

DEPARTAMENTO DE QUIMICA
ORGANICA Y BIOQUIMICA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

INSTITUTO DE PRODUCTOS
NATURALES ORGANICOS
(C.S.I.C.)

GUAYANOLIDAS DE ALGUNAS
ESPECIES DE LA FAMILIA DE
LAS COMPUESTAS.

La Laguna, Septiembre de 1982

MEMORIA presentada para
aspirar al Grado de Doctor
en Ciencias Químicas, por
ANTONIO DIAZ DE LA ROSA



Esta Tesis ha sido realizada en el Instituto de Productos Naturales Orgánicos (C.S.I.C.), y en el Departamento de Química Orgánica y Bioquímica de la Universidad de La Laguna, bajo la dirección del Catedrático Jefe del Departamento Dr. D. Antonio González González, y del Profesor Agregado Dr. D. Guillermo Martínez Massanet, a quienes expreso mi agradecimiento.

Agradezco de forma particular al Investigador Científico Dr. D. Jaime Bermejo Barrera y al Profesor Agregado Dr. D. Antonio Galindo Brito su colaboración en la realización de algunas partes de esta Memoria.

También agradezco a los compañeros del laboratorio y al personal auxiliar, la ayuda prestada en la realización de este trabajo.

Este ejemplar ha sido revisado
por el Catedrático-Director

I N D I C E

I.	INTRODUCCION	8
II.	GUAYANOLIDAS	11
II.1	Estructura y biogénesis	12
II.2	Quimiotaxonomía.....	21
II.3	Métodos físicos	27
II.4	Síntesis de guayanolidas	36
II.5	Ciclaciones a guayanolidas	45
II.6	Transformaciones químicas en guayano lidas	51
II.7	Bibliografía	59
III.	PARTE TEORICA.....	71
III.1	<u>Estudio de los componentes químicos</u> <u>de la Artemisia lanata Willd.....</u>	72
III.1.1.	Extracción y aislamiento de los pro ductos.....	72
III.1.2.	5-hidroxi-6,7,3',4'-tetrametoxiflavo na.....	72
III.1.3.	2 ceto-1,10-epoxi - guayan- 3,4, en -6,12-olida	75
III.1.3.1.	Configuración en C-5, C-6, C-7 y C-11: correlación con la achillina	77
III.1.3.2.	Configuración del epóxido	78
III.1.3.3.	Preparación de epóxidos epiméricos en C-1 y C-10.....	82
III.1.3.4.	Alcoholes alílicos (IX) y (X).....	85
III.1.3.5.	Epoxialcoholes (XII) y (XIII)	87
III.1.3.6.	Epoxicetonas (XIV) y (XV)	88
III.1.3.7.	Configuración del grupo oxirano: corre lación con el 2 - α -hidroxi 1,10 -epo- xi-guayan -6, 12-olida(XVI).....	90

III.1.4.	Achillina	91
III.1.5.	2- ceto -1,10 -epoxi-8 α -acetoxi-guayan- 3,4, en- 6,12 -olida (XVII)	92
III.1.6.	8 - α -acetoxi-achillina	95
III.1.7.	Bibliografía	97
III.2.	<u>Estudio de las lactonas sesquiterpénicas de la Amberboa muricata D.C.</u>	99
III.2.1.	Extracción y aislamiento de los produc- tos	99
III.2.2.	Muricatina	99
III.2.2.1.	Correlación de la muricatina con el iso- lippidiol	101
III.2.3.	Cynaropicrina	104
III.2.4.	Desacilcynaropicrina	105
III.2.5.	Isolippidiol	105
III.2.6.	Bibliografía	107
III.3.	<u>Estudio de las lactonas sesquiterpénicas de la Centaurea canariensis (var. subex- pinnata)</u>	108
III.3.1.	Extracción y aislamiento de los productos	108
III.3.2.	Subexpinnatina	108
III.3.2.1.	Saponificación de la subexpinnatina: des- acilsubexpinnatina	110
III.3.2.2.	Productos de oxidación de la desacilsub- expinnatina	110
III.3.2.3.	Configuración de la subexpinnatina en los centros C-1, C-5, C-6 y C-7: correlación con la dehidro-costuslactona.....	113

III.3.2.4.	Configuración absoluta de la subexpinnatina : correlación con la viscidulina C.	117
III.3.3.	Aguerina B	120
III.3.4.	Bibliografía	121
IV.	ESPECTROS	122
IV.1.	Espectros de la Sección III.1(Artemisia lanata).....	123
IV.2.	Espectros de la Sección III.2 (Amberboa muricata).....	134
IV.3.	Espectros de la Sección III.3 (Centaurea canariensis var. subexpinnata).....	138
V.	PARTE EXPERIMENTAL.....	147
V.1.	Material y técnicas experimentales.....	148
V.2.	Artemisia lanata Willd.....	150
V.3.	Amberboa muricata D.C.....	161
V.4.	Centaurea canariensis (var. subexpinnata).....	166
VI.	CONCLUSIONES.....	175

I. I N T R O D U C C I O N

Las lactonas sesquiterpénicas constituyen un grupo importante de productos naturales aislados principalmente de plantas de la familia de las Compuestas, en mucha menor proporción en otras familias (Umbelíferas, Lauráceas, Magnoliáceas) y esporádicamente en hongos y hepáticas [1] . Se caracterizan por poseer un esqueleto básico de quince átomos de carbono sobre el que se sitúa uno o más anillos γ -lactona.

Por causas relacionadas con su utilidad en estudios quimiotaxonómicos [2] , [3] , [4] y con sus aplicaciones quimioterapéuticas [5] , [6] , [7] , el número de publicaciones relacionadas con el aislamiento y determinación estructural de estos compuestos se ha visto incrementado drásticamente en los últimos años. Así, en 1970 el número de lactonas sesquiterpénicas conocidas era de unas ciento setenta [8] , en el año 1977 eran setecientas [9] y en la actualidad superan el millar.

Se trata de sustancias incoloras que poseen generalmente sabor amargo y se clasifican, de acuerdo con el tipo de esqueleto en varios grupos, siendo las más representativas las germacranolidas, guayanolidas, eudesmanolidas, elemanolidas, bakkenolidas, drimanolidas, eremofilanolidas y xantanolidas; el sufijo "olida" hace referencia al grupo lactónico.

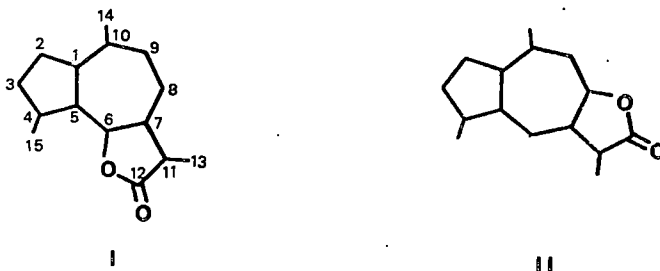
Una excelente revisión sobre las lactonas sesquiterpénicas que incluye bibliografía hasta mediados del año 1979 ha sido realizada por N.H. Fischer [10] .

En la presente Memoria se aborda la determinación estructural y el estudio del comportamiento químico de varias lactonas sesquiterpénicas pertenecientes al grupo de las guayanolidas. Al mismo tiempo, y dada la inexistencia en la bibliografía de un estudio general acerca de las guayanolidas, hemos creído interesante realizar una revisión que aborde conjuntamente los aspectos de mayor interés en este grupo de lactonas sesquiterpénicas (comportamiento químico, síntesis, quimiotaxonomía, biogénesis.); dicho estudio se incluye en el apartado II de esta Memoria.

II. GUAYANOLIDAS

II.1. Estructura y biogénesis

Las guayanolidas constituyen junto con las germacranolidas uno de los grupos de lactonas sesquiterpénicas más numerosos. Se conocen unos 240 productos naturales de esta clase cuya estructura se caracteriza por poseer un esqueleto perhidroazulénico (I,II)



en el que los anillos de cinco y siete eslabones están unidos con muy pocas excepciones en *cis* (H, α). La guayanolidas aparecen funcionalizadas con dobles enlaces, grupos hidroxilos, carbonilo, éster y epóxido, siendo los carbonos C-3, C-8, C-2, así como los portadores de los grupos metilo (C-4, C-10 y C-11), los que habitualmente presentan esta funcionalización. Sólo en unos pocos casos se ha descrito la presencia de átomos de cloro [11], [12], [13], anillos ciclopropánicos [14], ó dímeros [16] (cuadro I). De la misma manera que en los demás tipos de lactonas sesquiterpénicas, los ácidos que esterifican a las guayanolidas son el acético, y ácidos de cuatro ó cinco átomos de carbono, como el isobu-

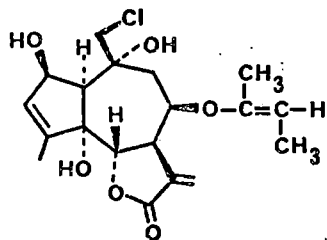
tírico, metacrílico, senecioico, angélico, tiglico, etc. Una excepción la constituye el ácido p -hidroxifenilacético que esterifica a la lactucopicrina [15], (Cuadro I).

La función γ -lactona está unida al anillo de cicloheptano generalmente en *trans* y en la mayoría de los casos se cierra sobre C-6 (H-6, β).

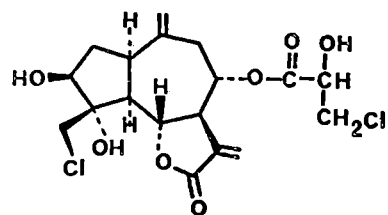
Los estudios relativamente recientes acerca de la biogénesis de los terpenoides [17], [18], [19], [20] permiten concluir que la biosíntesis de los derivados sesquiterpénicos implica la modificación y/o ciclación de ésteres pirofosfato del *trans*-farnesol, *cis*, *trans* farnesol o nerolidol. Sin embargo, a pesar de la gran variedad de estructuras que pueden derivarse de estas ciclaciones, el número de esqueletos carbonados de las lactonas sesquiterpénicas es muy pequeño.

La γ -lactona procede de la oxidación a grupo carboxilo de uno de los dos grupos metilo de la cabeza isopropílica en un precursor tipo farnesol, la oxidación de un grupo metileno adyacente a alcohol secundario y la lactonización posterior. Los detalles de este proceso no se conocen todavía, aunque se han sugerido algunos esquemas biogénéticos uno de los cuales se muestra en el Esquema I. [21].

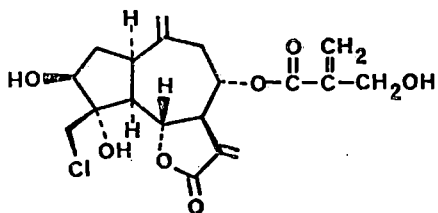
CUADRO I



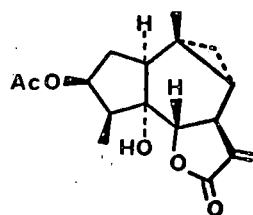
Eupaclorina [11]



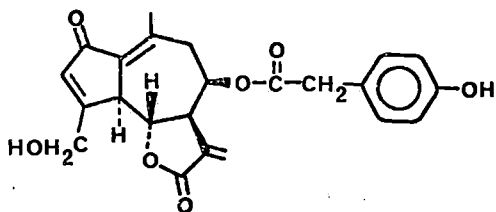
Clorokyssofifolina A [12]



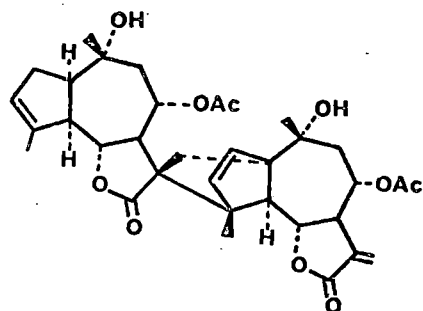
Clorojanerina [13]



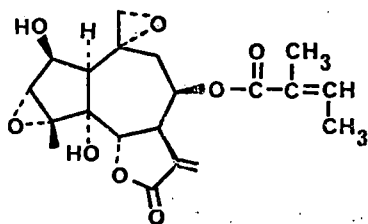
Axivalina [14]



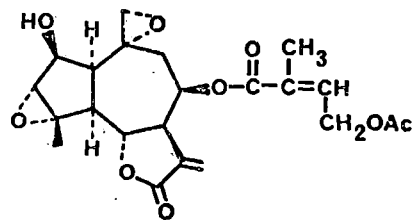
Lactucopicrina [15]



Handelina [16]

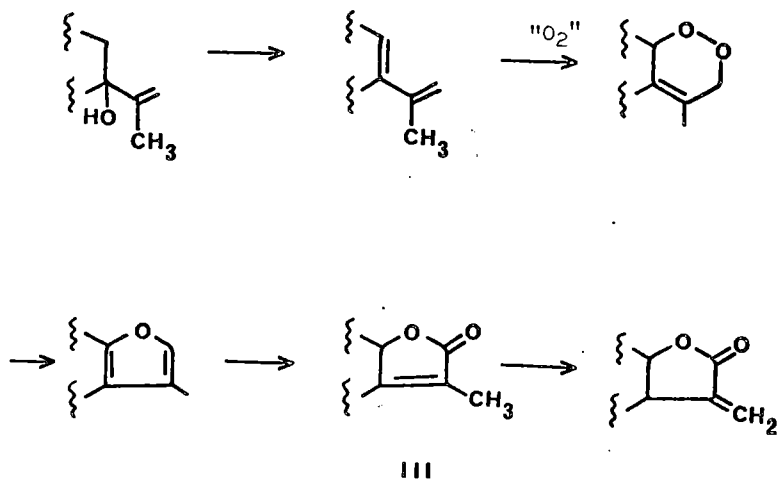


Eupatoroxina [41]



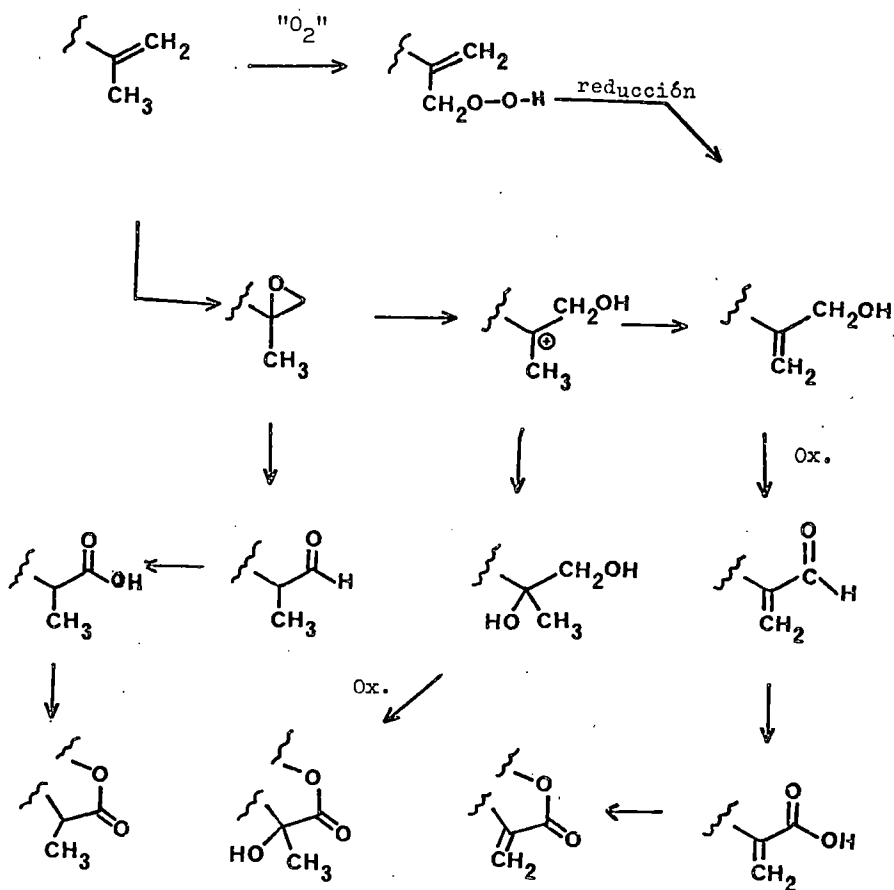
Graminiliatrina [42]

ESQUEMA I



Una vía alternativa [18] , [22] implica la oxidación de la cadena isoprenílica lateral de los sesquiterpenos, seguida de la introducción de oxígeno en C-6 ó C-8 (probablemente después de la ciclación a germacradieno) y lactonización posterior. (Esquema II). Esta se cu encia parece más consistente ya que los epóxidos, alcoholes, aldehidos y ácidos, a veces, ya oxidados en las posiciones requeridas, se hallan ampliamente distribuídos en la Naturaleza y además han sido aislados conjuntamente en plantas que elaboran lactonas sesquiterpénicas.

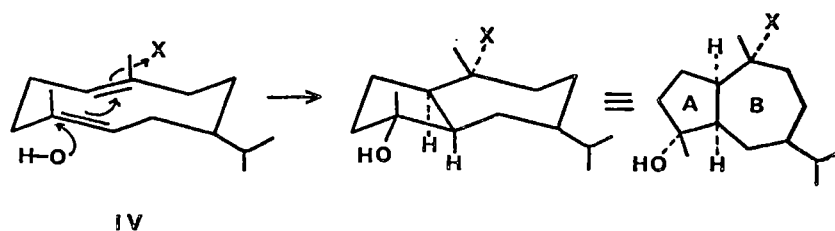
ESQUEMA II



Este esquema podría modificarse fácilmente para justificar la biogénesis de los sesquiterpenos que poseen anillos furánico y de las endo γ -lactonas α, β , no saturadas (tipo III), presentes habitualmente en las Lauráceae y Senecionae, pero es más probable que la biosíntesis de estas sustancias ocurra de forma independiente, [9]...

Hendrickson [23] postuló mucho antes de que la estereoquímica de las guayanolidas fuera conocida, que el anillo hidroazulénico procede de la ciclación contraria a la regla de Markownicoff del trans-trans-germacradieno (IV) en su conformación de silla. Como se indica en el esquema (III) la ciclación conduce a una unión cis de los anillos A y B (C-1, α); con pocas excepciones esta estereoquímica es la que presentan la mayoría de las guayanolidas naturales aisladas hasta ahora.

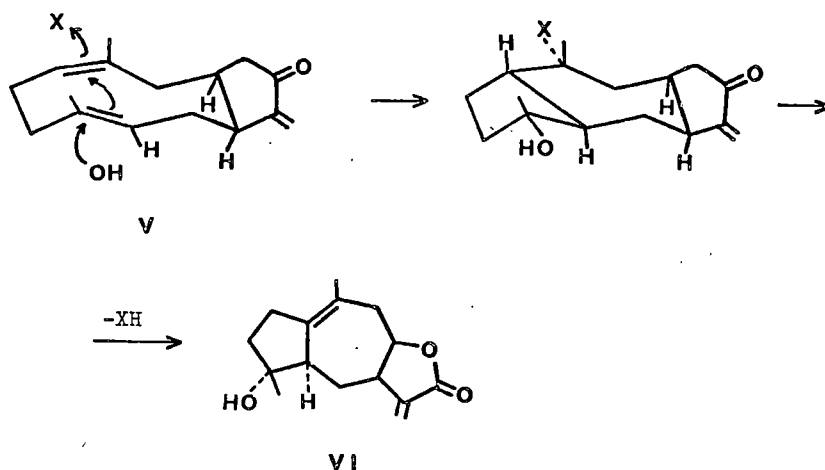
ESQUEMA III



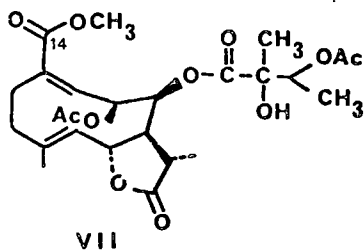
Sin embargo, cada vez son más frecuentes las referencias en la bibliografía de lactonas de este tipo que poseen la unión A/B trans [24], [25], [26], [27]. Para explicar su biogénesis se han sugerido varias secuencias; así, Parker, Roberts y Ramage [20] consideran como intermedio de la pseudoivalina (VI) al 4,5 (trans)-germacradieno (V), cuyo esqueleto básico se corresponde con el de las melampolidas [28] (Esquema IV). La Gaillardina (X) [29] y la flórilenalina (XI) [30] podrían considerarse derivadas del mismo intermedio tipo melampolida

por eliminaciones alternativas de XH, y posterior oxidación enzimática de (VI) en el anillo pentagonal. Tampoco puede descartarse una oxidación previa a la ciclación.

ESQUEMA IV

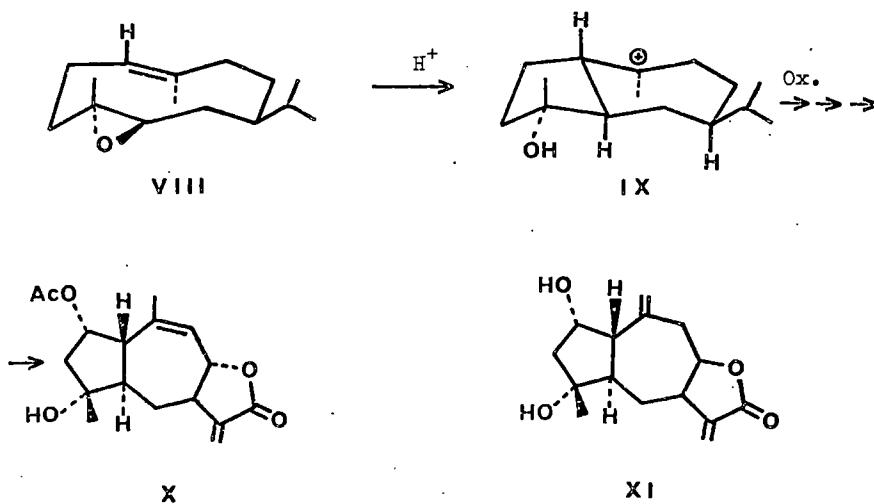


Sin embargo, parece poco probable que las melampolidas naturales conocidas hasta ahora sean los precursores de las trans(A/B) guayanolidas, puesto que todas presentan un grupo carbonilo en C-14 (ejemplo: la melampolidina, VII) que desactivaría el doble enlace frente a la ciclación. Podría, no obstante, argüirse en favor de la secuencia indicada en el esquema (IV) que no ha sido posible aislar melampolidas con el doble enlace C_1-C_{10} sin desactivar porque son intermedios transitorios que se convierten rápidamente en trans (A/B) guayanolidas [9].



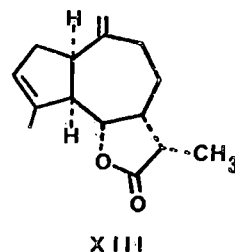
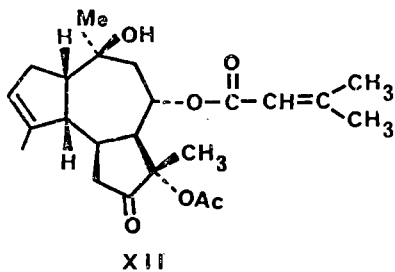
Otra alternativa para la biogénesis de las trans (A/B) guayanolidas es la propuesta por Fischer [31], [32]; el precursor, en este caso, es el 4,5 epoxigermacrano (VIII), en conformación anti, el cual puede ciclarse de acuerdo con la regla de Markownikoff para dar el esqueleto per-hidroazulénico con la unión de los anillos en trans (Esquema V)

ESQUEMA V



La evolución posterior del ión carbenio (IX) y las consiguientes oxidaciones enzimáticas conducirán a sustancias como la gaillardina (X) ó la florifenalina (XI).

A medida que aparecen nuevas guayanolidas se pone de manifiesto que la estereoquímica del esqueleto hidroazulénico no difiere esencialmente de los tipos cuya biogénesis se ha comentado hasta ahora. Hay que destacar, sin embargo, dos excepciones importantes: la unión A/B cis (H, β) como en el caso del montanolido (XII) [33] y la unión cis del anillo lactónico (H-7, β) en la grilactona (XIII) [34]



Por otra parte, se observa cada vez más una mayor diversidad en la posición y estereoquímica de los distintos grupos funcionales que habitualmente se encuentran en las guayanolidas.

II.2. Quimiotaxonomía

Las lactonas sesquiterpénicas son metabolitos secundarios que se encuentran principalmente en la familia de las Compuestas dentro de la que caracterizan a algunos subgrupos, tribus e incluso a especies [1], [3]. El estudio de la distribución de las lactonas sesquiterpénicas en dicha Familia ha puesto de manifiesto la importancia de este grupo de productos naturales en la resolución de problemas taxonómicos [35], [36], [21], [37].

Si se observa la distribución de los tipos más representativos de lactonas sesquiterpénicas en la Naturaleza (TABLA I), se pone de manifiesto que las germacranolidas y las eudesmanolidas son las que se encuentran más ampliamente distribuidas, en cambio, las guayanolidas y los esqueletos biogenéticamente relacionados (pseudoguanolidas y xantanolidas) son producidas exclusivamente por las Compuestas y Umbelíferas [38]

TABLA I

	HEPATICAE	ARISTOLO- CHIACEAE	LABIATAE	MAGNOLI- ACEAE	LAURACEAE	MORACEAE	BURSERACEAE	UMBELI- FERAE.	COMPOSITAE
Germacranolidas	X	X	X	X	X			X	X
Eudesmanolidas	X			X	X	X	X	X	X
Guayanolidas								X	X
Elemanolidas				X	X			X	X
Eremofilanolidas	X							X	X
Xantanolidas									X
Seudoguayanolidas								X	X

En cuanto a su distribución por tribus dentro de la Familia de las Compuestas, las guayanolidas son las que aparecen en mayor número de tribus siendo las Anthemideae, Cynareae y Cichorieae las que presentan mayor proporción de guayanolidas frente a los otros esqueletos de lactonas sesquiterpénicas [38] .

La regularidad estructural que presentan las guayanolidas en algunas de las tribus las hace particularmente valiosas en estudios que utilizan estos caracteres fitoquímicos en la resolución de problemas taxonómicos [39], [40].

Las guayanolidas que se han aislado de la tribu Eupatoriae se caracterizan por estar altamente funcionalizadas (grupos hidroxilo, epóxido (eupatorina [41] y graminiliatrina [42] , algunas de ellas, como la eupaclorina presentan además, átomos de cloro. Esta característica es poco común puesto que sólo en las tribus Eupatoriae y Cynareae [11] [12] han sido aisladas guayanolidas cloradas.

Dentro de la tribu Anthemideae, el género Artemisia es uno de los que posee un mayor número de especies y se halla más ampliamente distribuido. Las lactonas sesquiterpénicas aisladas de las especies de este género han sido utilizadas para resolver problemas filogenéticos a nivel de los cuatro subgéneros (Abrotanum, Absinthium, Dracunculus y Seriphidium) en los que las Artemisias se hallan divididas [43] , [44]. Así, los dos subgéneros Abrotanum y Absinthium pueden refundirse en uno solo (Artemisia), ya que ambos elaboran guayanolidas y eudesmanolidas

con el mismo esqueleto básico y similar funcionalización.

El subgénero *Seriphidium* está constituído por dos grupos geográficos diferentes, uno en el Viejo Continente y otro en el Nuevo (América del Norte); Rydberg [45] agrupó en una nueva sección (*Tridentatae*) a las plantas de este segundo grupo. Las especies que crecen en el Viejo Continente producen casi exclusivamente eudesmanolidas, mientras que las de la sección *Tridentatae* del Nuevo Continente elaboran eudesmanolidas y guayanolidas; estas últimas presentan análoga funcionalización a las obtenidas a partir de especies americanas del subgénero *Abrotanum*. Todos estos datos fitoquímicos parecen reforzar la hipótesis de que las especies de la sección *Tridentatae* se desarrollan en el continente americano a partir del subgénero *Abrotanum*, más antiguo en vez de proceder del subgénero *Seriphidium* del Viejo Continente.

A pesar de que cada vez es mayor el número de guayanolidas cuyas estructuras está plenamente establecidas, los datos fitoquímicos existentes en la actualidad son todavía insuficientes para que estos metabolitos secundarios puedan ser aplicados en estudios taxonómicos en otras tribus de la familia de las Compuestas.

TABLA II

Guayanolidas cuya estructura ha sido determinada por rayos X

COMPUESTO	REFERENCIA	OBSERVACIONES
Arteglasina A	[46]	
Axivalina	[47]	Monohidrato
Berlandina	[48]	
Carolenalina	[49]	Monoacetato
Carolenalona	[50]	
Clorohyssopifolina A	[51]	
Chrysartemina B	[52]	
Eufoliatrina	[53]	
Eupatorina	[54]	Bromoacetato
Florilenalina	[55]	4-O-Acetil-2-O-p-iodobenzoato
Dihidroflorilenalina	[56]	
Geigerina	[57]	Acetil bromoderivado
Hypochaerina	[58]	Monohidrato
Pseudoivalina	[59]	Bromoacetato

COMPUESTO	REFERENCIA	OBSERVACIONES
Lactucina	[60]	
Solsticialina A	[61]	
Spicatina	[62]	Hidrobromuro
Eregoyazidina	[63]	
Anabsina	[64]	
Grilactona	[65]	
Eregoyazina	[66]	
Hymenograndina	[67]	
Hymenosignina	[67]	
Fluoroguayanolido	[68]	
Mikanokryptina	[69]	

II.3. Métodos físicos

Las técnicas de trabajo en el estudio de los productos naturales, basadas fundamentalmente en procedimientos degradativos, han sufrido una profunda transformación, especialmente desde que hace unos treinta años se fué generalizando el uso de los métodos físicos de análisis instrumental, en particular las técnicas espectroscópicas.

Los rayos X siguen siendo, por el momento el método de elección en la determinación de la estructura de un compuesto cristalino (Tabla II). Las técnicas de espectroscopía I.R. y de R.M.N. han avanzado considerablemente y en la actualidad existen en el comercio espectrografos I.R. con transformada de Fourier, en los que la cantidad de sustancia a analizar es mínima (μ gs); con los aparatos de R.M.N. de 360 y 500 MHz, de gran resolución, pueden realizarse espectros de primer orden de muestras con estructura complicada. Los espectros de RMN de otros núcleos como ^{13}C , ^{19}F , ^{31}P , D y T son también una herramienta de trabajo valiosísima en la determinación de ciertas estructuras.

Para poner de manifiesto la importancia de los métodos físicos en la determinación estructural de las guayanolidas, resumiremos a continuación las contribuciones más sobresalientes a la resolución de este tipo de problemas en dicho grupo de lactonas sesquiterpénicas.

Dispersión óptica rotatoria y dicroísmo circular.-

La D.O.R. y el D.C. se han convertido en técnicas eficaces en la determinación de la estereoquímica en productos

naturales [70] . El cromoforo γ -lactona ha sido estudiado por diversos investigadores [71], [72], [73], [74], T.G. Waddell, W. Stocklin y T.A. Geissman [75], [76] aplicaron los datos de D.C. y D.O.R. para la determinación de la estereoquímica del anillo lactónico en varias α -metileno- γ -lactonas sesquiterpénicas. Estos investigadores pusieron de manifiesto una correlación entre el signo del efecto Cotton y la posición de cierre, así como la estereoquímica de la γ -lactona (Tabla III).

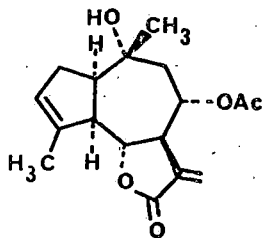
TABLA III

POSICIÓN DE CIERRE LACTONICO	γ -LACTONA CIS	γ -LACTONA TRANS
C-6	+	-
C-8	-	+

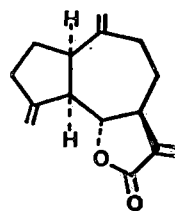
Esta correlación es independiente del tipo de esqueleto de la lactona sesquiterpénica en estudio; aunque determinadas características estructurales pueden producir curvas que están en contradicción con esta regla; por ejemplo, la presencia de grupos hidroxilo cercanos al cromóforo o la flexibilidad del sistema ciclodecadieno en algunas germacranolidas [37] .

Las guayanolidas que aparecen en el cuadro II presentan curvas de efecto Cotton concordantes con esta generalización:

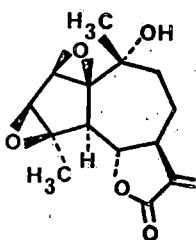
CUADRO II



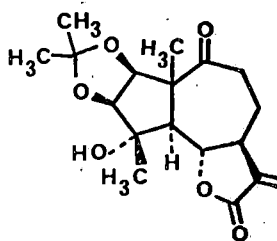
Cumambrina A [77]
E.C. (+)



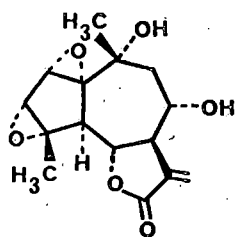
Dehidrocostuslactona [78]
E.C. (-)



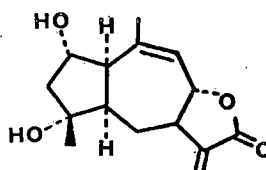
Canina [79]
E.C. (-)



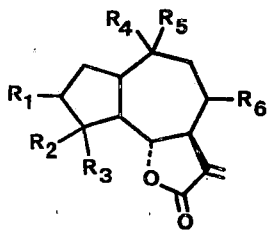
Derivado de Canina [79]
E.C. (-)



Rupina A [80]
Rupina B: C-8-OAc
E.C. (-)



Pleniradina [81]
[82]
E.C. (+)



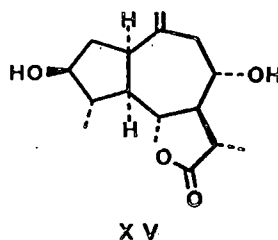
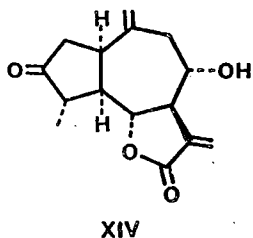
E.C. (-) [83]

R₁ = OH, Cl
R₂ = CH₂Cl, CH₃
R₃ = OH
R₄ = Me.

R₆ = O₂CCMe(OH)CH₂Cl,
OH, O₂CCMe=CH₂, H,
R₂R₃ = OCH₂
R₄R₅ = CH₂

Método de Horeau.- El método de Horeau [84], [85] para la determinación de la configuración absoluta de alcoholes ha sido aplicado con éxito en los productos naturales [86]. Al tratar un compuesto con un carbono quiral (L-C-HOHG), siendo L un sustituyente más voluminoso que G, con el anhídrido del ácido (+)- α -fenilbutírico, se produce una esterificación preferente con uno de los enantiómeros de dicho ácido; por lo tanto, el exceso de ácido sin reaccionar presenta actividad óptica. Horeau ha correlacionado empíricamente el signo de dicha actividad óptica con la configuración absoluta del alcohol de partida.

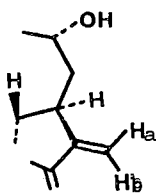
Herz [87] ha utilizado este método para determinar la estereoquímica de varias pseudoguayanolidas hidroxiladas, mientras que González y colaboradores [88] han establecido la estereoquímica en C-3 y C-8 de la grosheimina (XIV) y del acetato de isolippidiol (XV) mediante el mismo procedimiento.



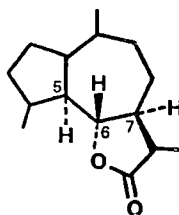
Resonancia magnética nuclear.- Las técnicas de R.M.N. son sin duda alguna las más utilizadas en la determinación estructural de lactonas sesquiterpénicas. Yoshioka, Mabry y Timmer-

mann [37] ,llevaron a cabo una recopilación de unos trescientos espectros de estos compuestos, cuya observación es muy útil a la hora de asignar las absorciones de una nueva substancia. Así, es fácilmente identificable la presencia del agrupamiento α -metilen- γ - lactónico por los dos dobletes ($J=1-4$ Hz) que aparecen en la zona de 5.6 a 5.8 . El desdoblamiento de estas señales se debe al acoplamiento alílicco [89] de los protones H_a y H_b situados sobre C-13 (estructura parcial XVI). También son bastante características la forma y posición del protón situado sobre el átomo de oxígeno que cierra el anillo lactónico en guayanolidas del tipo (XVII); en estos compuestos el H-6 aparece como un triplete en la zona de 4 a 5 δ .

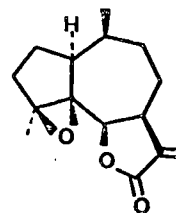
Con frecuencia se asigna la estereoquímica del anillo lactónico teniendo en cuenta la magnitud relativamente elevada de las constantes de acoplamiento entre los protones H_5 , H_6 y H_7 .



XVI



XVII

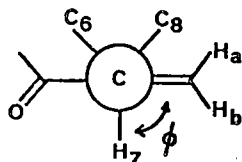


XVIII

Así, las constantes de acoplamiento $J_{5,6} \approx J_{6,7} \approx 9-10$ Hz se relacionan habitualmente con γ -lactonas trans del tipo (XVII). Sin embargo, White [90] indicó que los datos de R.M.N. en estos casos no son del todo seguros, ya que magnitudes similares de J podrían corresponder a otros estereoisómeros; por ejemplo, en una cis-lactona, el ciclo heptagonal puede distorsionar el anillo lactónico hasta hacerle adquirir un ángulo diedro entre H_6 y H_7 próximo a los 0° , al que correspondiera un valor de J próximo a 10 Hz.

Los valores encontrados para las cis lactonas, del tipo del guayano 4,5 epoxiosmitopisa (XVIII) [91] ($J_{6,7}=7\text{Hz}$) y su epímero en C-10 sintetizados por Posner y colaboradores [92] ($J_{6,7}=8\text{Hz}$) sugieren, tal como indica White, que los datos de R.M.N. han de ser manejados con precaución cuando se trate de asignar la estereoquímica de las guayanolidas.

A pesar de la complicación que supone la movilidad conformacional del anillo de cicloheptano, se han llevado a cabo numerosos trabajos que utilizan la R.M.N. de protón para establecer la estereoquímica de diversas guayanolidas [93], [94]. Por otra parte, muchas generalizaciones deducidas para otros tipos de lactonas sesquiterpénicas son extensibles a las guayanolidas. Así, Samek [95] propuso una regla para la determinación de la estereoquímica del anillo α -metileno- γ -lactónico, basada en la relación que existe entre la magnitud de dicho acoplamiento alílico y el ángulo ϕ (fórmula parcial XIX)



XIX

-Las trans-lactonas presentan mayores $J_{13a,7}$ y $J_{13b,7}$ que las cis-lactonas

- Se cumple la desigualdad: $J_{13a,7} \gg 3\text{Hz} \gg J_{13b,7}$

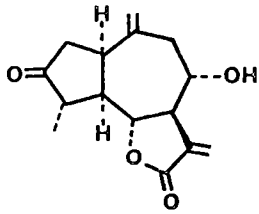
Se ha comprobado la validez de estas reglas en un número elevado de guayanolidas, pseudoguayanolidas, germacranolidas y melampolidas, aún cuando las heliangolidas [28] constituyen una excepción al presentar valores de J no superiores a 2.5Hz [96]. La existencia de acoplamiento geminal de los protones en C-13 ($J=0.7-2\text{Hz}$) junto con el desplazamiento paramagnético del protón H-13 a, por debajo de 6. δ son indicativos de la presencia de un hidroxilo α en C-8 [97], [37]. (estructura parcial XVI); ambos fenómenos se interpretan en base a efectos de proximidad de Van der Waals entre el grupo hidroxilo y los orbitales de enlace del protón H_{13a} . La validez de estos criterios se ha puesto de manifiesto al ser aplicados con éxito en varias guayanolidas. (Tabla IV)

TABLA IV

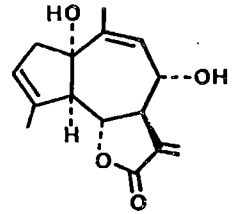
COMPUESTO(CUADRO III)	H_{13a}	H_{13b}	$J_{13a,b}$	Disolvente
grossheimina (XX)	6.2	6.5	multiple te	CDCl_3
Rupicolina A (XXI)	6,44(3,3),	6,55(3)	1.7	piridina- d_5
Rupicolina B (XXII)	6,41(3.3),	6,55(3)	1.8	" "
lactucina (XXIII)	6.05(2.8),	6.18(2.8)	1.2	DMSO- d_6
ligustrina (XXIV)	5.63(3.5),	6.38(3.5)	-	CDCl_3
dehidrocostuslactona (XXV)	5.53(3.5),	6.22(3.5)	-	CDCl_3

La resonancia magnética nuclear de carbono trece ha sido relativamente poco utilizada en el estudio de las guanolidas. Sin embargo, cada vez son más frecuentes los trabajos que utilizan datos de ^{13}C MR en la determinación estructural, asignaciones estereoquímica y estudios conformacionales [98] [99] [100] [101] [102]

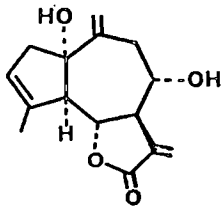
CUADRO III



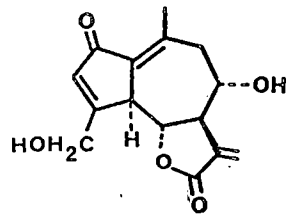
XX



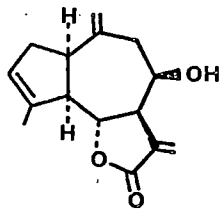
XXI



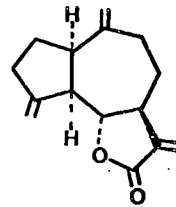
XXII



XXIII



XXIV



XXV

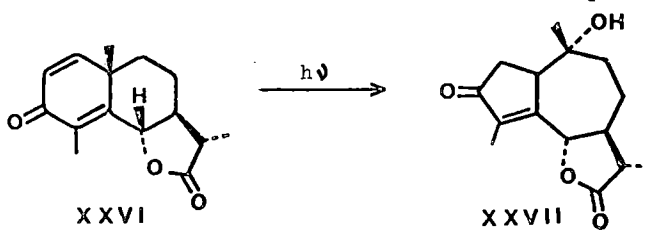
II.4 Síntesis de guayanolidas

En los últimos años se ha desarrollado una intensa actividad encaminada a la síntesis de sesquiterpenos. Gran parte de este esfuerzo se ha empleado en la preparación de sesquiterpenos decalínicos, área en la que se han abordado con éxito la síntesis de numerosas sustancias. A este éxito ha contribuido la eficacia contrastada de varios métodos de preparación del anillo decalínico (anelación de Robinson, reacciones de cicloadición, reducción de naftalenos, etc.)

Por el contrario, el número de sesquiterpenos del tipo del guayano que han sido obtenidos por síntesis es comparativamente mucho más reducido. La razón de esta diferencia hay que buscarla en el mayor conocimiento que se posee sobre los aspectos cinéticos, termodinámicos y conformacionales del sistema decalínico, que permite diseñar con relativa garantía la síntesis estereoselectiva de este tipo de compuestos.

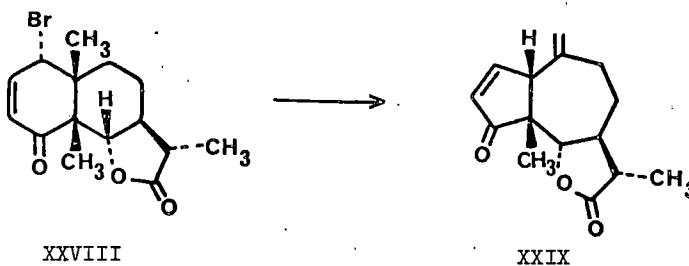
Debido al escaso desarrollo de los aspectos anteriormente citados en los compuestos hidroazulénicos, su síntesis y, consecuentemente la de las guayanolidas, está restringida a unos pocos métodos, basados fundamentalmente en un reagrupamiento estereoselectivo del esqueleto decalínico [103].

El reagrupamiento fotoquímico de la α -santonina (XXVI) [104] y de sus derivados ha sido una reacción ampliamente utilizada en la síntesis de guayanolidas

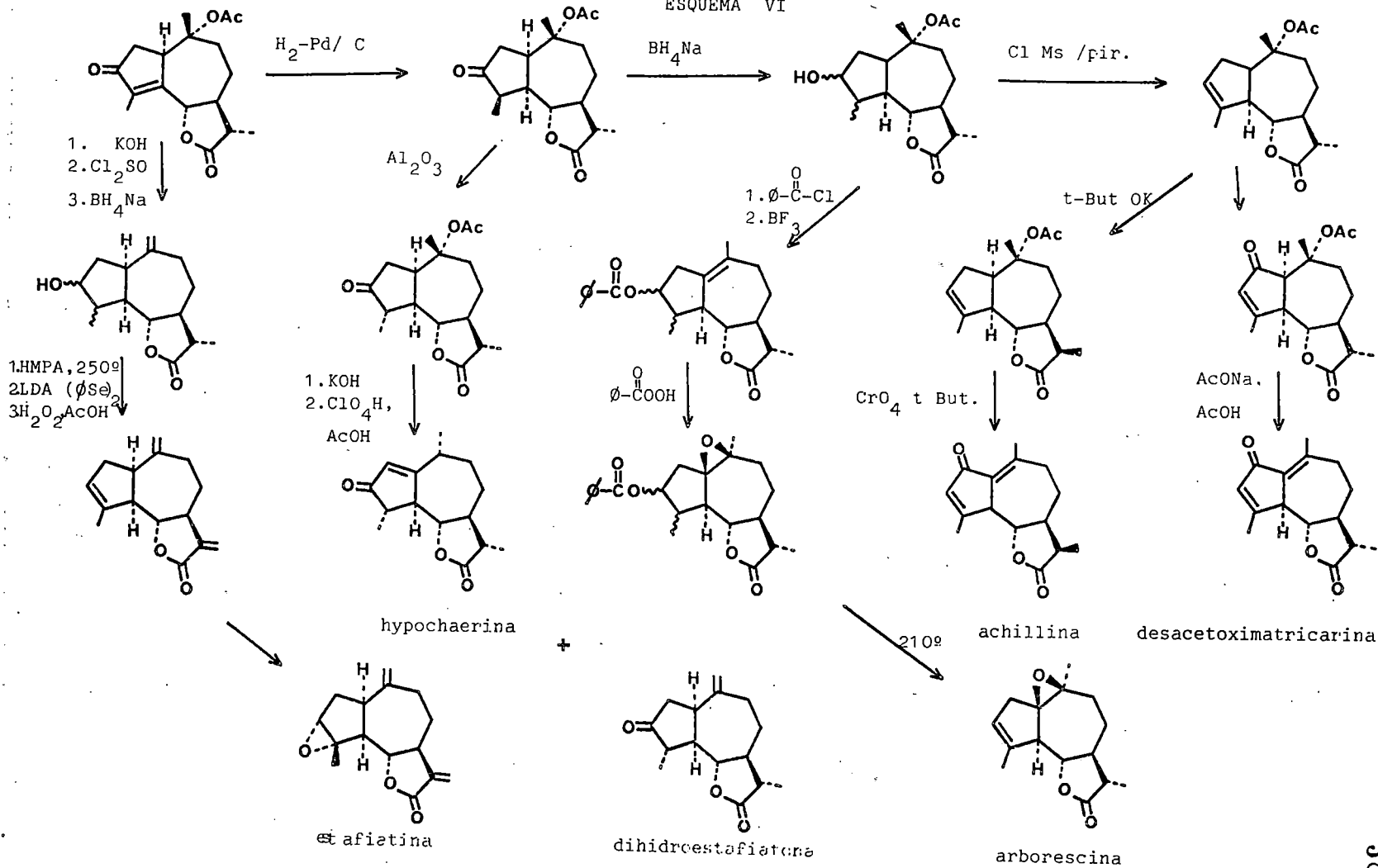


Como ejemplos de esquemas sintéticos que utilizan a la lactona isofotosantónica (XXVII) como intermediario clave en la preparación de guayanolidas, tenemos la síntesis de la desacetoximatricarina [90] achillina [105], [106], arborescina [107], estafiatina [108], hipochaerina y dihidroestafiatona [109] (Esquema VI)

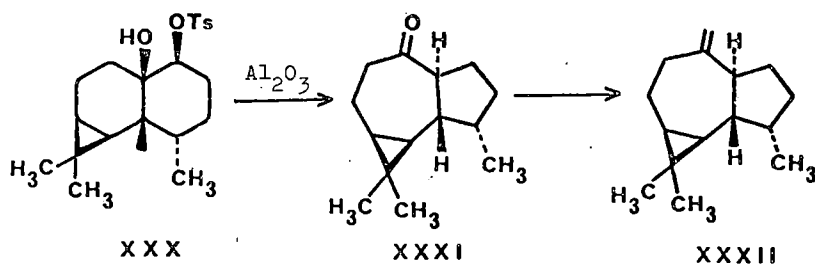
El esqueleto hidro azulénico en lactonas sesquiterpénicas ha sido preparado también mediante otro tipo de reagrupamiento del esqueleto decalínico. Así, Hendrickson [110] ha descrito la preparación de la pseudoguayanolida (XXIX), mediante la solvolisis del bromuro (XXVIII), obtenido a partir de α -santonina:



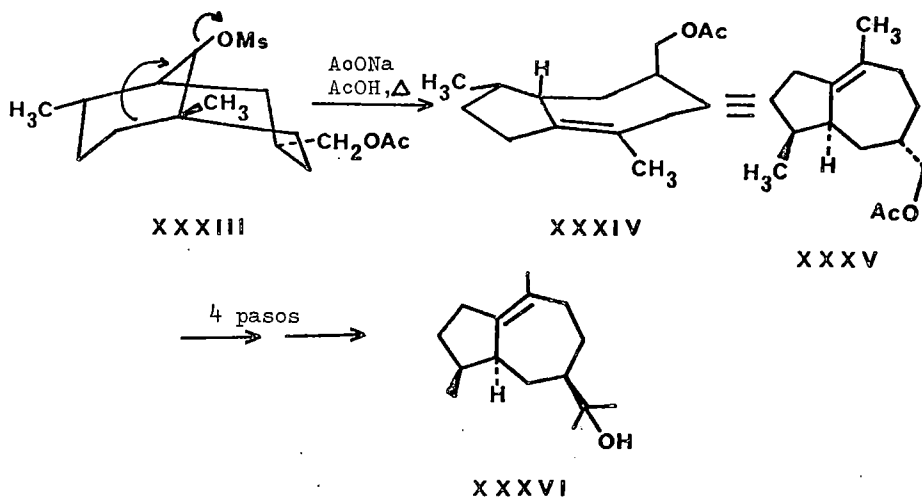
ESQUEMA VI



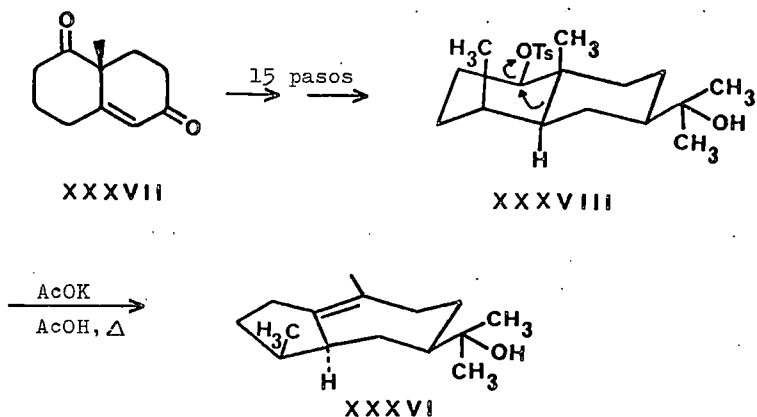
Buchi [111] ha preparado el aromadendreno (XXXII), mediante la transposición pinacolínica del hidroxitosilato (XXX):



En la síntesis del bulnesol (XXXVI) realizada por Marshall y colaboradores [112], el paso clave consiste en la solvolisis de un intermediario tipo [4.3.1] decano (XXXIII):

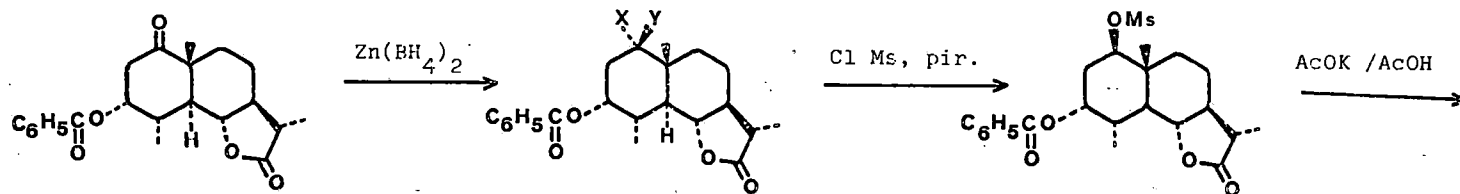
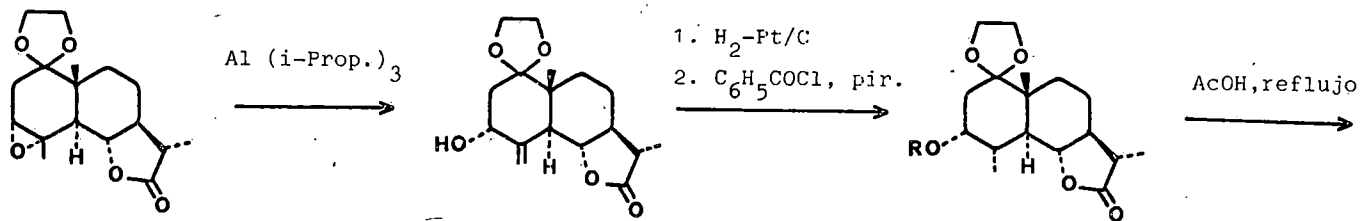


En otra síntesis del bulnesol llevada a cabo por Heathcock y Ratcliffe [113], el tosilato (XXXVIII) obtenido a partir de la cetona de Whieland-Mirsher (XXXVII) es sometido a solvolisis en ácido acético, para dar de manera estereoespecífica en compuesto que posee esqueleto azulénico



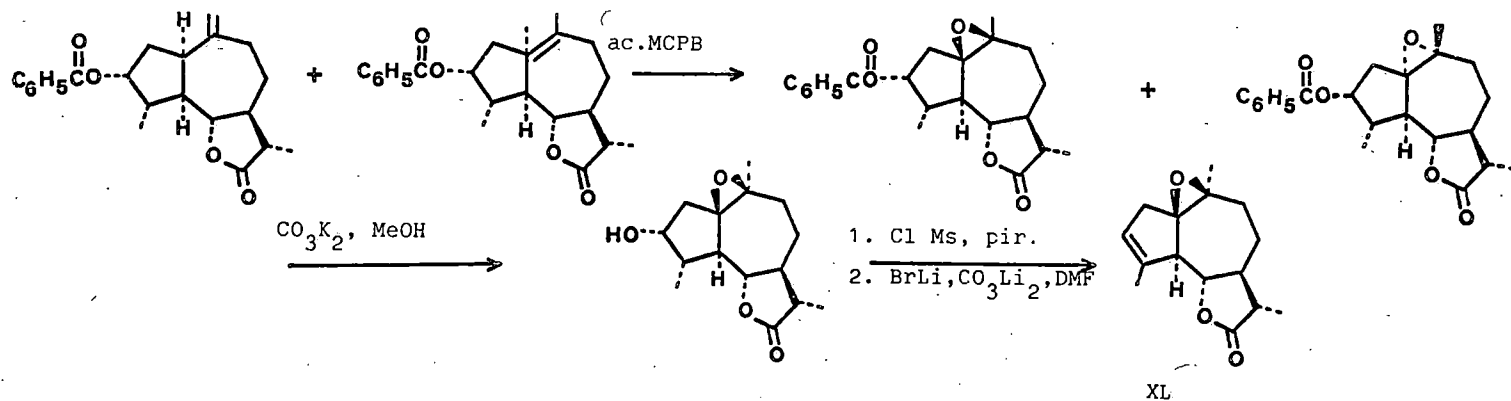
La arborescina (XL) es una lactona sesquiterpénica guayanolida cuya síntesis fué realizada por Ando y colaboradores [114]. El producto de partida es un compuesto decalínico ya funcionalizado con el anillo γ -lactónico: el eudesmanolido (XXXIX) obtenido a partir de la α -santonina. (Esquema VII)

ESQUEMA VII



X = OH ; Y = H

X = H ; Y = OH

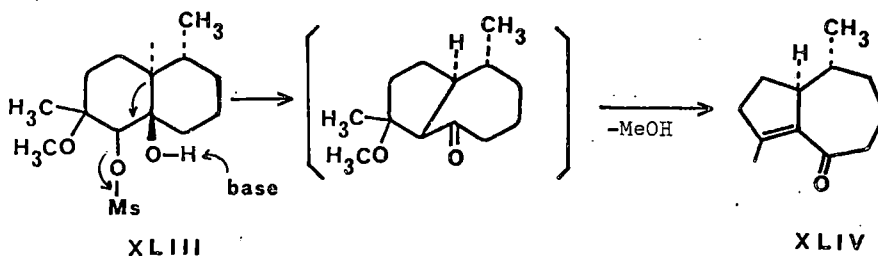


XL

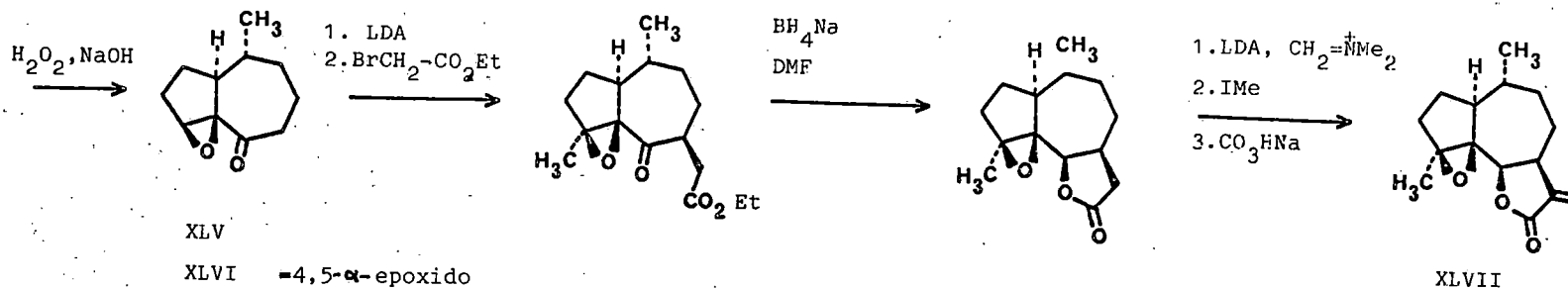
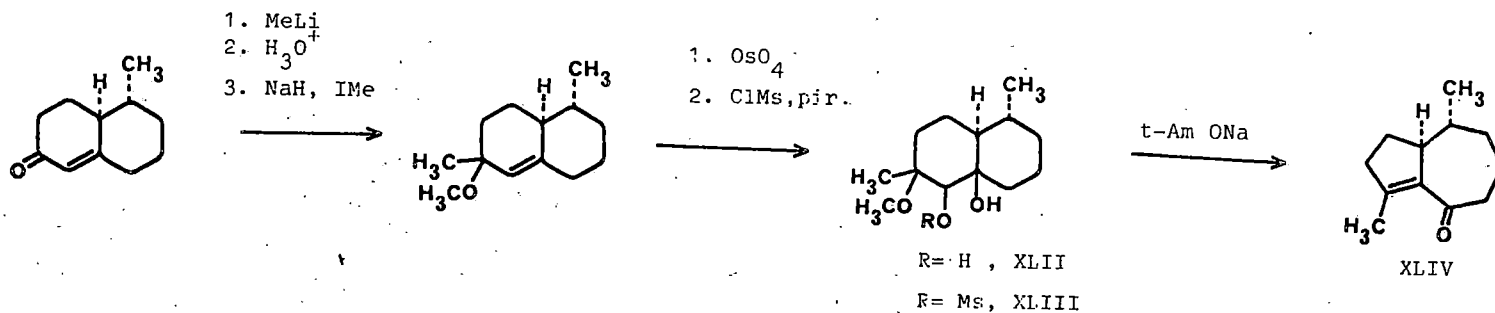
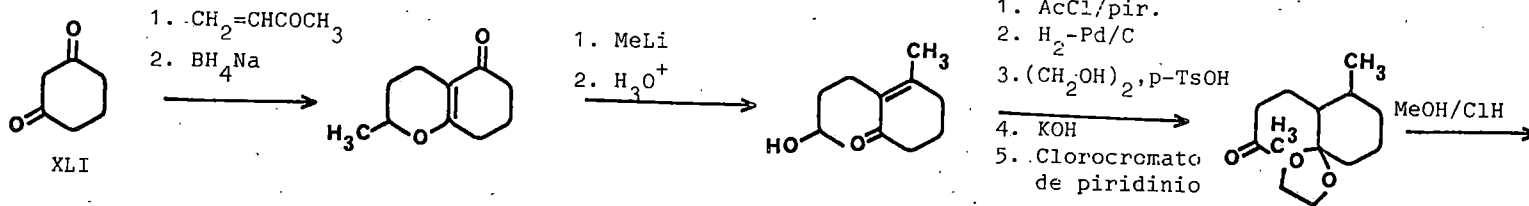
Gary H. Posner y colaboradores [92] han descrito recientemente la primera síntesis total de una lactona sesquiterpénica del tipo del guayano: la 11-epi-4,5-epoxiosmitopsina (XLVII). Se trata de una lactona no natural, epimérica en C-10 de la 4,5-epoxiasmitopsina aislada por Bohlmann [115] del *Osmitopsis asteriscoides* L.

Esta guayanolida fué preparada en diecinueve pasos con un rendimiento del 7.9%, a partir de la 1,3-ciclohexanodiona (XLI), (Esquema VIII). Dos de los centros quirales fueron introducidos estereoselectivamente mientras que la introducción de los otros cuatro se realizó conservando un elevado control estérico.

La formación del anillo hidroazulénico se basa también en el reagrupamiento de compuestos decalínicos; el tratamiento con ter-amilóxido de sodio en benceno de la mezcla de monomesilatos (XLIII), condujo a la formación de la hidroazulenona (XLIV). Parece probable que en el reagrupamiento decalina hidroazulenona produzca intermedios β -metoxicetónicos que pierden rápidamente metanol para dar el compuesto hidroazulénico:

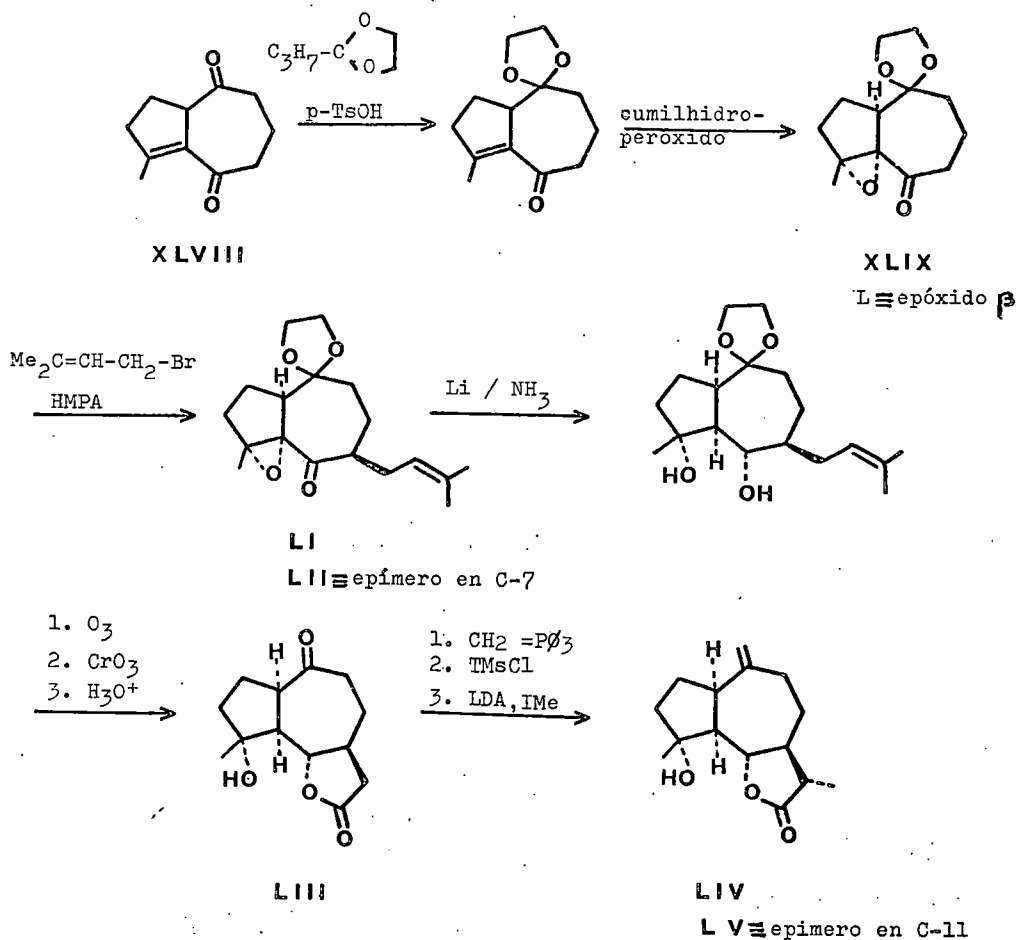


ESQUEMA VIII



El acceso al esqueleto de las guayanolidas implica, como hemos visto, el reagrupamiento de compuestos decalínicos; la síntesis del compresanolido (LIV), en cambio, es el primer ejemplo de aproximación sintética general a los guayanolidas [116], que utiliza una estrategia diferente, basada en la rápida preparación del intermedio hidroazulénico (LIII) (Esquema IX). La dicetona de partida (XLVIII) es asequible fácilmente a partir de la 2-ciclopentenona [117].

ESQUEMA IX



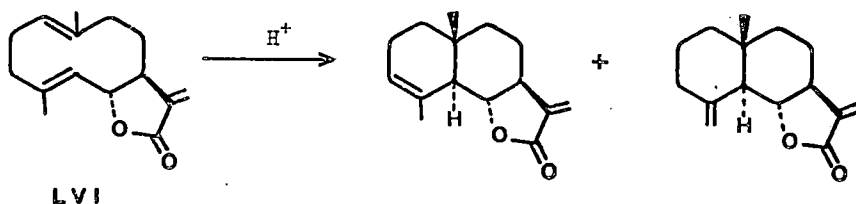
II.5 Ciclaciones a guayanolidas

Además de los compuestos decalínicos (secc.II.4), las sustancias que poseen esqueleto de germacrano son también excelentes precursores de los hidroazulenoides.

Los sesquiterpenos que poseen el esqueleto de 1,5 dimetil-8-isopropil-ciclododecano (germacranos) y las correspondientes γ -lactonas (germacranolidas) constituyen una clase muy numerosa de productos naturales cuya funcionalización más común la constituyen el sistema 1,5-dieno, los grupos epóxido, alcohólico y éster.

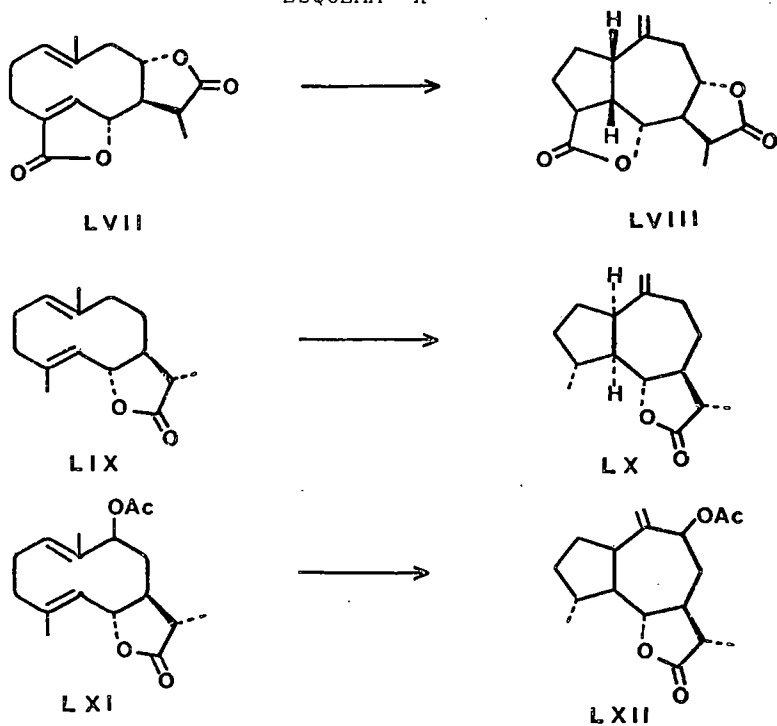
Las germacranolidas que poseen la adecuada funcionalización pueden sufrir una ciclación transanular que procede con un alto grado de estereoespecificidad para dar trans-eudesmanolidas como productos mayoritarios. Sutherland [118] ha puesto de manifiesto que estas reacciones transcurren vía "conformaciones reactivas" en las que los dobles enlaces se encuentran cruzados.

La ciclación por adición antiparalela a los dos dobles enlaces del anillo de 1,5-ciclododecadieno según la regla de Markownikoff conducirá a eudesmanolidas, mientras que la formación de guayanolidas debe implicar una adición anti Markownikoff a un doble enlace. No es sorprendente, por tanto, que en sustancias como el costunolido (LVI) [119] y su 11,13 dihidroderivado [120] solamente se produzcan eudesmanolidas por ciclación electrofílica.



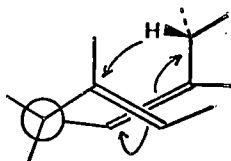
Sin embargo, si se emplean condiciones que puedan alterar los efectos electrónicos y conformacionales que controlan la química del estado fundamental de los 1,5 dienos, la ciclación puede conducir a guayanolidas, este es el caso de la fotólisis de la dihidro isabelina (LVII) [121] del dihidrocostunolido (LIX) [122] y del herbolido A (LXI) [123] que conduce respectivamente a la fotoisabelina (LVIII), fotunolido (LX) y fotoherbolido A (LXII). (Esquema X).

ESQUEMA X

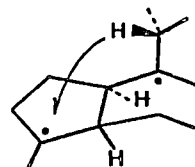


Las ciclaciones fotoquímicas de este tipo implican probablemente una migración intramolecular de hidrógeno, que puede efectuarse de una manera concertada (como en A)

ó bien en dos etapas (como en B) a través de un birradical.



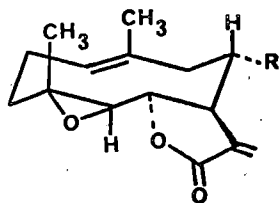
A



B

La transformación en un grupo epóxido de un doble enlace del sistema 1,5-dieno incrementa la reactividad, regioespecificidad y estereoespecificidad de las ciclaciones electrofílicas de los germacranos. Mientras que los 1,10-epoxigermacranolidas originan eudesmanolidas [124], [125], las 4,5-epoxigermacranolidas se ciclan a esqueletos del tipo del guayano. Por ejemplo, el parthenolido (LXVIII) [126], el 11,13-dehidro-larruginolido (LXIX) [127] y sus respectivos 11,13-dihidroderivado [128], [129] se convierten en guayanolidas por tratamiento ácido (Esquema XI). Sin embargo, Sumu Matsueda [130] ha descrito la obtención del compuesto (LXXI) por hidrogenación del parthenolido con paladio sobre carbon como catalizador. En este caso, el mecanismo de la ciclación debe interpretarse en términos de una eliminación trans concertada a través del intermedio (LXX) en una reacción de catálisis estereoespecífica.

ESQUEMA XI

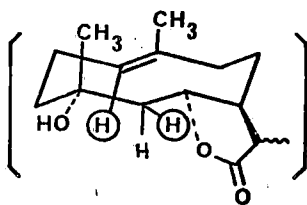


LXVIII R = H

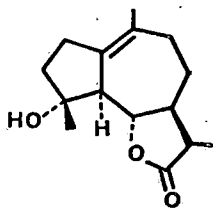
LXIX R = OAc

H₂/ Pd-C

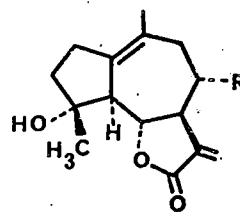
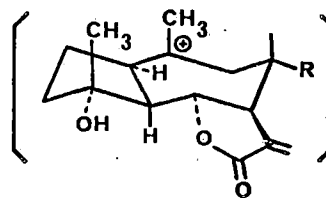
GLH / eter



LXX



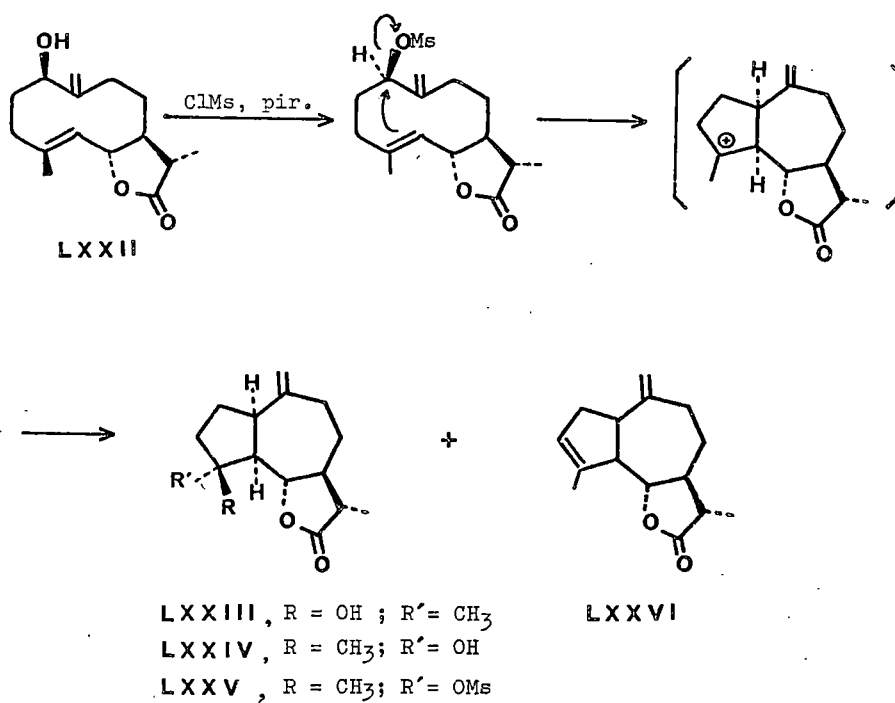
LXXI



Las 1 β -hidroxi-E 4(5), 10(15)-germacradien-6,12-olidas, pueden ciclarse a guayanolidas con la unión de los anillos A/B en cis; Así, la gallicina (LXXII) al ser tratada con cloruro de mesilo en piridina [131] se transforma en los guayanolidas (LXXIII), (LXXIV), (LXXV) y (LXXVI), cuya estereoquímica en la unión A/B es similar a la de la mayoría de los guayanolidas naturales (Esquema XII)

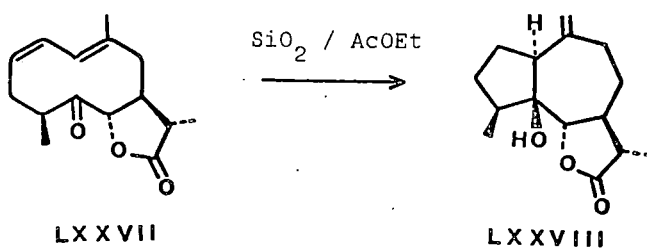
Estas transformaciones han permitido a González y colaboradores [132] proponer un modelo alternativo para la biogénesis de las cis-guayanolidas

ESQUEMA XII



En el esquema XII-A se muestra una ciclación conduce a trans-A/B guayanolidas; la cetona ciclodecadiénica (LXXVII) se convirtió en el compuesto (LXXVIII) al ser tratada con SiO_2 en AcOEt durante una semana a temperatura ambiente [133]

ESQUEMA XII-A



II.6. Transformaciones químicas en guayanolidas

La mayoría de las transformaciones químicas llevadas a cabo en las guayanolidas han tenido como objetivo, al igual que en el resto de las lactonas sesquiterpénicas, la correlación con compuestos de estructura perfectamente establecida, mediante interconversión química; se han realizado reacciones de reducción, oxidación, epoxidación, etc. que han contribuido a profundizar en el conocimiento del comportamiento químico de estas sustancias.

Dentro de las reacciones químicas en guayanolidas conviene destacar por su carácter general y por su importancia como reacción de diagnóstico, la aromatización. Cuando un compuesto hidroazulénico se calienta en presencia de un catalizador de hidrogenación como platino, paladio, níquel, etc. ó de elementos como azufre o selenio, se produce la deshidrogenación para dar derivados azulénicos. Esta reacción ha permitido diferenciar el esqueleto bicíclico de los sesquiterpenos hidroazulénicos de los sesquiterpenos decalínicos, ya que estos últimos dan derivados naftalénicos por des hidrogenación [134].

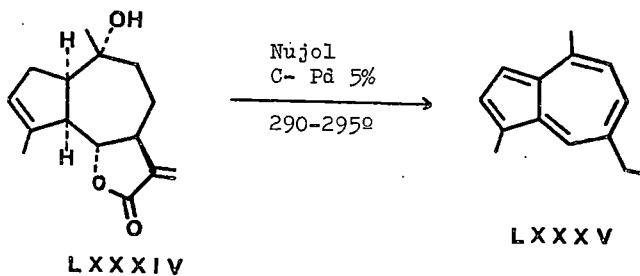
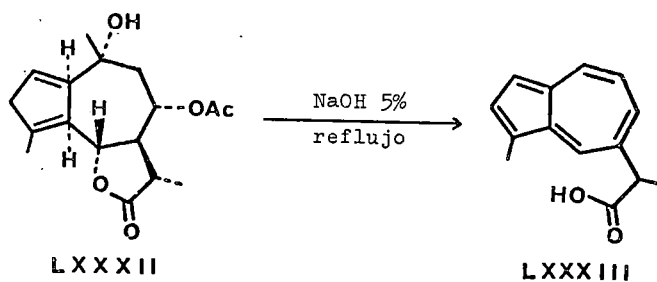
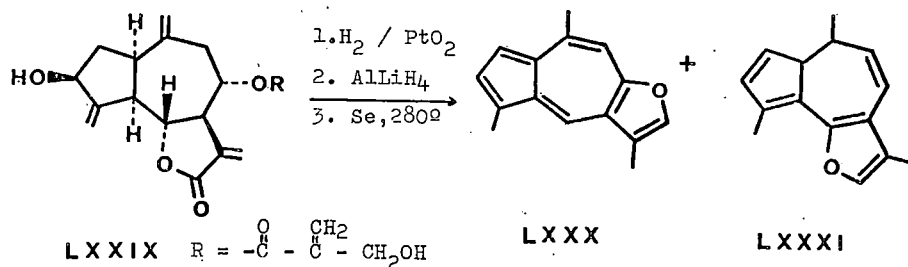
La transformación de la cynaropicrina (LXXXIX) [135] en linderazuleno (LXXX) y artemazuleno (LXXXI), indicó que se trataba de una guayanolida funcionalizada en C-6 y C-8 (Esquema XIII).

En algunas guayanolidas la deshidrogenación puede realizarse en condiciones menos enérgicas debido a que la molécula posee una funcionalización que favorece la formación del compuesto aromático. Este es el caso de la achillicina

(LXXXII) [100], proazulenoide que puede convertirse fácilmente en un derivado carboxílico del chamazuleno (LXXXIII) (Esquema XIII).

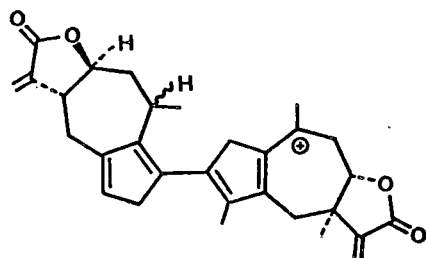
La aromatización con selenio ha sido ampliamente utilizada en la determinación estructural de un número elevado de lactonas sesquiterpénicas, [136], [137], [138]. El chamazuleno (LXXXV) es el hidrocarburo aromático que generalmente se obtiene en la deshidrogenación de las guayanolidas. La caracterización de los productos resultantes de la aromatización de los compuestos hidroazulénicos es relativamente sencilla puesto que estos productos, de intenso color azul, forman aductos cristalinos estables con el ácido pícnico.

ESQUEMA XIII

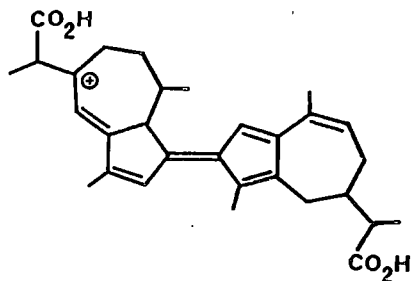


Otro grupo de reacciones que tiene interés general por su contribución a la determinación estructural en guayanolidas, son aquellas que tienen lugar en medio ácido fuerte con desarrollo de colores intensos [139] , [140] .

Geissman y colaboradores concluyen que las guayanolidas y germacranolidas susceptibles de ciclarse a guayanolidas (sección II.5) que poseen tres grupos funcionales tipo hidroxilo, acetoxilo, doble enlace ó γ -lactona cerrada en C-6 ó en C-8 producen en medio ácido un intenso color rojo. La especie responsable del color es el ión (LXXXVI). Cuando el número de tales grupos funcionales presentes en esqueleto de guayanolida es de cuatro, se produce en las mismas condiciones, un color azul intenso. En este caso es el cation (LXXXVII) el que produce la coloración. Puesto que ni las ceto y epoxiguayanolidas, ni otros esqueletos tipo eudesmanolida ó ambrosanolidas producen coloraciones intensas, estas reacciones en medio ácido constituyen un excelente diagnóstico en la determinación de estructuras en guayanolidas



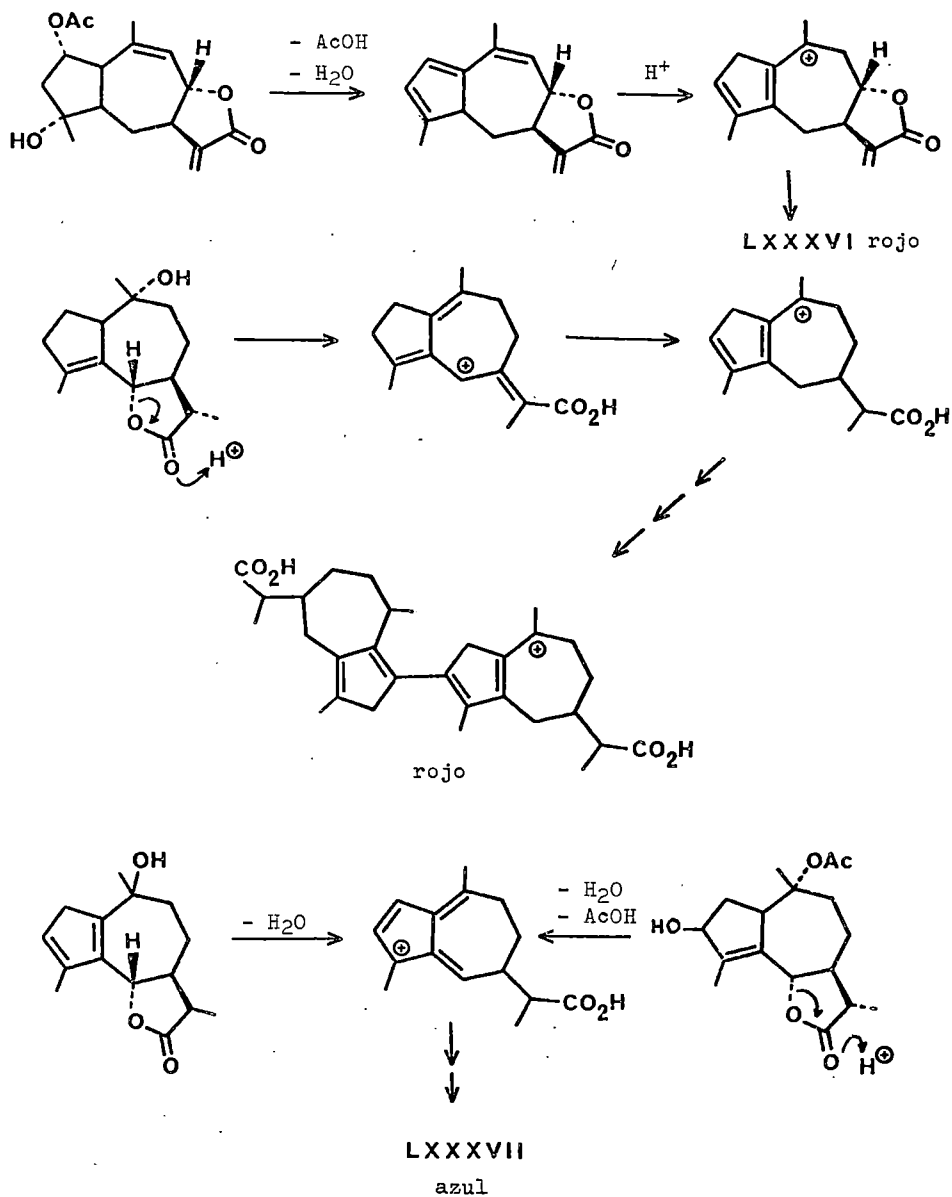
LXXXVI



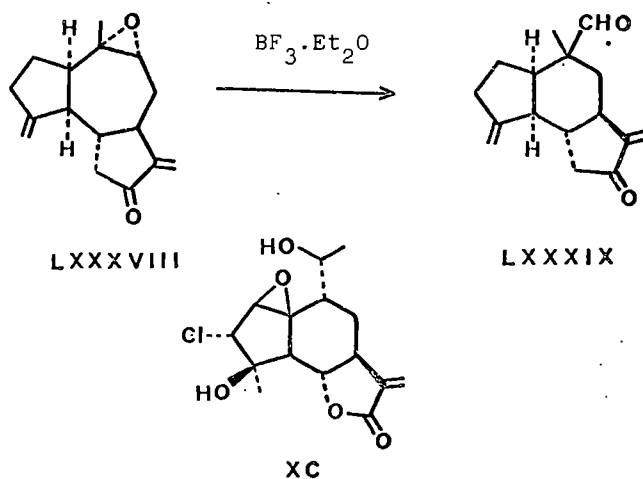
LXXXVII

En el esquema XIV, se muestran algunas guayanolidas que desarrollan colores intensos al ser tratadas con ácido:

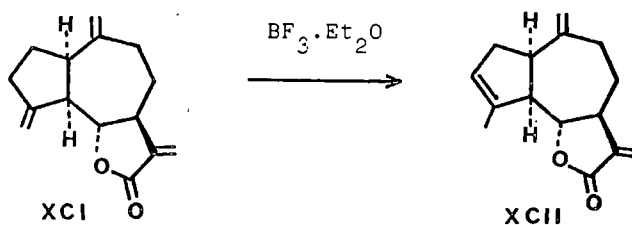
ESQUEMA XIV



La reacción de la 9,10-epoxieremanthina (LXXXVIII) con $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ realizada por A. Rabi y colaboradores [141] es el único caso descrito de contracción del anillo de siete eslabones y conduce al aldehído (LXXXIX) que posee un esqueleto análogo al de la clorochrymorina (XC) [142], lactona sesquiterpénica que muy probablemente procede de una contracción biogenética del anillo de guayanólida



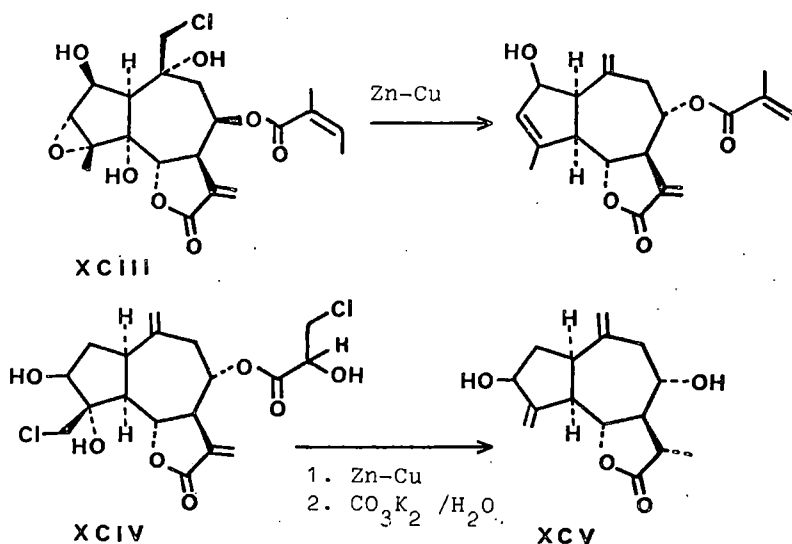
Rabi y colaboradores llevan a cabo en el mismo trabajo la isomerización selectiva del doble enlace exocíclico en C-4 de (XCI) a la posición C-3, C-4, en presencia de otros dos dobles enlaces. Esta reacción ha sido aplicada posteriormente a la síntesis parcial de otras guayanólidas [143]



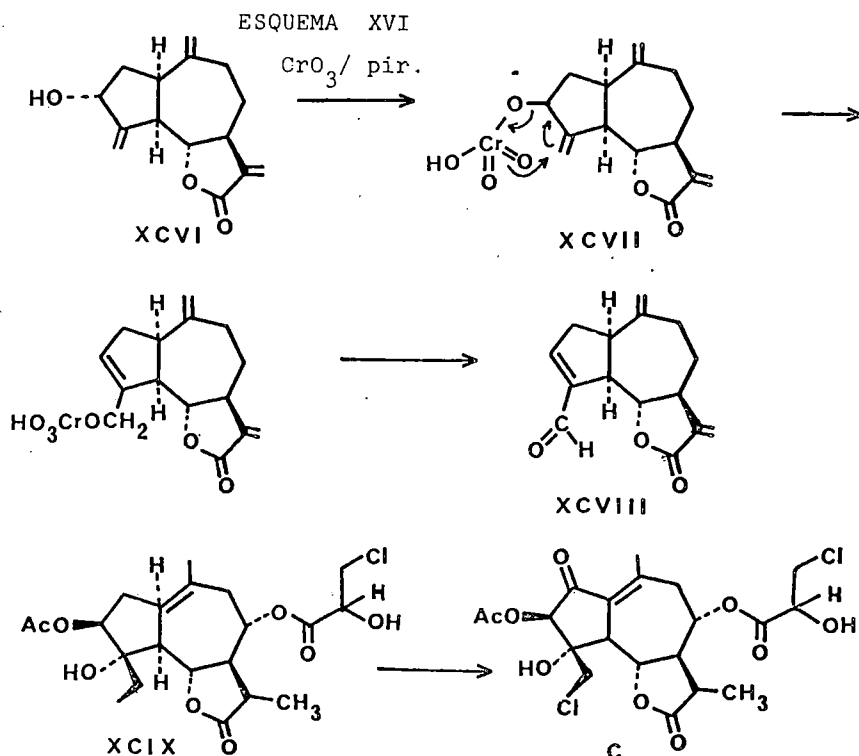
Se han descrito también reacciones menos generales, que al ser aplicadas sobre el esqueleto de guayanolidas han permitido resolver problemas estructurales concretos. Tal es el caso de la eliminación reductiva de epóxidos con el par zinc-cobre [144], reacción que fué realizada por primera vez en una guayanolida, la eupacloroxina (XCIII). Esta reacción permitió a González y colaboradores resolver el problema de la estereoquímica de la clorohyssopifolina A (XCIV) (centauretensina, [145], al correlacionar químicamente dicha lactona con la dihidro desacilcynaropicrina (XCV) [146] (Esquema XV).

La reducción con el par zinc-cobre se ha aplicado también con éxito en la determinación estructural de otras guayanolidas [147], [143]

ESQUEMA XV



En el esquema XVI se muestran dos reacciones de oxidación con el anhídrido crómico sobre el anillo pentagonal del esqueleto de guayanolida, que transcurren de manera poco usual.

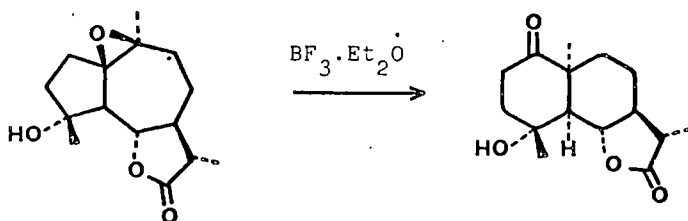


La obtención del aldehído (XCVIII) a partir de la dehidrozaluzanina C (XCVI) se explica a través de un mecanismo cíclico en el cromato (XCVII) [148].

Existen pocos antecedentes de la oxidación suave de metilenos alílicos asistidos por un hidroxilo terciario, como el caso de la guayanolida clorada (XCIX), que se convierte en la cetona α, β insaturada (C) por tratamiento con el

reactivo de Jones [149] .

Por último es interesante resaltar el único caso descrito de conversión de una guayanolida en un compuesto que posee un esqueleto diferente de lactona sesquiterpénica: una cis eudesmanolida [150] .



II. 7 BIBLIOGRAFIA

- 1.- J. M. Amaro, "Distribución de las lactonas sesquiterpénicas en la Naturaleza". Tesis doctoral Univ. de La Laguna 1977.
- 2.- V. Herout y F. Sorm, "Chemotaxonomy of the Sesquiterpenoids of the Compositae", Perspectives in Phytochemistry, J.B. Harborne y T. Swain ed. Academic Press (1969).
- 3.- V. Herout, "Chemotaxonomy of the Family Compositae". Pharmacognosy and Phytochemistry, H. Wagner y L Hörhammer, ed. Wien. Springer (1971)
- 4.- W. Herz, "Biology and Chemistry of the Compositae", V. Heywood, B.L. Turner y J.B. Harborne ed. Academic Press (1978)
- 5.- E. Rodríguez, G.H.N. Towers y J.C. Mitchell; Phytochemistry, 15, 1573 (1976)
- 6.- E. Rodríguez, M.O. Pillon, T.J. Mabry, J.C. Mitchell y G.H.N. Towers; Experientia 32, 236 (1976)
- 7.- E. Rodríguez; Rev. Latinoamer. Quím. 8, 56 (1977)
- 8.- T.A. Geissman y M.A. Irwin; Pure Appl. Chem. 21, 167 (1970)
- 9.- W. Herz; Israel Journal of Chemistry, 16, 32 (1977)
- 10.- N.H. Fischer, E.J. Olivier y H.D. Fischer; "The Biogenesis and Chemistry of Sesquiterpene lactones", Progress in the Chemistry of Organic Natural Products, H. Herz, H. Grisebach y G.W. Kirby, ed. Springer Verlag (1979)

- 11.- S.M. Kupchan, J.E. Kelsey, M. Maruyama, J.M. Cassidy, J.C. Hemingway y R.Knox; J. Org. Chem. 34, 3876 (1969)
- 12.- A.G.González, J. Bermejo Barrera, J.L. Bretón Funes y J. Triana; Tetrahedron Letters 2017 (1972)
- 13.- A.G.González, J. Bermejo Barrera; Anal. Quím. 73, 86 (1977)
- 14.- W. Herz, V. Sudarsawan y J.J. Schmid; J. Org. Chem. 31, 3232 (1966)
- 15.- G. Schenck, H. Graf y W. Schreiber; Arch. Pharm. Deutsch. 277,137 (1939)
- 16.- V.A. Tarasov, N.R. Abdullaev, S.Z. Kasymov, G.P. Sidyakin y M.R. Yagudaev; Khim. Prir. Soedin 6, 745 (1976)
- 17.- G.A. Cordell; Chem. Rev. 76, 425 (1976)
- 18.- T.A. Geissman, "The Biosynthesis of Sesquiterpene Lactones of the Compositae", Recent Advances in Phytochemistry. V.C. Runeckles y T.J. Mabry, ed. Academic Press (1973)
- 19.- W. Herz, "Sesquiterpene lactones in Compositae", Pharmacognosy and Phytochemistry. H. Wagner y L. Hörhammer. Springer-Verlag (1971)
- 20.- W. Parker, J.S. Roberts y R. Ramage; Quart. Rev. 21, 311 (1967)
- 21.- H. Hikino, Y. Hikino y T. Yosioka; Chem. Pharm. Bull., 10, 641 (1962)

- 22.- T.A. Geissman y D.H.G. Crout, "Organic Chemistry of Secondary Plant Metabolism" Freeman y Cooper Co. San Francisco (1969)
- 23.- J. B. Hendrickson; Tetrahedron, 7, 82 (1959)
- 24.- T.A. Dullforee, G.A. Sim. D.N.J. White, J.E. Kelsey y S.M. Kupchan; Tetrahedron Letters, 973 (1969)
- 25.- S. Inayama, T. Kawamata y M. Yanagita; Phytochemistry, 12, 1741(1973)
- 26.- F. Bohlmann, M. Grenz y C. Zdero; Phytochemistry, 16, 285 (1977)
- 27.- F. Bohlmann, L.N. Dutta, W. Dorner, R.M. King y H. Robinson; Phytochemistry, 18, 673(1979)
- 28.- S. F. Watkins, N.H. Fischer y I. Bernal; Proc. Nat. Acad. Sci., 70, 2434 (1973)
- 29.- S. M. Kupchan, J.M. Cassady, J.E. Kelsey, H. Schnoes, D.H. Smith y A.L. Burlingame; J. Amer. Chem. Soc. 88, 5292 (1966)
- 30.- H.K. Lee, T. Ibuka, M. Kozuka, A.T. Mcphail y K.D. Onan; Tetrahedron Letters 2287 (1974)
- 31.- N.H. Fischer; Rev. Latinoamer. Quím., 9, 41 (1978)
- 32.- N.H. Fischer, R.A. Wiley y D.L. Perry; Rev. Latinoamer. Quím., 7, 87 (1976)
- 33.- Z. Samek, T. Vanek, M. Holub; Collect Czech. Commun. 46, 941, (1981)

- 34.- J.F. Malone, M. Parves, A. Karim y M.A. McKervervey; J. Chem. Soc., Perkin' II, 1683 (1980)
- 35.- H. Erdtman, "Chemistry of Natural Products", International Symposium, Praga Butterworths, ed. (1963)
- 36.- R. Hegnauer, "Chemotaxonomie der Pflanzen", vol. III, Birkhäuser Verlag (1964)
- 37.- H. Yoshioka, T.J. Mabry y B.N. Timermann, " Sesquiterpene lactones", Univ. de Tokio, Ed. (1973)
- 38.- Datos tomados de "Distribución de las lactonas sesquiterpénicas en la Naturaleza", Tesis doctoral Univ. de La Laguna (1977), actualizado hasta Diciembre de 1981.
- 39.- A.G.González, J. Bermejo y G.M. Massanet; Rev. Latinoamer. Quím., 8, 176(1977)
- 40.- C. Steelink y J. Spitzer; Phytochemistry, 5, 357(1966)
- 41.- S.M. Kupchan, J.E. Kelsey, M. Maruyama, J.M. Cassady; Tetrahedron Letters, 31, 3517(1968)
- 42.- W. Herz, J. Poplawski, R.P. Sharma; J. Org. Chem., 40, 199 (1975)
- 43.- T.A. Geissman y M.A. Irwin; Pure Appl. Chem., 21,167 (1970)
- 44.- R.G. Kelsey y F. Shafizadeh; Phytochemistry, 18, 1591 (1979)
- 45.- P.A. Rydberg; North Am. Flora, 34, 244 (1916)
- 46.- H.W. Schmalle, K.H. Klaska y O. Jarchow; Acta Crystallogr. B.33,2213(1977)

- 47.- G.D. Anderson, R.S. McEwen y W. Herz; Tetrahedron Letters, 4423 (1972)
- 48.- P.J. Cox, G.A. Sim. y W. Herz; J. Chem. Soc., Perkin II, 459,(1975)
- 49.- A. T. McPhail y K.D. Onam; J. Chem. Soc., Perkin II, 578(1976)
- 50.- A.T. McPhail y K.D. Onan; J. Chem. Soc., Perkin II, 332 (1976)
- 51.- J. López de Lerma; J. Fayós; S. García-Blanco y M. Martínez Ripoll; Acta Crystallogr. B34, 2669(1978)
- 52.- T. Osawa, D. Taylor, A. Suzuki y S. Tamura; Tetrahedron Letters 1169(1977)
- 53.- W. Herz, P.S. Kalyanaraman , G. Ramakrishnan y J.F. Blount; J. Org. Chem., 42, 2264(1977)
- 54.- A. T. McPhail y G.A. Sim; Tetrahedron, 29, 1751 (1973)
- 55.- A.T. McPhail y K.D. Onan; J. Chem. Soc. Perkin II, 492 (1975)
- 56.- M. Kozuka, K.H. Lee, A. T. McPhail y K.D. Onan; Chem. Pharm. Bull, 23, 1895(1975)
- 57.- J. A. Hamilton, A.T. McPhail y G.A. Sim., Proc. Chem. Soc. 278(1960)
- 58.- A. G. González, J.B. Barrera, G.M. Massanet, J. M. Amaro, B. Domínguez y J. Fayos; Cryst, Struct. Commun., 6, 373(1977)
- 59.- G. D. Anderson, R.S. McEwen y W. Herz; Tetrahedron Letters, 4423 (1972)

- 60.- G. Ruban, W. Zabel, K. H. Gensch y H. Smalla; Acta Crystall. B 34, 1163 (1978)
- 61.- W.E. Thiessen y H. Hope; Acta Crystall. B26 554(1976)
- 62.- B. Karlsson, A.M. Pilotti, A.C. Wiehager, I. Wahlberg y W. Herz; Tetrahedron Letters, 2245 (1975)
- 63.- A. Yoshinori, T. Zenei, T. Masao, T. Tsunematsu, W. Herz y S. Toru; J. Org. Chem. 46, 4602(1981)
- 64.- Z. Kamirov, Z. Sh. Kasymov, M.R. Yagudaev y G. Sidyakin; Khim. Prir. Soedin., 5, 731(1979)
- 65.- J. F. Malone, M. Parves, A. Karim, M.A. McKervey, I. Ahmad y M.K. Bhatta; J. Chem. Soc., Perkin II, 11, 1638(1980)
- 66.- W. Herz, N. Kumar, W. Vichnewski y J.F. Blount.; J. Org. Chem. 12, 2503(1980)
- 67.- W. Herz, S.V. Godivan, M.W. Bierner y J.F. Blount; J. Org. Chem. 3, 493(1980)
- 68.- F.R. Fronczek; J. Chem. Soc., Perkin II, 195 (1979)
- 69.- M.J. Bovill, M.H.P. Guy, A.G. Sim., D.N. White y W. Herz; J. Chem. Soc., Perkin II, 53(1979)
- 70.- G. Snatzke; Angew. Chem. 80, 15(1968)
- 71.- W. Kline, P.M. Scopes, R.C. Sheppard y S. Turner; J. Chem. Soc. 1954(1968)
- 72.- A.F. Beecham; Tetrahedron, 28, 5543(1972)
- 73.- F. Burkhardt, W. Meier, A. Fürst y T. Reichstein; Helv. Chim. Acta, 50, 607(1967)
- 74.- M. Suchy, V. Herout, F. Sorm, G. Statzke y J. Himmereich; Coll. Czech. Chem. Commun, 34, 229 (1969)
- 75.- T.G. Waddell, W. Stöcklin y T.A. Geissman; Tetrahedron Letters, 1313 (1969)

- 76.- W. Stöcklin, T.G. Waddell y T.A. Geissman; *Tetrahedron*, 26, 2397(1970)
- 77.- J. Romo, A. Romo de Vivar y E. Díaz; *Tetrahedron*, 24, 5655(1968)
- 78.- V. Sykora y M. Romanuk; *Coll. Czech. Chem. Commun.*, 22, 1909 (1957)
- 79.- K.H. Lee, R.F. Simpson y T.A. Geissman; *Phytochemistry* 8, 1515(1969)
- 80.- M.A. Irwin y T.A. Geissman; *Phytochemistry*, 12, 863 (1973)
- 81.- A. Yoshitake y T. A. Geissman; *Phytochemistry*, 6, 1563 (1967)
- 82.- F. Hamada, T. Ohta y S. Nozoe; *Heterocycles*, 4, 429(1980)
- 83.- G.P. Moiseeva, I.D. Sham'yanov, A. Mallabaev, M. R. Yagudaer, G.P. Sidiyakin; *Khim. Prir. Soedin*, 5, 650, (1979)
- 84.- A. Horeau; *Tetrahedron Letters*, 506 (1961)
- 85.- A. Horeau; *Tetrahedron Letters*, 965(1962)
- 86.- A. Horeau y H.B. Kagan; *Tetrahedron*, 20, 2431(1964)
- 87.- W. Herz y H. B. Kagan; *J. Org. Chem.* 32, 216(1966)
- 88.- A. G. González, B.G. Marrero, J. L. Bretón, *Anal. Quím.*, 66, 799(1970)
- 89.- S. Sternhell; *Rev. Pure and Appl. Chem.* 14, 15(1964)
- 90.- E. H. White, S. Eguchi y J. N. Marx; *Tetrahedron*, 25, 2099(1969)
- 91.- F. Bohlmann y C. Zdero; *Chem. Ber.* 107, 409(1974)
- 92.- G.H. Posner, K. A. Babiak, G. L. Loomis, W. J. Frazee, R.D. Mittal y I.L. Karle; *J. Am. Chem. Soc.*, 102, 7498 (1980)

- 93.- K. Vokác, Z. Samek, V. Herout y V. Sorm; Coll. Czech. Chem. Commun, 37,1186(1972)
- 94.- K. Vokác y Z. samek; Collect. Czech. Chem. Commun., 39, 480 (1974)
- 95.- Z. Samek; Tetrahedron Letters, 671 (1970)
- 96.- Z. Samek; Collect Czech. Chem. Comun., 43, 3210(1978)
- 97.- H. Yoshioka, T. J. Mabry, M. A. Irwin, T. A. Geissman y Z. Samek; Tetrahedron, 27, 3317(1971)
- 98.- N.O.J. Gershenzon, C. Roane y T. J. Mabry; Phytochemistry, 19, 103(1980)
- 99.- W. Herz y N. Kumar; J. Org. Chem., 45, 2503(1980)
- 100.- C. B. Nhu, E. G. Baitz, L. Rachics, J. Tamás, K. Ujszaszy y G. Verzár-Petri; Phytochemistry, 18, 331 (1979)
- 101.- H. O. Bernhard y K. Thiele; Helv. Chim. Acta, 62, 1288 (1979)
- 102.- J. R. da Silva, M. García, P. M. Baker y J. Rabi; Org. Magnetic Resonance, 16, 230(1981)
- 103.- J. ApSimon, "The Total Synthesis of Natural Products", Vol. 2, J. ApSimon, ed. J. Wiley (1973)
- 104.- D. H. R. Bartón, P. de Mayo y M. Shafig; J. Chem. Soc., 929(1957)
- 105.- E. H. White y J. N. Marx; J. Am. Chem. Soc., 89, 5511 (1967)
- 106.- J. N. Marx y E. H. White; Tetrahedron, 2117(1969)
- 107.- M. Suchy, V. Herout y F. Sorm.; Coll. Czech. Chem. Commun., 29, 1829(1964)
- 108.- M. T. Edgar, A. E. Greene y P. Crabbé; J. Org. Chem., 44, 159(1979)

- 109.- A. G. González, J. B. Barrera, G.M. Massanet, J.M. Amaro, B. Domínguez y A. Morales; *Phytochemistry*, 16,1836(1977)
- 110.- J. B. Hendrickson, C. Ganter, D. Dorman y H. Link; *Tetrahedron Letters*, 2235(1968)
- 111.- G. Büchi, W. Hofheinz y J. V. Pankstelis; *J. Am. Chem. Soc.*, 91, 6473(1969)
- 112.- J. A. Marshall y J. J. Patridge; *Tetrahedron*, 25, 2159(1969)
- 113.- C. H. Heathcock y Ratcliffe; *J. Am. Chem. Soc.*, 93, 1746(1971)
- 114.- M. Ando, A. Akhane y K. Takase; *Chem. Letters*, 727 (1978)
- 115.- F. Bohlmann y C. Zdero; *Chem. Ber.*, 107,1409(1974)
- 116.- A. A. Devreese, P.J. De Clercq y M. Vandewalle; *Tetrahedron Letters*, 21, 4767(1980)
- 117.- D. Termont, P.J. De Clercq, D. De Keukeleire y M.Vandewalle; *Synthesis*, 46 (1977)
- 118.- J. K. Sutherland; *Tetrahedron*, 30, 1651(1974)
- 119.- T. C. Jain y J.E. McCloskey; *Tetrahedron Letters*, 2917 (1969)
- 120.- V. Herout y F. Sorm; *Chem. Ind.* 1067(1959)
- 121.- H. Yoshioka, T. J. Mabry y A. Higo; *J. Am. Chem. Soc.*, 92, 923(1970)
- 122.- R.E.K. Winter y R.F. Lindauer; *Tetrahedron*, 32, 955 (1976)
- 123.- S. Blum, R. Segal y S. Sokoloff; *Lloydia*, 41,117(1978)
- 124.- S. Iriuchijima, S. Kuyama, N. Takahashi y S. Tamura; *Agr. Biol. Chem.* 30, 1152(1966)

- 125.- S. Iriuchijima y S. Tamura; *Agr. Biol. Chem.*, 34, 204(1970)
- 126.- M. Ogura, G.A. Cordell y N.R. Farnsworth; *Phytochemistry*, 17, 957(1978)
- 127.- S. K. Talapatra, A. Patra y B. Talapatra; *Phytochemistry*, 12, 1827(1973)
- 128.- T. R. Govindachari, B.S. Joshi y V. N. Kamat; *Tetrahedron*, 21, 1509(1965)
- 129.- S. K. Talapatra, A. Patra y B. Talapatra; *Chem. Commun.*, 1534(1970)
- 130.- S. Matsueda; *Sci. Rep. Hirosaki Univ.* 18, 8(1971)
- 131.- A. G. González, A. Galindo y H. Mansilla; *Tetrahedron*, 36, 2015(1980)
- 132.- A. G. González, A. Galindo, H. Mansilla y A. Gutiérrez; *Rev. Latinoamer. Quím.*, 12, 32(1981)
- 133.- Y. Fujimoto, S. Takeshi y T. Takashi; *Japan, Kokai*, 115, 454(1976)
- 134.- G. Chirdoglu y M. Deschamps; *Ind. Chim. Belge*, 1, 33 (1961)
- 135.- M. Suchy, V. Herout y F. Sorm; *Coll. Czech. Chem. Commun.*, 25,507(1960)
- 136.- J. Romo, R. de Vivar y P. J. Nathan; *Tetrahedron*, 23, 29(1967)
- 137.- F. Sanchez-Viesca y J. Romo; *Tetrahedron*, 19, 1285 (1963)
- 138.- A. G. González, J. B. Barrera, G.M. Massanet y J. Triana; *Phytochemistry*, 13, 611(1974)
- 139.- T. A. Geissman y T.S. Griffin; *Phytochemistry*, 10,2475 (1971)

- 140.- T. S. Griffin, T.A. Geissman y T.E. Winters; *Phytochemistry*, 10, 2487 (1971)
- 141.- L.A. Macaira, M. García y J.A. Rabi; *J. Org. Chem.* 42, 4207(1977)
- 142.- T. Osawa, A. Susuki, S. Tamura, Y. Ohashi y Y. Sasada; *Tetrahedron Letters*, 5135 (1973)
- 143.- A. G. González, G. M. Massanet y A. de la Rosa; *Phytochemistry*, aceptado para su publicación.
- 144.- S. M. Kupchan y M. Maruyama, *J. Org. Chem.*, 36, 1187 (1971)
- 145.- J. Harley-Mason, A. T. Hewson, O-Kennord y R.C. Petterson; *J.C.S. Chem. Commun.*, 460(1972)
- 146.- A. G. González, J. B. Barrera, J. L. Bretón, G. M. Massanet, R. Domínguez y J. M. Amaro; *J. Chem. Soc. Perkin I*, 1663(1976)
- 147.- A. G. González, J. B. Barrera, I. Cabrera, A. Galindo y G. M. Massanet; *Anal. Quím.* 73, 86(1977)
- 148.- F. Bohlmann, G. Brindöpe y R.C. Rastogi; *Phytochemistry*, 17, 475 (1978)
- 149.- A. G. González, J. L. Bretón, I. Cabrera, A. Galindo y G. M. Massanet; *Anal. Quím.*, 76, 152(1980)
- 150.- N. H. Fischer, Y. Wu-Shih, G. Chiari, R. F. Fronczek, F. S. Watkins; *J. Nat. Prod.*, 44, 104(1981)

III. PARTE TEORICA

III. 1 Estudio de los componentes químicos de la Artemisia lanata

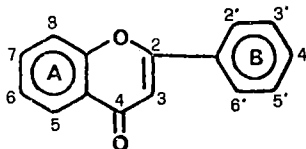
III. 1.1 Extracción y aislamiento de los productos

La extracción de la planta con etanol en caliente condujo a una solución de color verde que fué evaporada hasta eliminación total del disolvente. Se obtuvo así un líquido siruposo de intenso sabor amargo, que fué sometido a una marcha específica según se describe en la parte experimental. Mediante técnicas cromatográficas y de cristalización fraccionada se obtuvieron cinco productos: un flavonoide y cuatro lactonas sesquiterpénicas del grupo del guayano cuyo estudio se describe a continuación.

III.1.2. 5-hidroxi-6,7,3',4'-tetrametoxiflavona.

De las fracciones eluidas con benceno-acetato de etilo al 30% se obtuvo, por sucesivas cristalizaciones en metanol, un producto amarillo cuya fórmula empírica es $C_{19}H_{18}O_7$, concordante con su peso molecular, M^+ 358, determinado por espectrometría de masas. Este compuesto da las reacciones características de los flavonoides [1] .

El término flavonoide incluye a todos aquellos compuestos cuya estructura está basada en la 2 - fenilcromona:



El esqueleto de la flavona consiste en dos anillos bencénicos A y B unidos por una cadena de tres átomos de carbono dispuestos en forma de anillo de γ -pirona.

Las distintas clases de flavonoides difieren unos de otros solamente en el estado de oxidación del carbono 3, mientras que los compuestos individuales dentro de cada clase, se distinguen por el número y posición de los grupos hidroxilo o metoxilo.

Debido a la aromaticidad de la molécula, los flavonoides se caracterizan por presentar bandas muy bien definidas en el espectro U.V.: banda I(300-380nm) y banda II(240-280nm). La espectroscopía U.V. es una técnica de gran eficacia en la determinación de la estructura de los flavonoides puesto que la adición de determinados reactivos produce desplazamientos de las bandas I y II, pudiéndose deducir de la magnitud y sentido de dichos desplazamientos, las posiciones de los grupos hidroxilo.

Concretamente, nuestro producto presenta máximos a 245,279 y 345 nm, lo que sugiere se trata de un flavonoide con sustituyentes oxigenados en 3' y 4' (figura I).[2]

Cuando se registra el espectro después de añadir unas gotas de solución de cloruro de aluminio, se produce un desplazamiento batocrómico en la banda I (23 nm), que permanece después de la adición de ácido clorhídrico. Esto indica la presencia de un hidroxilo en 5, estando a su vez oxigenada la posición 6 [3], [4].

Al adicionar acetato sódico fundido el espectro no sufre variación, lo cual sugiere que en el carbono 7 no existe función oxigenada a que ésta se encuentra protegida.

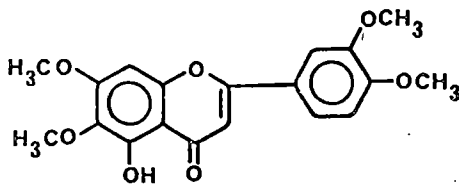
Al añadir metóxido de sodio se produce un desplazamiento batocrómico de la banda II (21 nm), al tiempo que la banda I se transforma en una inflexión. Esto es característico de las flavonas y flavonoles cuyo solo hidroxilo libre está localizado en el carbono 5.

Nuestro producto forma un monoacetato de P.F. 179-181°, lo que confirma la presencia de un solo grupo hidroxilo.

En el espectro de R.M.N. se observan dos singletes a 3,89 δ y 3,93 δ correspondientes a cuatro grupos metoxilo; dos singletes a 6,52 y 6,55 δ asignables a los protones en los carbonos 8 y 3 respectivamente; un doblete a 6,95 δ ($J=8\text{Hz}$) debido al protón en 5' un doblete a 7,3 δ ($J=2\text{Hz}$) atribuido al protón en 2', y, por último, un cuartete, centrado a 7,48 δ ($J=8\text{Hz}$), ($J'=2\text{Hz}$), que es originado por el protón en 6'.

De los datos espectroscópicos reseñados se deduce que nuestro producto es la 5-hidroxi-6,7,3',4'-tetrametoxiflavona (I) [5].

La comparación cromatográfica (capa fina comparativa en varios sistemas) con una muestra auténtica de dicha flavona así como un P.F. mixto entre ambas sustancias, mostró su identidad.



I

III. 1.3 2-ceto-1,10-epoxi-guayan-3,4-(en)-6,12 olida

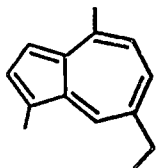
De las fracciones eluidas con benceno-acetato de etilo 90:10 se obtiene una sustancia cristalina de punto de fusión variable. Dicha sustancia se revela en capa fina como una mezcla de dos productos de Rf. muy similar. Mediante cristalización fraccionada en acetato de etilo-éter de petróleo se logró separar el producto más insoluble (III) que fijó su p.f. en 236-238°, $[\alpha]_D = +102^\circ$. Su análisis elemental proporciona una fórmula empírica de $C_{15}H_{18}O_4$, en concordancia con su peso molecular determinado por espectrometría de masas (M^+ , 262).

El espectro I.R. (figura II) presenta bandas de absorción a 1.775 cm^{-1} , característica de una γ -lactona, 1.715 cm^{-1} asignable a una ciclopentenona α, β no saturada y 1.625 cm^{-1} de bida a doble enlaces.

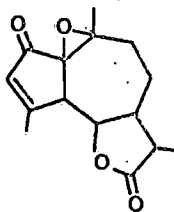
La presencia del cromoforo >C=C-C=O se deduce también del espectro U.V. en el que se observa una banda de absorción a $\lambda_{\text{max}} 235\text{ nm}$ ($\epsilon=16.800$).

Determinada la naturaleza de tres de los átomos de oxígeno presentes en la molécula (grupo lactónico y grupo cetónico α, β insaturado), y, en ausencia de otras sustancias características, el átomo de oxígeno restante debe encontrarse en forma de anillo oxiránico.

El esqueleto básico de este producto ha de ser del tipo del guayano puesto que al calentarlo en presencia de selenio se obtienen sustancias de intenso color azul de entre las que se identificó el chamazuleno



En un esqueleto de guayanolida, el número de posibles estructuras que poseen la funcionalización antes mencionada es relativamente elevado (noventa y cuatro), sin embargo, la información que proporciona la espectroscopía de resonancia magnética nuclear (figura II), permite seleccionar la fórmula siguiente:



II

Esta estructura (2-ceto-1,10-epoxi-guayan-3,4-(en)-6,12-olida) no coincide con ninguna descrita previamente en la bibliografía, tratándose por tanto, de un nuevo producto natural.

El cuartete ($J=1\text{Hz}$) que aparece a 6.22δ se asignó al protón vinílico sobre C-3. El triplete ($J=10\text{Hz}$) centrado a 4.23δ se hizo corresponder al protón geminal al oxígeno de la lactona. El protón situado sobre C-5 aparece en forma de un doblete ($J=10\text{Hz}$) a 3.06δ y su vecindad al protón lactónico se pone de manifiesto porque, al irradiar en la zona donde absorbe esta última señal el doblete colapsa a un singlete ancho.

El metilo vinílico sobre C-4 absorbe a 2.35δ como un singlete cuya forma indica un acoplamiento alílico ($J=1\text{Hz}$) con el protón en C-3. Este hecho se comprobó mediante experiencias de doble resonancia, ya que la irradiación de una de las dos señales produce agudización de la otra. El singlete de intensidad tres protones a 1.74δ se asignó al metilo sobre C-10,

geminal al oxígeno del grupo oxirano. Este último ha de ser terciario ya que no se aprecian señales que puedan atribuirse a protones sobre grupos epóxido. Por último, el grupo metilo sobre C-11, contiguo al carbonilo de la lactona aparece como un doblete a 1.12 δ (J=7Hz).

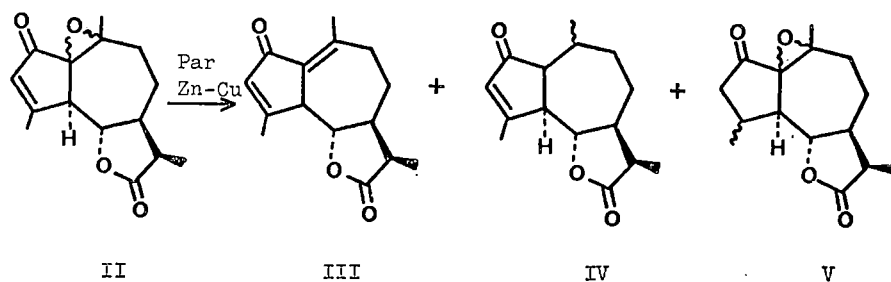
III.1.3.1. Estereoquímica en C-5, C-6, C-7 y C-11: correlación con la achillina

El estudio del espectro de R.M.N. proporciona una información más completa acerca de la estereoquímica de esta lactona. Las constantes de acoplamiento $J_{5,6}=10\text{Hz}$ y $J_{6,7}=10\text{Hz}$ sugieren su disposición relativa trans-diaxial entre los protones H-5, H-6 y H-6,H-7. Teniendo en cuenta que en todas las guayanolidas aisladas de la Familia de las Compuestas el H-7 tiene configuración α , es admisible suponer que la estereoquímica de los hidrógenos sobre C-5 y C-6 sea H-5 α y H-6 β .

En cuanto a la configuración en C-11, la posición de la señal del metilo lactónico (1,12 δ) sugiere una disposición β para dicho grupo metilo. En efecto, si se observa la posición de esta señal en guayanolidas de estructura relacionada, en todos los casos aparece a valores de δ superiores a 1.19 cuando el metilo tiene configuración α . Además, cuando se dispone de la pareja de epímeros en C-11 se observa que el metilo β absorbe siempre a campo más alto.

La confirmación de que la configuración de los centros C-5, C-6, C-7 y C-11 es la que sugieren los datos del espectro de R.M.N., se obtuvo al correlacionar químicamente nuestro producto natural con la achillina (III), lactona sesquiterpénica de estructura y estereoquímica previamente establecidas [6], [7].

La correlación se llevó a cabo por tratamiento de (II) con el par zinc-cobre, reactivo empleado por primera vez por M. Kupchan en la eliminación reductiva de epóxidos a olefinas [8].



La obtención de la achillina pone de manifiesto que nuestro producto posee la configuración H-5 (α), H-6 (β), H-7 (α) y H-11 (α).

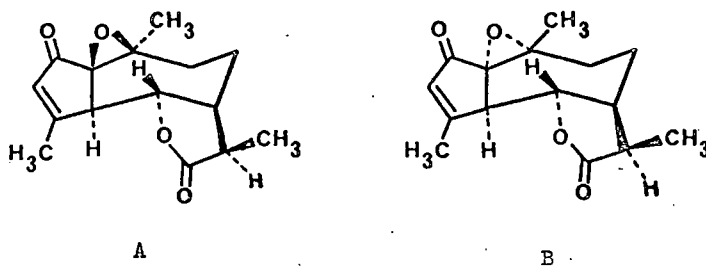
También pudieron ser identificados espectroscópicamente de entre los productos de reacción las lactonas (IV) y (V), lo que está de acuerdo con la capacidad del par Zinc-cobre para reducir los dobles enlaces conjugados a grupos carbonilo [9].

III.1.3.2. Estereoquímica del grupo epóxido:

La configuración de los centros C-1 y C-10 sobre los que se halla situado el epóxido en (II) puede inferirse, en principio, de los datos de R.M.N. tanto de protón como de carbono-13. Así, la posición de resonancia del protón geminal al oxígeno lactónico (4.23 δ) se halla significativamente desplazada hacia campos más bajos, con respecto a la posición media

de dicho protón en un número elevado de guayanolidas (3.6 - 3.9 δ). Concretamente, si la comparamos con la achillina (III) de la que puede considerarse derivado nuestro producto por epoxidación del doble enlace, C-1 y C-10, esta diferencia es de 0.41 δ .

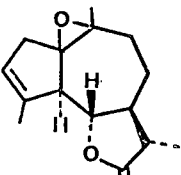
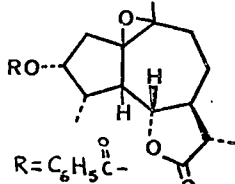
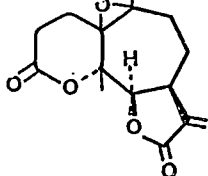
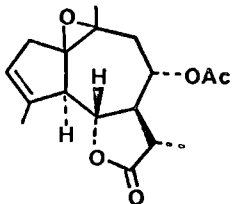
Esta baja posición del hidrógeno lactónico puede explicarse admitiendo una relación cis, entre el grupo oxirano y el átomo de hidrógeno H-6, (como en A) puesto que la



función epóxido desapantalla los protones que se hallan situados muy cerca de la nube electrónica del oxígeno oxiránico [10]. Así, se ha descrito [11] que, para un par dado de grupos electronegativos de configuración α y β , tales como grupos hidroxilo, oxirano y halógeno situados sobre C-10 en un esqueleto de guayanolida, solo el isómero de configuración β causa un marcado desplazamiento de H-6 hacia campo más bajo.

Si observamos la posición del protón lactónico en otras 1,10-epoxiguayanolidas, (Tabla I) se pone de manifiesto que cuando existe una relación 1,3 cis respecto del grupo epóxido se produce un desapantallamiento mayor

TABLA I

Compuesto	H-6	diferencia.	referencia.
arborescina  3 benzoil-10-epoxi- guayan-6,12-olida.	epoxido β 4.02 δ epoxido α 3.84 δ	0.18	[12]
 R = C ₆ H ₅ C-	epoxido β 3.97 δ epoxido α 3.78 δ	0.19	[12]
paulitina 	epoxido β 4.76 δ epoxido α 4.95 δ	0.19	[13]
globicina 	Solo descrito un epímero 4.12 δ		[14]

Es interesante destacar que a pesar de que, la estereoquímica del anillo oxirano en la globicina no se conoce, la aplicación de las consideraciones anteriores sugieren que di-

cho epóxido ha de poseer orientación β .

Los datos de R.M.N. de ^{13}C (Tabla II) apuntan también hacia una orientación β para el epóxido en nuestro producto natural, puesto que si comparamos los desplazamientos químicos del C-6 en dicho producto y en la achillina (III), lactona de estructura similar pero en la que no existe influencia del grupo epóxido sobre C-6, (H-6 axial), se observará un desapantallamiento de 3.85 p.m.m. en el carbono lactónico de (II) respecto de (III). Un efecto similar tiene lugar sobre el C-8, que guarda con el epóxido una relación espacial del mismo tipo.

TABLA II

III	II	HIDROXIACHILINA	XVIII	ASIGNACION
131.88	65.28	132.76	133.14	C-1
195.75	>195	195.89	194.96	C-2
135.53d	133.11d	135.39d	135.64d	C-3
170.01	176.61	170.81	169.72	C-4
53.03d	49.76d	51.95d	51.75 d	C-5
83.54 d	79.69d	81.13d	80.79 d	C-6
52.01 d	51.71d	58.11d	55.32 d	C-7
23.68 t	(2)19.86t	64.95d	66.89 d	C-8
37.68t	34.62t	48.25t	43.98t	C-9
152.04	66.99	146.72	144.91	C-10
39.40d	39.31d	38.13d	37.79d	C-11
178.27	178.91	178.56	177.04	C-12
9.92c	9.87c	9.35c	9.41c	C-13

III	II	HIDROXIACHILLINA XVIII		ASIGNACION
(1)21.53c	(2)20.81c	(3)21.76c	(4)21.25c	C-14
(1)19.73c	(2)18.87c	(3)19.73c	(4)19.65c	C-15
			169.72	C=O-(Ac)
			(4)20.89c	$\underline{\text{CH}}_3(\text{Ac})$

d=doblete

t=triplete

c=cuartete

(1)(2)(3)(4)= *asignaciones intercambiables.

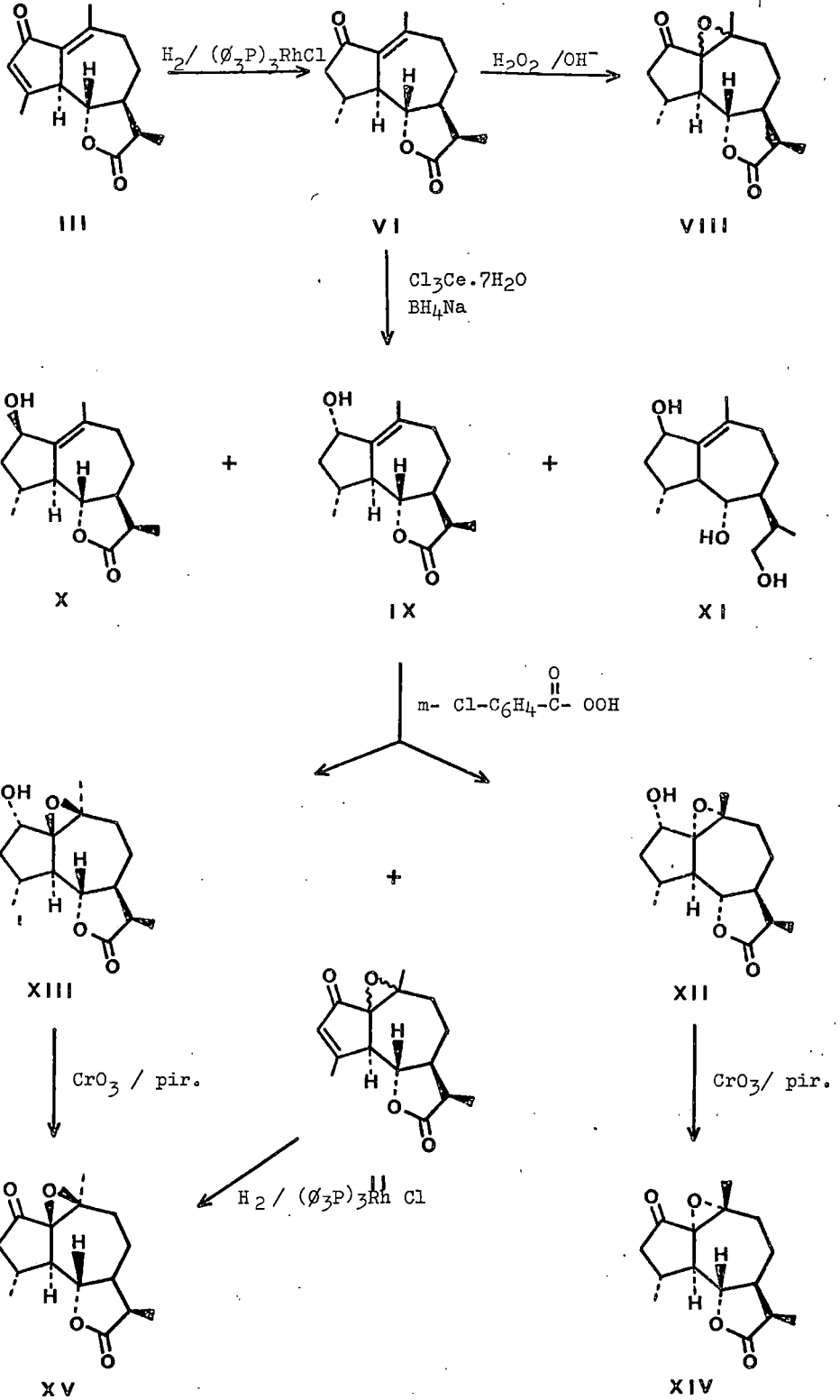
III.1.3.3 Preparación de epóxidos epiméricos en C-1, C-10

Es evidente que este tipo de diagnóstico configuracional sólo tiene validez total si se tiene acceso a los dos epóxidos epiméricos. Esta es la razón por la que decidimos obtener el compuesto epímero en el grupo époxido de nuestro producto natural y de esta manera llevar a cabo la comparación directa de sus espectros de R.M.N.

El producto de partida fué la achillina (III) (Esquema I) lactona sesquiterpénica presente también en la Artemisia lanata, de la que se aísla en gran rendimiento. Los intentos de epoxidación directa con agua oxigenada en medio básico [15] no dieron resultados, por lo que se intentó hidrogenar selectivamente el doble enlace C-3, C-4. Se utilizó el catalizador homogéneo $[(\text{C}_6\text{H}_5)_3\text{P}]_2\text{RhCl}$ puesto que existen antecedentes [16] de su eficacia en la hidrogenación de dobles enlaces poco impedidos estéricamente, en presencia de dobles enlaces más impedidos.

La hidrogenación procedió con buen rendimiento, obtenién-

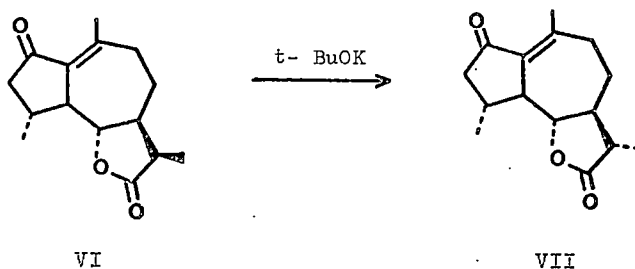
ESQUEMA I



dose el dihidroderivado (VI), p.f. 71-73°, $[\alpha]_D^{25} +49^\circ$, M^+ 248. En su espectro de R.M.N. (figura III) aparece un triplete ($J=10\text{Hz}$) a 3.90δ asignable al protón geminal al oxígeno de la lactona, un singlete a 2.35δ debido al metilo vinílico sobre C-10 y dos dobletes a 1.20δ ($J=6\text{Hz}$) y 1.13 ($J=7\text{Hz}$) debidos, respectivamente a los metilos situados sobre C-4 y C-11.

La orientación del metilo sobre C-4 en (VI) debe ser α , dada la posición a que aparece el protón lactónico en este producto. Una disposición β en el metilo en C-4 implicaría una doble interacción 1,3-cis.(metilo C-4 y metilo C-11). Sobre el protón C-6, que le haría resonar a campo inferior [17].

La transformación de (VI) en (VII) cuya estructura y esteoquímica son conocidas [18], nos permitió determinar la configuración en C-4 y confirmó, al mismo tiempo, la alta estereoespecificidad de la hidrogenación.



A continuación se llevó a cabo la introducción del grupo epóxido mediante ataque nucleófilo sobre el doble enlace C-1, C-10 de la lactona (VI). El tratamiento con peróxido de hidrógeno en medio básico conduce a un époxido (VIII), aunque el rendimiento de la reacción es muy bajo debido probablemen-

te a que el doble enlace conjugado está altamente sustituido [19] .

El espectro de RMN está de acuerdo con la estructura (VIII). El protón geminal al oxígeno lactónico resuena como un triplete centrado a 4.20δ ($J=10\text{Hz}$), mientras que el metilo situado sobre el grupo epóxido aparece como un singlete a 1.56δ . Los metilos situados sobre C-11 y C-4 aparecen respectivamente como doblete a 1.15δ ($J=7\text{Hz}$) y 1.38δ ($J=6\text{Hz}$).

III.1.3.4 Alcoholes alílicos (IX) y (X)

A causa del bajo rendimiento de la epoxidación con peróxido de hidrógeno se procedió a reducir el grupo carbonilo en C-1 y de esta manera facilitar el ataque al doble enlace por los perácidos orgánicos.

Se intentó primeramente la reducción con isopropóxido de aluminio [20] , pero no se obtuvieron resultados satisfactorios puesto que la velocidad de reacción es muy lenta. En cambio, la reducción con borohidruro sódico en presencia de cloruro de cerio heptahidratado condujo a los productos (IX), (X) y (XI).

La lactona (IX) $C_{15}H_{18}O_3$, $[\alpha]_D = +66^\circ$, M^+ 250, p.f. 115-117° presenta absorciones en su espectro infrarrojo (figura IV) a 3.590 cm^{-1} debida a grupos hidroxilo, 1.760 cm^{-1} propio de una γ -lactona, y 1680 cm^{-1} correspondiente a dobles enlaces.

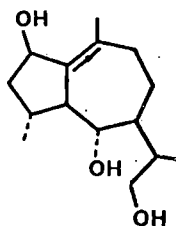
En su espectro de R.M.N. (fig. IV) se observa un triplete no muy bien definido ($J=5\text{Hz}$), centrado a 4.70δ que corresponde

al protón geminal al hidroxilo sobre C-2. El protón sobre C-6, contíguo al oxígeno de la lactona resuena como un triplete ($J=10\text{Hz}$) a 3.70δ . Por último, en la región de los metilos se observa un singlete a 1.90δ correspondiente al metilo vinílico situado en C-10, y dos dobletes a 1.22δ (6Hz) y 1.12δ (7Hz) que pertenecen a los metilos sobre C-4 y C-11 respectivamente.

El compuesto (X), p.f. $127-129^\circ$, $[\alpha]_D^{25} = +27^\circ$, M^+ 250 se obtuvo en mucho menor rendimiento. Su espectro de R.M.N. (figura V) es bastante parecido al del compuesto (IX), con dos diferencias importantes: la forma de la señal del protón situado en C-2 y la posición del hidrógeno geminal al oxígeno lactónico. En efecto, el protón en C-2, contíguo al grupo hidroxilo resuena a 4.70δ como un doblete ($J=4\text{Hz}$), mientras que el protón lactónico aparece en forma de triplete ($J=10\text{Hz}$), a 3.90δ , desapantallado a 0.20δ respecto a la misma señal en (IX).

Este último dato permite establecer un criterio con respecto a la configuración en C-2 de ambos compuestos. En efecto, el desplazamiento hacia campo más bajo del protón lactónico en (X) con respecto a (XI) puede atribuirse a una interacción cis entre el hidroxilo y el H-6 [21], por lo que dicho grupo hidroxilo ha de tener orientación β .

El producto más polar, obtenido en el tratamiento de (XI) con $\text{Cl}_3\text{Ce} \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ debe ser el triol (XI) p.f. $148-149^\circ\text{C}$



XI

ya que en su espectro I.R. no se observa la absorción correspondiente al agrupamiento γ -lactónico, y en su espectro de masas aparecen además del ión molecular m/e 254 ($C_{16}H_{26}O_3$) las fragmentaciones siguientes: 236 (M-18), 221(M-18-15), 218(M-2x18) y 200(M-3 x18).

III.1.3.5 Epoxialcoholes (XII) y (XIII)

Con el fin de introducir la función epóxido en C-1, C-10 con la orientación α , el alcohol alílico (IX) se trató con ácido metacloroperbenzóico, obteniéndose los epoxialcoholes (XII) y (XIII).

Como era previsible, el producto (XII) se obtuvo en mayor rendimiento. Después de varias cristalizaciones en acetato de etilo-éter de petróleo fijó su p.f. en 128-129°, $[\alpha]_D = +96^\circ$, M^+ 266.

Su espectro IR (fig. VI) presenta las siguientes absorciones: 3500cm^{-1} propia de grupos hidroxilo, 1765cm^{-1} debida al agrupamiento γ -lactona.

En su espectro de RMN (fig. VI) aparece una señal centrada a 4.1δ correspondiente al protón geminal al hidroxilo situado sobre C-2. A 3.90δ aparece un triplete ($J=10\text{Hz}$) cuya rama inferior está superpuesta a la señal del H-2 comentada anteriormente, debida al protón contiguo al oxígeno de la lactona. En la zona alta del espectro se observan las señales correspondientes a tres grupos metilo: un singlete a 1.45δ debido al metilo sobre el grupo oxirano, y dos dobles casi superpuestos a 1.18δ y 1.15δ ($J=6\text{Hz}$)($J=7\text{Hz}$) asignados respectivamente a los metilos sobre C-4 y C-11.

El epoxialcohol minoritario (XIII) fijó su p.f. en 204-206°, $[\alpha]_D = 101^\circ$, $M^+ 266$. Su espectro IR (fig. VII) presenta absorciones a 3.600 y 1.760 cm^{-1} debidas a grupos hidroxilo y γ -lactona respectivamente.

En su espectro de RMN (fig. VII) aparece un tripléte ($J=10\text{Hz}$) centrado a 4.08 δ . Superpuesto a la rama superior de dicho triplete se observa la señal correspondiente al protón geminal al grupo hidroxilo. Los tres grupos metilo que posee la molécula aparecen a 1.46 δ , señal propia del metilo situado sobre el grupo oxirano, 1.28 δ (doblete, $J=6\text{Hz}$) correspondiente al metilo en C-4 y 1.12 δ (doblete $J=7\text{Hz}$) característica del metilo en C-11.

La comparación de los desplazamientos químicos de ambos epóxidos permite sacar conclusiones acerca de la estereoquímica del grupo oxirano. En efecto, el desapantallamiento de 0.18 δ que se aprecia en la señal del protón lactónico en (XII) es compatible con una interacción 1,3 cis entre dicho protón y el grupo epóxido [10,11,12], que tendrá, por lo tanto, configuración β .

III.1.3.6 Epoxicetonas (XIV) y (XV)

La oxidación de los epoxialcoholes (XII) y (XIII) con trióxido de cromo en piridina condujo a las epoxicetonas epiméricas (XIV) y (XV).

El producto (XIV), obtenido a partir del epoxialcohol de configuración α en el grupo oxirano, tiene un p.f. 185-186°, $[\alpha]_D +218^\circ$, $M^+ 264$. En su espectro I.R. (fig. VIII)

no se aprecian señales de grupos hidroxilo, mientras que aparecen las absorciones correspondientes a un grupo carbonilo (1740 cm^{-1}) y una γ -lactona (1.770 cm^{-1}).

En su espectro de R.M.N. (fig. VIII) se observa un triplete ($J=10\text{ Hz}$) centrado a 4.16δ que corresponde al protón contiguo al cierre de la lactona, un singlete a 1.55δ debido al metilo situado sobre C-10 y dos dobletes a 1.23δ ($J=6\text{Hz}$) y 1.15δ ($J=7\text{Hz}$), atribuibles a los metilos sobre C-4 y C-11.

La epoxicetona (XV) fijó su p.f. en $189-190^\circ$, $[\alpha]_D = -93^\circ$ M^{+264} . En su espectro IR (fig. IX) aparecen absorciones a 1770 y 1745 cm^{-1} correspondientes al agrupamiento γ -lactona y al grupo carbonilo, respectivamente. Su espectro de R.M.N. (figura IX) presenta las siguientes señales: un triplete ($J=10\text{Hz}$) centrado a 4.20δ propio del protón del cierre lactónico, un singlete a 1.55δ debido al metilo situado sobre el grupo epóxido, y dos dobletes centrados a 1.38 ($J=6\text{Hz}$) y 1.15δ ($J=7\text{Hz}$), asignables a los metilos sobre C-4 y C-11 respectivamente.

Al comparar los espectros de R.M.N. de ambas apoxicetonas epiméricas sorprende la escasa diferencia (0.04δ) entre los desplazamientos químicos de sus respectivos protones sobre C-6. Ya se ha indicado que esta diferencia ($\approx 0.18\delta$) ha sido utilizado para establecer la estereoquímica de grupos electronegativos sobre C-10, por lo que nuestros resultados parecen poner en duda, al menos en este caso, la validez de este criterio.

Es evidente que en la epoxicetona (XIV) se produce un desapantallamiento adicional en el H-6 que es aproximadamente de la misma magnitud que el producido por el grupo epóxido β

sobre el protón de cierre de la lactona en (XV).

La observación de modelos Drieding de ambas lactonas pone de manifiesto que dicho desapantallamiento es producido por el grupo carbonilo situado sobre C-2 el cual se halla mucho más cerca del protón lactónico en el compuesto que posee, el grupo epoxido con orientación α . Además, es presumible que se produzca un efecto similar en las 1,10-epoxiguayanolidas epiméricas que posean un grupo electronegativo en C-2 con orientación β .

Por lo tanto, el criterio de asignación de la configuración de 1,10 epoxiguayanolidas basado en la diferencia de desplazamientos químicos del protón lactónico no puede aplicarse de forma general debido a que pueden existir factores estructurales como los antes mencionados que hagan inapreciable dicha diferencia.

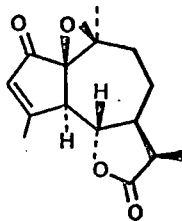
III.1.3.7. Configuración del grupo oxirano: correlación con 2- α -hidroxi-1,10-epoxi β -guayán-6,12-olida

La diferencia de 0.18 δ en el desplazamiento químico del H-6 en (XIII) con respecto a (XII) permite establecer la configuración del grupo oxirano en ambos productos. En efecto, tanto en (XIII) como en (XII) el grupo hidroxilo sobre C-2 se encuentra lo suficientemente alejado del H-6 para no producir desplazamientos adicionales sobre dicho protón.

Con el fin de establecer definitivamente la estereoquímica en el grupo oxirano de nuestro producto natural (II) tratamos de correlacionarlo químicamente con uno de estos epoxialcoholes. Para ello se procedió a hidrogenar el doble enlace

C-3, C-4 con $[(C_6H_5)_3P]_3RhCl$ como catalizador obteniéndose una epoxicetona cuyo p.f., $[\alpha]_D$ y datos espectroscópicos de I.R. y R.M.N. fueron idénticos a los de (XV) preparados a partir de (XIII) por oxidación con CrO_3 en piridina (esquema I).

Por tanto, la configuración absoluta de nuestro producto natural es la representada por la estructura (XVI)



II \equiv XVI

III. 1.4 Achillina

En las aguas madres de la cristalización fraccionada que condujo a la obtención de la epoxiguayanolida que hemos estudiado en la sección anterior se separa un sólido cristalino P.F. 146-148° $[\alpha]_D = +149^\circ$ cuya fórmula empírica es $C_{15}H_{18}O_4$, concordante con su espectro de masas, M^+ 246.

Su espectro I.R. presenta absorciones a 1770 cm^{-1} , debido a una γ -lactona, 1675 cm^{-1} ciclopentenona $\alpha,\beta,\alpha',\beta'$ no saturada y 1630 cm^{-1} dobles enlaces.

En el espectro U.V., el cromóforo $-C=C-CO-C=C-$ absorbe a 255 nm ($\epsilon = 10.660$)

En el espectro de RMN se observa un cuadruplete ($J=1\text{Hz}$) a $6,2\delta$ correspondiente a un protón vinílico y un triplete asimétrico a $3,82\delta$ ($J=10\text{Hz}$) perteneciente al átomo de hidrógeno geminal al oxígeno lactónico.

En la zona de los metilos aparece un doblete a $1,13\delta$ ($J=7\text{Hz}$), que se asignó al metilo lactónico y dos singletes a $2,41$ y $2,29\delta$ que fueron atribuidos a los metilos sobre C-10 y C-4 respectivamente. Todos estos datos permiten identificar a este producto como la achillina (III) [6]

III.1.5. 2-ceto-1,10-epoxi-8 α -acetoxi-guayan-3,4-en-6,12-olida

Las fracciones eluidas con benceno-acetato de etilo al 40% se comportan como una mezcla de dos productos cuya separación por los procedimientos cromatográficos habituales no dió resultado. Se acetiló a continuación la mezcla, comprobándose mediante cromatografía en capa fina impregnada en nitrato de plata, que los R_f de los dos productos de acetilación eran muy similares.

Mediante cristalización fraccionada de los acetatos en acetato de etilo-éter de petróleo se consiguió separar un producto de p.f. 273° , (M^+320).

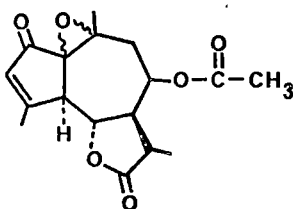
Su espectro I.R. (figura X) presenta absorciones a $1,780\text{cm}^{-1}$ debida a una γ -lactona, $1,735\text{cm}^{-1}$ de un grupo acetato, $1,710\text{cm}^{-1}$ propio de una ciclopentenona α, β no saturada y 1610cm^{-1} de dobles enlaces.

En su espectro U.V. muestra una absorción a 236nm . ($\epsilon=14.577$).

En su espectro de R.M.N. (figura X) se observa un cuadruplete centrado a $6,24\delta$ ($J=1\text{Hz}$) correspondiente a un protón vi-

nilico, un triplete de dobletes a 5.01δ ($J=10\text{Hz}$, 3Hz), que puede asignarse al protón geminal al grupo acetato. El protón situado sobre el C-6 aparece como un triplete ($J=10\text{Hz}$) centrado a 4.34δ , y el H-5 en forma de doblete ($J=10\text{Hz}$) a 3.1δ . El singlete ancho, de intensidad tres protones, que aparece a 2.36δ se debe al metilo vinílico sobre C-4. El resto de los metilos que posee la molécula aparecen como un singlete a 2.04δ , un singlete a 1.74δ y un doblete ($J=7\text{Hz}$) a 1.11δ , que corresponden a un grupo acetato y a los metilos sobre C-10 y C-11, respectivamente.

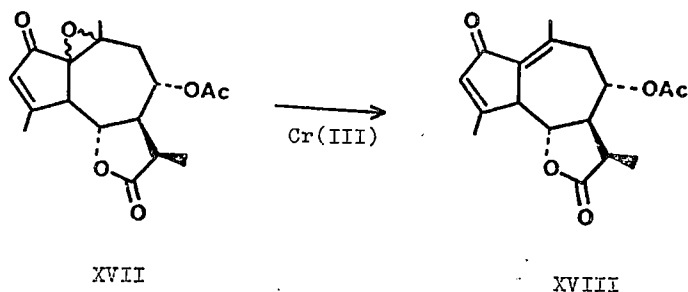
Los datos espectroscópicos reseñados con anterioridad para este compuesto, permiten asignarle la fórmula (XVII):



XVII

La estructura (XVII) presenta muchas similitudes con la 8- α -acetoxiachillina (XVIII), de la que puede considerarse derivada por epoxidación del doble enlace C-1, C-10. Por ello, pensamos que la correlación de ambas lactonas podría realizarse con relativa facilidad mediante eliminación reductiva del grupo epoxido empleando sales de cromo III. En efecto, el tratamiento de (XVII) con cloruro cromoso [22] permitió obtener un producto idéntico a la 8- α -acetoxiachillina [6]. De esta manera quedó establecida la configuración de los centros qui-

rales C-5, C-6, C-7, C-8 y C-11

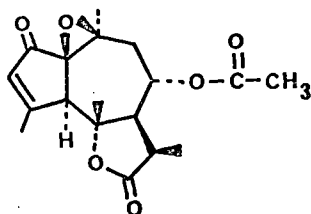


En lo que respecta a la estereoquímica del grupo epóxido, ya hemos puesto de manifiesto (apartado III.1.3.6) que el desplazamiento químico del protón lactónico no es un argumento que permita determinar firmemente la estereoquímica de las 2 ceto 1,10 epoxiguayanolidas. No obstante, en (XVII) existe otra particularidad estructural que permitiría asignar en base a datos de R.M.N., la configuración de los centros C-1 y C-10 sobre los que se halla situado el epóxido; se trata de la posición de resonancia del protón geminal al grupo acetato. En efecto, si se observan los modelos Dreiding de ambas epoxicetona epiméricas, en el caso del epóxido β dicho grupo se halla próximo al H-8, mientras que en el caso del epóxido α ambos grupos se hallan muy alejados. Cabe esperar que el producto con orientación β en el epóxido resonara a campo más bajo que su correspondiente epímero α .

Desafortunadamente debido al menor rendimiento obtenido de la planta en 8- α -hidroxi-achillina no pudimos llevar a cabo la preparación de epoxicetonas epiméricas, en una secuencia similar a la realizada con la achillina (Esquema I), a fin

de realizar la comparación directamente. Sin embargo, es ilustrativa la comparación de la posición de H-8 en (XVII), 5.01δ con la señal del mismo protón en (XVIII), 4.76δ . Esta diferencia de 0.25δ sugiere una orientación β para el grupo epóxido en (XVII). Además, la señal del H-8 en la globicina (tabla I), cuyo epóxido tiene muy probablemente (sección III. 1.3.2) configuración β , aparece a valores muy similares (5.03δ) a los del H-8 en nuestro producto.

Los argumentos anteriores nos permiten proponer para nuestro producto la configuración absoluta representada en la estructura (XIX)



XIX

III.1.6. 8- α -acetoxi achillina

En la cristalización fraccionada de los acetatos (apartado III.1.5) se consiguió separar el producto menos soluble (XVIII) que fijó su p.f. en $197-199^\circ$, $[\alpha]_D = 111^\circ$, M^+ 304.

Su espectro I.R. presenta absorción a 1.780 cm^{-1} debido a una γ -lactona, 1735 cm^{-1} de un grupo acetato, 1680 cm^{-1} de una ciclopentenona $\alpha, \beta, \alpha', \beta'$ no saturada, 1635 y 1615 cm^{-1} de dobles enlaces. Este producto presenta además en su espectro de U.V. una absorción a 255 nm ($\epsilon=14.186$). En su espectro de R.M.N. muestra las siguientes absorciones: un cuartete ($J=1\text{Hz}$) a 6.18δ , correspondiente al protón vinílico en C-4, un triplete de dobletes ($J=10\text{Hz}, 3\text{Hz}$) a 4.76δ debido al protón geminal al oxígeno del grupo acetato, un triplete ($J=10\text{Hz}$) centrado a 3.90δ del protón situado sobre el oxígeno del grupo lactónico, un doblete ($J=10\text{ Hz}$) a 3.38δ del protón en C-5. En la zona alta del espectro se observan las señales correspondientes a cuatro grupos metilo: un singlete a 2.42δ del metilo en C-10, un singlete a 2.28δ del metilo en C-4, un singlete a 2.09δ del grupo acetato y un doblete ($J=7\text{Hz}$) centrado a 1.11δ del metilo secundario situado sobre C-11.

Las constantes físicas y los datos espectroscópicos anteriormente reseñados son idénticos a los de la 8- α -acetoxiachilina.

III. 1.7 BIBLIOGRAFIA

- 1.- L. Jurd: "The Chemistry of Flavonoids Compounds", Geissmann ed., Pergamon Press, Oxford 1962 cap. 5º
- 2.- T. Mabry, J.K.R.Marham y M.B. Thomas;"The sistematic Identification of Flavonoids", Springer-Verlag, New York, Heidelberg, 254 (1970)
- 3.- Idem., p.52
- 4.- K.R. Marham y T.J. Mabry; Phytochemistry, 7, 1197(1968)
- 5.- S.M. Kupchan, C.W. Sigel, R.J. Hemingway, D.J. Xnox y M.S. Udayamurthy; Tetrahedron, 25, 1603(1969)
- 6.- E.H. White y R.E.K.Winter;Tetrahedron Letters, 137(1963)
- 7.- E.H.White y J.N. Marx; J. Amer. Chem. Soc., 89,5511(1967)
- 8.- S.M.Kupchan y M.Maruyama; J. Org. Chem., 36, 1187(1971)
- 9.- A.G.González, J.B. Barrera, J.L. Bretón Funes, G.M.Massa net, B. Domínguez y J.M. Amaro; J. Chem. Soc. Perkin. Trans I.1663 (1976)
- 10.- N.S. Bhacca y D.H. Williams; "Aplications of NMR Spectroscopy in Organic Chemistry", Holden-Day Inc., San Francisco, 102(1964)
- 11.-L.A. Macaira, M. Garcia y J.A. Rabi; J. Org. Chem., 42 4207 (1977)
- 12.- M.Ando , A.Akhane y K. Takase; Chemistry Letters, 727 (1978)
- 13.- J.B. del Castillo, M.T. Manresa,J. Martín Ramon, F. R. Luis y P.V. Bueno; Anal. Quím., 76, C, 277(1980)
- 14.- R.B. Bates, V. Procházka'y Z. Cekan; Tetrahedron Letters, 887(1963)
- 15.- V.K. Honwad; E. Siscovic y A.S. Rao; Tetrahedron, 23, 1.273 (1967)

- 16.- A.E. Greene, J.C. Muller y G. Ourisson; J. Org. Chem., 2, 39(1974)
- 17.- K. Vokáč y Z. Samek; Coll. Czech. Chem. Commun., 39, 480, (1974)
- 18.- A.G. González, J. Bermejo, G. M. Massanet y J. Triana; Phytochemistry, 611 (1974)
- 19.- H.O. House, "Modern Synthetic Reactions", Benjamin, (1972)
- 20.- E.J. Corey y A. G. Hortmann; J. Amer. Chem. Soc., 87, 5736 (1965)
- 21.- F. Bohlmann, G. Brindopke y R.C. Rastogi; Phytochemistry, 17,475 (1978)
- 22.- W. Cole y P.L. Julian; J. Org. Chem., 19, 131 (1954)

III. 2. Estudio de los componentes químicos de la Amberboa muricata D.C.

III.2.1. Extracción y aislamiento de los productos

La parte aérea de la planta seca fué extraída de forma exhaustiva con metanol caliente. La evaporación del disolvente condujo a 283 g. de un líquido siruposo que fué sometido a una separación previa en una columna de gel de sílice, según se describe en la parte experimental.

El análisis por capa fina en gel de sílice impregnada en nitrato de plata de algunas fracciones de la cromatografía anterior, mostró la presencia de cuatro productos mayoritarios. El examen espectroscópico de esta mezcla sugirió que podría tratarse de lactonas sesquiterpénicas (fuerte absorción sobre 1775 cm^{-1} en el espectro I.R.), por lo que se procedió a su separación en columna cromatográfica, utilizando gel de sílice impregnada en nitrato de plata como adsorbente.

De esta manera pudieron obtenerse cuatro lactonas sesquiterpénicas del tipo del guayano de cuya determinación estructural damos cuenta a continuación, siguiendo el orden de elución cromatográfica.

III.2.2. Muricatina (I)

En las primeras fracciones de la cromatografía se separa una sustancia, algo impurificada, en forma de un aceite verdoso. La cristalización en acetato de etilo-éter de petróleo de este aceite permitió obtener cristales de p.f. 73-74°, sensiblemente constante.

FE DE ERRATAS

En la pagina 100, línea 13, ha de incluirse la referencia

[8] ≡ A.G. Gonzalez, J. Bermejo, G.M. Massanet y J. Pérez;
Anal. Quim. 69, 1333 (1973).

El análisis elemental es compatible con la fórmula empírica $C_{19}H_{24}O_6$ y su rotación específica resultó ser $[\alpha]_D = +74^\circ$. En su espectro de masas se observa un ión molecular m/e 248, lo cual indica que la molécula ha sufrido una pérdida de 102 unidades de masa.

El espectro I.R. (figura I) presenta bandas debidas a las siguientes absorciones: grupo hidroxilo (3600 cm^{-1}), γ -lactona (1760 cm^{-1}), éster α,β insaturado (1710 cm^{-1}) y doble enlaces ($1620, 1610\text{ cm}^{-1}$).

La búsqueda bibliográfica nos permitió concluir que esta sustancia no había sido descrita con anterioridad, por lo que la denominamos muricatina, en atención a la especie de la que fué aislada.

La deshidrogenación con selenio de la muricatina conduce a sustancias de intenso color azul de entre las que pudo ser identificado el chamazuleno (VII) [1].

El espectro de R.M.N. (figura 1) suministra importante información acerca de la estructura de la muricatina. Así, el ácido que esterifica a la molécula debe ser el α -hidroximetilacrílico, ya que se observan las señales correspondientes a los protones situados sobre el doble enlace conjugado al grupo carboxilo (singletes a 6.30 y 5.95 δ), y las del grupo $-\text{CH}_2-$ del hidroximetilo (singlete ancho a 4.30 δ).

La magnitud molecular de dicho ácido se deduce de su espectro de masas ya que el fragmento de mayor masa aparece a m/e 248 (M-102) y debe proceder de un reagrupamiento del ión correspondiente a su peso molecular (M=350). Los fragmentos a m/e 85 ($\text{OC}-\overset{\text{H}}{\underset{\text{CH}_2}{\text{C}}}-\text{CH}_2\text{OH})^+$ y 57 ($\text{C}-\overset{\text{H}}{\underset{\text{CH}_2}{\text{C}}}-\text{CH}_2\text{OH})^+$ son también diagnóstico de la presencia del ácido α -hidroximetilacrílico.

En la región de los protones olefínicos se encuentran, además tres señales que hemos atribuido a los hidrógenos de dos

dobles enlaces metilénicos: dos dobletes a 6.20 ($J=3,5\text{Hz}$) y 5.60 δ ($J=3\text{Hz}$) de intensidad un protón cada uno, que son característicos de un agrupamiento α -metilen- γ -lactona, y un singlete ancho a 5.05 δ correspondiente a los hidrógenos de un doble enlace exocíclico aislado.

El protón geminal al oxígeno lactónico aparece como un triplete centrado a 4,20 δ , una de cuyas ramas se halla superpuesta a la señal del grupo hidroximetilo del resto acilo ya comentada. El valor de la constante de acoplamiento ($J_{5,6} = J_{6,7} = 9.5\text{ Hz}$) sugiere una disposición trans entre los protones H-5, H-6 y H-7 [2]. En la zona alta del espectro aparece un doblete a 1.22 δ ($J=6\text{Hz}$), característica de un metilo secundario y que debe corresponder al metilo sobre C-4.

El tratamiento de la muricatina con anhídrido acético y piridina conduce a un derivado diacetilado (comprobado por espectroscopia de RMN y espectrometría de masas), de fórmula empírica $\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{O}_8$, p.f. 98-100°, $[\alpha]_D = 92.5^\circ$

En su espectro de RMN se observa un desplazamiento paramagnético de 0.5 unidades δ de la señal atribuida a los protones del alcohol primario, quedando perfectamente visible el triplete a 4.10 δ . ($J=9.5\text{ Hz}$), correspondiente al protón lactónico.

Los datos espectrales comentados anteriormente, nos permitieron asignar a la muricatina la estructura de 3-hidroxi-8(α -hidroximetilacriloil)guai-10(14), 11(13)-dien-6,12 olida.

III. 2.2.1. Correlación de la muricatina (I) con el isolippi-diol (IV)

Con objeto de probar que la estructura propuesta por nosotros para la muricatina es correcta, se trató de correlacionarla químicamente con una lactona sesquiterpénica de estructura y estereoquímica perfectamente establecidas. Concretamente, fi

jamos muestra atención en el isolippidiol (IV), al que tratamos de acceder a partir de la muricataina, mediante las transformaciones químicas que describimos a continuación (Esquema I)

El tratamiento de (I) con carbonato potásico en metanol conduce a una sustancia (III) en la que se ha producido la saponificación del éster en C-8, tal como se pone de manifiesto por la ausencia de las absorciones del grupo acilo en el espectro I.R., así como en el de R.M.M. (Tabla I). En este último se observa la presencia de una señal a 3.45δ , asignable a un agrupamiento $C_{13}-OCH_3$ lo que indica que se ha producido, al mismo tiempo una adición de tipo Michael de metanol al doble enlace conjugado a la lactona.

Con el fin de evitar esta reacción no deseada, se procedió primero a la reducción del doble enlace $C_{11}=C_{13}$ para lo cual se sometió a la muricataina a tratamiento con amalgama de aluminio

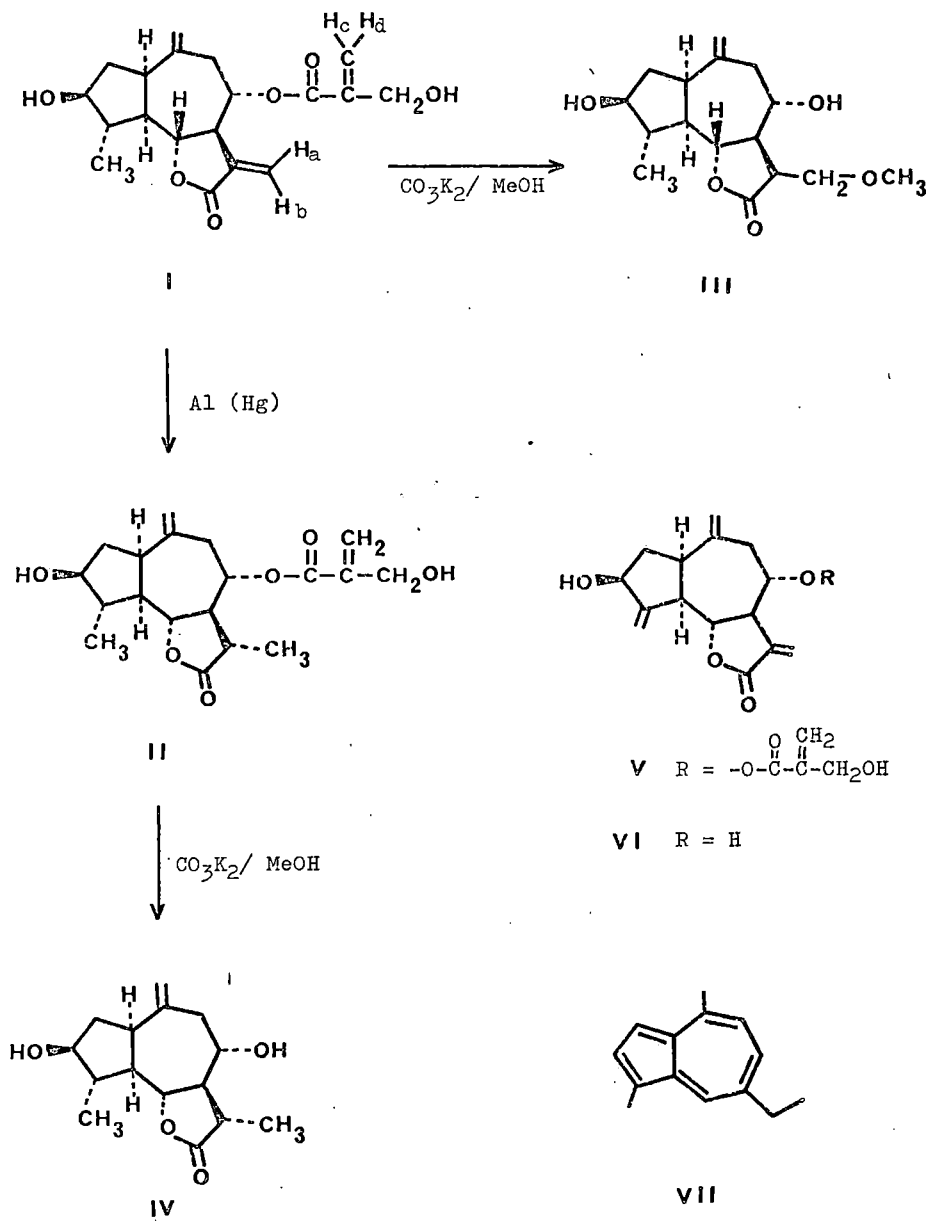
[3]. La reducción en estas condiciones nos permitió obtener el dihidroderivado (II), en cuyo espectro de RMN (figura II) no aparecen los dos dobletes característicos de los protones del doble enlace metilénico conjugados al grupo lactónico. Si se observa, en cambio, un nuevo doblete a 1.25δ ($J=7\text{Hz}$) asignable al grupo metilo sobre C-11.

A continuación, se trató el dihidroderivado (II) con solución acuosa de carbonato potásico en metanol. El desacilderivado (IV) obtenido de esta manera posee una fórmula empírica $C_{15}H_{22}O_4$, p.f. 165-167° y $[\alpha]_D^{20}=+35^\circ$.

En su espectro I.R. (figura III) se observan las absorciones características de grupos hidroxilo (3.600 cm^{-1}), δ -lactona (1765 cm^{-1}) y doble enlace (1645 cm^{-1}).

En su espectro de RMN (figura III) aparecen las siguientes señales: un singlete ancho a 5.10δ correspondiente a dos protones de un doble enlace metilénico aislado; una señal compleja centrada a 3.75δ que integra para tres protones y que debe corresponder al H-6 que cierra el anillo lactónico, junto

ESQUEMA I



con los protones geminales a los grupos hidroxilo en C-3 y C-8 respectivamente. Por último, y en la zona alta del espectro (1.25 δ) aparecen dos dobletes, parcialmente superpuestos, de intensidad seis protones, asignables a los metilos sobre C-4 y C-11.

Tanto las constantes físicas como los datos espectroscópicos de (IV) son plenamente coincidentes con los del isolippiⁱdiol, lactona sesquiterpénica que fué aislada con anterioridad en nuestro laboratorio [4]. Un estudio cromatografico en capa fina, utilizando varios eluyentes, así como un punto de fusión mixto mostró la identidad de (IV) con el isolippidiol.

La correlación química entre la muricata y el isolippiⁱdiol permiten, no solo confirmar la estructura de nuestro producto natural, sino también conocer la configuración de todos sus centros asimétricos.

Por otra parte, la obtención del isolippidiol (cuyo grupo metilo en C-11 es α) mediante la secuencia descrita, pone de manifiesto que la reducción con amalgama de aluminio del doble enlace conjugado al grupo lactónico es altamente estereoselectiva.

III. 2.3. Cynaropicrina (V)

El compuesto que se eluye en segundo lugar es una sustancia amarga, fácilmente polimerizable. Su comportamiento cromatográfico es idéntico al de una muestra auténtica de cynaropicrina (V), lactona sesquiterpénica de estructura perfectamente establecida [5] [6].

Los espectros I.R. y de R.M.N. de esta sustancia se recogen en la tabla I y son totalmente superponibles a los de la cynaropicrina.

III.2.4. Desacilcynaropicrina (VI)

Se aisló en forma de una sustancia pulverulenta que no pudimos cristalizar. La información obtenida de su espectro I.R. y de R.M.N. nos permitió concluir que se trataba del desacilderivado de la cynaropicrina. En efecto, en su espectro I.R. (tabla I) no se observa la absorción debida a la función éster α, β no saturado y en su espectro de R.M.N. (tabla I) no aparecen las señales correspondientes a la mencionada función. Al mismo tiempo, los dos dobletes ($J=3.5$ Hz) debidos a los protones H_a y H_b aparecen ahora parcialmente superpuestos, como es característico de las guayanolidas que no poseen grupo acilo sobre el hidroxilo α en C-8.

La confirmación de la estructura de esta lactona la obtuvimos al tratar la cynaropicrina con solución de carbonato potásico al 5%. En estas condiciones se obtuvo una sustancia cristalina de p.f. 145-150°C, $[\alpha]_D = +116^\circ$, que resultó ser idéntica a la desacilcynaropicrina obtenida de la planta en estudio.

La desacilcynaropicrina había sido obtenida con anterioridad por Holub y colaboradores [7], mediante un procedimiento de saponificación similar. Esta es la primera vez que esta lactona se aísla como producto natural.

III.2.5. Isolippidiol

El producto que se eluye en último lugar es una sustancia cristalina de fórmula empírica $C_{15}H_{22}O_4$, p.f. 165-167°C, $[\alpha]_D = +40^\circ$. Los datos de I.R. y RMN son completamente superponibles con los del isolippidiol (IV) (sección III. 2.2)

El comportamiento cromatográfico de nuestro producto natural es así mismo idéntico al de una muestra auténtica de isolippidiol.

T A B L A I

COMPUESTO	I.R. \max (cm^{-1})	R.M.N. ()
Cynaropicrina	3.600, 3400(OH) 1.760(γ -lactona α, β insaturada) 1710(éster α, β in- saturado) 1660, 1640(doble enlace)	6.32(sa, 1H, H _c); 5.98(sa, 1H, H _d); 6.20(d, 1H, J=3.5, H _b); 5.62(d, 1H, J=3.5, H _a); 5.50(sa, 1H, C ₄ =CH ₂); 5.38 (sa, 1H, C ₄ =CH ₂); 4.95(sa, 2H, C ₁₀ =CH ₂); 4.40(sa, 2H, C ₁₇ =CH ₂).
Desacilcyna- ropicrina.	3600, 3410 (OH) 1760(γ -lactona α, β insaturada) 1650, 1640(doble enlace)	6.22(d, 1H, J=3.5, H _b); 6.15(d, 1H, J=3.5, H _a); 5.41(sa, 1H, C ₄ =CH ₂); 5.32 sa, 1H, C ₄ =CH ₂); 5.10(sa, 1H, C ₁₀ =CH ₂); 4.98(sa, 1H, C ₁₀ =CH ₂); 4.45(m, 1H, H ₃); 4.00(m, 2H, H ₈ , H ₆)
13-metoxidi- hidromurica- tina	3600, 3400(OH) 1775(γ -lactona) 1650, 1620(doble enlace)	5.00(sa, 2H, C ₁₀ =CH ₂); 4.00 m, 2H, H ₃ , H ₈); 3.75 (t, 1H, J=9.5, H ₆); 3.45 (s, 3H, C ₁₃ -OCH ₃); 2.80 (m, 2H, C ₁₃ -CH ₂ -O); 1.20 (d, 3H, J=6, C ₄ -CH ₃)

III . 2 . 6. BIBLIOGRAFIA

- 1.- G. Chiurdoglu y M. Deschamps; Ind. Chim. Belge, 1, 33(1961)
- 2.- K.Lee, T. Kimura, M. Okamoto y C.M. Cowherd; Tetrahedron Letters, 14, 1054(1976)
- 3.- J. Romo, T. Ríos y L. Quiroga; Tetrahedron, 24, 6087(1968)
- 4.- A.G.González, B.G.Marrero y J.L. Bretón; Anales Real Soc. Españ. Fís. y Quím., 66 799(1971)
- 5.- M. Suchy, V. Herout y F. Sôrn, Coll. Czechoslov. Chem. Commun. 25, 507(1960)
- 6.- A. Corbella, P. Gariboldi, G. Jommi, Z. Samek, M. Holub, B. Drozd y E. Bloszyk; J. Chem. Soc. Chem. Comm. 386(1972)
- 7.- Z. Samek y M. Holub; Tetrahedron Letters, 50, 4775(1971)

III. 3 Estudio de las lactonas sesquiterpénicas de la Centaurea canariensis (var. subexpinnata).

III. 3.1. Extracción y aislamiento de los productos

Previamente se llevó a cabo una extracción a escala reducida de la parte aérea de la planta obteniéndose 3 g. de un líquido siruposo. El extracto anterior se fraccionó por cromatografía en columna en tres partes: fracción A, de baja polaridad, fracción B, de polaridad media y fracción C, más polar. La fracción B presenta en el espectro I.R. una absorción intensa en la zona de 1.760 cm^{-1} .

Posteriormente se procedió a la extracción en mayor escala de la planta según se describe en la parte Experimental. La evaporación del etanol proporcionó 86 g. de extracto que fue cromatografiado en columna de gel de sílice. Las fracciones de polaridad media (unos 6 g.) fueron cromatografiadas de nuevo en columna seca de gel de sílice, y por una cromatografía preparativa posterior, se obtuvieron dos lactonas sesquiterpénicas pertenecientes al esqueleto del guayano de cuya determinación estructural damos cuenta a continuación.

III. 3.2. Subexpinnatina (Ia)

De la cromatografía en columna seca se obtiene un aceite que se muestra como una mezcla de dos productos en placa de gel de sílice eluida con cloroformo-acetona 95:5. La cromatografía preparativa en el anterior eluyente permitió la separación de ambos productos.

La sustancia menos polar (Ia) es un aceite que presenta, en su espectro de I.R. (figura I) bandas características de grupos hidroxilo (3.600 cm^{-1}) γ -lactona α, β -no saturada (1.760

cm^{-1}), éster α, β -no saturado (1.710 cm^{-1}) y dobles enlaces (1.650 y 1.635 cm^{-1}).

Las señales más significativas que aparecen en su espectro de masas. 228 (M-102), 246(M-84), 85($\text{C}_4\text{H}_5\text{O}_2^+$) y 57 ($\text{C}_3\text{H}_5\text{O}^+$), junto con la absorción a 1.710 cm^{-1} en su espectro I.R. indican que este producto es un éster del ácido α -hidroximetilacrílico. La presencia de tres singletes anchos a 6.30, 5.95 δ (un protón cada uno) y 4.32 δ (dos protones), en su espectro de R.M.N. (figura 1) es concordante con la anterior conclusión.

El resto de las absorciones que aparecen en el espectro de R.M.N. son las siguientes: dos dobletes a 6.15 δ ($J=3,5\text{Hz}$) y 5.60 δ ($J=3\text{Hz}$), de intensidad un protón cada uno, característicos de un $\text{CH}_2=\text{C}$ en un agrupamiento α -metilen- γ -lactona; dos singletes anchos a 5.23 y 5.03 δ correspondientes a un doble enlace metilénico que por su posición puede asignarse al C-4= CH_2 ; dos singletes anchos a 5.03 y 4.90 δ propios de otro doble enlace metilénico atribuible al C-10= CH_2 ; un triplete centrado a 4.03 δ ($J=10 \text{ Hz}$) corresponde a la absorción del protón geminal al oxígeno de la lactona. La forma característica de esta señal pone de manifiesto una disposición trans-diaxial de los protones situados sobre C-5 (α), C-6 (β) y C-7 (α). La anterior característica estructural es común a todas las lactonas de este género [1]. La señal compleja a 5.14 δ que aparece solapada a las señales de los dobles enlaces exocíclicos antes comentadas, se atribuye al protón geminal al grupo éster sobre C-8.

La información extraída de los datos espectrales descritos anteriormente nos permiten proponer la estructura de 8 (α -hidroximetacrililoil)-guai-4(15), 10(14), 11, (13)-trien-6,12-olida, para la sustancia en estudio. Esta lactona no la hemos encontrado descrita en la bibliografía y le asignamos el nombre de subexpinnatina, atendiendo a la especie de la que fué aislada.

A continuación se describen una serie de transformaciones químicas a las que se sometió a la subexpinnatina, orientadas

hacia un doble objetivo: su correlación con una lactona de estructura ya establecida y el conocimiento de la reactividad química de esta molécula.

III.3.2.1. Saponificación de la subexpinnatina: desacilsubexpinnatina (Ib)

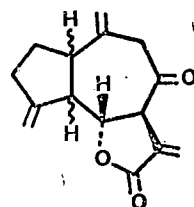
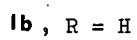
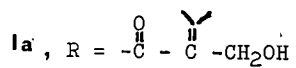
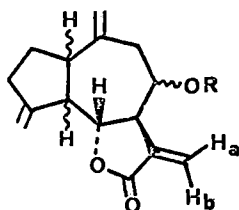
Al tratar la subexpinnatina con solución diluida de carbonato potásico se obtuvo una lactona monohidroxilada cristalina (Ib) (Cuadro I) que presenta un p.f. de 106-108°, $[\alpha]_D + 61^\circ$ y una fórmula empírica de $C_{15}H_{18}O_3$, esta última de acuerdo con el ión molecular m/e 246 que aparece en su espectro de masas.

La estructura propuesta para el compuesto (Ib) concordante con los datos obtenidos por espectroscopía I.R. y R.M.N. Así, no se observa la absorción del grupo éster en su espectro de I.R. (figura II) y las absorciones de su espectro de R.M.N. (figura II) son las siguientes: dos dobletes a 6.26 y 6.17 δ (J=3Hz) de intensidad un protón cada uno debidos a los protones metilénicos del agrupamiento α -metilen- γ -lactona, dos singletes anchos a 5.30 y 5.08 δ correspondientes al doble enlace exocíclico situado sobre C-4, dos singletes anchos a 5.05 y 4.97 δ propios del C-10=CH₂, un triplete centrado a 3.95 δ (J=10 Hz) es debido al protón situado sobre C-6, geminal al átomo de oxígeno que cierra el anillo de la lactona. La señal compleja que integra para un protón, superpuesta al H-6, la hemos atribuido al protón geminal al átomo de oxígeno sobre C-8.

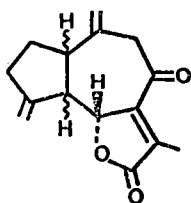
III.3.2.2. Productos de oxidación de la desacilsubexpinnatina

La posición del grupo hidroxilo en la desacilsubexpinnatina puede establecerse inequívocamente a partir del estudio de los

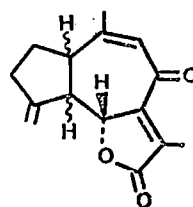
CUADRO I



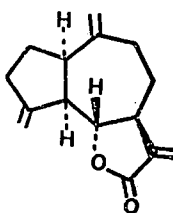
II



III



IV



V

productos de oxidación de dicha lactona, con el reactivo de Jones. La oxidación cuidadosa de (Ib) conduce a un producto inestable (II), $C_{15}H_{16}O_3$ (M^+244), en cuyo espectro de R.M.N. (ver la Sección IV.3.) realizado inmediatamente después de ser recuperado de la reacción, se observan los dos dobletes (J= 3Hz) a 6.55 y 6.10 δ , característicos de los protones de un doble enlace metilénico sobre C-11. El protón lactónico aparece como un triplete centrado a 4.15 δ (J=10Hz), mientras que la señal aguda, de intensidad dos protones que se observan a 3.35 δ puede asignarse a los protones sobre C-9. En efecto, esta última señal es similar a la que aparece en el espectro de R.M.N. de la dehidrodihidroligustrina (XIX) y que Romo y colaboradores asignan a los hidrógenos en dicha posición [2]

Cuando se intenta purificar la lactona (II) mediante cromatografía en columna o cromatografía preparativa, dicho compuesto se transforma en las cetolactonas insaturadas (III) y (IV).

La lactona (III) presenta un máximo a 238 nm ($\epsilon = 10.000$) en su espectro U.V. En su espectro I.R. (ver la Sección IV.3.) aparecen bandas a 1.690 y 1.645 cm^{-1} debidas a una cicloheptanona α, β - no saturada. Su espectro de R.M.N. (figura IIIa) muestra tres singletes anchos a 5.30, 5.18 y 5.10 δ , con una intensidad de cuatro protones y que corresponden a dos dobles enlaces metilénicos: C-4= \underline{CH}_2 y C-10= \underline{CH}_2 , respectivamente. El protón lactónico resuena como un doblete (J=10 Hz), centrado a 5.00 δ . Dicho doblete se encuentra a su vez desdoblado por acoplamiento homoalílico (J= 1Hz) con el metilo vinílico situado sobre C-11, según pudo comprobarse mediante experimentos de doble resonancia. En efecto, la irradiación del doblete a 5.00 δ transforma la señal ancha que aparece a 2.21 δ en un singlete nítido. Esta última señal corresponde al grupo metilo situado sobre C-11. También, la irradiación de dicho grupo metilo con vierte en un doblete nítido la señal del protón lactónico so-

bre C-6. Por último, los hidrógenos situados en C-9 dan origen a dos dobletes centrados a 3.53 y 3.27 δ ($J=13\text{Hz}$).

El producto (IV) es un sólido cristalino que no pudimos llevar a p.f. constante debido a que no pudimos eliminar la impureza de (III). Su espectro I.R. presenta absorciones de δ -lactona α,β no saturada (1760 cm^{-1}), cicloheptenona (1.662 cm^{-1}) y dobles enlaces ($1630, 1615\text{ cm}^{-1}$).

En su espectro de R.M.N. (Figura IIIb) se observan las siguientes señales: un cuadruplete ($J=1\text{Hz}$) a 6.16δ debido al protón vinílico situado en C-9, un par de cuartetos a 5.00δ ($J=10\text{ Hz}$), $J' = 1\text{Hz}$), uno de los cuales está superpuesto al singlete ancho situado a 5.15δ , se atribuyen al protón geminal al oxígeno de la lactona. La señal ya comentada a 5.15δ , que integra para dos protones es debida al doble enlace exocíclico $\text{C-4}=\text{CH}_2$. En la zona alta del espectro se observan dos señales: un singlete ancho de intensidad tres protones, a 2.22δ adscrito al metilo vinílico en C-11 y otro singlete a 2.18δ correspondiente al metilo sobre C-10.

III.3.2.3. Configuración de la subexpinnatina en los centros C-1, C-5, C-6 y C-7: correlación con la dehidro-costuslactona (V)

La subexpinnatina posee una característica estructural poco frecuente dentro de la Tribu Cynareae a la que pertenece: la ausencia de funcionalización en la posición C-3. En efecto, todas las guayanolidas aisladas del género Centaurea (Cynareae) presentan una función hidroxilo o cetona en dicha posición [1]. Por otra parte, dentro de la Tribu Cynareae, solamente se ha aislado una guayanolida sin funcionalizar en la posición C-3; la dehidrocostuslactona (V) [3]. Este hecho supuso ciertas dificultades en orden a correlacionar la subexpinnatina con una guayanolida de estructura referible.

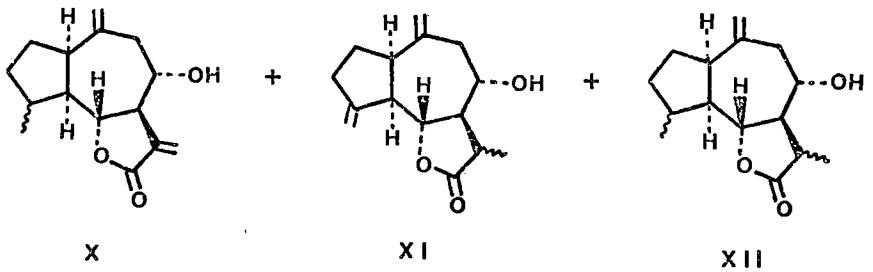
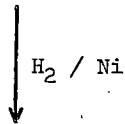
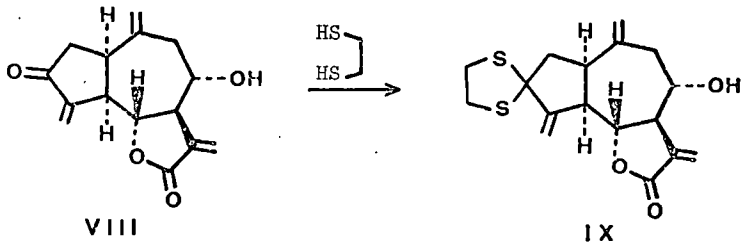
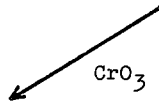
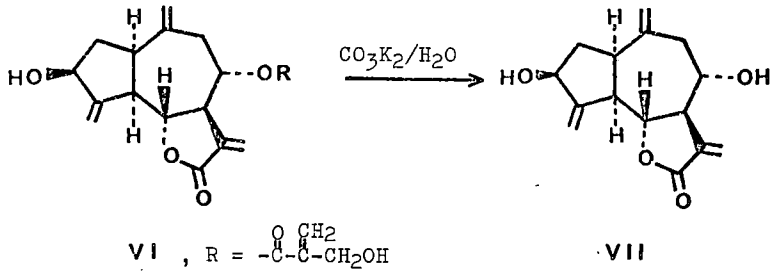
Así, un intento de transformar la cynaropicrina (VI) [4] en la desacilsubexpinnatina (Esquema I) no dió resultado pues to que la reducción del tioketal (IX) condujo a una mezcla de dihidro y tetrahidroderivados (X), (XI) y (XII), muy difícil de separar.

La configuración en C-1, C-5, C-6 y C-7 de la dehidrocotuslactona ha sido establecida sin ambigüedad [5]. Dada su semejanza estructural con la desacilsubexpinnatina tratamos de correlacionar entre sí ambas sustancias, mediante las transformaciones que se presentan en el esquema II.

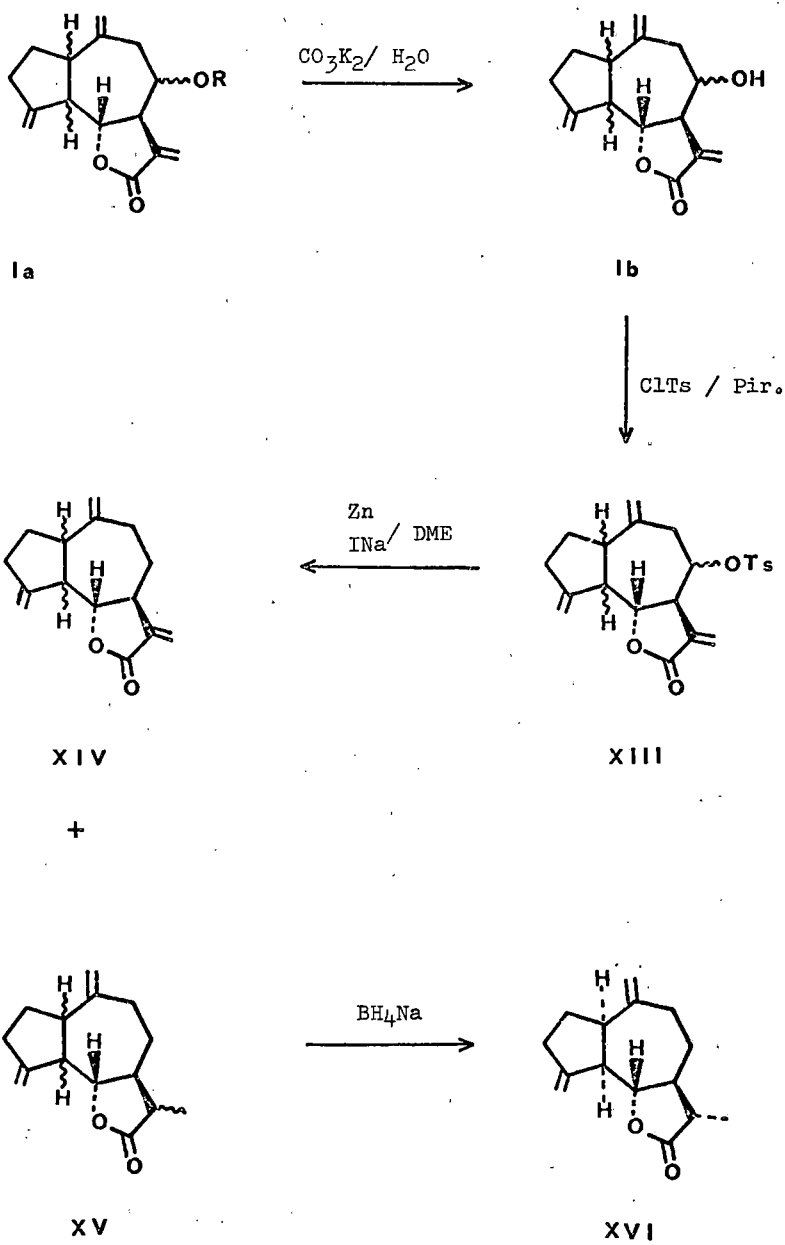
La saponificación de la subexpinnatina condujo a la desacilsubexpinnatina (Ib), que fué posteriormente esterificada con cloruro de tosilo. El tosilato (XIII), p.f. 166°-167°, $[\alpha]_D + 53^\circ$, 228 (M^+ -ácido), presenta las siguientes señales en su espectro de R.M.N. (figura IVa): un par de dobletes ($J=3\text{Hz}$) centrados a 6.25 y 5.90 δ , producidos por el doble enlace metilénico conjugado al grupo carbonilo de la lactona, tres singletes anchos a 5.28, 5.03 y 4.80 δ (cuatro protones), debidos a dos dobles enlaces exocíclicos situados sobre C-4 y C-10 respectivamente, un triplete ($J=10\text{ Hz}$) centrado a 3.95 δ , correspondiente al protón geminal al átomo de oxígeno de la lactona. Las señales características del grupo paratoluensulfonato aparecen a 7.85 y 7.35 δ como dos dobletes ($J=8.5\text{Hz}$) y un singlete a 2.45 δ .

El tosilato (XIII) se sometió a reflujo en 1,2-dimetoxietano en presencia de ioduro sódico y zinc activado [6]. Esta reacción transcurre con muy bajo rendimiento, obteniéndose un aceite que por capa fina de gel de sílice impregnada de nitrato de plata se comporta como una mezcla de dos productos. El espectro de R.M.N. (figura IV b) pone de manifiesto que los componentes de dicha mezcla poseen las estructuras (XIV) y (XV). Así, se obser

ESQUEMA I



ESQUEMA II



van un par de dobletes ($J=3\text{Hz}$) centrados a 6.21 y 5.49 δ , asignables a los protones del agrupamiento α -metilén- γ -lactona, dos singletes anchos a 5.25 y 5.04 δ pertenecientes al $\text{C-4}=\text{CH}_2$, dos singletes a 4.87 y 4.82 δ propios del $\text{C-10}=\text{CH}_2$ y un triplete ($J=10\text{Hz}$) centrado a 3.96 δ asignable al protón situado sobre C-6. Esta parte del espectro es superponible con el de la dehidrocostuslactona (V).

El doblete que aparece en la zona alta del espectro (1.18 δ , $J=7\text{Hz}$) es propio de un metilo situado en posición α al carbonilo de la lactona, aún cuando su integral es inferior a tres protones, por lo que se asignó al metilo sobre C-11 del componente minoritario (XII).

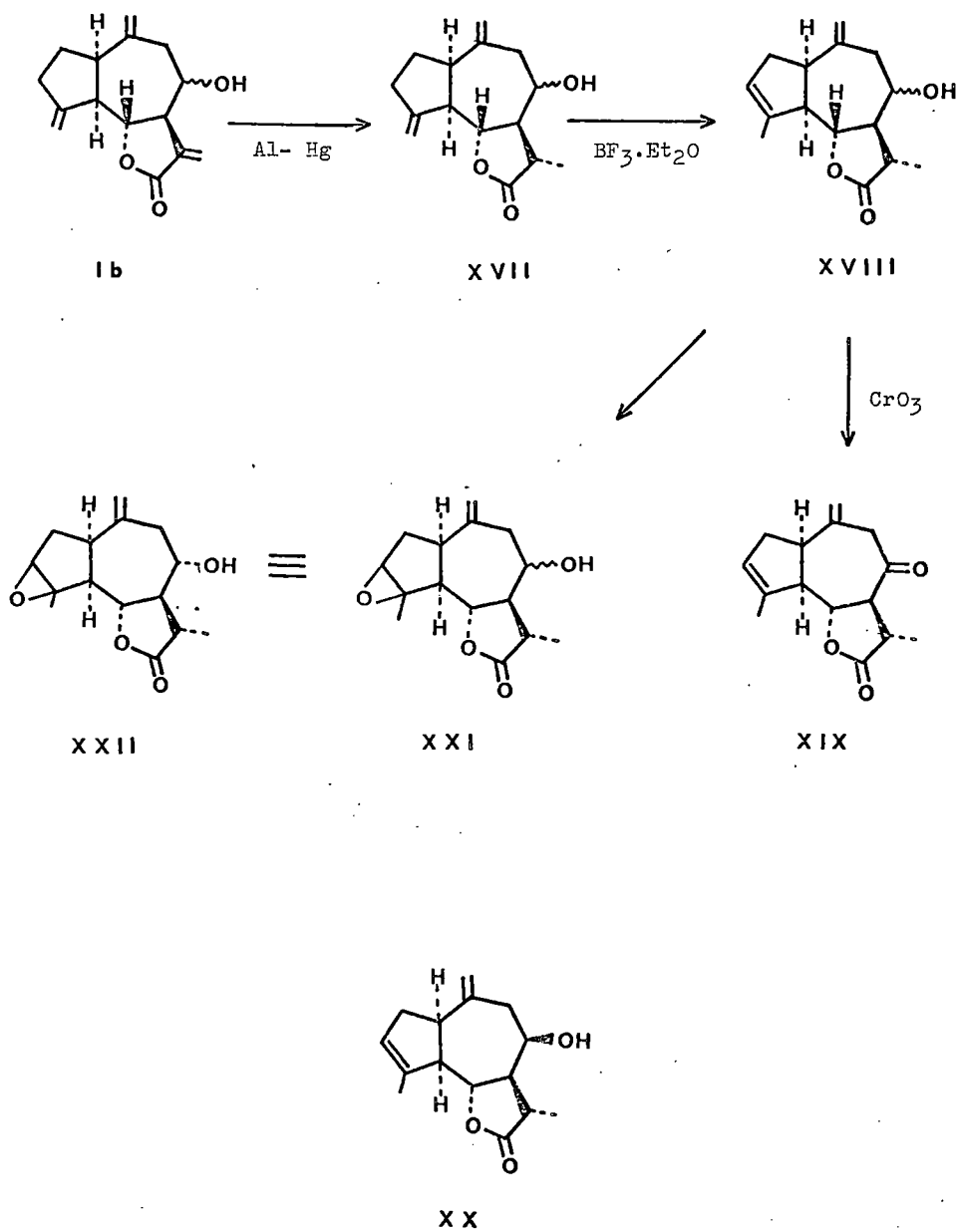
Cuando la mezcla anterior se trata con borohidruro sódico, se obtiene un aceite cuyo espectro I.R. es idéntico al del la dihidrodehidrocostuslactona (XVI) [7] . (figura V). La obtención de este último producto a partir de la subexpinnatina, permite establecer la configuración de los centros C-1, C-5, C-6 y C-7, quedando por determinar la configuración sobre C-8.

III. 3.2.4 Configuración de la subexpinnatina: correlación con la viscidulina C (XXII)

En orden a establecer la estructura y estereoquímica de la subexpinnatina mediante correlación química, la estrategia seguida consistió en funcionalizar la posición C-3. Para ello se llevó a cabo la secuencia de reacciones que se describe a continuación (Esquema III):

La subexpinnatina se hidrolizó en medio alcalino y el desacilderivado obtenido (Ib) fué tratado posteriormente con amala de aluminio en etanol [8] . Se obtuvo así la dihidrodesacil-subexpinnatina (XVII), p.f. 135-137 $^{\circ}$, $[\alpha]_D + 36^{\circ}$, $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{O}_3$, $M+$ 248. Su espectro I.R. (figura VI) muestra bandas debidas a gru-

ESQUEMA III



pos hidroxilo (3.600 y 3.500 cm^{-1}), γ -lactona (1770 cm^{-1}) y dobles enlaces (1650 cm^{-1}). En su espectro de R.M.N. se observan dos singletes anchos a 5.25 y 5.10δ debidos al $\text{C-4}=\text{CH}_2$, dos singletes anchos a 5.00 y 4.95δ propios del $\text{C-10}=\text{CH}_2$, un triplete ($J=10\text{Hz}$) centrado a 3.95δ debido al protón situado sobre el átomo de oxígeno de la lactona, un multiplete a 3.80δ asignado al protón geminal al grupo hidroxilo situado sobre C-8 y, finalmente, un doblete ($J=7\text{Hz}$) centrado a 1.42δ debido a la resonancia del grupo metilo sobre C-11.

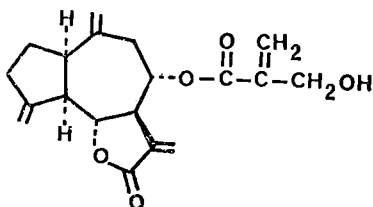
La hidroxilactona (XVII) fué tratada posteriormente con trifluoruro de boro eterato en benceno [5], obteniéndose una sustancia cristalina (XVIII) de p.f. $109-111^\circ$, $[\alpha]_D^{25} + 89^\circ$, M^+ 248 en cuyo espectro I.R. (figura VII) se observan bandas características de grupo hidroxilo (3600 cm^{-1}), γ -lactona (1770 cm^{-1}) y dobles enlaces (1650 cm^{-1}).

Los datos de su espectro de R.M.N. ponen de manifiesto que se ha producido la isomerización selectiva del doble enlace *exo* cíclico situado en C-4, a la posición endocíclica (C-3)-(C-4). Así, se observa un cuartete ($J=1\text{Hz}$) de intensidad un protón a 5.55δ correspondiente al protón vinílico situado sobre C-3, un singlete ancho a 4.97δ atribuible al $\text{C-10}=\text{CH}_2$, un triplete ($J=10\text{Hz}$), centrado a 3.97δ característico del protón geminal al oxígeno de la lactona, un multiplete a 3.75δ debido al protón situado sobre C-8, un doblete ($J=10\text{Hz}$) a 1.80δ asignable al metilo vinílico sobre C-4 y un doblete ($J=7\text{Hz}$) a 1.40δ correspondiente al grupo metilo sobre C-11.

La oxidación con reactivo de Jones de (XVIII) conduce a una cetona cuyos datos espectroscópicos y constantes físicas son asignables a los descritos por Romo y colaboradores para la dehidrodihidroliustrina (XIX) [2]. Este hecho confirma la asignación que anteriormente se dió para la configuración de los centros C-1, C-5, C-6 y C-7 de la subexpinnatina.

La estructura (XVIII) es igual a la propuesta por Romo para la dihidroligustrina (XX), sin embargo, los puntos de fusión y las actividades ópticas de ambos productos son diferentes. Esto quiere decir que ambas lactonas son epiméricas en C-8, correspondiéndole por tanto a (XVIII) la configuración α para el grupo hidroxilo. Resulta así una configuración α para el grupo acilo de la subexpinnatina.

La prueba definitiva de la configuración absoluta de la subexpinnatina se obtuvo al tratar la lactona (XVIII) con ácido m- cloroperbenzónico, ya que se obtuvo el compuesto (XXI) que resultó ser idéntico a la viscidulina C (XXII) (figura VIII) una guayanolida aislada por Shafizadeh y Bhadane de la Artemisia cana ssp. viscidula [9]. Se concluye pues que la estructura de la subexpinnatina es la representada por la estructura (XXIII).



XXIII

III.3.3. Aguerina B

La sustancia más polar, separada por cromatografía preparativa, la obtuvimos como un aceite, tiene de EM, 330 (M^+), 244 ($M^+ - C_4H_6O_2$), $[\alpha]_D = +96^\circ$. Su comportamiento cromatográfico es idéntico al de una muestra auténtica de aguerina B, lactona sesquiterpénica obtenida en nuestro laboratorio con anterioridad [10].

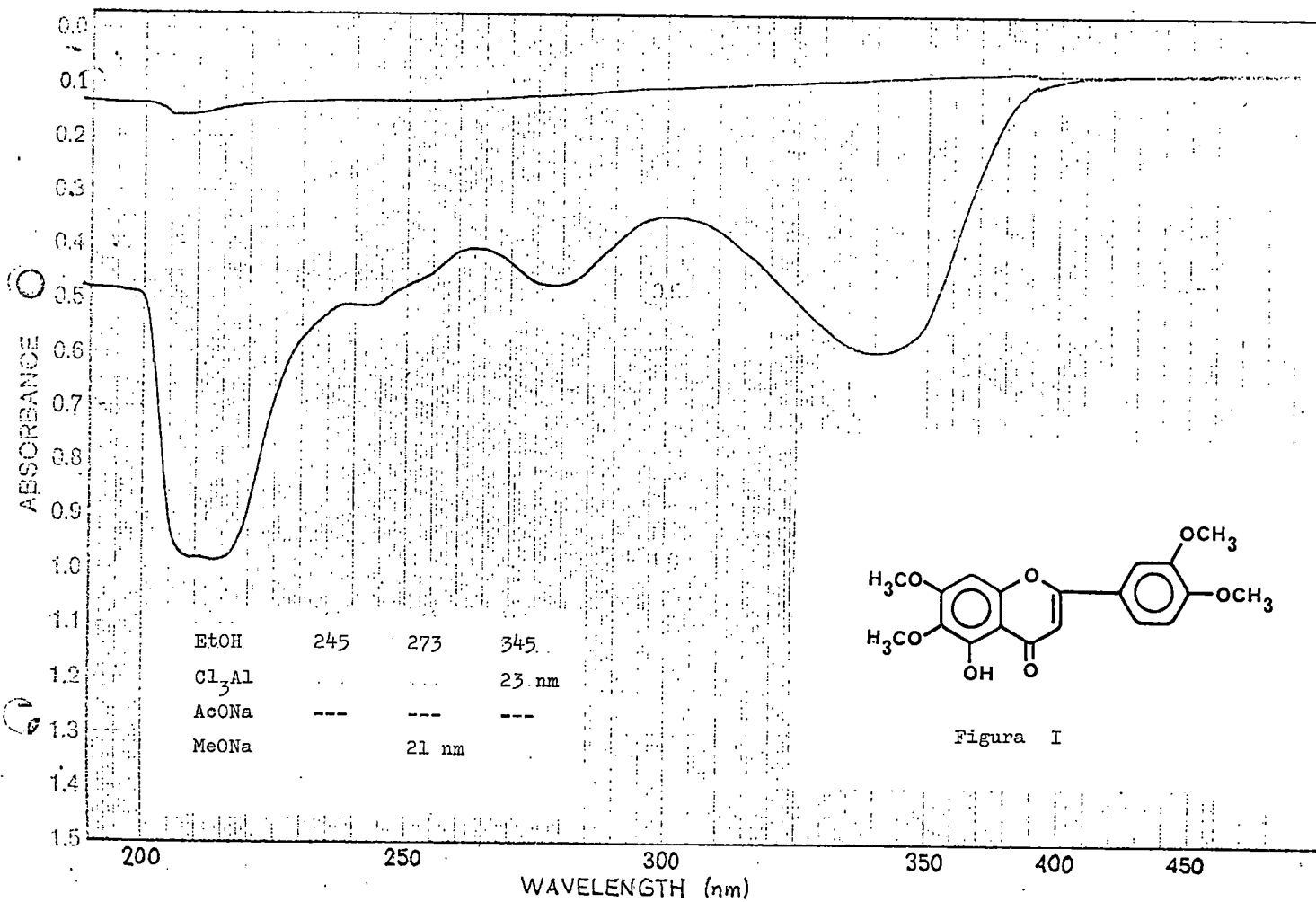
Los espectros de I.R. y R.M.M. de esta sustancia (ver la Sección IV.3), son totalmente superponibles a los de la aguerina B.

III . 3 .4. BIBLIOGRAFIA

- 1.- A.G.González, J.Bermejo y G.M. Massanet; Rev. Latinoamer. Quím., 8, 176 (1977)
- 2.- J. Romo, T. Ríos y L. Quijano; Tetrahedron, 24, 6087 (1968)
- 3.- P.A. Bawdekar, A.S. Joshi, R.S. Kulkarni, G.H. Rao, G.R. Kelkar y S.C. Bhattacharyya; Perf. Ess. Oil Rec. 115(1960)
- 4.- Z. Zamek, M. Holub, B. Drozd, G. Iommi, A. Corbella y P. Gariboldi; Tetrahedron Letters, 4775 (1971)
- 5.- L.A. Macaria, M. García y A. Rabi; J. Org. Chem., 42, 4207(1977)
- 6.- Y. Fujimoto, T. Tatsuno y R. Kenkiusho; Tetrahedron Letters, 3325 (1976)
- 7.- S.B. Mathur, S.V. Hiremath, G.H. Kulkarni, G.R. Kelkar y S.C. Bhattacharyya; Tetrahedron, 21, 3575 (1965)
- 8.- A. Romo de Vivar, A. Cabrera, A. Ortega y J. Romo; Tetrahedron, 23, 3903 (1967)
- 9.- F. Shafizadeh y N.R. Bhadane; J. Org. Chem. 37, 3168 (1972)
- 10.- A. G. González, J. Bermejo, I. Cabrera, G.M. Massanet, H. Mansilla y A. Galindo; Phytochemistry, 17, 955 (1978)

IV. ESPECTROS

IV.1. Espectros de la Sección III.1
(*Artemisia lanata*)



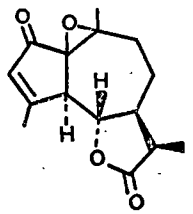
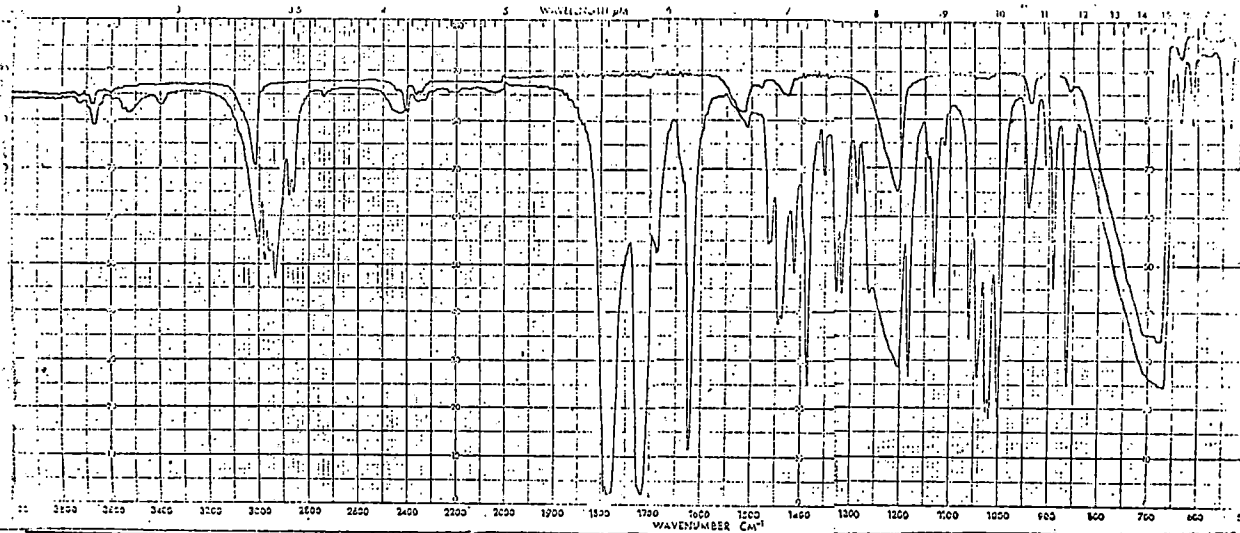
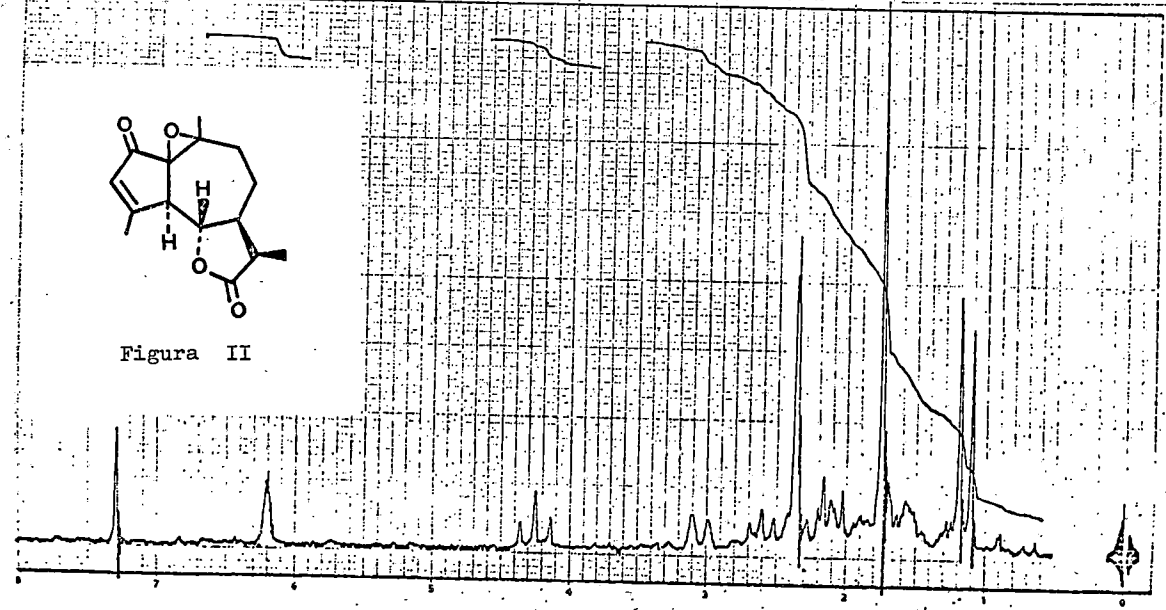


Figura II



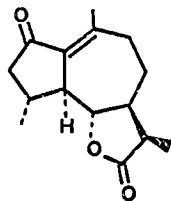
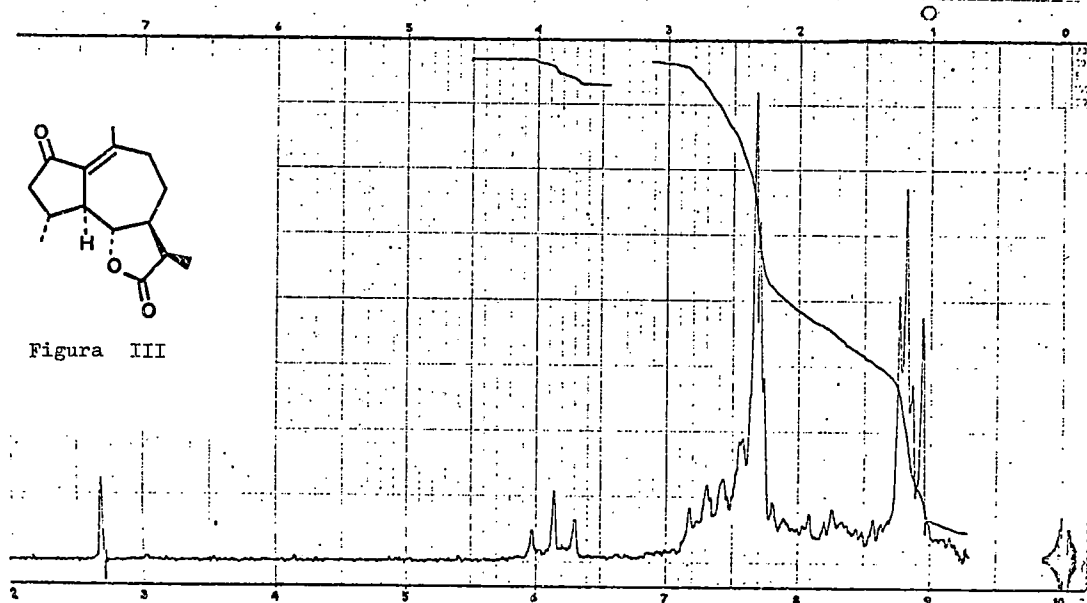
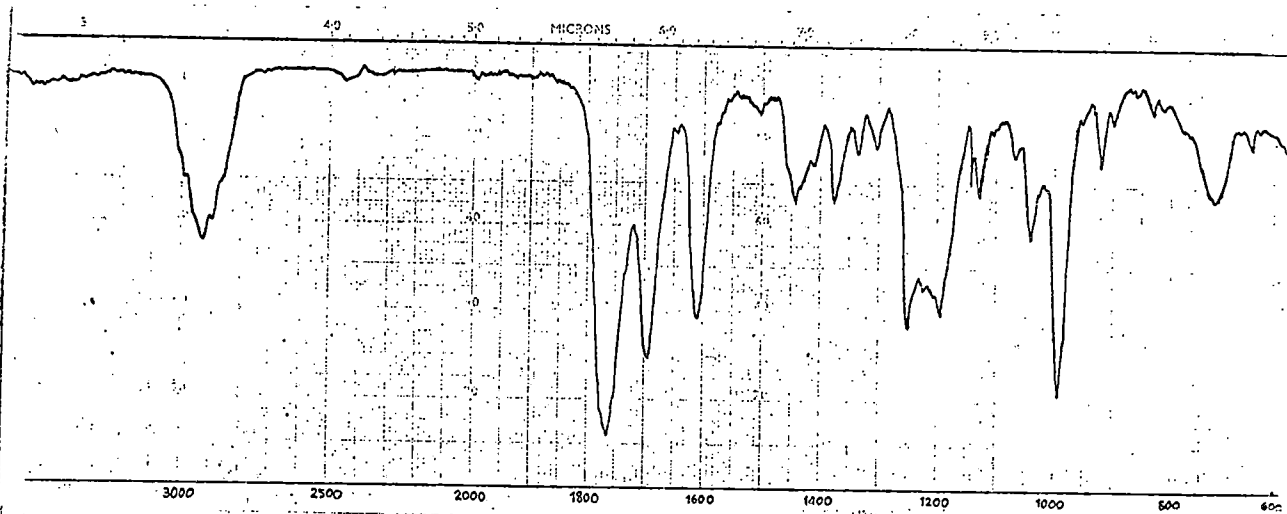


Figura III

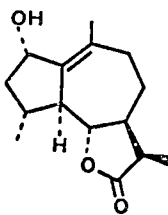
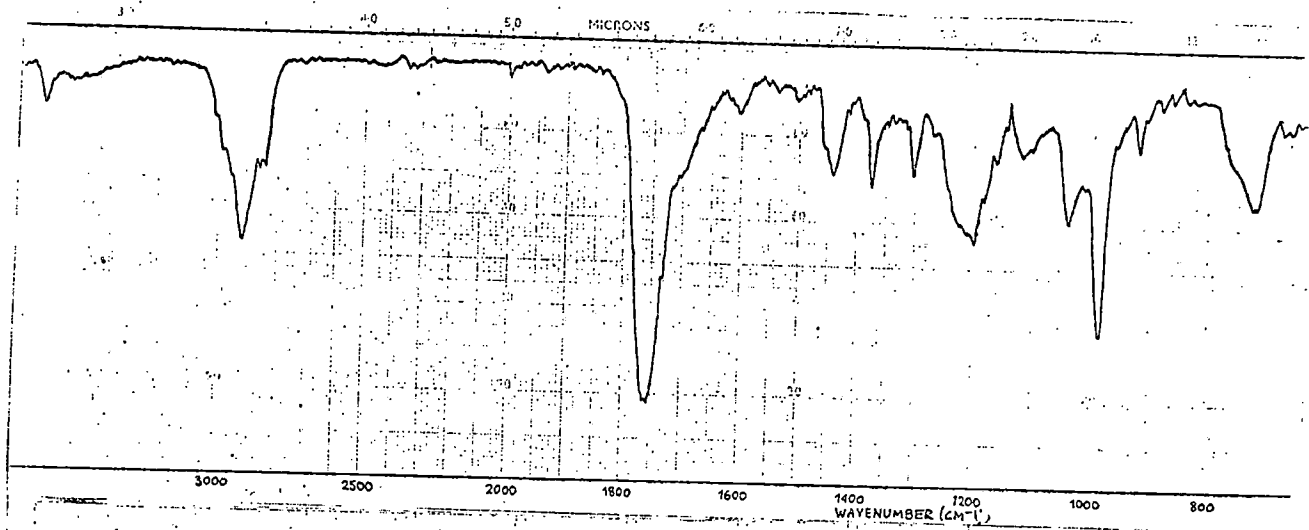
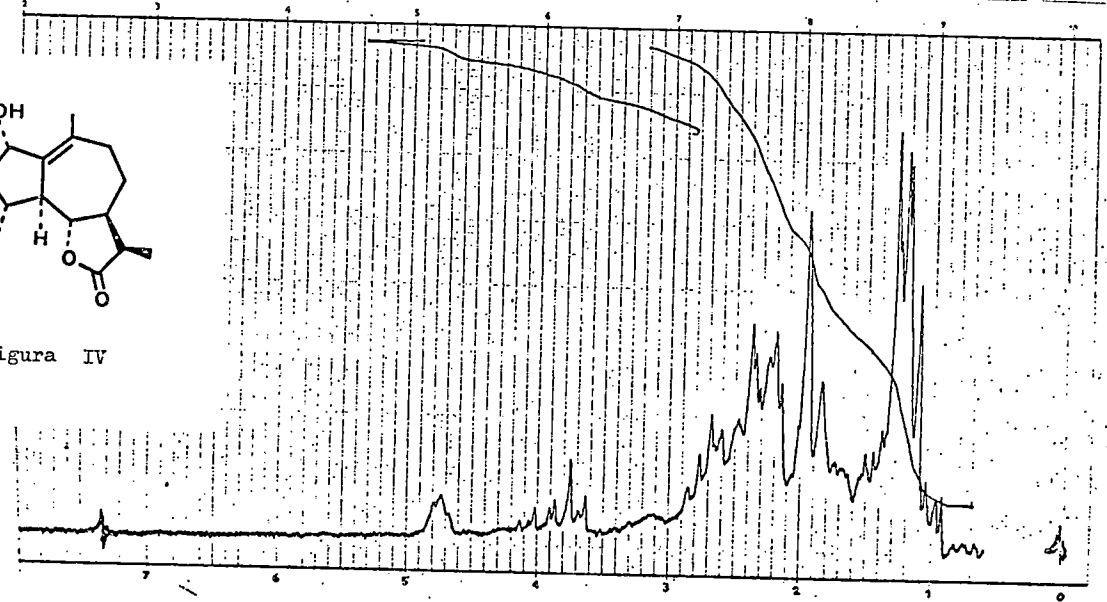


Figura IV



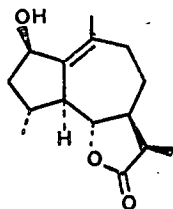
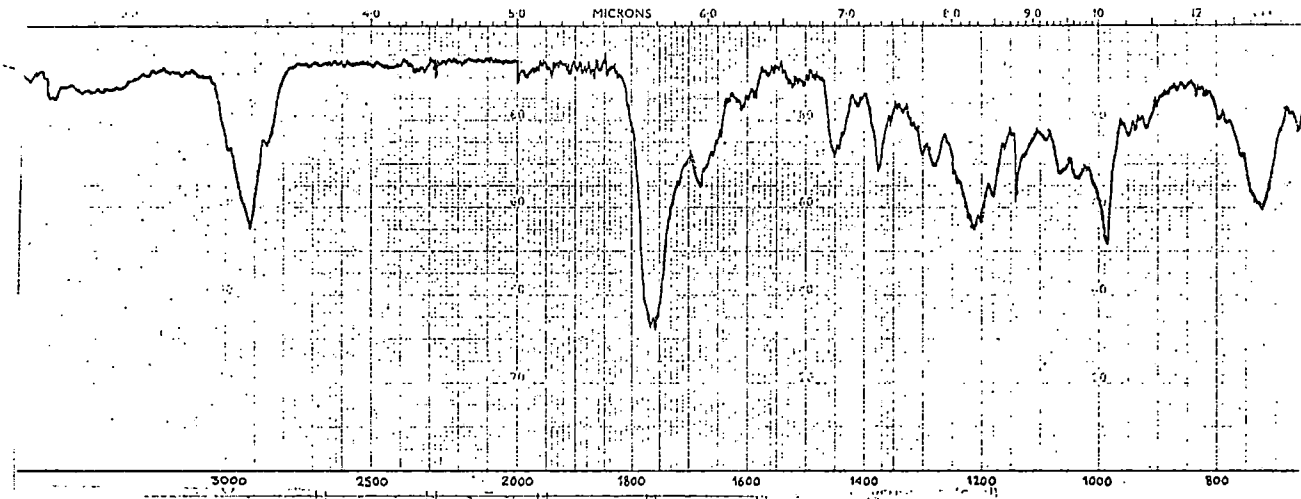
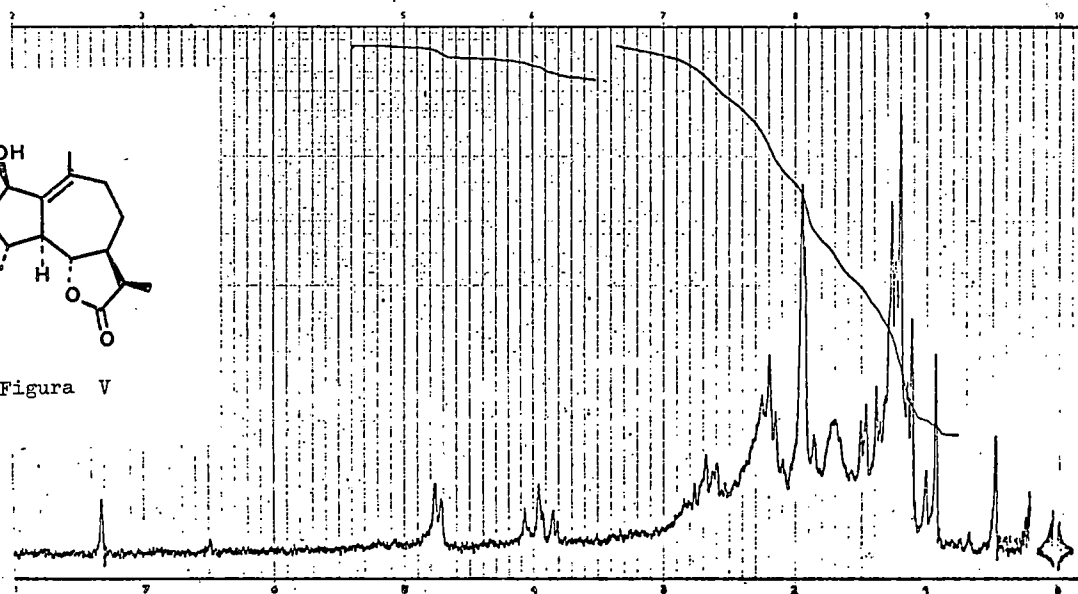


Figura V



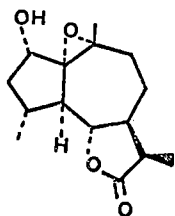
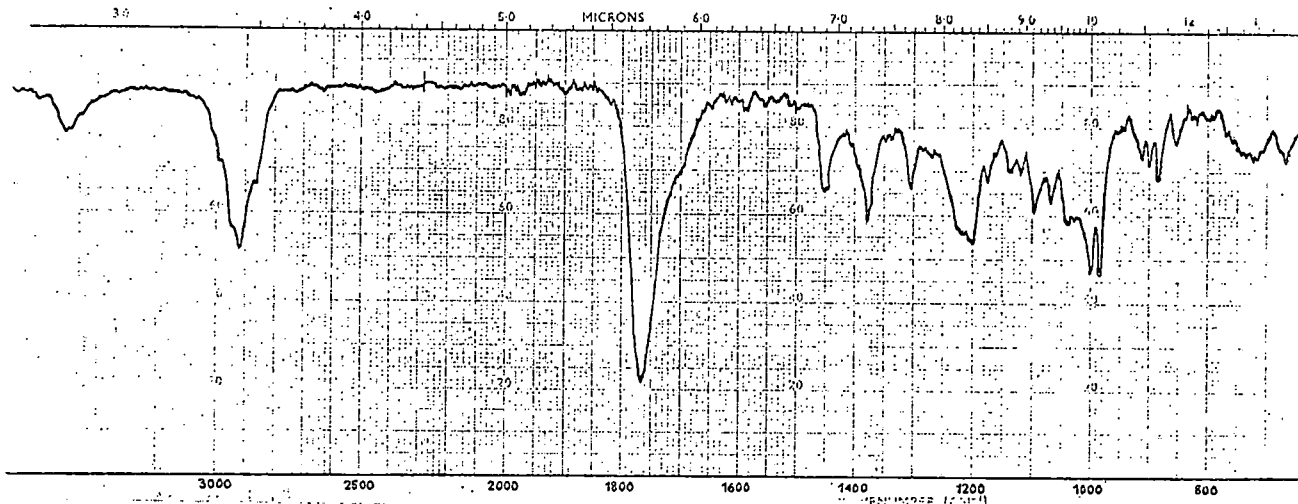
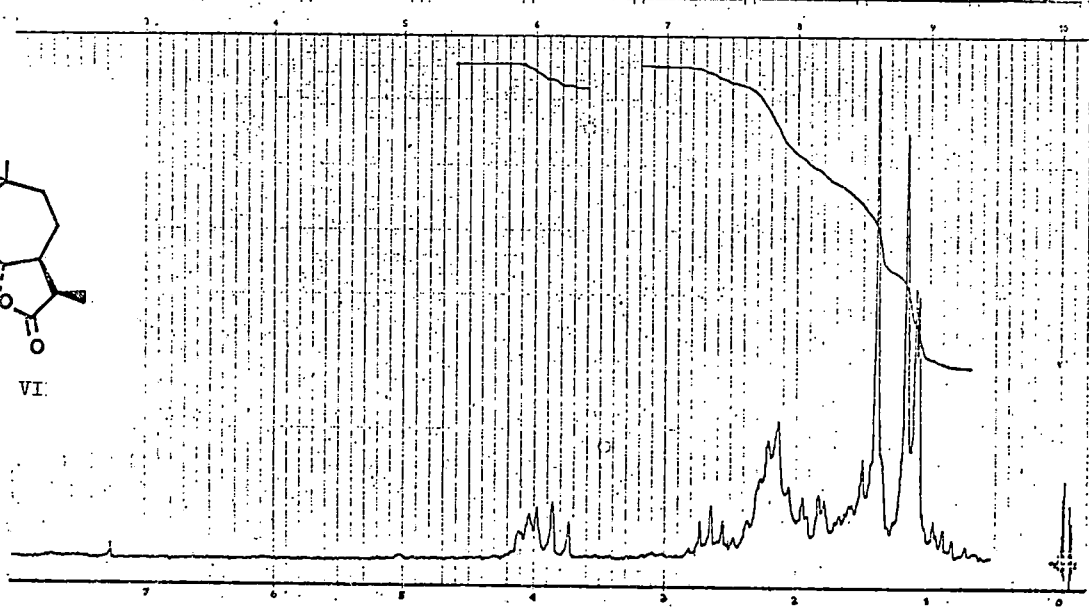


Figura VI



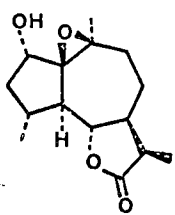
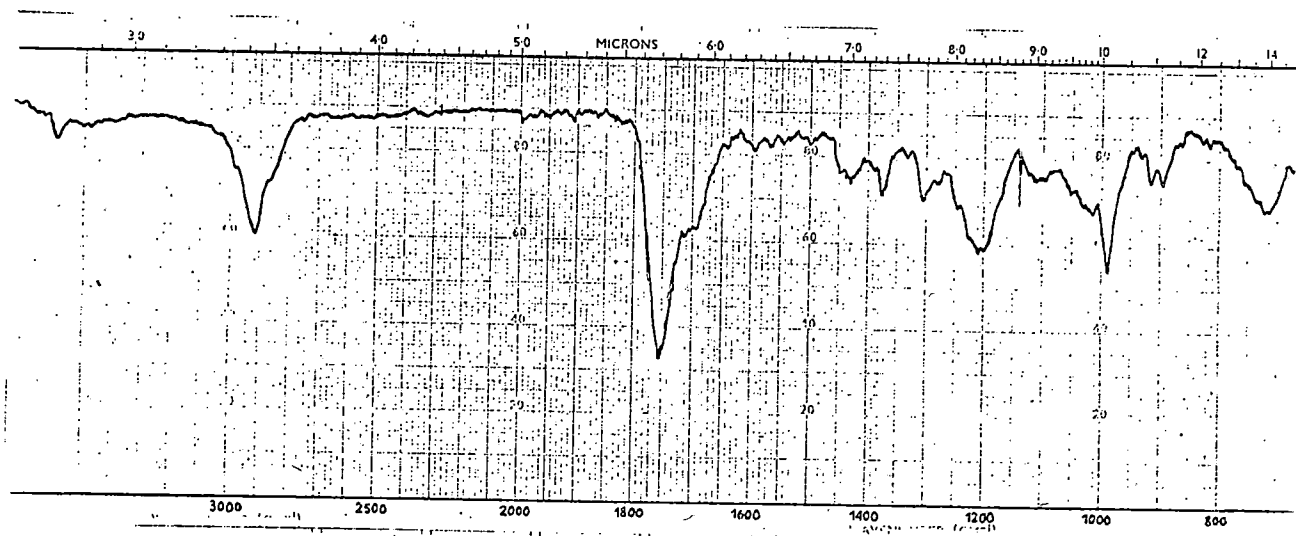
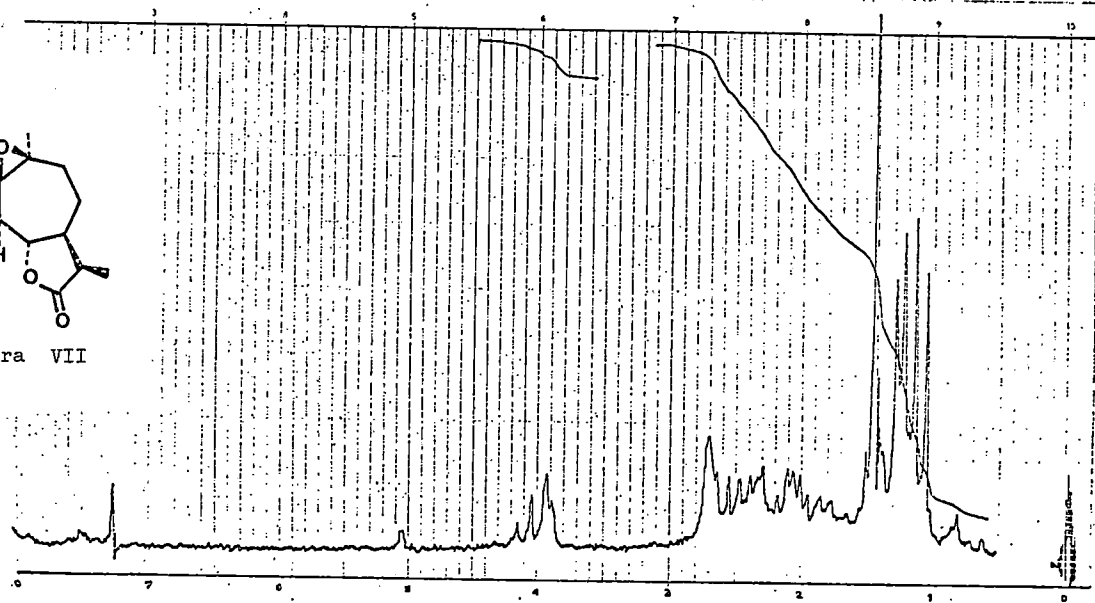


Figura VII



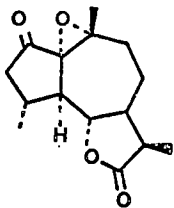
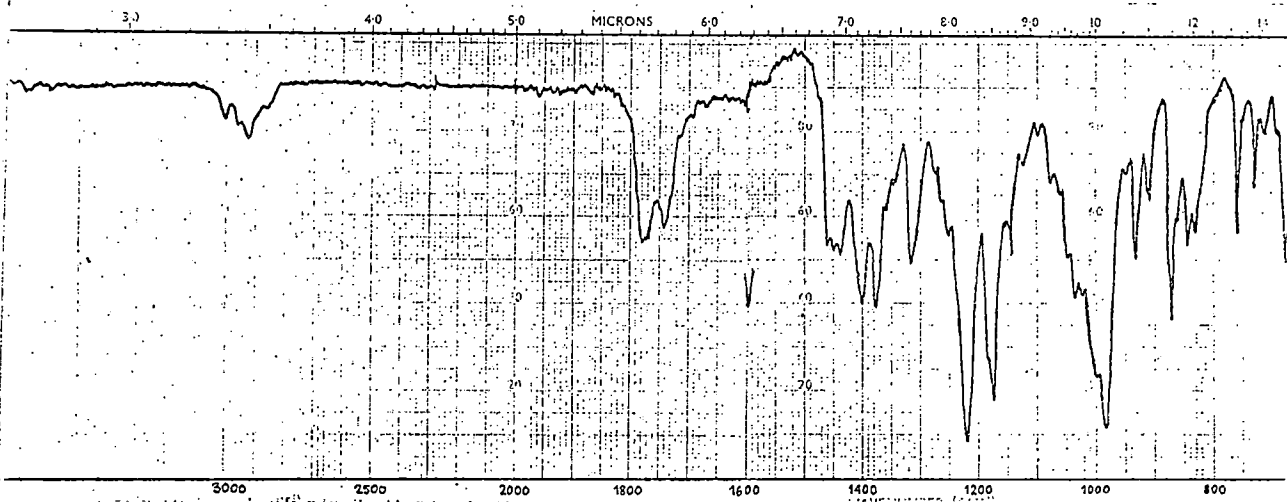
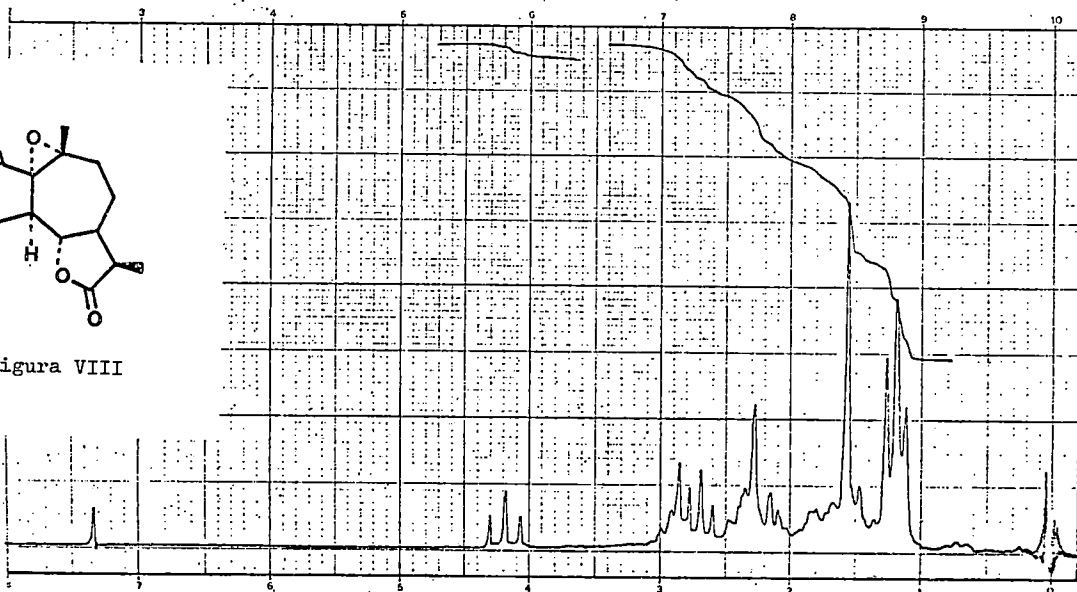


Figura VIII



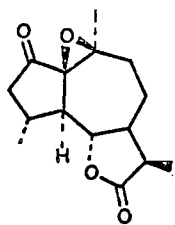
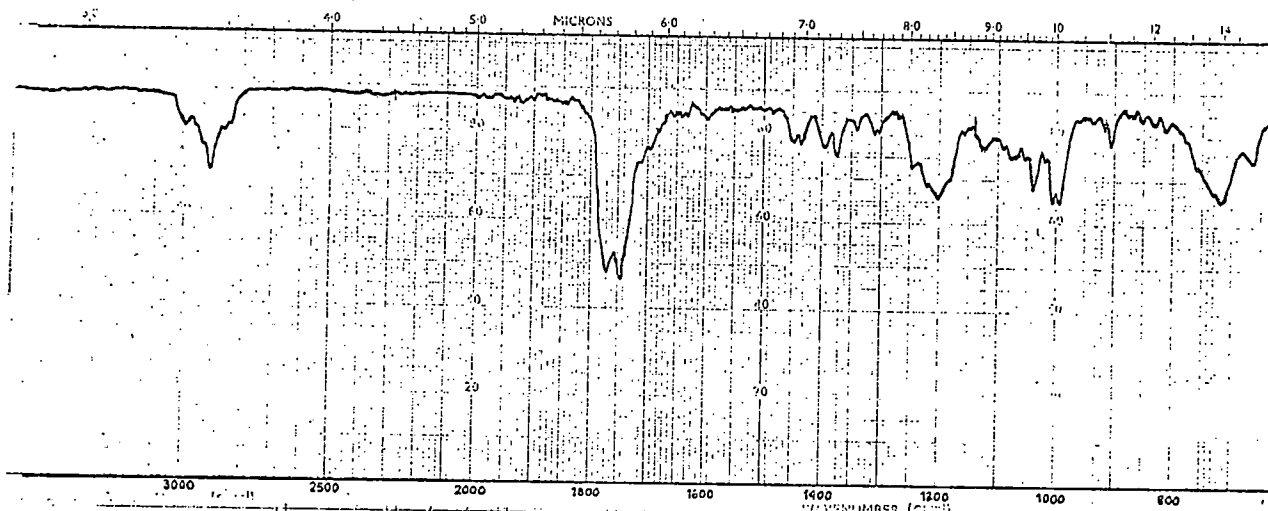
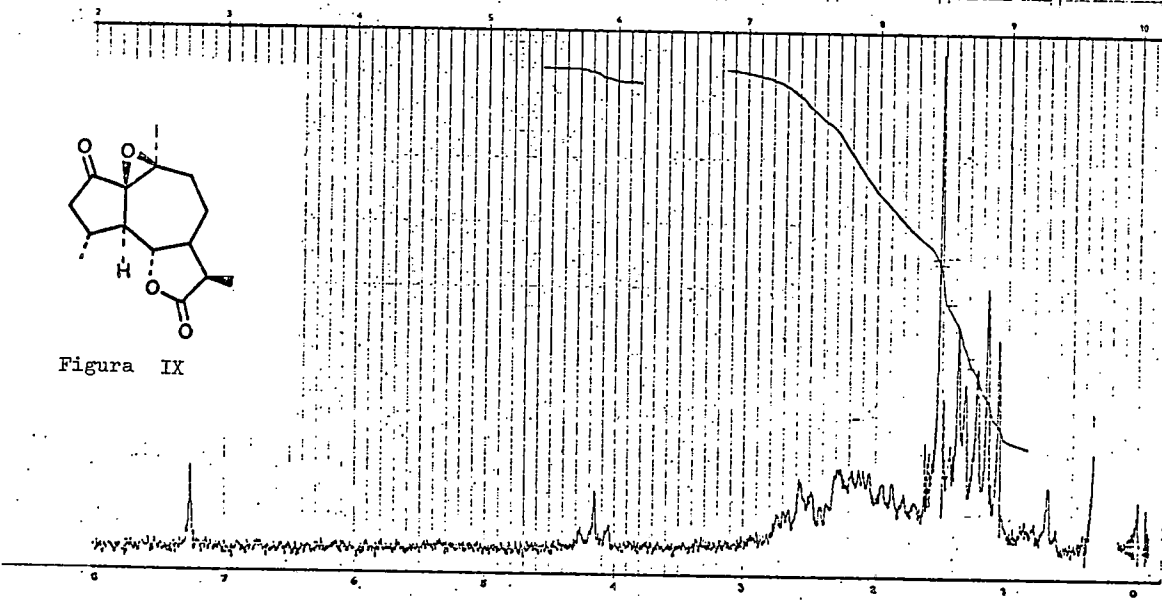


Figura IX



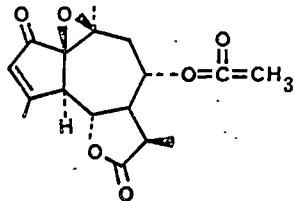
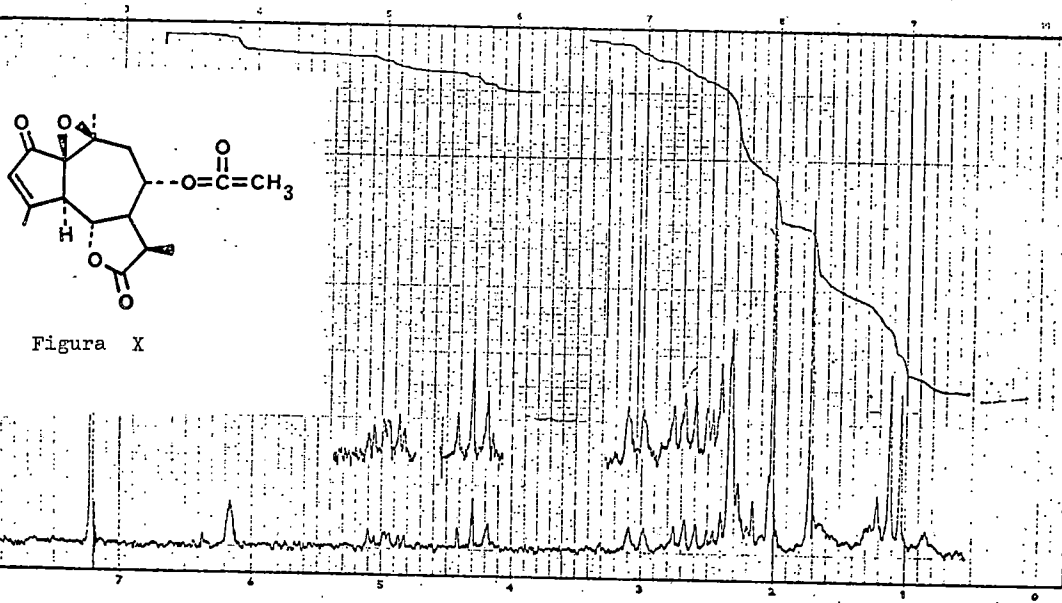


Figura X

IV.2. Espectros de la Sección III.2
(*Amberboa muricata*)

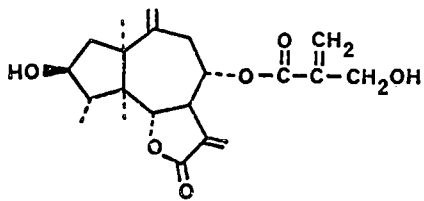
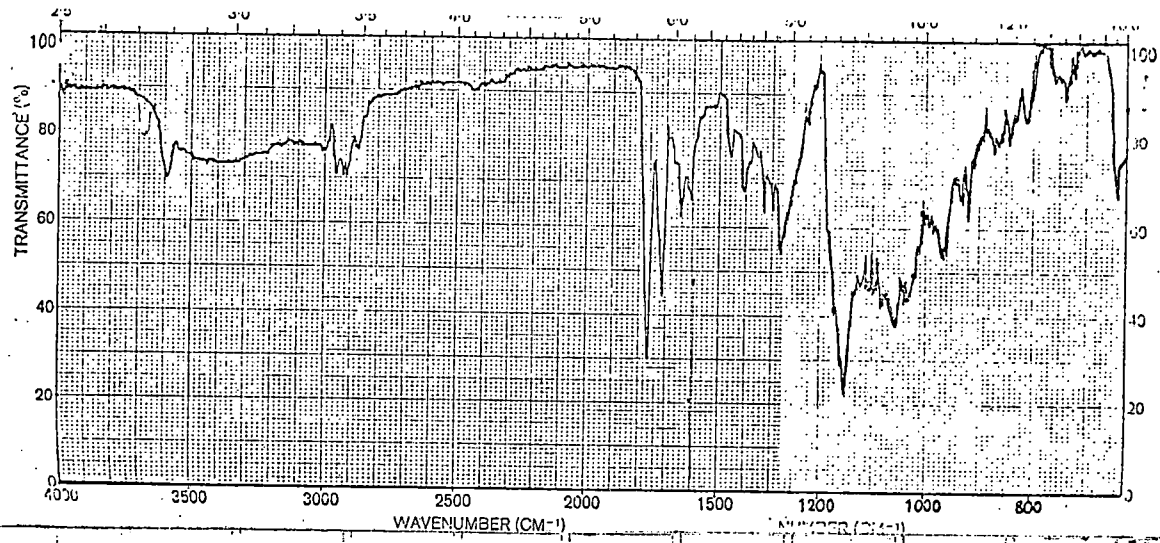
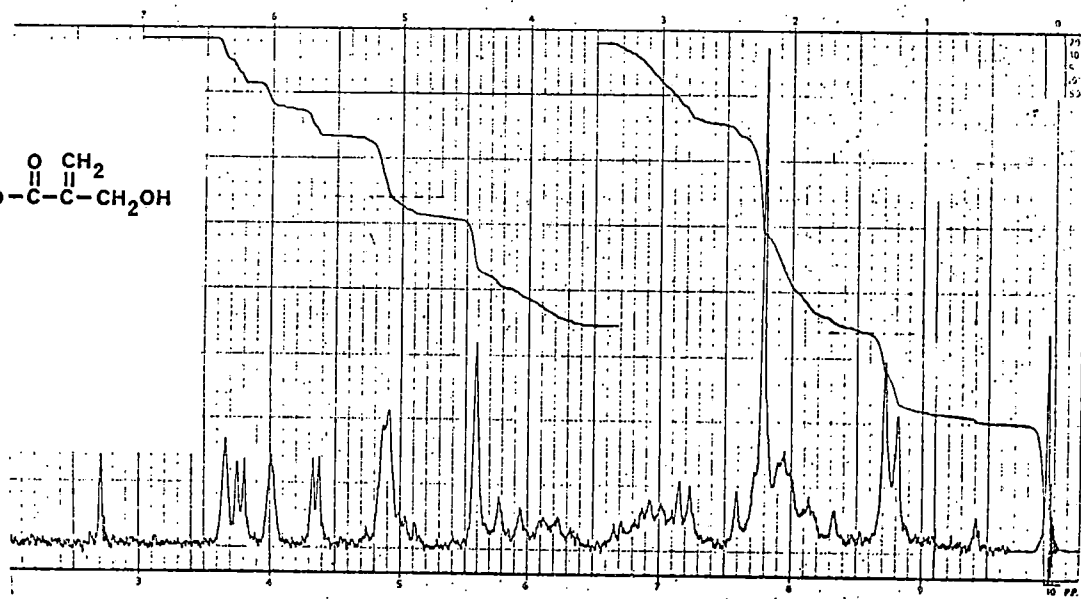


Figura I



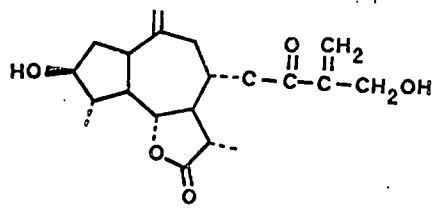
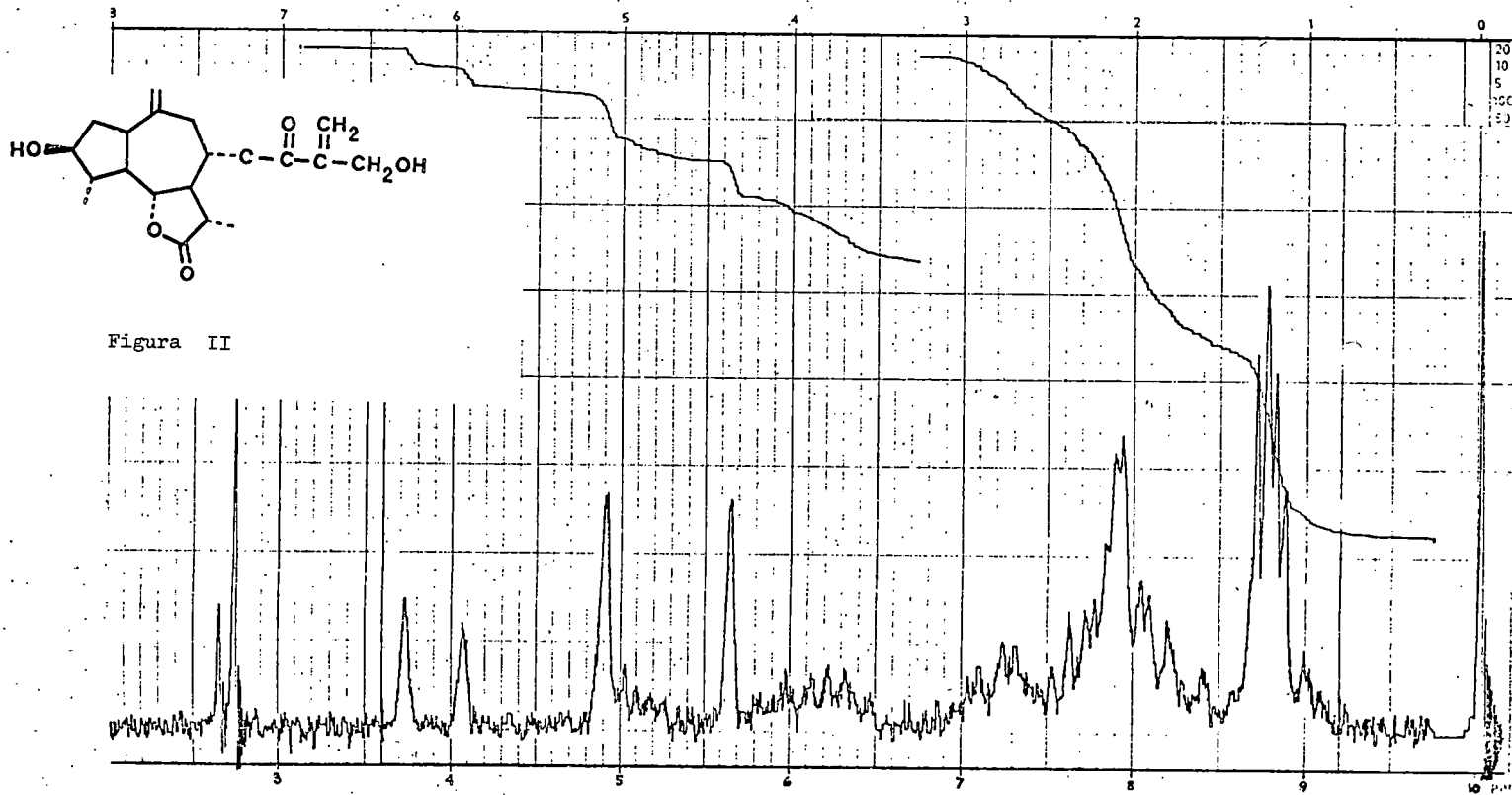


Figura II

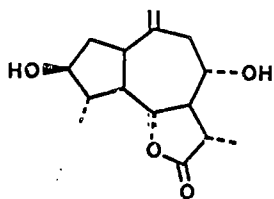
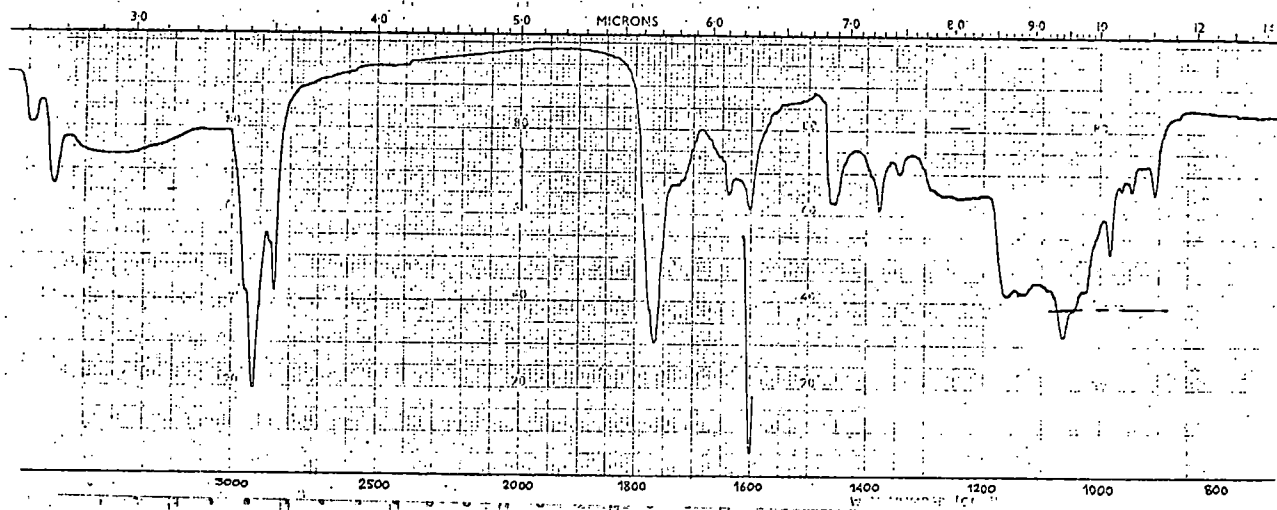
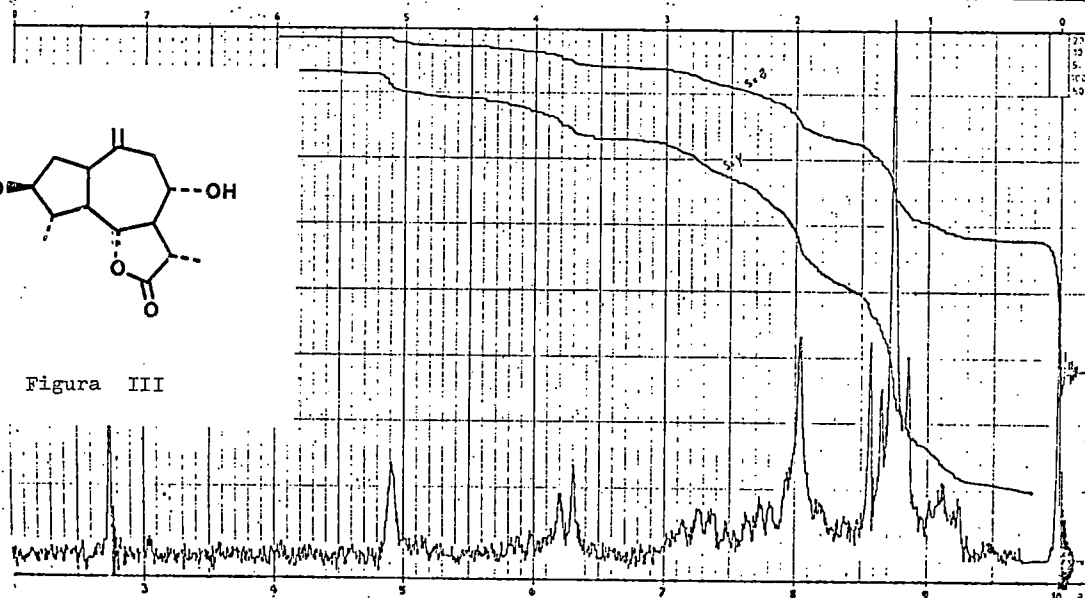


Figura III



IV.3. Espectros de la Sección III.3.
(*Centaurea canariensis* var. *subexpinnata*)

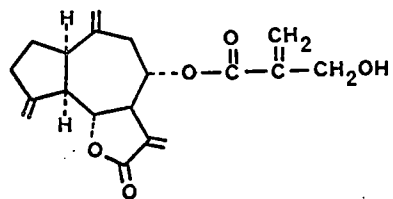
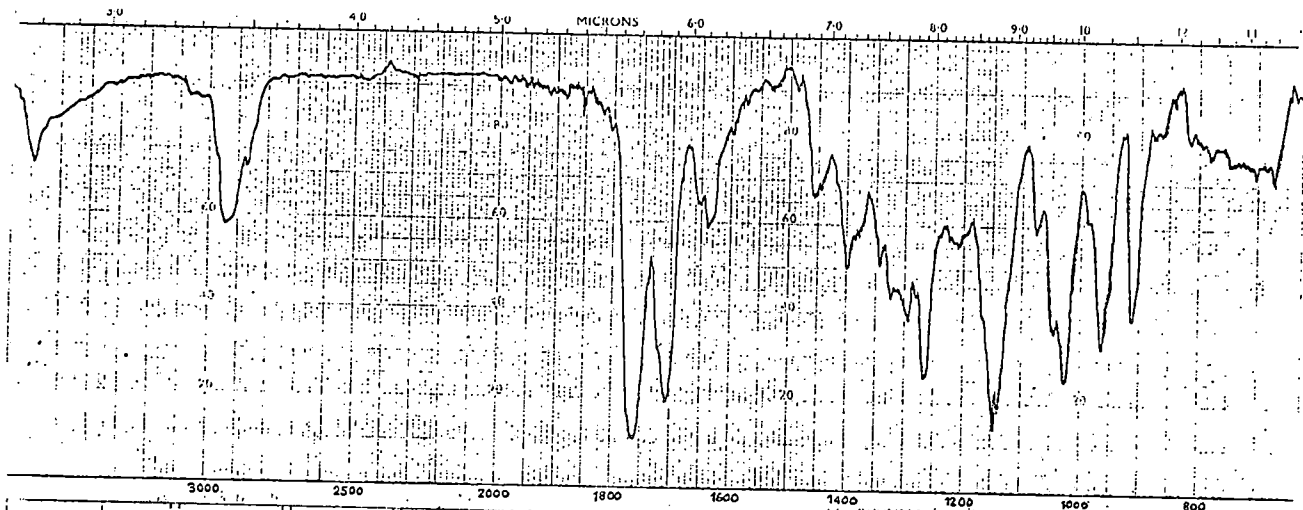
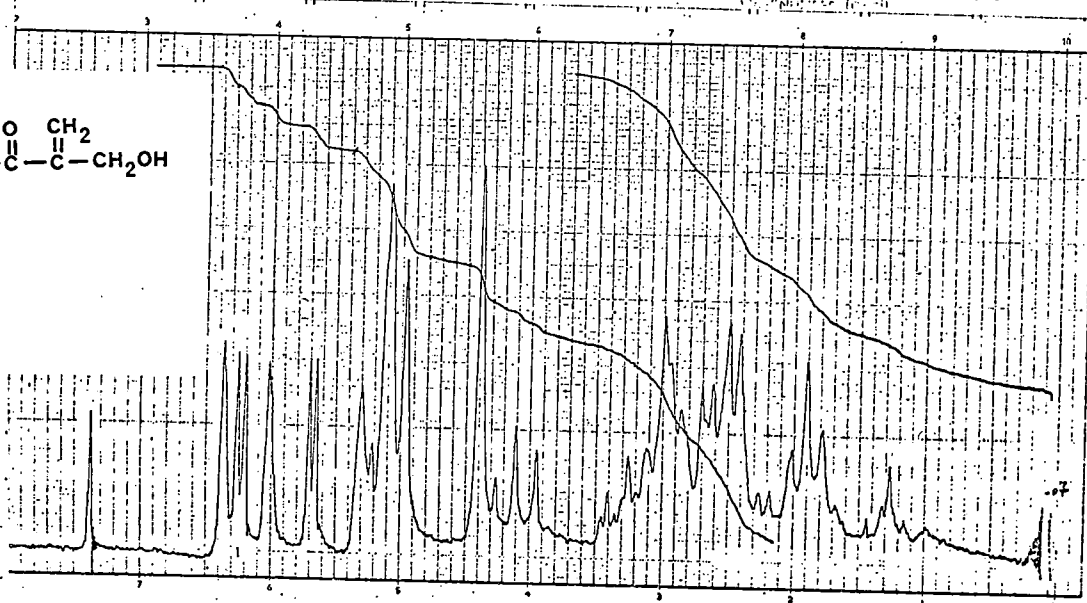


Figura I



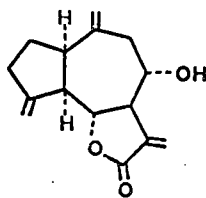
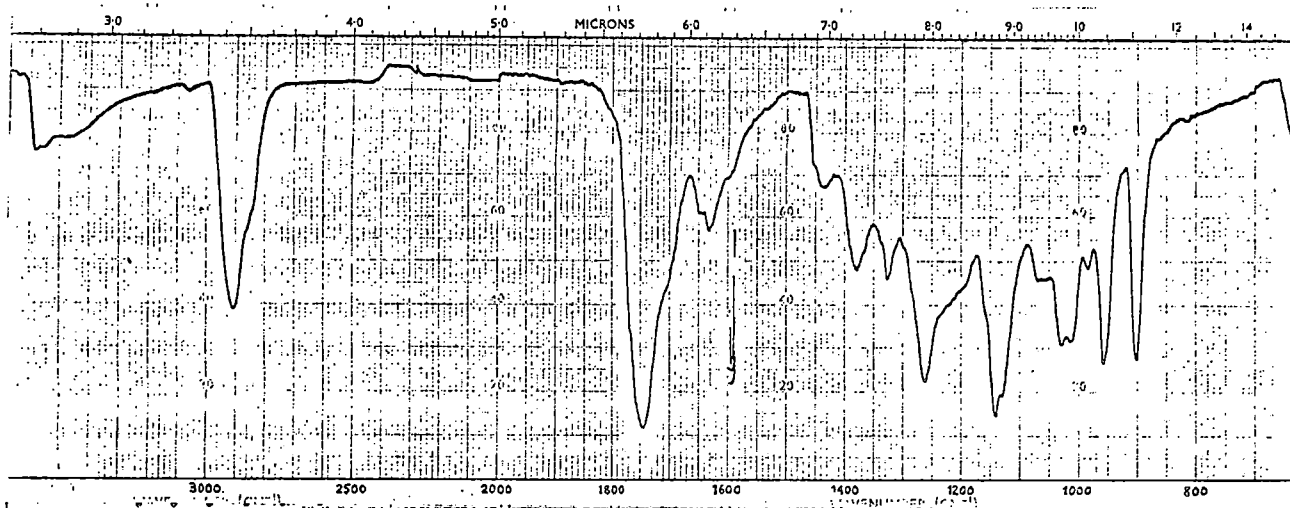
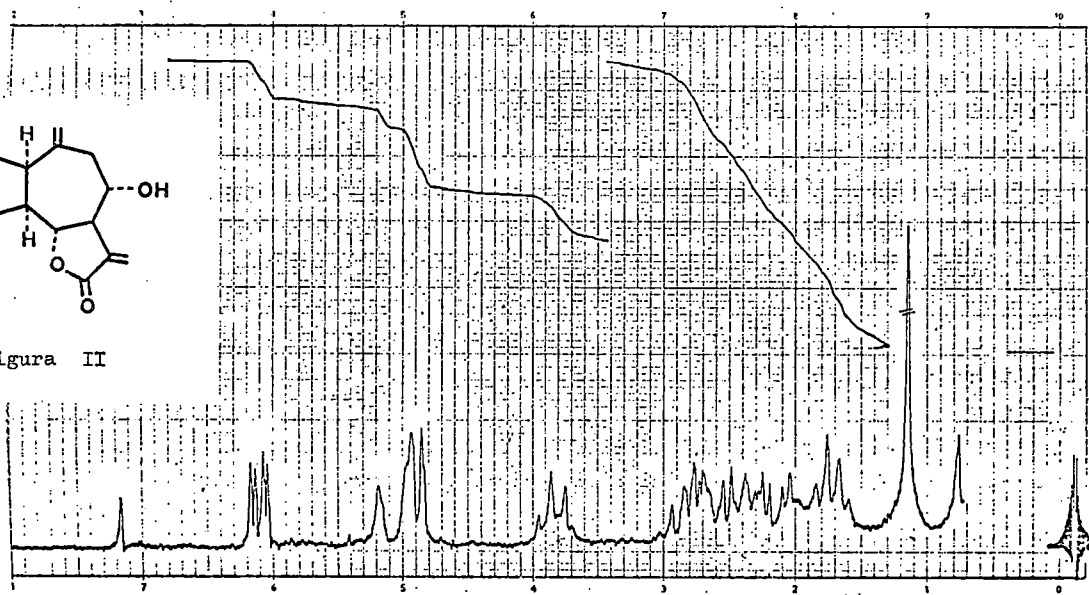


Figura II



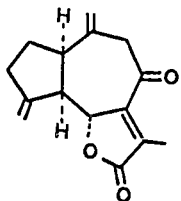


Figura III a

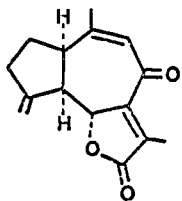
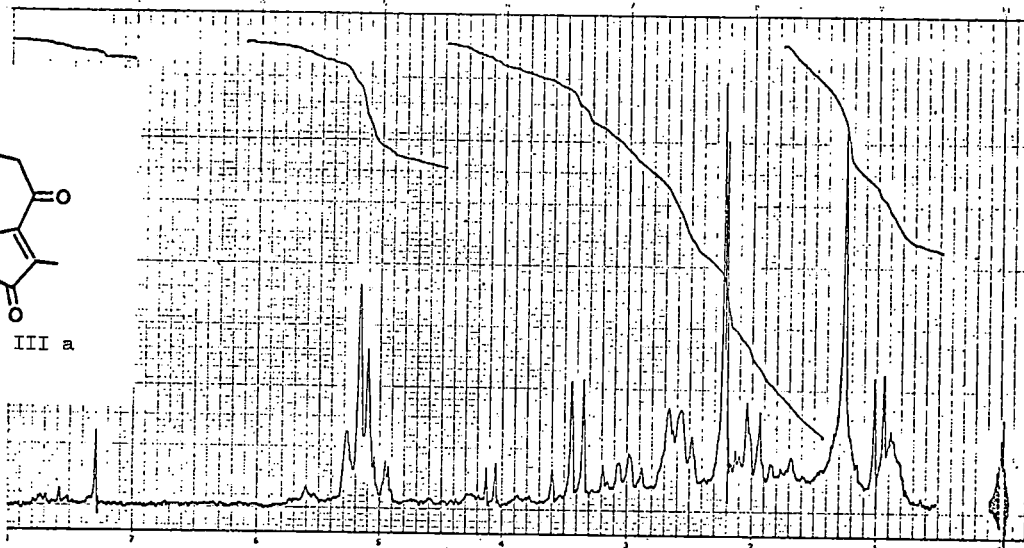
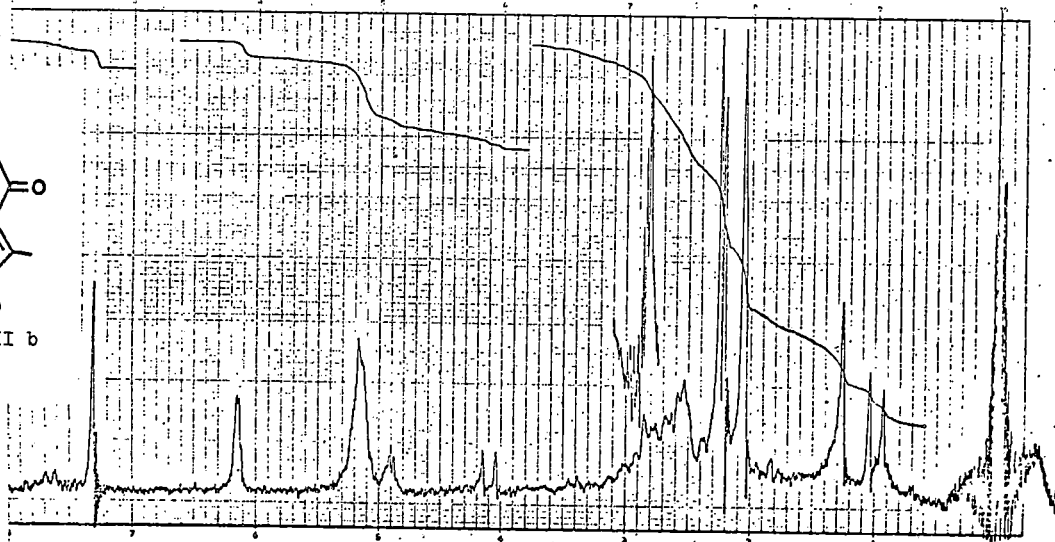


Figura III b



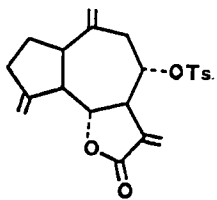


Figura IV a

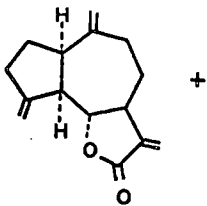
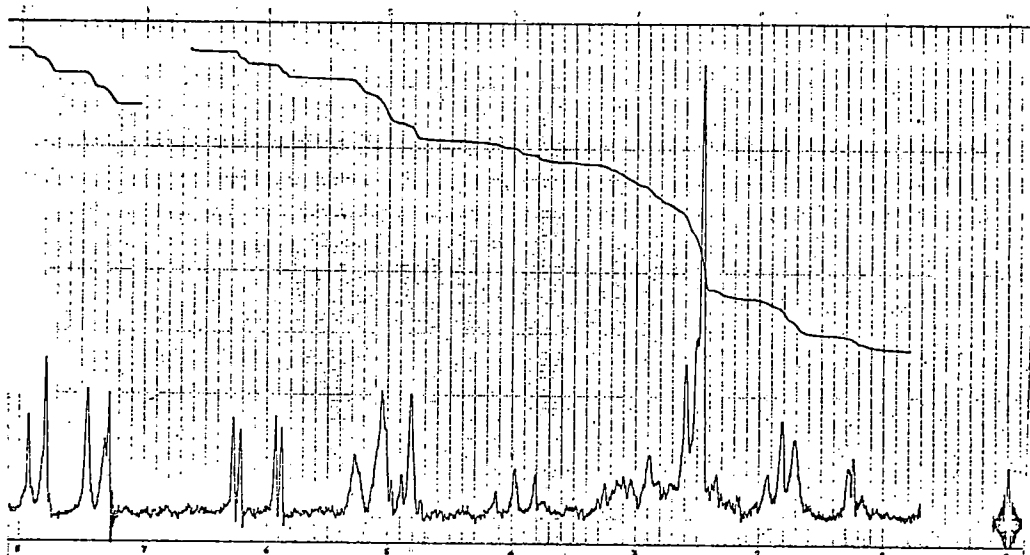
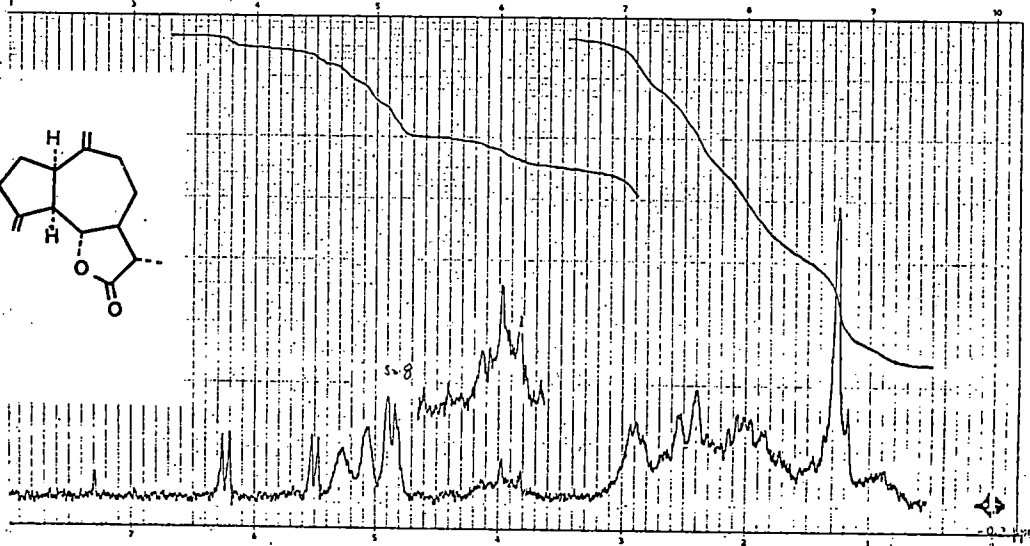


Figura IV b



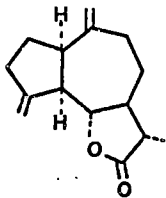
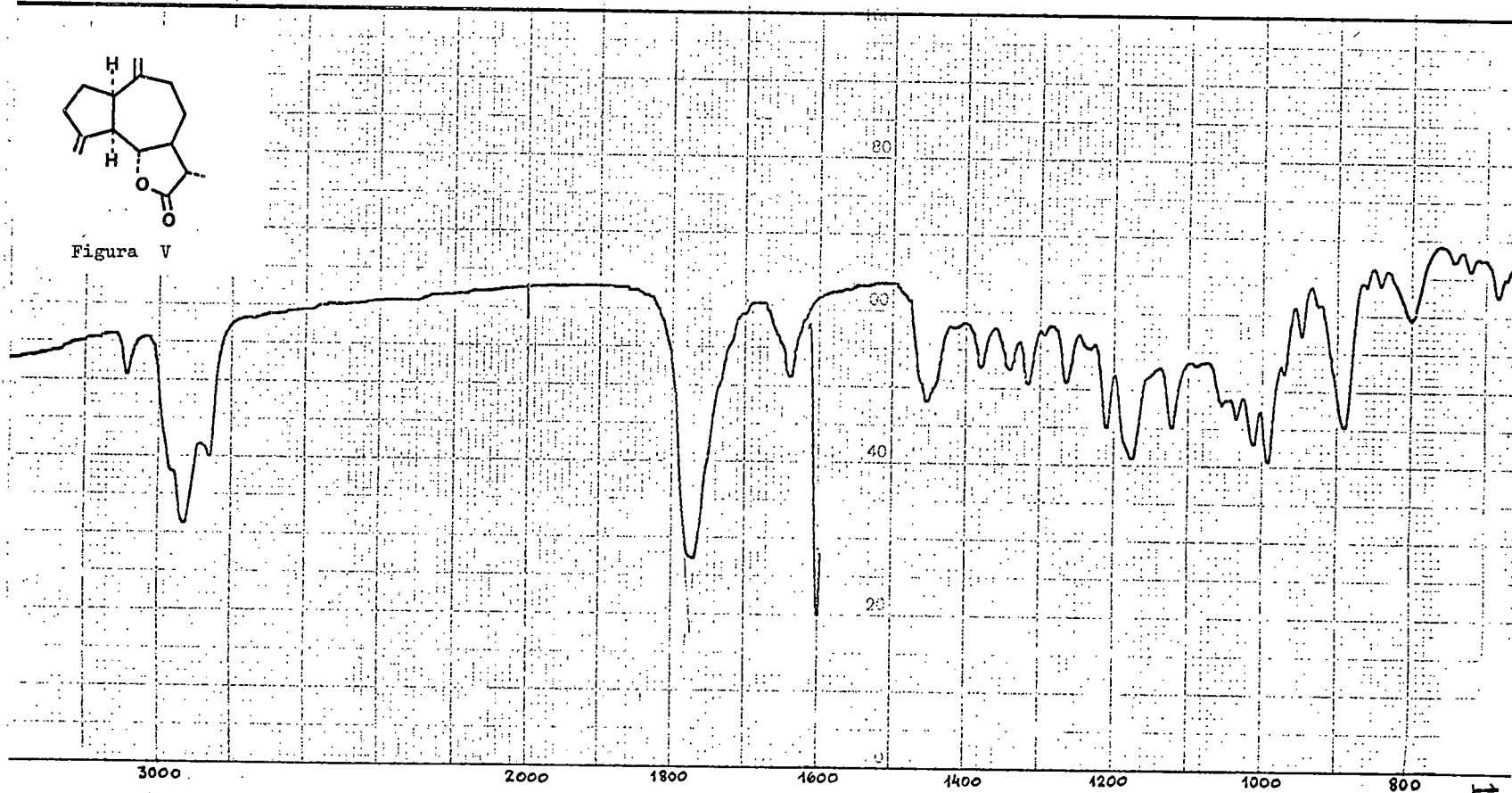


Figura V



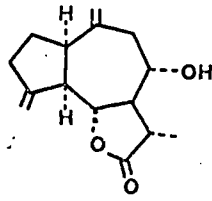
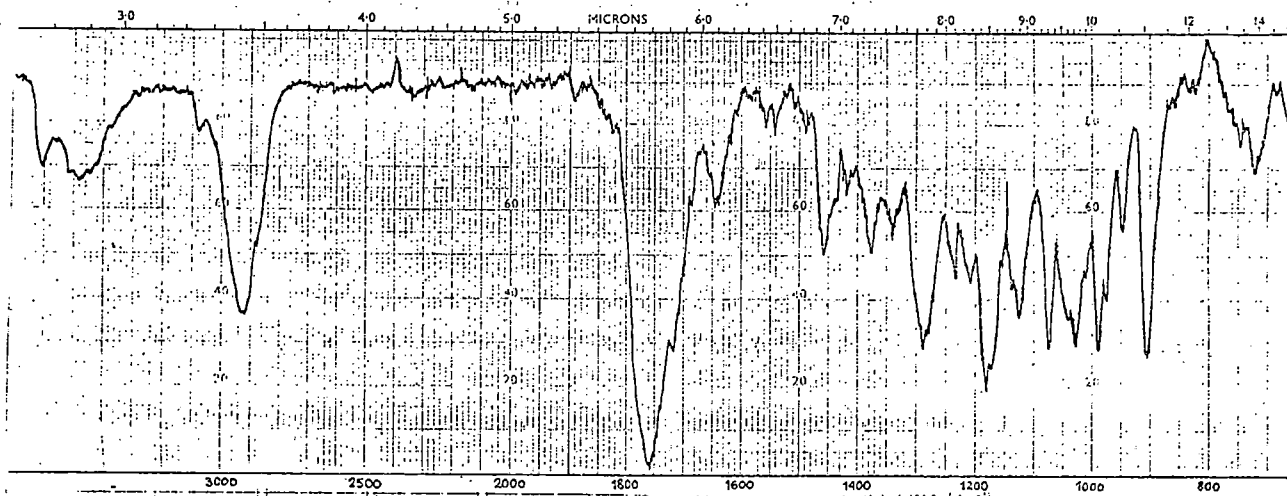
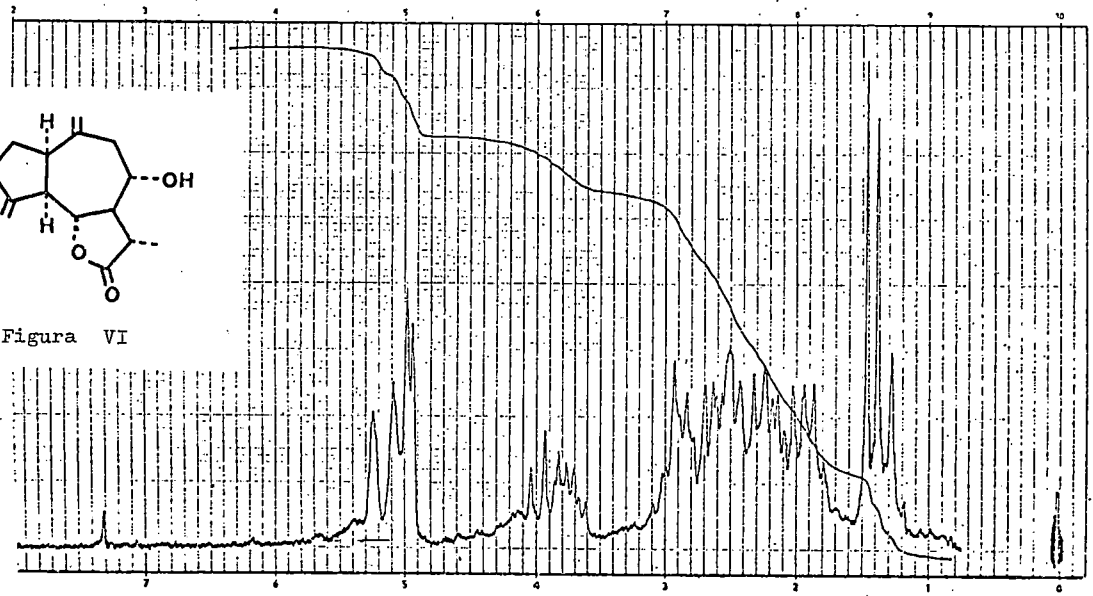


Figura VI



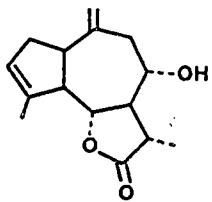
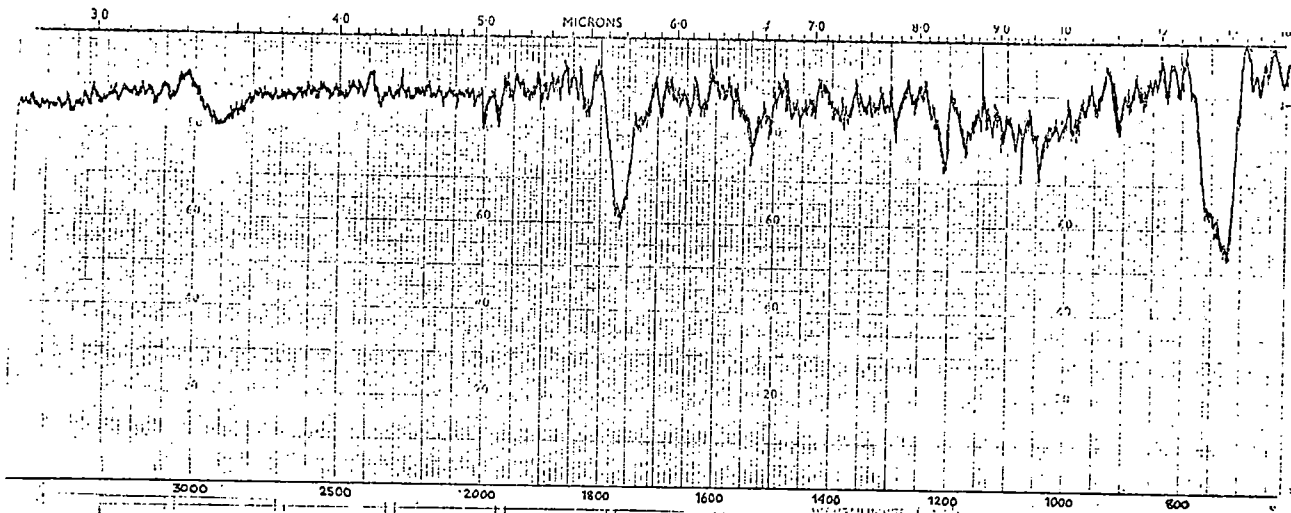
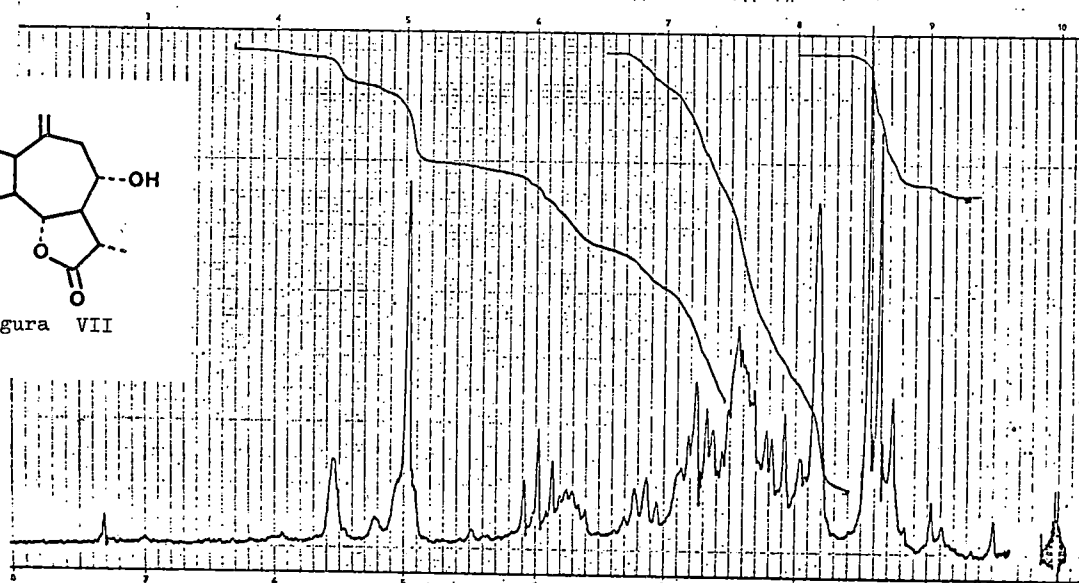


Figura VII



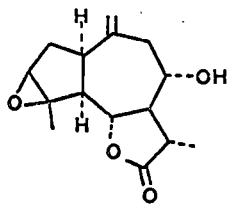
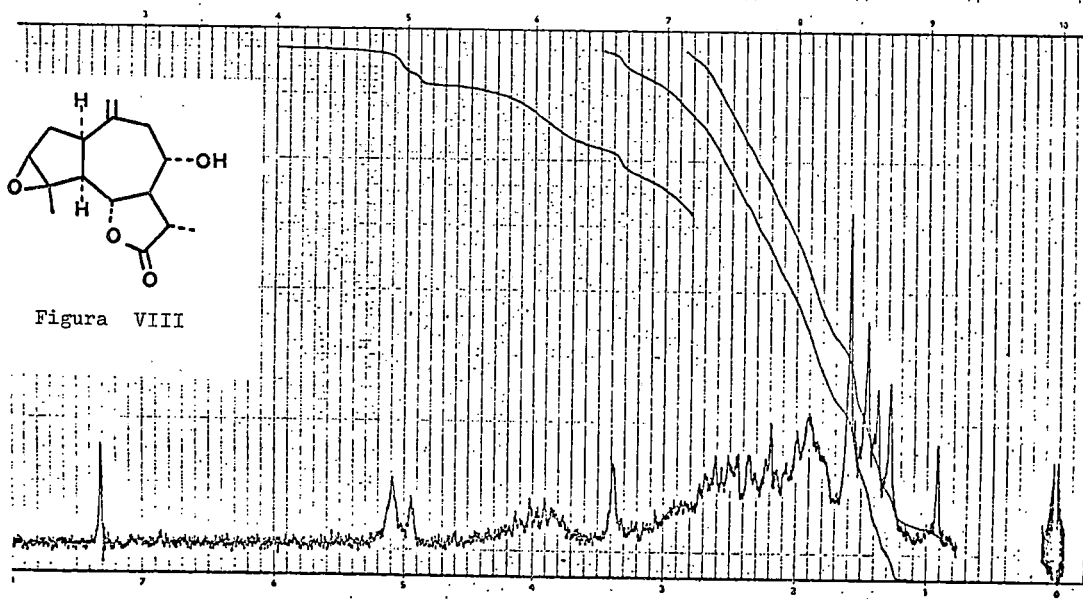
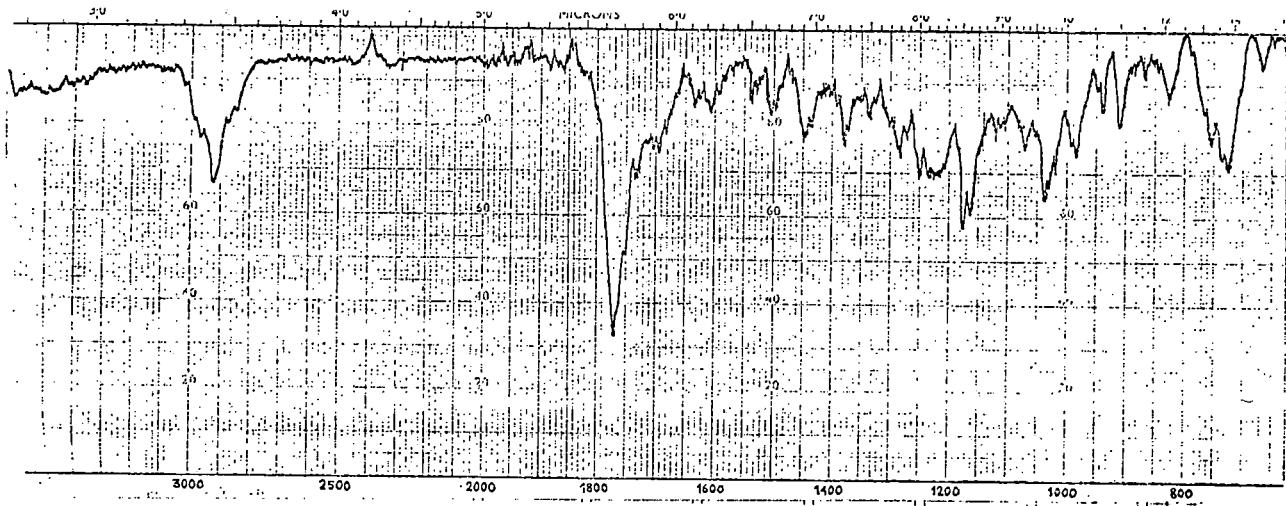


Figura VIII

V. PARTE EXPERIMENTAL

V.1. Material y técnicas experimentales.-

Los puntos de fusión fueron determinados en un bloque Kofler y están sin corregir.

Las actividades ópticas fueron hechas en un polarímetro Perkin-Elmer, modelo 141, con células de 1 dm de paso de luz y empleando cloroformo Merck como disolvente. Todas se refieren a la línea D del sodio. Las concentraciones se expresan en gramos de producto por 100 ml de disolvente.

Los espectros de masas fueron obtenidos en un espectrómetro Hewlett-Packard 5930-A y en un Micromass ZAB-2F.

Los análisis cuantitativos fueron realizados en el Departamento de Microanálisis del Centro Nacional de Química Orgánica.

Los espectros de infrarrojo fueron realizados en un espectrofotómetro Perkin-Elmer, modelo 257, en un PYE UNICAM SP-1100 o en un Beckman modelo 4240, en film, en disolución de cloroformo con células de 0'5 mm ó en pastillas de BrK.

Los espectros de ultravioleta fueron obtenidos con un espectrofotómetro Perkin-Elmer modelo 137 ó 402, con célula de 1 cm de espesor usando como disolvente etanol ó cloroformo.

Los espectros de resonancia magnética nuclear protónica se registraron en espectrógrafos Perkin-Elmer, modelo R-12 B (60 MHz) y R-32B (90MHz), usando tetrametilsilano (TMS) como referencia interna y cloroformo

deuterado como disolvente; los desplazamientos están dados en δ y las constantes de acoplamiento en Hz.

Los espectros de resonancia magnética nuclear de carbono-13 se realizaron en un espectrógrafo Varian modelo CFT-20, de 20 MHz usando como referencia interna TMS y cloroformo como disolvente.

Cromatografía en capa fina.- Se han realizado sobre gel de sílice G de la casa Merck con un espesor de placa de 0,25 mm y los eluyentes empleados fueron mezclas de benceno-acetato de etilo y éter de petróleo-acetato de etilo. Para su revelado se utilizó atmósfera de yodo o bien fueron pulverizados con solución de ácido sulfúrico (4%), agua(16) y ácido acético glacial (80%) y posterior calentamiento a 120° durante unos minutos.

Procedimientos generales.-

Las columnas cromatográficas fueron montadas empleando gel de sílice Merck de grano 0'05-0'2 mm (las secas y 0'2-0'5 mm(las húmedas), y fueron eluidas con mezclas de benceno-acetato de etilo y éter de petróleo-acetato de etilo.

V.2. Extracción de la Artemisia lanata Willd

16 Kg. de la parte aérea de la planta, recogida en Algora (Guadalajara), previamente seca y triturada, se extrajeron con etanol en un soxhlet hasta agotamiento. El extracto alcohólico se concentró hasta aproximadamente 500 cc, obteniéndose un líquido muy denso. Se añadió a continuación etanol previamente calentado a temperatura de ebullición(11) y agua hirviendo (1.5l) dejándose enfriar la mezcla. Se añaden 100 ml de solución acuosa de acetato de plomo (3%) y, después de 6h. de repaso se filtró el precipitado formado eliminándose a continuación la mayor parte del etanol. El líquido resultante se extrajo con cloroformo y una vez eliminado el disolvente en un evaporador rotatorio se obtuvo un líquido siruposo (80 gr.)

Cromatografía en columna

El extracto procedente de la marcha descrita anteriormente se cromatografió a través de una columna de gel de sílice (0,2-0,5mm 800g). Debido a la insolubilidad en benceno del producto a cromatografiar, se mezcló este con celita y se colocó en la parte superior de la columna. Se recogieron fracciones de 500 cc., utilizándose como eluyente benceno y mezclas de benceno-acetato de etilo de polaridad creciente.

En las fracciones 22-31 (10% en Acetato de etilo), se eluyen achillina (III) y 2-ceto-1,10-epoxi-guayan-3,4-en-6,12 olida (II). La capa fina pone de manifiesto de que se trata de una mezcla de difícil resolución.

En las fracciones 37-42 (30% en acetato de etilo) se eluye la 5-hidroxi-6,7,3',4'-tetrametoxi flavona, (I). En las fracciones 53-67 (40% en acetato de etilo) se eluye una mezcla de 8- α -hidroxiachilina y 2-ceto-1,10-epoxi-8 α -hidroxi-guayan-3,4-en.6,12 olida que fueron caracterizadas en forma de sus acetatos (XVIII) y (XIX)

2-ceto-1,10-epoxi-guayan-3,4-en.6,12-olida (II)

Mediante cristalización fraccionada de la mezcla obtenida al eluir con benceno-acetato de etilo al 10% se separó el producto más insoluble, un sólido cristalino de p.f. 236-238°.

$$[\alpha]_D = +102^\circ \text{ (c, 0.18, cloroformo)}.$$

Datos espectroscópicos:

I.R. (cloroformo) ν cm^{-1} 1770, 1715, 1625

U.V.: λ max 235 nm ϵ max ($\epsilon=16800$)

E.M. 262(M^+), 246, 231

R.M.N. (90 MHz, deuterocloroformo) δ : 6.22(c, 1H, J=1Hz, H-3)
4.23 (t, 1H, J=10Hz, H-6), 3.06(d, 1H, J=10Hz, H-5), 2.35 (s, 3H, C-4- CH_3), 1.74(s, 3H, C-10- CH_3), 1.12(d, 3H, J=7Hz, C-H- CH_3).

Chamazuleno a partir de (II)

Una mezcla de (II) (0.035 g) y selenio (0.450 g) se calentó durante 10 min. en atmósfera de nitrógeno. A continuación se extrajo con éter de petróleo, se llevó a sequedad y se pasó el residuo a través de una columna de alúmina. Las primeras fracciones, de color azul intenso, se reunieron y se cromatografiaron en papel (eluyente: PO_4H_3 , 50%). El producto obtenido tiene el mismo Rf que el chamazuleno.

Tratamiento de (II) con el par zinc-cobre

Una mezcla de (II), (50 mg), par zinc-cobre (1.25 g) y etanol (8 ml) se sometió a reflujo durante 18 h. Se filtró a través de celita y se evaporó el disolvente, obteniéndose un residuo que se cromatografió en columna seca (eluyente: éter de petróleo-acetato de etilo 70:30). Se eluye en primer lugar un sólido cristalino que se identificó como achillina (III) (8 mg) y a continuación una mezcla de dos productos: (IV) y (V)

R.M.N.: (90 MHz, deuterocloroformo)

(IV): 6.04 (c, 1H, J=1Hz, H-3), 3.81(t, 1H, J=10Hz, H-6), 2.30(sa, 3H, C-4-CH₃), 1.11(d, superpuesto a otras señales, C-11-CH₃).

(V): 4.45(t, 1H, J=10Hz, H-6), 1.58(s, 1H, C-10-CH₃), 1.28(d, superpuesto a otras señales, C-4-CH₃).

3,4-dihidroachillina (VI)

Una solución de achillina (2.3 g) en una mezcla de benceno-acetato de etilo 50:50 (100 ml) se agitó en atmósfera de hidrógeno durante 24 h., en presencia del catalizador $[(C_6H_5)_3P]_3 Rh Cl$. Se filtró a través de celita y, una vez eliminado el disolvente se cromatografió el residuo a través de una columna seca de gel de sílice (eluyente: éter de petróleo-acetato de etilo 30:70). Se obtuvo el compuesto (VI), (1.27 g), p.f. 71-73° $[\alpha]_D^{25} = +49^\circ$ (c, 0.34, cloroformo)

Datos espectroscópicos:

I.R. (cloroformo) $\nu_{max}^{cm^{-1}}$ 1765, 1695, 1610

U.V.: λ_{\max} 254 nm ($\epsilon = 10.000$)

E.M. 248 (M^+), 175, 173, 137

R.M.M. (60 MHz, deuterocloroformo) δ : 3.90 (t, 1H, $J=10\text{Hz}$, H-6), 2.35 (s, 3H, C-10- CH_3), 1.20 (d, 3H, $J=6\text{Hz}$, C-4- CH_3), 1.13 (d, 3H, $J=7\text{Hz}$, C-H- CH_3)

14-deoxidihidropicridina (VII)

A una solución de (VI) (35 mg) en metanol (2.5 ml) se añadió una solución acuosa de carbonato potásico al 10% (3 ml). La solución se calentó a reflujo durante 2 h. La mezcla de reacción se acidificó con ácido clorhídrico diluido (5%), se extrajo con cloroformo y se evaporó a sequedad. Mediante cromatografía preparativa se obtuvo, además del producto de partida, una sustancia (VII) de p.f. 143-146°, que se identificó con la deoxidihidropicridina.

2-ceto-1,10 epoxi-guayan-6,12-olida (VIII), a partir de (VI)

A una solución de (VI) (110 mg) en dioxano (5,80 ml) se añadió peróxido de hidrógeno (0.5 ml) y disolución de NaOH 1N (1.15 ml). La mezcla se dejó toda la noche a temperatura ambiente, se diluyó con agua y se extrajo con acetato de etilo. Después de secar sobre sulfato sódico, se cromatografió en columna seca (eluyente: éter de petróleo-acetato de etilo 70:30), obteniéndose el producto de partida (88 mg), y otra sustancia (VII) (12 mg), que no pudo cristalizarse.

R.M.N. (90 MHz, deuterocloroformo) δ : 4.20 (t, 1H, $J=10\text{Hz}$, H-6), 1.55 (s, 3H, C-10- CH_3), 1.38 (d, 3H, $J=6\text{Hz}$, C-4- CH_3), 1.15

(d, 3H, J=7Hz, C-11-CH₃)

Alcoholes alílicos (IX), (X) y triol (XI)

1.7 g. de 3,4-dihidroachillina se disuelven en 17,5 ml de una solución metanólica 0.4 M de tricloruro de cerio heptahidratado (2,6 mg). Se añade despacio borohidruro sódico (0.264 g) con agitación. La duración de la adición es de 4 min y un minuto más tarde se añade agua y se extrae con acetato de etilo. Después de pasar la mezcla de reacción a través de una columna seca de gel de sílice (éter de petróleo-acetato de etilo 60:40), se obtienen los siguientes compuestos:

Alcohol-(IX) (0.7 g.), p.f. 115-117°, M⁺ 250, [α]_D = + 66° (c, 0,48, cloroformo)

Datos espectroscópicos:

I.R. (cloroformo) $\nu_{\max}^{\text{cm}^{-1}}$ 3.590, 1.760, 1.680

E.M.: 250 (M⁺), 235, 175

R.M.N. (90 MHz, deuterocloroformo) δ: 4.70(t, 1H, J=5Hz, H-2), 3.70(t, 1H, J=10Hz, H-6), 1.90(s, 3H, C-10-CH₃), 1.22(d, 3H, J=6Hz, C-4-CH₃), 1.12(d, 3H, J=7Hz, C-11-CH₃)

Alcohol (X) (0.04g), p.f. 127-219°, [α]_D = +27° (c, 0,27 cloroformo).

Datos espectroscópicos:

I.R. (cloroformo) $\nu_{\max}^{\text{cm}^{-1}}$ 3590, 1760, 1680

E.M.: 250 (M⁺), 235, 177

R.M.N. (90MHz deuterocloroformo) δ: 4,70(d, 1H, J=4Hz, H-2), 3,90(d, 1H, J=10Hz, H-6), 1.91(s, 3H, C-10-CH₃), 1.23(d, 3H, J=6Hz, C-4-CH₃), 1.13(d, 3H, J=7Hz, C11-CH₃).

Triol (XI) (0,011g), p.f. 148-149°, $[\alpha]_D = +4^\circ$ (c, 0.19 dioxano)

Datos espectroscópicos:

E.M. 254(M⁺), 236, 221, 218, 200

Epoxi alcoholes (XII) y (XIII)

A una solución de (IX) (0.630 g) en cloroformo (20 ml) se añadió ácido m-cloroperbenzoico (0.630 mg). La mezcla se mantiene a 0°C, y se siguió la evolución de la reacción por capa fina. A los 45 min. había desaparecido todo el producto de partida, por lo que se lavó con solución de bicarbonato sódico y posteriormente con agua. Después de secar sobre sulfato sódico se eliminó el cloroformo obteniéndose un aceite. La cromatografía en columna de este aceite (eluyente n-Hexano:Acetato de etilo 70:30) permitió aislar dos compuestos (XII) y (XIII).

Epoxialcohol (XII) (0'280 g), p.f. 128-129°, $[\alpha]_D = +96^\circ$ (C, 0,29, cloroformo).

Datos espectroscópicos:

I.R. (cloroformo) $\nu_{\max}^{\text{cm}^{-1}}$ 3.500, 1.765

E.M.: 266(M⁺), 251, 248,

R.M.N. (90 MHz, deuterocloroformo) δ : 4,1(d a, 1H, J=7Hz, H-2), 3.90(t, 1H, J=10Hz, H-6), 1.45(s, 3H, C-10-CH₃), 1.18(d, 3H, J=6Hz, C-4-CH₃), 1.15(d, 3H, J=7Hz, C-11-CH₃).

Epoxialcohol (XIII) (0,14 g) p.f. 204-206°, $[\alpha]_D = +101^\circ$ (c, 0.2, cloroformo)

Datos espectroscópicos:

I.R. (cloroformo) $\nu_{\max}^{\text{cm}^{-1}}$ 3.600, 1760

E.M.: 266(M⁺), 251, 248

R.M.N.: (90 MHz, deuterocloroformo) δ : 4.08(t, 1H, J=10Hz, H-6), 3.97(d, 1H, J=4Hz, H-2); 1.46(s, 3H, C-10-CH₃); 1.28(d, 3H, J=6Hz, C-4-CH₃), 1.12(d, 3H, J= 7Hz, C-11-CH₃)

Epoxicetona (XIV)

Al producto (XII) (0.03 g) en piridina (1.5 ml) se le añade óxido de cromo (III), (0.15 g) y se dejó en reposo 24 h. La mezcla se diluyó con agua y se extrajo con éter. Se purificó por cromatografía en columna seca (eluyente n-Hexano-acetato de etilo 60:40), obteniéndose el compuesto (XIV) (18 mg), p.f. 185-186°, $[\alpha]_D = 218^\circ$ (c, 0.22, cloroformo)

Datos espectroscópicos:

I.R. (cloroformo) $\nu_{\max}^{\text{cm}^{-1}}$ 1770, 1740

E.M.: 264 (M⁺), 249, 236

R.M.N. (90MHz, deuterocloroformo) δ : 4.16(t, 1H, J=10Hz, H-6), 1.55(s, 3H, C-10-CH₃), 1.23(d, 3H, J=6Hz, C-4-CH₃), 1.15(d, 3H, J=7Hz, C-11-CH₃).

Epoxicetona (XV)

El producto (XIII) (0.028 g.), se oxidó en las mismas condiciones descritas anteriormente para (XII), obteniéndose después de purificar por cromatografía en columna seca (eluyente n-Hexano-acetato etilo 60:40) 0.007 g. de (XV), p.f.

189-190, $[\alpha]_D = -19^\circ$ (c, 0,13, cloroformo)

Datos espectroscópicos:

I.R. (cloroformo) $\nu_{\text{máx}}^{\text{cm}^{-1}}$ 1770, 1745

E.M.: 264 (M^+), 249, 236

R.M.N. (90 MHz, deuterocloroformo) δ : 4.20(t, 1H, J=10Hz, H-6), 1.55(s, 3H, C-10- CH_3), 1.38(d, 3H, J=6Hz, C-4- CH_3), 1.15 (d, 3H, C-11- CH_3)

Epoxicetona (XV) a partir de (II)

Una solución de (II) (0,05 g) en una mezcla de benceno-acetato de etilo 50:50(4 ml) se agitó en atmósfera de hidrógeno durante 24 h., en presencia del catalizador $[(\text{C}_6\text{H}_5)_3\text{P}]_3\text{RhCl}$. Se filtró a través de celita y después de eliminar el disolvente se cromatografió el residuo en una columna seca de gel de sílice (eluyente: éter de petróleo-acetato de etilo 80:20). Se obtuvo un producto (0.012 g) cuyas constantes y datos espectroscópicos son idénticos con los de (XV)

Achillina (III)

El segundo de los productos separados en la cristalización fraccionada fijó su p.f. en 146-148 $^\circ$, $[\alpha]_D = 149^\circ$ (c, 0.2 cloroformo)

Datos espectroscópicos:

I.R. (cloroformo) $\nu_{\text{máx}}^{\text{cm}^{-1}}$ 1770, 1675, 1630, 1610

U.V.: $\lambda_{\text{máx}}$ 255 nm ($\epsilon = 10.660$)

R.M.N. (60 MHz, deuterocloroformo) δ : 6.2 (c, 1H, J=1Hz, H-3), 3.82(t, 1H, J=10Hz, H-6), 3.41(d, 1H, J=10Hz, H-5), 2.41(s, 3H, C-10- CH_3), 2.29(s, 3H, C-4- CH_3) 1.13(d, 3H, J=7Hz, C-11- CH_3)

2-ceto-1,10 epoxi-8 α -acetoxi-guayan-3,4-en-6,12-olida(XIX)

De las fracciones eluidas con benceno-acetato de etilo 60:40 se obtuvo un aceite que fué cristalizado en acetato de etilo-éter de petróleo separándose un sólido cristalino que no pudo ser llevado a p.f. constante, 300 mg de este sólido fueron acetilados con anhídrido acético en piridina. El derivado acetilado se comporta como una mezcla de dos sustancias de R.f. muy similar, por lo que todos los intentos de resolver dicha mezcla resultaron infructuosos. Mediante cristalización fraccionada de la mezcla de acetatos se separó como producto más insoluble un sólido cristalino de p.f. 273°.

Datos espectroscópicos:

I.R., (cloroformo) $\nu_{\text{máx}}^{\text{cm}^{-1}}$ 1780, 1735, 1710, 1610

U.V.: $\lambda_{\text{máx}}$ 236 nm ($\epsilon = 14.577$)

E.M.: 320 (M^+)

R.M.N. (90 MHz, deuterocloroformo) δ : 6.24(c, 1H, J=1Hz, H-3), 5.01(td, 1H, j=10Hz, 3Hz, H-8), 4.34(t, 1H, J=10Hz, H-6), 3.10(d, 1H, J=10Hz, H-5), 2.36(s, 3H; C-4- CH_3), 2.04(s, 3H, -OCO- CH_3), 1.74(s, 3H, C-10- CH_3), 1.11(d, 3H, J=7Hz, C-11- CH_3)

8 α -acetoxi-achillina a partir de (XIX)

A (XIX) (0.037 g) disueltos en la mínima cantidad de ácido acético (0,5 ml) se añadió exceso de cloruro cromoso preparado como se describe más adelante, y se agitó la mezcla durante 1 h. y se dejó reposar toda la noche. Se concentró a vacío hasta consistencia siruposa, se añadió agua.

y se extrajo con cloroformo. Después de eliminar el disolvente se pasó a través de una columna seca (eluyente benceno-acetato de etilo 80:20) obteniéndose un producto (0.10g), cuyas constantes físicas y datos espectroscópicos son idénticos a los de la 8 α -acetoxiachillina.

Preparación del cloruro cromoso:

A cloruro crómico (2g) disuelto en alcohol de 95% (15 cc) y ácido clorhídrico concentrado (3cc) se añadió zinc granulado (1.6 g.) y se dejó durante 4 h. Se filtró por lana de vidrio, manteniéndolo en atmósfera de argón.

8 α -acetoxiachillina (XVIII)

El segundo de los productos separados en la cristalización fraccionada de los acetatos fijó su p.f. en 197-199 $^{\circ}$,

$[\alpha]_D = 111^{\circ}$ (c, 0.18 cloroformo)

Datos espectroscópicos:

I.R. (cloroformo) ν_{\max}^{cm} 1780, 1735, 1680, 1635, 1615

U.V.: λ_{\max} 255 nm (ϵ : 14.186)

E.M. 304(M $^{+}$)

R.M.N. (60 MHz, deuterocloroformo) δ : 6.18(c, 1H, J=1Hz, H-3), 4.76(td, 1H, J=10Hz, 3Hz, H-8), 3.90(t, 1H, J=10Hz, H-6), 3.38(d, 1H, J=10Hz, H-5), 2.42(s, 3H, C-10-CH $_3$), 2.28(s, 3H, C-4-CH $_3$), 2.09(s, 3H, O-CO-CH $_3$), 1.11(d, 3H, J=7Hz, C-11-CH $_3$).

5-hidroxi-6,7,3'4'-tetrametoxiflavona (I)

De las fracciones eluidas con benceno-acetato de etilo 70:30 en la cromatografía general se obtuvo un sólido cristalino amarillo, que cristalizado en metanol fijó su p.f. en

192-194°

Datos espectroscópicos:

U.V.: λ_{\max} 245, 279 y 345 nm ($\epsilon = 20.968, 19.945, 28.122$)

E.M. 358(M^+)

R.M.N.: 60MHz, deuterochloroformo) δ : 7.48(c, 1H, J= 8Hz, 2Hz, H-6') 7.3(d, 1H, J=2 Hz, H-2'), 6.95(d, 1H, J=8Hz, H-5'), 6.55(s, 1H-H-3), 6.52(s, 1H, H-8), 3.93 y 3.89(s, s 12H, C-6-O-CH₃, C-7-O-CH₃, C-3'-OCH₃, C-4'-O-CH₃).

V.3. Amberboa Muricata D.C.Extracción de la Amberboa muricata D.C.

Dieciocho kilogramos de planta (solo parte aérea), recogida en Granada en el mes de Junio fueron triturados y extraídos con etanol en un soxhlet hasta que el disolvente en el recipiente de extracción no dejó residuo. El extracto alcohólico se concentró a vacío hasta aproximadamente un litro y se lavó repetidas veces con éter de petróleo. El material resultante, de aspecto aceitoso, presentó un intenso sabor amargo.

Cromatografía en columna

Aproximadamente 380 gr. del extracto anterior se disolvieron en cloroformo (300 ml) y a la solución se le añadió gel de sílice (0,2-0.5mm). Se eliminó cuidadosamente el cloroformo a vacío a fin de mezclar íntimamente el extracto de la planta y la gel. La mezcla resultante se colocó en la parte superior de una columna cromatográfica de gel de sílice (0.2-0.5 mm.), (5Kg) montada en Be y se recogieron fracciones de 1000 cc. de polaridad creciente (Be/ACOEt, ACOEt/Cl₃CH , EtOH).

Las fracciones se destilaron y posteriormente se concentraron a vacío, obteniéndose los resultados que se indican a continuación:

<u>Fracciones</u>	<u>Eluyente</u>	<u>Descripción</u>
1-17	Be/Ac 5%	Producto aceitoso
18-52	" 10%	" "
53-87	ACOEt/Cl ₃ CH 10%	" "
88-117	" " 20%	" "
118-158	" " 25%	Mezcla de productos
159-170	ACOEt/EtOH 50%	Producto aceitoso

A cada una de las fracciones agrupadas de la columna anterior se le hizo un espectro I.R. (film), encontrándose que las fracciones 118-158 presentaban una fuerte absorción en la zona de $1760-1775 \text{ cm}^{-1}$.

Estudio de las fracciones 118-158

La capa fina de estas fracciones (gel de sílice; Be/AcOEt 50%) muestra una mancha alargada (rf 0.5) de color violeta que cambia progresivamente a verde. Si se utiliza como absorbente gel de sílice impregnada en nitrato de plata se observan cuatro componentes. Se procedió entonces a la separación de dichos componentes mediante cromatografía en columna seca de gel de sílice mezclada intimamente con nitrato de plata (eluyente Be/AcOEt 50%)

Muricatina

Se obtiene en las primeras fracciones de la cromatografía descrita anteriormente, en forma de un aceite que fué cristalizado en acetato de etilo/éter de petróleo. Después de sucesivas cristalizaciones, fijó su p.f. en $73-75^\circ\text{C}$; $[\alpha]_D = +74^\circ$ (C, 0.11, Cl_3CH).

Datos espectroscópicos

I.R.: (Cl_3CH) $\nu_{\text{max}} \text{ cm}^{-1}$ 3600 (hidroxilo), 1760 (γ -lactona α, β no saturada), 1710 (éster α, β no saturado), 1620 y 1610 (dobles enlaces).

E.M. 246 ($\text{M}^+ - 102$), 85, 57

R.M.N.: (60MHz, Cl_3CD) δ : 6.30(sa, 1H, Hc); 5.95(sa, 1H, Hd); 6.20(d, 1H, J=3.5, H_b); 5.60(d, 1H, J=3, Ha); 5.05(sa, 2H, C₁₀=CH₂); 4.30(sa, 2H, C₁₇-CH₂OH); 4.20(t, 1H, J=9.5, H₆); 1.20(d, 3H, J=6, C₄-Me).

Análisis:

Calculado para $C_{19}H_{24}O_6$: C, 62.28%; H, 7.15%

Hallado C, 62.62%; H, 7.18%

Acetilación de la muricatina

60 mg. de muricatina se disolvieron en lcc. de piridina seca y se añadió a la solución 0.5 cc. de anhídrido acético, dejándose la mezcla en reposo durante la noche. Después de recuperar de la manera usual se obtuvo un residuo sólido que, cristalizado en éter etílico/éter isopropílico fijó su p.f. en 98-100°C; $[\alpha]_D = + 92.5^\circ$ (c, 0.34, Cl_3CH)

Datos espectroscópicos

I.R.: (Cl_3CH) $\nu_{max}^{cm^{-1}}$ 1755 (γ -lactona + acetato),
1715 (éster α, β no saturado), 1620 y 1615 (dobles enlaces)

R.M.N.: (60MHz, Cl_3CD) δ : 6.40(sa, 1H, Hc); 5.95(sa, 1H, Hd);
6.20(d, 1H, J=3.5, H_b); 5.59(d, 1H, J=3.0, Ha); 5.10(sa, 2H, C₁₀=CH₂);
4.08(t, 1H, J=9.5, H₆); 2.05(s, 3H, C₃-OAc); 2.10(s, 3H, C₁₇-OAc);
1.20(d, 3H, J=6, C₄-Me)

Análisis

Calculado para $C_{23}H_{28}O_8$: C, 63.59%; H, 6.17%

Hallado: C, 63.88%; H, 6.53%

Deshidrogenación con selenio

60 mg. de muricatina se mezclaron íntimamente con 0.7g. de selenio en polvo y la mezcla se calentó en atmósfera de nitrógeno a 300°C durante 10 min. Se dejó enfriar y se extra-

jo con n-hexano. La solución resultante se pasó a través de una columna seca de alúmina alcalina (grado II, 2 g.). Las primeras fracciones, de intenso color azul una vez evaporadas formaron un aducto cristalino con trinitro benceno de p.f. 126-128°C. El p.f. del aducto correspondiente del chamazuleno es 129-130°C.

11-13-dihidromuricatina

A 70 mg. de muricatina, disueltos en 100 cc. de etanol se añadieron 0.50 g. de amalgama de aluminio recientemente preparada y el conjunto se calentó a reflujo durante ocho horas. La solución se enfrió y se filtró a través de celita. Después de eliminar el disolvente a presión reducida se obtuvieron 50 mg. de un producto aceitoso que no pudimos cristalizar.

Datos espectroscópicos

I.R.: ($C_{13}CH$) $\nu_{max}^{cm^{-1}}$: 3.600 (hidroxilo), 1775 (γ -lactona), 1710 (éster α, β no saturado), 1630 y 1625 (dobles enlaces).

R.M.N.: (60MHz, $C_{13}CD$): 6.30(sa, 1H, H_c); 5.95(sa, 1H, H_d); 5.10(sa, 2H, $C_{10}=CH_2$); 4.35(sa, 2H, $C_{17}-CH_2OH$); 3.80(m, 2H, H₃, H₆); 1.25(d, 3H, J=6, $C_4-\underline{Me}$); 1.18(d, 3H, J=6Hz, $C_{11}-\underline{Me}$).

13- metoxi-dihidromuricatina

60 mg. de muricatina, disuelto en metanol (5 ml) se trataron con 20 ml. de una solución al 5% de carbonato potásico, dejándose en reposo durante toda la noche. Se acidificó con ácido sulfúrico al 5% y se recuperó de la manera usual. Se obtuvo así, un producto que cristalizó en acetato de etilo/éter

de petróleo fijó su pf. en 67-69°C.

El espectro I.R. y el espectro de R.M.N. de esta sustancia se recogen en la Tabla I.

Obtención del isolippidiol

50 mg. de dihidromuricarina (II) fueron disueltos en metanol (5 ml) añadiendosele 20 ml. de solución acuosa de carbonato potásico (5 %). Se dejó reposar durante toda la noche (20 h.) y se acidificó posteriormente con ácido sulfúrico diluído (5%). El producto de la reacción se recuperó de la manera usual y se cristalizó en acetato de etilo/éter de petróleo, obteniéndose cristales de p.f. 165-167°C. Esta sustancia resultó ser idéntica al isolippidiol.

Datos espectroscópicos.

I.R.: (Cl_3CH) $\nu_{\text{max}}^{\text{cm}^{-1}}$: 3600(hidroxilo), 1765(γ -lactona), 1645 y 1610

R.M.N.: (60 MHz, Cl_3CD) δ : 5.10(sa, 2H, $\text{C}_{10}=\text{CH}_2$); 3.75(m, 3H, $\text{H}_3, \text{H}_6, \text{H}_8$); 1.25(m, 6H, $\text{C}_4-\text{CH}_3, \text{C}_{11}-\text{CH}_3$).

V.4. Extracción de la Centaurea canariensis (var. subexpinnata)

a) Ensayo a escala reducida: 500 g. de la parte aérea de la planta recogida en Teno Bajo (Tenerife) durante el mes de Septiembre fueron triturados y extraídos con etanol en un Soxhlet hasta agotamiento. El extracto alcohólico se concentró a vacío obteniéndose un líquido muy denso que fue diluido con agua y extraído posteriormente con cloroformo. El extracto resultante fue evaporado hasta total eliminación del cloroformo, resultando un residuo aceitoso (3 g.)

El extracto anterior se pasó a través de una columna seca de gel de sílice (80 g.) empleándose como eluyente benceno-acetato de etilo. Los eluatos se agruparon en tres fracciones principales:

Fracción A, de baja polaridad (éter de petróleo-benceno a benceno)

Fracción B, de polaridad media (benceno/acetato de etilo 90:10 a benceno/acetato de etilo 60:40)

Fracción C, de polaridad más elevada (de benceno/acetato de etilo 50:50 a acetato de etilo/ etanol 90:10)

El espectro I.R. (film) de la fracción B presenta una fuerte absorción sobre 1.760 cm^{-1} , mientras que la fracción C, presenta la misma banda pero su intensidad es muy inferior.

b) Extracción definitiva: 20 Kg. de la parte aérea de la planta se sometieron al procedimiento de extracción descrito en el ensayo anterior, obteniéndose 86 g. de un líquido siruposo.

Cromatografía en columna.

El extracto anterior, insoluble en benceno, fue tratado de igual manera que el extracto de la Amberboa muricata (ver

sección V.3) y la mezcla resultante se colocó en la parte superior de una columna cromatográfica de gel de sílice (0.2-0.5mm, 700g). Se recogieron fracciones de 1000 cc. de polaridad creciente (benceno/acetato de etilo, acetato de etilo y acetato de etilo/etanol).

Se reunieron las fracciones eluidas con benceno/acetato de etilo 90:10 y las de polaridad creciente hasta benceno/acetato de etilo 60/40. Una vez eliminado el disolvente, el residuo obtenido (6 g) se cromatografió en columna seca de gel de sílice (eluyente benceno/acetato de etilo 70:30), recuperándose un aceite que se muestra como una mezcla de dos productos en capa fina de gel de sílice (eluyente cloroformo/acetona 95:5). Mediante cromatografía preparativa en el anterior eluyente (doble recorrido) pudimos resolver dicha mezcla.

Subexpinnatina (Ia)

El componente menos polar aislado de la cromatografía preparativa anterior es un aceite $[\alpha]_D + 62^\circ (c, 3.03)$

Datos espectroscópicos:

I.R. (cloroformo) $\nu_{\text{máx}}^{\text{cm}^{-1}}$ 3.600, 1.760, 1.710, 1.650 y 1.635

E.M. 228 (M-102), 246 (M-84), 85 ($C_4H_5O_2^+$) y 57 ($C_3H_5O^+$)

R.M.N. (60 MHz, deuterocloroformo) δ : 6.30 (sa, 1H, H_c); 5.95 (sa, 1H, H_d); 6.15 (d, 1H, J=35Hz, H_b); 5.60 (d, 1H, J=3Hz, H_a); 5.23, 5.03 (sa, sa, 2H, C-4=CH₂); 5.03, 4.90 (sa, sa, 2H, C-10=CH₂); 4.32 (s, 2H, C-17 H₂-OH); 4.03 (t, 1H, J=10 Hz, H-6).

Desacilsubexpinnatina (Ib)

La subexpinnatina (Ia) (1.062 g.) se mezcló con solución de carbonato potásico al 5% (100 ml) y la mezcla se agitó durante cinco días, se acidificó con ácido clorhídrico diluído y se extrajo con cloroformo y acetato de etilo. La solución orgánica fué lavada con agua, secada sobre sulfato sódico y evaporada a sequedad. El aceite resultante fué cristalizado en acetato de etilo/éter de petróleo, obteniéndose cristales de p.f. 106-108°(0.9 g.), $[\alpha]_D + 61^\circ$ (c, 0.13, cloroformo)

Datos espectroscópicos:

I.R. (cloroformo) $\nu_{\text{máx}}^{\text{cm}^{-1}}$ 3.600, 1.760, 1.655 y 1.640

E.M. 246 (M^+), 228, 166

R.M.N. (60 MHz, deuterocloroformo) δ : 6.26 (d, 1H, J=3Hz, H_D); 6.17(d, 1H, J=3Hz, H_a); 5.30, 5.08 (sa, sa, 2H, C-4= CH_2); 5.05, 4.97(sa, sa, 2H, C-10= CH_2); 3.95(t, 1H, J=10Hz, H-6); 3.93(m, 1H, H-8).

Tosilato (XIII)

La desacilsubexpinnatina (Ib) (1g), se disolvió en la mínima cantidad de piridina seca, se añadió cloruro de tosilo (1g) a 0°C, manteniendo la mezcla a temperatura ambiente con agitación durante cinco días. Se añadió hielo y solución saturada de cloruro sódico para destruir el exceso de cloruro de ácido, y se extrajo con acetato de etilo, se-

cando sobre sulfato sódico.

Por cromatografía sobre gel de sílice, usando como eluyente éter de petróleo/acetato de etilo 80:20, se obtuvo el Tosilato (XIII),

P.F. 165'5^o-166'5^o, $[\alpha]_D^{25} + 53$ (C,0.18)

Datos espectroscópicos:

I.R. (cloroformo) $\nu_{\text{máx}}^{\text{cm}^{-1}}$ 1765, 1650, 1600

E.M. 228 ($M^+ - 172$)

R.M.N. (60 MHz; deuterocloroformo) δ : 7,85(d,2H,J=8,5Hz, Tosilato), 7,35(d,2H,J=8.5Hz,tosilato); 6,25(d,1H,J=3Hz,Hb), 5,90(d,1H,J=3Hz,Ha); 5,28, 5.03, 4.80(sa,sa,sa,4H, C-4= CH_2 , C-10= CH_2); 3.95(t,1H,J=10Hz,H-6; 2.45(s,3H,Tosilato).

Alquenos (XIV) y (XV).

El tosilato (XIII) (0,49 g), yoduro sódico (0,918 g), cinc activado (0,796 g) y 1,2 dimetoxietano (12 ml), se refluxaron durante noventa minutos con agitación. La solución resultante se enfrió, se filtró y el filtrado se vertió sobre agua; se extrajo con acetato de etilo, se lavó con disolución saturada de cloruro sódico, se secó sobre sulfato sódico y se concentró a presión reducida. Se cromatografió a través de una columna seca de gel de sílice (eluyente éter de petróleo/acetato de etilo 80:20), obteniéndose una mezcla de (XIV) y (XV) (20 mg)

R.M.N. (60 MHz, deuterocloroformo) δ : 6.21(d,1H,J=3Hz, Hb), 5.49(d,1H,J=3Hz,H_a); 5.25,5.04(sa,sa,2H,C-4= CH_2); 4.87, 4.82(sa,sa,2H, C-10= CH_2); 3.96(t,1H,J=10Hz, H-6); 1.18(d,J=7Hz, C-11- CH_3).

Dihidrodehidrocostuslactona (XVI)

La mezcla (XIV) y (XV) (18 mg) se disolvió en la mínima cantidad de metanol, se añadió borohidruro sódico (12 mg) a 0°C, agitando durante cinco minutos. Se evaporó el metanol a vacío y el residuo resultante se mezcló con agua (1 ml) y aciduló con ácido sulfúrico 10%, se extrajo con acetato de etilo, se secó sobre sulfato sódico y se evaporó al vacío para dar un producto aceitoso cuyo espectro de IR es idéntico al de la dihidrodehidrocostuslactona (XVI)

Dehidrodesacilsubexpinnatina (II)

A una solución de desacilsubexpinnatina (Ib) (248 mg) en acetona a 5°C (20 ml) se añadió gota a gota una solución de anhídrido crómico 8N hasta persistencia del color naranja. La mezcla fué diluída con acetato de etilo, lavada con agua, secada con sulfato sódico y evaporada hasta la total eliminación del disolvente. El aceite resultante (II) se descompone con bastante facilidad para dar una mezcla de productos, entre ellos los compuestos (III) y (IV)

Datos espectroscópicos.:

R.M.N. (60MHz, deuterocloroformo, realizado pocos minutos después de recuperado el producto) δ : 6.55 (d, 1H, J=3Hz, H_b); 6.10 (d, 1H, J=3Hz, H_a); 5.32, 5.25 (sa, sa, 2H, C-4=CH₂); 5.25, 5.15 (sa, sa, 2H, C-10=CH₂); 4.15 (t, 1H, J=10Hz, H-6); 3.35 (s, 2H, H-9).

Cetolactonas (III) y (IV)

Con el fin de purificar la cetona (II) se pasó a través

de una columna seca de gel de sílice utilizándose como eluyente acetato de etilo/éter de petróleo 50:50. El primer eluato (fracciones 2-6), una vez eliminado el disolvente dió un aceite (II) que no pudo ser cristalizado. Las fracciones siguientes (7-10) estaban constituidas principalmente por la cetolactona (IV).

Datos espectroscópicos:

Cetolactona (III):

I.R. (cloroformo) $\nu_{\text{máx}}^{\text{cm}^{-1}}$ 1.755, 1.690, 1.645

E.M. 244 (M^+)

U.V. $\lambda_{\text{máx}}$ 238 $m\mu$ ($\epsilon=10.000$)

R.M.N. (90 MHz, deuterocloroformo) δ : 5.30, 5.18 (sa, sa, 2H, C-4= CH_2); 5.18, 5.10 (sa, sa, 2H, C-10= CH_2); 5.05, 4.94 (c, c, 2H, J=10Hz, 1Hz, H-6); 3.53, 3.27 (d, d, 2H, J=13 Hz, H-9); 2.21 (d, 3H, J=1Hz, C-11- CH_3)

Cetolactona (IV):

I.R. (Nujol) $\nu_{\text{máx}}^{\text{cm}^{-1}}$ 1.760, 1.662, 1.630 y 1.615

E.M. 244 (M^+)

R.M.N. (60 MHz, deuterocloroformo) δ : 6.16 (c, 1H, J=1Hz, H-9); 5.15 (sa, 2H, C-4= CH_2); 5.00 (c, c, 2H, J=10Hz, 1Hz, H-6); 2.22 (d, 3H, J=1Hz, C-10- CH_3); 2.18 (s, 3H, C-11- CH_3)

Dihidrodesacilsubexpinnatina (XVII)

A una solución de (Ib) (200 mg) en etanol (50 ml) se añadió emalgama de aluminio recientemente preparada (1 g.) la mezcla se calentó a reflujo durante doce horas. La solución resultante se enfrió, se filtró y se le eliminó el disolvente a vacío. El residuo así obtenido se cristalizó en éter/éter de petróleo, obteniéndose cristales de p.f. 135-137°, $[\alpha]_D^{25} +36^\circ$ (c, 0, 23).

Datos espectroscópicos:

I.R. (cloroformo) $\nu_{\text{máx}}^{\text{cm}^{-1}}$ 3.600, 3.500, 1.770 y 1.650

E.M. 248 (M^+)

R.M.N. (90 MHz, deuterocloroformo) δ : 5.25, 5.10 (sa, sa, 2H, C-4= CH_2); 5.00, 4.95 (sa, sa, 2H, C-10= CH_2); 3.95 (t, 1H, J=10Hz, H-6); 3.80 (m, 1H, H-8) 1.42 (d, 3H, J=7Hz, C-11- CH_3).

8-hidroxi-3(4),10(14)-dien-6,12-olida (XVIII)

A una solución de subexpinnatina (150 mg) en benceno (3 ml) se añadió trifluoruro de boro eterato recién destilado (0.006 ml) y la mezcla se agitó durante cuatro horas a temperatura ambiente. La solución adquirió un color rojo, que fué intensificándose a medida que transcurría la reacción. Se diluyó con acetato de etilo (10 ml), se lavó con solución al 5% de bicarbonato sódico (2 x 10 ml) y con agua (2 x 10 ml), se secó sobre sulfato sódico y se concentró de forma exhaustiva hasta obtener un residuo aceitoso (130 mg). Este aceite se cromatografió a través de una columna seca de gel de sílice (eluyente benceno/acetato de etilo 80:20) obteniéndose cristales de (XVIII) (110 g), p.f. 109-111°, $[\alpha]_D^{25} + 89^\circ$ (c, 0,95)

Datos espectroscópicos:

I.R. (cloroformo) $\nu_{\text{máx}}^{\text{cm}^{-1}}$ 3.600, 1.770 y 1.650

E.M. 248 (M^+)

R.M.N. (90 MHz, deuterocloroformo) δ : 5.55 (c, 1H, J=1Hz, H-3); 4.97 (sa, 2H, C-10= CH_2); 3.97 (t, 1H, J=10 Hz, H-6); 3.75 (m, 1H, H-8); 1.80 (d, 3H, J=1Hz, C-4- CH_3); 1.40 (d, 3H, J=7Hz, C-11- CH_3).

Dehidrodihidroliustrina (XIX)

A una solución de (XVIII) (30 mg), en acetona (1.5 ml) se añadió anhídrido crómico 8N a 5º, hasta persistencia del color naranja. El producto de la reacción se purificó mediante cromatografía en columna seca de gel de sílice y se cristalizó posteriormente en acetona/hexano para dar cristales de p.f. 115-118º, igual al descrito por Romo para la dehidrodihidroliustrina (XIX).

Viscidulina C (XXII)

Una solución de (XVIII) (60 mg), en cloroformo (16 ml) se enfrió a 0º y se trató con una solución también fría de ácido m-cloroperbenzónico (60 mg en 1 ml de cloroformo) y la mezcla de la reacción se guardó en el refrigerador. El progreso de la reacción fué controlado por cromatografía en capa fina hasta que el producto de partida desapareció casi totalmente (24 horas). La mezcla se lavó entonces con solución de bicarbonato sódico y con agua. Después de secar sobre sulfato sódico se eliminó el disolvente a vacío para dar un aceite (45 mg) que fué cristalizado en éter/éter de petróleo. La sustancia cristalina tiene un p.f. de 145-147º, $[\alpha]_D^{25} = +140(C.0.09)$ Un punto de fusión mixto con una muestra auténtica de viscidulina C no mostró depresión. Al mismo tiempo, los espectros I.R. de ambas sustancias son totalmente superponibles.

Aguerina B

Se obtuvo junto con la subexpinnatina de la que se separó por cromatografía preparativa (eluida en cloroformo-acetona (95:5), doble recorrido). No pudo cristalizarse

I.R. (cloroformo) $\nu_{\text{máx}}^{\text{cm}^{-1}}$ 3590; 1760; 1710 y 1635

E.M. 330 (M^+), 244 ($M^+ - C_4H_6O_2$)

(α_D): + 96° (c, 0.17)

R.M.N. (90 MHz, deuterocloroformo): δ : 6.22 y 5.62 (d,d, 2H, $C_{11}=\underline{CH}_2$); 6.20 y 5.67 (sa, sa, 2H, $C_{17}=\underline{CH}_2$); 5.50, 5.39 (sa, sa, 2H, $C_4=\underline{CH}_2$); 5.15 y 4.93 (sa, sa, 2H, $C_{10}=\underline{CH}_2$); 4.28 (t, 1H, $J=9H_2, H-6$); 1.99 (s, 3H, $17-\underline{CH}_3$)

VI. CONCLUSIONES

- 1.- Se lleva a cabo un trabajo de revisión sobre las guayanolidas.
- 2.- Se realiza el estudio fitoquímico de la *Artemisia lanata* Willd, aislándose cinco productos: un flavonoide la 5-hidroxi-6,7,3',4'-tetrametoxiflavona, y cuatro lactonas sesquiterpénicas del tipo del guayano, achillina, 8- α -hidroxi-achillina, 2-ceto-1 β ,10 β -epoxi-guayan-3,4-en-6,12-olida y 2-ceto-1 β ,10 β -epoxi-8 α -hidroxi-guayan-3,4-en-6,12, olida, esta última se aisló en forma de monoacetato.
- 3.- Las dos últimas lactonas del apartado anterior se describen por primera vez en la bibliografía; sus estructuras se establecieron mediante procedimientos espectroscópicos y correlación química con derivados preparados a partir de la achillina
- 4.- Se realiza el estudio fitoquímico de la *Amberboa muricata* D.C., aislándose cuatro lactonas sesquiterpénicas del tipo del guayano, cynaropicrina, desacilcynaropicrina, isolippidiol y la muricatina.
- 5.- La última lactona del apartado anterior se describe por primera vez en la bibliografía; su estructura se estableció mediante procedimientos espectroscópicos y correlación química con el isolippidiol.
- 6.- La desacilcynaropicrina es la primera vez que se describe como producto natural.
- 7.- Se realiza el estudio fitoquímico de la *Centaurea canariensis* Brouss., variedad *subexpinnata* Burch, aislándose dos lactonas sesquiterpénicas, aguerina y subexpinnatina.

- 8.- La segunda lactona del apartado anterior se describe por primera vez en la bibliografía y su estructura se estableció mediante procedimientos espectroscópicos, diversas transformaciones químicas y correlación con la viscidulina C.

La presente Tesis fué leída en La Laguna ante el Tribunal formado
por Antonio González González (Presidente), José Bretón Funes,
Julio Delgado Martín, Guillermo Martínez Alapont y
Antonio Galindo Brito

mereciendo la calificación de sobresaliente cum laude

La Laguna, 22 de Octubre de 1982

The block contains four handwritten signatures. The top two are large and cursive, likely belonging to the President and another member. The bottom two are smaller and more stylized, possibly belonging to the other two members. The signatures are written in black ink on a white background.