagger and ΔG^\ddagger were obtained through the line shape analysis of the ^1H NMR spectra at different temperatures. Figure 4 shows the experimental and simulated spectra using the gNMR program⁵³ in the region of frequencies of H5 signals, at different temperatures. Experimental value of ΔG^\ddagger at 25°C was determined directly from the k value obtained with gNMR program, while experimental ΔH^\ddagger was determined adjusting the k values obtained at different temperatures using the following equation (Figure 5):

$$\ln \frac{k}{T} = -\frac{\Delta H^\ddagger}{R} \left(\frac{1}{T} \right) + \frac{\Delta S^\ddagger}{R} + \ln \left(\frac{k_B}{h} \right)$$

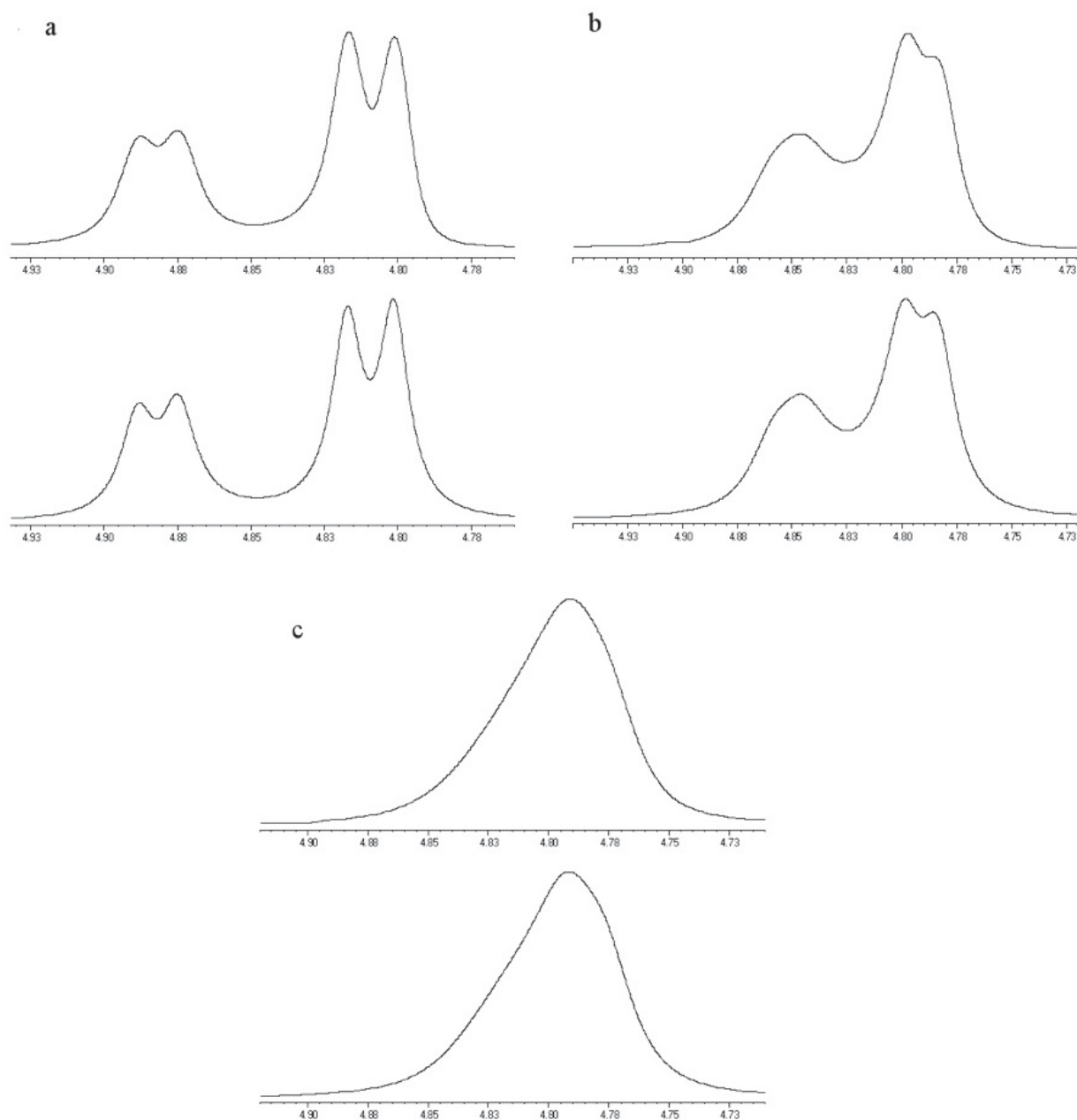


Figure 4 Experimental (top) and simulated (bottom) spectra of compound **11** at a) 12°C, b) 24°C and c) 36°C.

The calculated and experimental data are in good agreement and give a good prediction of the stability order indicating that the level of theory was adequate. The differences between experimental and calculated ΔH^\ddagger and ΔG^\ddagger are also very small. In case of ΔG , the difference is more significant, but this is expected because the ΔG value associated with the conformational equilibrium is small. Nevertheless, the differences between calculated and experimental values are less than 1 kcal/mol.

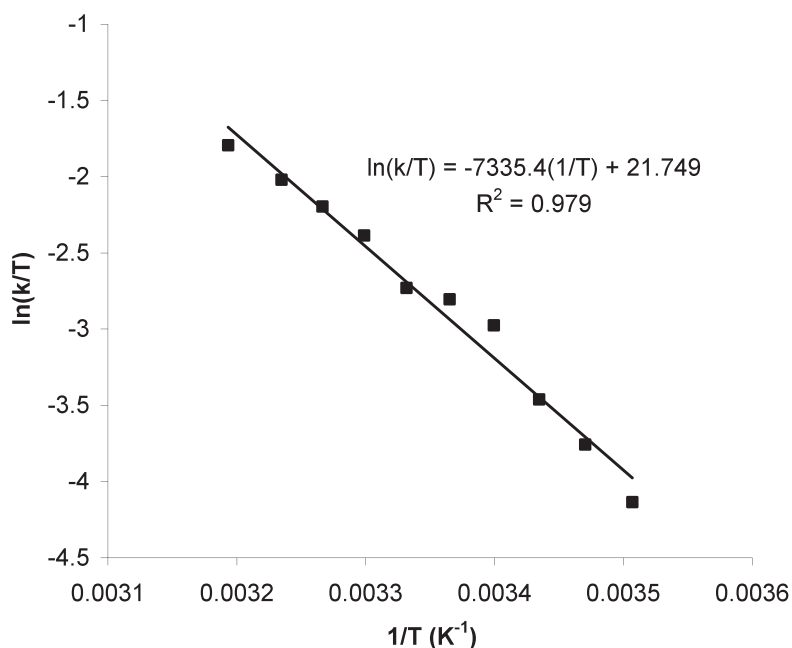


Figure 5. Linear regression for experimental k at different T .

Conclusions

The results presented herein fully supported Fischer's biogenetical proposal since both conformers giving place to ambrosanolides and helenanolides, and the C-10 epimers of pseudoguaianolides, coexist in solution. So, plants producing them require the incorporation of enzymes capable of selecting the right conformer for the electrophilic cyclization.

In solution 6-epi-desacetyl-laurenobiolide (**11**) exists as a mixture of conformers **12** and **13**. In both conformers, the methyl group at C4 (C15) is α -oriented. The conformers with C15 β -oriented are by far less stable mainly due to the allylic tension generated when C15 is eclipsed by the oxygen atom of the hydroxyl group at C6. The small energy differences between **12** and **13** are due to a balance of effects. First the trans-annular interactions favouring conformer **13**, and second, the ring tension generated in the

segment **17** that favours conformer **12**. For the interchange between conformers **12** and **13** ΔG is 0.32 kcal/mol with a barrier of 15.71 kcal/mol.

Acknowledgments

JEBL acknowledges Conacyt for financial support. This work was supported by Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) for financial support via grants 49921-Q, and DGAPA grant IN-209606. We are also grateful to DGSCA, UNAM for supercomputer time.

Supporting Information Available: Full optimized geometries of all compounds, NMR spectra and full reference 45. This material is available free of charge via the Internet at <http://pubs.acs.org>.

References and notes:

1. Darwin, C. *The origin of the species* Penguin Classics: London, 1985.
2. Manito, P. *Biosynthesis of natural products*; Ellis Horwood limited: Chichester, 1981.
3. Clement, J. S.; Mabry, T. J.; Wyler, H.; Dreiding, A. S.; Behnke, H. D., Mabry, T. J., Eds.; Springer: Berlin, 1994, p 247-261.
4. Croteau, R.; Kutchan, T. M.; Lewis, G. N. In *Biochemistry and Molecular Biology of Plants. American Society of Plant Physiologists*; Buchanan, B. B., Gruissem, W., Jones, R. L., Eds. Rockville, Maryland, New York, 2000.
5. Taiz; Lincoln; Zeiger, E. In *Plant Physiol*; Fourth ed.; Sinauer Associates, Inc.: 2006.
6. Judd, W. S.; Campbell, C. S.; Kellogg, E. A.; Stevens, P. F.; Donoghue, M. J. In *Plant systematics: a phylogenetic approach*; Sinauer Axxoc: New York, 2002.

7. Richards, J. H.; Hendrickson, J. B.; Benjamín, T. *The biosynthesis of steroids, terpenes and acetogenins* New York, 1964.
8. Lehninger, A. L. *Biochemistry*; Worth Publisher: New York, 1970.
9. Herz, W.; Academic Press: New York, 1974.
10. Parker, W.; Roberts, J. S.; Ramage, R. *Q Rev Chem Soc* **1967**, *21*, 331-63.
11. Fischer, N. H. *Rev Latinoam Quim* **1978**, *9*, 41-6.
12. Takeda, K. *Tetrahedron* **1974**, *30*, 1525-34.
13. Fischer, N. H. *Recent Advances in Phytochemistry* **1990**, *24*, 161-201.
14. Marco, J. A.; Sanzcervera, J. F.; Garcialliso, V.; Domingo, L. R.; Carda, M.; Rodriguez, S.; Lopezortiz, F.; Lex, J. *Liebigs Ann* **1995**, 1837-1841.
15. Tashkhodzhaev, B. T.; Abduazimov, B. K. *Khim Prir Soedin+* **1997**, 497-506.
16. Messerotti, W.; Pagnoni, U. M.; Trave, R.; Zanasi, R.; Andreetti, G. D.; Bocelli, G.; Sgarabotto, P. *J Chem Soc Perk T 2* **1978**, 217-24.
17. Takeda, K. *Pure Appl Chem* **1970**, *21*, 181-203.
18. El-Feraly, F.; Benigni, D. A.; McPhail, A. T. *J Chem Soc Perk T 1* **1983**, 355-64.
19. Shirahama, H.; Osawa, E.; Matsumoto, T. *J Am Chem Soc* **1980**, *102*, 3208-13.
20. Takeda, K.; Horibe, I.; Minato, H. *J Chem Soc C* **1970**, 1142-7.
21. Fischer, N. H.; Olivier, E. J.; Fischer, H. D. *Fort Chem Org Nat* **1979**, *38*, 47-390.
22. Brown, J.; Pawar, D. M.; Noe, E. A. *J Org Chem* **2003**, *68*, 3420-3424.

23. Ferreira, D. E. C.; De Almeida, W. B.; Dos Santos, H. F. *J Theor Comput Chem* **2007**, *6*, 281-299.
24. Yavari, I.; Hosseini-Tabatabaei, M. R.; Nori-Shargh, D.; Jabbari, A. *J Mol Struct-Theochem* **2001**, *574*, 9-17.
25. Pawar, D. M.; Cain, D.; Gill, G.; Bain, A. D.; Sullivan, R. H.; Noe, E. A. *J Org Chem* **2007**, *72*, 25-29.
26. Pawar, D. M.; Miggins, S. D.; Smith, S. V.; Noe, E. A. *J Org Chem* **1999**, *64*, 2418-2421.
27. Pawar, D. M.; Noe, E. A. *J Am Chem Soc* **1996**, *118*, 12821-12825.
28. Pawar, D. M.; Smith, S. V.; Mark, H. L.; Odom, R. M.; Noe, E. A. *J Am Chem Soc* **1998**, *120*, 10715-10720.
29. Cane, D. E. in *Comprehensive Natural Products Chemistry* Barton, S. D., Nakanishi, K., Eds.; Elsevier: 1999; Vol. 2, p 155-200.
30. Tori, K.; Horibe, I.; Tamura, Y.; Kuriyama, K.; Tada, H.; Takeda, K. *Tetrahedron Letters* **1976**, 387-90.
31. Samek, Z.; Harmatha, J. *Collect Czech Chem C* **1978**, *43*, 2779-99.
32. Barrero, A. F.; Herrador, M. M.; Quilez, J. F.; Alvarez-Manzaneda, R.; Portal, D.; Gavin, J. A.; Gravalos, D. G.; Simmonds, M. S. J.; Blaney, W. M. *Phytochemistry* **1999**, *51*, 529-541.
33. Faraldos, J. A.; Wu, S.; Chappell, J.; Coates, R. M. *Tetrahedron* **2007**, *63*, 7733-7742.
34. Jimeno, M. L.; Apreada-Rojas, M. D.; Cano, F. H.; Rodriguez, B. *Magn Reson Chem* **2004**, *42*, 474-483.
35. Ugliengo, P.; Appendino, G.; Chiari, G.; Viterbo, D. *J Mol Struct* **1990**, *222*, 437-52.

36. Wong, H. F.; Brown, G. D. *Phytochemistry* **2002**, *59*, 529-536.
37. Watson, W. H.; Kashyap, R. P. *J Org Chem* **1986**, *51*, 2521-4.
38. Appendino, G.; Valle, M. G.; Gariboldi, P. *J Chem Soc Perk T 1* **1986**, 1363-72.
39. Milosavljevic, S.; Juranic, I.; Aljancic, I.; Vajs, V.; Todorovic, N. *J Serb Chem Soc* **2003**, *68*, 281-289.
40. Tashkhodzhaev, B.; Makhmudov, M. K. *Khim Prir Soedin+* **1997**, 379-382.
41. Turdybekov, K. M.; Edilbaeva, T. T. *Russ Chem B+* **1996**, *45*, 2741-2744.
42. Turdybekov, K. M.; Edilbaeva, T. T. *Russ Chem B+* **1997**, *46*, 254-257.
43. Maggio, A. M.; Barone, G.; Bruno, M.; Duca, D.; Rosselli, S. *J Phys Org Chem* **2005**, *18*, 1116-1122.
44. Quijano, L.; Calderon, J. S.; Federico Gomez, G.; Jesus Lopez, P.; Rios, T.; Fronczek, F. R. *Phytochemistry* **1984**, *23*, 1971-4.
45. Frisch, M. J. T., *et al.* Gaussian, Inc: Wallingford CT, 2004.
46. Zhao, Y.; Truhlar, D. G. *J Phys Chem A* **2004**, *108*, 6908-6918.
47. Zhao, Y.; Pu, J. Z.; Lynch, B. J.; Truhlar, D. G. *Phys Chem Chem Phys* **2004**, *6*, 673-676.
48. Zhao, Y.; Truhlar, D. G. *J Phys Chem A* **2005**, *109*, 5656-5667.
49. Lynch, B. J.; Zhao, Y.; Truhlar, D. G. *J Phys Chem A* **2003**, *107*, 1384-1388.
50. Zhao, Y.; Truhlar, D. G. *J Phys Chem A* **2008**, *112*, 6794-6799.
51. Bagno, A.; Rastrelli, F.; Saielli, G. *Chem-Eur J* **2006**, *12*, 5514-5525.

52. Suardiaz, R.; Perez, C.; Crespo-Otero, R.; de la Vega, J. M. G.; Fabian, J. S. *J Chem Theory Comput* **2008**, *4*, 448-456.
53. Budzelaar, P. H. M.; 6.0 ed.; IvorySoft: 2006.
54. Allinger, N. L.; Hirsch, J. A.; Miller, M. A.; Tyminski, I. J. *J. Amer. Chem. Soc.* **1968**, *90*, 5773-80.
55. Anslyn, E. V.; Dougherty, D. A. *Modern Physical Organic Chemistry*; University Science Books: Sausalito, California, 2006.
56. Johnson, F. *Chem Rev* **1968**, *68*, 375-413.
57. Cui, M.; Adam, W.; Shen, J. H.; Luo, X. M.; Tan, X. J.; Chen, K. X.; Ji, R. Y.; Jiang, H. L. *J Org Chem* **2002**, *67*, 1427-1435.
58. del Fernandez-Alonso Maria, C.; Canada, J.; Jimenez-Barbero, J.; Cuevas, G. *Chemphyschem* **2005**, *6*, 671-80.