



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

Esta tesis doctoral contiene un índice que enlaza a cada uno de los capítulos de la misma.

Existen asimismo botones de retorno al índice al principio y final de cada uno de los capítulos.

[Ir directamente al índice](#)

Para una correcta visualización del texto es necesaria la versión de [Adobe Acrobat Reader 7.0](#) o posteriores

Aquesta tesi doctoral conté un índex que enllaça a cadascun dels capítols. Existeixen així mateix botons de retorn a l'índex al principi i final de cadascun dels capítols .

[Anar directament a l'índex](#)

Per a una correcta visualització del text és necessària la versió d' [Adobe Acrobat Reader 7.0](#) o posteriors.

UNIVERSIDAD DE ALICANTE
FACULTAD DE CIENCIAS
DEPARTAMENTO DE QUIMICA ORGANICA



Facultad de Ciencias Exactas
Departamento de Química
N.º REGISTRO 4.122
FECHA 13-1-86 DPTO. BIBLIOTECA

DITERPENOS TETRACICLICOS DE LAS RAICES DE *Elaeoselinum*
tenuifolium y *Elaeoselinum asclepium* SUBS. *meoides*

BALBINO JUAN MANCHEÑO MAGAN

1985

UNIVERSIDAD DE ALICANTE
FACULTAD DE CIENCIAS
DEPARTAMENTO DE QUIMICA ORGANICA

Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

DITERPENOS TETRACICLICOS DE LAS RAICES DE *Elaeoselinum*
tenuifolium y *Elaeoselinum asclepium* SUBS. *meoides*

MEMORIA QUE PARA OPTAR AL GRADO
DE DOCTOR EN CIENCIAS PRESENTA:



BALBINO JUAN MANCHEÑO MAGAN

Alicante, Noviembre, 1985



FE DE ERRATAS

- pag. 18 Los grupos carbonilo de los radicales de las distintas cumarinas de la figura son en realidad grupos metileno.
- pag. 22 Entre los carbonos 4 y 5 de la estructura de cicutoxina debe existir un triple enlace en lugar del doble enlace que aparece.
- pag. 22 Donde dice ferulinolona debe decir descarboxiferulinolona.
- pag. 140 La fórmula asignada al agatadiol es incorrecta, en realidad se trata del alcohol alílico isómero del representado, (8(17),14-labdadien-13E, 18-diol).
- pag. 293 La fotocopia de las hojas basales corresponden a Elaeoselinum asclepium.
- pag. 328 La fotocopia de las hojas basales corresponde a Elaeoselinum tenuifolium.



UNIVERSIDAD DE ALICANTE
FACULTAD DE CIENCIAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÁNICA
APARTADO 99
ALICANTE



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

MANUEL GRANDE BENITO, Catedrático de Química Orgánica de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Alicante,

CERTIFICA: Que la Memoria adjunta titulada "Diterpenos tetracíclicos de las raíces de Elaeoselinum tenuifolium y Elaeoselinum asclepium subs. meoides", presentada por D. BALBINO MANCHEÑO MAGAN para aspirar al Grado de Doctor en Ciencias, Sección de Químicas, ha sido realizada en el Departamento de Química Orgánica de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Alicante, bajo su dirección.

Alicante, Noviembre de 1.985

Manuel Grande Benito.



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

En primer lugar, deseo expresar mi más sincero agradecimiento al Prof. D. MANUEL GRANDE BENITO, catedrático de Química Orgánica de la Universidad de Alicante, gracias a cuyos acertados consejos y constante orientación ha sido posible la realización de este trabajo.



Deseo también expresar mi agradecimiento:

Al director del Departamento de Química Orgánica de la Universidad de Salamanca Prof. Dr. D. J. DE PASCUAL TERESA, así como a los Drs. D. J.M. HERNANDEZ, A. FERNANDEZ y J.R. MORAN, por la realización de los espectros de masas, RMN ^1H 200MHz, RMN ^{13}C y DC.

Al Prof. Dr. D. PEDRO MOLINA BUENDIA, catedrático de Química Orgánica de la Universidad de Murcia y al Dr. D. A. GUIRADO, por la realización de los espectros de masas.

Al Prof. Titular de Ecología de la Universidad de Alicante Dr. D. ANTONIO ESCARRE, por la descripción de las plantas.

Al Prof. O.E. EDWARDS de la Universidad de Carleton, Ottawa (Canada), por el envío de copias de espectros de RMN ^1H del compuesto 14 α ,19-dihidroxihibano.

Así como al resto de mis compañeros del Dpto. de Química Orgánica de la Universidad de Alicante, por la ayuda prestada y especialmente a los licenciados Dña. M^a JOSE SANCHEZ DE ROJAS y D. MIGUEL SEGURA MATARREDONA, que han colaborado directamente en la realización del presente trabajo.



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

PARTE TEORICA



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

INTRODUCCION



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

Como continuación de los trabajos realizados sobre compuestos químicos de diversas especies vegetales endémicas de la provincia de Alicante (1-5) y dentro del programa que sobre el estudio de productos naturales se viene desarrollando en el Departamento de Química Orgánica de la Universidad de Alicante, se aborda en la presente memoria, el estudio de las raíces de dos especies pertenecientes a la familia de las Umbelíferas, género *Elaeoselinum*, una de ellas *Elaeoselinum tenuifolium* (Lag) Lange, conocida también como *Thapsia tenuifolia* Lag. y *Elaeoselinum lagascae* Boiss y la otra *Elaeoselinum asclepium* (L) subs. *meoides* (Desf.) Fiori, que se conoce también como *Elaeoselinum meoides* (Desf.) Koch ex D.C. y *Elaeoselinum millefolium* Boiss (6,7).

La familia de las Umbelíferas está constituida por más de 3.200 especies y su estudio resulta muy interesante por el tipo de componentes químicos que contiene, a los que se deben las aplicaciones de algunas de sus especies en medicina popular y como aromatizantes de alimentos.

Por lo que se refiere a su acción fisiológica, algunas especies se han utilizado como estomacales, tónicos, diuréticos, drogas de acción cardiovascular, estimulantes,



etc. (8-12).

Muchas especies contienen cumarinas, responsables de la acción fotodermatítica estimulante de la pigmentación de la piel, y con ese fin las semillas de Ammi visnaga ya se utilizaban en Egipto. Las cumarinas responsables de este tipo de acción son derivadas del psoraleno y angelicina, habiéndose comprobado su coordinación al DNA (9).

Otras especies contienen lactonas sesquiterpénicas con agrupación α -metilen- γ -lactónica responsables de la actividad como alérgenos, agentes antineoplásicos o antitumorales, que han sido utilizados de forma efectiva en el tratamiento de algunos tipos de cáncer de laringe en animales de experimentación (10) etc.

Otras Umbelíferas se utilizan como aditivos naturales no tóxicos en la industria alimentaria, siendo algunas especies comestibles, como por ejemplo: Daucus carota (zanahoria), Pastinaca sativa (chirivía), Foeniculum vulgare subs. vulgare var. Azoricum (hinojo), etc.

Algunas especies se utilizan como condimentos o especias, como Carum carvi (alcaravea), Anetum graveolens (eneldo), Pimpinella anisum (anís), Petroselinum sativum (perejil), Foeniculum vulgare var. dulce (hinojo), Coriandrum sativum (cilantro), etc. Otras se usan como aromatizantes para bebidas, este es el caso de Angelica



archangelica (angélica), Laserpitium gallicum y varias especies de Heracleum (11,12).

Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante



CARACTERISTICAS QUIMICAS DE LAS UMBELIFERAS

Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

La familia de las Umbelíferas se ha dividido en tres subfamilias: Hydrocotyloideae, Saniculideae y Apioideae. Los estudios fitoquímicos realizados sobre Umbelíferas se han centrado fundamentalmente en las especies de la subfamilia Apioideae.

Los componentes más característicos de las Umbelíferas son los aceites esenciales y las cumarinas, pero también se han encontrado otros compuestos que se pueden agrupar en los siguientes tipos (13,14):

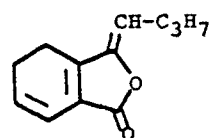
Terpenoides

a) Monoterpenos

Los componentes predominantes en los aceites esenciales de las Umbelíferas son fundamentalmente monoterpenos y sesquiterpenos, que van acompañados de fenilpropanoides y a veces de ftalidas, por ejemplo ligustilida. Muchos de estos componentes fueron aislados por primera vez en Umbelíferas y sus nombres derivan de la planta original, por ejemplo: felandral y β -felandreno de Phellandrium aquaticum (= Oenanthe aquatica), carveol



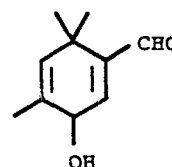
y carvona de Carum carvi, fencol y fencona de Foeniculum vulgare, cuminol y cuminal de Cuminum cyminum, ferulol de Ferula hispanica.



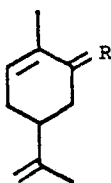
ligustilida



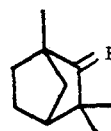
β -fellandreno



ferulol



R=H, OH carveol
R=O carvona



R=H, OH fencol
R=O fencona

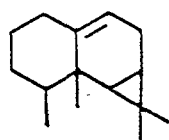
b) Sesquiterpenos

Además de sesquiterpenos con esqueletos corrientes (germacrano, eudesmano, guayano), son características de Umbelíferas los esqueletos de ferulano y daucano. El daucol se aisló de Daucus carota y el α -feruleno de Ferula communis. El nombre de selinano con el que se conocen también los derivados de eudesmano, procede del aislamiento

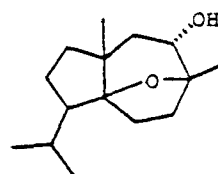
de β -selineno a partir de Apium graveolens (= Selinum graveolens).

En ciertas tribus, además, son bastante frecuentes las lactonas sesquiterpénicas, por ejemplo laserolida, germacrolida aislada de Laser trilobum, thapsigarginina, guayanolida aislada de Thapsia garganica, etc.

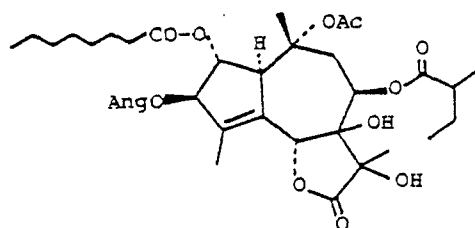
Los sesquiterpenos también se han encontrado unidos a cumarinas, por ejemplo coladonina de Ferula communis.



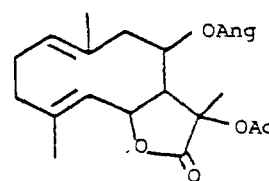
α -feruleno



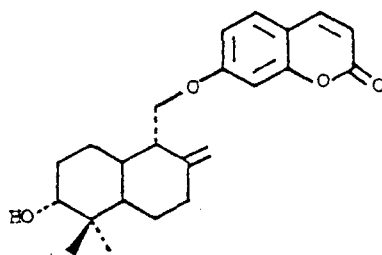
daucol



thapsigarginina



laserolida

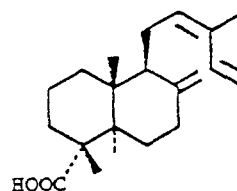
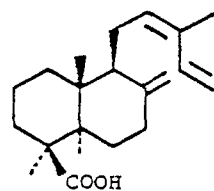
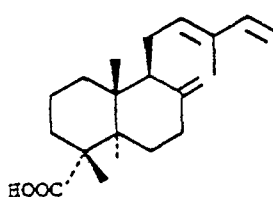
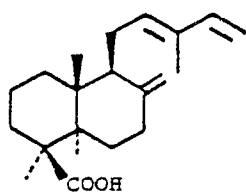


coladonina

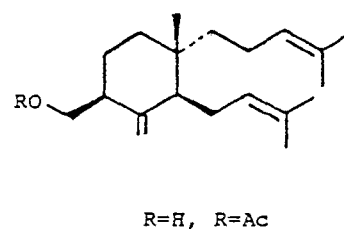
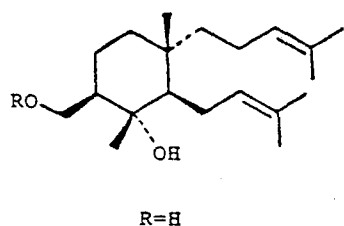


c) Diterpenos

Hemos encontrado pocos trabajos en los que se describa la presencia de diterpenos en Umbelíferas. Se han identificado cuatro ácidos diterpénicos de las raíces de la especie Herma villosa (15) con esqueleto de labdano: Los ácidos cis y trans comúnicos y los correspondientes epímeros en C-4.

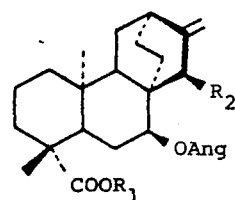


En Magydaris panacifolia se han aislado tres diterpenos monocíclicos con las siguientes estructuras (16):

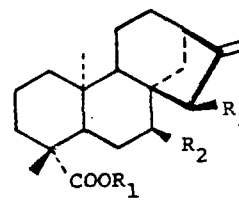




En *Elaeoselinum gummiferum* (= *Margotia gummifera*) se han encontrado: ácido gummiferólico 1, margotianina 2, ácido ent-kaur-16-en-19-oico 3, y ácido isomargotianoico 4 (17,18,19).

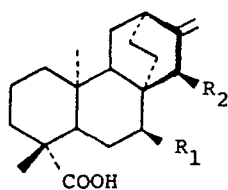


	R ₁	R ₂
1	H	H
2	Me	OAc

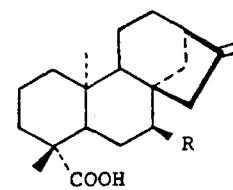


	R ₁	R ₂	R ₃
3	H	H	H
4	H	OAng	OAc

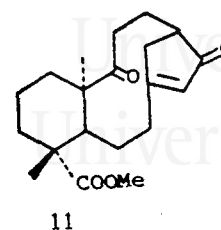
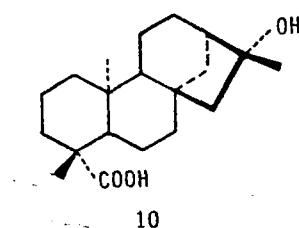
En *Elaeoselinum foetidum* se han aislado también, los siguientes diterpenos con esqueletos de kaurano y atisano (20).



	R ₁	R ₂
5	H	OSen
6	OSen	H
7	OAng	H

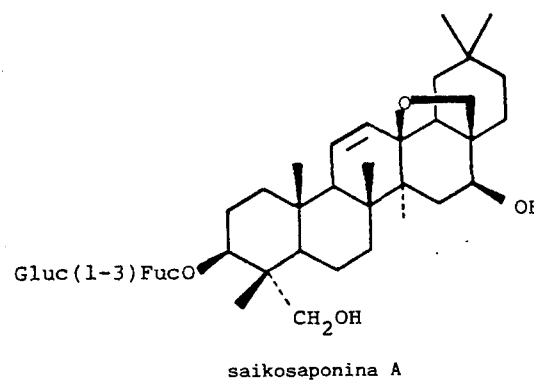


	R
8	OSen
9	OAng



d) Triterpenos

Los triterpenos libres tampoco son frecuentes, se han encontrado formando glicósidos, como las saikosaponinas responsables de la actividad biológica de las raíces de Bupleurum falcatum.

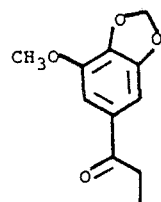


Fenilpropanoides

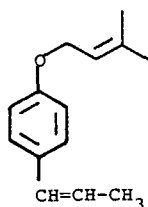
Estas sustancias son bastante frecuentes en Umbelíferas, se encuentran entre los aceites esenciales como el anetol (Pimpinella anisum), apiol (Apium petroselinum), foe-



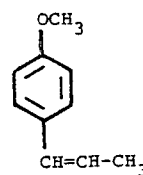
niculina (*Foeniculum vulgare*), etc. Entre los derivados no volátiles se encuentra por ejemplo latifolona y helmanticina.



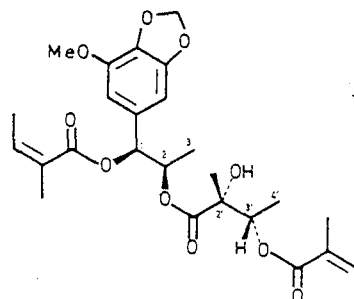
latifolona



foeniculina



anetol



helmanticina

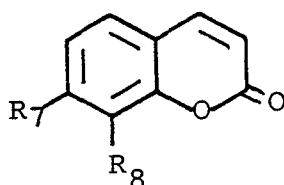
Derivados de ácido hidroxicinámico y compuestos relacionados

Estos ácidos se encuentran en general esterificando alcoholes terpénicos o acetogeninas, por ejemplo, ácido clorogénico. También están relacionados con el ácido cinámico, las cumarinas, cromonas y lignanos. Los más frecuentes son las cumarinas.



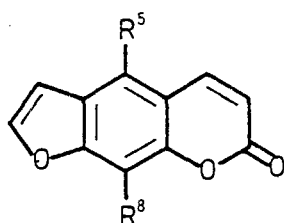
Cumarinas

Estas sustancias son muy frecuentes en las especies pertenecientes a las familias Umbelliferae y Rutaceae. Se han encontrado, tanto cumarinas sencillas, por ejemplo umbeliferona, como furano y piranocumarinas y sus dihidro derivados. El contenido varía según las especies, pero es curioso destacar que las plantas pertenecientes a las tribus Peucedaneae, Amineae, y Smyrneae, son las que presentan mayor abundancia y variedad (21-23). En cambio la tribu Laserpitieae, al que pertenece el género Elaeoselinum, presenta un bajo contenido en cumarinas.



OSTOL	$R_7 = \text{OCH}_3$, $R_8 = \text{CH}_2\text{CH}=\text{CMe}_2$
OSTENOL	$R_7 = \text{OH}$, $R_8 = \text{CH}_2\text{CH}=\text{CMe}_2$
UMBELIFERONA	$R_7 = \text{OH}$
ESCULETINA	$R_7 = R_8 = \text{OH}$

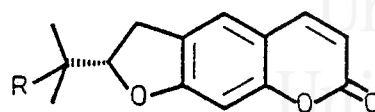
Una Umbelífera muy abundante en cumarinas, es la especie Cachrys sicula L, conocida también como Hippomarathrum pterochlaenum (DC) Boiss. Esta planta perteneciente a la tribu Smyrnieae, ha sido estudiada recientemente en nuestro Departamento (23), habiéndose aislado de ella una serie de cumarinas que a continuación se detallan.



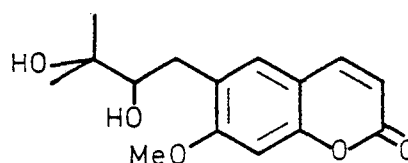
	R ⁵	R ⁸
1 Isoimperatorina		H
2 Imperatorina	H	
3 Bergapteno	OMe	H
4 Xantotoxina	H	OMe
5 Isopimpinellina	OMe	OMe
6 t-O-Metilheraclenol	H	
7 Saxalina		H
8 Pabulenol		H
9 Oxipeucedanina		H



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante



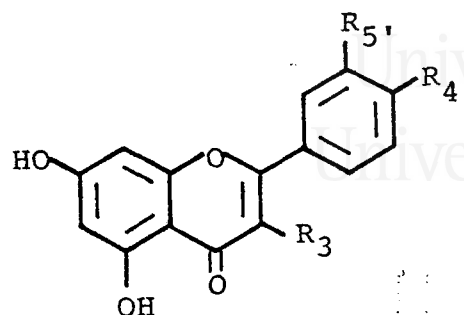
		R	
10	(-)-Prantschimgina		(OSen)
11	(-)-Sprengelianina		(OTgl)
12	(+)-Marmesina	OH	



13 Ulopterol

Flavonoides y otros compuestos relacionados

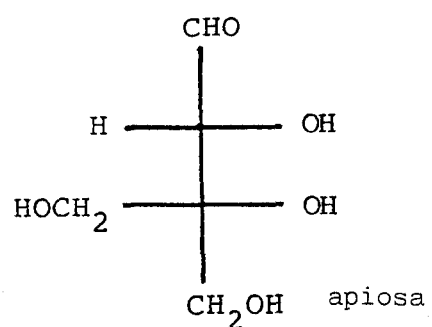
Los flavonoides son compuestos ampliamente distribuidos en el reino vegetal y su presencia ha sido utilizada con fines quimiotáxicos. En el caso de las Umbelíferas, los flavonoides más frecuentes son: luteolina, kempferol, quercetina y sus glicósidos.



QUERCETINA	$R_3 = R_{4'} = R_{5'} = \text{OH}$
LUTEOLINA	$R_3 = \text{H}, R_{4'} = R_{5'} = \text{OH}$
KAMPFEROL	$R_3 = R_{4'} = \text{OH}, R_{5'} = \text{H}$

Azúcares y polioles

En los tejidos de reserva de las Umbelíferas, se han encontrado diversos ciclitoles mono y oligosacáridos. La apiosa fue aislada por primera vez de Apium graveolens. Se puede destacar también la umbeliferosa, que es un trisacárido ampliamente distribuido.



Gal ($1\alpha-2\beta$) Glu ($1\alpha-2\beta$) Fruc

umbeliferosa



Alcaloides y derivados nitrogenados

Son poco frecuentes entre las Umbelíferas, aunque se han encontrado alcaloides sencillos como laconiina, en Conium maculatum. También se han aislado derivados de pirazinas, pirrolidinas e isoquinoleínas.

Esteroles, ceras y ácidos grasos

Se han encontrado hidrocarburos, alcoholes, cetonas lineales y esteroides, más frecuentes en el reino vegetal. Merece destacar sin embargo la presencia en las semillas de Petroselinum sativum, de ácidos palmítico, linoleico y petroselinico.



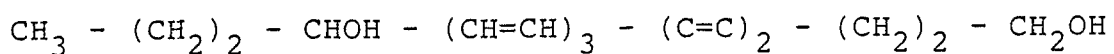
ácido petroselinico

Compuestos poliacetilénicos

Son característicos de las especies pertenecientes a las familias Araliaceae, Compositae y Umbelliferae.

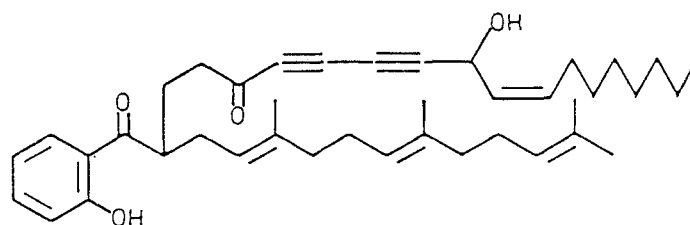
En las Umbelíferas, son frecuentes los poliacetilenos

de 13 a 17 átomos de carbono y en general son sustancias muy tóxicas, por ejemplo la cicutoxina (de *Cicuta virosa*) y oenantotoxina (de *Oenanthe crocata*).



cicutoxina

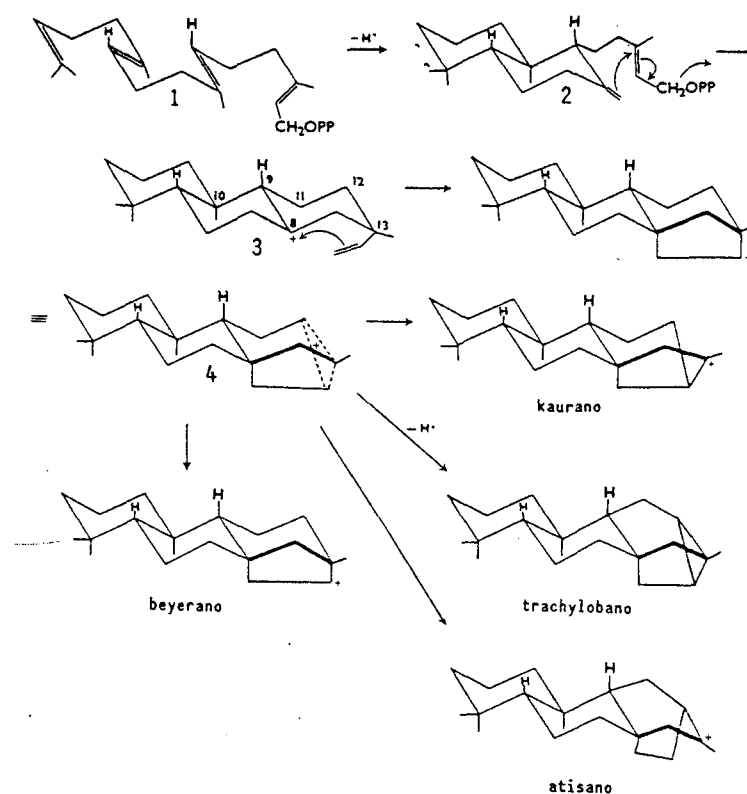
La ferulinona, metabolito recientemente aislado de *Ferula communis* (24) es un poliacetileno de origen biosintético mixto (25), formado por unión de una cumarina (sikimato), un terpenoide (mevalonato) y un acetileno (acetato).



ferulinolona

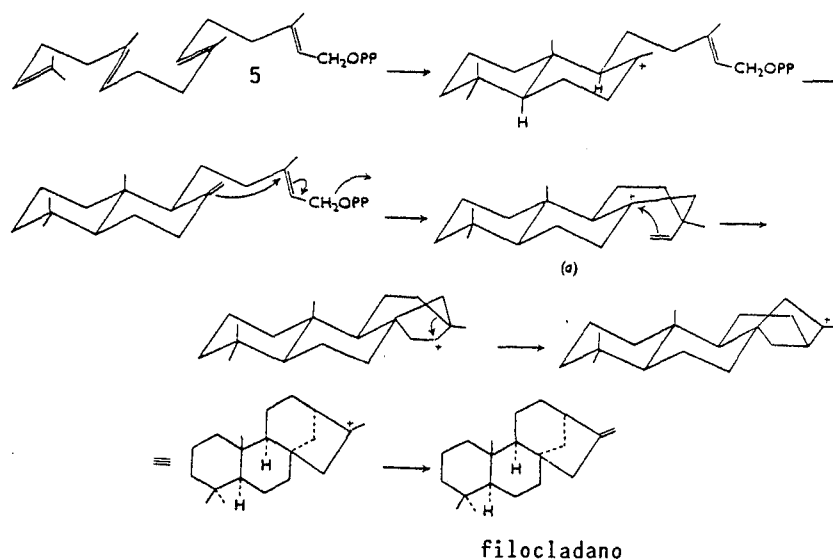
BIOGENESIS DE DITERPENOS TETRACICLICOS

Dada la relación existente entre ciertos derivados con esqueleto de kaurano y las gibellerinas, hormonas vegetales de gran importancia por ser responsables del control del crecimiento y floración de las plantas, se han realizado muchos estudios biogénicos, habiéndose comprobado el origen de los derivados de kaurano y otros diterpenos tetracíclicos relacionados, según se indica en el esquema siguiente (25,26,27)

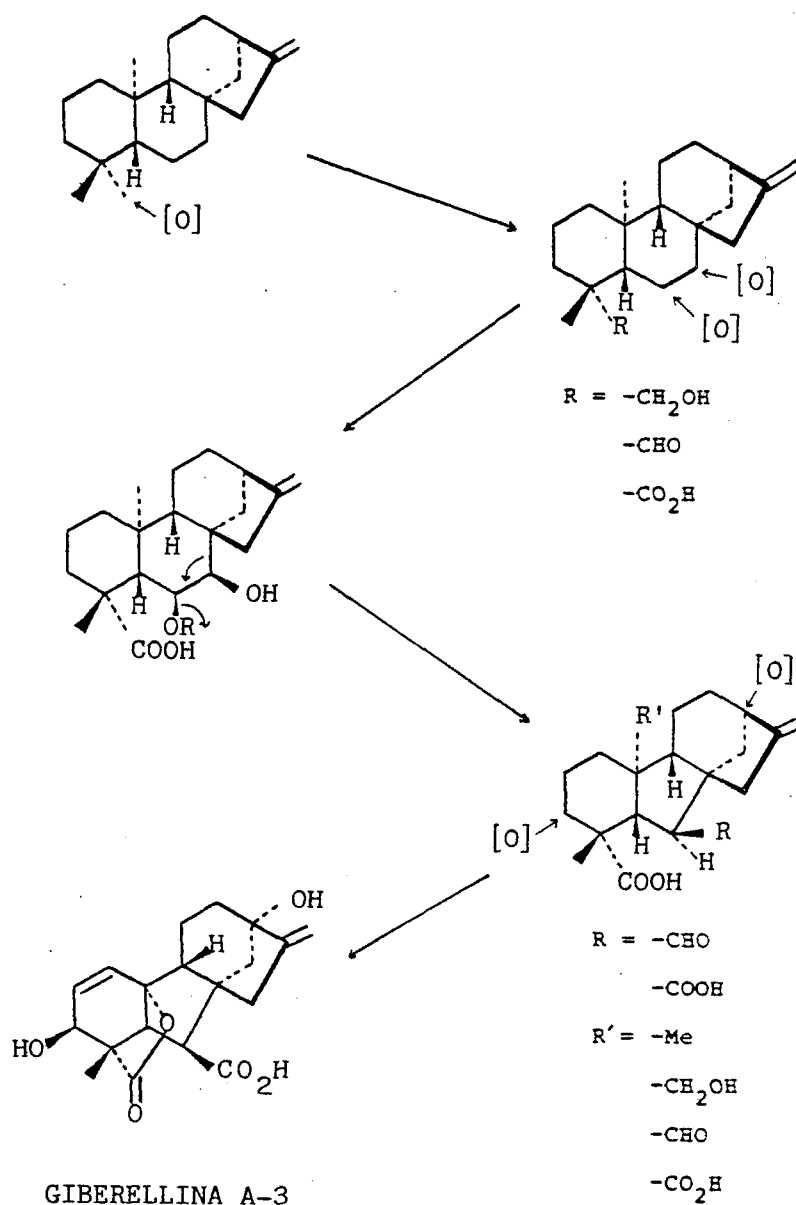


Por ciclación de pirofosfato de geranil geranilo 1, se forma pirofosfato de copalilo que evoluciona a la especie tricíclica 3. El ataque electrófilo del carbocatión en C-8 sobre el doble enlace Δ^{14} origina la especie catiónica tetracíclica 4, que puede evolucionar por caminos diferentes, para dar derivados correspondientes a las series de kaurano, trachylobano, atisano y beyerano.

Por otro lado, si la conformación inicial del pirofosfato de geranil geranilo es la de 5, como se indica en el esquema, siguiendo procesos de ciclación análogos a los anteriores se obtienen los derivados del filocladano.



Por oxidación enzimática del 16-kaureno se forma el ácido ent-7-hidroxi-19-kaurenoico, que por contracción del anillo B se transforma en un aldehído, a partir del cual se originan todas las gibellerinas. En el esquema siguiente se indican estas transformaciones.





Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

ELAESEL INUM TENUIFOLIUM



EXTRACCION Y FRACCIONAMIENTO

Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

La planta objeto de estudio, fue recolectada en el Cabo de Huertas (término municipal de Alicante) y las raíces, previamente troceadas, fueron extraídas con benceno en un aparato Dean Stark eliminando el agua por destilación azeotrópica. El extracto bruto de benceno concentrado dió un peso de 58,8 g que representa el 3,9% del peso de raíces secas.

El extracto bruto bencénico se trató con metanol y la parte soluble en este disolvente (77,4%*), reveló la presencia en el IR de bandas características de ácidos carboxílicos, por lo que fue sometido a un fraccionamiento con bases como se indica en la parte experimental.

La CCF de la parte neutra (61,1%*), revela la presencia de dos manchas predominantes, que corresponden a los componentes mayoritarios T-4 y T-6, así como un conjunto de manchas de menor polaridad. Los compuestos T-4 y T-6 se separaron por cristalización (27%*) y se purificaron por métodos cromatográficos.

El resto de la parte neutra se fraccionó por cromatografía en columna húmeda. De la parte menos polar se

(*) Porcentajes referidos al extracto bruto de benceno.



aislaron e identificaron los compuestos T-1, T-2 y T-3, mientras que de la parte más polar se aisló e identificó la sustancia T-5.

A continuación vamos a detallar el proceso de determinación estructural de las sustancias T-1 a T-6, basándonos en su comportamiento químico y datos espectroscópicos (28-34).

C.C.F. DEL EXTRACTO BRUTO DE BENCENO

	Rf.	Coloración al revelar
Glicéridos		
T-1	0.77	rojo oscuro
T-2	0.69	marrón oscuro
T-3	0.62	" "
T-4	0.42	azul oscuro
T-5	0.36	" "
T-6	0.28	" "
Acidos grasos		rojo

Eluyente: Hx / AcOEt 8:2

Revelado: H₂SO₄/EtOH/vainillina

Calentamiento: 120°/5 min.



Universitat d'Alacant
 Universidad de Alicante

T-4: ent-15 α -Angeloiloxi-16-kauren-3 β -ol

Este compuesto fue aislado de la fracción A2, correspondiente a la cromatografía en columna seca de la parte cristalizada del extracto neutro de benceno. T-4 se cristalizó en hexano, dando un sólido blanco de Pf. 120-121° y $[\alpha]_D -89,1^\circ$.

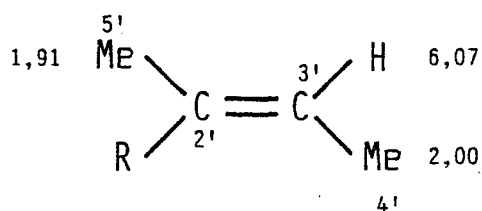
El espectro IR (fig. T-4b), presenta absorciones características de los siguientes grupos: Hidroxilo asociado (3.360(a), 1.040), metileno terminal (3.070, 1.650, 890) y éster conjugado (1.715, 1.220, 1.150), (28-30).

El espectro UV (fig. T-4a), presenta un máximo de absorción a 218 nm (3,9), correspondiente a una transición $n \rightarrow \pi^*$ de un grupo éster probablemente conjugado (28,29,33).

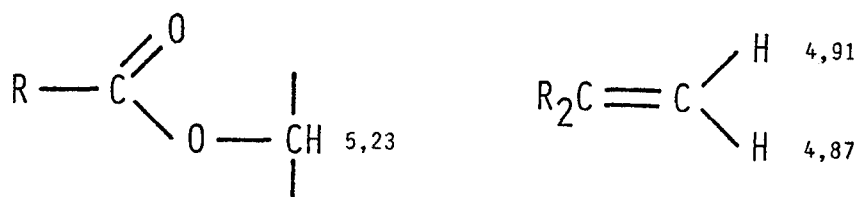
En el espectro de masas (fig. T-4g), se observa un ión molecular M^+ a m/z 386 que corresponde a una fórmula molecular $C_{25}H_{38}O_3$, siendo además significativos los fragmentos a m/z : 303[M-Ang]⁺, 286[M-AngOH]⁺, 271[286-Me]⁺, 268[286-H₂O]⁺, 253[271-H₂O]⁺, 243[271-C₂H₄]⁺, 83[Ang]⁺, (100), 55[Ang-CO]⁺, (28-34).

En el espectro de RMN ¹H (200MHz, CDCl₃) (fig. T-4e), se observan las siguientes señales δ (ppm): 6,07(1H,cc, J=7,2Hz, J=1,4Hz, H-3') de un protón vinílico, 2,00(3H,dc,

$J=7,2\text{Hz}$, $J=1,4\text{Hz}$, H-4') metilo geminal al protón vinílico y 1,91(3H, qnt, $J=1,4\text{Hz}$, H-5') metilo sobre doble enlace acoplado con los protones anteriores. El acoplamiento entre las señales se comprobó por doble irradiación sobre el metilo H-5'. Estos datos concuerdan con la siguiente estructura parcial:



A 5,23(1H, t, $J=2,4\text{Hz}$, H-15), resuena un protón geminal a grupo éster y a 4,91(1H, d, $J=2,4\text{Hz}$, H-17a) y 4,87(1H, m, $W_{\frac{1}{2}}=5\text{Hz}$, H-17b) señales correspondientes a un metileno terminal.



Centrado a δ 3,17(1H, m, X(ABX), $J_{\text{AX+BX}}=16,3\text{Hz}$, H-3) protón geminal a grupo hidroxilo. 1,02(3H, s, H-20), 0,93(3H, s, H-18) y 0,74(3H, s, H-19) metilos sobre carbonos cuaternarios.

Del espectro de RMN ^{13}C (50,3MHz, CDCl_3) (fig. T-4f),

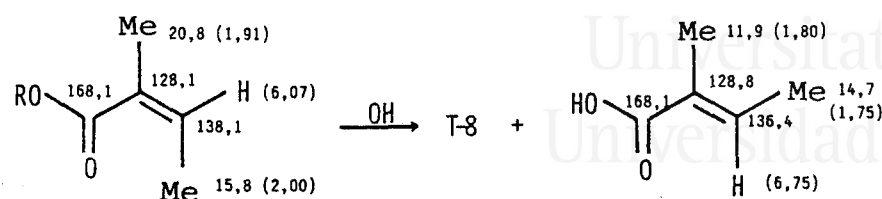


realizado con desacoplamiento protónico y de los registros DEPT, se deduce la presencia de los siguientes grupos de carbonos:

$=CR_2$	$=CHR$	$=CH_2$	R_4C	R_3CH	R_2CH_2	RCH_3
168,1	138,1	106,3	46,0	81,2	39,0	28,4
153,9			39,0	78,9	38,8	20,8
128,1			38,8	54,9	36,5	17,8
				48,2	33,5	15,8
				40,8	27,4	15,6
					19,6	
					17,8	

Los fragmentos a m/z 286 $[M-AngOH]^+$, 83 $[Ang]^+$ y 55 $[Ang-CO]^+$, así como los datos de IR, UV y RMN indicados anteriormente, son característicos de un éster del ácido angélico (18,35,36).

Por hidrólisis de T-4 con KOH/MeOH 5%, se aisló el alcohol T-8 y ácido tíglico cuyas propiedades y datos espectroscópicos (pag. 368) concuerdan con los descritos en la bibliografía (35). Este ácido proviene de la isomerización del ácido angélico presente en el compuesto natural, que tiene menor estabilidad que el tíglico (36, 37).



Una vez identificado el ácido que estaba esterifican-
do T-4, el resto molecular presenta una fórmula de
 $C_{20}H_{32}O_2$ y de acuerdo con los datos espectroscópicos
anteriores se deduce que T-4 debe tratarse de un diterpeno
tetracíclico con un metileno terminal, un hidroxilo libre
ecuatorial ($J_{AX+BX}=16,3\text{Hz}$) y un grupo angeloiloxilo.

Los esqueletos más comunes de diterpenos tetracíclic-
cos son el kaurano, atisano, filocladano y beyerano. En
todos ellos hay tres metilos sobre carbono cuaternario y
en los tres primeros, otro metilo sobre carbono terciario.

El compuesto T-4 presenta tres metilos cuaternarios
y un metileno terminal, por lo que no puede presentar
esqueleto de beyerano.

El esqueleto de atisano puede ser descartado basándo-
nos en el multiplete asignado al protón alílico metínico
(H-12 en estructura de atisano y H-13 en filocladano o
kaurano), aparece a 2,66 mientras que en derivados de ati-
sano que no presentan efectos de sustituyentes sobre H-12

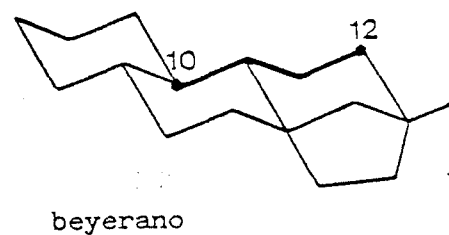
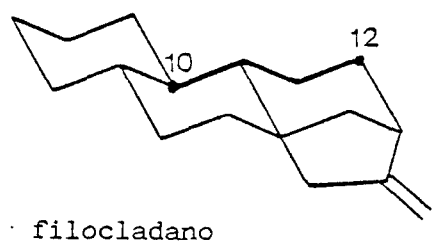
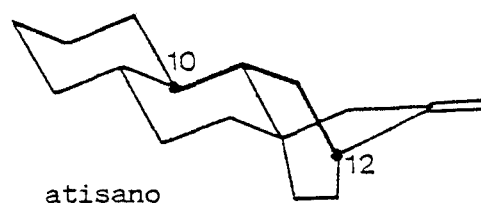
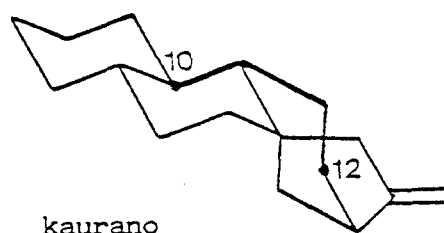
(38), este resuena sobre 2,28 ppm. El desplazamiento químico del protón alílico de T-4 no puede justificarse con una estructura de atisano, ya que dicho desplazamiento no puede atribuirse a un desapantallamiento por sustituyentes, porque como veremos más adelante, las dos funciones que aparecen en nuestra molécula no deben encontrarse en posiciones que afecten a H-12.

Por comparación entre los datos de RMN ^{13}C de kauranos y atisanos descritos en la bibliografía (18,38,39,40), se observan diferencias muy importantes en los anillos C y D, principalmente en los carbonos C-11, C-12, C-13 y C-14, (ver tablas RMN ^{13}C , pág. 388).

Los datos de RMN ^{13}C de T-8 se ajustan bastante bien a una estructura de kaurano, presentando grandes diferencias en los carbonos citados respecto a la estructura de atisano.

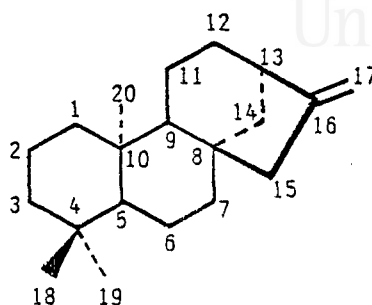
Consultada la bibliografía (18,38-44), se ha podido comprobar que el desplazamiento químico en RMN ^{13}C del C-10 en los derivados de kaurano, es mayor que en los restantes esqueletos. El desplazamiento de C-10 en la estructura de kaurano, puede ser debido a la presencia de un efecto "γ-gauche" entre C-10 y C-12, efecto ausente en las otras estructuras. En ausencia de otros sustituyentes el C-10 en un derivado de kaurano (39,5 ppm), aparece desapantalla-

do aproximadamente 1,5 ppm en comparación con el del filocladano (37,9 ppm). Como en el compuesto T-4 todos los carbonos terciarios aparecen desapantallados por encima de 38,8 ppm, se sugiere para nuestro compuesto una estructura de kaurano. Este desapantallamiento no puede atribuirse a los sustituyentes, ya que en las posiciones en que están situados presentan efecto nulo o apantallante sobre C-10.



Hasta una posterior confirmación mediante correlación con sustancias conocidas, como veremos más adelante, asignamos a T-4 un esqueleto de kaurano de la serie "enantio" por razones biogénéticas, ya que los diterpenoides kauréni-

cos de la serie normal son prácticamente inexistentes en la naturaleza (38,45).

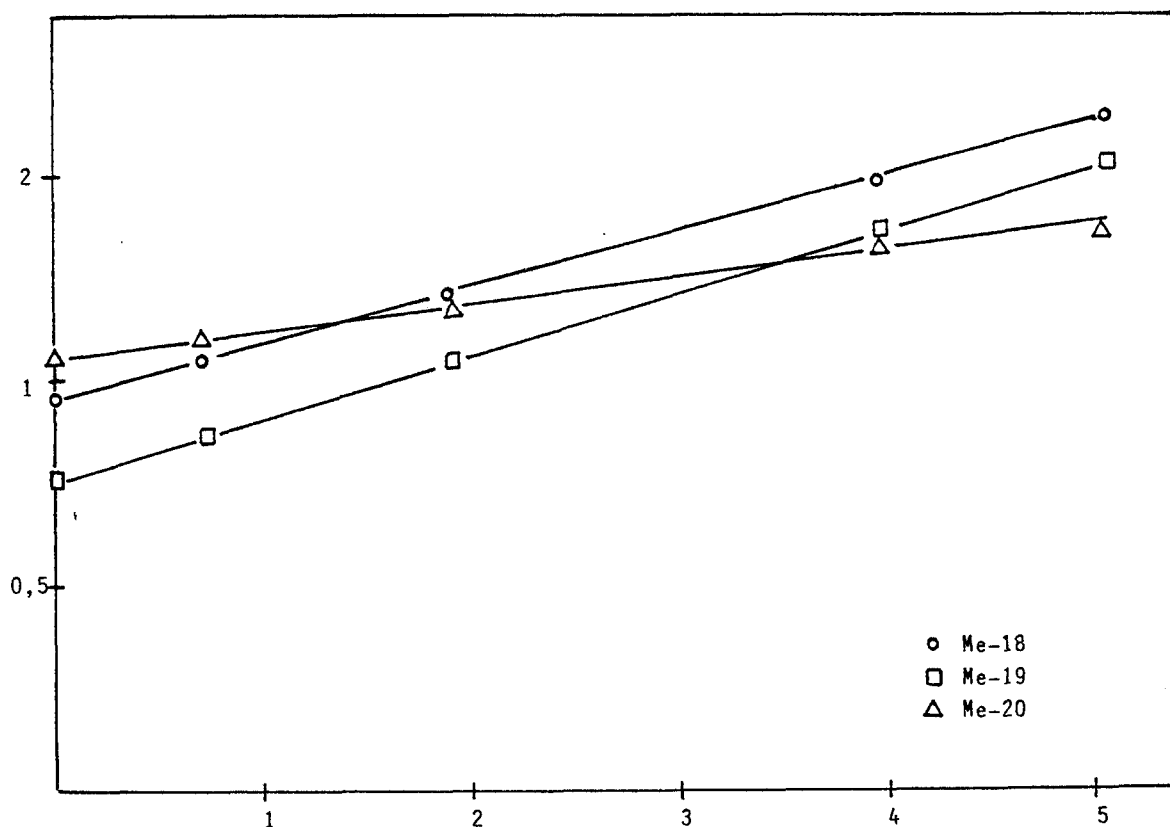


Las posiciones en que se encuentran localizadas las dos funciones oxigenadas, se deducen a partir del espectro de RMN ^1H . La señal del protón geminal al hidroxilo libre aparece a 3,17 como un multiplete parte X de un sistema ABX con $J_{\text{AX+BX}}=16,3\text{Hz}$ (46). Esto reduce las posibilidades para el grupo hidroxilo a las posiciones 1,3 y 7. La forma del multiplete complejo en el espectro de 200MHz, (en RMN de 60MHz aparece como dd aparente con $J=9\text{Hz}$ y $J=7\text{Hz}$), es característica de un protón geminal a un hidroxilo ecuatorial en posición 3 (47,48). Esta posición se confirmó por los datos de RMN ^{13}C mostrados más adelante.

El protón geminal al grupo angelato aparece como un triplete a 5,23 ppm ($J=2,4\text{Hz}$), acoplado con los protones del metileno terminal, como se demuestra por doble irradiación. El que no presente otros acoplamientos significativos indica que la única posición posible es la de C-15.

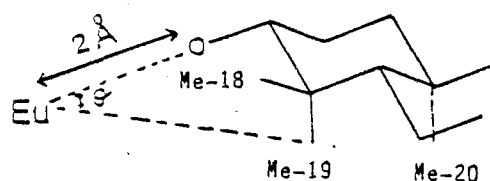
La asignación de las señales correspondientes a los metilos en RMN ^1H , se hizo de acuerdo con los desplazamientos inducidos por el complejo $\text{Eu}(\text{dpm})_3$, al ir añadiendo cantidades crecientes de Eu a una disolución de T-4 en CDCl_3 y registrar los espectros observando el desapantallamiento de las señales de los metilos.

	Eu (dpm) $_3$ (mg)	Me-18	Me-19	Me-20
A	0,0	0,96	0,76	1,06
B	0,7	1,03	0,85	1,10
C	1,9	1,20	1,03	1,17
D	4,0	1,46	1,33	1,30
E	5,1	1,60	1,50	1,33
	$\Delta\delta$ (E-A) ppm	0,64	0,74	0,27



Si suponemos que el complejo de Eu se coordina al hidroxilo en C-3 y lo situamos a 2 Å del oxígeno en línea con el enlace C-O, podemos relacionar las pendientes experimentales de las rectas de la figura anterior, con otras calculadas mediante la siguiente fórmula:

$$P = K (3 \cos^2 \theta - 1) / L^3 \quad (49)$$



Esta fórmula empírica nos da las pendientes en función de las distancias y el ángulo que forman cada uno de los metilos con el Eu. La tabla siguiente nos muestra que las pendientes calculadas concuerdan bastante bien con las experimentales ($K=1$).

Me	θ ($^{\circ}$)	L (Å)	P calculada	P experimental
18	36	4,4	0,0113	0,127
19	36	4,4	0,0113	0,145
20	26	6,4	0,0054	0,055

Estos valores nos indican que el singlete a 1,06 ppm, debe asignarse al Me-20. De las otras dos señales, el Me-19 que presenta interacción 1,3 sindiaxial con el Me-20 debe ser el más apantallado (50,51), por lo que asignaremos las señales de 0,96 y 0,76 ppm a Me-18 y Me-19 respectivamente.

Si el hidroxilo secundario se sitúa en C-1 (ecuatorial) o en C-7 (ecuatorial) y aplicamos el razonamiento antes indicado, se deducen las siguientes pendientes calculadas para cada uno de los metilos con $K=120$.

OH	Me-18	Me-19	Me-20
C-3	1,35	1,35	0,65
C-7	0,37	0,41	0,64
C-1	0,49	0,65	1,45
Pexp	1,27	1,45	0,55

Se puede observar que las pendientes que mejor concuerdan con las experimentales, son las calculadas con el hidroxilo en C-3.

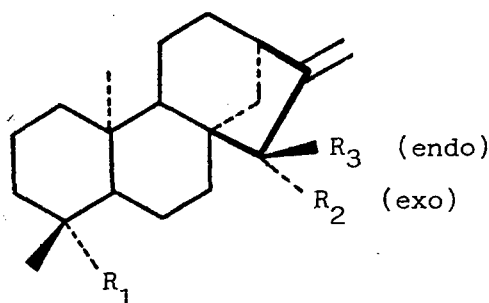
Las asignaciones en el espectro de RMN ^{13}C se realizaron por comparación de los datos experimentales del diol T-8, con los valores de los desplazamientos citados



en la bibliografía para compuestos similares.

El cálculo se realizó tomando como base los datos de RMN ^{13}C del compuesto ent-16-kaureno (42), indicados en la tabla III y añadiendo a continuación los efectos calculados para los sustituyentes en C-15 y C-3 (tablas I y II respectivamente).

En primer lugar se calcularon los incrementos en el desplazamiento químico producidos por un grupo hidroxilo ent-15 α (= endo) y ent-15 β (= exo) sobre estructura de kaurano, con la finalidad de poder determinar más adelante la estereoquímica del C-15. Dichos incrementos aparecen reflejados en la tabla I (columnas D y E), y se calcularon por diferencias entre las absorciones de los compuestos ent-15 α -hidroxi-16-kauren-19-oato de metilo (columna B) y ent-15 β -hidroxi-16-kauren-19-oato de metilo (columna C), con respecto al ent-16-kauren-19-oato de metilo (columna A) (42).



- A: $R_1 = \text{COOMe}$, $R_2 = R_3 = \text{H}$
 B: $R_1 = \text{COOMe}$, $R_2 = \text{H}$, $R_3 = \text{OH}$
 C: $R_1 = \text{COOMe}$, $R_2 = \text{OH}$, $R_3 = \text{H}$
 D: $\Delta_{\text{B-A}}$
 E: $\Delta_{\text{C-A}}$



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

TABLA I

Carbono	A	B	C,	D	E
1	40,9	40,7	40,9	-0,2	-
2	19,2	19,2	19,2	-	-
3	38,1	38,1	38,1	-	-
4	43,9	43,9	43,9	-	-
5	57,2	56,4	57,1	-0,8	-0,1
6	21,9	21,6	21,1	-0,3	-0,8
7	41,4	36,3	36,3	-5,1	-5,1
8	44,3	45,7	47,8	1,4	3,5
9	55,2	45,5	53,5	-9,7	-1,7
10	39,5	39,1	39,7	-0,4	0,2
11	18,4	18,3	18,3	-0,1	-0,1
12	33,2	31,1	32,6	-0,1	-0,6
13	43,9	40,1	42,3	-3,8	-1,6
14	39,7	38,9	35,3	-0,8	-4,4
15	49,0	82,5	82,7	33,5	33,7
16	155,8	158,4	160,3	2,6	4,5
17	103,1	104,7	108,2	1,6	5,1
18	28,8	28,7	28,8	-0,1	-
19	178,0	178,0	178,0	-	-
20	15,4	15,5	15,7	0,1	0,3

Por no disponer de datos sobre el efecto del OH ecuatorial en C-3 sobre una estructura de kaurano, y considerando que éste tiene influencia casi exclusivamente en el primer anillo, los incrementos fueron calculados a partir de datos de RMN ^{13}C de triterpenos de la serie del lupano (52).

La tabla II corresponde a la variación en el desplazamiento químico, debida a la presencia en C-3 de un hidroxilo ecuatorial (columna H), como diferencia entre las absorciones del lupeol (columna G) y el lupano (columna F). En esta tabla sólo están representados aquellos carbonos sobre los que el efecto del hidroxilo es apreciable (*).

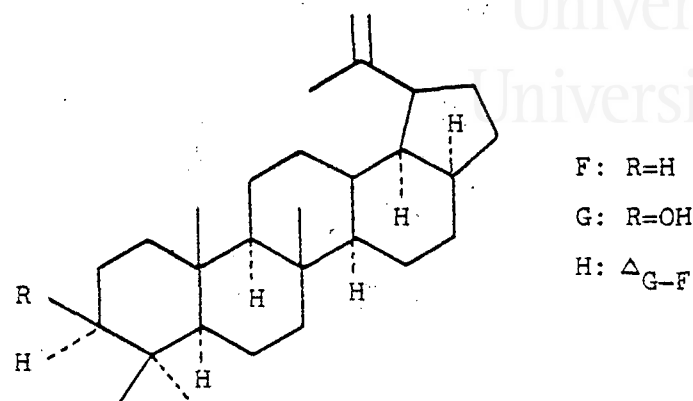
TABLA II

Carbono	F	G	H
1	40,3	38,7	-1,6
2	18,7	27,4	8,7
3	42,1	78,8	36,7
4	33,2	38,8	5,6
5	56,3	55,2	-1,1
6	18,7	18,3	-0,4
10	37,5	37,1	-0,4
18*	33,4	28,0	-5,4
19*	21,6	15,4	-6,2

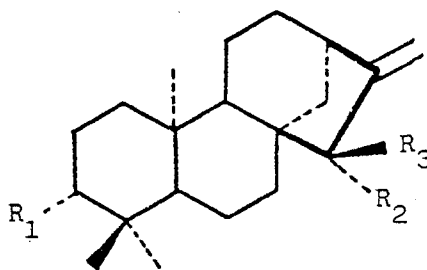
(*) Para los metilos se ha cambiado la numeración del triterpeno, por la que tendrían en la estructura de kaurano.



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante



En la tabla III están representados los desplazamientos calculados para el ent-16-kauren-3 β ,15 α -diol (columna J) y el ent-16-kauren-3 β ,15 β -diol (columna K), calculados al sumar a la columna A, que representa las absorciones del ent-16-kaureno, los incrementos calculados en las tablas I y II.



A: $R_1=R_2=R_3=H$

J: $R_1=OH, R_2=H, R_3=OH$

K: $R_1=OH, R_2=OH, R_3=H$

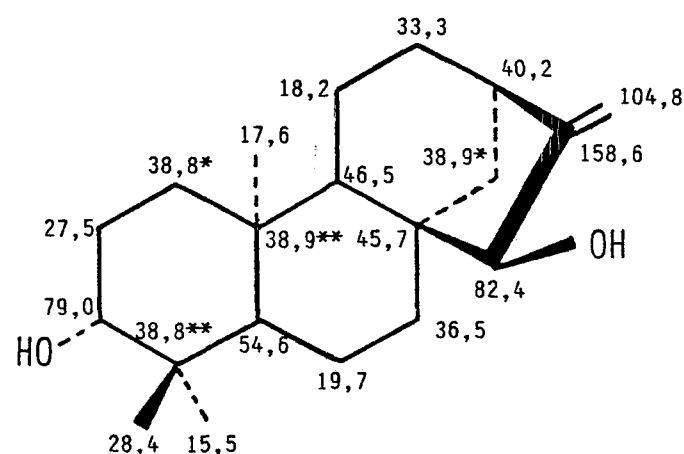


TABLA III

Carbono	A	J	K	T-8
1	40,5	38,7	38,9	38,8*
2	18,7*	27,4	27,4	27,5
3	42,1	78,8	78,8	79,0
4	33,3	38,9	38,9	38,8**
5	56,3**	54,4	55,1	54,6
6	20,3	19,6	19,1	19,7
7	41,3	36,2	36,2	36,5
8	44,3	45,7	47,8	45,7
9	56,1**	46,4	54,4	46,5
10	39,4	39,0	39,6	38,9**
11	18,2*	18,1	18,1	18,2
12	33,3	33,2	32,7	33,3
13	44,0	40,2	42,2	40,2
14	39,9	39,1	35,5	38,9*
15	49,2	82,7	82,9	82,4
16	156,0	158,6	160,5	158,6
17	102,8	104,4	107,9	104,8
18	33,7	28,2	28,3	28,4
19	21,7	15,5	15,5	15,5
20	17,6	17,7	17,9	17,6

(*,**) Valores intercambiables.

Por comparación de los datos experimentales del diol T-8 que aparecen representados en la última columna de la tabla III, con las columnas J y K, podemos concluir que nuestro compuesto se ajusta mejor a la estructura del ent-16-kauren-3 β ,15 α -diol.

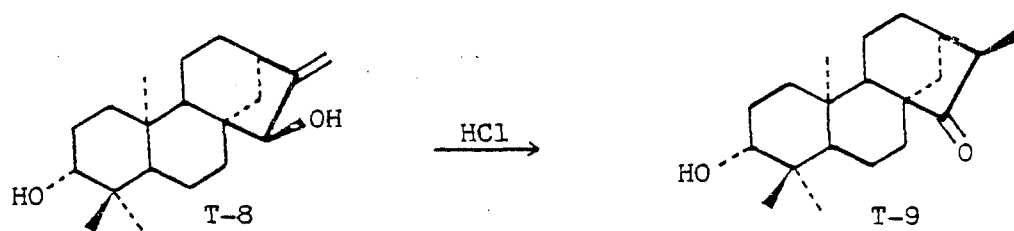


(*,**) Asignaciones intercambiables

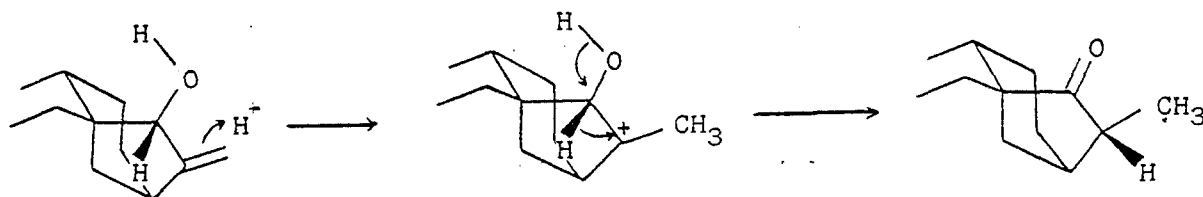
La estereoquímica del C-15 parece quedar clara al comprobar que entre los datos experimentales de T-8 y los valores de la columna K (exo), existen diferencias muy importantes, sobre todo en los carbonos C-8, C-9, C-13, C-14, C-16 y C-17.

La configuración endo propuesta para el hidroxilo en C-15, se confirmó por su reactividad química en presencia de HCl concentrado (53). En estas condiciones se ha

comprobado que cuando el hidroxilo tiene configuración endo, se produce con cierta facilidad un reordenamiento a cetona, como se comprobó que efectivamente ocurría con el diol T-8. En el caso de la configuración C-15 exo, y en las mismas condiciones, la sustancia hubiera permanecido sin transformarse.

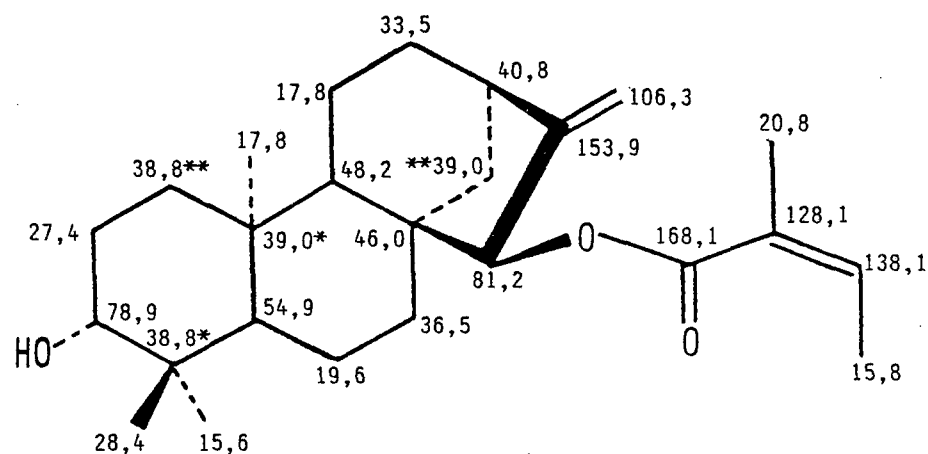


La reacción puede explicarse por adición al doble enlace, de un protón, formándose un carbocatión terciario. A continuación se produce una transposición del hidrógeno 15-exo al carbono C-16, para dar un carbocatión terciario estabilizado por la presencia de oxígeno, que evoluciona por pérdida del protón del OH con formación de un doble enlace C=O.



En la bibliografía (54) aparece esta reacción como bastante favorecida cuando el OH es endo, mientras que transcurre muy lentamente o no llega a producirse cuando se encuentra en posición exo.

En la figura inferior se asignan las señales de RMN ^{13}C a los carbonos del compuesto T-4, obtenidas por comparación con su diol T-8 y con los datos descritos en bibliografía para el sustituyente angeloiloxilo (35).

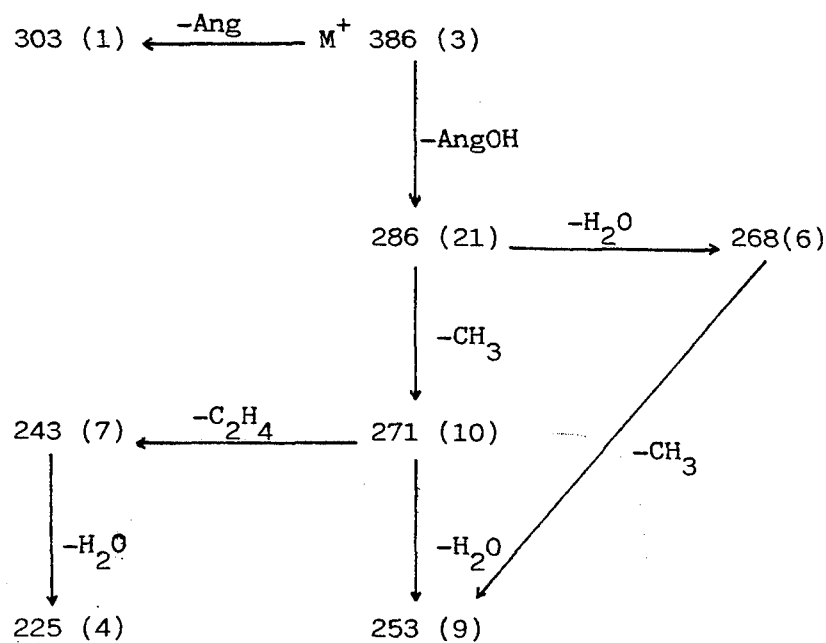
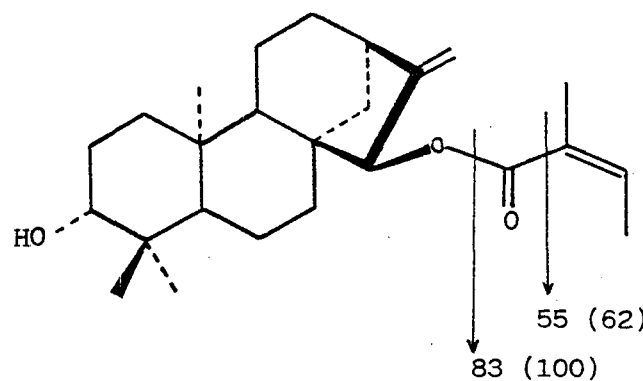


(*,**) Asignaciones intercambiables

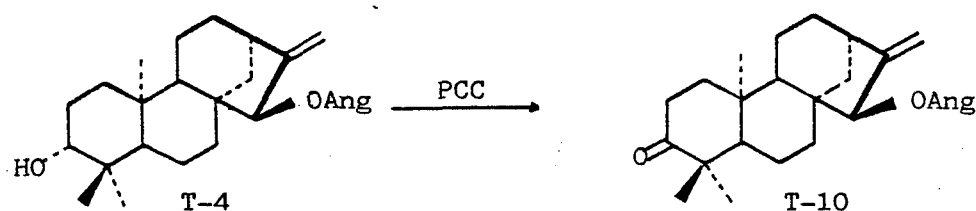


Los fragmentos que aparecen en el espectro de masas de T-4 están en concordancia con la estructura propuesta.

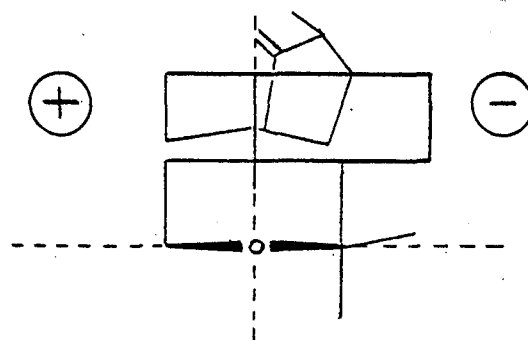
Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

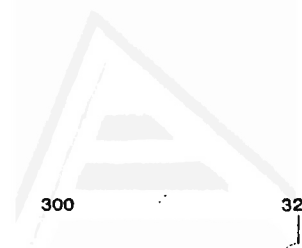


Según mencionamos anteriormente es muy probable que el esqueleto de kaurano propuesto para T-4 pertenezca a la serie "enantio". Para confirmarlo se oxidó el producto natural con PCC, obteniéndose la cetona T-10.



La curva de dicroísmo circular (fig. T-10a) presenta un efecto Cotton negativo a 293 nm, $\Delta\epsilon = -0,97$ (hexano). Para explicar el efecto Cotton observado y de acuerdo con la regla del octante (55), se requiere que la configuración absoluta de T-10 sea la representada en la proyección adjunta y no la enantiómera.





Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

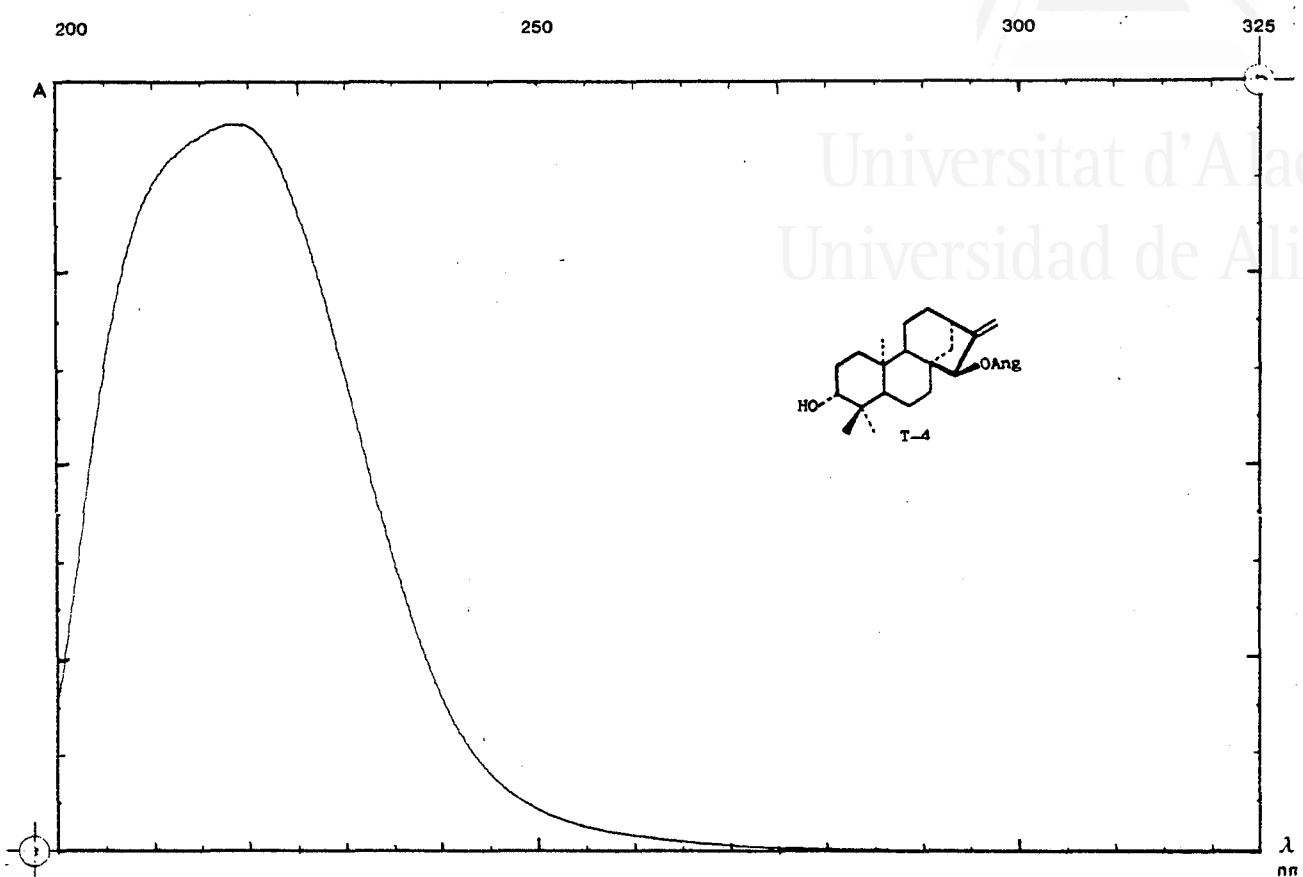


Fig. T-4a

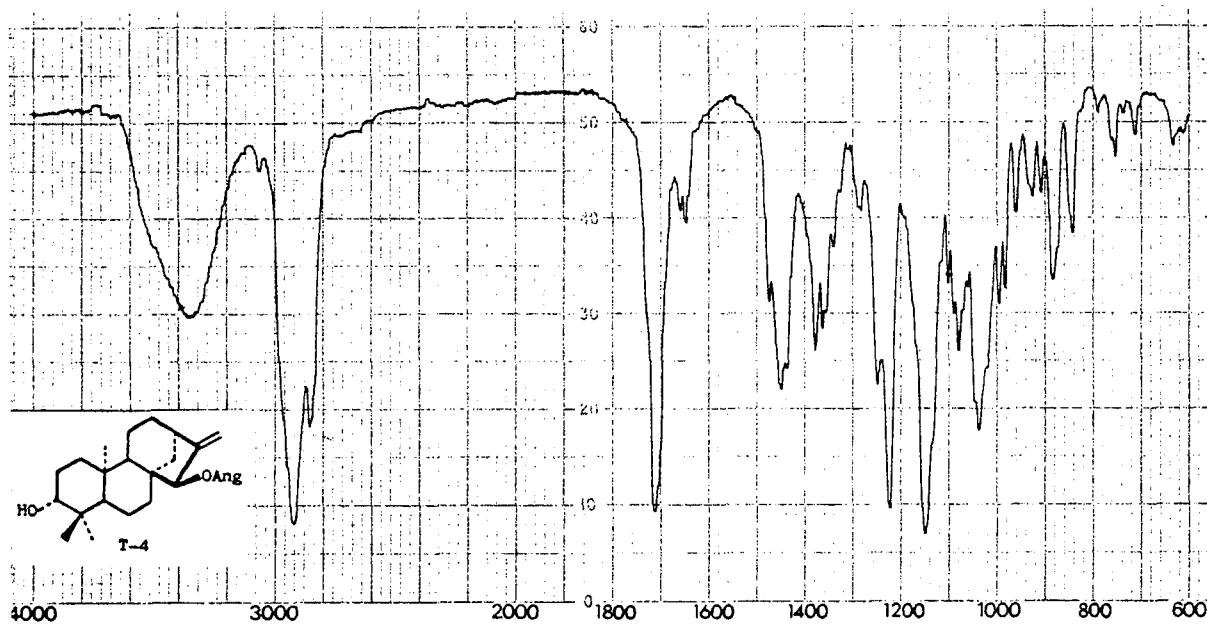


Fig. T-4b

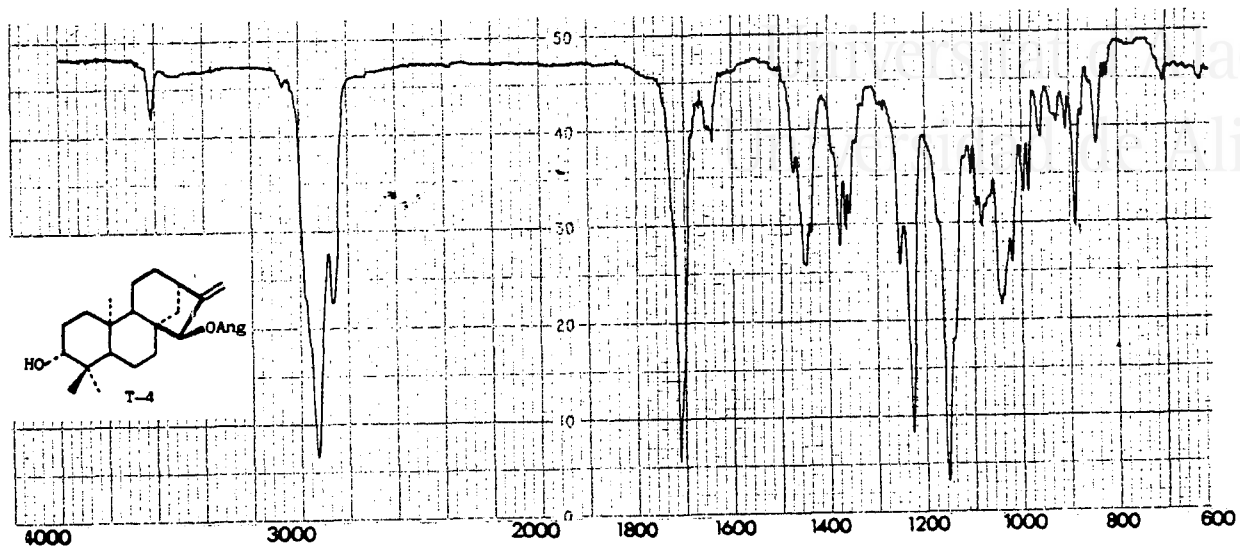


Fig. T-4c

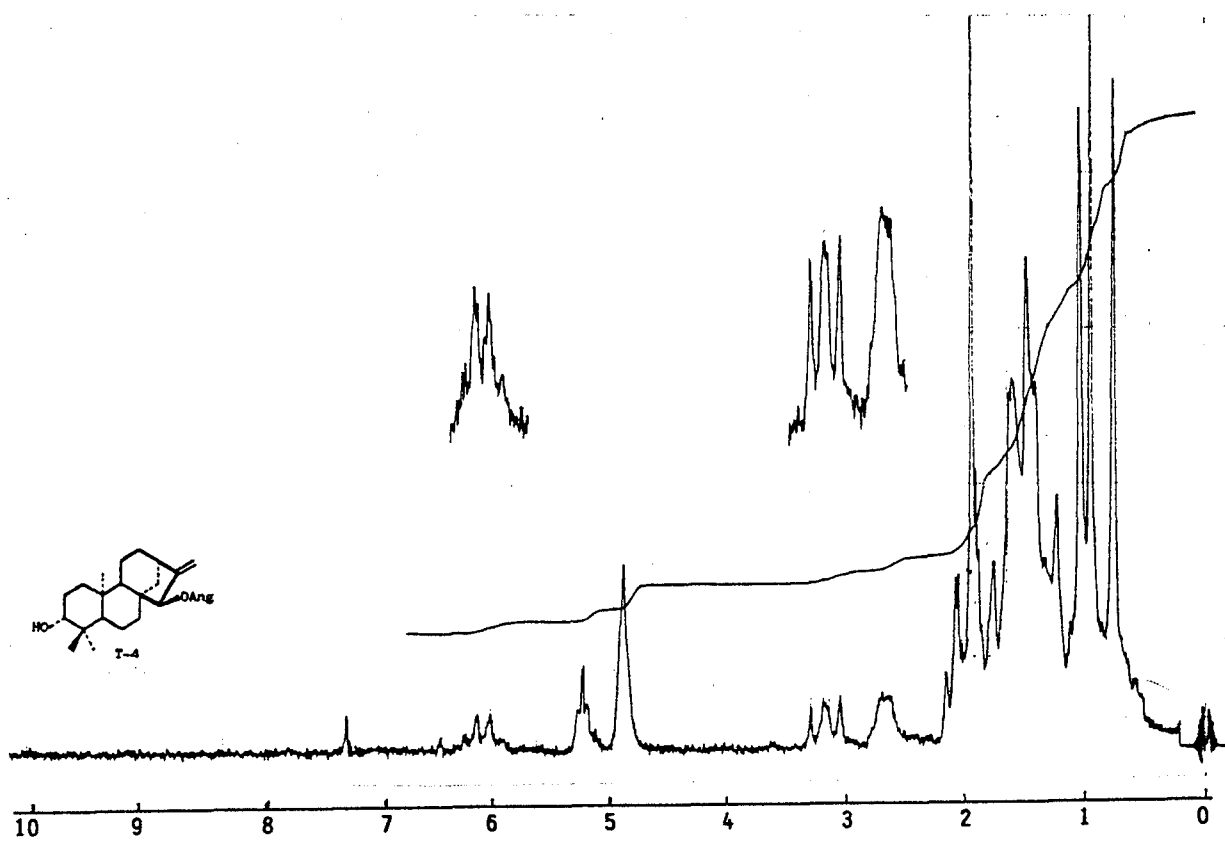


Fig. T-4d



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

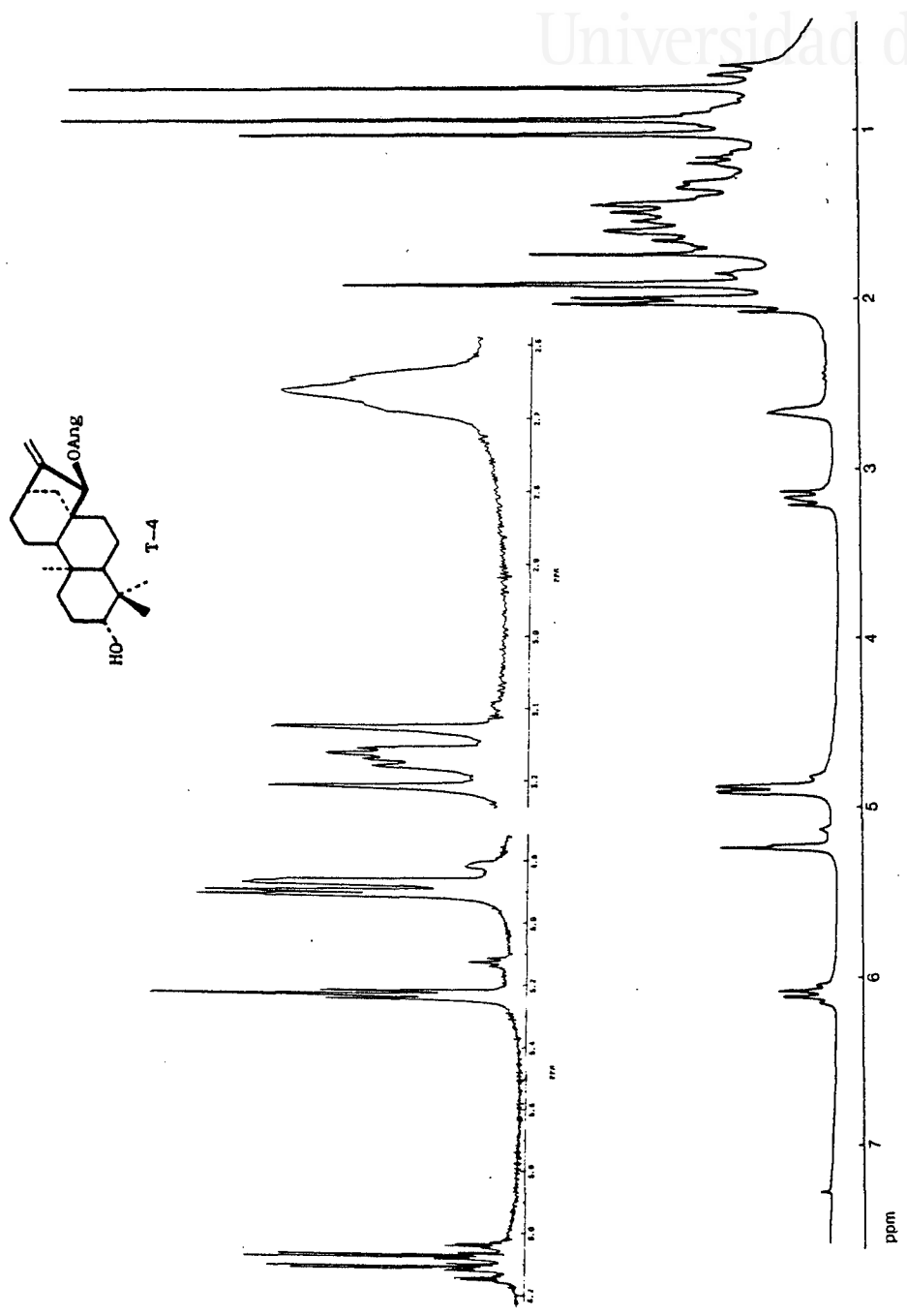


Fig. T-4e



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

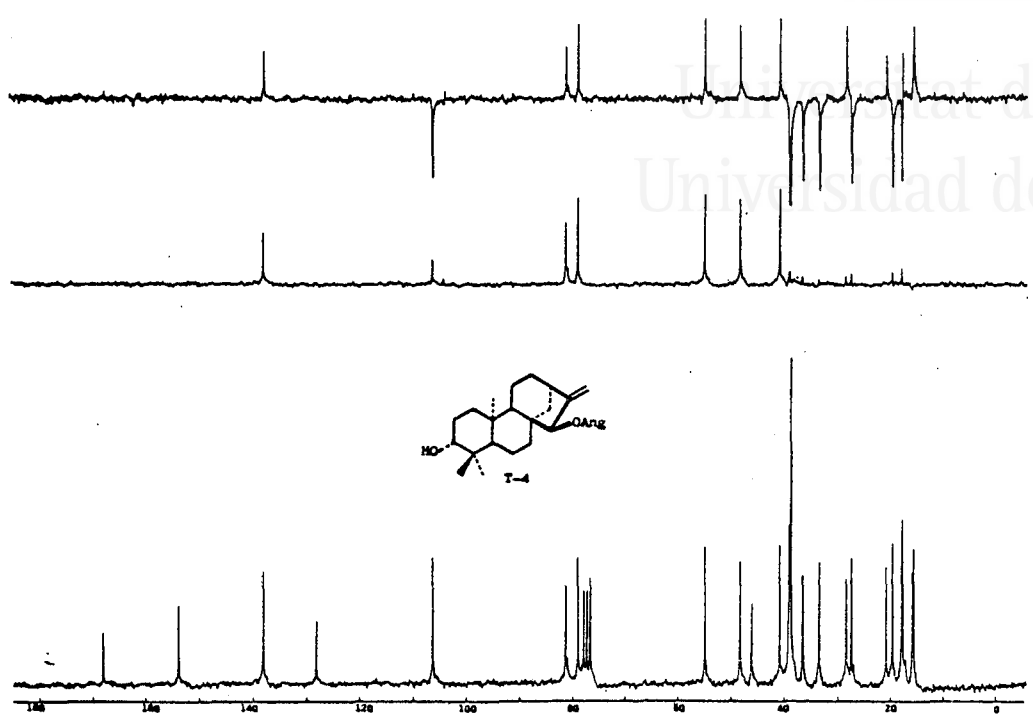


Fig. T-4f

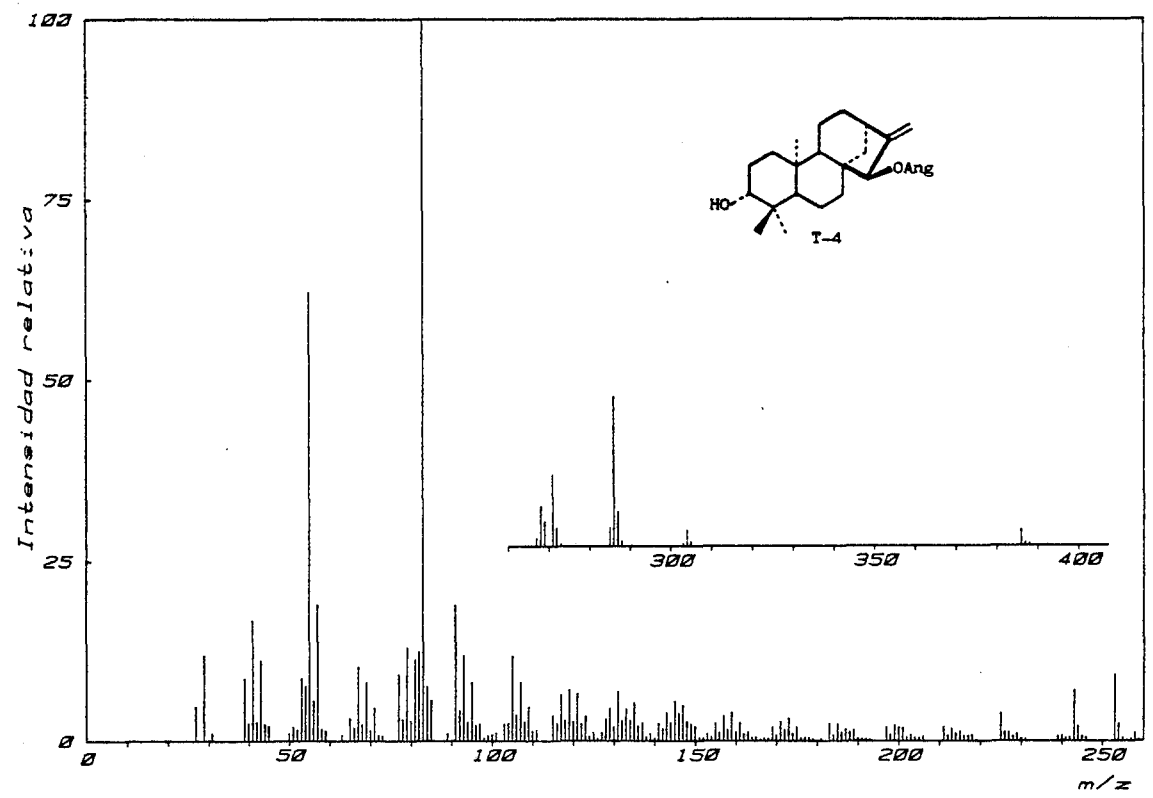


Fig. T-4g

Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

Acetato T-7

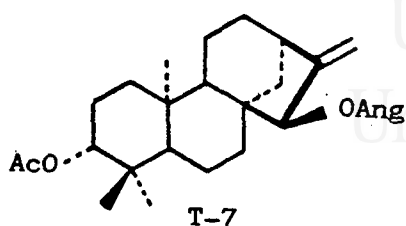
Por acetilación de T-4 con Ac_2O /piridina, se obtuvo el acetato T-7 que cristalizado en hexano presenta un Pf. $94-95^\circ$ y $[\alpha]_D -75,4^\circ$.

La estructura se confirmó por comparación de los espectros de IR (fig. T-7a) y de RMN ^1H (fig. T-7b) con los del compuesto T-4, observando las siguientes variaciones:

El espectro IR muestra nuevas bandas características de grupo acetato (1.735, 1.250), así como la desaparición de las señales correspondientes al grupo hidroxilo.

En el espectro de RMN ^1H (60MHz, CDCl_3), aparece una señal a 2,03(3H,s,H-2") del grupo metilo del acetato. El multiplete parte X del sistema ABX del protón en C-3, sufre un desapantallamiento por efecto del sustituyente acetoxilo.

El espectro de masas (fig. T-7c), tiene un ión molecular M^+ a m/z 428 que corresponde a una fórmula $\text{C}_{27}\text{H}_{40}\text{O}_4$. La fragmentación es muy similar a la indicada para T-4, presentando en la parte alta del espectro fragmentos característicos a $368[\text{M}-\text{AcOH}]^+$ y $328[\text{M}-\text{Tg}1\text{OH}]^+$.



Diol T-8

La hidrólisis de T-4 con KOH/MeOH 5%, dio T-8, que se purificó por cristalización en benceno, presentando un Pf. 167-168° y $[\alpha]_D -61,2^\circ$.

Por comparación de sus datos espectroscópicos con los de T-4 se observan las siguientes diferencias:

El espectro IR (fig. T-8a), muestra la desaparición de las bandas características de grupo éster, así como la aparición de otras nuevas de grupo hidroxilo (3.430, 3.350, 1.080, 1.060).

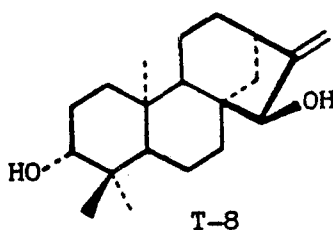
El espectro de masas (fig. T-8e), presenta un ión molecular M^+ a m/z 304, que corresponde a una fórmula empírica $C_{20}H_{32}O_2$. La fragmentación es similar a la del producto natural. La ausencia del éster angélico supone la desaparición del pico intenso a $83[Ang]^+$.

En el espectro de RMN 1H (200MHz, $CDCl_3$) (fig. T-8c), se comprueba la ausencia de las señales del grupo



angeloiloxilo, mientras que el protón H-15 se apantalla a 3,75(1H,J=2,4Hz,H-15), desplazamiento característico de un protón geminal a hidroxilo.

El metileno terminal aparece desdoblado debido al cambio de sustituyente en C-15, dando dos señales a 5,09 (1H,m, $W_{\frac{1}{2}}=5\text{Hz}$,H-17a) y 4,95(1H,d,J=2,4Hz,H-17b).



Cetona T-9

Este compuesto se obtuvo por tratamiento con HCl concentrado del diol T-8. El compuesto se cristalizó en hexano presentando un Pf. 158-159° y $[\alpha]_D -80,7^\circ$.

El reordenamiento de T-8 se confirmó por la comparación de sus datos espectroscópicos con los de T-9.

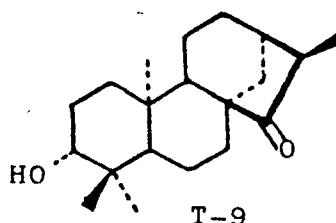
El espectro UV (fig. T-9a) presenta un máximo de absorción a 295 nm, correspondiente a una transición $n \rightarrow \pi^*$ de un grupo carbonilo.

En el espectro IR (fig. T-9d), desaparecen las bandas características del doble enlace, presentando una nueva banda de grupo carbonilo (1.725).

En el espectro de RMN ^1H (200MHz, CDCl_3) (fig. T-9e), cabe destacar la ausencia de las señales de los protones vinílicos, así como la del protón H-15 geminal al grupo hidroxilo de T-8. Aparecen señales a 2,43(1H,d(a),J=12Hz, H-14 α) y 2,42(1H,m,H-13), que absorben a campos más bajos, debido a que se encuentran dentro del cono de desapantallamiento del grupo carbonilo.

El protón H-16 aparece como un quintuplete con J=7Hz, acoplado con los protones H-13 y con el metilo en C-17, que resuena a 1,09(3H,d,J=7Hz,H-17).

Todos estos datos, junto con los de espectrometría de masas (fig. T-9g) que presenta un ión molecular a m/z 304 ($\text{C}_{20}\text{H}_{31}\text{O}_2$) y una fragmentación similar al resto de los compuestos antes citados, confirman la siguiente estructura.



Las asignaciones para los carbonos en el espectro

de RMN ^{13}C (fig. T-9f), se realizaron por comparación con los datos de otros diterpenos similares (ver tablas RMN ^{13}C , pág. 388), teniendo en cuenta los incrementos de desplazamiento producidos al introducir una estructura de kaurano, un grupo carbonilo en posición C-15 (42).

Las curvas de dicroísmo circular de esta cetona (fig. T-9b y T-9c), presentan efecto Cotton negativo [$\Delta\epsilon_{308} -1,04(\text{hexano}); \Delta\epsilon_{308} -0,53, \Delta\epsilon_{276} +0,09(\text{metanol})$]. Si se aplica la regla del octante a esta cetona o se comparan las curvas observadas con las de otras bornanonas (86) se deduce la configuración absoluta que se indica en la figura de la pag. anterior para T-9.



acant
licante

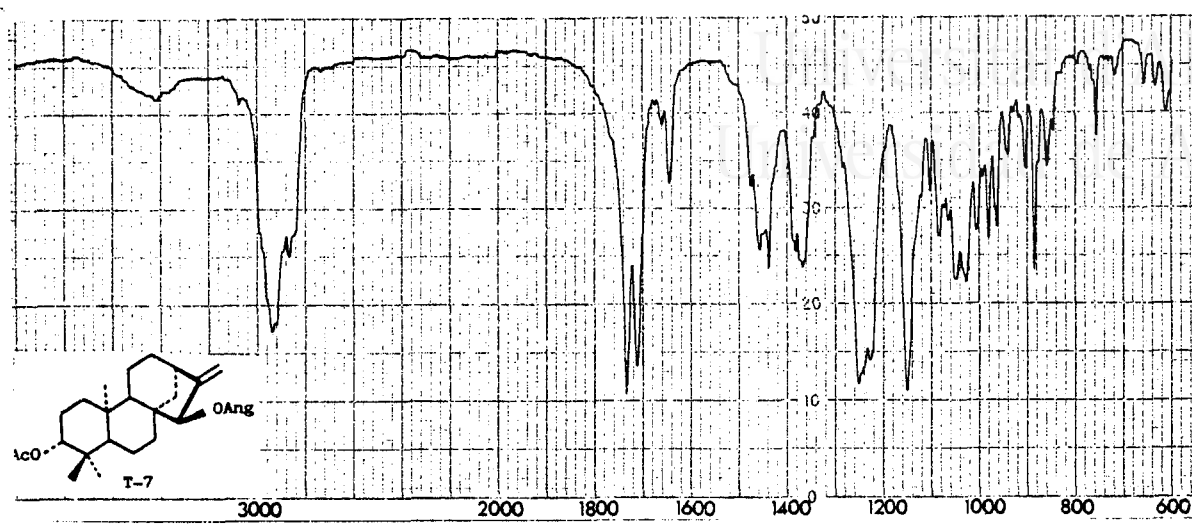


Fig. T-7a

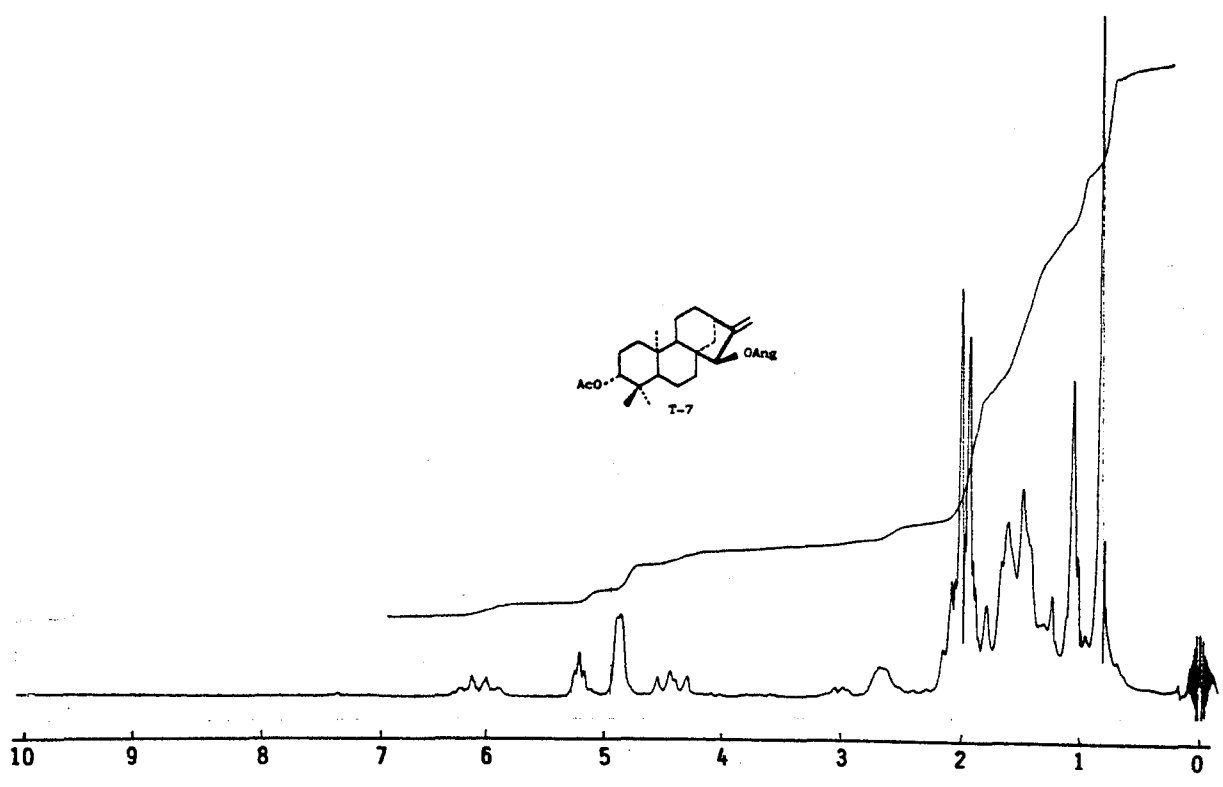


Fig. T-7b

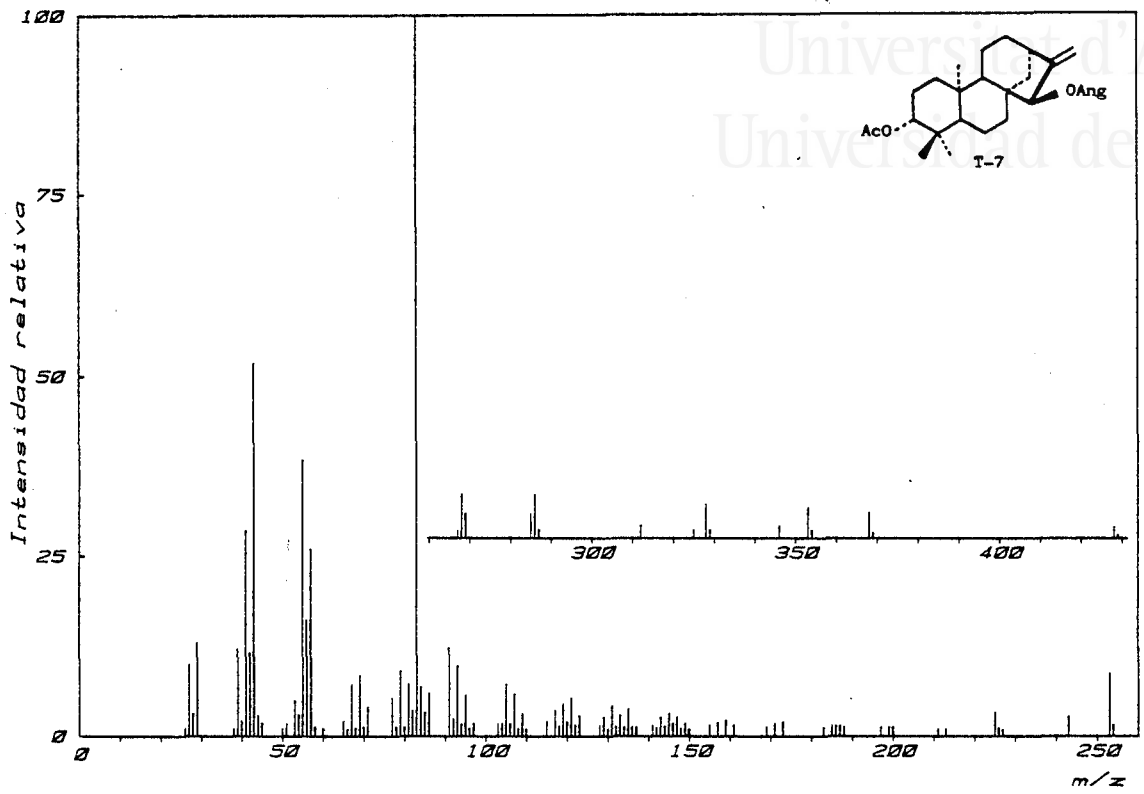


Fig. T-7c

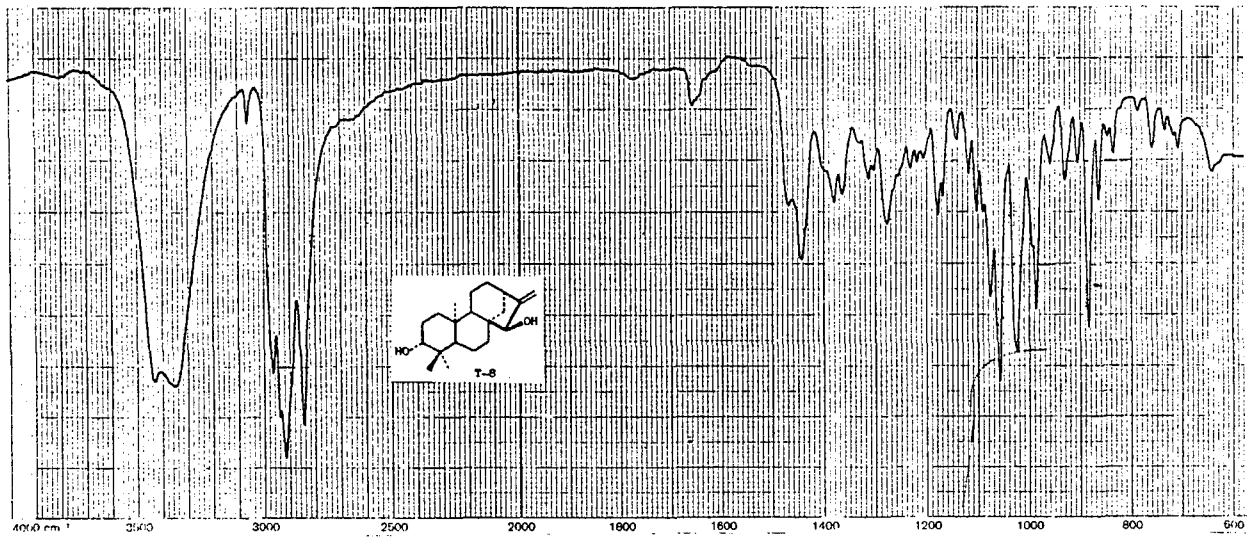


Fig. T-8a



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

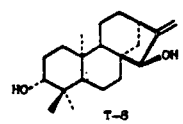
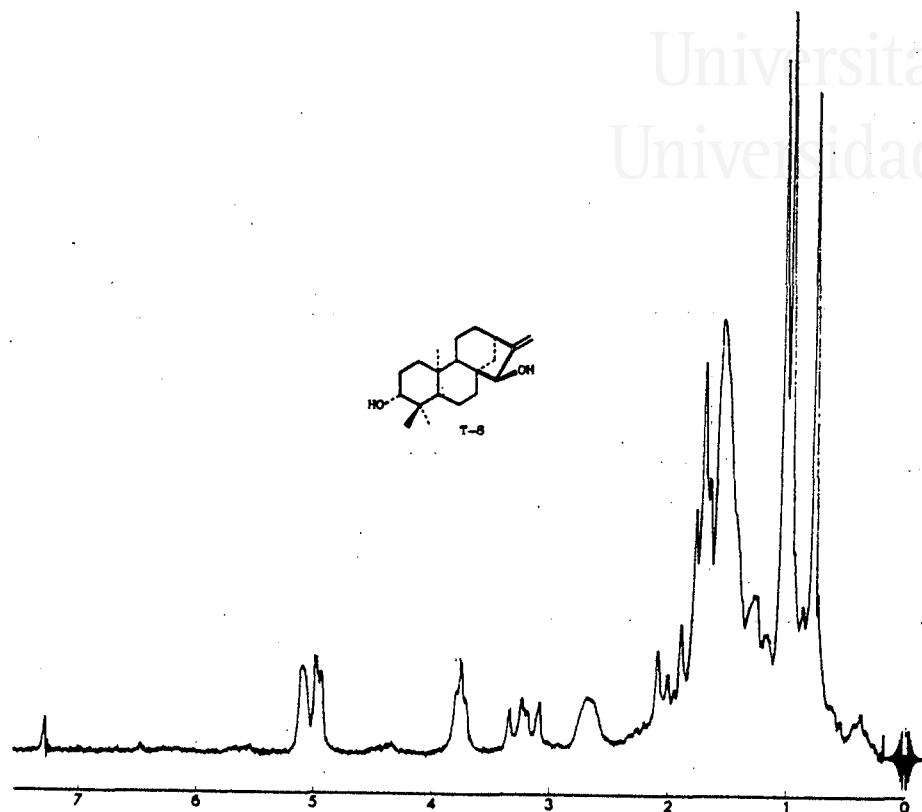


Fig. T-8b

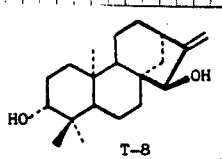
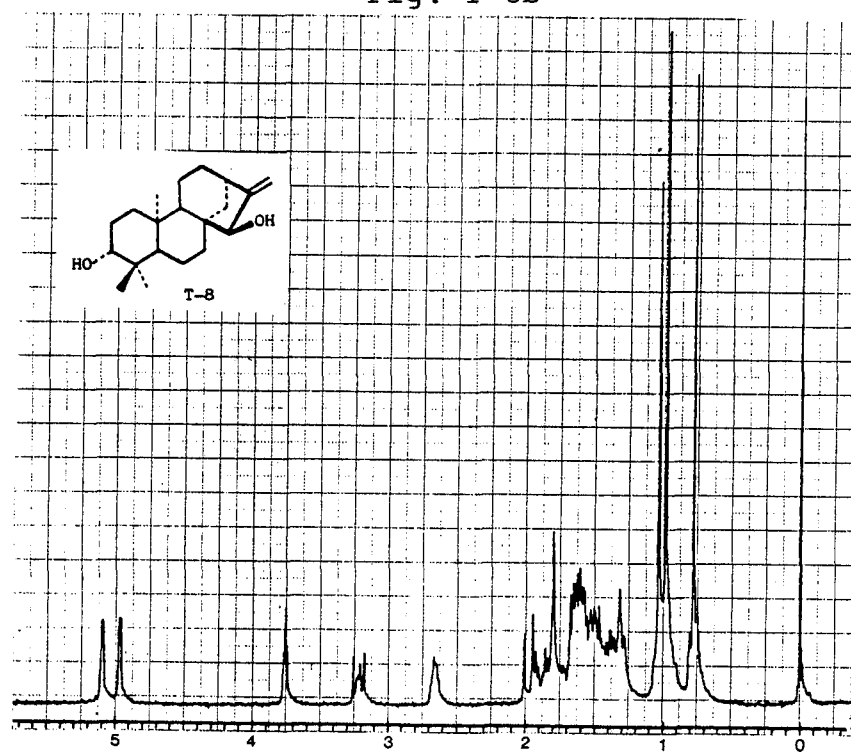


Fig. T-8c

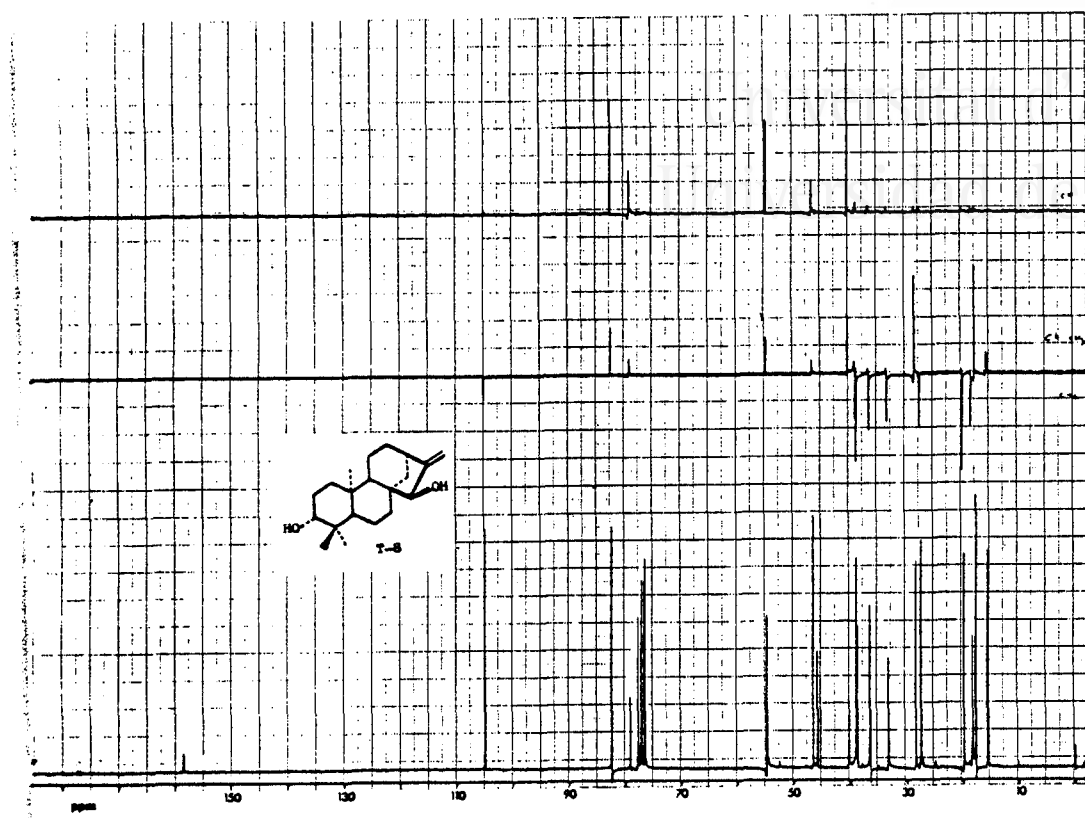


Fig. T-8d

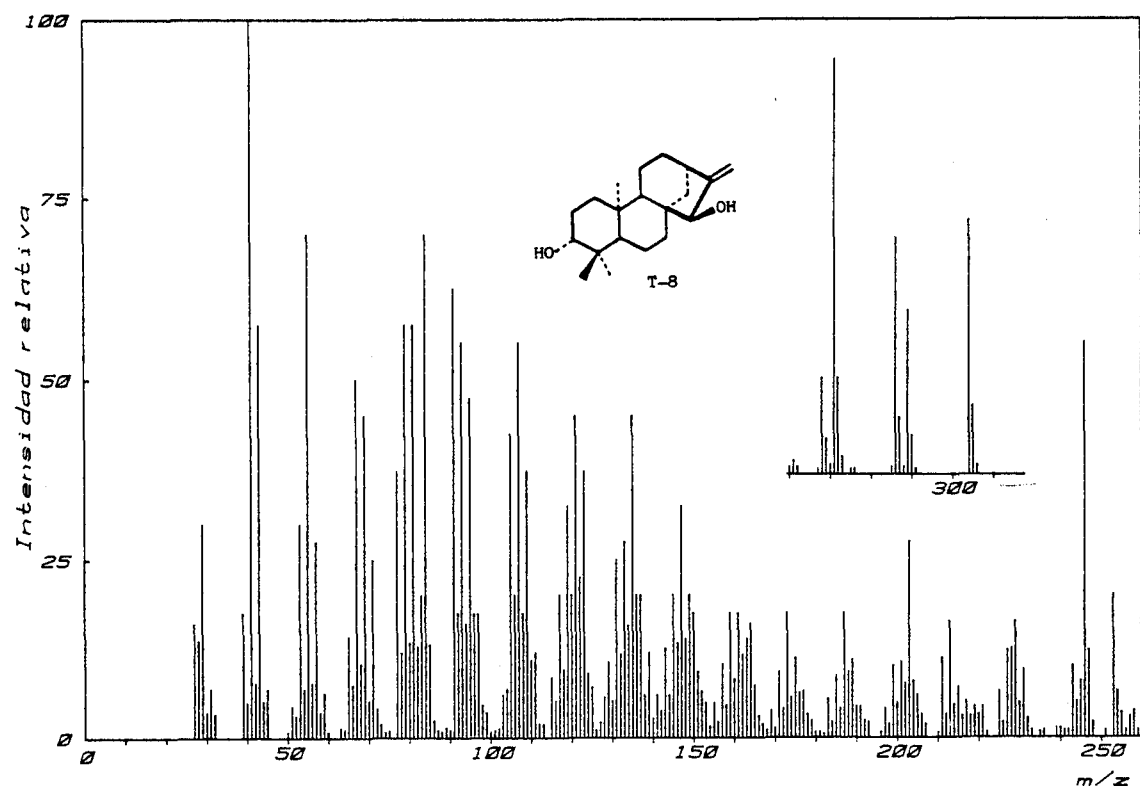


Fig. T-8e



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

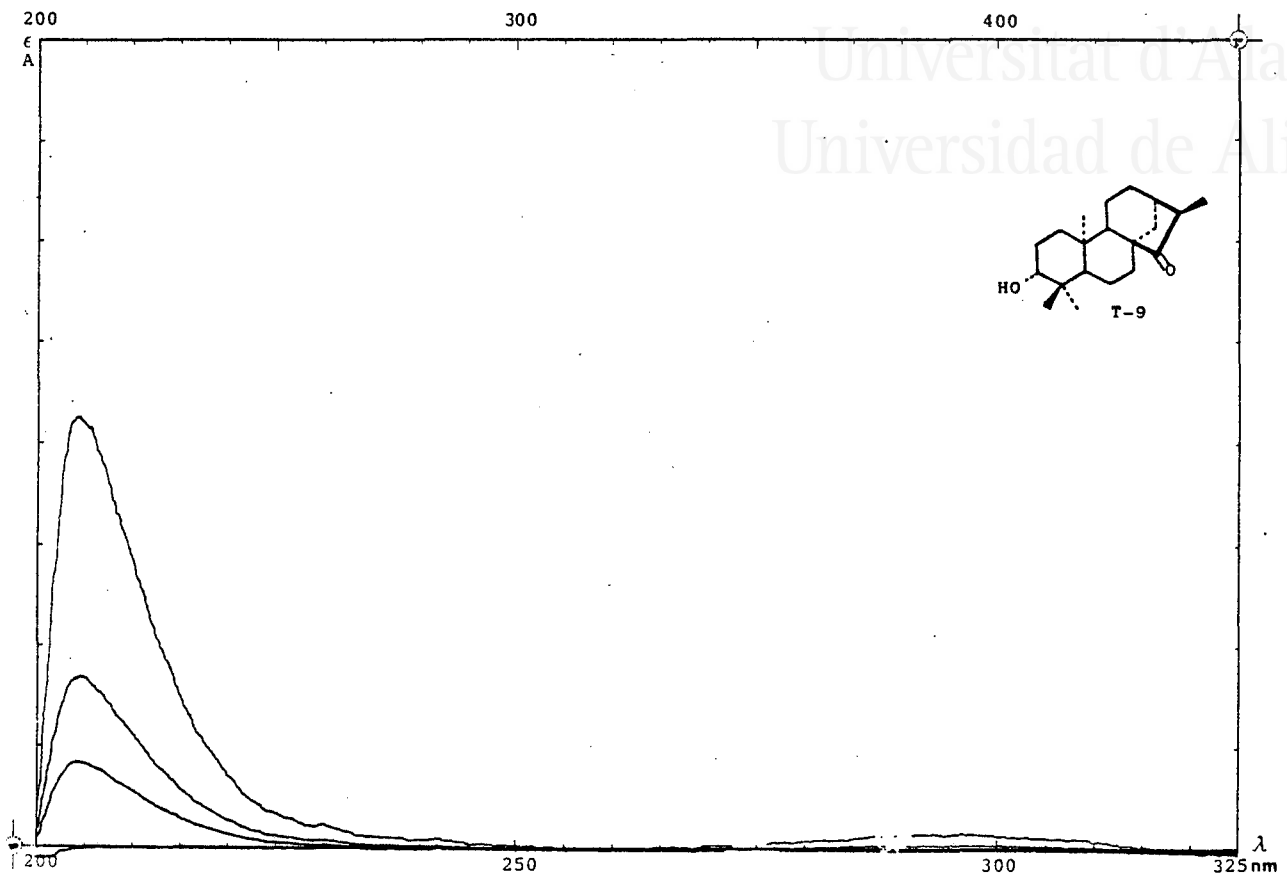


Fig. T-9a

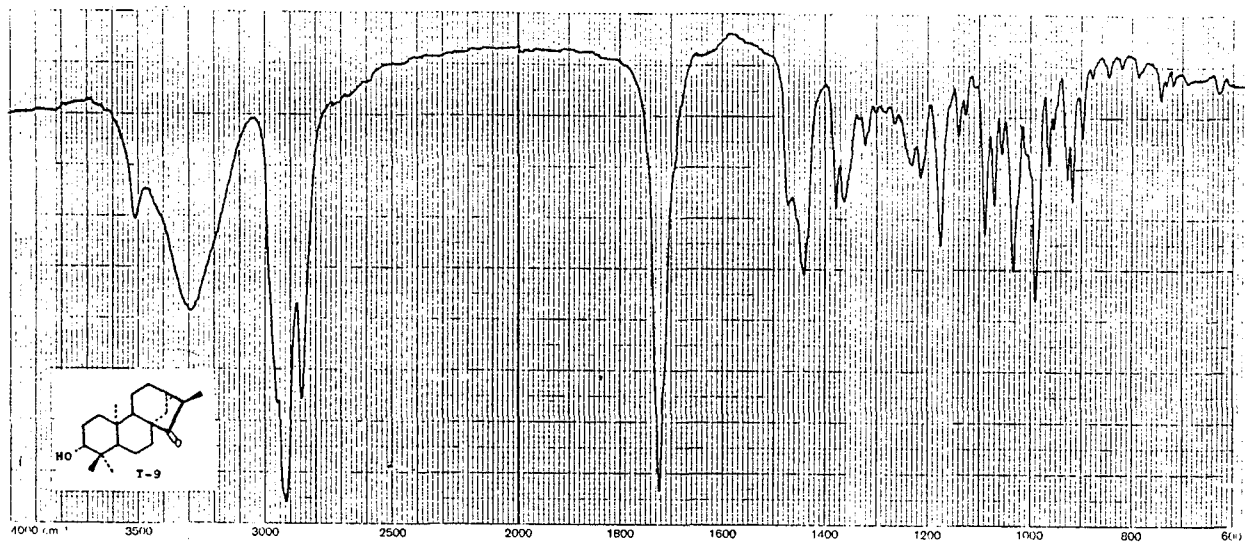


Fig. T-9d



Universitat d'Alacant
 Universidad de Alicante

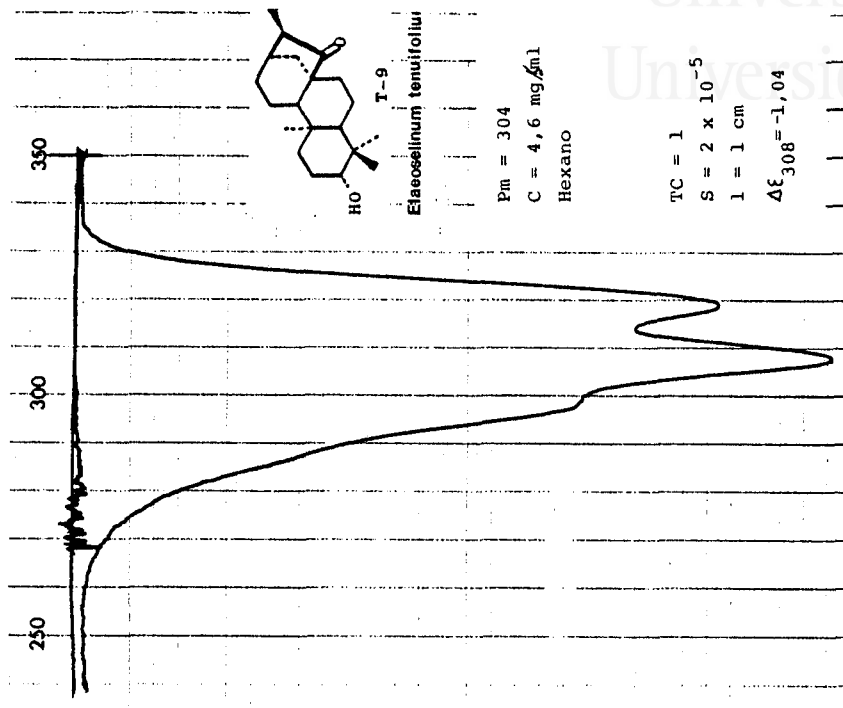


Fig. T-9b

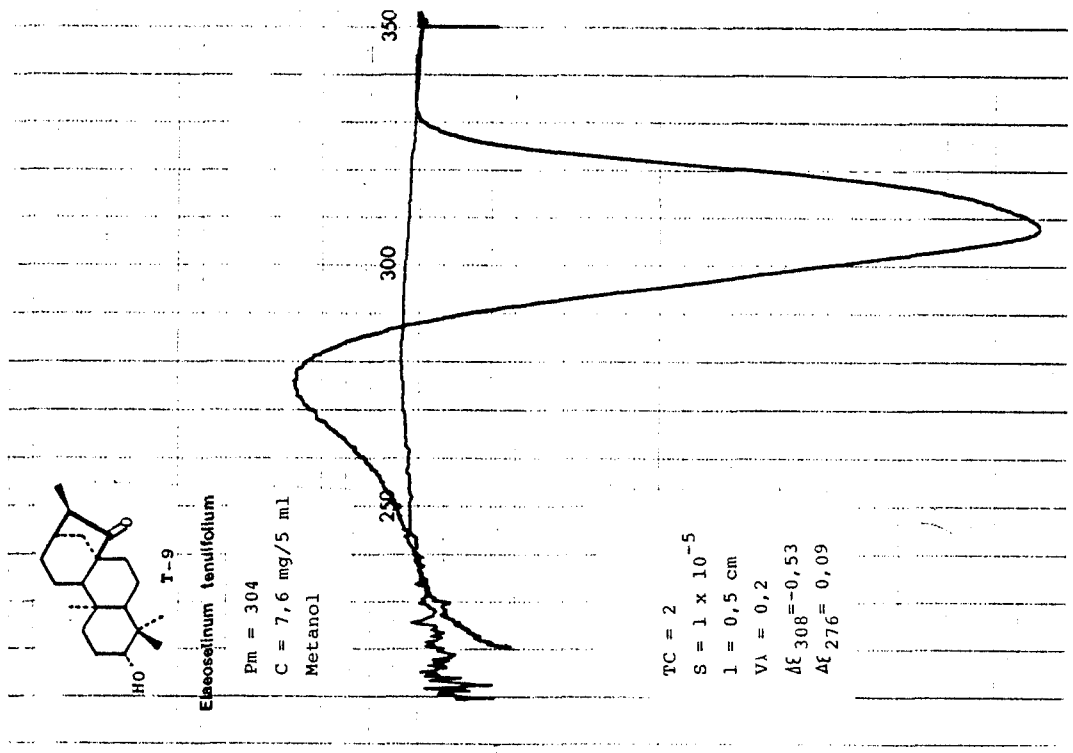


Fig. T-9c



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

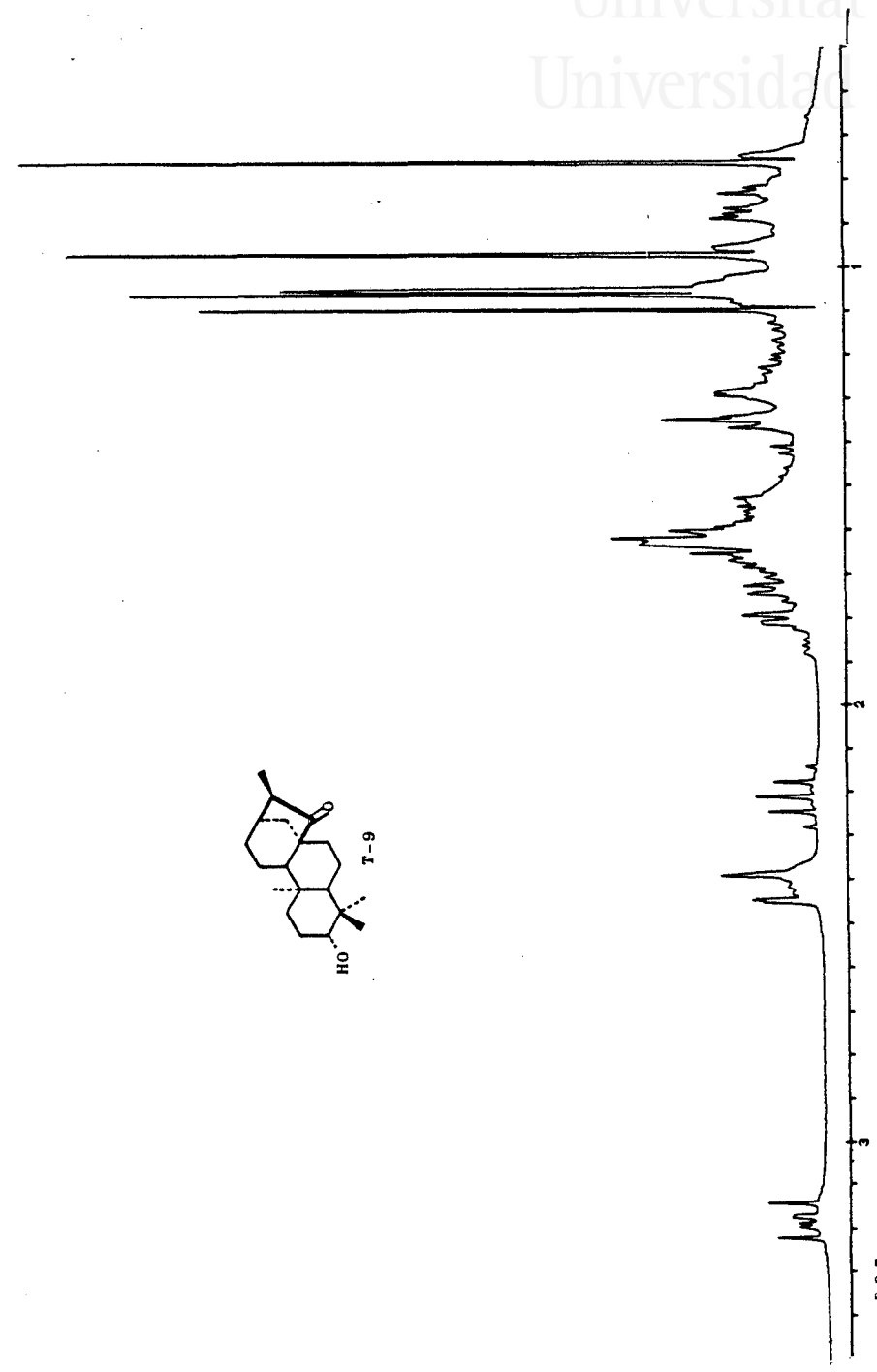


Fig. T-9e





Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

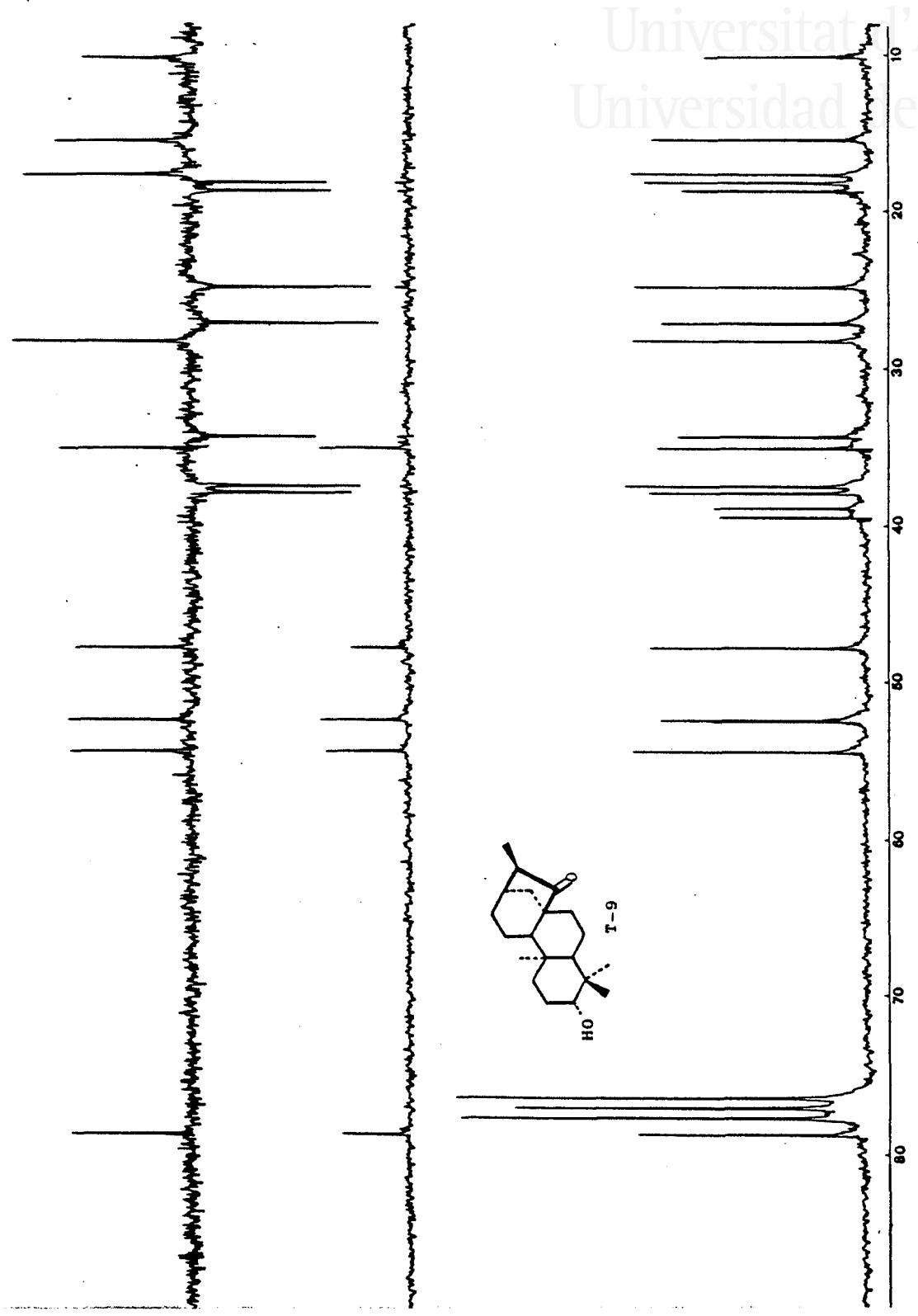
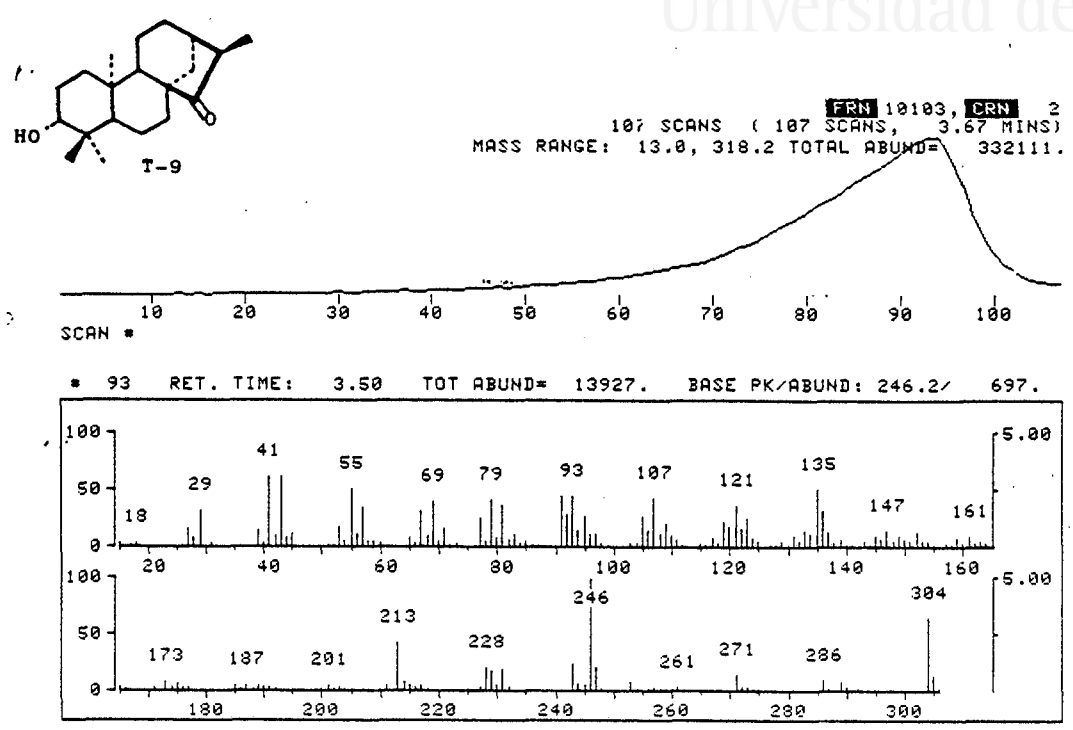


Fig. T-9f



Universitat d'Alacant
 Universidad de Alicante



FRN 10103, SPECTRUM # 93 RET.TIME: 3.50, 178 PEAKS

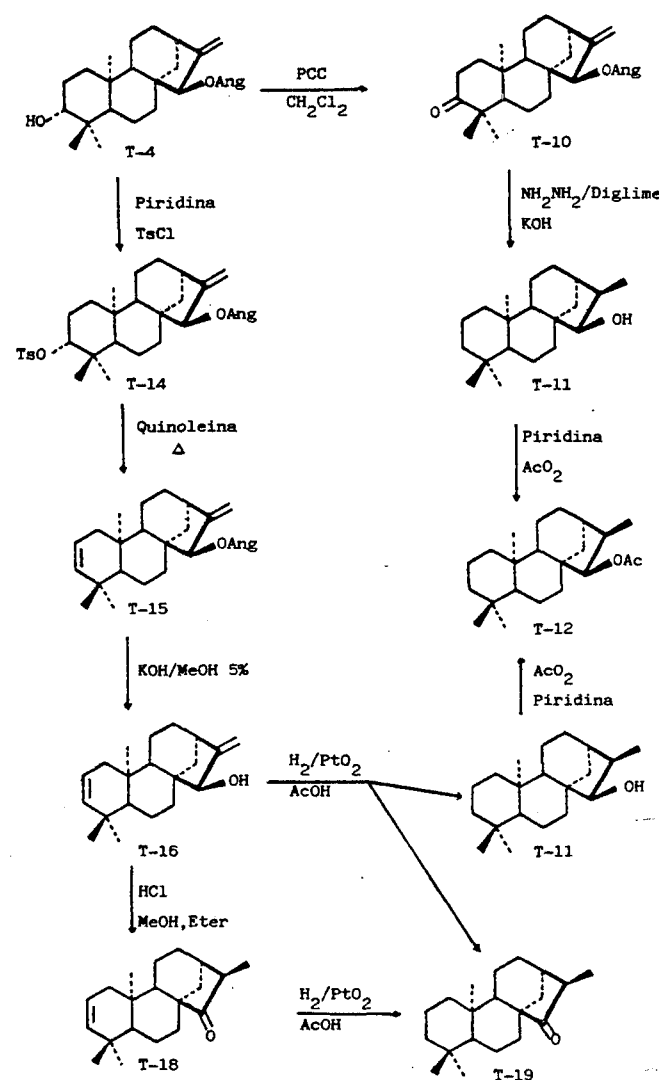
M/Z	REL ABUND	M/Z	REL ABUND	M/Z	REL ABUND	M/Z	REL ABUND
27	15.8	79	41.0	119	22.9	173	8.5
28	8.8	80	7.9	120	17.6	175	7.5
29	31.9	81	36.7	121	37.0	213	42.8
39	15.1	83	11.0	122	16.5	214	8.2
41	62.4	91	43.9	123	26.1	228	20.5
42	10.9	92	29.1	124	8.2	229	17.8
43	61.3	93	45.1	131	9.9	231	19.1
44	8.9	94	14.8	133	14.6	243	24.0
45	11.3	95	28.1	134	12.3	244	7.2
53	18.5	96	11.0	135	51.1	246	100.0
55	50.1	97	12.3	136	32.4	247	20.4
56	12.1	105	28.1	137	13.5	253	7.9
57	34.4	106	15.4	139	7.5	271	15.4
65	8.5	107	43.2	145	9.9	286	9.9
67	32.1	108	11.0	147	14.6	289	8.8
68	9.9	109	20.7	149	10.0	304	64.8
69	40.0	110	10.3	152	13.6	305	14.1
71	16.5	111	7.7	159	8.2		
77	26.1	117	8.9	161	10.6		

>PAUSE

Fig. T-9g

CORRELACION DE T-4 CON T-11 Y T-19

Para confirmar por vía química la estructura propuesta para T-4, se llevaron a cabo las transformaciones indicadas en el esquema, que condujeron a la síntesis de T-11 y T-19, sustancias descritas en bibliografía (53).



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

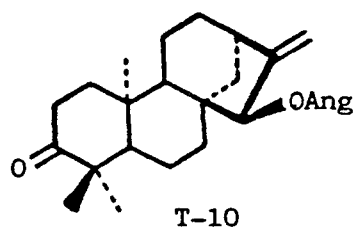
Cetona T-10

Con objeto de conocer la configuración absoluta del T-4 (ver pág. 48), se oxidó dicha sustancia con PCC/CH₂Cl₂, obteniendo el compuesto T-10 que presenta un $[\alpha]_D -106^\circ$.

En el espectro IR (fig. T-10b), la banda correspondiente a vibración de tensión C=O (1.710), se hace más ancha desapareciendo las señales características de grupo hidroxilo.

En el espectro de RMN ¹H (60MHz, CDCl₃) (fig. T-10c), destaca la desaparición de la señal correspondiente al protón geminal al hidroxilo en C-3.

El espectro de masas (fig. T-10d), presenta un ión molecular M⁺ a m/z 384 que corresponde a una fórmula molecular C₂₅H₃₆O₃.





Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

Alcohol T-11

Con objeto de intentar correlacionar la sustancia T-4 con el compuesto ent-(16s)-kauran-15 α -ol (T-11) descrito en bibliografía (56), se realizó una reducción de Wolff-Kishner, modificación de Huang-Minlon, a partir del compuesto T-10, obteniendo T-11 que presenta Pf. 133-134° y $[\alpha]_D -50^\circ$.

Comparando su espectro de RMN ^1H (60MHz, CDCl_3) (fig. T-11b), con el de T-10 se observan las siguientes diferencias:

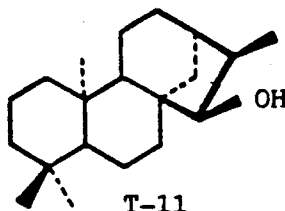
Desaparecen las señales correspondientes al grupo angeloiloxilo y metileno terminal, apreciándose a 0,93 (3H,d,J=7Hz,H-17) la señal de un metilo doblete. El protón H-15 sufre un apantallamiento a 3,60(1H,d,J=11Hz,H-15), característico de un protón geminal a hidroxilo, acoplado con un protón vecino.

En el espectro IR (fig. T-11a), desaparecen las bandas de éster y cetona, así como las del doble enlace del metileno terminal.

De estos datos se deduce que debido a las condiciones enérgicas de la reacción, además de la reducción a hidrocarburo de la función oxigenada en C-3, se ha producido la hidrogenación del doble enlace exocíclico y la



hidrólisis del angelato, por lo que se asigna a este compuesto la estructura siguiente:



Esta estructura tiene una fórmula empírica $C_{20}H_{34}O$, que concuerda con el ión molecular M^+ a m/z 290, que aparece en el espectro de masas (fig. T-11d).

Dado lo enérgico de la reacción, que produce una gran cantidad de compuestos secundarios y al poco rendimiento obtenido, intentamos correlacionar T-4 con este compuesto mediante otra vía de síntesis (ver pág.67).

Acetato T-12

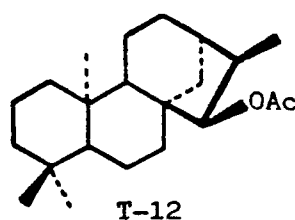
Por acetilación del compuesto T-11 con Ac_2O /piridina, se obtuvo T-12, que purificado por cristalización en metanol presenta un Pf. 111-112°.

Su espectro IR (fig. T-12a), a diferencia del de

T-11, presenta bandas de grupo acetato (1.720, 1.230), mientras desaparecen las bandas de grupo hidroxilo.

Comparando también el espectro de RMN ^1H (60MHz, CDCl_3) (fig. T-12b), observamos un desapantallamiento a 4,75(1H,d,J=11Hz) del protón H-15, característico de un grupo acetato geminal. El metilo del acetato aparece a 2,10(3H,s,H-2').

La posición del grupo acetato se confirmó en RMN ^1H (200MHz, CDCl_3) (fig. T-12c), por doble irradiación sobre el protón H-16, 2,36(1H,ddc, $J_{15-16}=11\text{Hz},J_d=7,2\text{Hz},J_c=7\text{Hz}$), produciéndose la transformación en singletes de los dobletes del protón geminal al acetato, y del metilo en C-17, 0,83(3H,d,J=7Hz,H-17).





Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

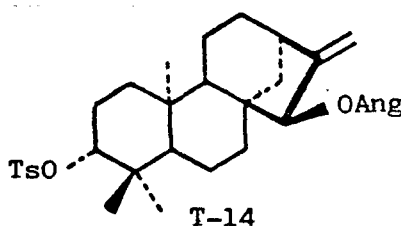
Tosilato T-14

Por tratamiento de T-4 con TsCl/piridina, se obtuvo el compuesto T-14, que cristalizado en hexano dio un Pf. 130-131° y $[\alpha]_D -66,5^\circ$.

Por comparación de sus espectros IR y de RMN ^1H (60MHz, CDCl_3) con los de T-4, se aprecian las siguientes diferencias:

En el IR (fig. T-14a), podemos observar la desaparición de las bandas del grupo hidroxilo y la aparición de bandas características de anillo aromático (3.080, 1.595, 860-780), y de grupo sulfonato (1.360, 1.175).

El espectro de RMN ^1H (fig. T-14b), presenta nuevas señales correspondientes al grupo p-toluensulfonilo. A 7,80(2H,d,J=8,5Hz,H_o-Ar) y 7,30(2H,d,J=8,5Hz,H_m-Ar) resuenan los protones aromáticos en posiciones orto y meta respectivamente al grupo sulfonato. A 2,42(3H,s) aparece el metilo en para del anillo aromático. El protón H-3 aparece a campos más bajos, 4,26(1H,dd,J=9Hz,J=7Hz), debido a la posición geminal del sustituyente p-toluensulfonilo.





Universitat d'Alacant
 Universidad de Alicante

Compuesto T-15

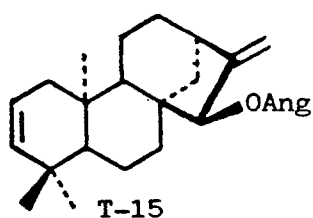
Por tratamiento de T-14 con quinoleína a reflujo, se obtuvo el compuesto T-15, $[\alpha]_D -101^\circ$.

Por comparación de sus espectros IR y de RMN 1H (60MHz, $CDCl_3$) con los del compuesto T-14, se observan las siguientes diferencias:

En el IR (fig. T-15a) desaparecen las bandas aromáticas, presentando en cambio absorciones características de doble enlace disustituído en cis (3.060, 1.645, 720).

En el espectro de RMN 1H (fig. T-15b), se aprecia la ausencia de las señales del grupo p-toluensulfonilo, y la de su protón geminal, apareciendo en su lugar una señal compleja, 5,40(2H,d,AB(X_2),H-2,H-3) de dos protones vinílicos que forman la parte AB de un sistema ABX_2 .

Todos estos datos indican que se ha obtenido el producto de eliminación del tosilato.





Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

Alcohol T-16

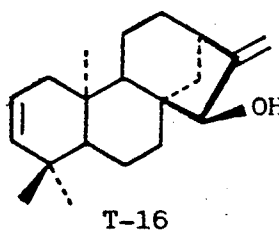
La hidrólisis de T-15 con KOH/MeOH 5% dio el compuesto T-16, $[\alpha]_D -69,6^\circ$.

Comparando sus datos espectroscópicos con los de T-15 se observa lo siguiente:

En el IR (fig. T-16a) desaparecen las bandas del grupo angelato, apareciendo absorciones características de grupo hidroxilo (3.410, 1.050).

La estructura también se confirma en RMN ^1H (60MHz, CDCl_3) (fig. T-16b), en donde desaparecen las señales del angelato, apantallándose el protón geminal a 3,76 (1H,t, $J=2,5\text{Hz}$, H-15), desplazamiento característico de un protón geminal a hidroxilo.

Al igual que en el diol T-8, los protones del metileno terminal aparecen en esta ocasión desdoblados en dos señales a 5,06(1H,m, $W_{1/2}=5\text{Hz}$, H-17a) y 4,93(1H,d, $J=3\text{Hz}$, H-17b).





Universitat d'Alacant
 Universidad de Alicante

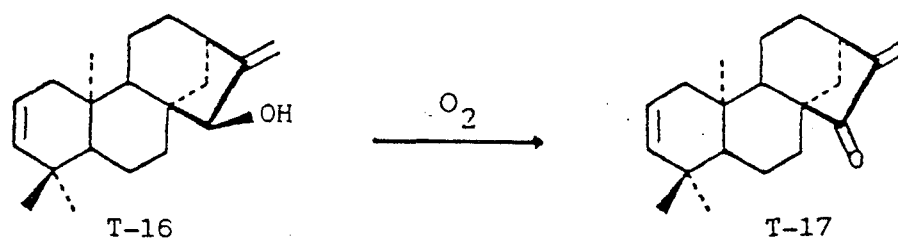
Cetona T-17

A temperatura ambiente y en contacto con el aire, el alcohol T-16, se oxida parcialmente a la cetona T-17, que purificada por cristalización en metanol presenta Pf. 100-101° y $[\alpha]_D -208^\circ$.

Su espectro UV (fig. T-17a) presenta una absorción $\pi \rightarrow \pi^*$ a 232 nm (3,8), asignable a un carbonilo α, β insaturado (57,58).

Por comparación del espectro IR de esta sustancia (fig. T-17b) con el de T-16, se observa la desaparición de las bandas de hidroxilo, apareciendo una absorción de grupo carbonilo (1.710).

En el espectro de RMN ^1H (60MHz, CDCl_3) (fig. T-17c), la única variación apreciable es la desaparición del protón H-15.





Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

Cetona T-18

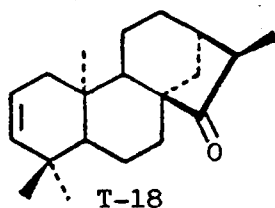
Por tratamiento de T-16 con HCl concentrado, se obtuvo el producto de reordenamiento T-18 que cristalizó en etanol dando un Pf. 107-108°.

Las diferencias entre los datos espectroscópicos de T-18 y T-16 son las siguientes:

En el espectro IR (fig. T-18a) se observa como variación principal la ausencia de las bandas características del grupo hidroxilo, así como la presencia de una banda de carbonilo (1.725).

El espectro de RMN ^1H (60MHz, CDCl_3), se detecta la ausencia de las señales del protón H-15 y del metileno terminal, apareciendo a 1,10(3H,d,J=7Hz) la señal de un metilo en C-17 acoplado con el protón H-16.

Estos datos indican que se ha producido un reordenamiento similar al explicado para el compuesto T-4, dando una sustancia con la estructura siguiente.





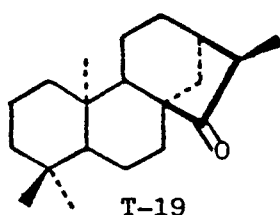
Cetona T-19

Con el fin de obtener la cetona T-19 (ent-(16s)-kauran-15-ona) descrita en la bibliografía (56), y poder confirmar de esta forma la estructura propuesta para T-4 se realizó una hidrogenación catalítica con PtO_2 de T-18, obteniéndose el compuesto saturado en el anillo A, T-19.

El estudio de los datos espectroscópicos de IR (fig. T-19a) y de RMN ^1H (60MHz, CDCl_3) (fig. T-19b), confirman la hidrogenación de T-18 al desaparecer las absorciones características del doble enlace entre C-2 y C-3. El resto de las señales son muy similares a las de T-18.

El espectro de masas presenta un pico de ión molecular M^+ a m/z 288 correspondiente a una fórmula $\text{C}_{20}\text{H}_{32}\text{O}$.

Las constantes físicas y espectroscópicas de T-19, coinciden con las descritas en la bibliografía para ent-(16s)-kauran-15-ona.



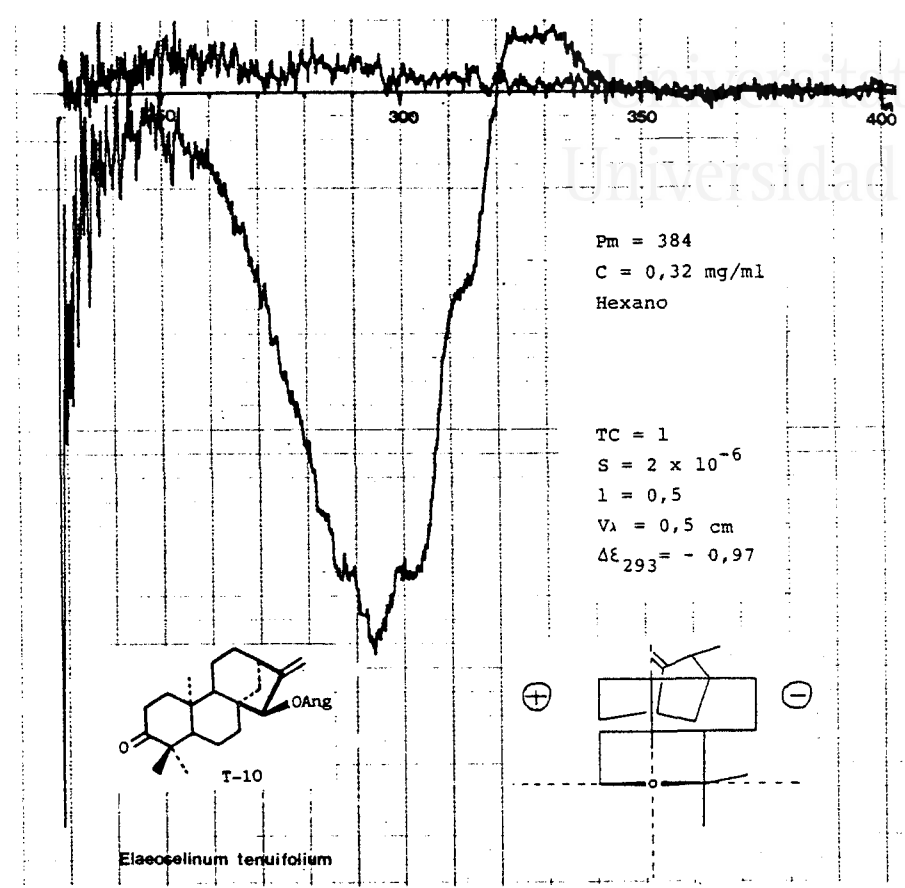


Fig. T-10a

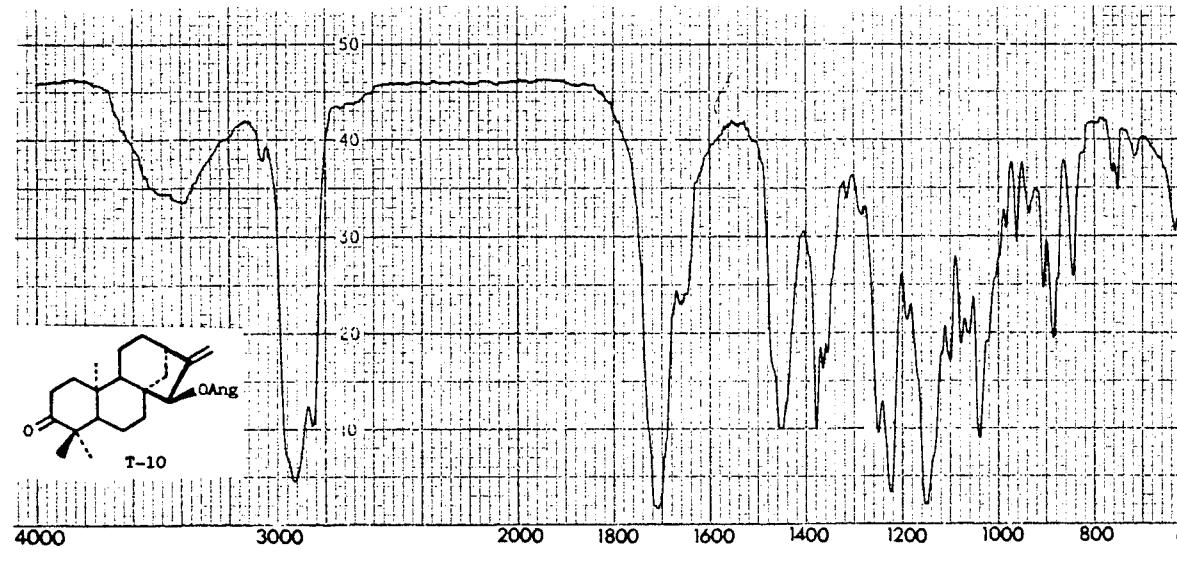
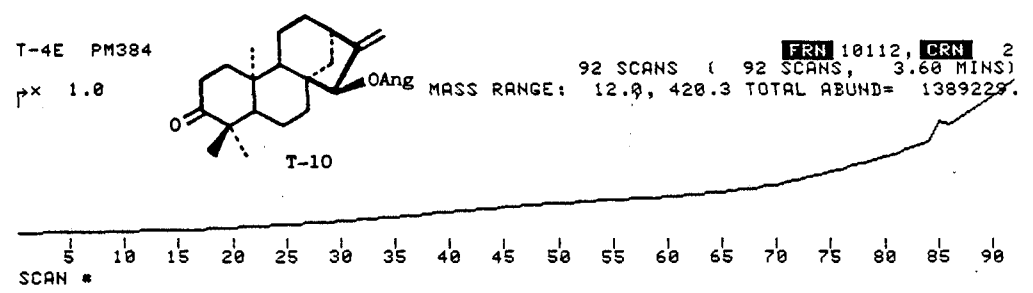


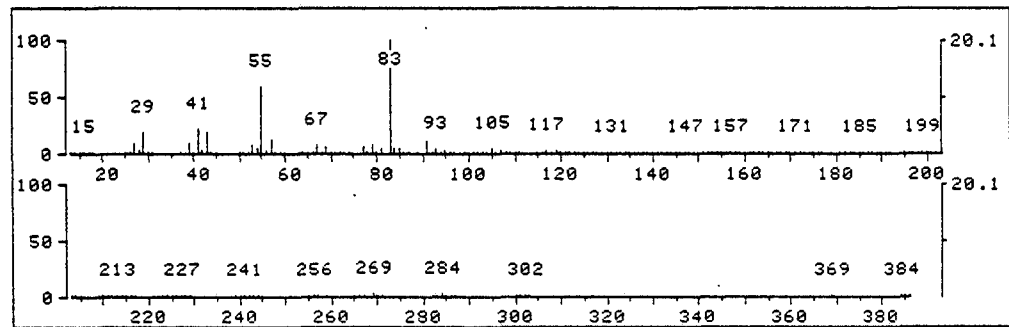
Fig. T-10b



Universitat d'Alacant
 Universidad de Alicante



* 91 RET. TIME: 3.88 TOT ABUND= 52772. BASE PK/ABUND: 83.0/ 10623.



FRN 10112, SPECTRUM # 91 RET.TIME: 3.88, 211 PEAKS

M/Z	REL ABUND	M/Z	REL ABUND	M/Z	REL ABUND	M/Z	REL ABUND
15	2.2	71	1.6	118	1.4	159	1.4
18	.9	77	6.3	119	3.1	160	.6
26	1.0	78	1.7	120	1.0	161	1.0
27	10.1	79	8.0	121	1.8	163	.6
28	4.6	80	1.4	123	1.5	171	1.1
29	20.1	81	6.2	125	1.6	173	.7
39	10.4	83	100.0	128	1.3	175	.6
40	1.9	84	6.2	129	1.9	183	.7
41	23.4	85	4.9	130	.8	185	1.6
42	3.9	91	11.1	131	2.5	186	.8
43	19.2	92	2.0	132	1.0	187	.7
44	1.3	93	5.3	133	2.1	198	1.5
45	1.0	94	1.0	134	.7	199	1.7
51	1.1	95	3.7	135	1.1	201	.7
52	.9	96	1.4	137	.9	213	.8
53	8.2	97	1.3	141	.8	227	1.2
54	5.0	103	1.2	142	.8	241	1.2
55	60.9	104	1.9	143	1.9	269	4.3

Fig. T-10d



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

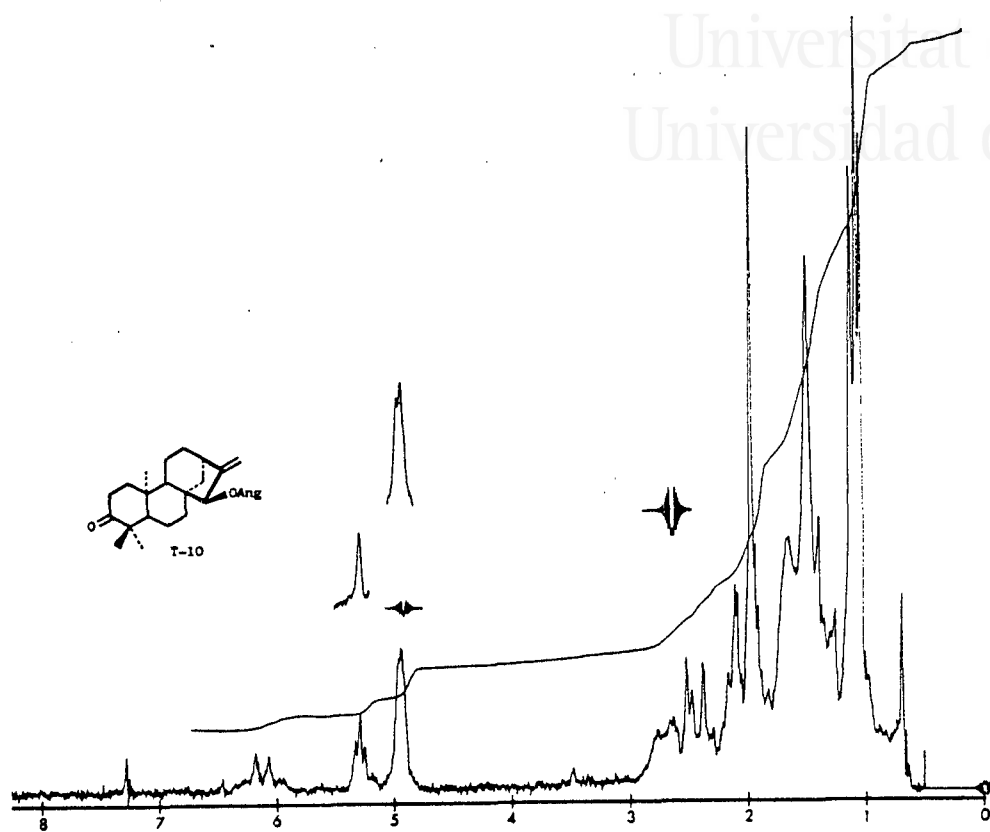


Fig. T-10c

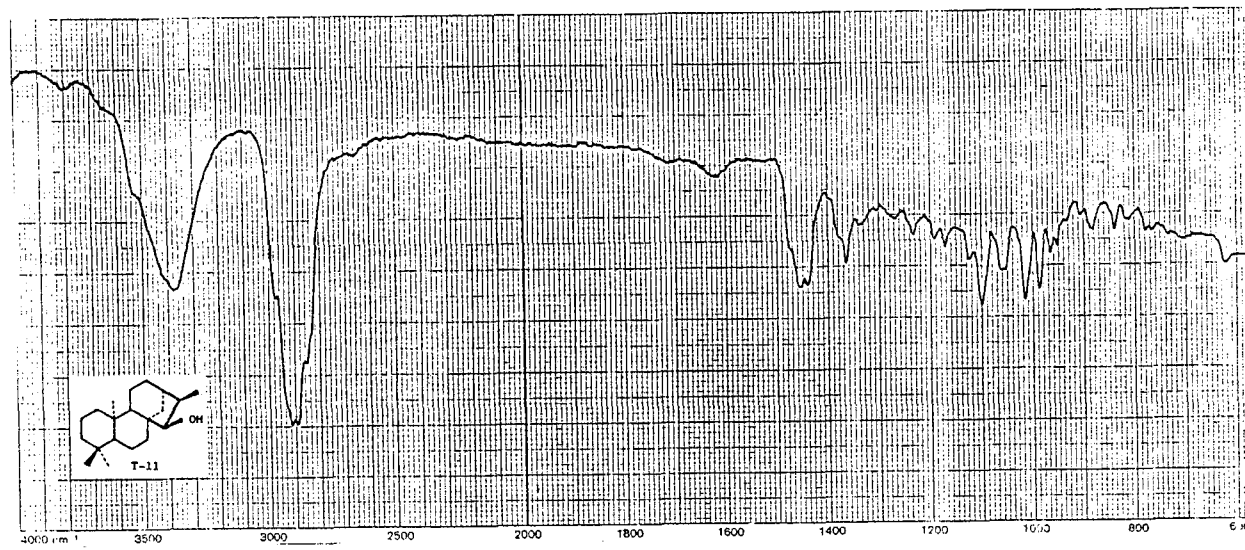


Fig. T-11a



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

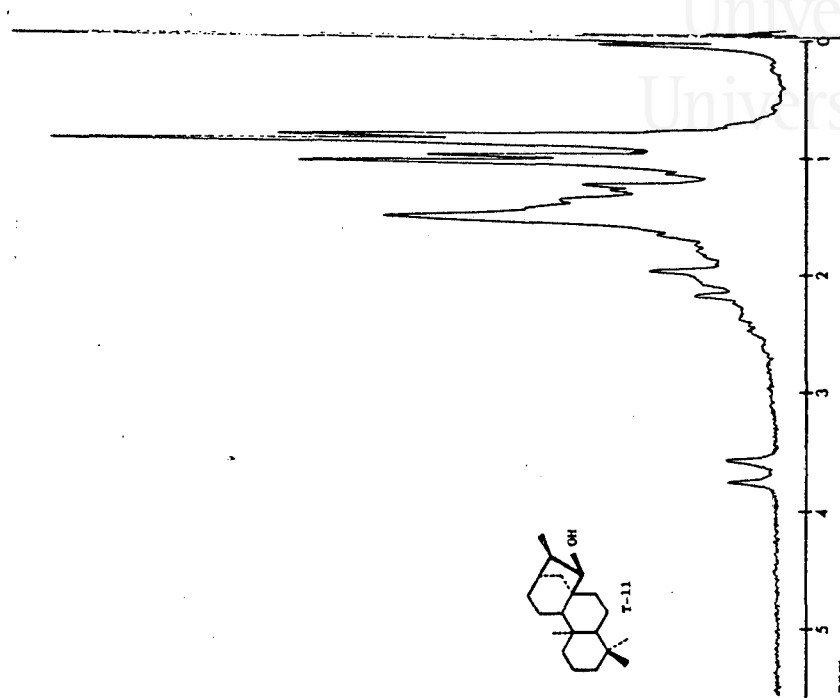


Fig. T-11c

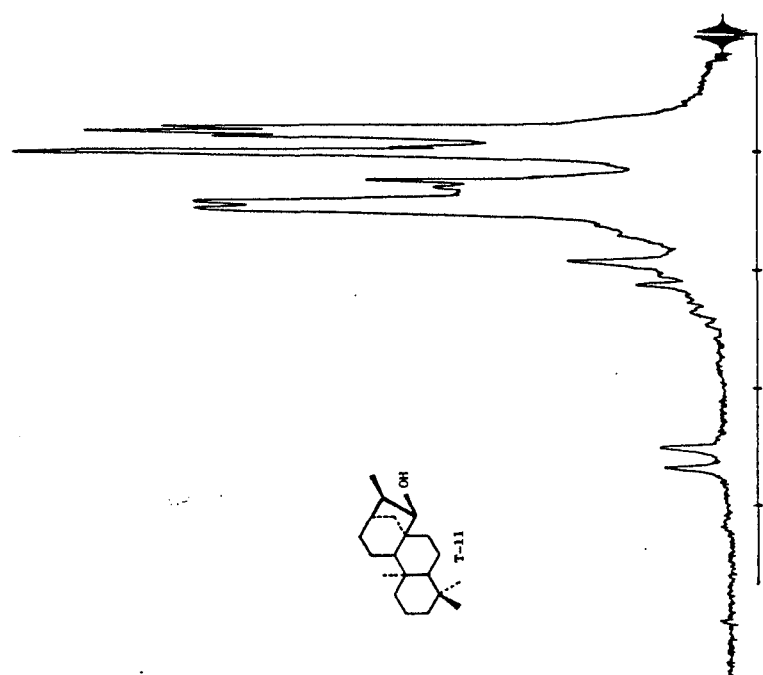
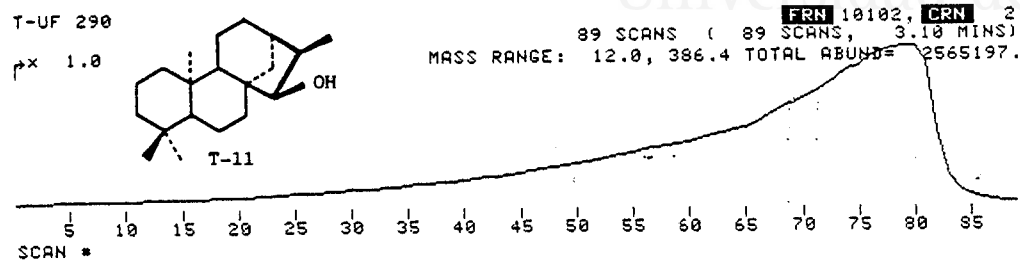


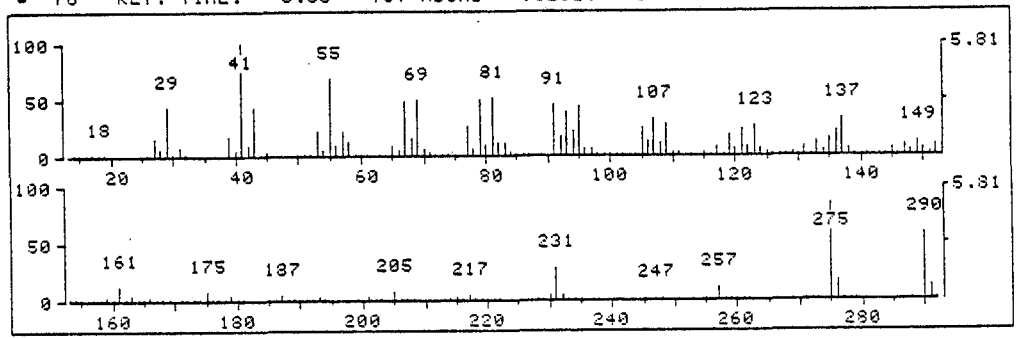
Fig. T-11b



Universitat d'Alacant
 Universidad de Alicante



* 78 RET. TIME: 3.03 TOT ABUND= 96262. BASE PK/ABUND: 41.1/ 5592.



FRN 10102, SPECTRUM # 78 RET. TIME: 3.03, 205 PEAKS

M/Z	REL ABUND	M/Z	REL ABUND	M/Z	REL ABUND	M/Z	REL ABUND
27	16.6	68	15.6	105	25.5	137	33.1
29	43.8	69	50.4	106	13.1	138	7.1
31	8.6	77	26.7	107	33.8	147	9.7
39	18.5	79	50.9	108	11.6	149	13.1
41	100.0	80	9.8	109	28.6	152	10.6
42	10.4	81	51.9	117	8.0	161	13.9
43	44.3	82	11.8	119	19.1	175	8.0
53	22.6	83	11.5	121	24.9	205	8.1
55	69.8	91	46.6	122	8.8	231	28.8
56	9.9	92	18.4	123	27.7	257	12.4
57	23.2	93	39.5	131	8.1	275	84.8
58	12.7	94	23.2	133	13.0	276	18.5
65	9.8	95	45.0	135	15.8	290	58.2
67	48.5	97	7.0	136	23.0	291	12.7

>PAUSE

Fig. T-11d



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

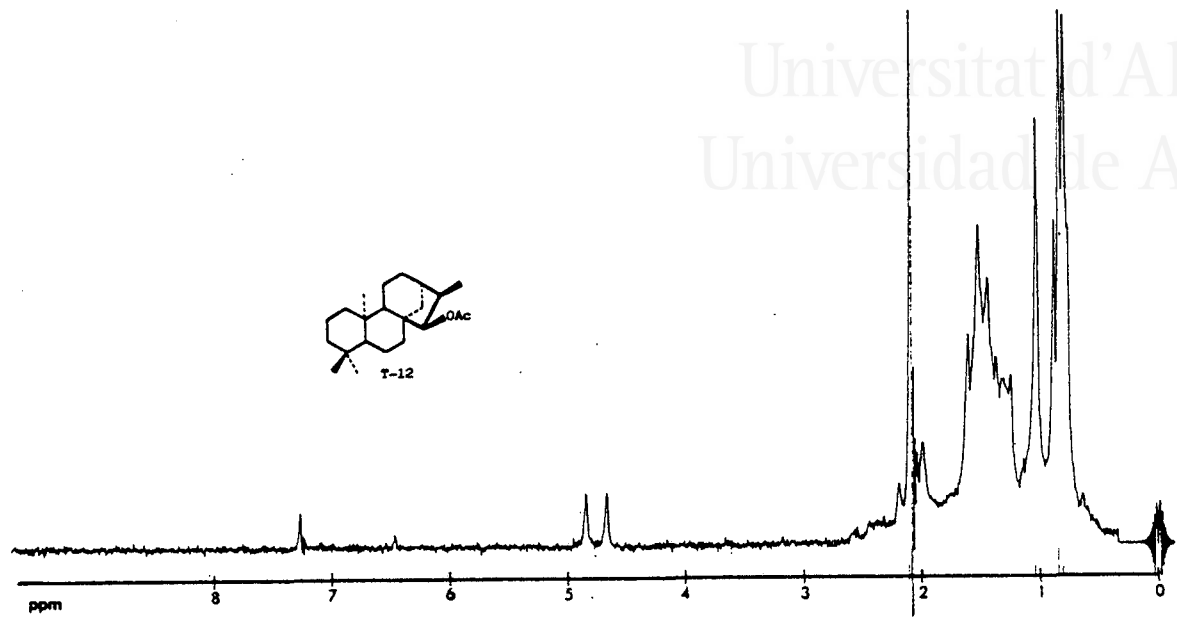


Fig. T-12b

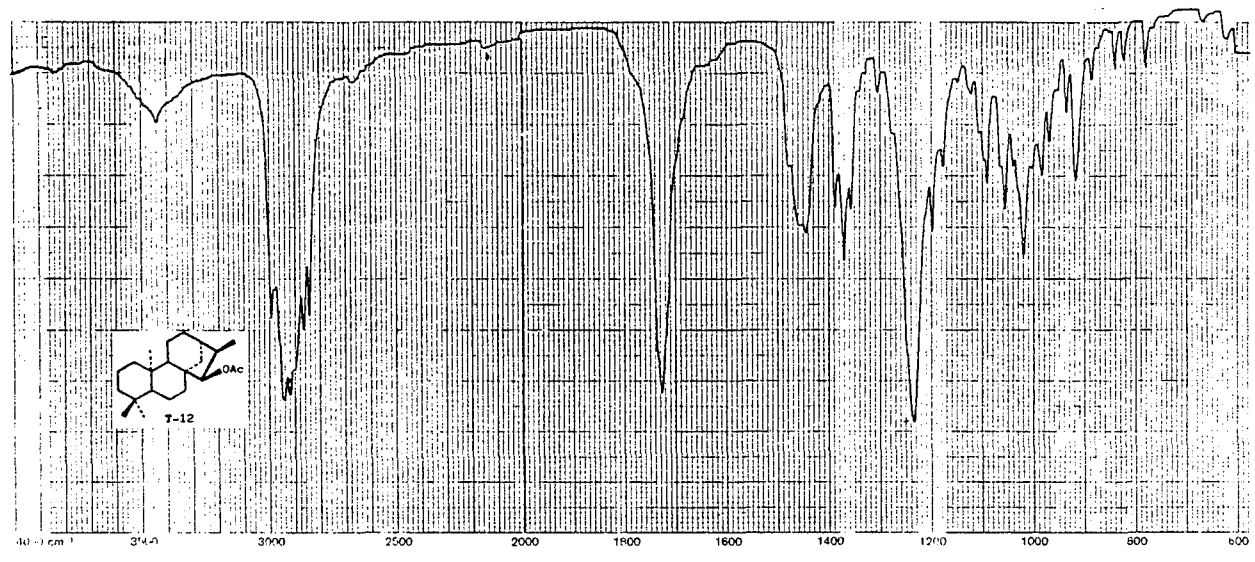


Fig. T-12a



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

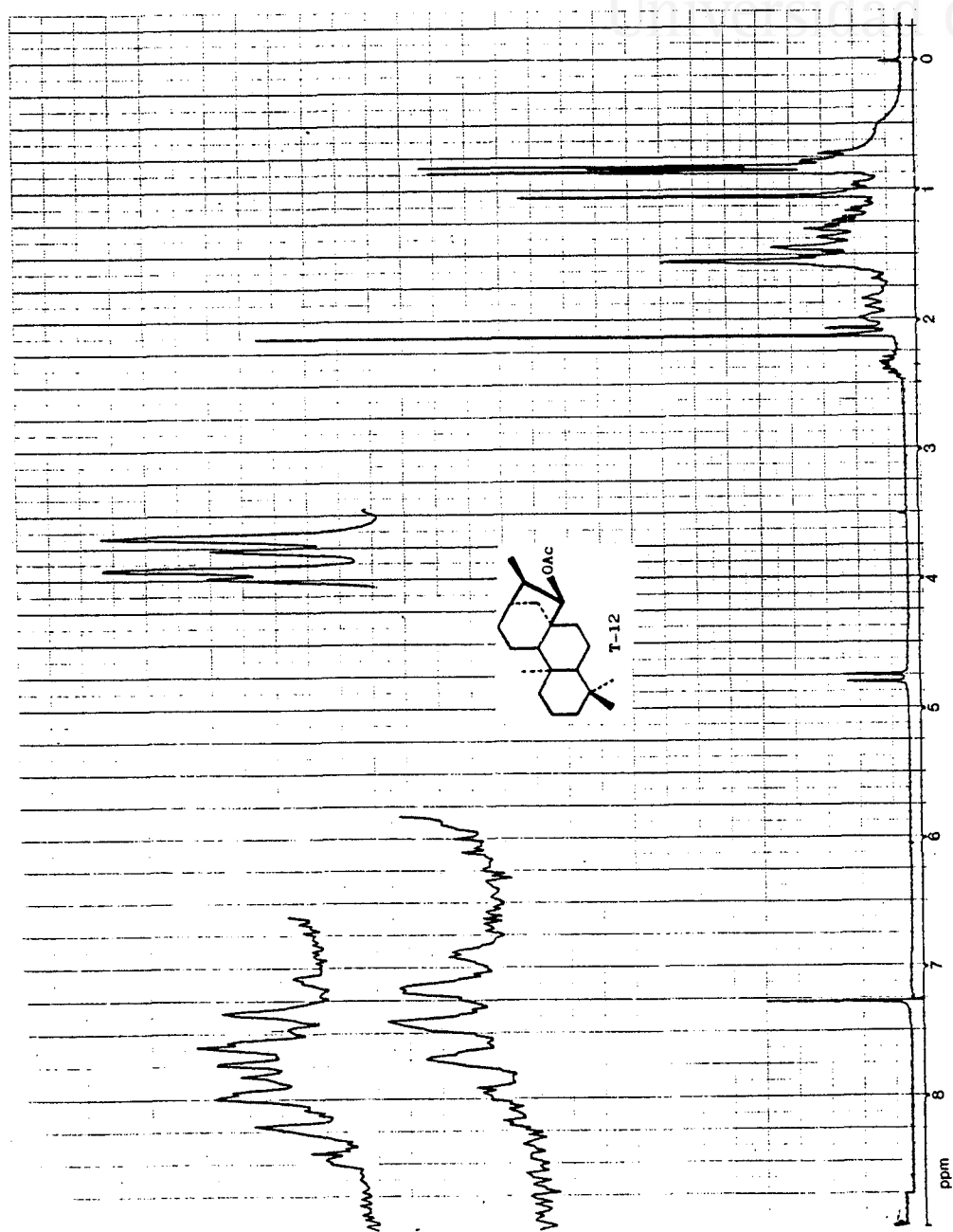


Fig. T-12c

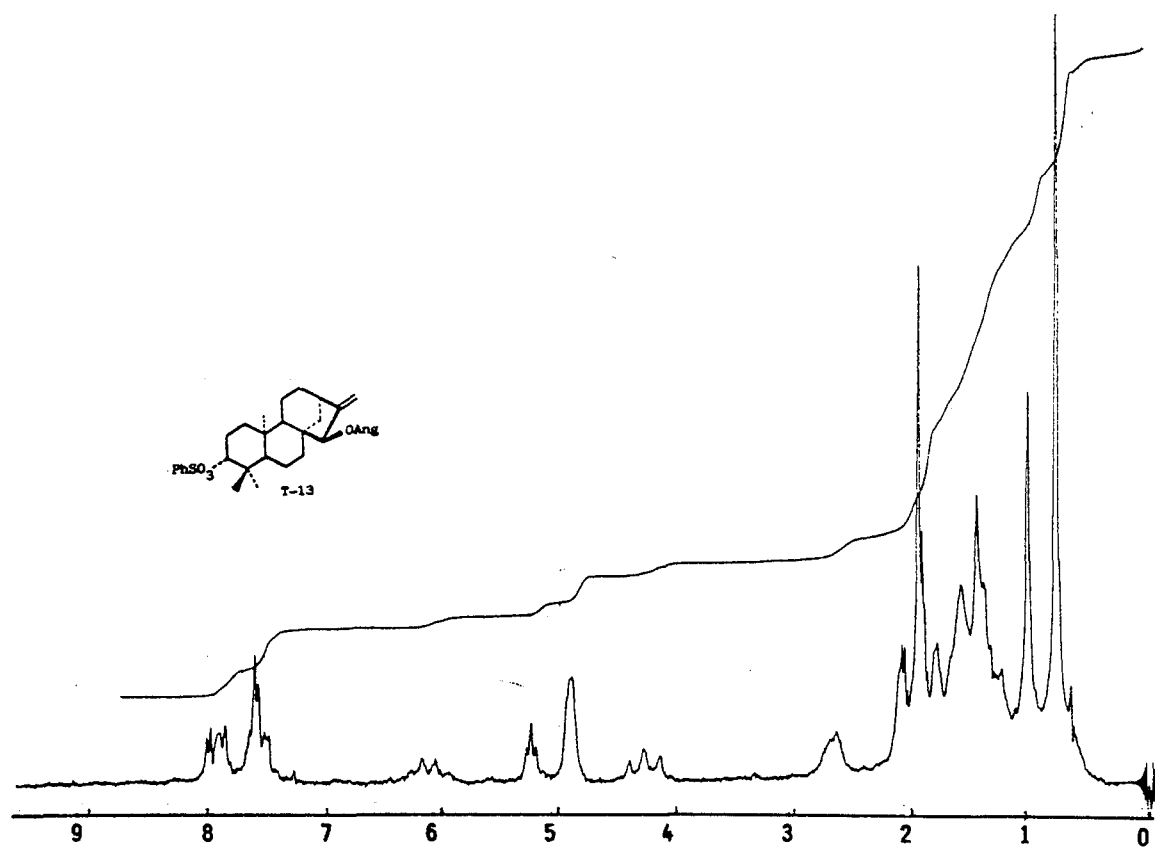
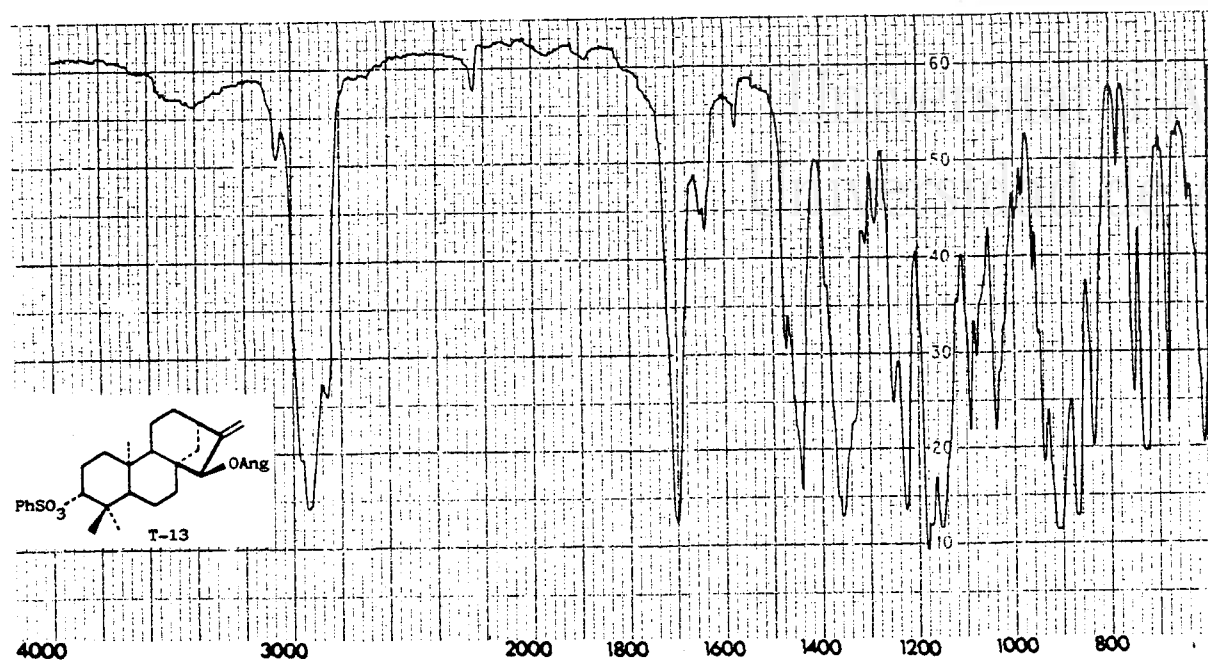


Fig. T-13b

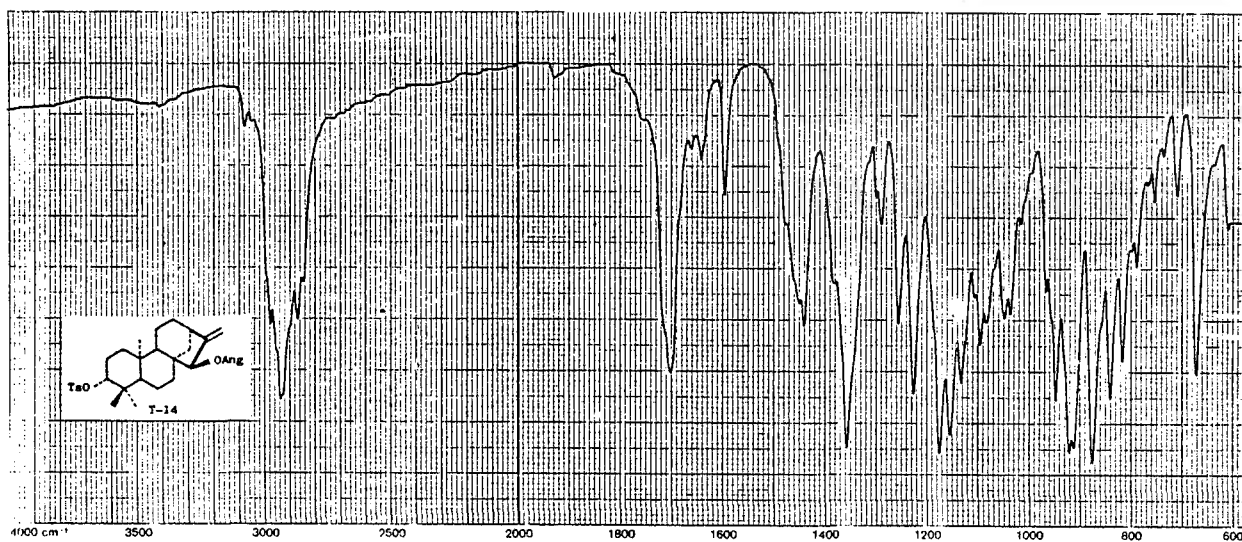


Fig. T-14a

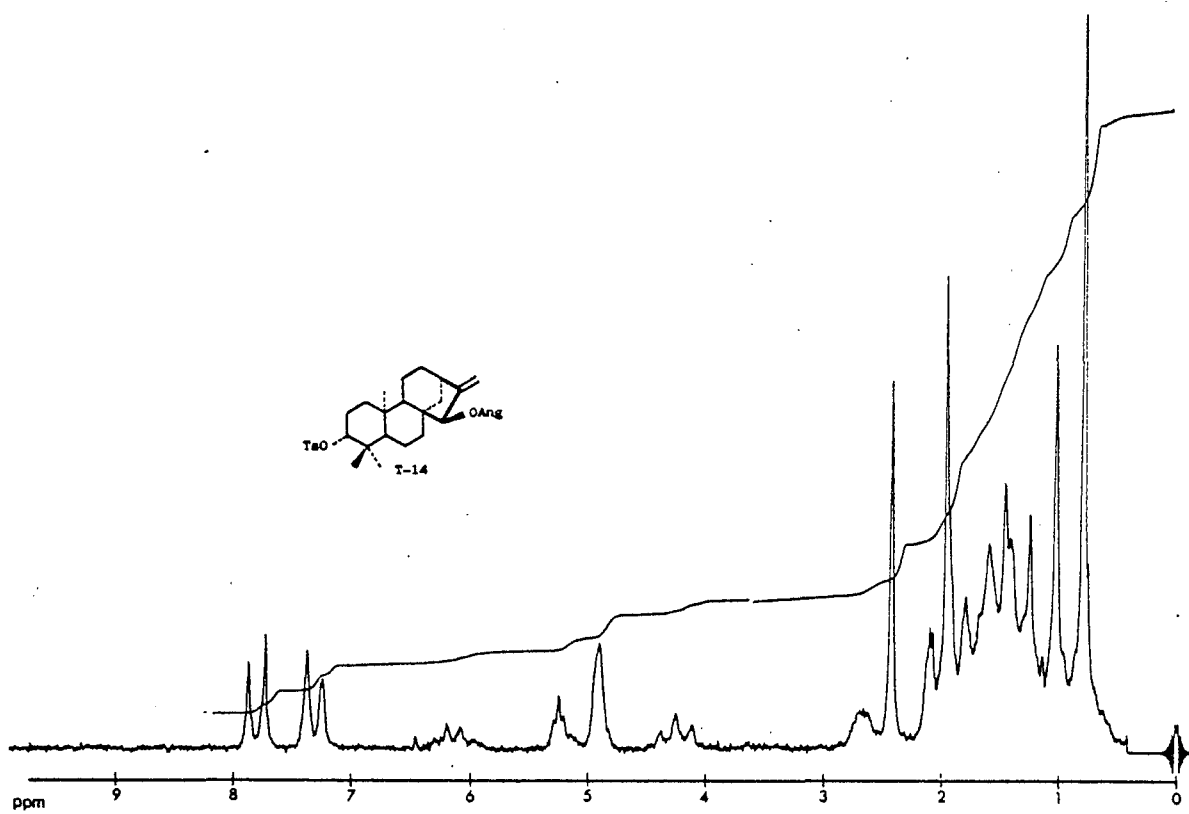
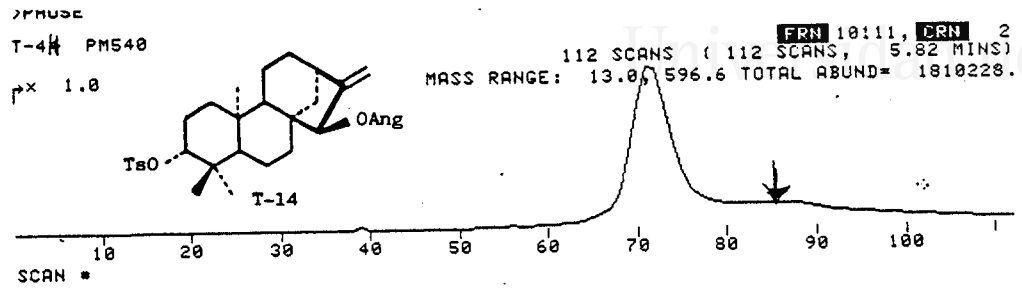


Fig. T-14b

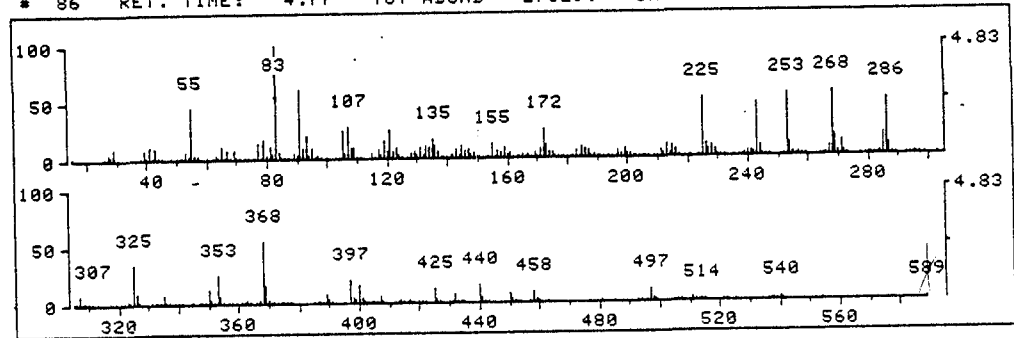


Universitat d'Alacant

FRN 10111, CRN 2



* 86 RET. TIME: 4.77 TOT ABUND= 27629. BASE PK/ABUND: 83.1/ 1335.



FRN 10111, SPECTRUM # 86 RET.TIME: 4.77, 364 PEAKS

M/Z	REL ABUND	M/Z	REL ABUND	M/Z	REL ABUND	M/Z	REL ABUND
27	6.0	117	8.7	174	5.2	286	50.1
29	10.2	119	17.0	175	5.2	287	10.8
39	8.7	120	7.8	183	6.9	307	8.8
41	12.1	121	25.5	185	9.6	325	35.9
43	9.9	122	7.3	186	8.2	326	10.6
53	6.7	123	9.6	187	7.6	335	8.8
55	45.9	128	5.5	197	6.4	350	12.7
65	11.8	129	7.3	199	8.2	353	26.2
67	8.1	131	10.9	211	6.6	354	7.1
69	9.4	133	11.8	213	11.0	368	55.7
77	14.5	134	9.8	215	9.5	369	15.7
79	17.5	135	17.7	216	6.6	389	8.1
81	11.5	136	12.2	225	52.6	397	21.6
82	5.5	137	6.6	226	12.2	398	5.8
83	100.0	143	8.8	227	7.1	399	4.6
84	6.8	145	11.5	228	9.4	400	16.3
89	4.7	146	7.2	229	6.6	401	4.7
91	61.6	147	8.3	240	5.9	407	6.4
92	10.9	149	5.9	241	4.9	425	12.7
93	21.1	155	13.0	243	47.5	432	9.1
94	4.6	157	7.2	244	9.9	440	17.2
95	10.3	158	4.9	253	54.8	441	5.7
105	25.6	159	9.7	254	11.9	450	8.4

Fig. T-14c

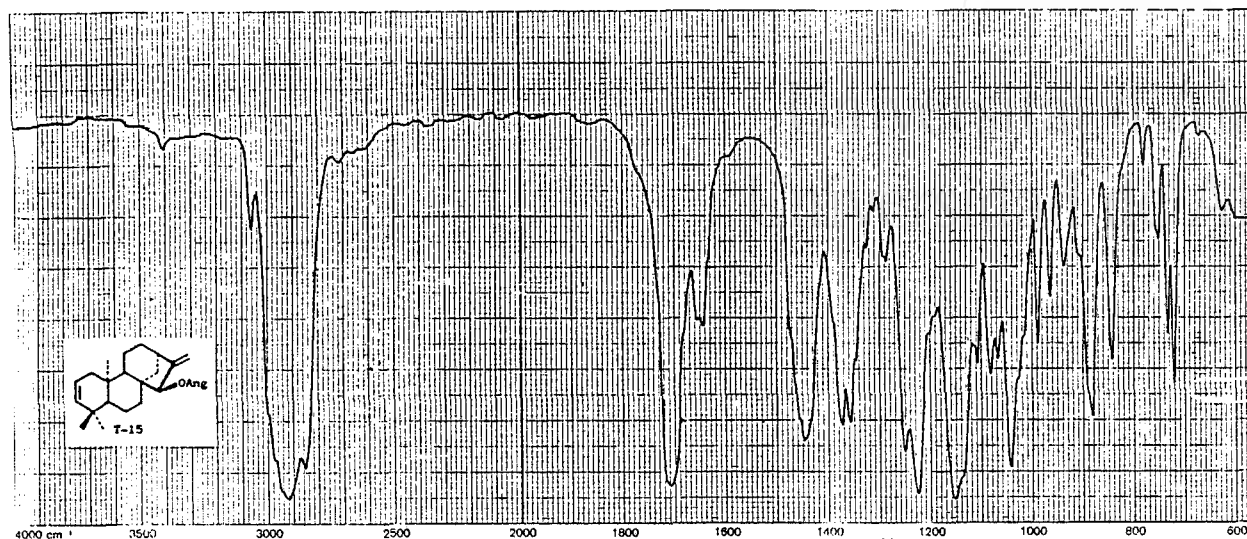


Fig. T-15a

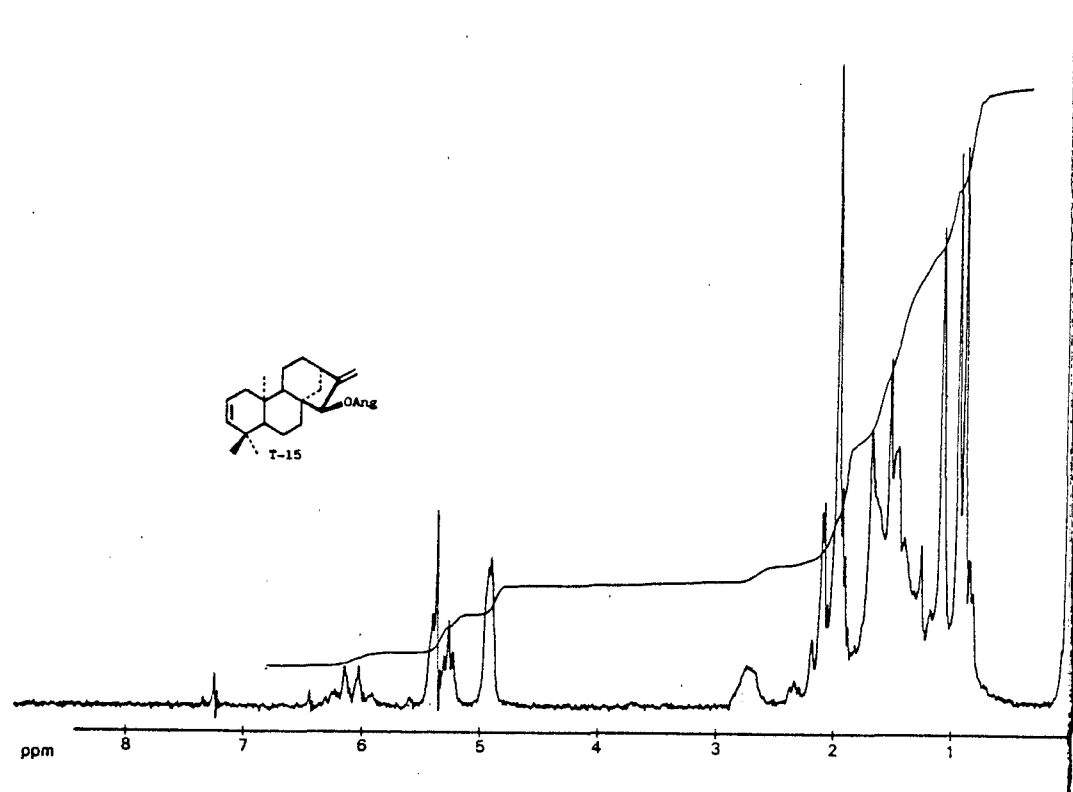


Fig. T-15b

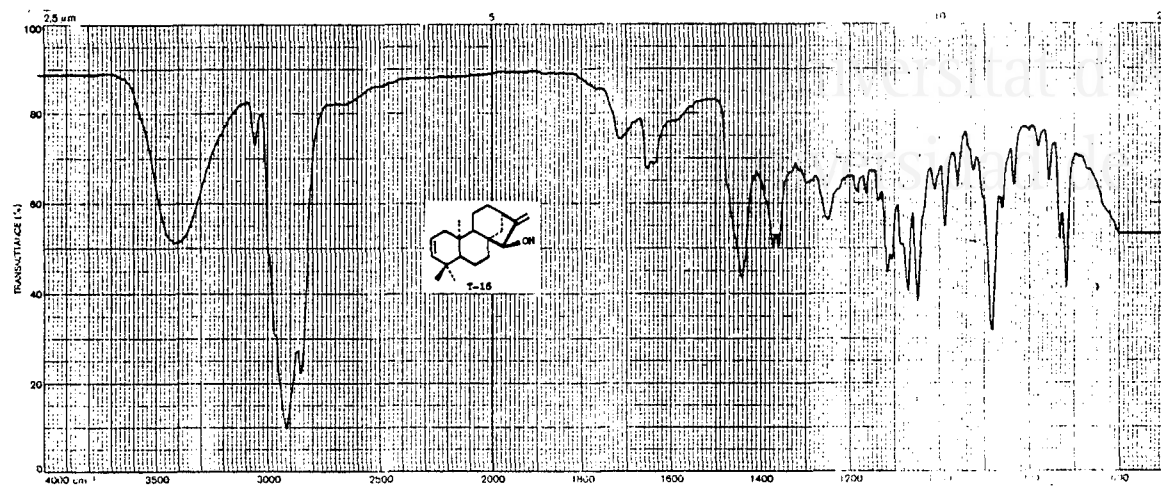


Fig. T-16a

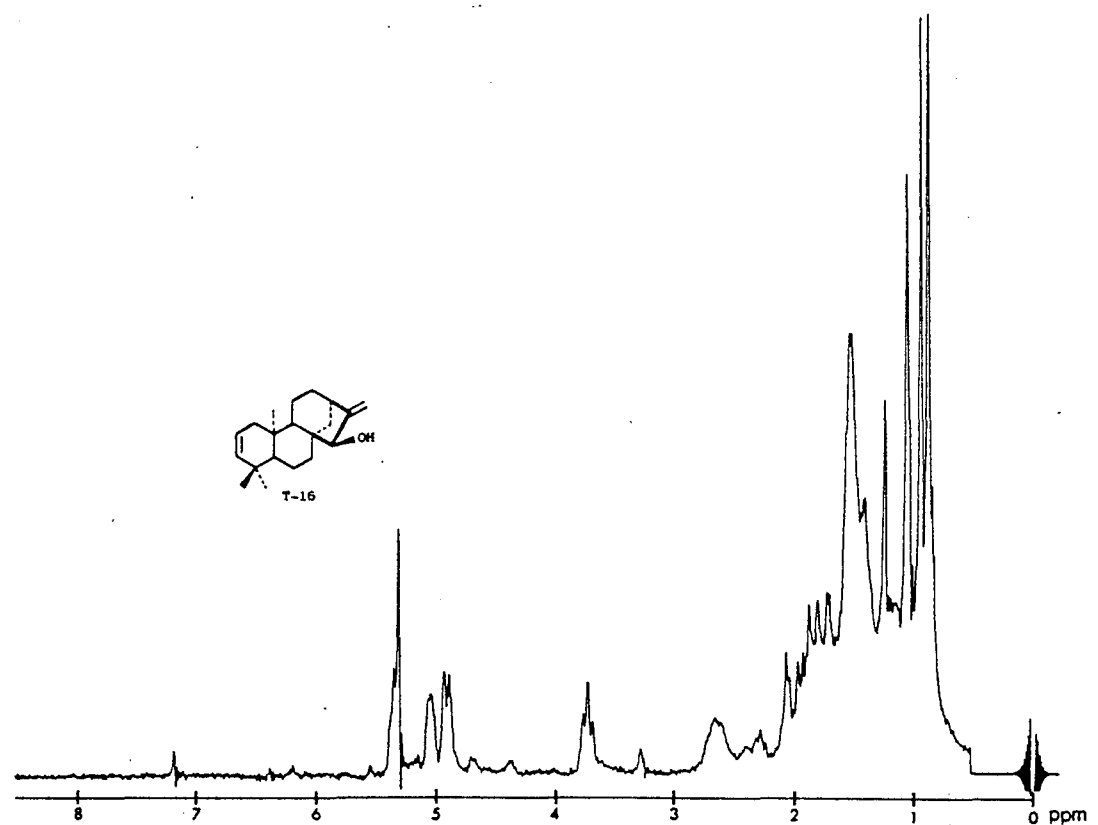


Fig. T-16b



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

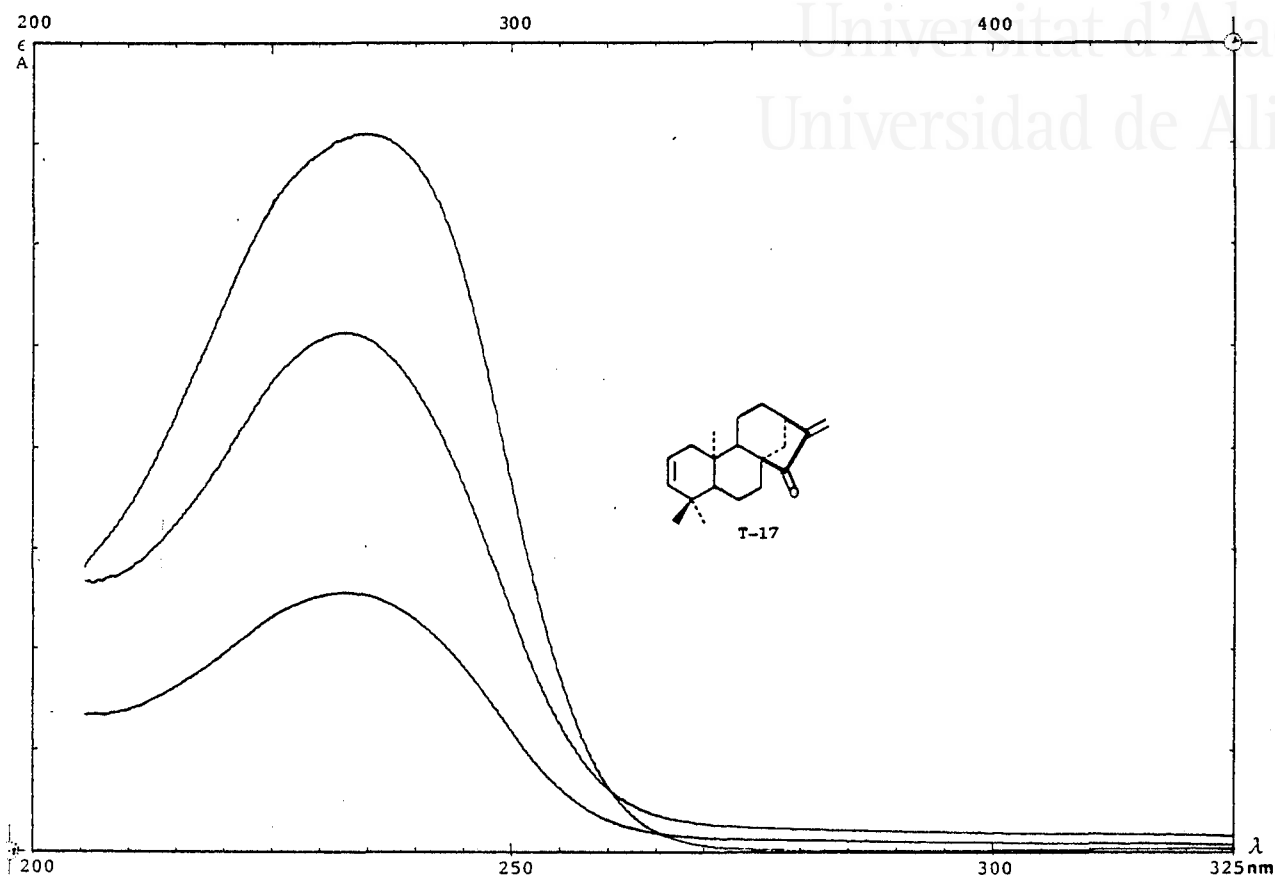


Fig. T-17a

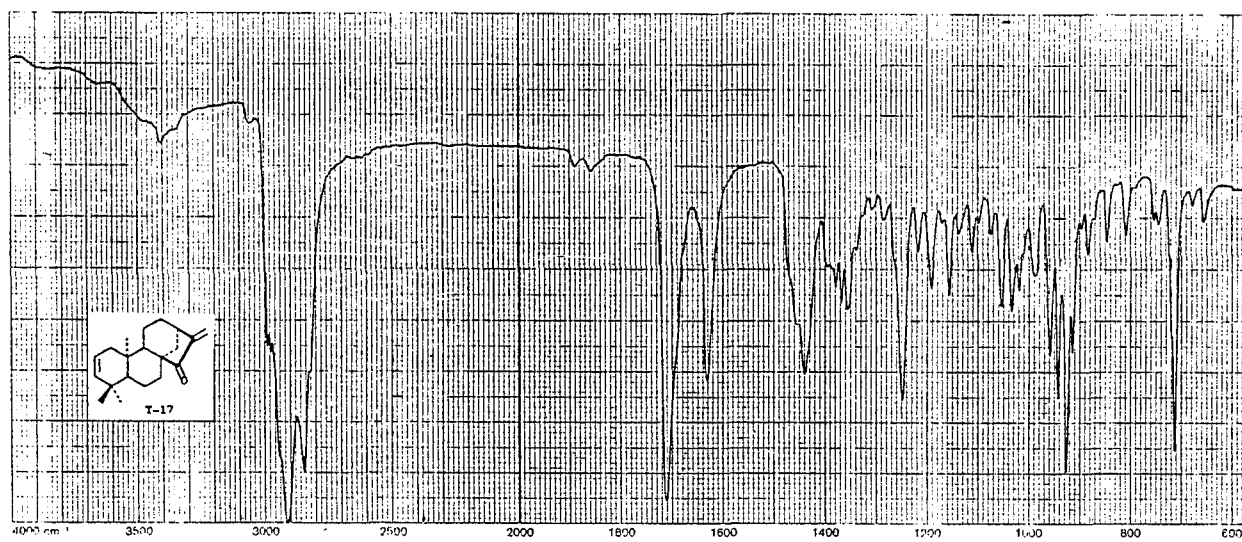
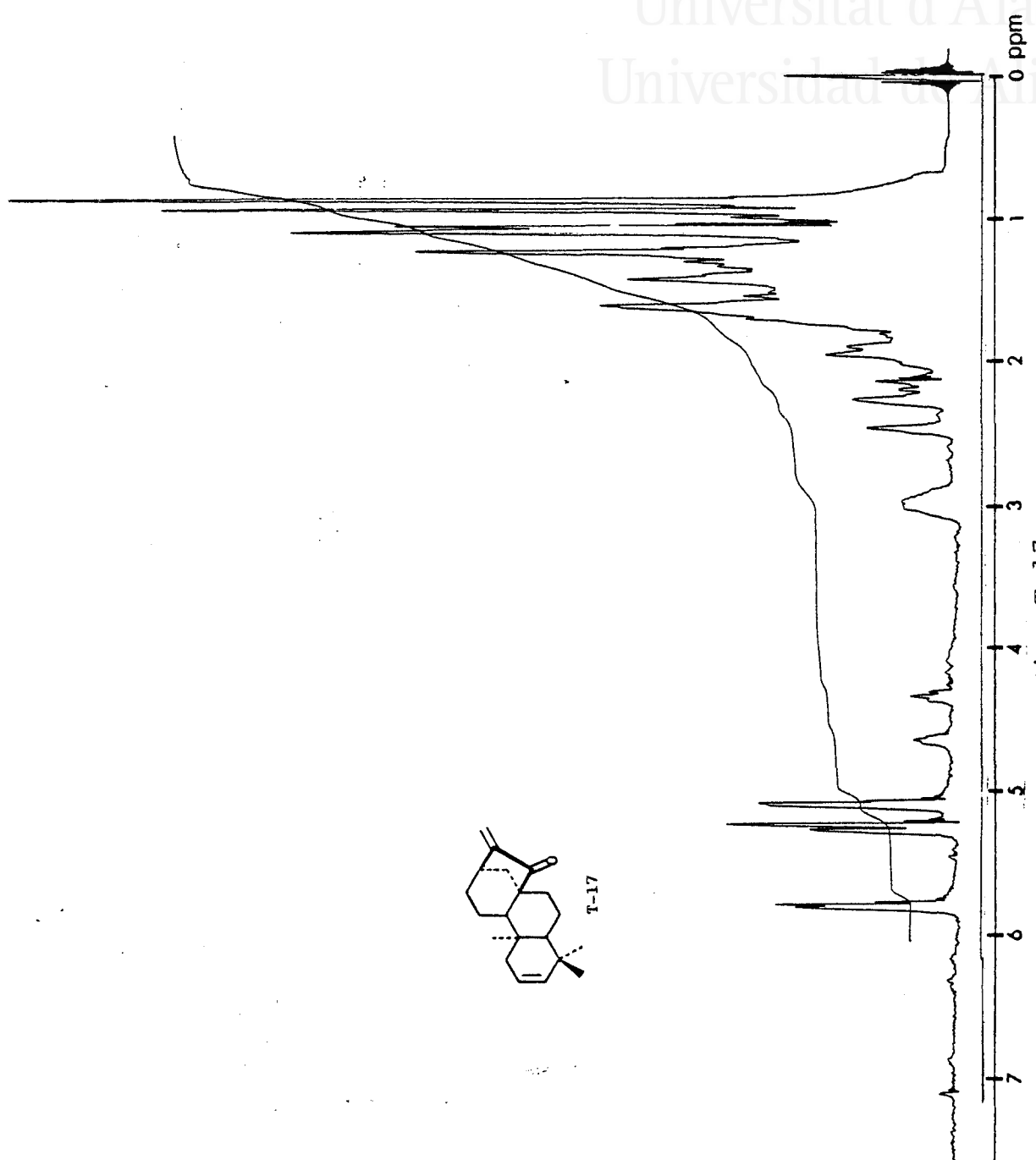


Fig. T-17b

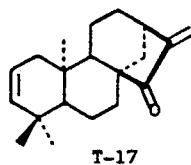


Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante





Universitat d'Alacant
 Universidad de Alicante

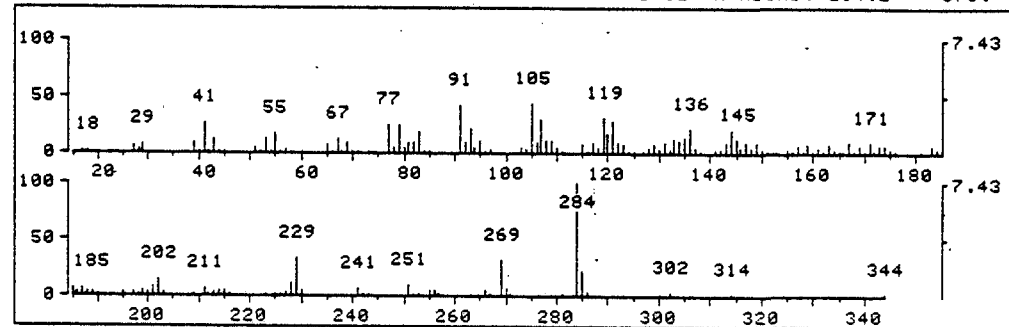


FRN 10113, DFN 2
 189 SCANS (189 SCANS, 5.72 MINS)
 MASS RANGE: 11.0, 344.2 TOTAL ABUND= 628721.

MUY VOLATIL , COMIENZA CON ALTO NIVEL IONICO

SCAN # 20 40 60 80 100 120 140 160 180

* 27 RET. TIME: 1.13 TOT ABUND= 9104. * BASE PK/ABUND: 284.2/ 676.



FRN 10113, SPECTRUM # 29 RET.TIME: 1.20, 169 PEAKS

M/Z	REL ABUND	M/Z	REL ABUND	M/Z	REL ABUND	M/Z	REL ABUND
41	25.8	91	41.3	117	10.2	144	21.6
43	13.3	92	10.4	119	29.9	145	14.4
53	13.3	93	25.3	120	19.2	202	13.9
55	18.3	95	10.9	121	27.6	228	10.4
67	13.9	105	41.3	133	14.4	229	35.3
77	25.8	106	9.9	134	11.7	251	11.6
79	23.9	107	29.9	135	14.0	269	31.8
81	10.6	108	11.7	136	21.5	284	100.0
83	16.3	109	9.9	143	10.7	285	23.2

>PAUSE

Fig. T-17d

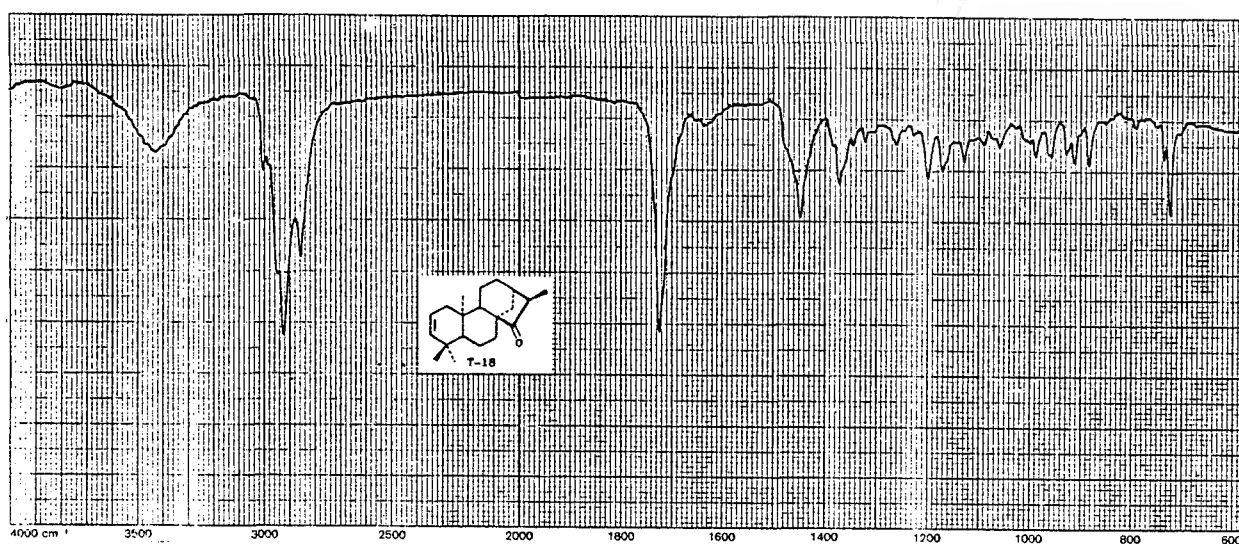


Fig. T-18a

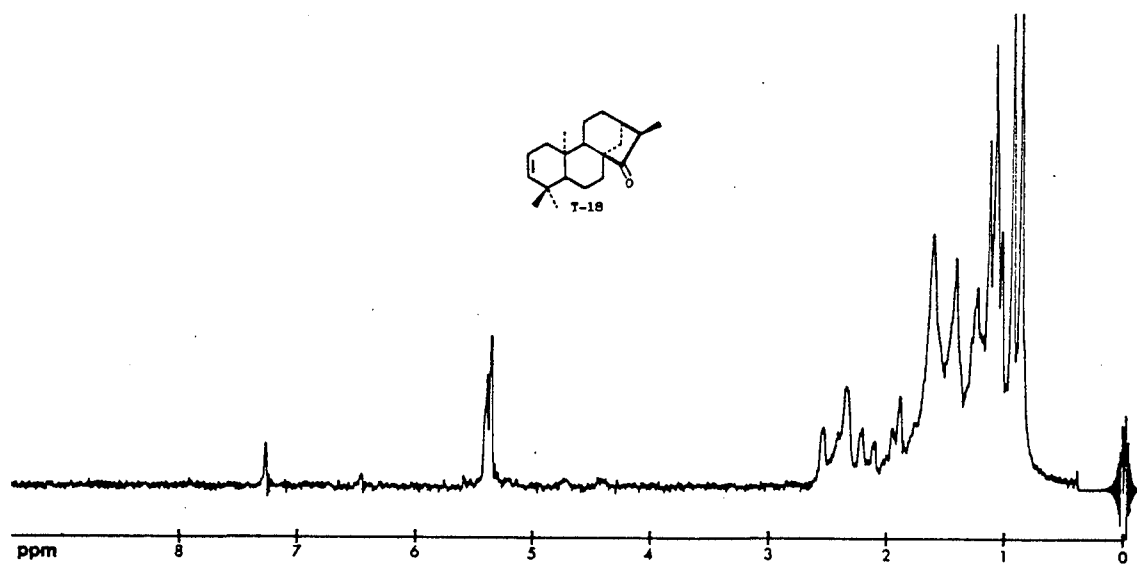


Fig. T-18b

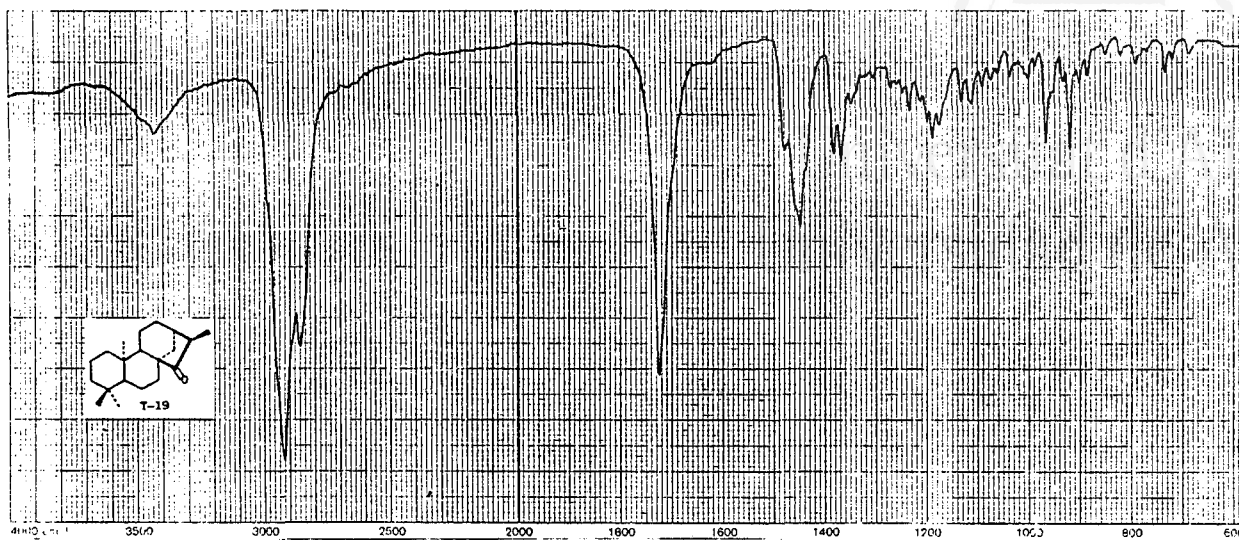


Fig. T-19a

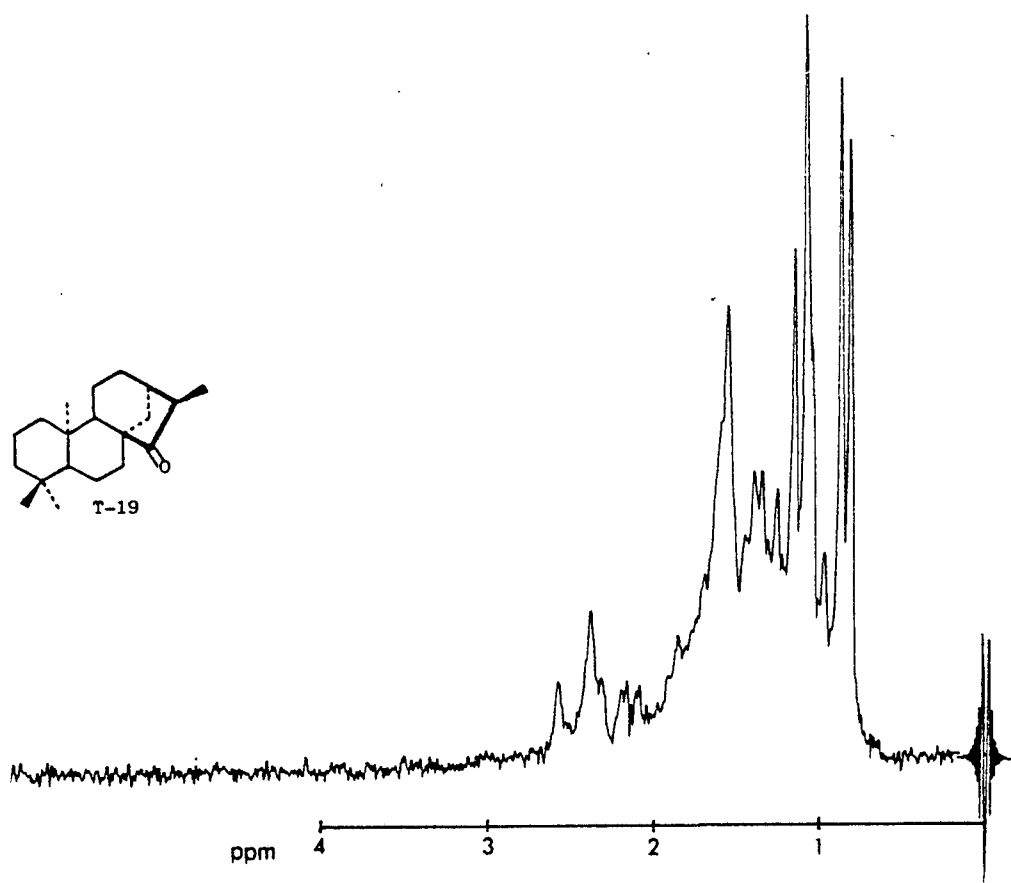
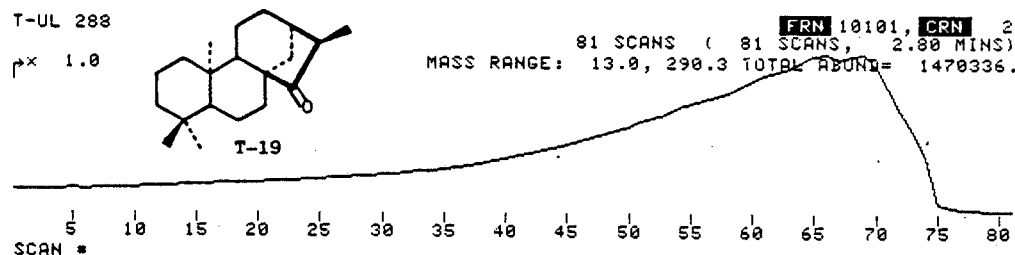


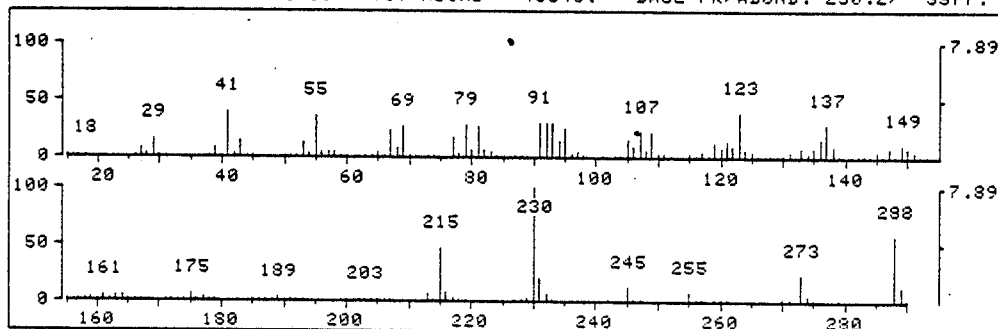
Fig. T-19b



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante



* 66 RET. TIME: 2.60 TOT ABUND= 45348. BASE PK/ABUND: 230.2/ 3577.



FRN 10101, SPECTRUM # 66 RET. TIME: 2.60, 181 PEAKS

M/Z	REL ABUND	M/Z	REL ABUND	M/Z	REL ABUND	M/Z	REL ABUND
29	16.1	81	28.0	120	8.5	150	8.5
39	8.6	91	31.0	121	15.0	215	47.7
41	39.8	92	30.5	122	9.4	216	8.8
43	14.5	93	29.9	123	39.9	230	100.0
53	12.6	94	14.1	133	8.8	231	21.7
55	36.4	95	25.8	135	9.1	245	13.3
67	24.9	105	16.7	136	15.9	255	9.0
68	8.5	106	9.9	137	28.2	273	24.6
69	26.7	107	23.2	138	10.7	288	59.8
77	17.9	109	22.0	147	8.4	289	12.6
79	29.3	119	12.9	149	11.6		

>PAUSE

Fig. T-19c



Universitat d'Alacant

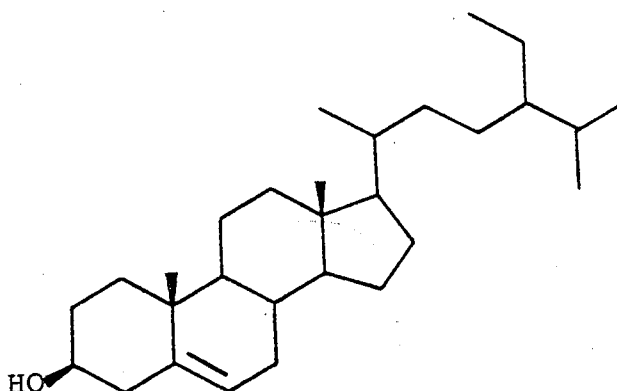
Universidad de Alicante

T-5: β -Sitosterol

El compuesto fue aislado de las fracciones C41 - C79 de la cromatografía C y cristalizado en metanol presenta un Pf. 139-140° y $[\alpha]_D -33,5^\circ$.

El espectro IR (fig. T-5a) presenta absorciones características de los siguientes grupos: Hidroxilo (3.420, 1.040, 1.010) y doble enlace trisustituido (3.020, 835).

Los datos del espectro de RMN ^1H (60MHz, CDCl_3) (fig. T-5b) descrita en la parte experimental, concuerda con los que se citan en la bibliografía para este compuesto (59).



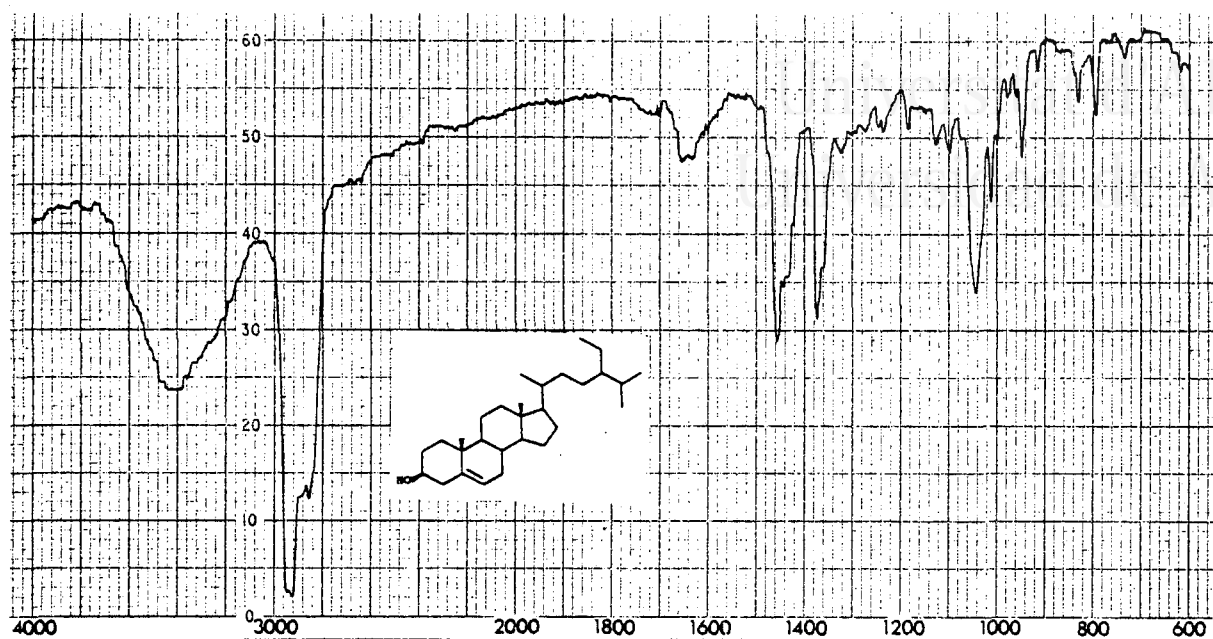


Fig. T-5a

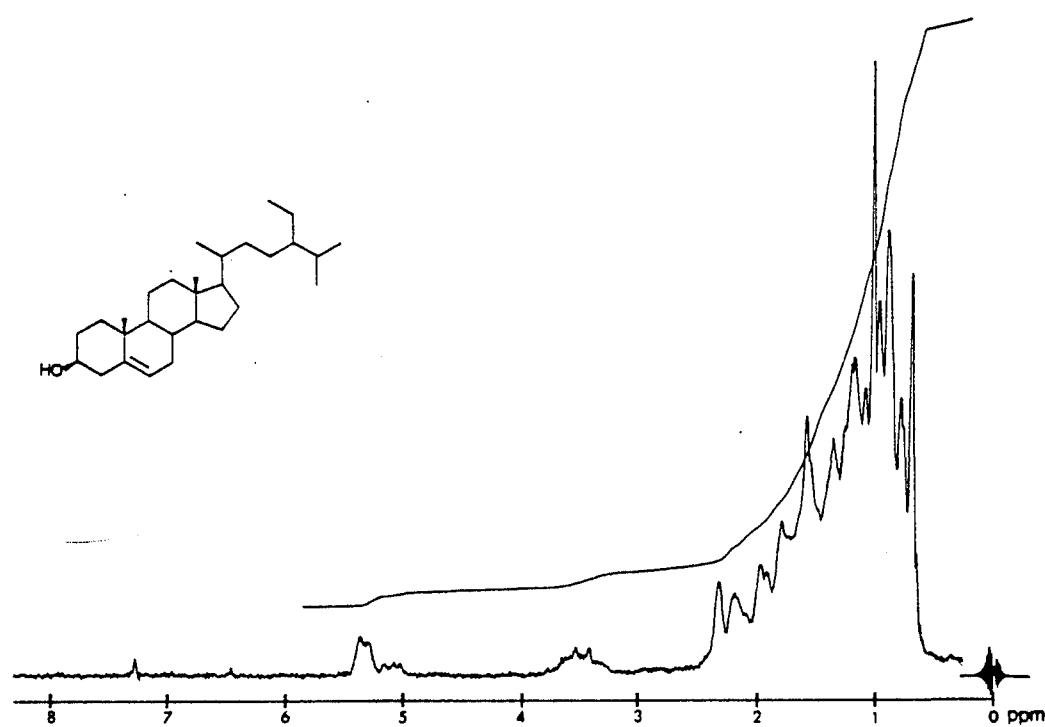


Fig. T-5b



T-6: ent-15 α -Angeloiloxi-16 β ,17-epoxikauran-3 β -ol

Universitat d'Alacant

Universidad de Alicante

De las fracciones A5 y A6 de la cromatografía en columna seca inicial, se aisló una sustancia que en CCF presenta un Rf. algo inferior al de T-4. Una vez purificada por recristalización en hexano, presenta un Pf. 129-130°, $[\alpha]_D -22,7^\circ$.

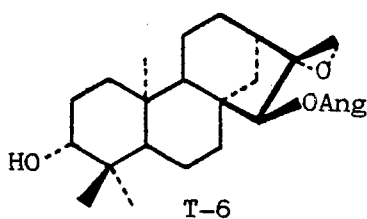
Los datos espectroscópicos obtenidos para T-6 presentan una gran similitud con los de T-4, lo que induce a pensar que se trata de sustancias con el mismo esqueleto.

El espectro IR (fig. T-6a) presenta absorciones a los mismos números de onda que T-4, variando únicamente en las intensidades relativas de algunos picos en la zona de la "huella dactilar" del espectro.

Por comparación del espectro de RMN ^1H (fig. T-6b) con el de T-4, se observa que se mantiene la posición de los metilos y las señales características de un sustituyente angeloiloxilo, así como la parte X del sistema ABX del protón H-3 geminal a un hidroxilo.

Las diferencias son las siguientes: desaparece la señal correspondiente al metileno terminal a 4,91(2H,s(a), H-17), presentando a 2,80(2H,s,H-17) una señal que por su desplazamiento químico puede corresponder a $\text{C} \begin{array}{c} \text{O} \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{---} \end{array} \text{CH}_2$. La presencia de un grupo epóxido está en concordancia con

los datos de IR y del espectro de masas (fig. T-6c), cuyo ión molecular M^+ 402, corresponde a una fórmula empírica $C_{25}H_{38}O_4$, siendo además significativos los fragmentos a m/z 384 $[M-H_2O]^+$, 369 $[384-Me]^+$, 319 $[M-Ang]^+$, 302 $[M-AngOH]^+$. El resto de la fragmentación es muy similar a la del compuesto T-4.



Con objeto de confirmar la estructura, se epoxidó el compuesto T-4 con ácido m-cloroperbenzoico en CH_2Cl_2 , obteniendo un compuesto cuyos datos físicos y espectroscópicos coinciden con los de T-6.

La reacción de epoxidación nos sirve también para determinar la configuración relativa del epóxido. Debido a la posición del grupo angeloiloxilo, el peroxiácido tiene impedido el ataque al doble enlace por la parte superior, por lo que debe estar favorecido el ataque por la parte inferior (exo). Basándonos en este efecto estereo asignamos al compuesto la configuración ent-16 β .



Universitat d'Alacant
Universitat de Alicante

Acetato T-20

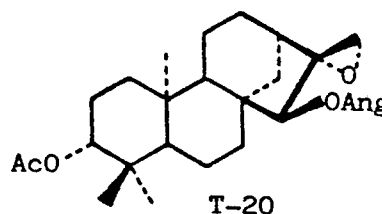
Por acetilación del compuesto T-6 con Ac_2O /piridina, se obtuvo el compuesto T-20, que cristalizado en hexano dio un Pf. 173-174° y $[\alpha]_{\text{D}} -25^\circ$.

Por comparación de sus datos espectroscópicos con los de T-6, se observan las siguientes diferencias:

En el espectro IR (fig. T-20a), desaparecen las bandas del grupo hidroxilo, apareciendo absorciones características de grupo acetato (1.730, 1.240).

En el espectro de RMN ^1H (fig. T-20b), se produce como era de esperar un desplazamiento a campos más bajos del protón H-3, así como la aparición de un singlete a 2,03 (3H,s,H-2") del metilo del grupo acetato.

Su espectro de masas (fig. T-20c), presenta un ión molecular M^+ a m/z 444 ($\text{C}_{27}\text{H}_{40}\text{O}_5$), así como una fragmentación similar a la de T-6.



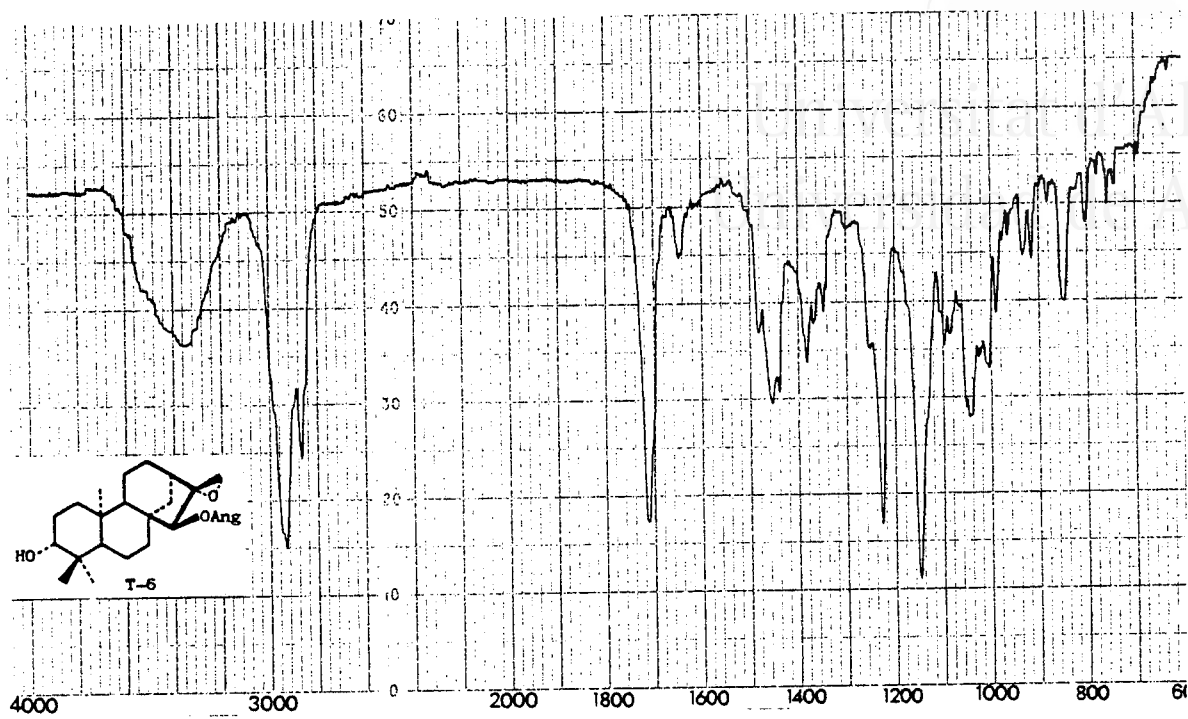


Fig. T-6a

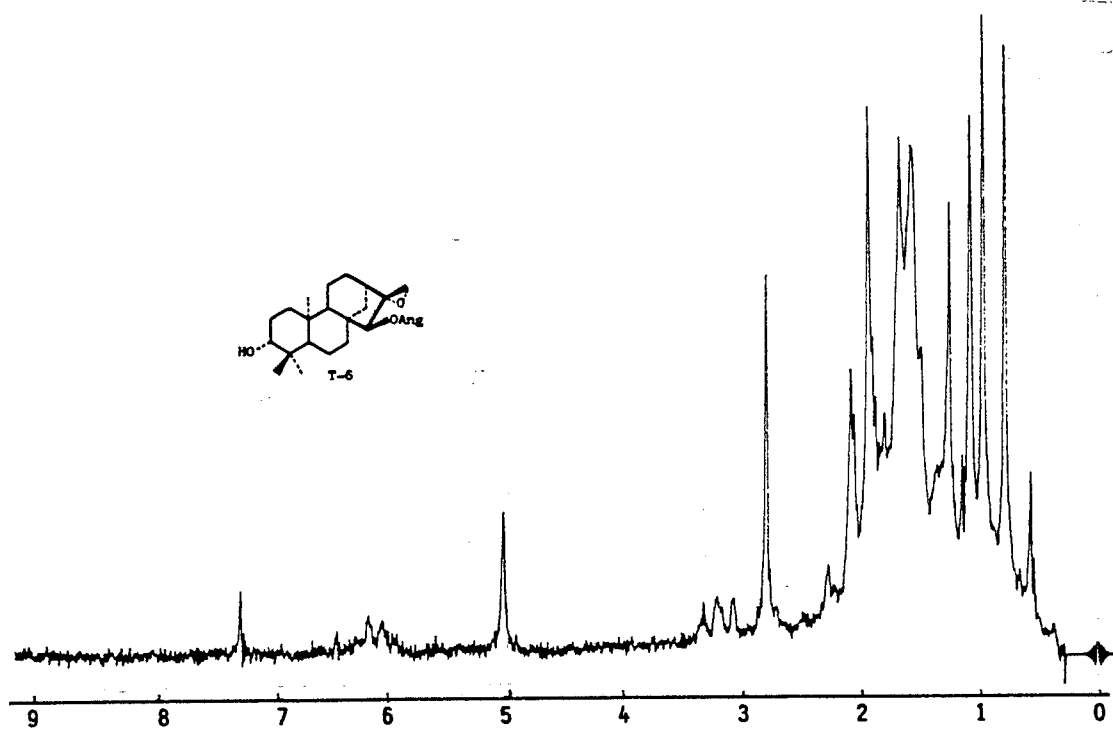


Fig. T-6b



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

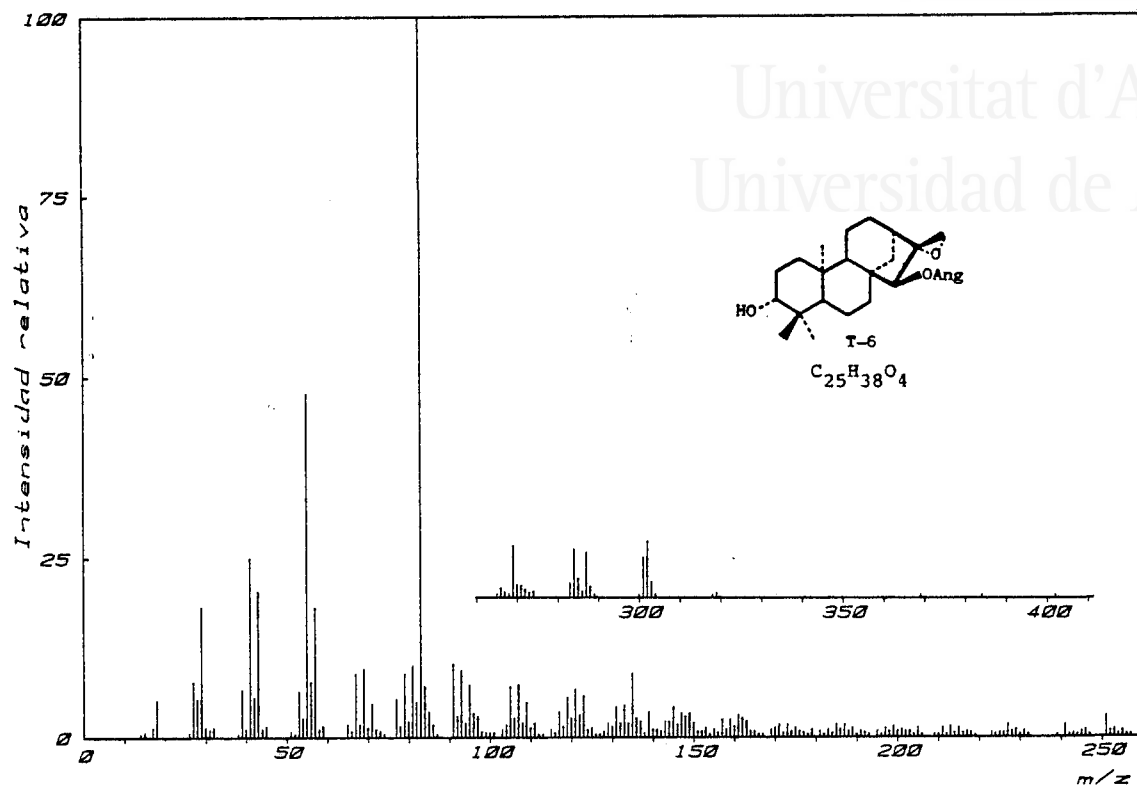


Fig. T-6c

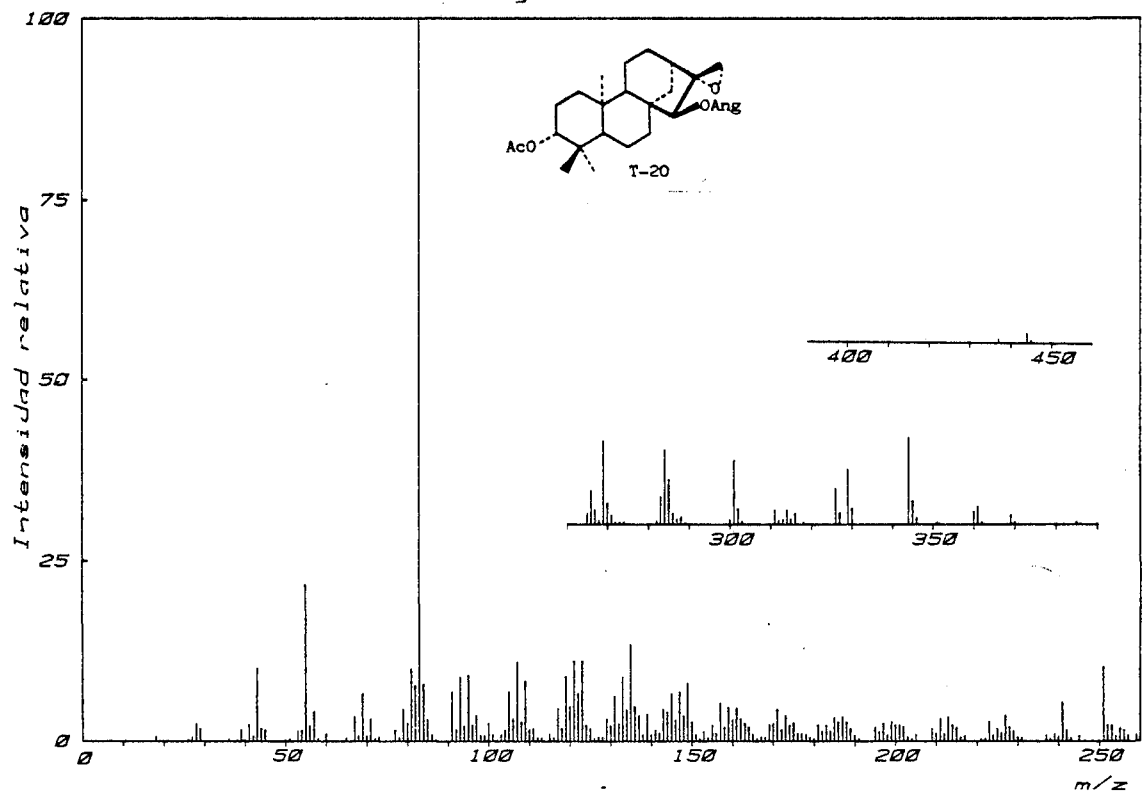


Fig. T-20c

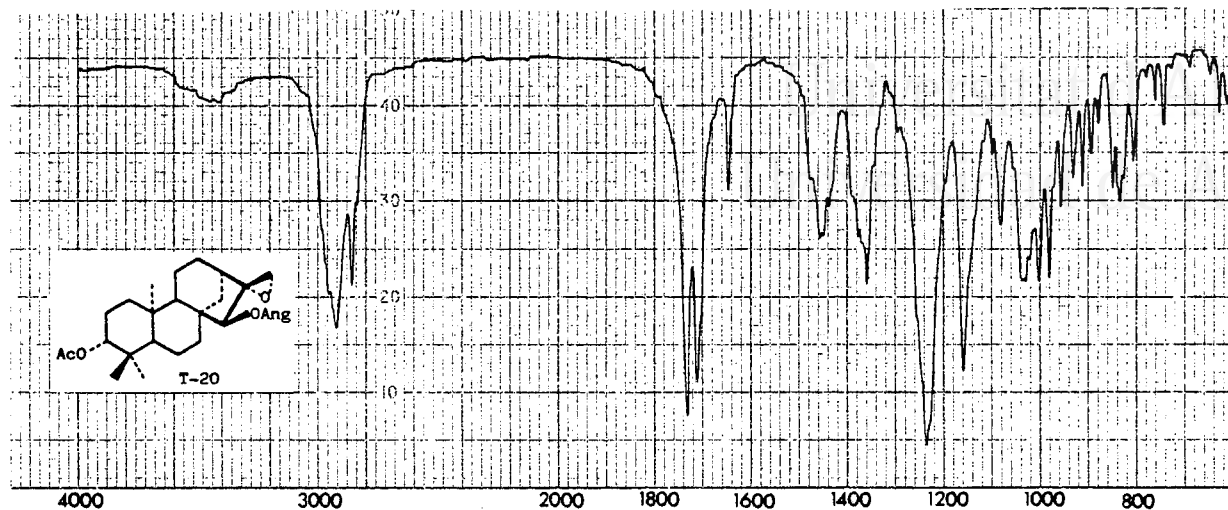


Fig. T-20a

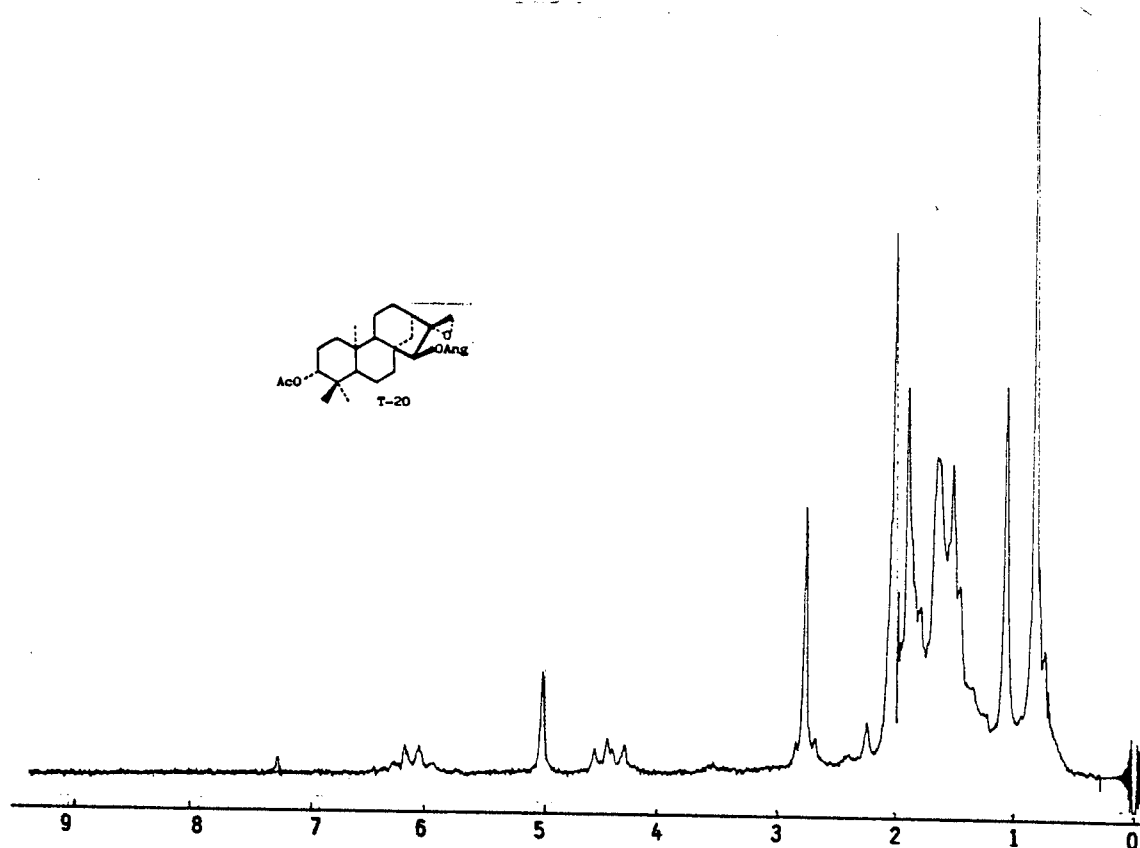


Fig. T-20b



Universitat d'Alacant

Universidad de Alicante

T-1: 2-Isopropil-4-metilanisol

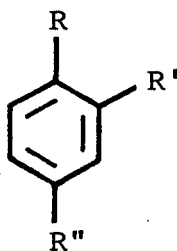
El compuesto T-1 fue aislado por cromatografía de la parte menos polar del extracto y su identificación se realizó basándonos en los siguientes datos:

El espectro IR (fig. T-1b), presenta bandas características de anillo aromático (3.010, 1.600, 1.490, 800, 740), vibración de tensión -C-H (2.940, 2.840, 2.810) y grupo metoxilo aromático (2.810, 1.230, 1.030).

El espectro UV (fig. T-1a), presenta máximos de absorción a λ (nm): 221(4,1) y 276(3,6), correspondientes a un sistema aromático.

El espectro de masas (fig. T-1d), presenta un ión molecular M^+ a m/z 164 que corresponde a una fórmula empírica $C_{11}H_{16}O$, lo que unido a los datos anteriores confirma la presencia de un anillo aromático.

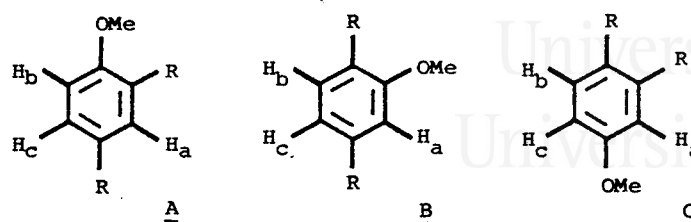
En el espectro de RMN 1H (60MHz, $CDCl_3$) (fig. T-1c) se observa un sistema de protones aromáticos con señales δ (ppm) a 7,06(1H,d, $J_m=2$ Hz,H-3), 7,00(1H,dd, $J_o=8$ Hz, $J_m=2$ Hz,H-5) y 6,75(1H,d, $J_o=8$ Hz,H-6). El valor de las constantes de acoplamiento del sistema así como su integral, nos indica que se trata de un anillo aromático 1,2,4-trisustituído.



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

Para conocer el tipo de sustituyentes debemos fijarnos en las restantes señales del espectro de RMN ^1H : A 3,30 (1H, spt, $J=7\text{Hz}$, H-1') y 1,20 (6H, d, $J=7\text{Hz}$, H-2', H-3'), resuenan los protones correspondientes a un grupo isopropilo unido directamente al anillo bencénico, mientras que a 2,30 (3H, s, Me-4) y 3,80 (3H, s, OMe) aparecen un metilo y un metoxilo aromáticos respectivamente. La fragmentación en el espectro de masas confirma la presencia de los grupos Me, iPr y OMe sobre el anillo.

Para determinar la posición relativa de estos tres sustituyentes, suponemos que los efectos de los grupos isopropilo y metilo son muy similares independientemente de su posición, y que las variaciones significativas en los desplazamientos químicos de los protones aromáticos se deben al efecto apantallante del grupo metoxilo. Teniendo en cuenta que esta suposición es válida a la vista de los valores citados en las tablas (28), tenemos tres posibilidades:

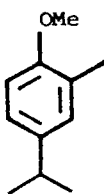


El grupo metoxilo presenta como sustituyente aromático un efecto apantallante fuerte en posiciones orto y para y bastante débil en meta. Teniendo esto en cuenta, la única fórmula que concuerda con los datos experimentales es la A (ver tabla IV).

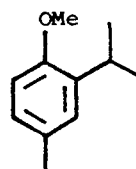
En ella los protones Hc y Ha que se encuentran en meta respecto al metoxilo, aparecen a campos similares pero más bajos que el protón Hb que se encuentra más apantallado por efecto del metoxilo en orto.

En los casos B y C ocurre todo lo contrario, así el protón Hb aparecería como doblete a campos más bajos que Hc y Ha que presentarían un desplazamiento similar.

Dentro de la estructura A tenemos dos posibilidades, según esten situados los sustituyentes alquilo:



A (I)

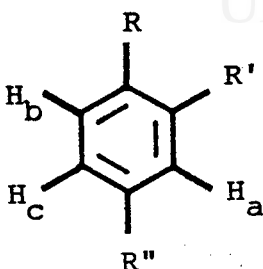


A (II)



TABLA IV

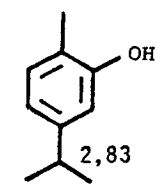
Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante



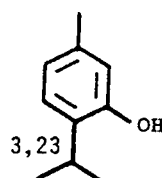
	<u>Base</u>	<u>OMe</u>	<u>Me</u>	<u>iPr</u>	<u>Total</u>
A(I)	Ha= 7,26	- 0,09	- 0,20	- 0,13	= 6,84
R= OMe, R'= Me, R''= iPr	Hb= 7,26	- 0,48	- 0,12	- 0,08	= 6,58
	Hc= 7,26	- 0,09	- 0,22	- 0,13	= 6,82
A(II)	Ha= 7,26	- 0,09	- 0,20	- 0,13	= 6,84
R= OMe, R'= iPr, R''= Me	Hb= 7,26	- 0,48	- 0,12	- 0,08	= 6,58
	Hc= 7,26	- 0,09	- 0,20	- 0,18	= 6,79
B(I)	Ha= 7,26	- 0,48	- 0,20	- 0,08	= 6,50
R= iPr, R'= OMe, R''= Me	Hb= 7,26	- 0,09	- 0,12	- 0,13	= 6,92
	Hc= 7,26	- 0,44	- 0,20	- 0,08	= 6,54
B(II)	Ha= 7,26	- 0,48	- 0,12	- 0,13	= 6,53
R= Me, R'= OMe, R''= iPr	Hb= 7,26	- 0,09	- 0,20	- 0,08	= 6,89
	Hc= 7,26	- 0,44	- 0,12	- 0,13	= 6,57
C(I)	Ha= 7,26	- 0,48	- 0,12	- 0,13	= 6,53
R= Me, R'= iPr, R''= OMe	Hb= 7,26	- 0,09	- 0,20	- 0,08	= 6,89
	Hc= 7,26	- 0,48	- 0,12	- 0,18	= 6,48
C(II)	Ha= 7,26	- 0,48	- 0,20	- 0,08	= 6,50
R= iPr, R'= Me, R''= OMe	Hb= 7,26	- 0,09	- 0,12	- 0,13	= 6,92
	Hc= 7,26	- 0,48	- 0,22	- 0,08	= 6,48
Valores experimentales:	Ha= 7,06	Hb= 6,75	Hc= 7,00		

La elección entre las dos estructuras, se hizo atendiendo al desplazamiento químico del septete correspondiente al metino del grupo isopropilo, el cual varía dependiendo de su posición respecto al sustituyente metoxilo.

Para tener una base con la que comparar, realizamos los espectros de RMN ^1H de carvacrol y timol (fig. T-1f y T-1g). Como puede observarse en la figura el metino del isopropilo se encuentra más desapantallado en el segundo.



carvacrol



timol

En los datos experimentales del compuesto natural T-1 el protón del grupo metino aparece a 3,30, por lo que la estructura A(II) parece ser la más probable. Para confirmarlo se trató el timol con MeI (60) para formar el timol metiléter. Los desplazamientos químicos para los sustituyentes son idénticos a los de nuestra sustancia. Igualmente los espectros UV son muy similares (fig. T-1a). El compuesto 2-isopropil-4-metilanisol se encontró

descrito en la bibliografía (61), comprobándose que tanto las constantes físicas como los datos espectroscópicos son idénticos a los citados.



Universitat d'Alacant
Instituto de Investigaciones Científicas de Alicante

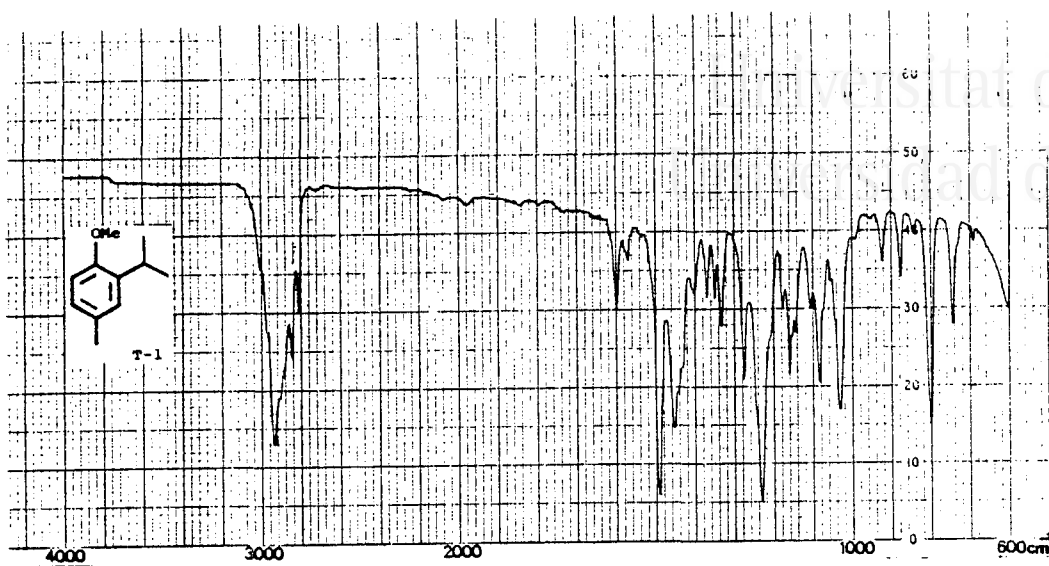


Fig. T-1b

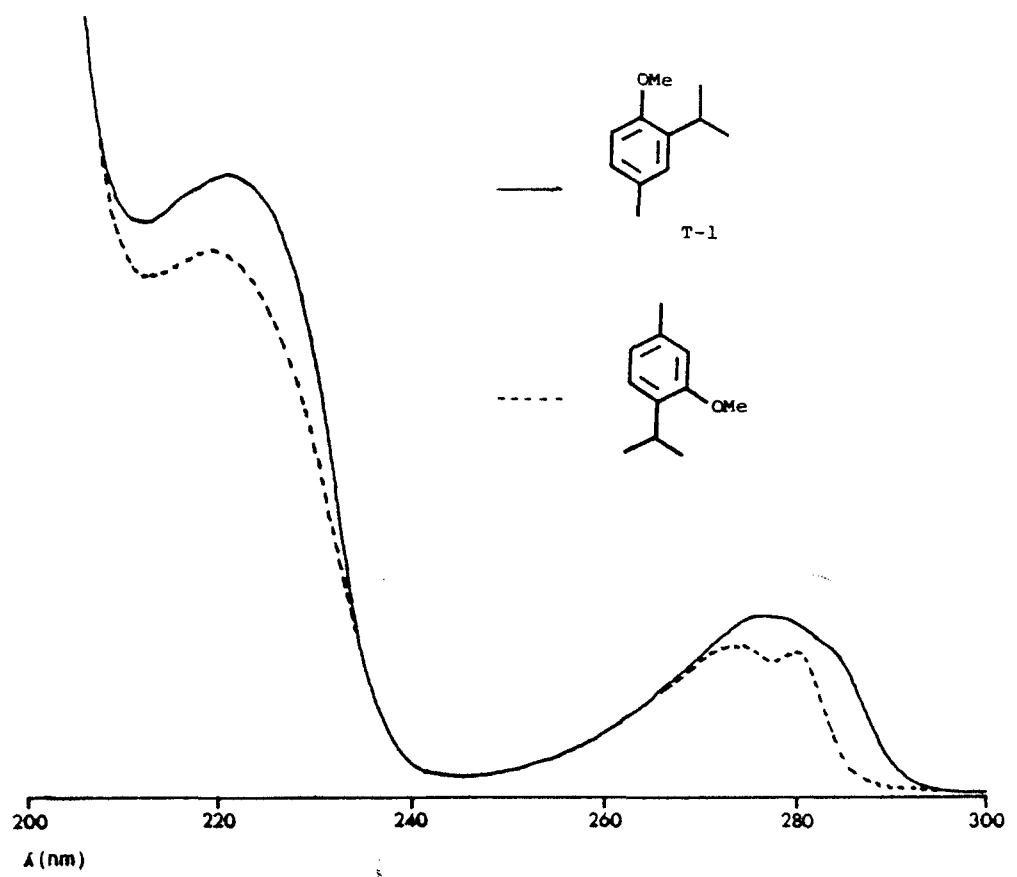


Fig. T-1a



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

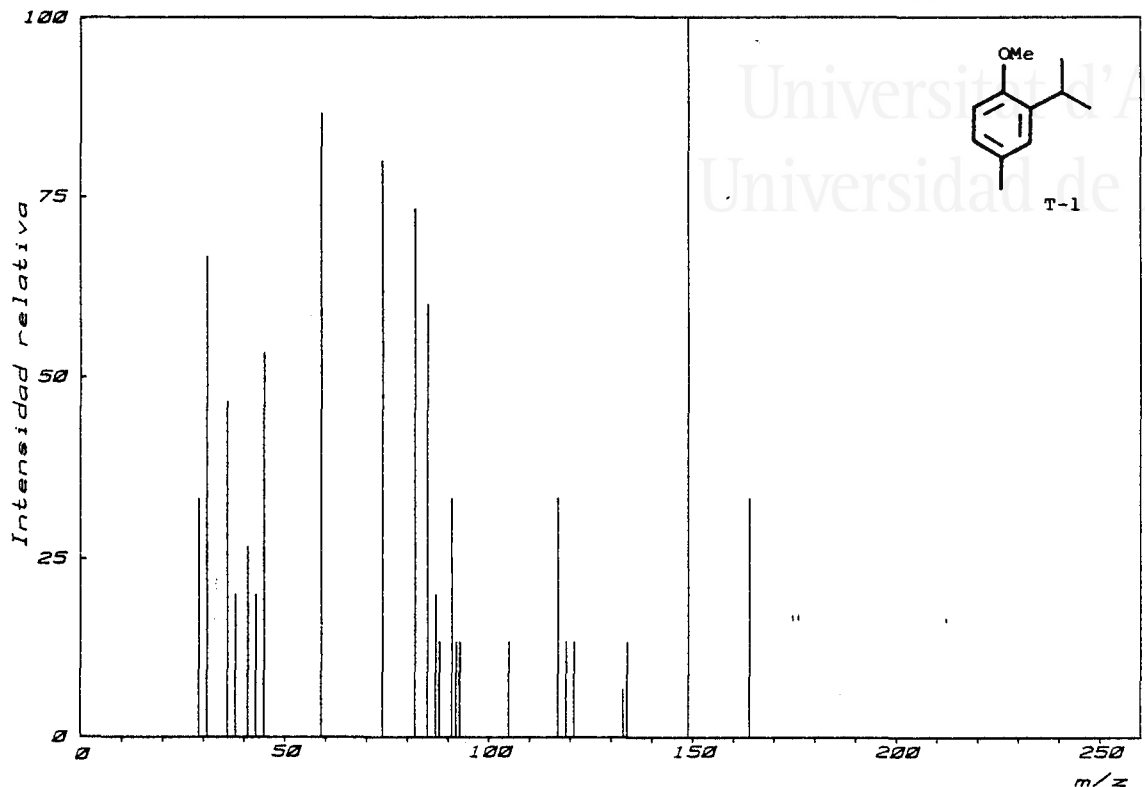


Fig. T-1d

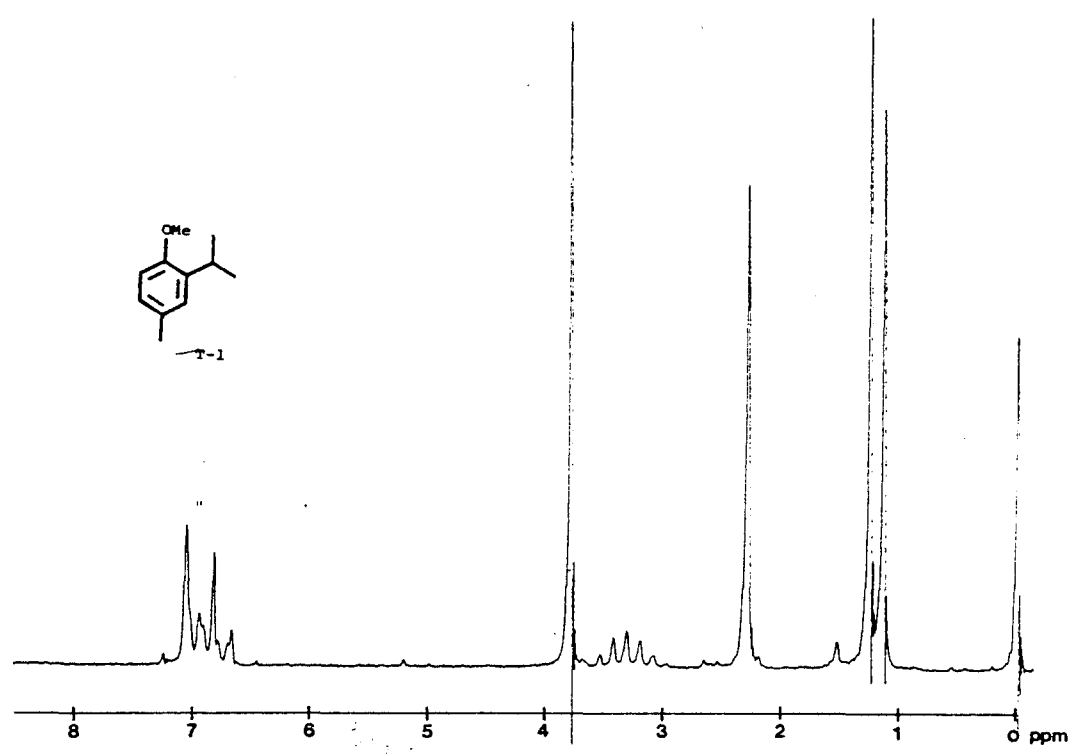


Fig.T-1b



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

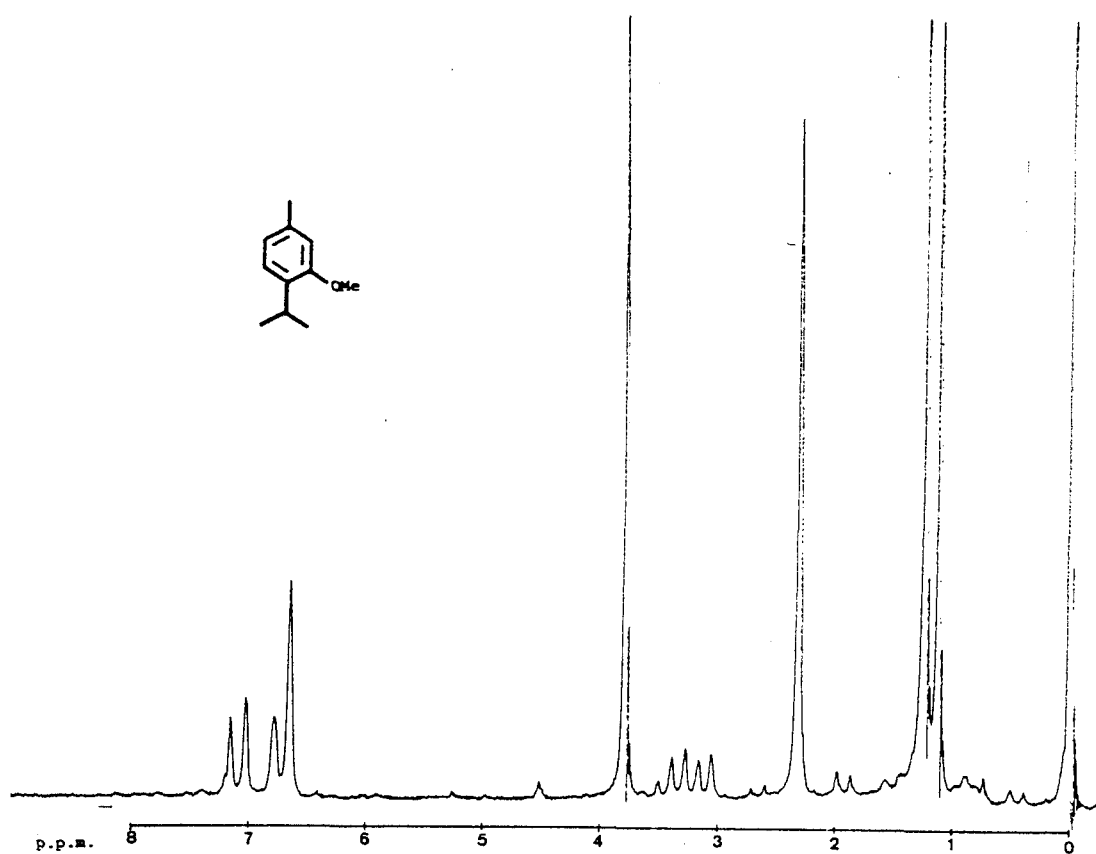


Fig. T-le



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

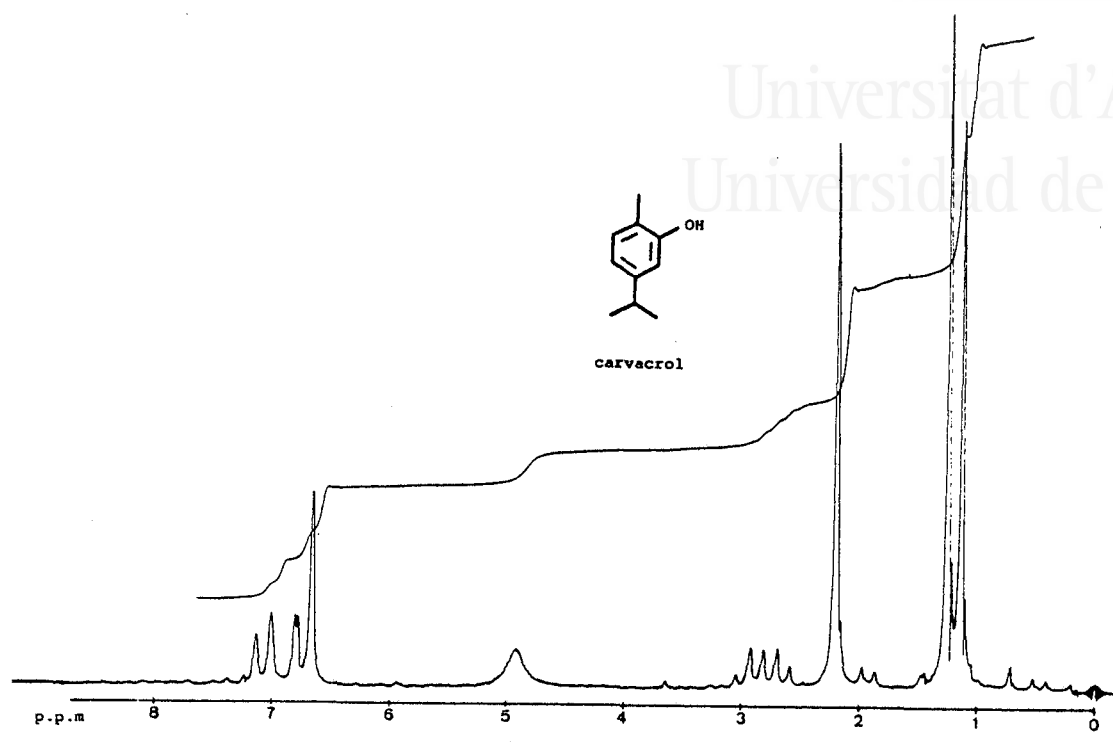


Fig. T-1f

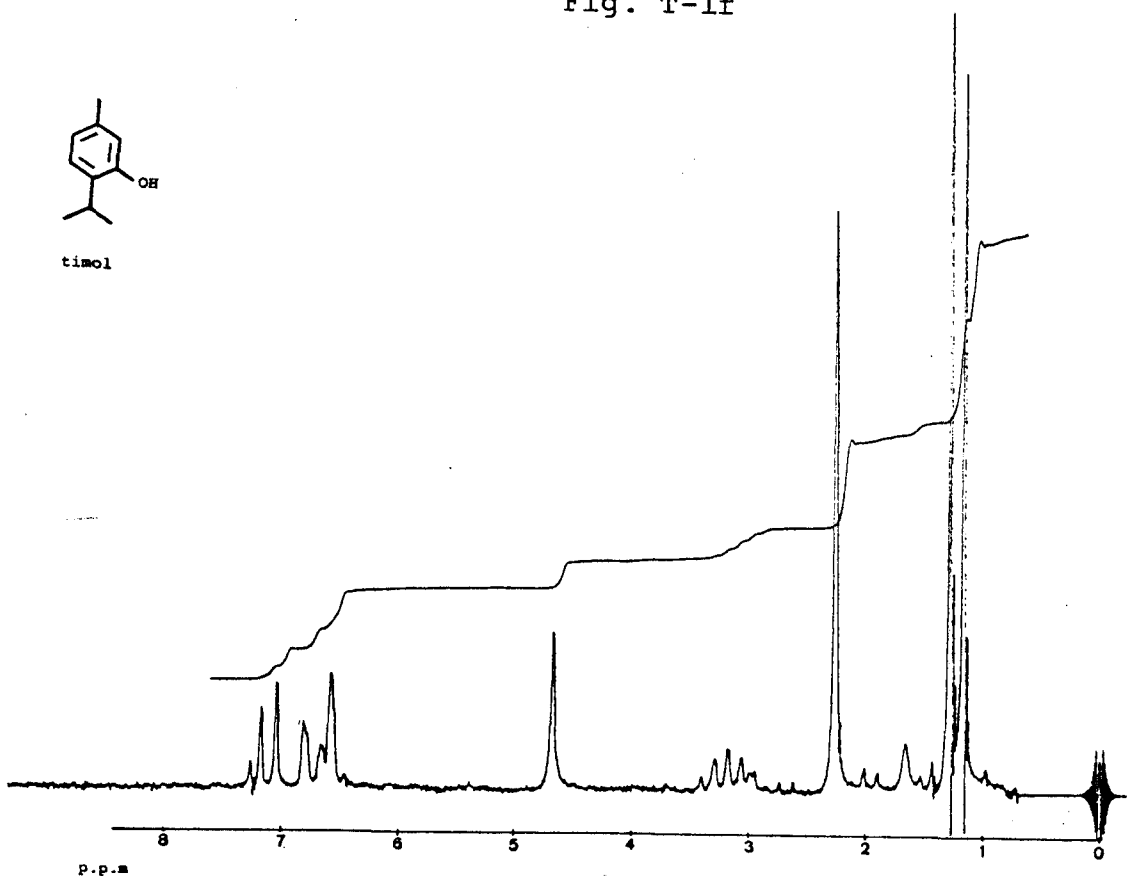


Fig. T-1g



T-2: Timoquinol dimetileter

De la fracción B15, se aisló por cromatografía un aceite cuya estructura se determinó a partir de los siguientes datos espectroscópicos:

El espectro IR (fig. T-2b) presenta bandas características de compuestos aromáticos (3.040, 1.500, 860, 810) y de grupo C-O-Ar (1.205, 1.050).

El espectro UV (fig. T-2a) presenta absorciones a $\lambda(\text{nm})$: 207,4(3,5), 220,6(3,4)h y 288,7(3,0) características de un sistema aromático.

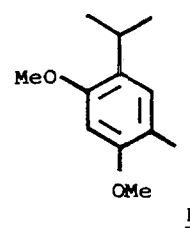
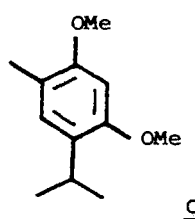
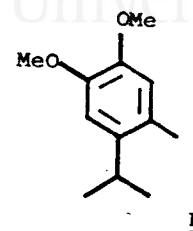
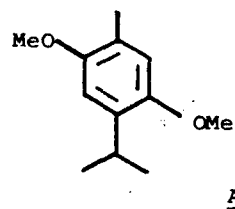
En el espectro de RMN ^1H (60MHz, CDCl_3) (fig. T-2C), observamos las siguientes señales: 6,55(1H,s) y 6,52(1H,s) de dos protones aromáticos, 3,70(6H,s) asignable a dos grupos metoxilo aromáticos, 3,20(1H,spt, $J=7\text{Hz}$, H-1') y 1,16 (6H,d, $J=7\text{Hz}$, H-2', H-3') características de un grupo isopropilo unido directamente al anillo y 2,10(3H,s) correspondiente a un metilo aromático.

De acuerdo con estos datos podemos concluir que se trata de un derivado tetrasustituído del benceno, con un metilo, dos metoxilos y un grupo isopropilo como sustituyentes.

Pada estudiar la posición relativa de los sustituyentes en el anillo, teniendo en cuenta que los dos protones



libres han de estar en posición para ($J < 1\text{Hz}$), tenemos las siguientes posibilidades:



Obtenidas las correlaciones teóricas para los desplazamientos químicos de los protones en cada caso, tenemos que descartar las fórmulas C y D por diferir mucho de los datos experimentales.

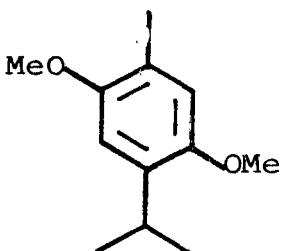
Atendiendo al desplazamiento químico del grupo metino del isopropilo y por un razonamiento similar al utilizado en la determinación del compuesto anterior T-1, podemos descartar la opción B.

Por otra parte el desplazamiento químico de los protones del grupo isopropilo en la estructura A, es prácticamente idéntico al que presenta el timol metiléter.

Tanto las constantes físicas como los datos espec-



troscópicos para este compuesto, concuerdan con los descritos en la bibliografía (62) para el timoquinol dimetiléter.



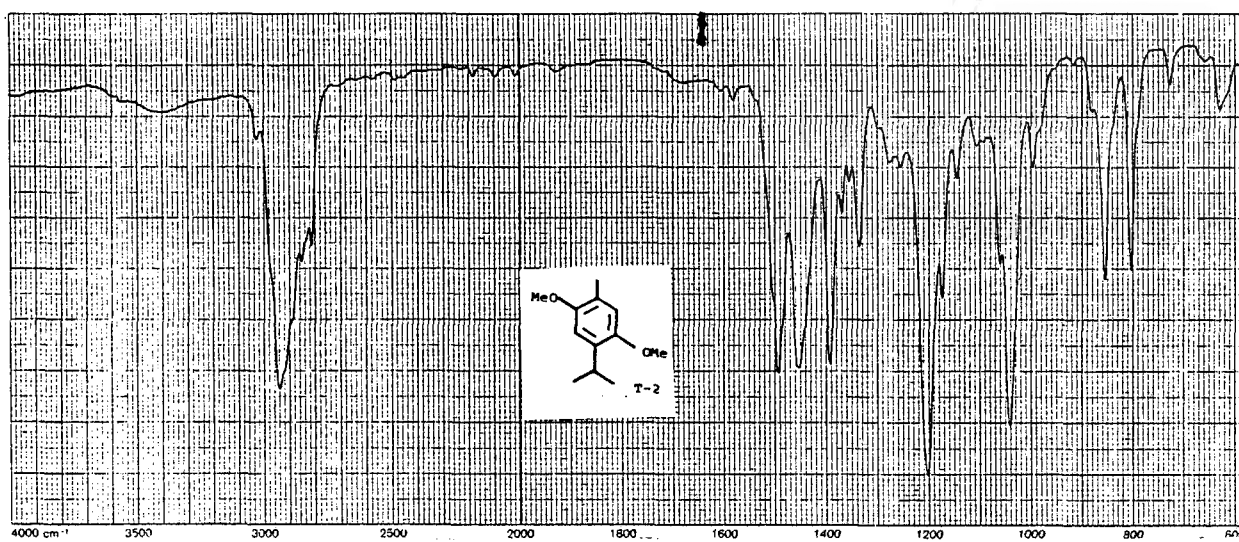


Fig. T-2b

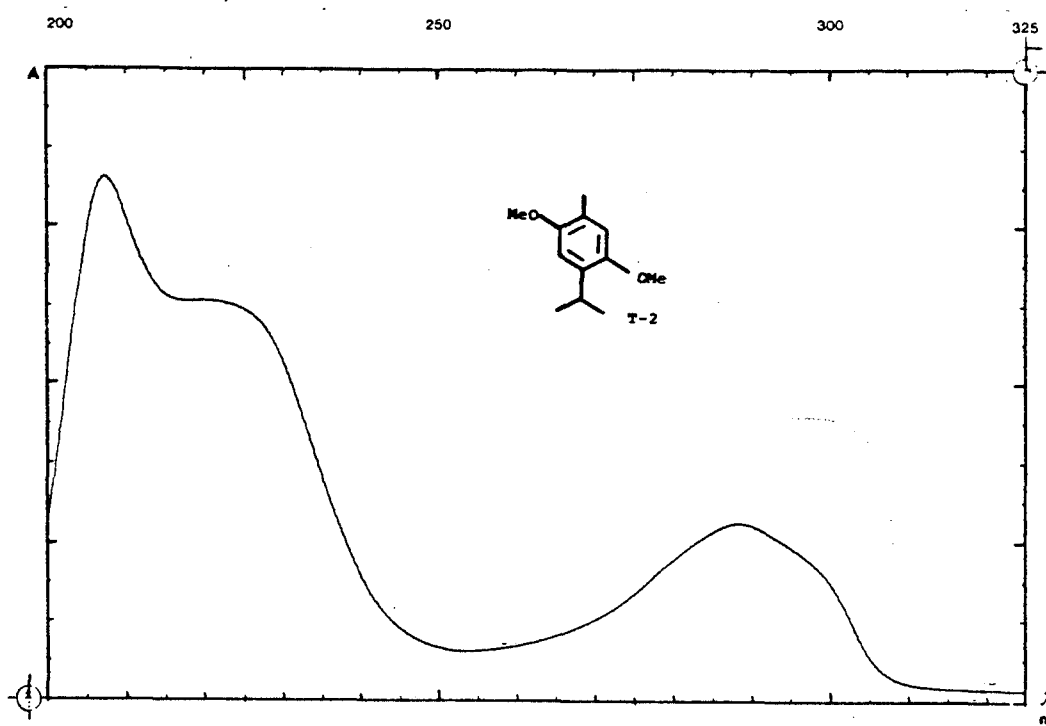


Fig. T-2a



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

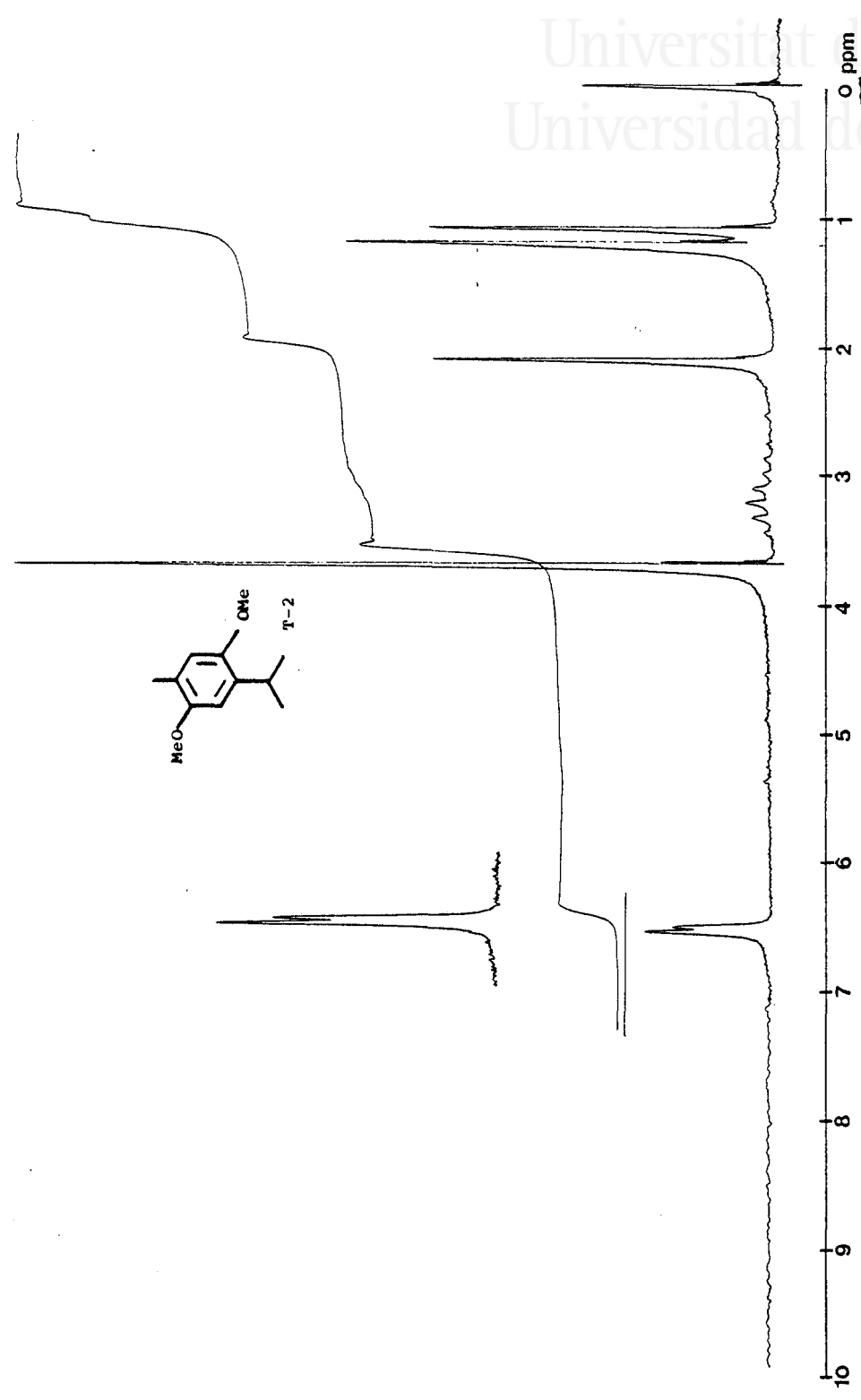
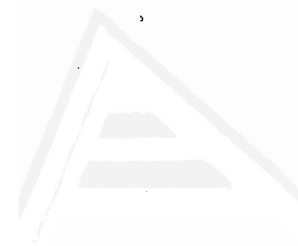


Fig. T-2c



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

T-3: 1-Alil-3,4-metilendioxi-2,5-dimetoxibenceno (Apiol)

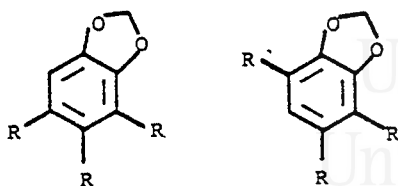
Este aceite se aisló de la fracción B19 y presenta las siguientes características espectroscópicas:

El espectro IR (fig. T-3b) presenta bandas (cm^{-1}) características de grupo metileno terminal (3.075, 1.635, 990, 910), éter aromático (1.245, 1.050), y grupo metilendioxi unido a anillo aromático (2.780, 1.185, 1.140, 1.065, 955, 925).

El espectro UV (fig. T-3a) presenta absorción de anillo aromático a $\lambda(\text{nm})$: 227,8(3,6) y 279,1(2,8).

El espectro de masas (fig. T-3d) presenta un ión molecular M^+ a m/z 222(100), que corresponde a una fórmula empírica $C_{12}H_{14}O_4$, siendo además significativos los fragmentos a m/z 207(25), 177(30), 149(40), 121(22) y 106(18).

En el espectro de RMN ^1H (60MHz, CDCl_3) (fig. T-3c) aparecen las siguientes señales: 6,30(1H,s,H-6) de un protón aromático, 5,90(2H,s) asignable a un grupo metilendioxi unido a un anillo aromático. La ausencia de otros protones aromáticos, indica que se trata de un anillo pentasustituído.

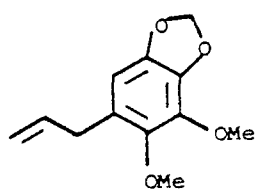


Dos de los sustituyentes corresponden a dos metilos aromáticos que absorben a 3,85(3H,s) y 3,83(3H,s), mientras que el resto de las señales corresponden a un grupo alilo

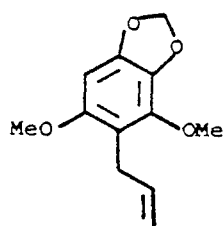
$$\begin{array}{c} \text{Hx} \quad \text{Ha} \\ \diagdown \quad / \\ \text{C}=\text{C} \\ / \quad \diagdown \\ \text{CH}_2 \quad \text{Hb} \end{array}, \quad 6,23-5,60(1\text{H},\text{m},\text{Hx}), \quad 5,23-4,80(2\text{H},\text{d} \text{ complejo}, \text{Ha},\text{Hb}), \quad 3,30(2\text{H},\text{d}(\text{a}),\text{J}=6\text{Hz})$$

asociable al metileno unido directamente al anillo aromático y acoplado con Hx con una constante de 6Hz.

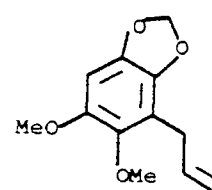
Al distribuir estos tres sustituyentes en las estructuras citadas anteriormente tenemos seis posibilidades:



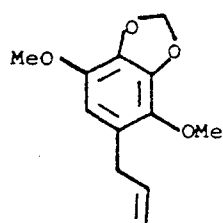
I



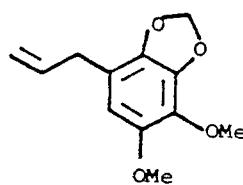
II



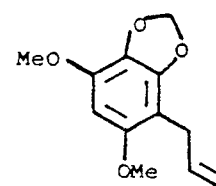
III



IV



V



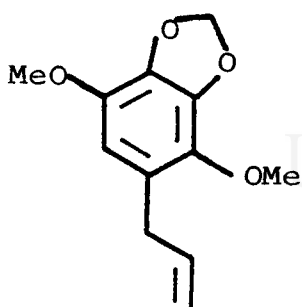
VI

Dado que los grupos metoxilo presentan un efecto apantallante fuerte en posiciones orto y para y debil en meta y teniendo en cuenta el desplazamiento químico del protón aromático, las estructuras II y VI pueden ser descartadas, ya que al tener los dos sustituyentes metoxilo en posiciones orto o para, éste debería sufrir un apantallamiento de casi 0,5 ppm con respecto al observado.

Las estructuras I y V también pueden ser eliminadas atendiendo a la posición de los grupos metoxilo. Según lo descrito en la bibliografía (28) para este caso, los dos metoxilos deberían aparecer a campos diferentes, presentando el que se encuentra entre las dos funciones oxigenadas, un fuerte desapantallamiento de unos 0,3 ppm con respecto al otro. En nuestro espectro experimental, los dos metoxilos aparecen a campos muy similares, lo que está en concordancia con las estructuras III y IV.

Para distinguir entre ellas nos basamos en que el grupo CH₂ del sustituyente alilo debe presentar en IV un pequeño acoplamiento con el protón aromático, efecto ausente en la estructura III.

Realizando una doble irradiación sobre el doblete ancho centrado a 3,29, se aprecia un afinamiento de la señal del protón aromático a 6,30 ppm, por lo que concluimos que nuestra sustancia presenta la estructura IV.



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

Tanto las constantes físicas como los datos espectroscópicos concuerdan con los descritos en la bibliografía para el compuesto conocido como apiol (63).



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

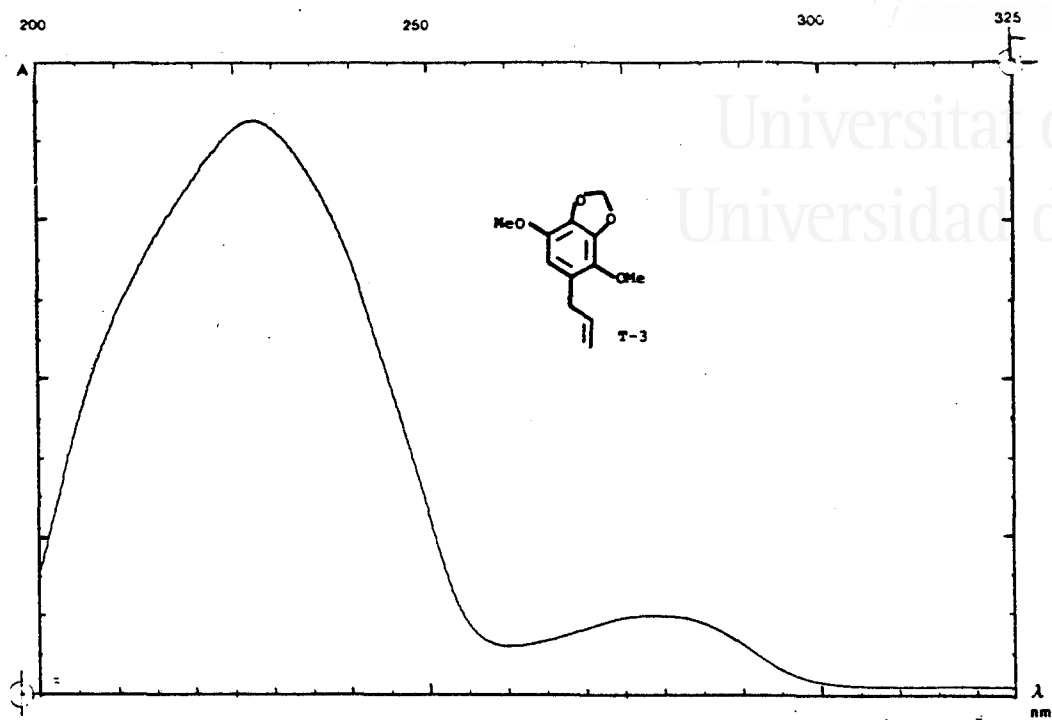


Fig. T-3a

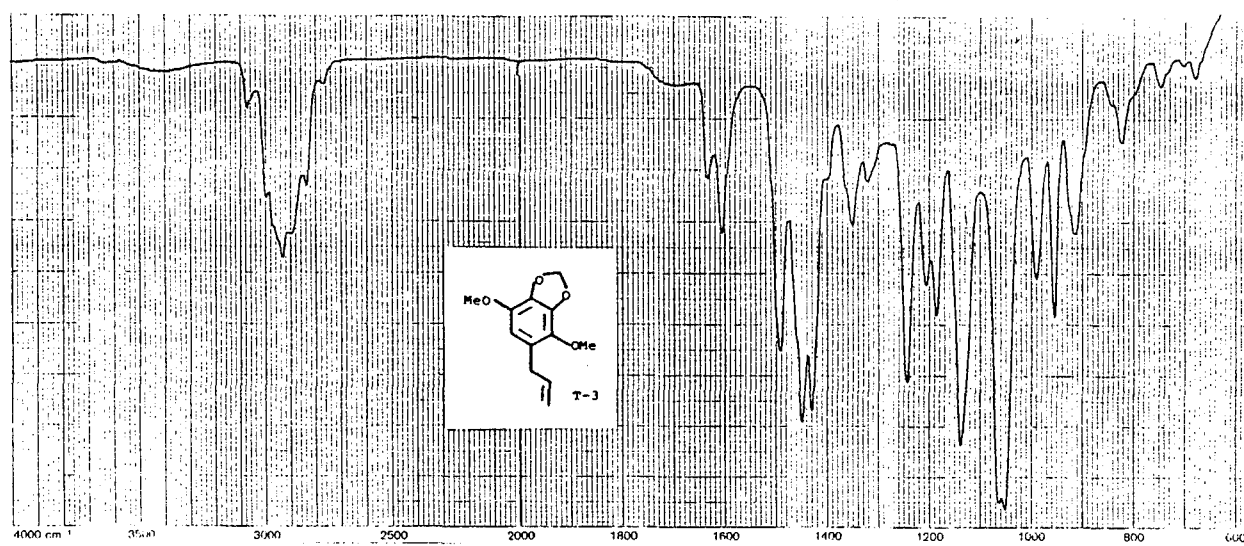


Fig. T-3b



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

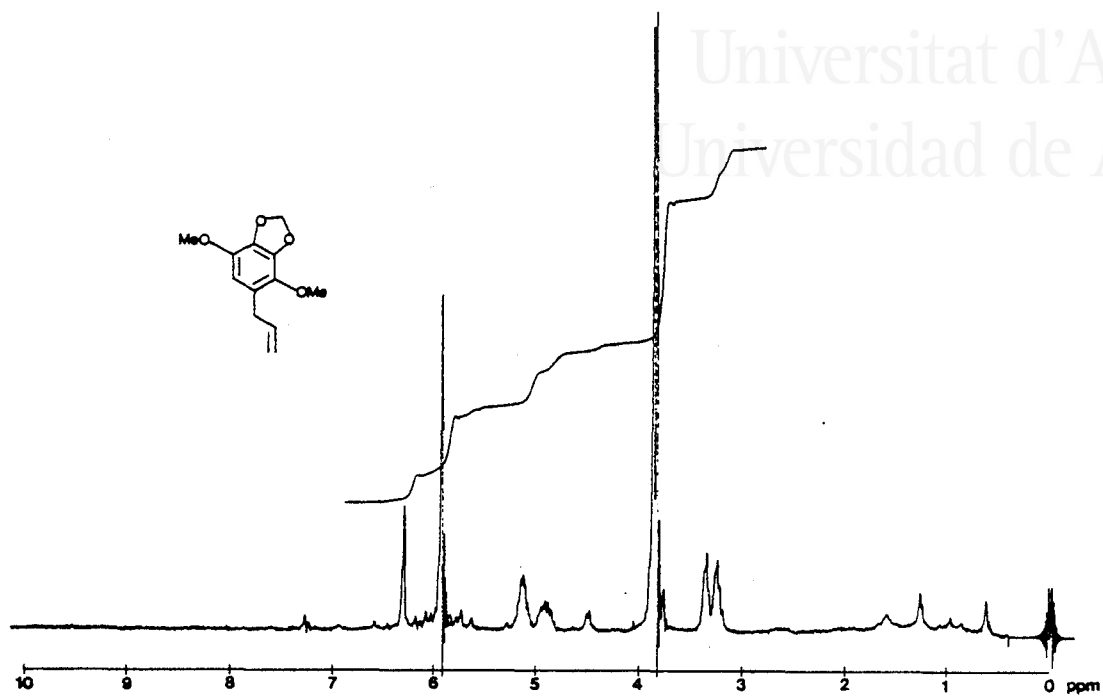


Fig. T-3c

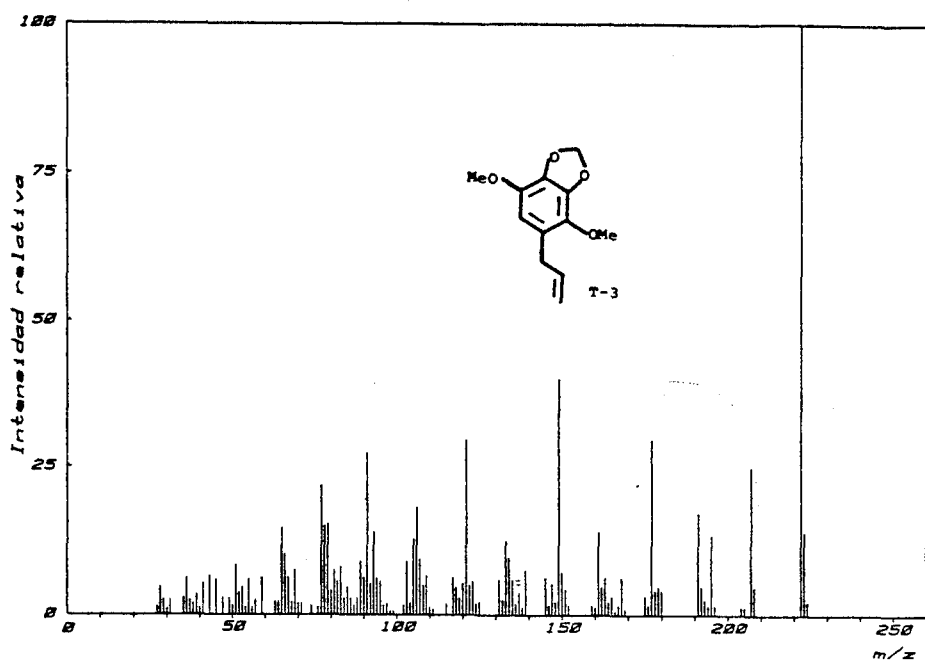


Fig. T-3d



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

ELAEOSELINUM ASCLEPIUM



EXTRACCION Y FRACCIONAMIENTO

Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

Esta especie fue recolectada en el puerto de Albaida (límite entre las provincias de Valencia y Alicante) y las raíces, objeto de este estudio, fueron extraídas con benceno en un aparato Dean Stark, eliminando el agua por destilación azeotrópica. El extracto bruto de benceno dio un peso de 75 g que representa el 4,8% del peso de raíces secas.

Dado que el extracto presentaba en espectroscopía IR, bandas características de ácidos carboxílicos, se realizó un fraccionamiento con bases (ver parte experimental).

En la CCF de la parte neutra (38%)* se revelan cinco manchas predominantes, de las cuales se aislaron las sustancias M-1, M-1', M-2, M-3, M-4 y M-5, mediante el empleo de distintas técnicas cromatográficas. Algunos de estos compuestos presentaron durante la separación procesos de transformación, dando distintos productos, entre los que se aislaron los mayoritarios M-6, A-4, M-11 y M-20.

Las sustancias M-1 y M-1' no pudieron aislarse en el primer extracto debido a que sufrieron descomposición total, por lo que se separaron de un nuevo extracto



bencénico obtenido por maceración y que representó el 2,8% del peso de raíces secas.

La parte ácida final (46%)*, presenta una mezcla compleja de ácidos de R_f similar, que debido al alargamiento característico de estos compuestos en CCF, aparecen englobados en dos manchas predominantes.

De estas dos manchas se aislaron los ácidos A-1, A-2, A-3, A-4 y A-5, comprobándose también la presencia de ácidos lineales.

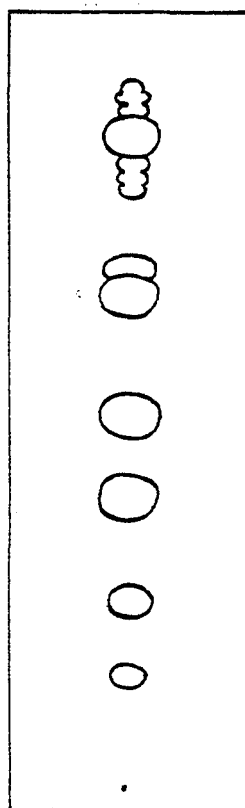
A continuación vamos a detallar el proceso de determinación estructural de las sustancias citadas, basándonos en sus datos espectroscópicos y comportamiento químico (28-34).

Se comienza el estudio por M-4, la sustancia neutra más abundante, que nos ha servido para determinar las estructuras de la mayor parte de los metabolitos aislados, estructuralmente relacionados con ella.

(*) Referido al extracto bruto de benceno.



CCF PARTE NEUTRA



Glicéridos

M-1' 0,65
M-1 0,62

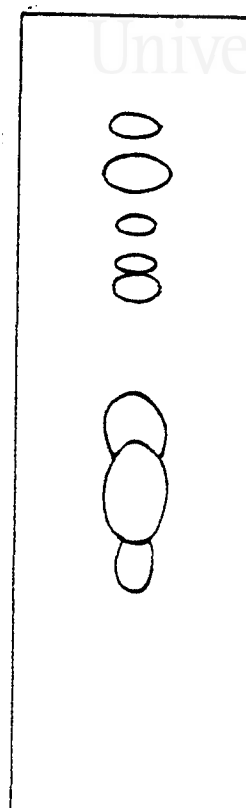
M-2 0,46
M-3 0,46

M-4 0,37

M-5 0,24

Rf

CCF PARTE ACIDA



A-1 0,50
A-2 0,46
A-3 0,43
A-4 0,38
A-5 0,34

Acidos lineales

Rf

Eluyente: hexano/AcOEt 8:2

Revelado: H₂SO₄/EtOH/vainillina

Calentamiento: 120°/5 min.

La mayoría de las sustancias citadas, presentan al revelar una coloración rojiza, excepto los compuestos A-1 y A-2 que la dan azul oscura.

Universitat d'Alacant
Universidad de AlicanteM-4: ent-14 β -Tigloiloxi-15-beyeren-19-ol

Este compuesto se aisló por cristalización en hexano de las fracciones A25 - A32 de la cromatografía inicial en columna seca. Se purificó por recristalización en el mismo disolvente, obteniéndose un sólido de Pf. 142-143° y $[\alpha]_D +45,4^\circ$.

El espectro IR (fig. M-4b), presenta absorciones características de los siguientes grupos (cm^{-1}): Hidroxilo (3.560, 3.480(a), 1.070, 1.030), =C-H (3.050), éster conjugado (1.690, 1.260), doble enlace disustituído en cis (1.640, 735) y doble enlace trisustituído (780).

El espectro UV (fig. M-4a), presenta un máximo a 213,5 nm, correspondiente a una absorción n- π^* de un grupo éster probablemente conjugado.

El espectro de masas (fig. M-4f), presenta un ión molecular M^+ a m/z 386, que corresponde a una fórmula molecular $C_{25}H_{38}O_3$.

En el espectro de RMN 1H (60MHz, $CDCl_3$) (fig. M-4c), se observan las siguientes señales a δ (ppm): 6,80(1H, c(a), J=6Hz, H-3'), 1,77(3H, d(a), J=6Hz, H-4'), 1,80(3H, s(a), H-5'), señales características de un grupo tigolato. A 5,63 (1H, d(a), J=6Hz, H-16) y 5,40(1H, d(a), J=6Hz, H-15) resuenan

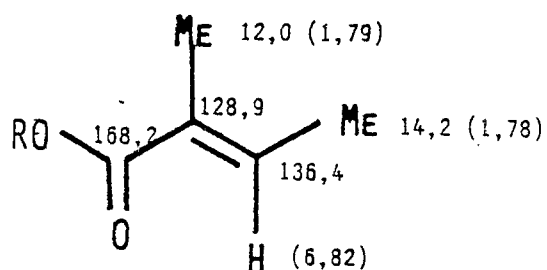
dos protones sobre doble enlace cis disustituído; a 4,50 (1H,s(a),H-14) protón geminal a grupo éster; a 3,75(1H,d, J=10,5Hz,Ha-19) y 3,37(1H,d,J=10,5Hz,Hb-19) aparecen los protones de un grupo -CH₂OH. Finalmente con desplazamientos químicos de 0,93(6H,s,H-18,H-17) y 0,73(3H,s,H-20), tenemos tres metilos sobre carbono cuaternario.

El espectro de RMN ¹³C (fig. M-4f) realizado con desacoplamiento protónico y de los registros DEPT se deduce la presencia de los siguientes carbonos:

=CR ₂	=CHR	R ₄ C	R ₃ CH	R ₂ CH ₂	RCH ₃
168,2	136,4	53,2	94,4	65,4	27,0
128,9	133,5	48,3	56,1	39,4	19,2
	132,4	38,4	52,9	35,6	16,0
		37,3		32,6	14,2
				31,6	12,0
				19,7	
				19,4	
				18,3	

De los datos espectroscópicos anteriores se deduce en primer lugar, que el compuesto M-4 se trata de un diterpeno esterificado con ácido tíglico y así lo confirman

los fragmentos de masas a m/z 303[M-Tg1]⁺, 286[M-Tg1OH]⁺, 83[Tg1]⁺(100), 55[Tg1-CO]⁺, y datos de RMN indicados a continuación:

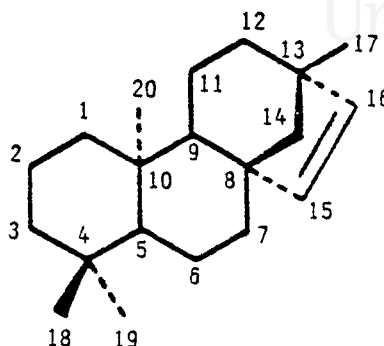


La naturaleza de la sustancia M-4 se confirmó por hidrólisis con KOH/MeOH 5%, obteniéndose una mezcla del alcohol M-14 y ácido tíglico (fig. M-14e y M-14f). Las propiedades físicas y datos espectroscópicos de este último concuerdan con los descritos en la bibliografía (35).

Una vez identificado el ácido que estaba esterificando M-4, al resto molecular (M-14) le corresponde una fórmula $C_{20}H_{32}O_2$, por lo que de acuerdo con los datos espectroscópicos, M-4 debe tratarse de un diterpeno tetracíclico con un doble enlace cis disustituído.

Entre los diterpenos tetracíclicos frecuentes (kaurano, atisano, filocladano y beyerano), solamente puede acomodarse un doble enlace cis disustituído, en que los protones vinílicos no presentan acoplamiento con

protones vecinos, en un esqueleto beyerano, entre los carbonos C-15 y C-16.



La posición en que se encuentran localizadas las dos funciones oxigenadas, se puede deducir a partir del espectro de RMN ^1H . La señal de los protones del grupo hidroxilo primario, aparece como un sistema AB debido a que ambos son diastereotópicos, absorbiendo a campos diferentes, lo cual indica que el giro a lo largo del enlace C-CH₂OH está restringido. Tanto la separación de los dos dobletes AB ($\delta_A - \delta_B = 18,8\text{Hz}$) como su desplazamiento químico, son característicos de un grupo -CH₂OH axial (64). Esta asignación es aún más apreciable en el acetato M-13.

De los dos metilos axiales que presenta un compuesto con esqueleto beyerano, el Me-20 se encuentra más apantallado que el Me-19, por efecto del doble enlace Δ^{15} . En M-4 se observa un metilo más apantallado que los demás a 0,74(3H,s) asignable a Me-20, por lo que el alcohol

primario deberá estar situado en C-19. Por otra parte la hidroxilación de este carbono es bastante frecuente en los diterpenos.

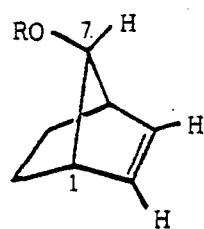
El protón geminal al tigolato aparece como un singlete ancho, lo cual parece indicar que no presenta acoplamiento en α , por lo que en principio podemos pensar que el grupo éster se encuentra situado en C-14. Esta posición se confirmó al comprobar mediante experimentos de doble irradiación en el espectro de RMN ^1H (fig. M-4c); que el protón H-14 se encontraba acoplado con los protones del doble enlace.

En el espectro de RMN ^1H (200MHz, CDCl_3) se aprecia que las señales de los protones vinílicos y de H-14, están formando un sistema ABX con acoplamiento $J_{\text{AX}}=0,9\text{Hz}$ y $J_{\text{BX}}=1,3\text{Hz}$. La única posición para el protón geminal al tigolato que explica estos acoplamientos es la C-14.

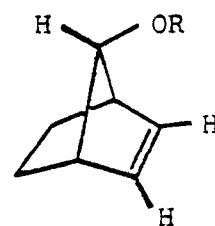
Para el sustituyente tigloiloxilo son posibles dos configuraciones relativas, sin o anti respecto al doble enlace. El acoplamiento de H-14 con los protones vinílicos es relativamente intenso, lo que hace suponer que los enlaces que conectan H-14 con H-15 y H-16 se encuentran en zig-zag (32).

Se han estudiado los acoplamientos entre los protones vinílicos y los del puente, de varios derivados de

norborneno (65), habiéndose encontrado que el acoplamiento entre los protones vinílicos y el H-7 anti tiene un valor aproximado de 0,8Hz, no siendo observable el acoplamiento con H-7 sin. El acoplamiento observado en el primer caso se ha atribuido a la posibilidad de solapamiento entre el orbital π del doble enlace y el lóbulo posterior del orbital sp^3 del H-7 anti (66).

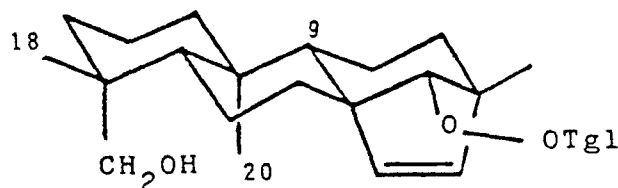


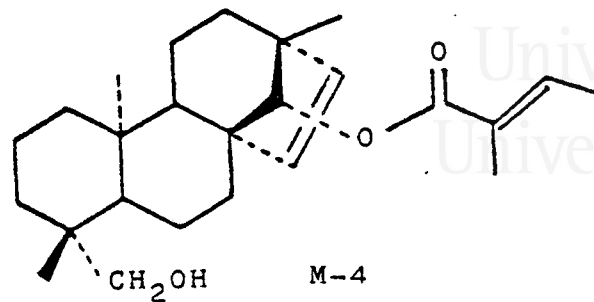
$$J_{7,2} \approx 0 \text{ Hz}$$



$$J_{7,2} \approx 0,8 \text{ Hz}$$

Se concluye a partir de las constantes de acoplamiento observadas en nuestro compuesto natural, que el grupo tigloiloxilo debe presentar configuración sin respecto al doble enlace.

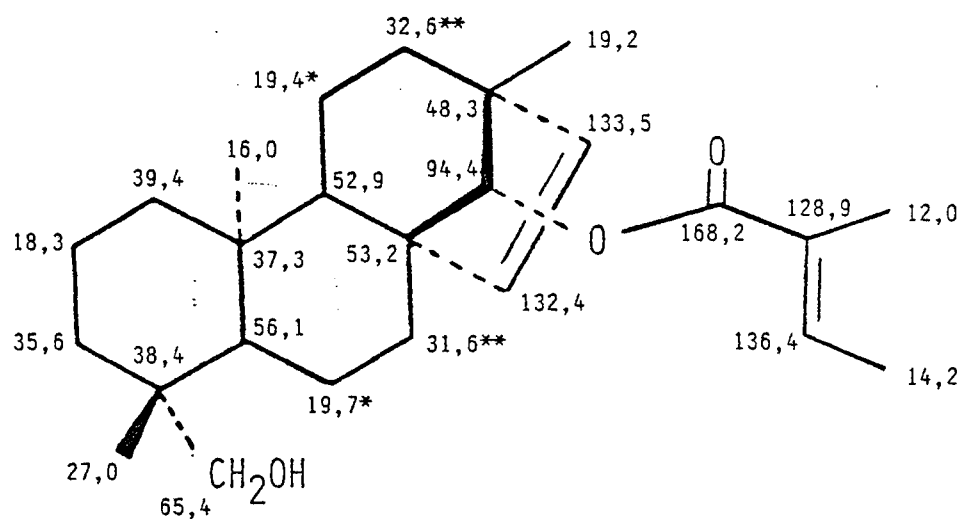




ent-14 β -tigloiloxi-15-beyeren-19-ol.

(8 β , 13 β , 14 α)-13-metil-14-[(2-metil-1-oxo-2E-butenil)oxi]-17-norkaur-15-en-19-ol.

Esta estructura concuerda con las señales de los espectros de RMN ^{13}C (fig. M-4c). Se representan a continuación las asignaciones para el espectro de RMN ^{13}C de M-4, deducidas por comparación de otros diterpenos tomados como referencia.



En la columna A de la tabla V se indican los desplazamientos de los carbonos del beyereno (41) que se tomaron como base para el cálculo de los desplazamientos químicos esperados para M-4.

En la columna B, se indican los incrementos calculados al introducir un grupo hidroxilo en el C-19. Estos incrementos se obtuvieron por diferencia entre los desplazamientos descritos para el compuesto ent-16-kaureno y ent-16-kauren-19-ol (42,67). Como suma de las dos primeras series de datos, se han calculado los desplazamientos químicos esperados para los carbonos representados en la columna C. Estos valores están en concordancia con los experimentales de M-4 (columna D).

La presencia de un grupo acilo en C-14, debe influir de manera significativa en los desplazamientos de los carbonos próximos, pero no disponemos de un modelo adecuado para determinar de forma cuantitativa las influencias. Basándonos en las configuraciones y ángulos diedros de los carbonos próximos al sustituyente tigloiloxilo (columna F), trataremos de explicar los incrementos en el desplazamiento químico (columna E), que presentan los carbonos de M-4 (columna C) con respecto a la estructura del beyereno (columna A).

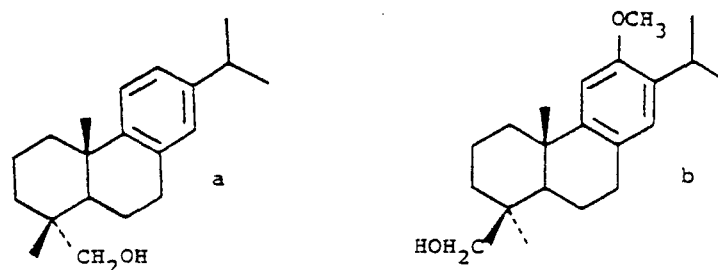


TABLA V

Carbono	A	B	C	D	E	F
1	39,3		39,3	39,4		
2	18,7	-0,4	18,3	18,3		
3	42,2	-6,5	35,7	35,6		
4	33,3	5,4	38,7	38,4		
5	56,1	0,5	56,6	56,1		
6	20,3*	0,2	20,5	19,7*		
7	37,4		37,4	31,6**	-5,8	γ (30°)
8	49,1		49,1	53,2	4,1	β
9	53,0		53,0	52,9	-0,1	γ (160°)
10	37,4	-0,2	37,2	37,3		
11	20,5*		20,5	19,4*		
12	33,7		33,7	32,6**	-1,1	γ (160°)
13	43,6		43,6	48,3	4,7	β
14	61,3		61,3	94,4	33,1	α
15	135,2		135,2	132,4	-2,8	γ (90°)
16	136,1		136,1	133,5	-2,6	γ (90°)
17	25,0		25,0	19,2	-5,8	γ (30°)
18	33,8	-6,6	27,2	27,0		
19	22,0	43,7	65,7	65,4		
20	15,1	0,8	15,9	16,0		
1'				168,2		
2'				128,9		
3'				136,4		
4'				14,2		
5'				12,0		

(*,**) Asignaciones intercambiables.

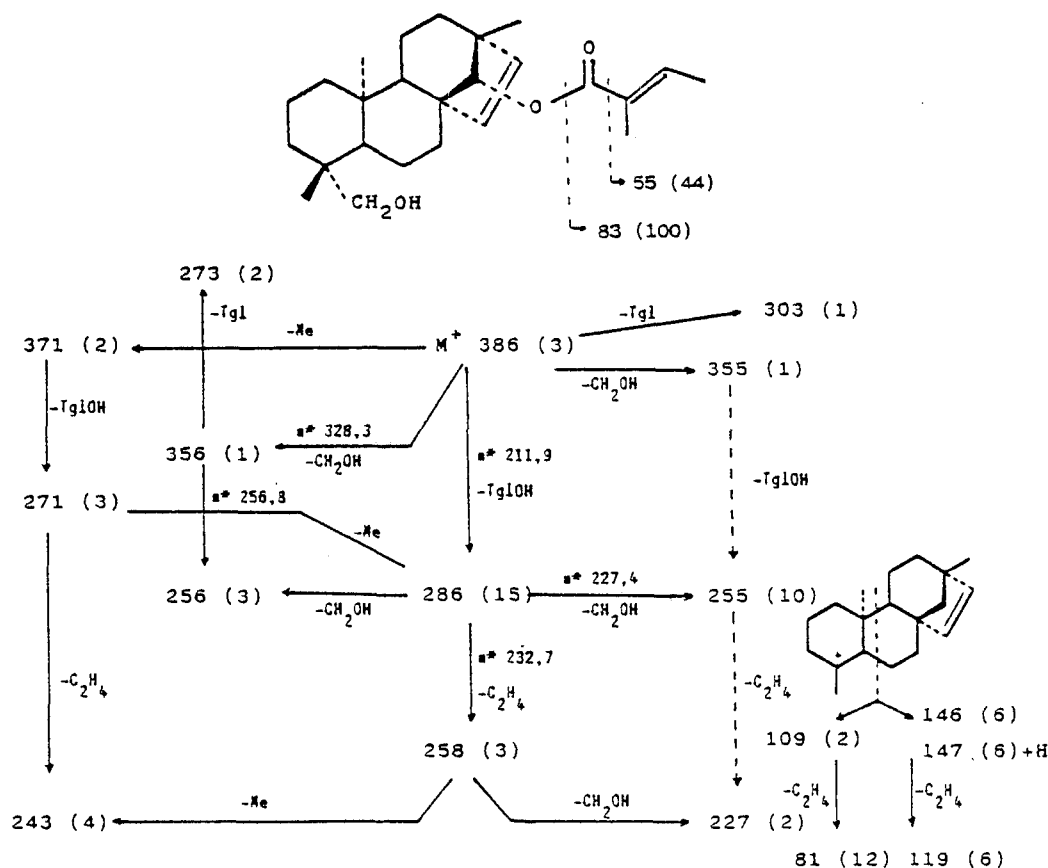
La configuración axial del grupo hidroximetileno primario, se confirma también por los valores de los desplazamientos de los carbonos C-5, C-18 y C-19. Por ejemplo, tomando como referencias los datos de RMN ^{13}C de los compuestos, deshidroabienol ($-\text{CH}_2\text{OH}$ ecuatorial, a) y el 12-metoxi-8,11,13-abieta-trien-19-ol ($-\text{CH}_2\text{OH}$ axial, b) (40), se observa que el C-5 y el metilo geminal al hidroxilo están más apantallados en el caso del alcohol ecuatorial, mientras que para el carbono hidroxilado el apantallamiento es menor en posición axial.



Carbono	M-4	a	b
C-5	56,1	44,0	51,4
C-18	27,0	72,2	26,8
C-19	65,4	17,4	65,4

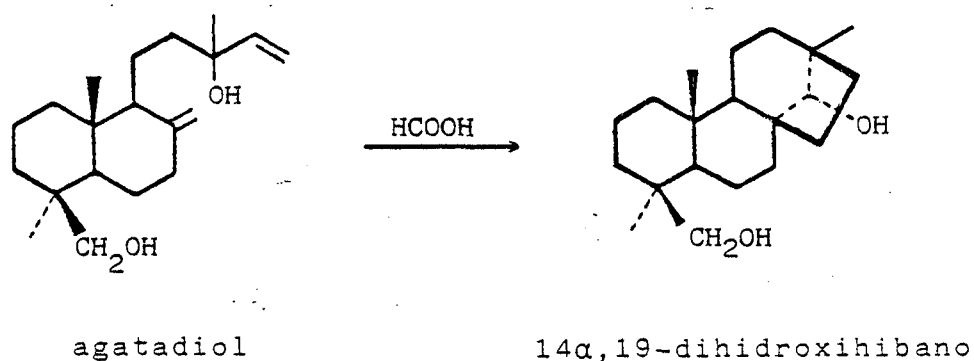
Como puede observarse en la tabla anterior, los desplazamientos de M-4 concuerdan con los del isómero axial.

En el siguiente esquema se indican los fragmentos más significativos en el espectro de masas, que concuerdan con la estructura propuesta.



Consultada la bibliografía, no se ha encontrado ninguna sustancia con la estructura propuesta para M-4, y aunque es muy probable, por razones biogénicas, que se trate de un derivado de la serie "enantio", es necesario confirmarlo. Para determinar la configuración absoluta de

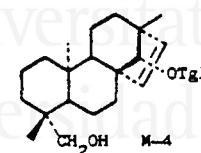
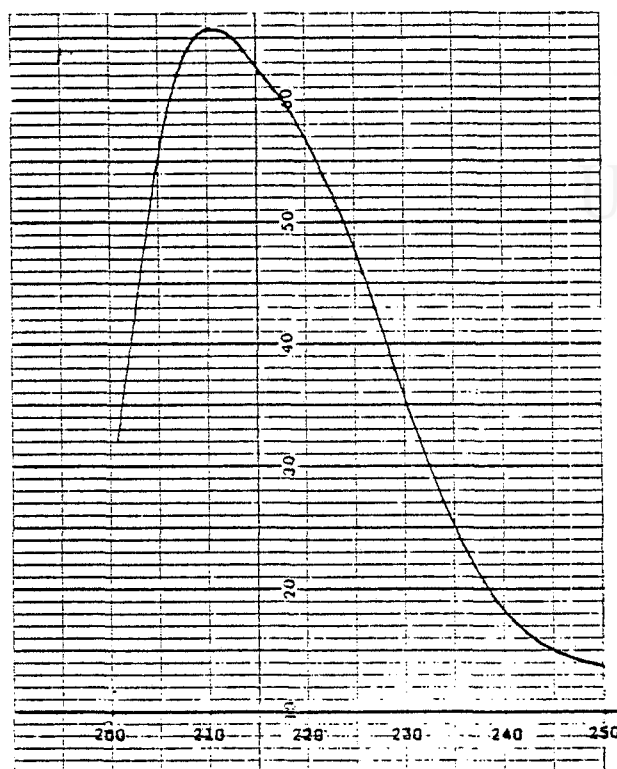
M-4 y confirmar por vía química la estructura propuesta, se han llevado a cabo las transformaciones indicadas en el esquema de la pag. 174, que conducen a la síntesis de M-10, sustancia con la misma constitución pero imagen especular de la sintetizada por Edwards y Rosich (68), a partir de agatadiol.



La configuración asignada para el hidroxilo en C-14 en el producto de ciclación del agatadiol, fue propuesta por los autores como consecuencia del comportamiento químico. La cetona procedente de la oxidación del hidroxilo en C-14, fue sometida a reducción en distintas condiciones obteniéndose en todos los casos un único alcohol que coincide con el producto de partida. Este comportamiento lo atribuyen a que se forma el producto de reducción más estable y sugieren que debe tratarse del epímero 14 α en anti con respecto a los carbonos C-15 y C-16.



Universitat d'Alacant
 Universidad de Alicante



NM / MIN 50.
 RSPHSE SECS 1.0

ABSORBANCE

WAVELENGTH SCAN
 START WAVE 250.0
 END WAVE 200.0
 CHRT NM/DIV 1.0
 ZERO OFFSET .000
 CHART SPAN 2.00
 FULL SCALE 2.000
 ENTER WAVELENGTH
 210.0 NM .704 A

Fig. M-4a

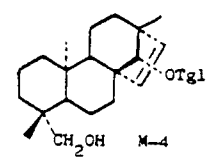
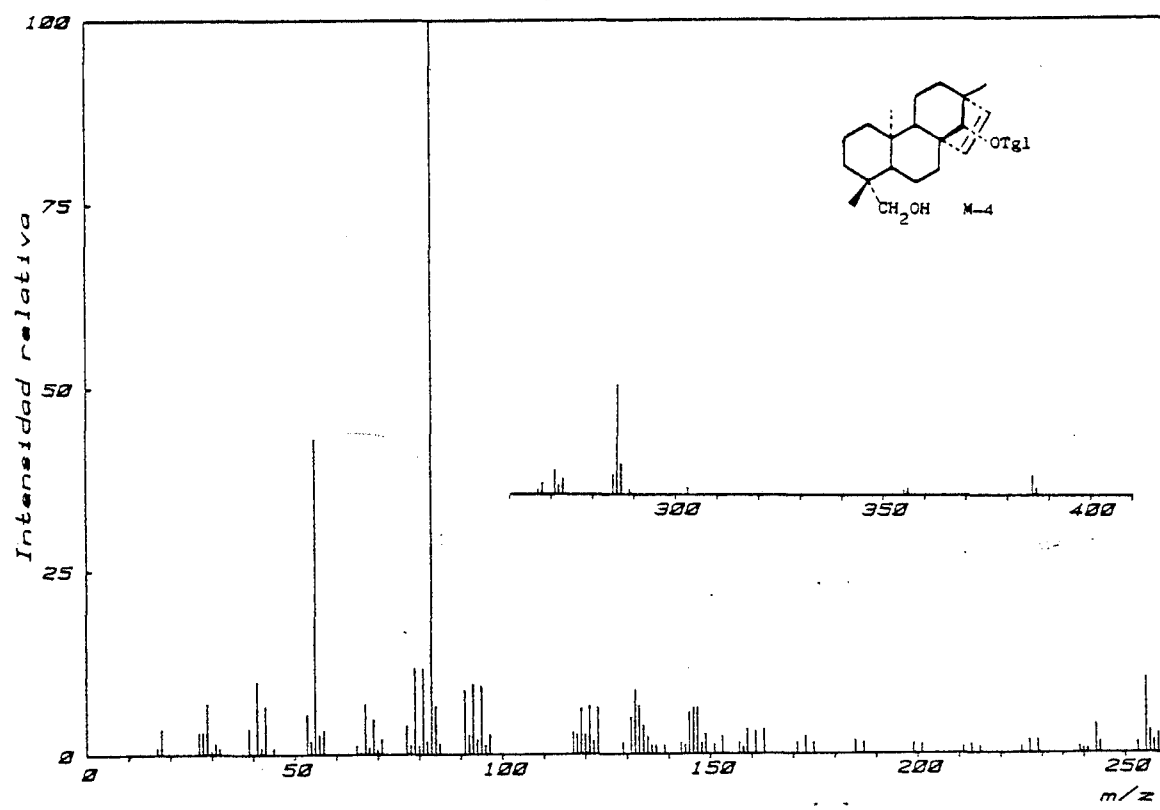


Fig. M-4f

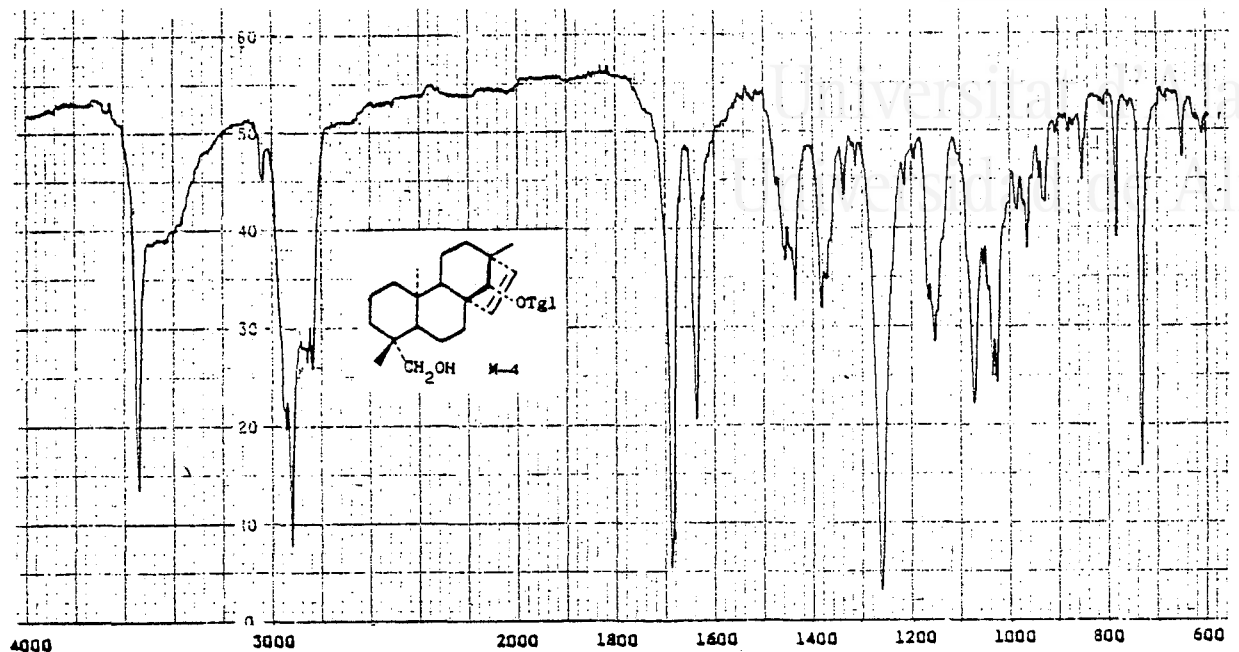


Fig. M-4b

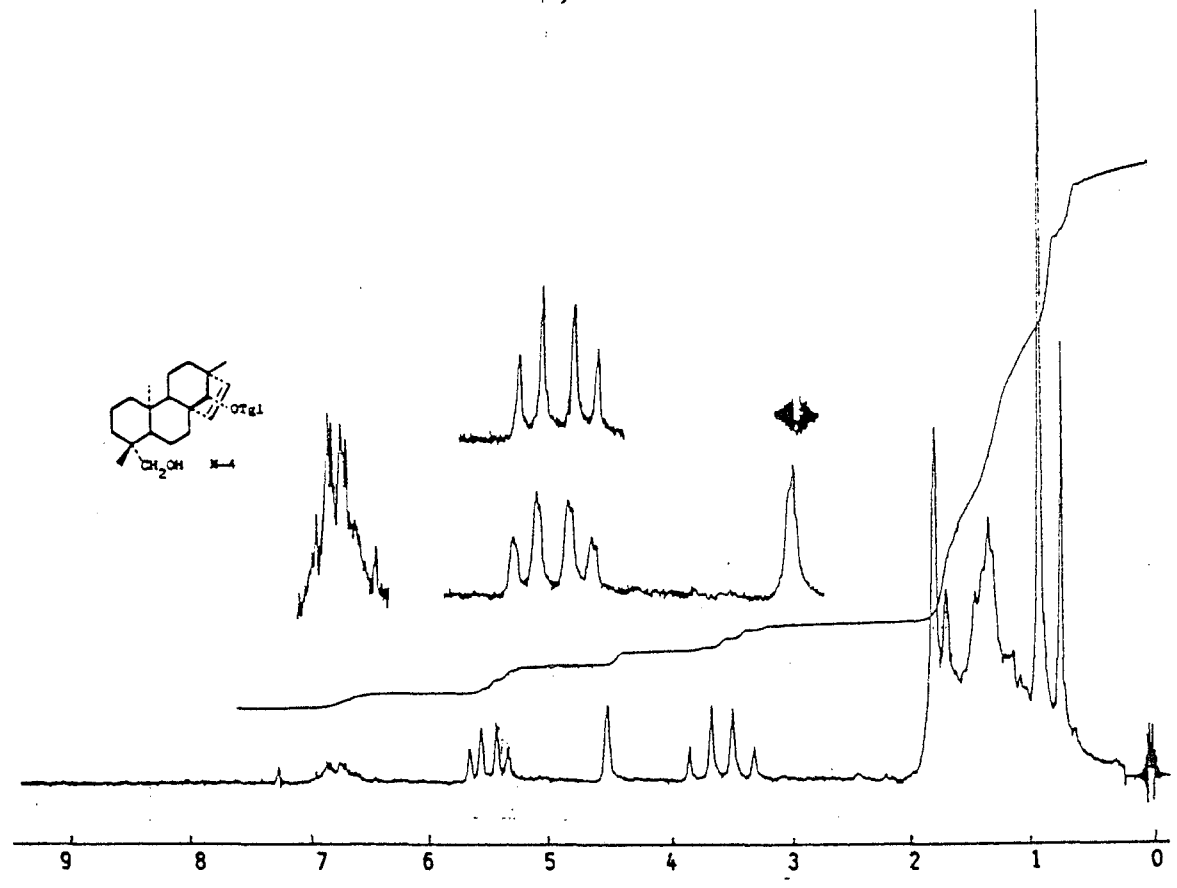


Fig. M-4c



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

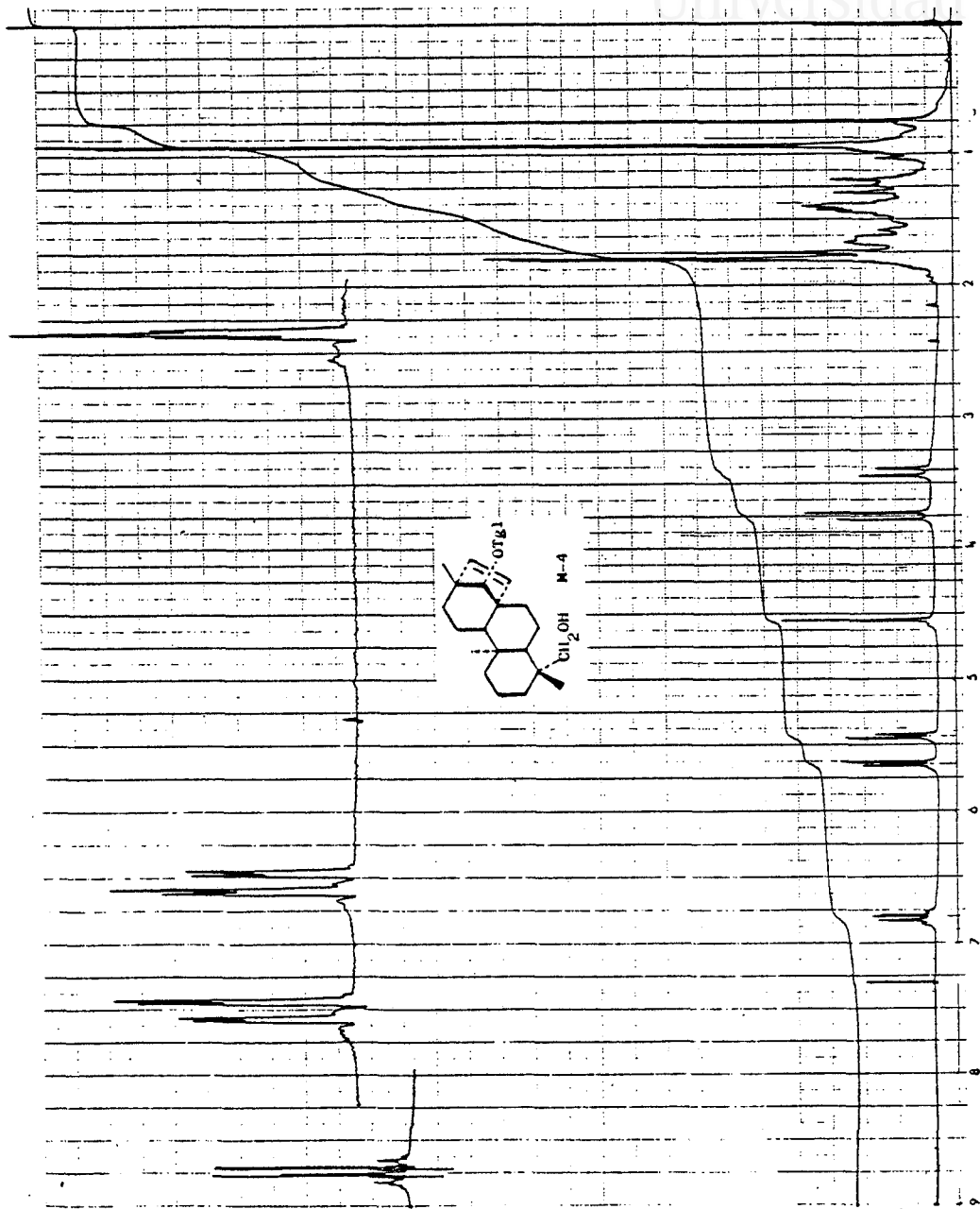


Fig. M-4d.

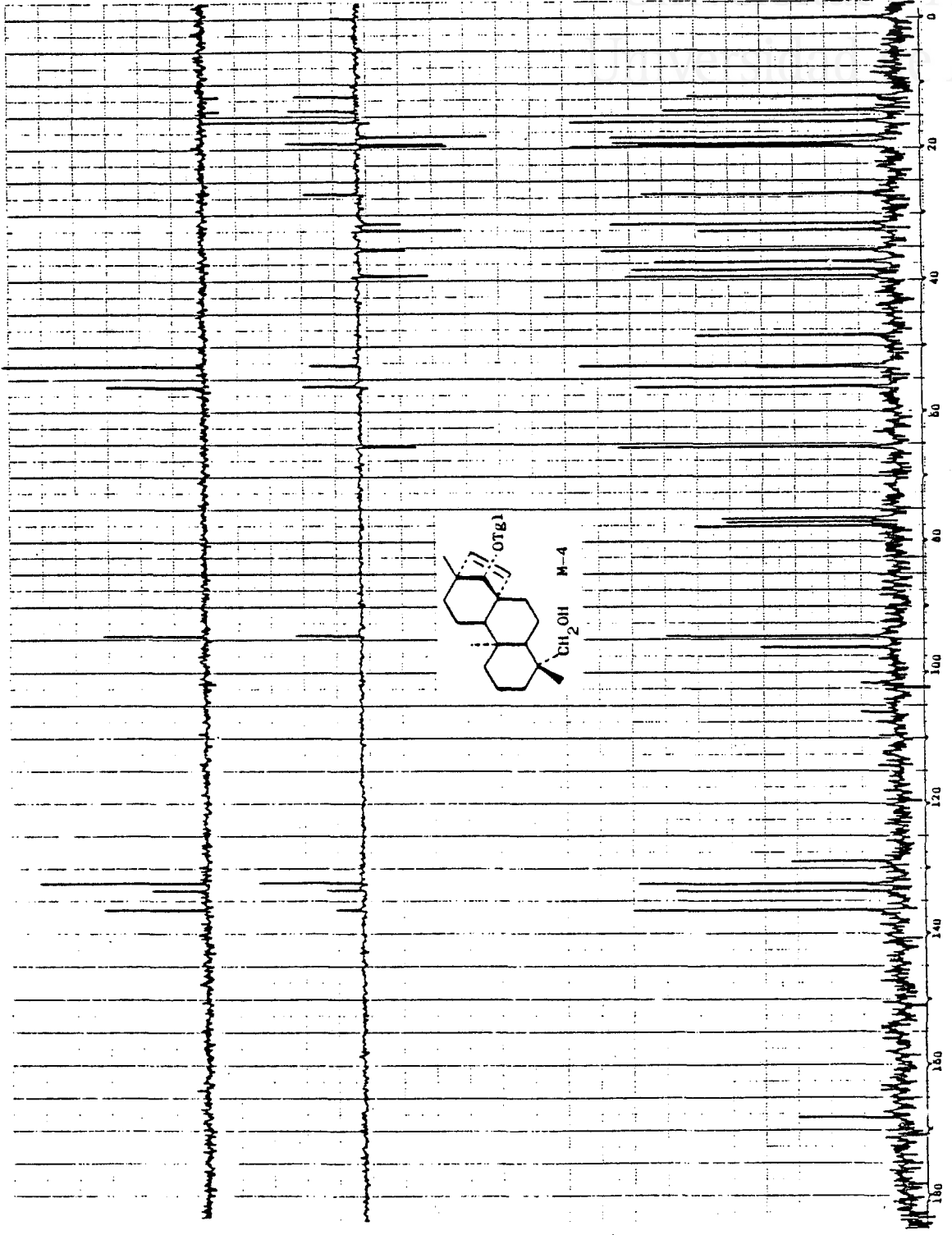
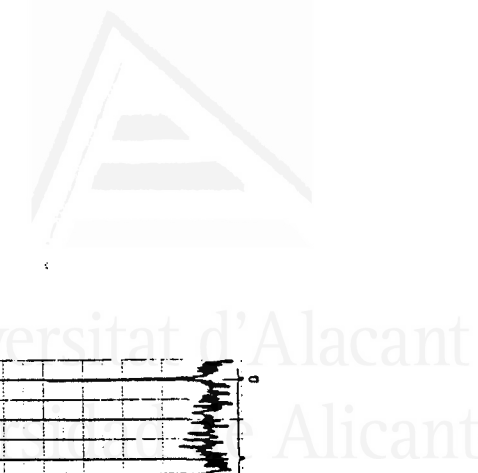


Fig. M-4c



AISLAMIENTO DE M-1, M-1' Y PRODUCTOS DE TRANSFORMACION

Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

La fracción A5 - A7 de la cromatografía inicial, recientemente aislada, se revela en CCF como una sustancia mayoritaria M-1, la cual no se logró cristalizar. En el intento de aislamiento mediante cromatografía en columna de M-1, ésta se descomponía en contacto con la sílice dando dos sustancias, una con el mismo Rf (M-6) y otra de mayor polaridad A-4. Estas dos sustancias se aislaron mediante cromatografía en columna sobre silicagel.

A-4: Acido ent-14 β -tigloiloxi-15-beyeren-19-oico

La sustancia A-4 se aisló en forma de aceite y presenta $[\alpha]_D -8,4^\circ$.

En el espectro IR (fig. A-4a), se aprecia una banda ancha (3.400-2.400) característica de un ácido carboxílico asociado. Se observa además una absorción (1.685) asignable al grupo carbonilo de un grupo éster conjugado o de un ácido carboxílico. También se observan bandas de C=C (1.640) y de vibración de tensión C-O (1.260).

El espectro de RMN 1H (60MHz, $CDCl_3$) (fig. A-4b),

presenta un aspecto similar al de M-4, pudiendo observarse las señales características de un grupo tigloiloxilo a 6,84(1H,c(a),J=6Hz,H-3'), 1,83(3H,s(a),H-5') y 1,77(3H,d(a),J=6Hz,H-4'). Sistema AB de dos protones olefínicos sobre doble enlace cis disustituído, 5,73(1H,d(a),J=6Hz,H-16) y 5,43(1H,d(a),J=6Hz,H-15). Protón geminal al grupo tigolato, 4,54(1H,s(a),H-14), acoplado como se comprueba por doble irradiación, con los protones del doble enlace. Finalmente aparecen señales de tres metilos sobre carbono cuaternario a 1,22(3H,s,H-18), 0,95(3H,s,H-17) y 0,72(3H,s,H-20). Como puede comprobarse, los desplazamientos de los metilos son similares a los del compuesto M-4, excepto para el de C-18 que se encuentra desapantallado.

Las señales del alcohol primario de M-4 no se observan, apareciendo en cambio una señal ancha a 9,40(1H,s(a),COOH). Todo esto nos hizo pensar que se trataba del ácido carboxílico correspondiente a M-4.

La posición axial del grupo COOH en A-4, se confirmó por medio del espectro IR de su éster metílico A-8 (fig. A-8a), en donde se aprecia una banda intensa a 1.150 cm^{-1} , acompañada de dos absorciones de menor intensidad a 1.230 y 1.190, características de un grupo COOCH₃ axial (70).

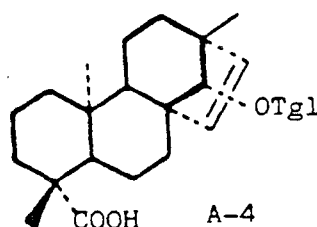
Las asignaciones de los carbonos en RMN ¹³C (fig.

A-4d), se realizaron mediante comparación con datos de otros compuestos similares.

A la columna A de la tabla VI, que representa las asignaciones de RMN ^{13}C para el compuesto ent-15-beyereno, se le sumaron los incrementos de desplazamiento químico calculados para un grupo ácido axial en C-19 (columna B) y para un grupo tigloiloxilo, ent-14 β (columna C).

Los datos de la columna B, se obtuvieron por diferencia entre los valores de δ para los carbonos de los compuestos ent-16-kaureno y ent-16-kauren-19-oico (42). Los datos de la columna A, resultaron de calcular las diferencias entre los distintos desplazamientos de los carbonos de las sustancias M-3 y M-4.

Los desplazamientos químicos calculados para el compuesto A-4*, concuerdan bastante bien con los experimentales, teniendo en cuenta que estos últimos están medidos en un espectro realizado en disolución de acetona.



(*) Los datos de las columnas A y B están calculados a partir de espectros realizados en $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ y CDCl_3 respectivamente.



TABLA VI

Carbono	A	B	C	D	E
1	39,3	0,6	0,1	40,0	40,4
2	18,7	0,9	0,0	19,6	20,0
3	42,2	-3,6	0,0	38,6	38,6
4	33,3	10,5	-0,1	43,7	44,0
5	56,1	0,9	-0,8	56,2	56,9
6	20,3*	2,1	-0,7	21,7	21,5
7	37,4	0,2	-6,1	31,5	32,3
8	49,1	0,1	4,1	53,5	54,0
9	53,0	-0,9	-0,1	43,0	53,0
10	37,4	0,4	0,0	37,8	38,8
11	20,5*	0,3	-0,8	20,0	20,5
12	33,7	-0,2	-0,6	32,9	33,1
13	43,6	-0,1	4,6	48,1	48,9
14	61,3	-0,1	33,2	94,5	94,9
15	135,2	-0,2	-2,7	132,3	132,9
16	136,1	-0,1	-3,0	133,8	134,1
17	25,0	0,1	-5,7	19,4	19,6
18	33,8	4,4	0,0	38,2	29,4
19	22,0	155,8	-0,2	177,6	179,1
20	15,1	-1,7	-0,2	13,6	14,6
1'					168,1
2'					129,6
3'					136,9
4'					14,2
5'					12,2

(*) Asignaciones intercambiables.

El ácido A-4, se aisló también como producto natural en la parte ácida del extracto (ver aislamiento parte ácida).

Éster metílico A-8

Por tratamiento de A-4 con disolución saturada de CH_2N_2 en éter, se obtuvo el éster metílico A-8 en forma de aceite.

En el espectro IR (fig. A-8a), cabe destacar la desaparición de la banda ancha del ácido carboxílico y el desdoblamiento de las bandas de carbonilo del éster metílico y del éster conjugado (1.720, 1.700). También se aprecian absorciones correspondientes a vibración de tensión C-O (1.230, 1.190, 1.150) características de COOCH_3 axial (70).

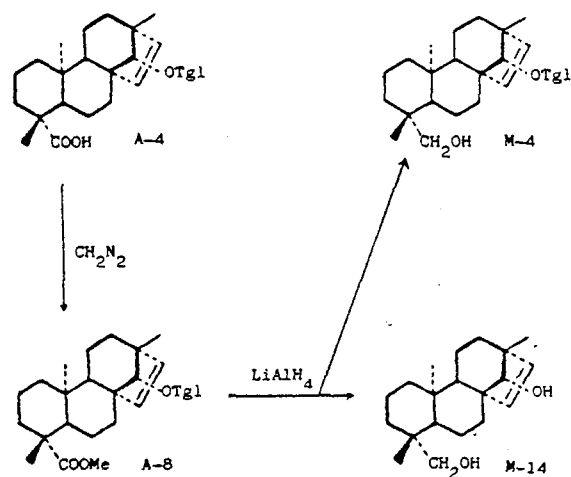
El espectro de RMN ^1H (60MHz) (fig. A-8b), es prácticamente igual al del ácido original, apareciendo la señal del grupo metoxicarbonilo a 3,63 (3H,s,COOMe), a la vez que se observa un apantallamiento de los metilos en C-18 y C-20, [1,16(3H,s,H-18) y 0,58(3H,s,H-20)].

El espectro de masas (fig. A-8e), presenta un ión molecular a m/z 414, correspondiente a la fórmula empírica $\text{C}_{26}\text{H}_{38}\text{O}_4$. Destacan los fragmentos a 314 $[\text{M-Tg1OH}]^+$ y

255[314-COOME]⁺. Los picos más intensos corresponden a 83[Tg1]⁺(100) y 55[Tg1-CO]⁺, que son fragmentos típicos del ácido tíglico.

Las asignaciones en el espectro de RMN ¹³C (fig. A-8d), que se dan en la parte experimental, están calculadas por comparación con los datos de RMN ¹³C de A-4.

Por reducción del éster metílico A-8 con LiAlH₄, se formaron dos sustancias más polares, de las cuales la de menor R_f era la predominante. Los datos espectroscópicos del producto de reacción revelaron que se trataba de las sustancias M-4 y su diol M-14. Estos compuestos se separaron por cromatografía en capa fina preparativa, comprobándose que los datos espectroscópicos y constantes físicas coincidían con las de las sustancias mencionadas, ya descritas anteriormente. De esta forma se correlacionó A-4 con M-4.



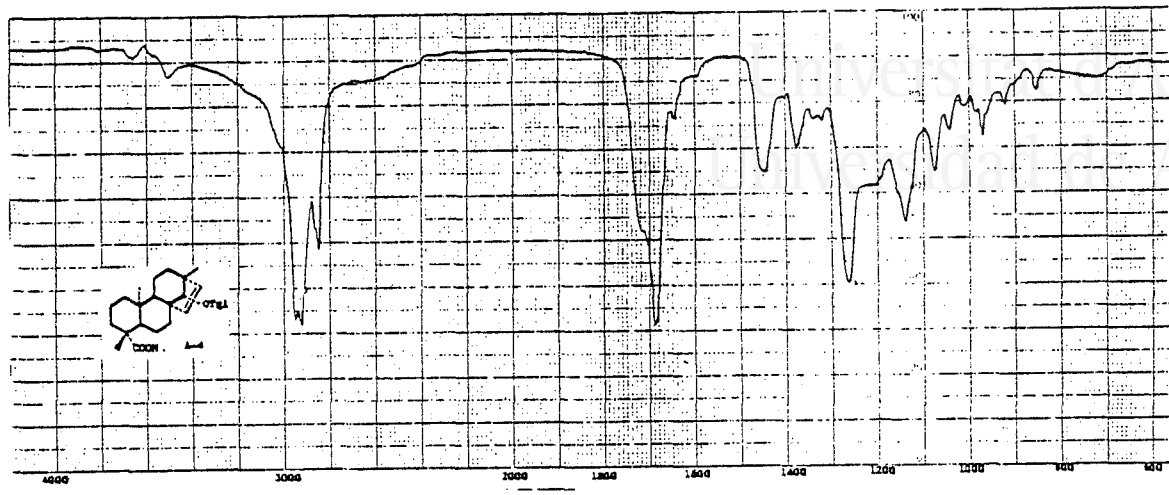
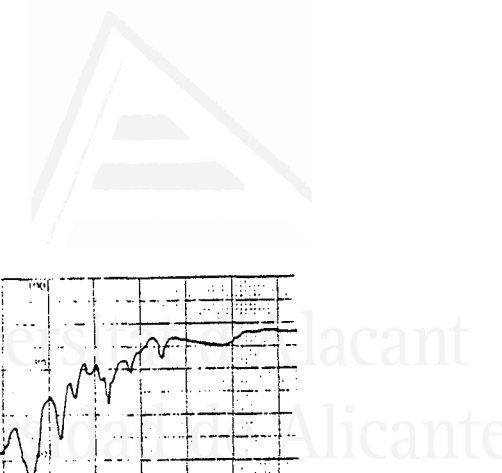


Fig. A-4a

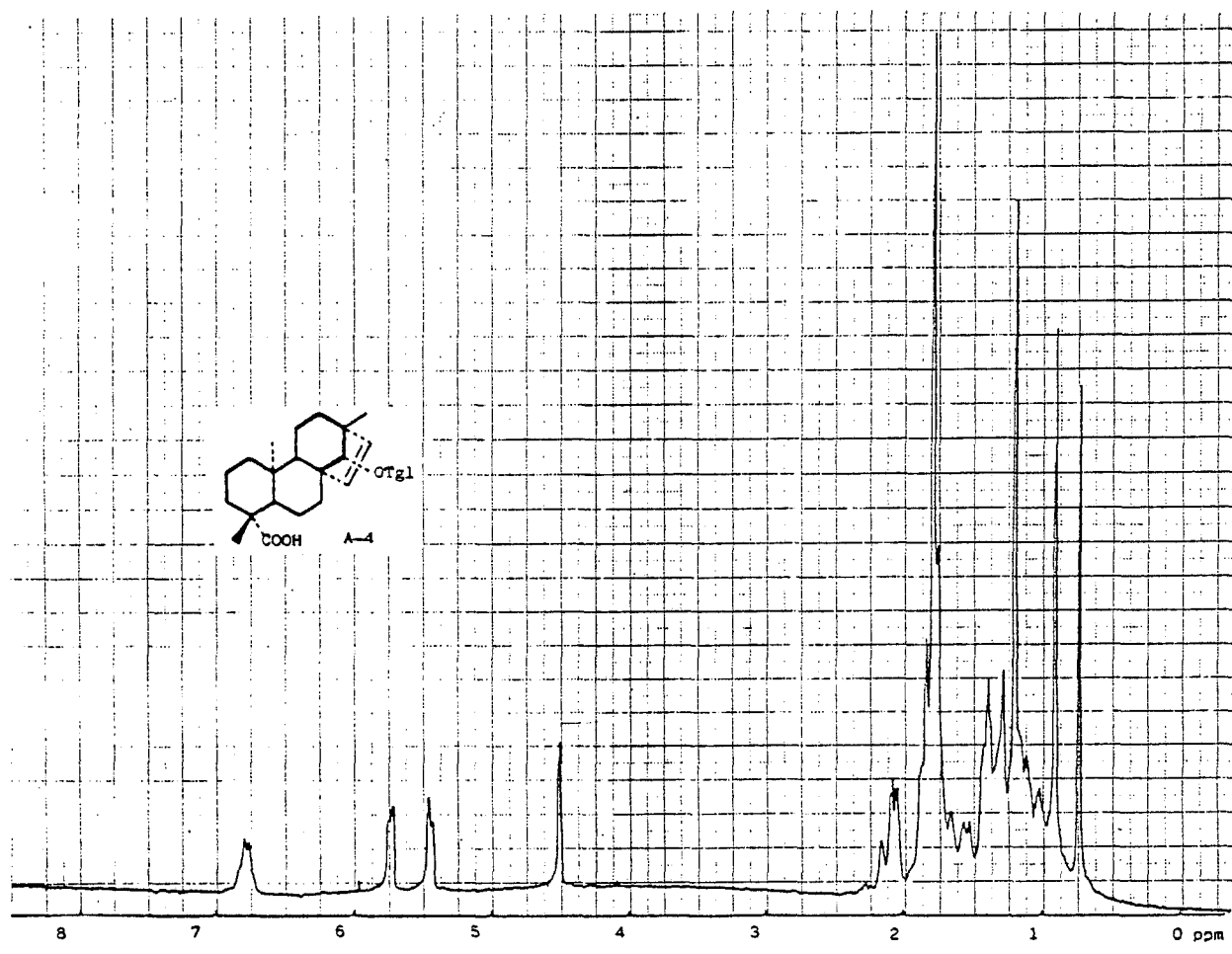


Fig. A-4c



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

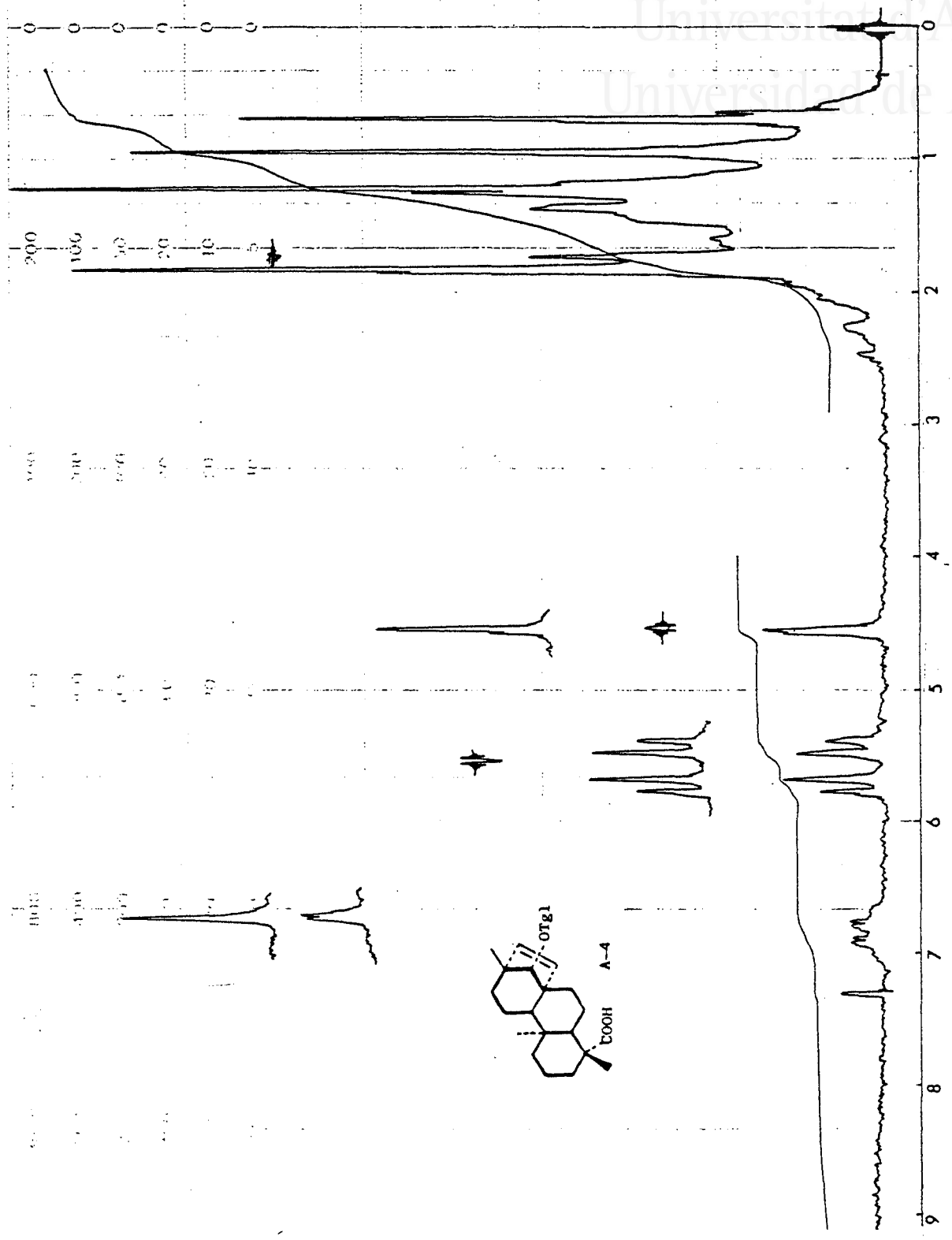


Fig. A-4b

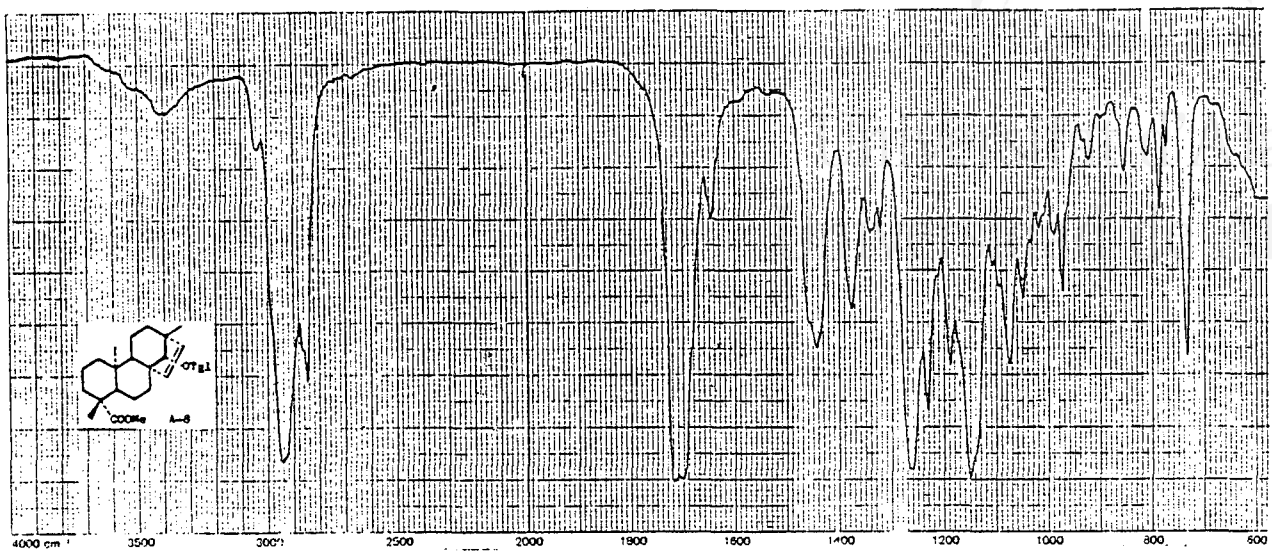


Fig. A-8a

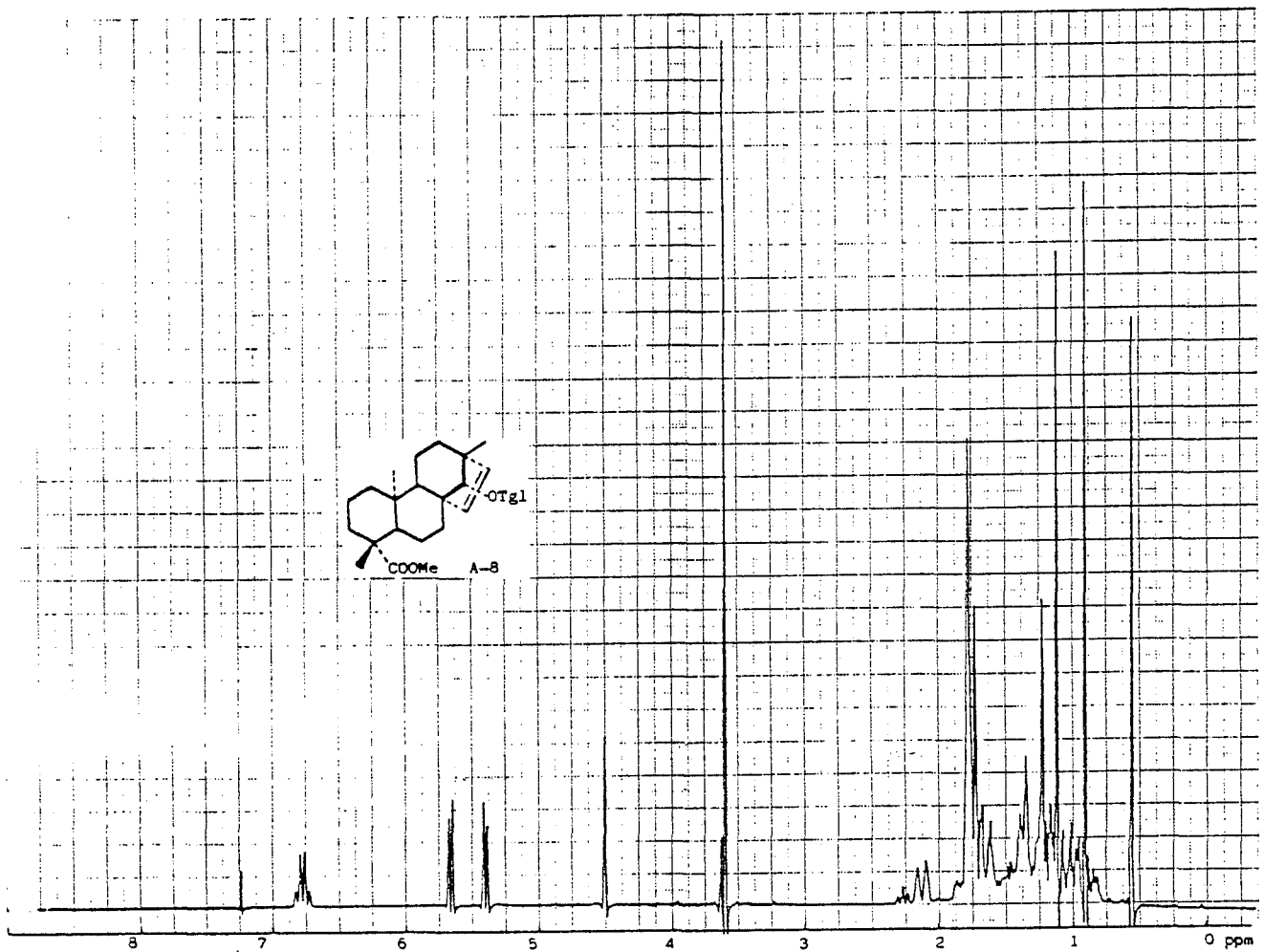


Fig. A-8c



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

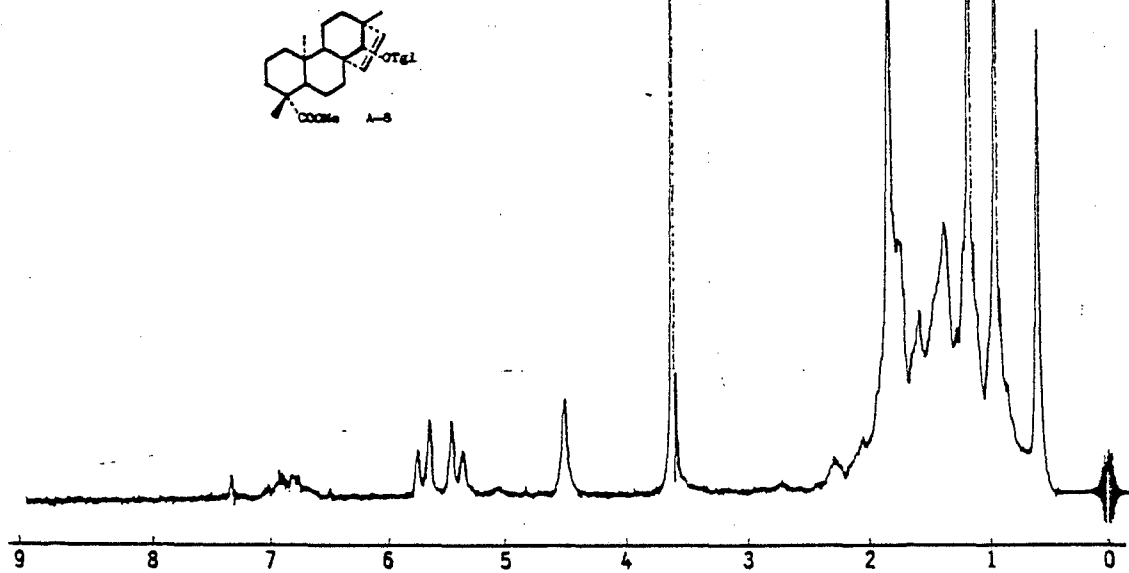


Fig. A-8b

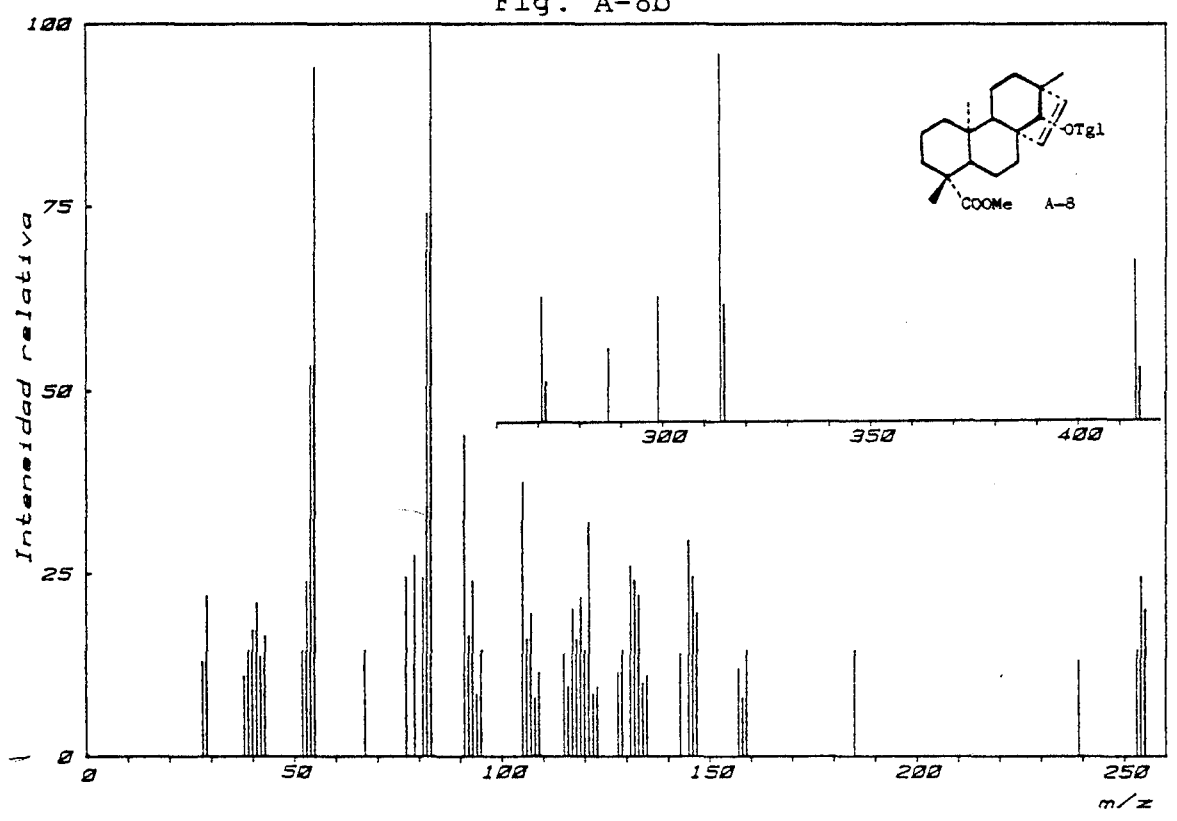


Fig. A-8e



Universitat d'Alacant
Instituto de Alicante

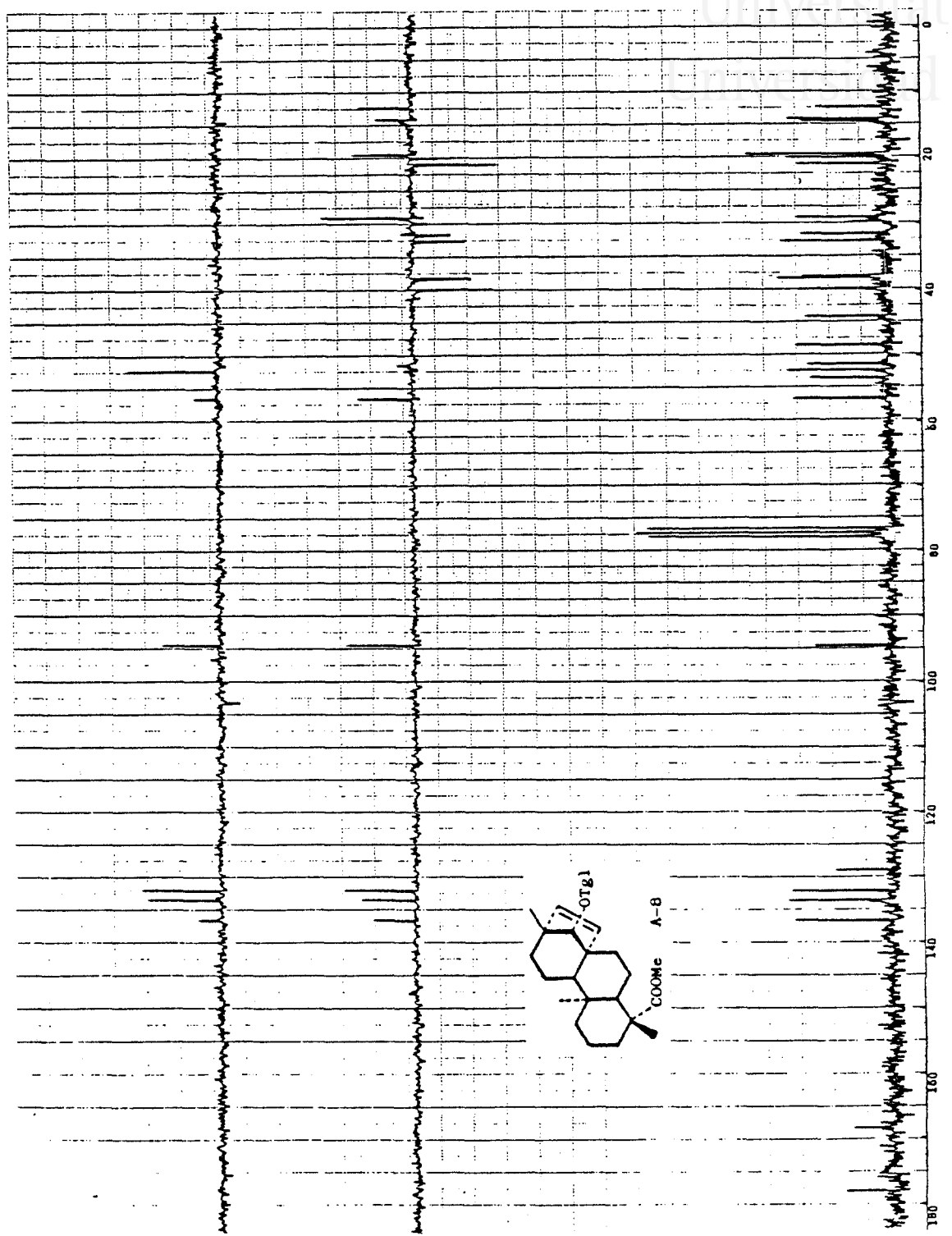


Fig. A-8d



Universitat d'Alacant

Universidad de Alicante

M-6: ent-14 β -Tigloiloxi-4 β -hidroperoxi-19-norbeyer-15-eno

Como se indicó en el apartado anterior, la sustancia M-1 componente mayoritario de las fracciones A5 - A7, se transformó en el transcurso de la cromatografía B, convirtiéndose en el ácido A-4, aunque aparentemente parte de la sustancia de partida permanecía sin transformarse, debido a que aparecía una mancha con idéntico R_f que M-1.

La facilidad de oxidación de M-1 para dar A-4 nos sugirió que la sustancia precursora se trataba de un aldehído*, sin embargo el producto que permanecía aparentemente sin oxidar a ácido carboxílico, no mostraba las absorciones características de este grupo en los espectros IR y de RMN ¹H, por lo que se dedujo que el nuevo compuesto M-6 no era el aldehído original.

La sustancia se purificó por cristalización en hexano presentando un Pf. 175-177°.

El espectro IR (fig. M-6a) es muy similar al de M-4, apareciendo bandas en principio asignables a hidroxilo (3.335, 1.140), de carbonilo de éster conjugado (1.670, 1.270), y de doble enlace cis disustituído (1.640, 730).

(*) El espectro de RMN ¹H de la fracción A5 - A7 bruta, presentaba un singlete a δ 9,78.

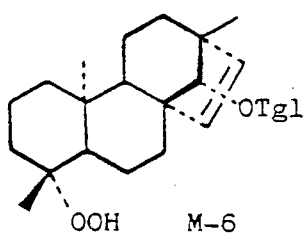
En el espectro de RMN ^1H (60MHz, CDCl_3) (fig. M-6d), se observan las señales del grupo tigloiloxilo, las del sistema AB del doble enlace cis disustituído Δ^{15} y las del protón geminal al tiglato, todas ellas presentes en M-4. Sin embargo, los tres metilos de M-6 están bien diferenciados (uno de ellos se desapantalla hasta 1,23(3H,s,H-18) y otro a 0,87(3H,s,H-20)) y además no aparece el sistema AB del grupo hidroximetileno. Este último dato descarta la posibilidad de una dismutación del aldehído M-1 para dar un ácido carboxílico y un alcohol. En este espectro aparece además una señal ancha a 7,25 ppm de un protón hidroxílico que podría corresponder al de un grupo COOH axial fuertemente impedido, como ocurre por ejemplo con el ácido margotianoico (17). Dada la correlación química existente entre M-4 y A-4 y la semejanza de los espectros IR y RMN ^1H de M-4 y M-6, se pensó en principio que esta última sustancia podría ser un ácido isómero, pero el IR no indicaba bandas de grupo ácido.

Se pensó entonces en la posibilidad de que M-6 se hubiera formado por descarboxilación seguida de oxidación en C-4. Efectivamente, el espectro de masas de M-6 (fig. M-6e), presenta un ión molecular a m/z 384 que corresponde a una fórmula empírica $\text{C}_{24}\text{H}_{36}\text{O}_4$ y supone la sustitución del C-19 por un radical hidroperóxido. La presencia de picos relativamente intensos a m/z 371 $[\text{M-OH}]^+$

y $355[M\text{-OOH}]^+$ corroboran la presencia de dicho radical. El resto del espectro presenta fragmentos muy similares a los de M-4.

La existencia del grupo hidroperóxido se puso en evidencia por su poder oxidante: Un cristal de M-6 se adicionó a una solución acuosa de KI formándose I_2 .

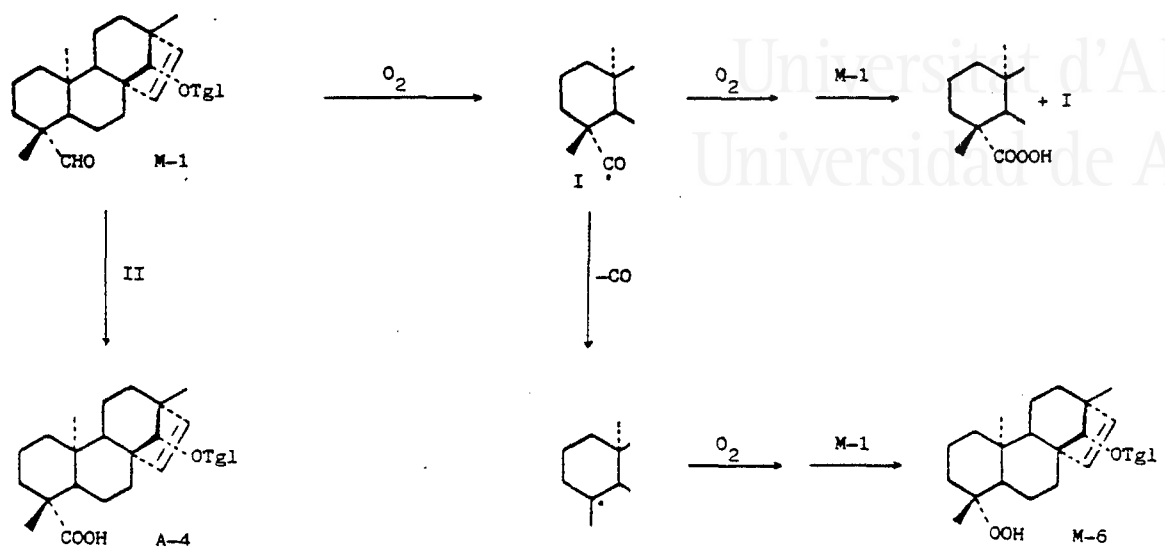
De los datos espectroscópicos anteriores y dada su semejanza con M-4, se propuso la siguiente estructura para el compuesto M-6, en la que el radical hidroperóxido se sitúa en posición axial a causa del desapantallamiento que provoca sobre el metilo en C-20 (71).



La facilidad de autooxidación de los aldehídos diterpénicos axiales ya ha sido observada en otros diterpenos (71,72,73) y debe tener lugar a través de un proceso radicalario como se indica en la figura de la página siguiente (71).



Universitat d'Alacant
Universitat de Alicante



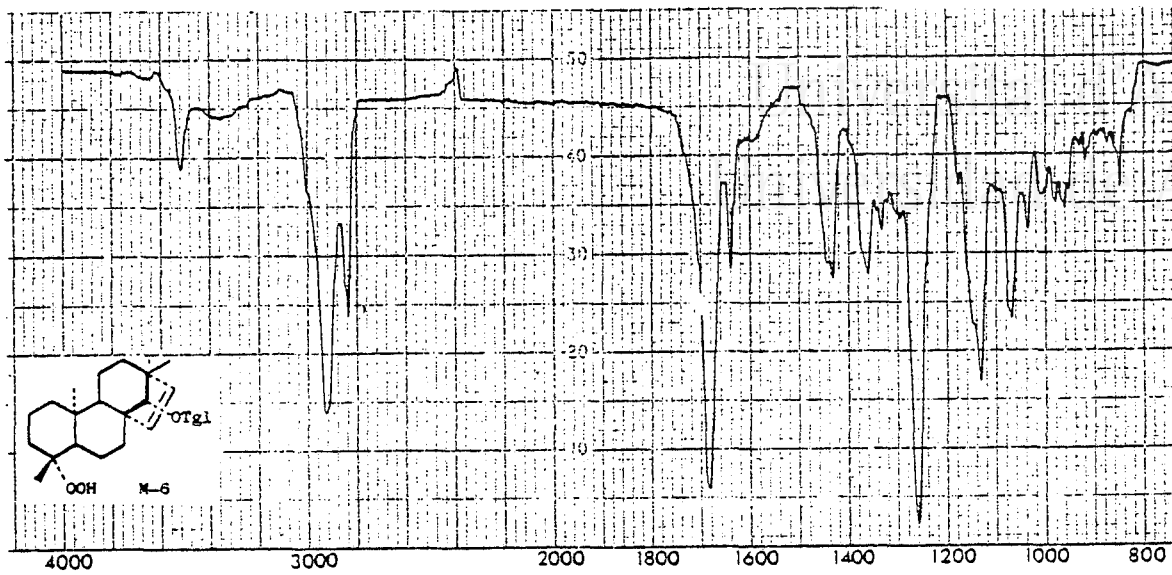


Fig. M-6b

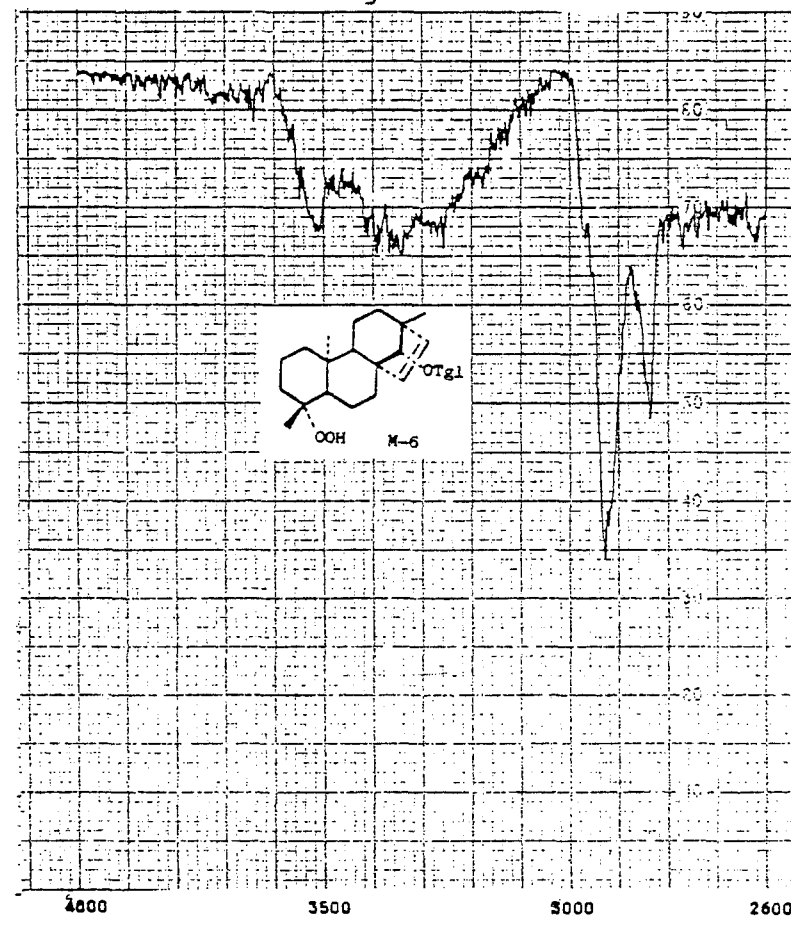


Fig. M-6c

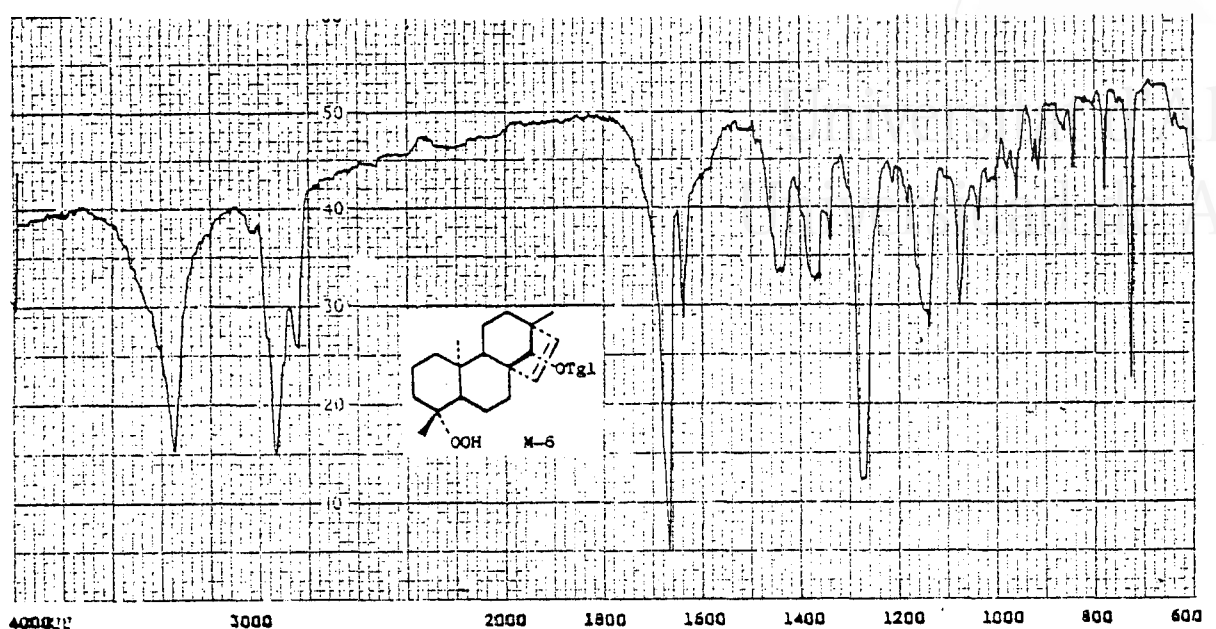


Fig. M-6a

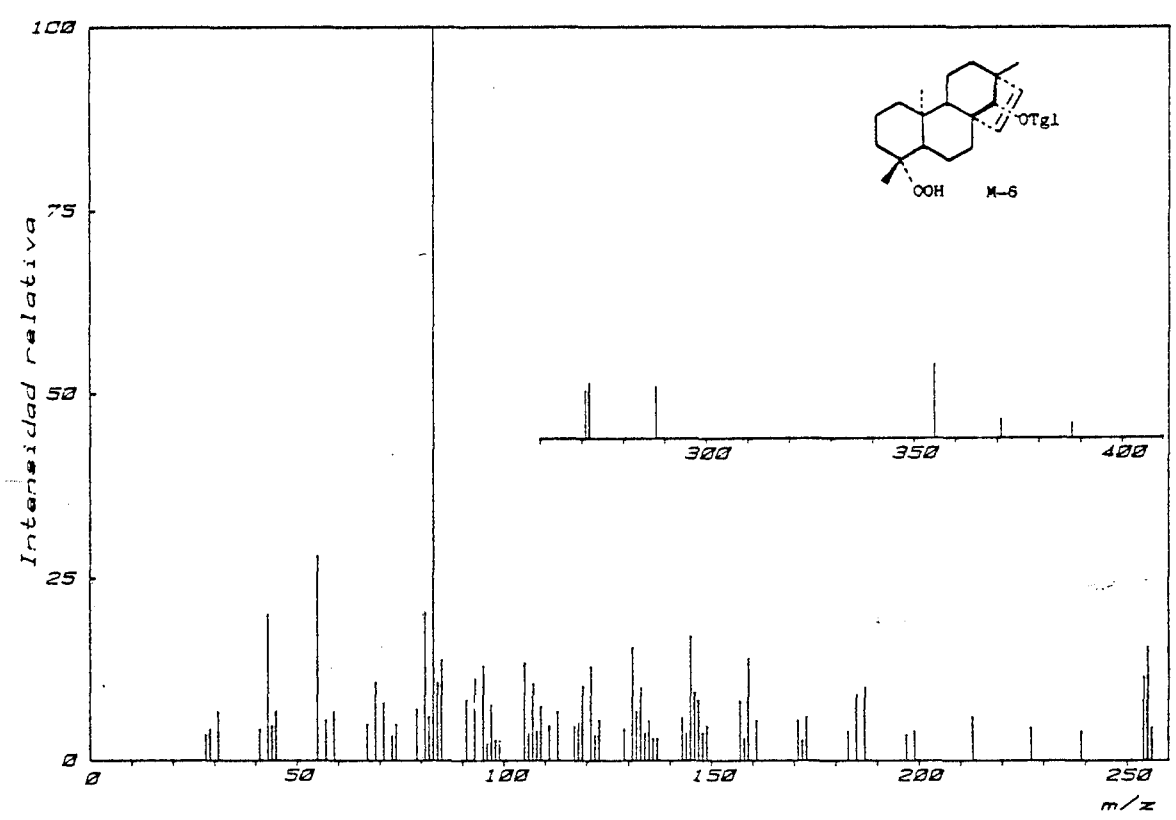


Fig. M-6e



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

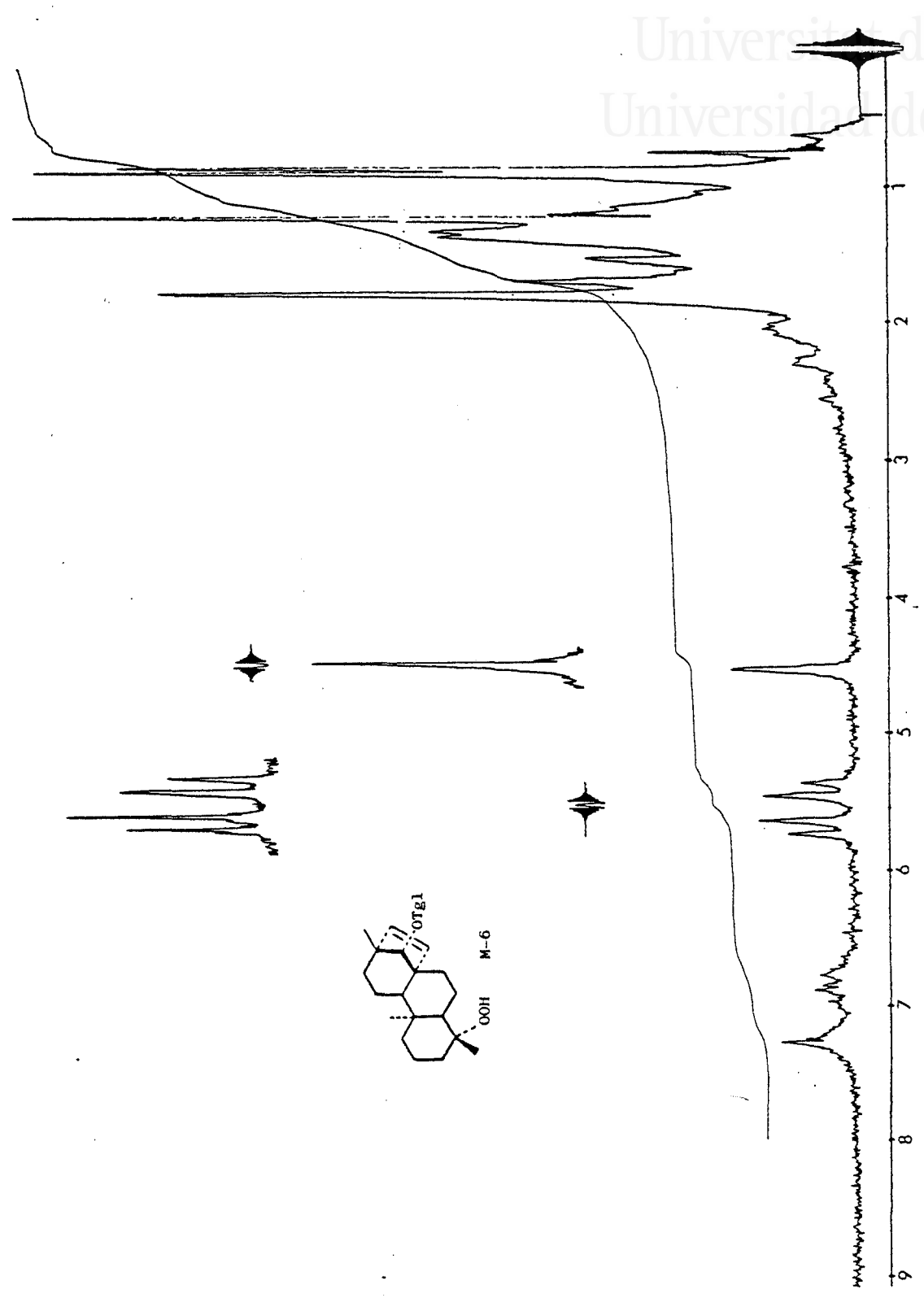


Fig. M-6d



M-1: ent-14 β -Tigloiloxi-15-beyeren-19-al y

M-1': ent-14 β -Angeloiloxi-15-beyeren-19-al

Para confirmar todo lo dicho anteriormente era necesario aislar el compuesto M-1. Dado que la mayor parte de la sustancia se había transformado con el tiempo o en el transcurso de los procesos cromatográficos de aislamiento, fue necesario obtener un extracto bencénico reciente a partir de una segunda recolección de planta (ver extracción y fraccionamiento).

Con objeto de impedir en lo posible la autooxidación del compuesto M-1, se tomó la precaución de realizar la extracción por maceración, eliminando el disolvente en un rotavapor a temperatura ambiente. La sustancia se aisló del extracto por sucesivas cromatografías en columna, sobre silicagel de capa fina sin yeso, como se explica en la parte experimental.

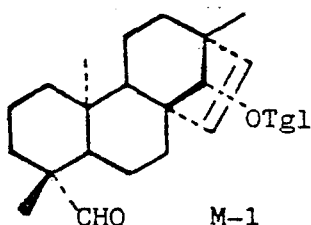
De todas formas, M-1 se descompone con mucha facilidad, por lo que las constantes físicas y datos espectroscópicos tuvieron que medirse inmediatamente después del aislamiento. La sustancia es un aceite que presenta $[\alpha]_D +17^\circ$.

El espectro IR (fig. M-1a) es muy similar al de M-4, las diferencias radican en la ausencia de las señales del

grupo hidroxilo y en la aparición de bandas características de grupo aldehído (2.710, 1.700) probablemente axial, debido a que la vibración de tensión C=O aparece a números de onda bajos, solapada con la banda de carbonilo del tiglato, lo cual podría atribuirse a la interacción de los protones del metilo en C-20 con el grupo aldehído.

En el espectro de RMN ^1H (60MHz, CDCl_3) (fig. M-1b), las únicas diferencias importantes que se aprecian con respecto a M-4, son la desaparición del sistema AB de los protones del grupo hidroximetileno axial, y la aparición de un protón de grupo aldehído a campos bajos, 9,78(1H,s, H-19).

Como era de esperar sufren variaciones los metilos en C-18 y C-20, que aparecen a 0,97(3H,s,H-18) y 0,63(3H,s,H-20). Como puede observarse, el metilo en C-20 sufre un apantallamiento por efecto del aldehído axial.

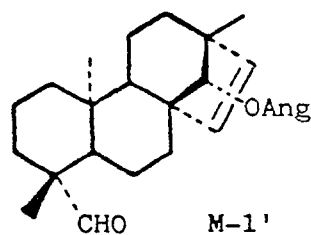


En las fracciones E21 - E29, la sustancia M-1 aparecía acompañada por un componente minoritario M-1', el cual se purificó por cristalización en hexano de las

fracciones F5 - F6, dando un sólido que presenta Pf. 150° (descomposición) y $[\alpha]_D +13,8^\circ$.

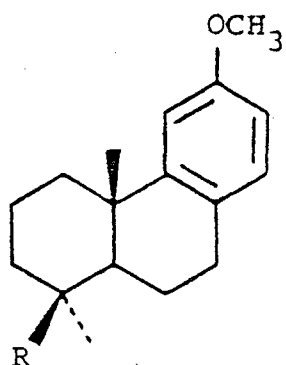
Tanto el espectro IR (fig. M-1'a) como el de RMN ^1H (60MHz) (fig. M-1'b), son prácticamente idénticos a los de M-1. La única diferencia radica en que en M-1', en lugar de aparecer las señales características de un grupo tigloiloxilo, aparecen las de un sustituyente angeloiloxilo. Los desplazamientos de este grupo aparecen en RMN ^1H (200MHz) (fig. M-1'c) a 6,04(1H,cc,J=7,2Hz,J=1,5Hz,H-3'), 1,96(3H,dc,J=7,2Hz,J=1,5Hz,H-4') y 1,87(3H,qnt,J=1,5Hz,H-5') y concuerdan con los descritos en la bibliografía (35).

Con estos datos y los del espectro de masas (fig. M-1'e), que presenta un ión molecular a m/z 384, correspondiente a una fórmula molecular $\text{C}_{25}\text{H}_{36}\text{O}_3$, con fragmentos significativos a 356[M-CO]⁺, 301[M-Ang]⁺, 284[M-AngOH]⁺, 83[Ang]⁺(100) y 55[Ang-CO]⁺, se puede deducir que M-1' presenta la misma estructura que M-1, pero cambiando el sustituyente tiglato por un angelato.



Las absorciones en RMN ^{13}C (fig. M-1'd), concuerdan con las calculadas para este compuesto, a partir de los datos de desplazamientos químicos de otros diterpenos conocidos. El espectro de RMN ^{13}C de M-1' nos sirve para confirmar también la estructura de M-1, ya que los desplazamientos de los carbonos de la estructura básica van a ser prácticamente los mismos, variando únicamente los de los sustituyentes tigloiloxilo o angeloiloxilo según el caso.

El cálculo de los desplazamientos químicos de M-1', (tabla VII), se realizó añadiendo a los datos de M-4 (columna A), los incrementos calculados al pasar de un grupo hidroxilo en C-19 a un aldehído en la misma posición (columna B). Los datos de la columna B se obtuvieron por diferencia de las absorciones de los compuestos 12-O-metilpodocarpal (a) y 12-O-metilpodocarpol (b) (40).



a) R= CHO

b) R= CH₂OH



Los datos calculados (columna C), concuerdan con los experimentales (columna D).

TABLA VII

Carbono	A	B	C	D
1	39,4	-0,5	38,9	38,9
2	18,3		18,3	18,4
3	35,6	-1,2	34,4	34,2
4	38,4	9,9	48,3	48,2
5	56,1	0,7	56,8	56,0
6	19,7*		19,7*	19,9
7	31,6**	0,3	31,9**	31,4
8	53,2		53,2	52,9
9	52,9	0,4	53,3	51,6
10	37,3		37,3	37,6
11	19,4*		19,4*	18,8
12	32,6**		32,6**	32,3
13	48,3		48,3	48,2
14	94,4		94,4	94,1
15	132,4		132,4	131,9
16	133,5		133,5	133,9
17	19,2		19,2	19,3
18	27,0	-2,6	24,4	24,4
19	65,4	140,5	205,9	205,6
20	16,0	-1,5	14,5	14,8

(*,**) Asignaciones intercambiables.

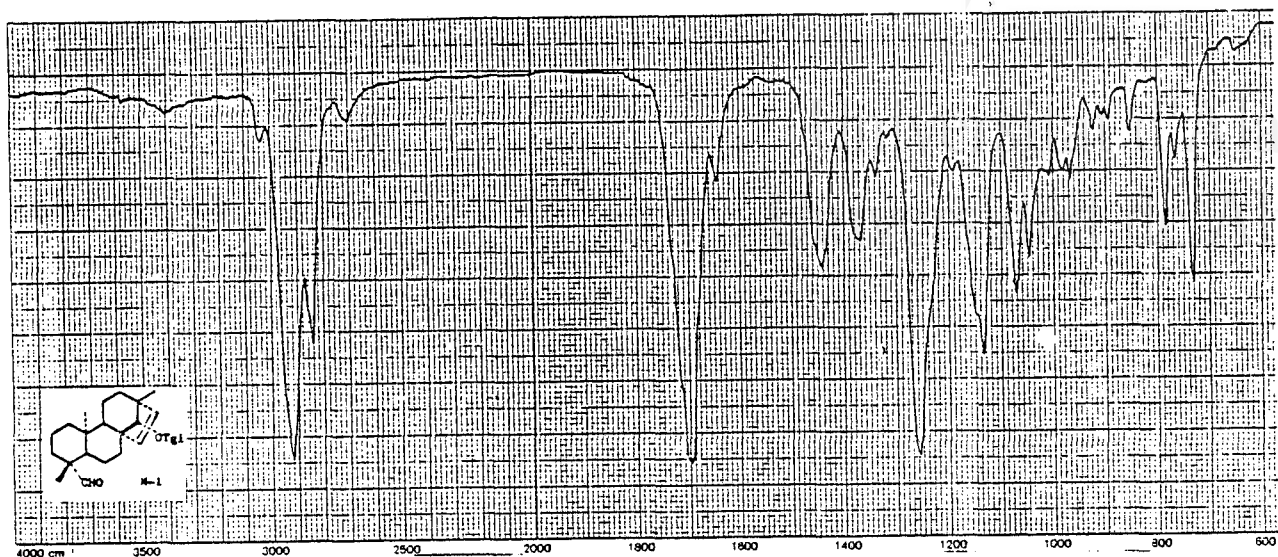


Fig. M-1a

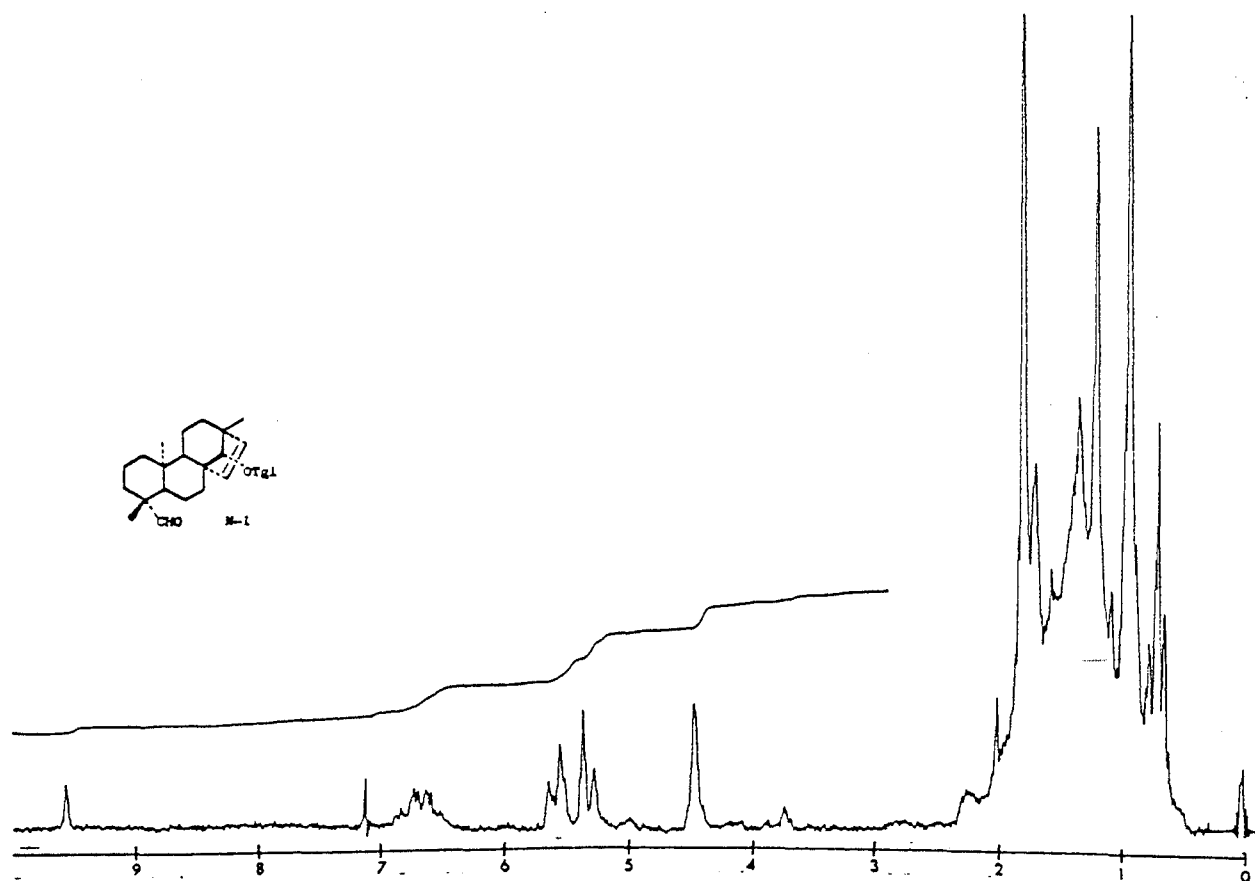


Fig. M-1b



Fig. M-1'a

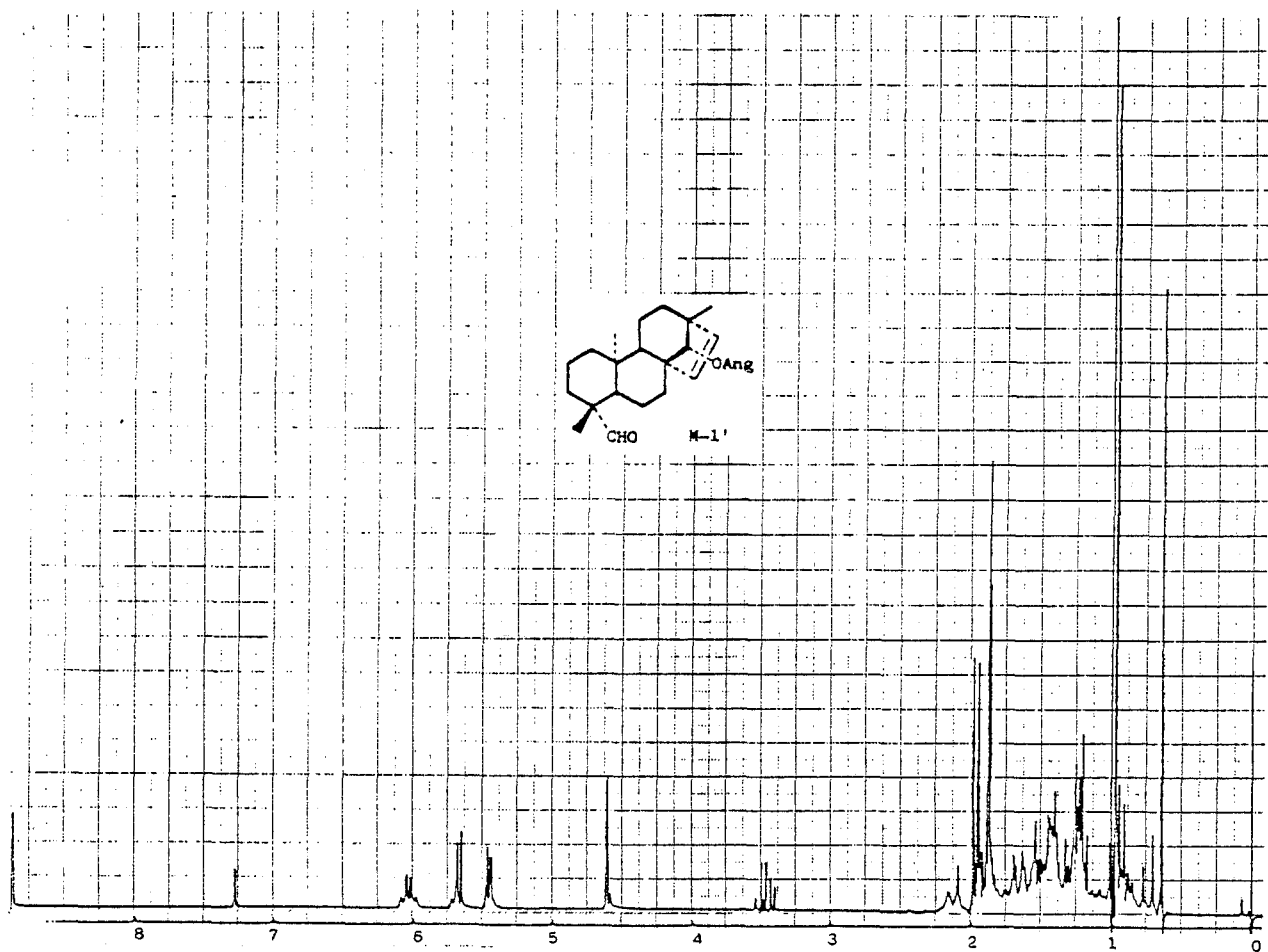


Fig. M-1'c

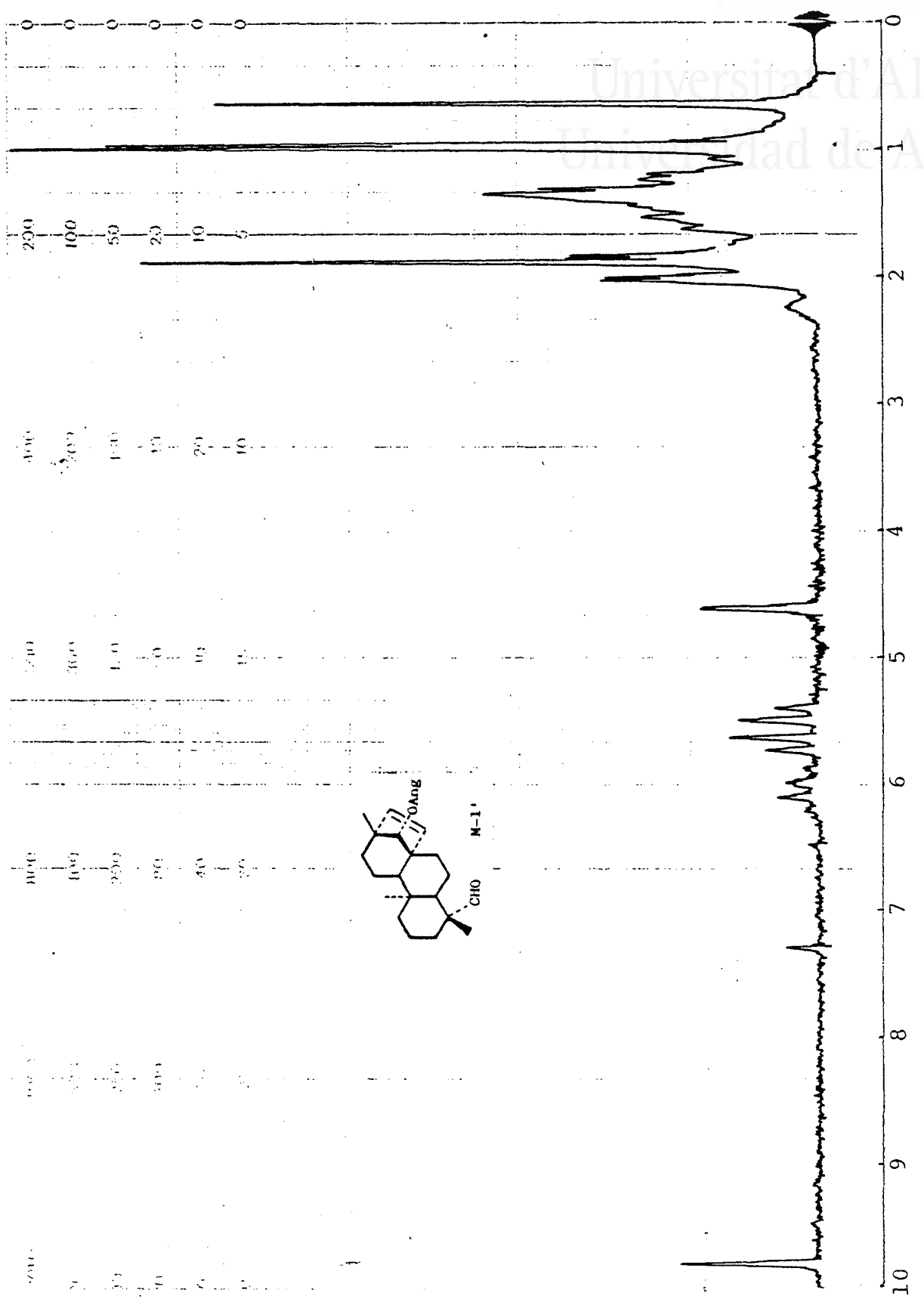


Fig. M-1'b



Universitat d'Alacant
de Alicante

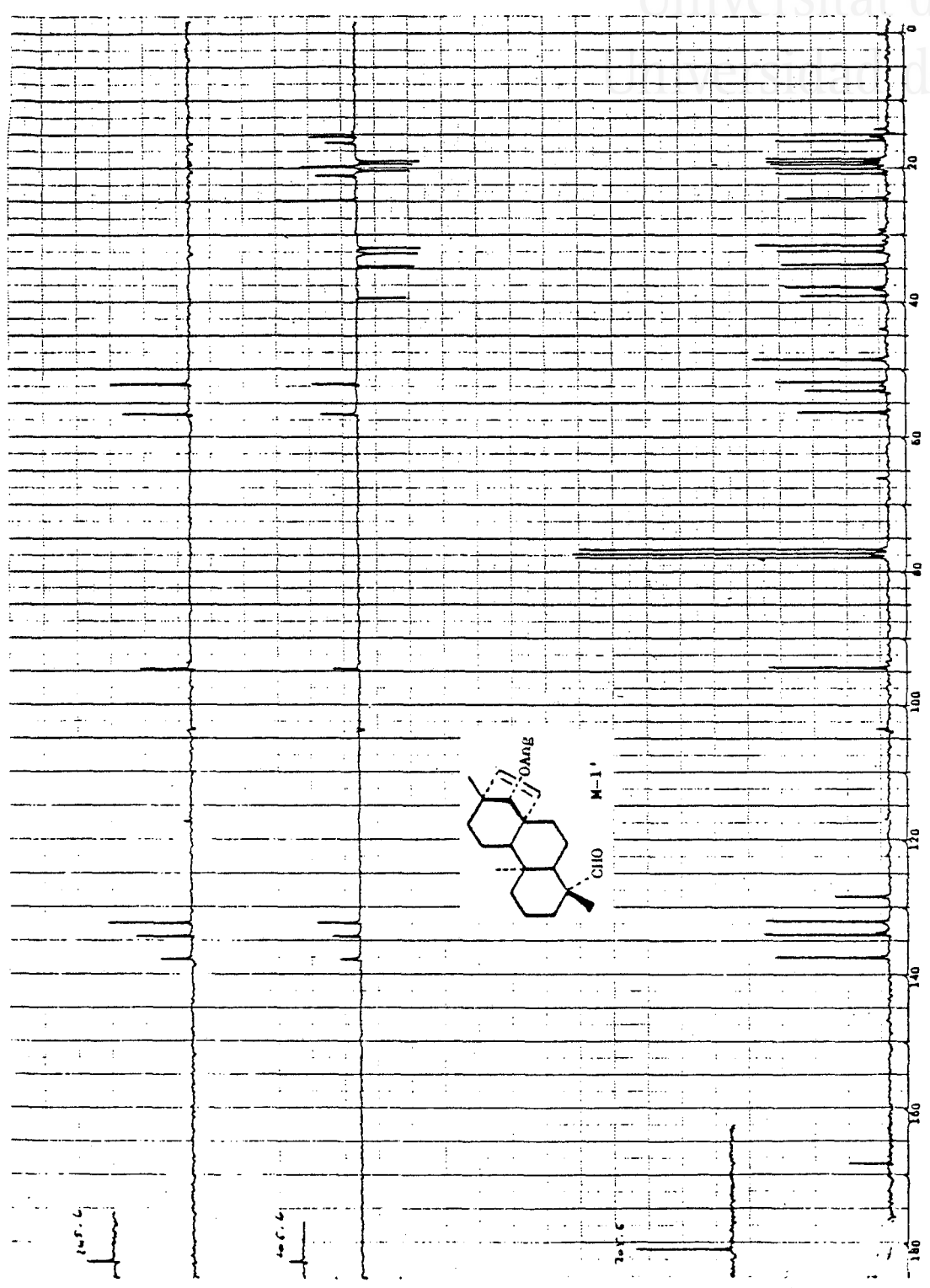
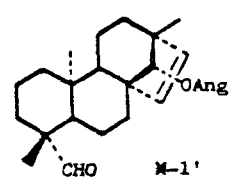


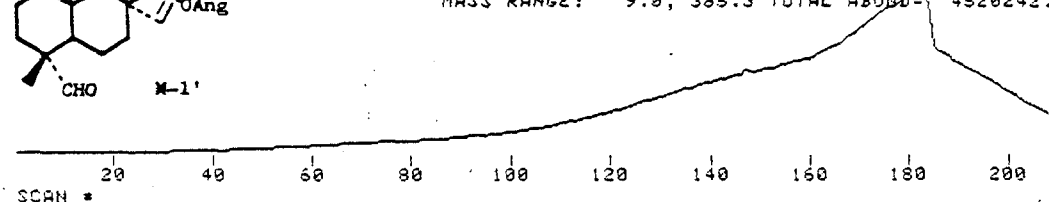
Fig. M-1'd



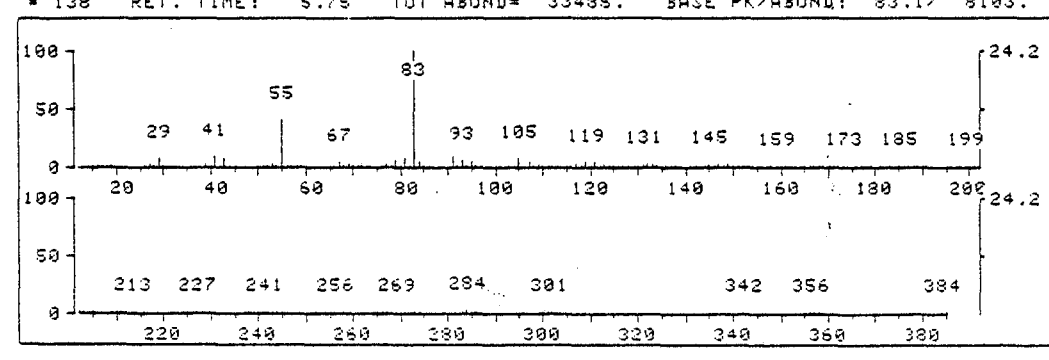
Universitat d'Alacant
 Universidad de Alicante



FRN 10100, CRN 2
 208 SCANS (208 SCANS, 8.22 MINS)
 MASS RANGE: 9.0, 395.3 TOTAL ABUND= 4520242.



* 138 RET. TIME: 5.75 TOT ABUND= 33435. BASE PK/ABUND: 83.1/ 8103.



FRN 10100, SPECTRUM # 138 RET.TIME: 5.75, 218 PEAKS

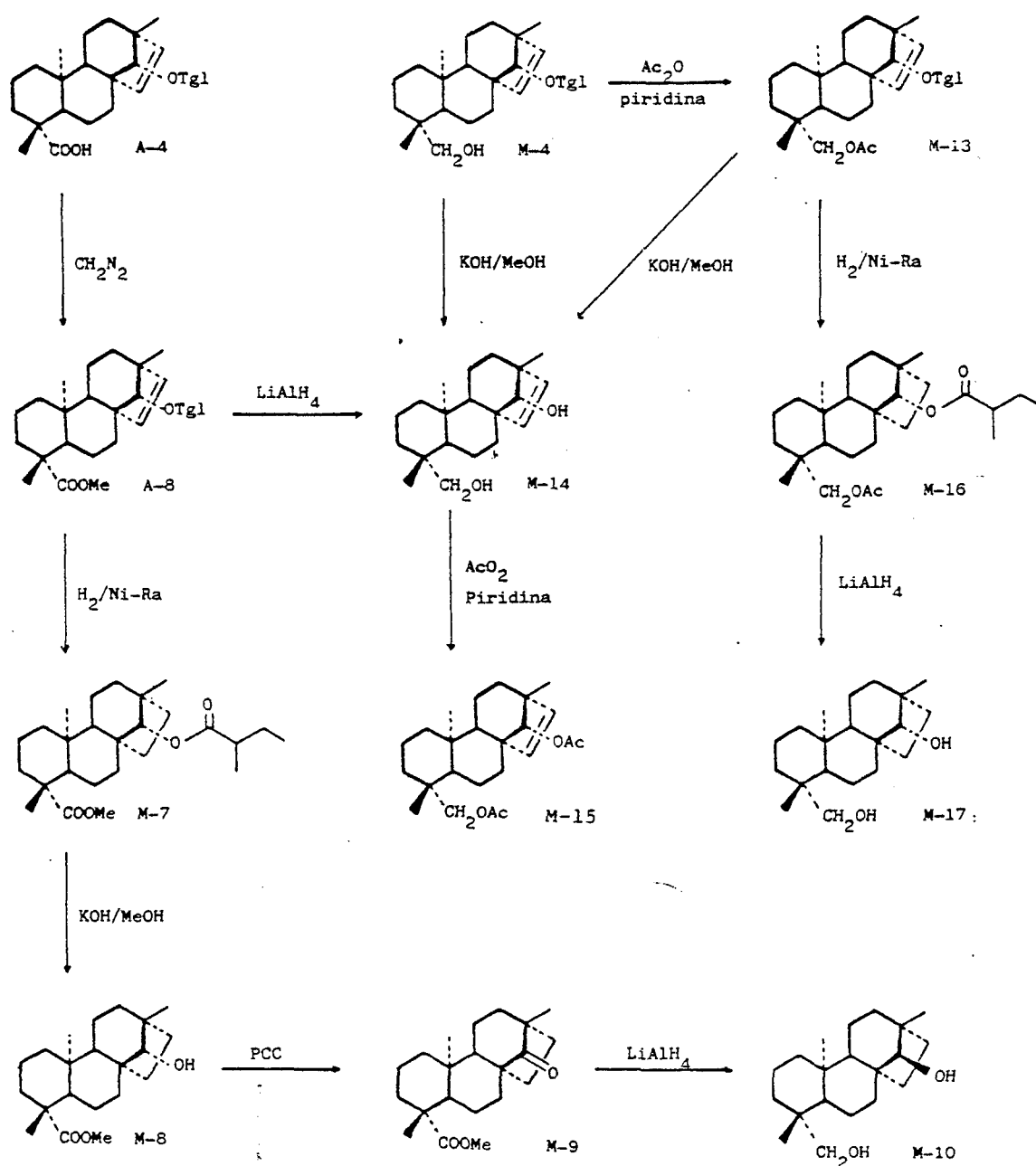
M/Z	REL ABUND	M/Z	REL ABUND	M/Z	REL ABUND	M/Z	REL ABUND
18	1.5	78	1.0	117	3.2	149	3.1
27	3.5	79	7.4	118	2.2	157	1.4
28	2.2	81	8.0	119	5.0	158	1.8
29	9.0	82	2.2	120	1.4	159	2.1
39	4.2	83	100.0	121	4.8	161	1.5
41	9.5	84	5.9	122	1.2	173	1.1
43	8.8	91	9.5	123	3.5	185	1.5
45	1.5	92	2.3	128	1.2	199	1.4
53	4.2	93	6.8	129	2.3	213	1.4
54	2.0	94	1.4	131	4.6	241	1.2
55	42.0	95	4.9	132	3.8	255	2.1
56	2.5	97	1.6	133	3.8	256	2.4
57	2.6	105	7.8	134	1.3	284	4.2
65	1.6	106	2.2	135	2.2	285	1.0
67	5.4	107	4.9	143	1.5	356	1.0
69	3.2	108	1.1	145	3.5		
71	2.0	109	4.1	146	2.9		
77	4.7	115	1.5	147	3.3		

>PAUSE

Fig. M-1'e

SINTESIS DE LOS DIOLES EPIMEROS M-10 Y M-17

Con objeto de confirmar las estructuras propuestas para los diterpenos naturales descritos anteriormente, se llevaron a cabo las transformaciones indicadas en el esquema de reacciones siguiente:



En primer lugar se sintetizó el diol saturado M-17, pero sus propiedades no coincidían exactamente con las del enantiómero descrito preparado a partir del agatadiol. En cambio su epímero, M-10, era idéntico y se preparó a partir de A-4, producto correlacionado con M-4.

Acetato M-13

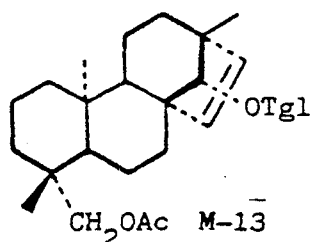
Por tratamiento de la sustancia M-4 con Ac_2O /piridina se obtuvo el correspondiente acetato, que después de sucesivas cristalizaciones en hexano presenta Pf. $86-87^\circ$ y $[\alpha]_D +17,9^\circ$.

Por comparación de sus datos espectroscópicos con los de M-4, podemos observar las siguientes variaciones: El espectro IR (fig. M-13a), muestra la desaparición de las bandas características del grupo hidroxilo, así como la aparición de bandas de grupo acetato (1.730, 1.240).

En RMN ^1H (60MHz, CDCl_3) (fig. M-13b), aparece una señal a 2,01(3H,s,H-2") del grupo metilo del acetato. Los protones del sistema AB del C-19 se han desapantallado a 4,28(1H,d,J=10,5Hz,Ha-19) y 3,88(1H,d,J=10,5Hz,Hb-19), debido al cambio del hidroxilo geminal por un grupo éster.



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante



La estructura se confirma mediante su espectro de masas (fig. M-13c), que presenta un ión molecular M^+ a m/z 428, correspondiente a una fórmula empírica $C_{27}H_{40}O_4$, destacándose los siguientes fragmentos: $328[M-TglOH]^+$, $268[328-AcOH]^+$, $83[Tgl]^+(100)$ y $55[Tgl-CO]^+$.

Diol M-14

Por hidrólisis de M-13 con KOH/MeOH 5%, se obtuvo el compuesto M-14, que después de sucesivas cristalizaciones con benceno presenta Pf. 187-189° y $[\alpha]_D +51,4^\circ$.

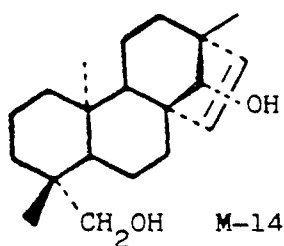
Por comparación de sus datos espectroscópicos con los de M-13, se observan las siguientes diferencias:

El espectro IR (fig. M-14a), muestra la desaparición de las bandas características de los dos grupos éster, presentando en cambio, bandas de grupo hidroxilo (3.480, 3.380(a)). Realizando el espectro IR en disolución de

CCl_4 (5×10^{-3} M) (fig. M-14b), se observa una banda a 3.635, correspondiente a un hidroxilo primario y a 3.580, de hidroxilo secundario asociado por puentes de hidrógeno intramoleculares con el doble enlace Δ^{15} (69).

En el espectro de RMN ^1H (60MHz, CDCl_3) (fig. M-14c), se comprueba la ausencia de señales de los grupos tigloilo-xilo y acetoxilo. Como consecuencia los protones geminales a los grupos hidroxilo libres aparecerán más apantallados, dando señales a 3,76(1H,d,J=10,5Hz,Ha-19), 3,42(1H,d,J=10,5Hz,Hb-19) y 2,94(1H,s(a),H-14).

Estos datos confirman que la estructura de M-14 es la siguiente:



El espectro de masas (fig. M-14d), presenta un ión molecular M^+ 304 ($\text{C}_{20}\text{H}_{32}\text{O}_2$) y fragmentación similar a la del producto natural M-4. La ausencia del éster tíglico supone la desaparición de los picos a m/z 83 y 55, muy intensos en M-4.



Acetato hidrogenado M-16

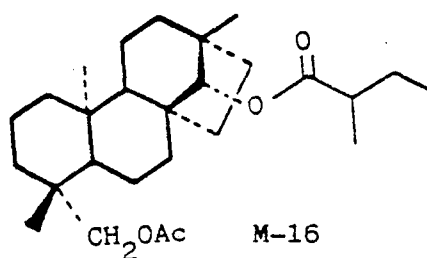
Al intentar hidrogenar directamente el diol M-14 con H_2 en presencia de Ni-Raney, se obtuvo un producto muy insoluble que en los intentos de purificación se iba descomponiendo. Por ello se realizó una hidrogenación catalítica del producto de acetilación M-13 con Ni-Raney, según se describe en la parte experimental. De esta forma se obtuvo el compuesto M-16 en forma de aceite, que presenta un poder rotatorio $[\alpha]_D -15,4^\circ$.

El espectro IR (fig. M-16a), presenta las siguientes diferencias con respecto a M-13: Desaparecen las bandas asignables a vibraciones de dobles enlaces. La señal de 1.690 que asociamos al grupo carbonilo conjugado del tiglato, sufre un desplazamiento (1.725(a)) debido a la hidrogenación del doble enlace, con la consiguiente pérdida de la conjugación. Esta banda se superpone sobre la señal de absorción del grupo éster del acetato. Por la misma razón el desdoblamiento de las bandas de tensión C-O, debidas a dos grupos éster diferentes, se anula, apareciendo una única banda (1.230).

En el espectro de RMN 1H (60MHz, $CDCl_3$) (fig. M-16b), comparado con el de M-13 se aprecia la desaparición de las señales del sistema AB formado por los protones del doble

enlace Δ^{15} , así como la de la señal del protón vinílico del tigolato. Los metilos del tigolato, sufren un apantallamiento, apareciendo a 1,16(3H,d,J=7Hz,H-5') y 0,90(3H,t,J=7Hz,H-4'). Por otra parte el metilo en C-20 sufre un desapantallamiento a 0,85(3H,s,H-20), como era de esperar, al desaparecer sobre él, el efecto apantallante del doble enlace.

El espectro de masas (fig. M-16c), presenta un ión molecular a m/z 432, en concordancia con la fórmula empírica $C_{27}H_{36}O_4$. Son de destacar los fragmentos a 360[M-CHOAc]⁺ y 330[M-C₅H₁₀O₂]⁺, este último correspondiente a la pérdida del sustituyente 2-metilbutírico.



Diol M-17

El compuesto M-17 se intentó obtener directamente por hidrogenación catalítica de M-14 con Ni-Raney, obteniéndose como resultado productos de descomposición.

Por esta razón M-17 se preparó por reducción del acetato hidrogenado M-16 con LiAlH_4 . El producto cristalizó en mezcla de hexano-AcOEt dando un Pf. $216-217^\circ$ y $[\alpha]_D +13,5^\circ$.

Por comparación de los datos espectroscópicos con los de M-16, podemos apreciar las siguientes diferencias:

En el espectro IR (fig. M-17a) desaparecen las absorciones características de grupo éster, presentando bandas de alcoholes (3.450(a), 1.000). El espectro IR en disolución 5×10^{-3} M, en CCl_4 (fig. M-17b), presenta una única banda (3.635) de hidroxilos libres. Desaparece la absorción (3.580) que se presentaba en M-14, atribuída al grupo OH formando puentes de hidrógeno intramoleculares con el doble enlace Δ^{15} (fig. M-14b).

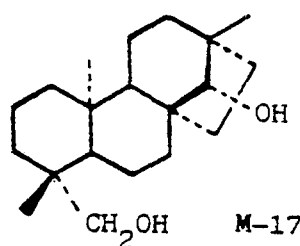
Debido a la insolubilidad en CDCl_3 del diol M-17, el espectro de RMN ^1H (200MHz) (fig. M-17d), se realizó en piridina, con objeto de poder comparar los resultados con los obtenidos para el diol M-10, cuyo espectro de RMN ^1H (200MHz) (fig. M-10c), se hizo en dicho disolvente.

Se observa la desaparición de las señales de los grupos acetoxilo y tigloiloxilo, produciéndose el apantallamiento de los protones geminales a grupos hidroxilos que aparecen a 4,03(1H,d,J=10,6Hz,Ha-19), 3,63(1H,d,J=10,6Hz, Hb-19) y 3,17(1H,s,H-14).

El espectro de masas (fig. M-17f), presenta un ión

molecular a m/z 306 correspondiente a una fórmula empírica $C_{20}H_{34}O_2$.

Más adelante se hará una comparación de los datos espectroscópicos de M-17 y M-10 que nos confirmen la estructura propuesta.



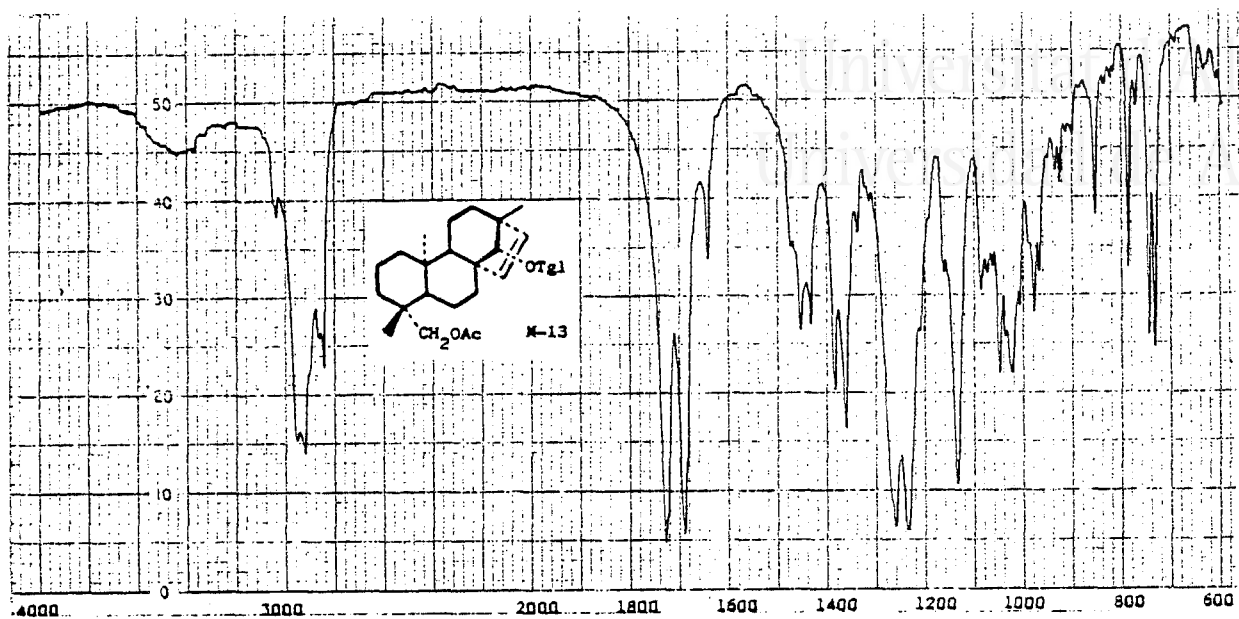


Fig. M-13a

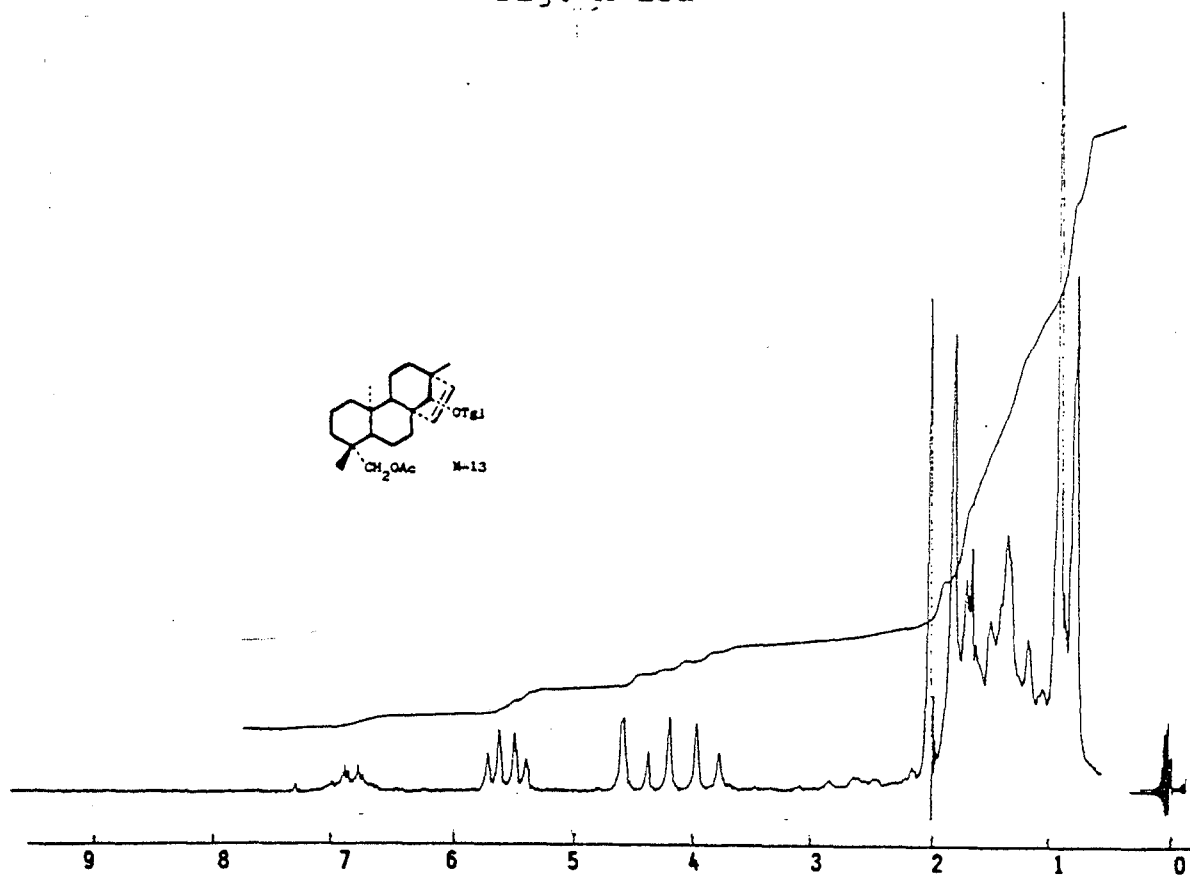


Fig. M-13b



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

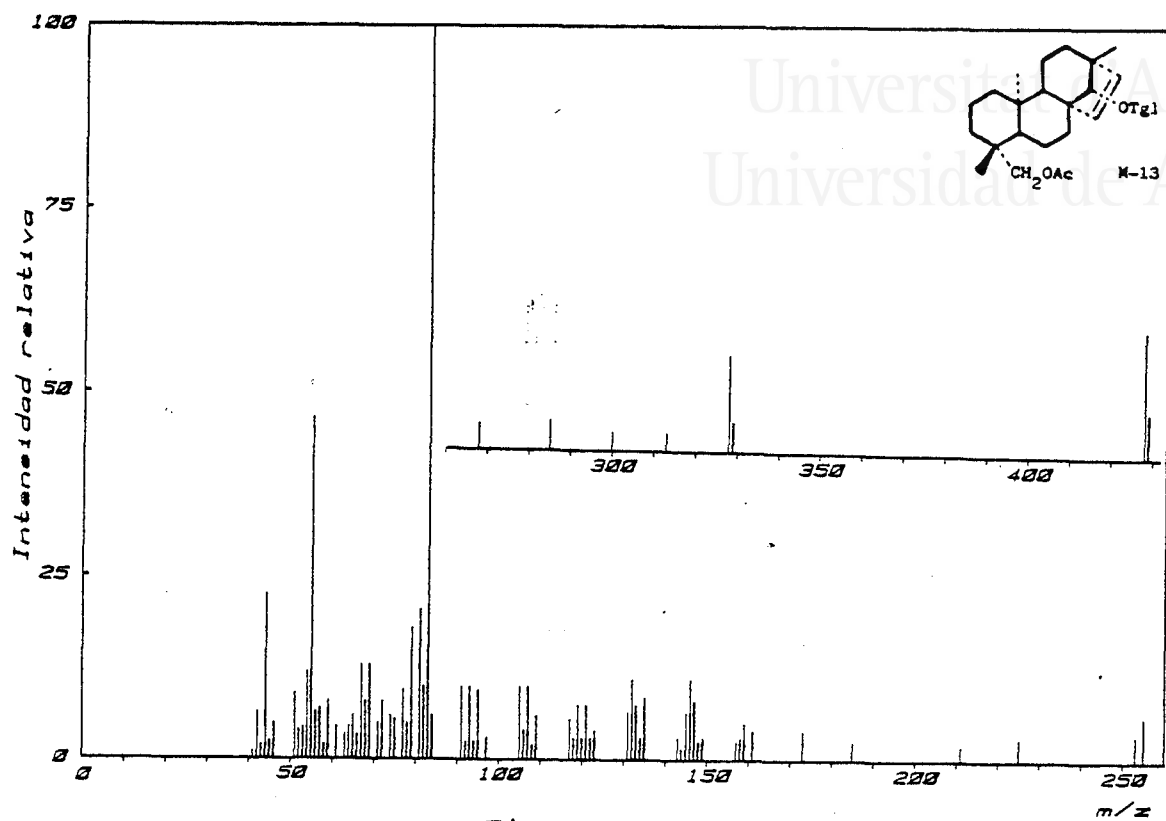


Fig. M-13c

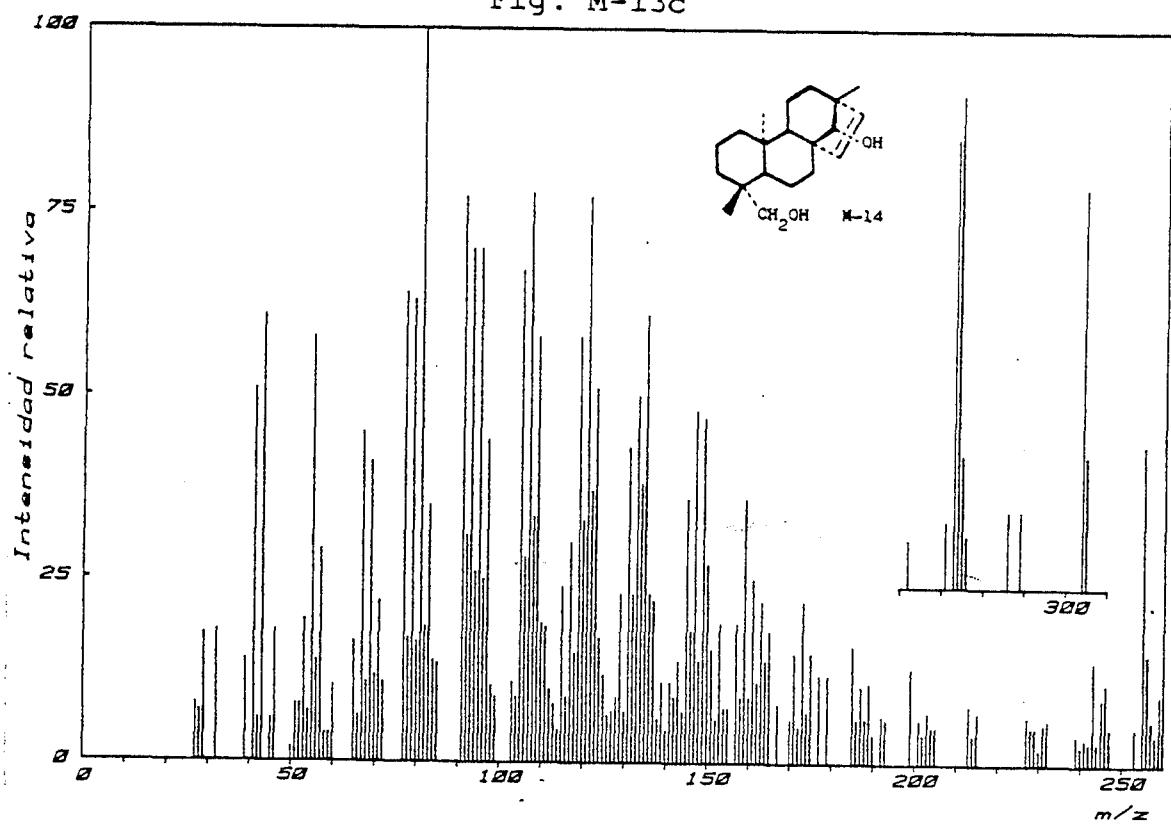


Fig. M-14d

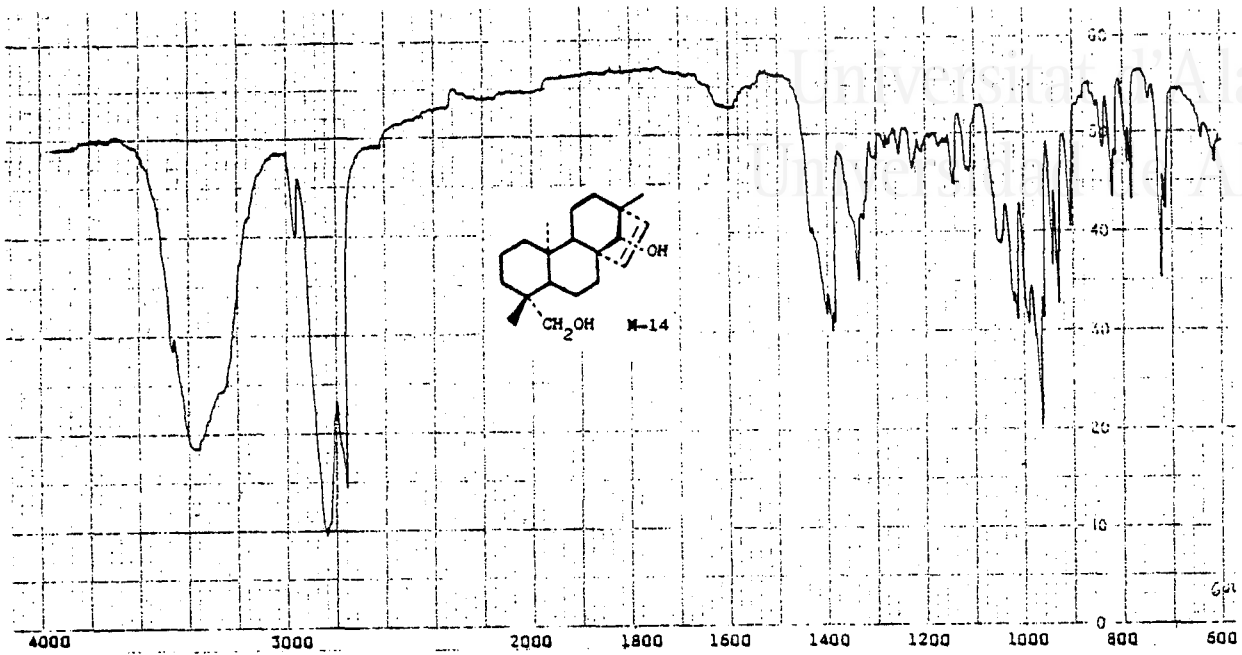


Fig. M-14a

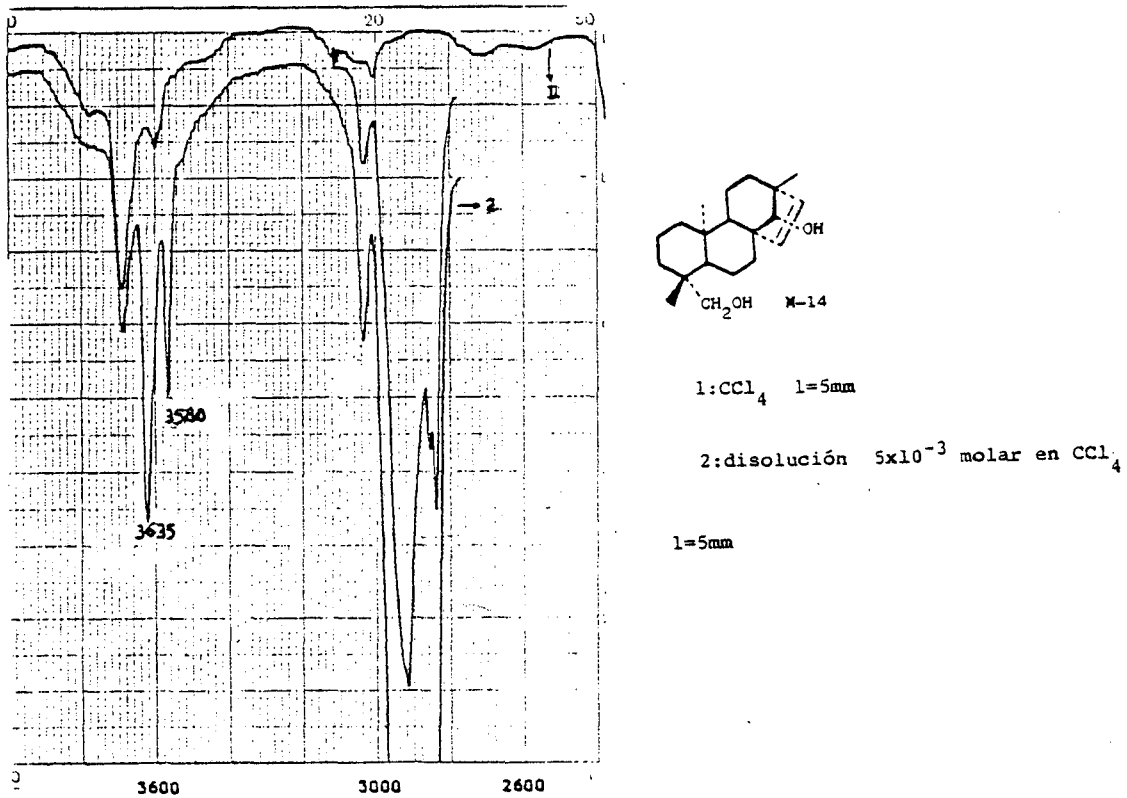


Fig. M-14b



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

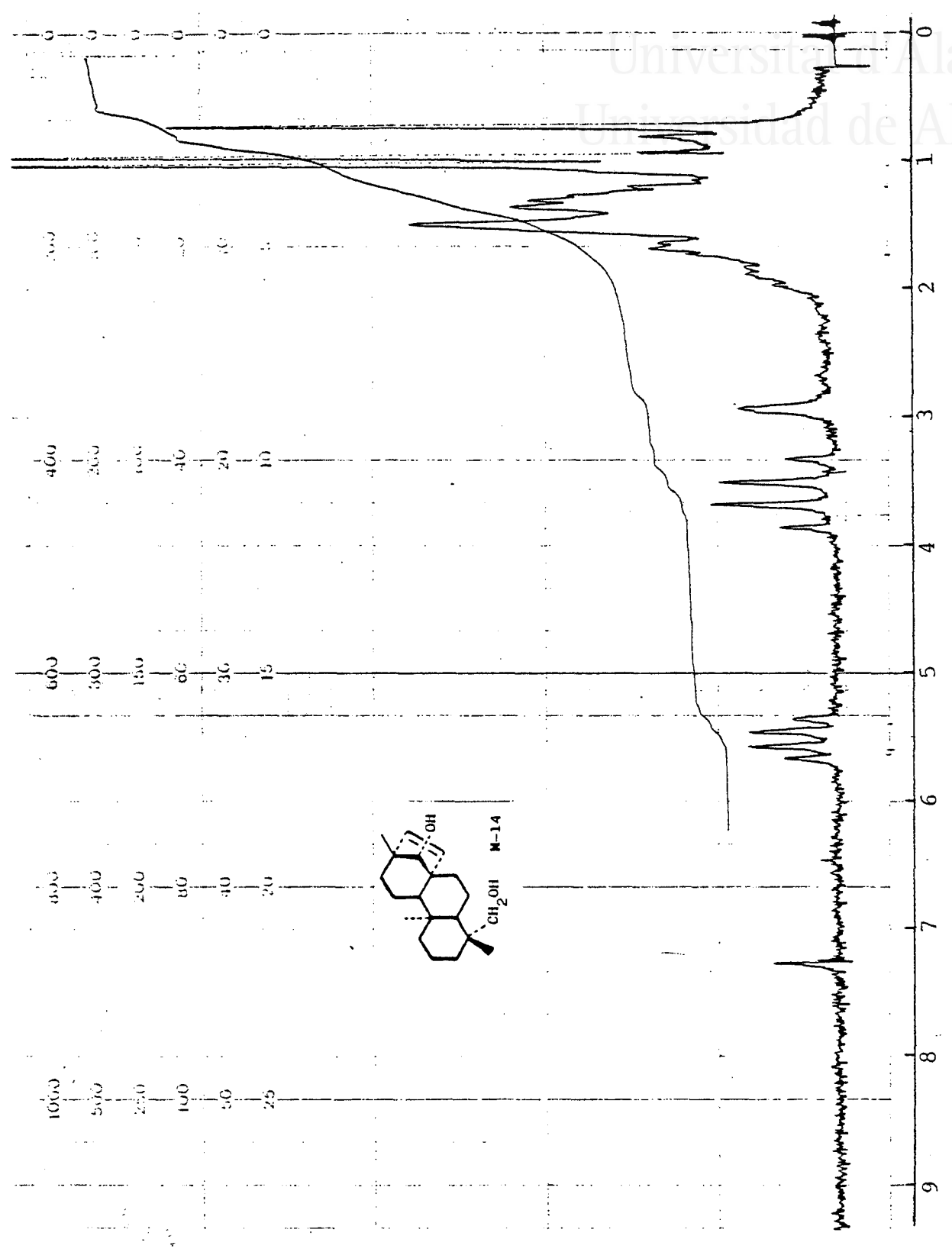


Fig. M-14c

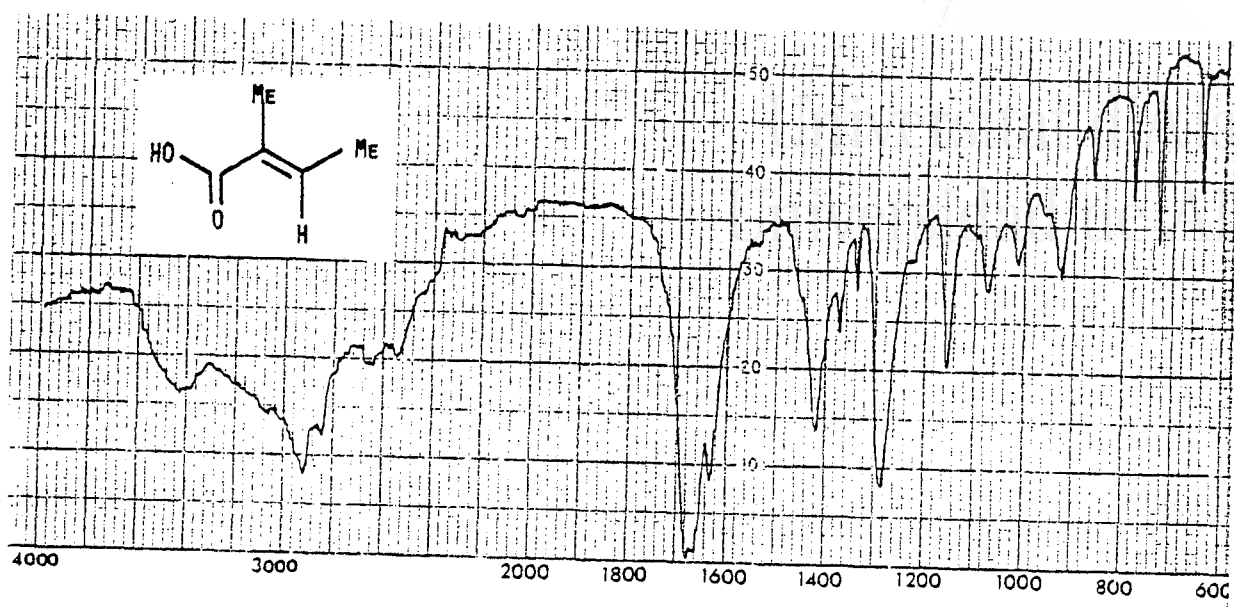


Fig. M-14e

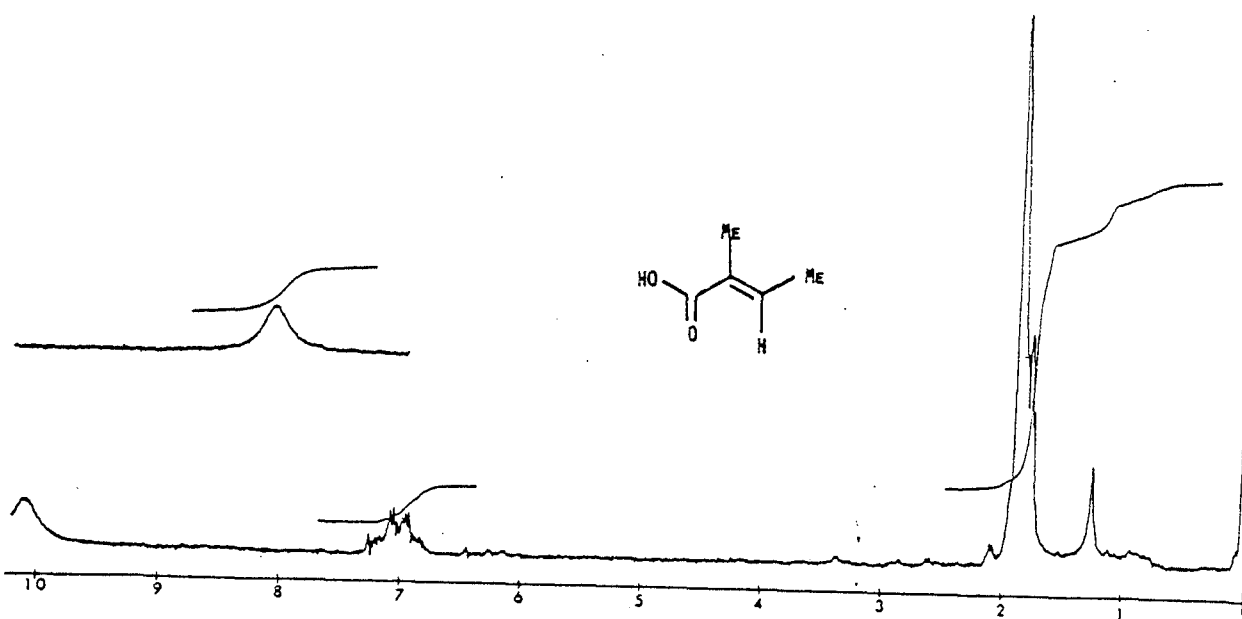


Fig. M-14f

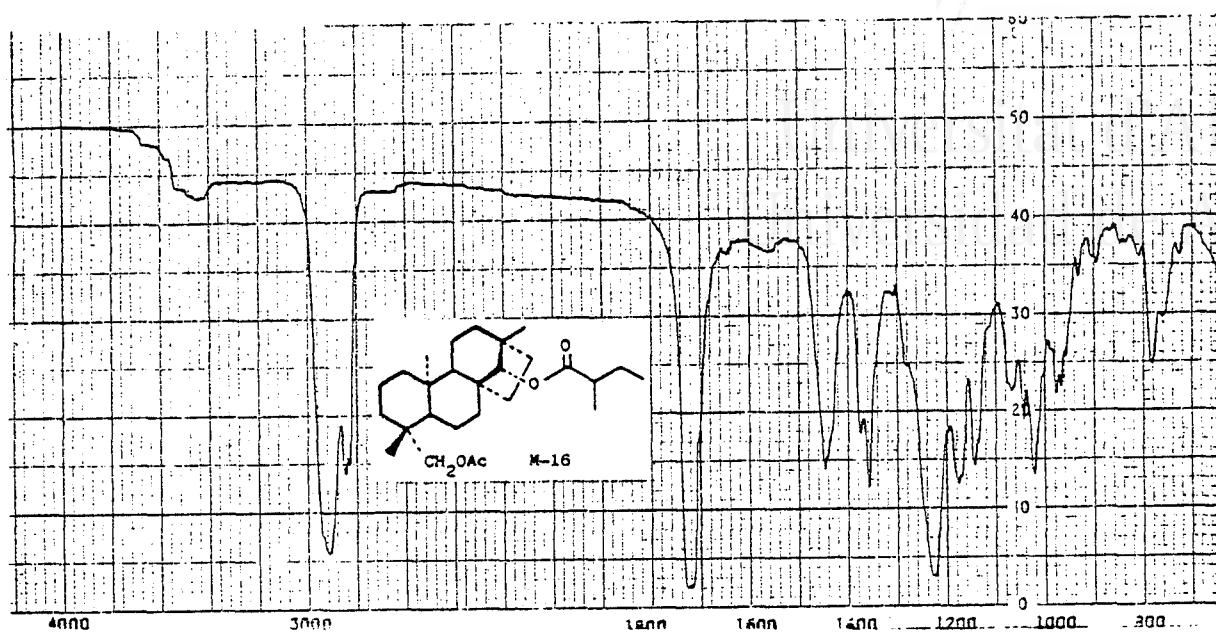


Fig. M-16a

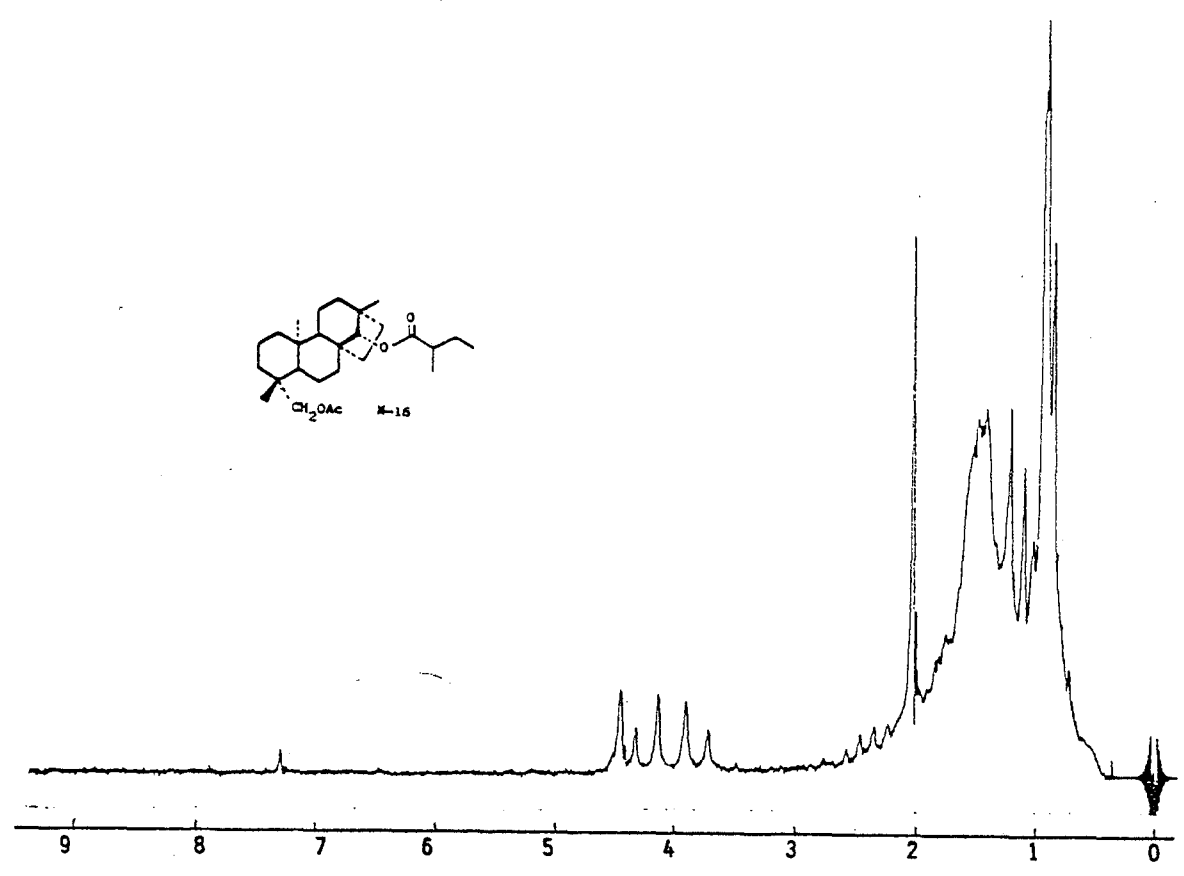
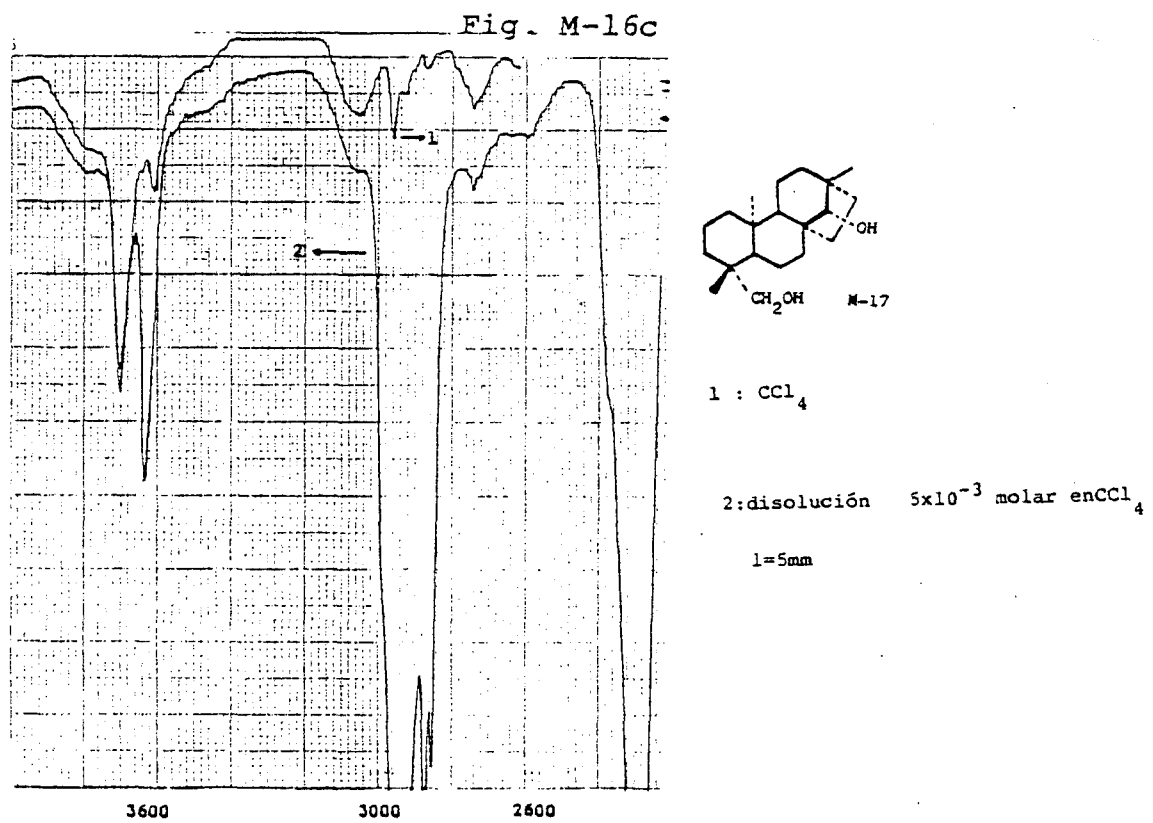
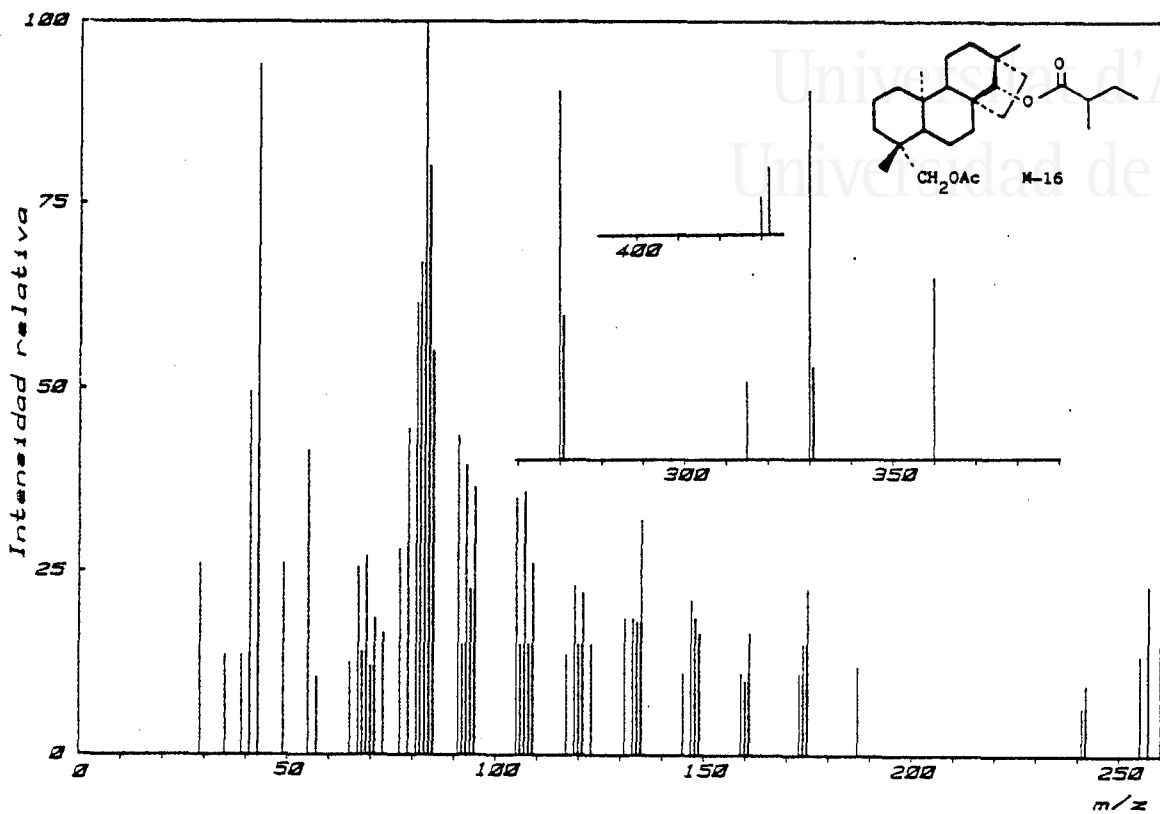


Fig. M-16b



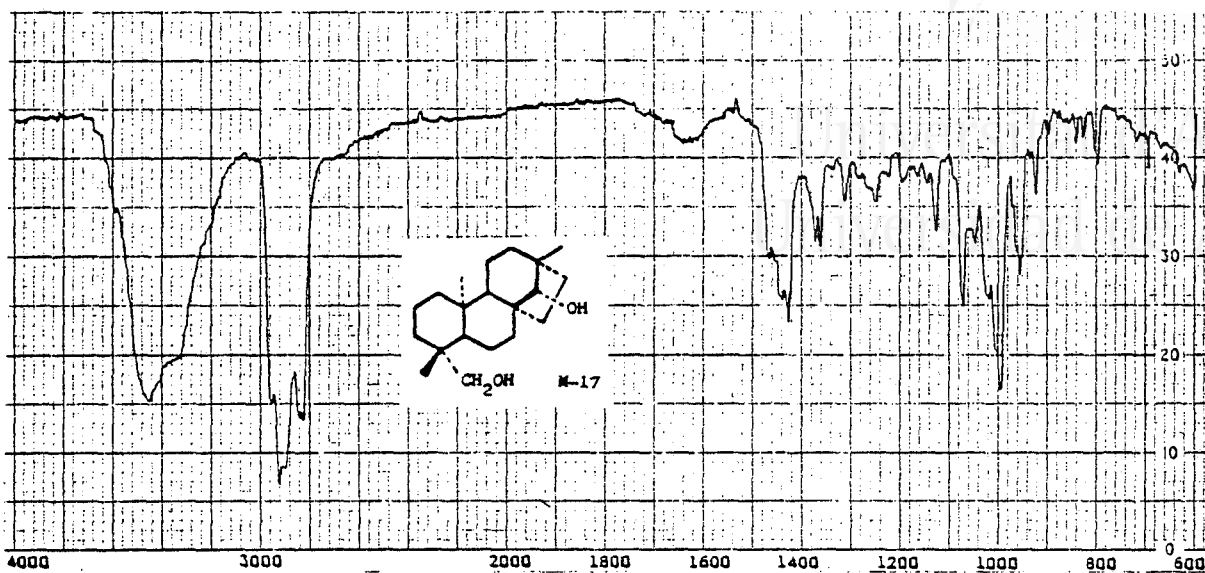


Fig. M-17a

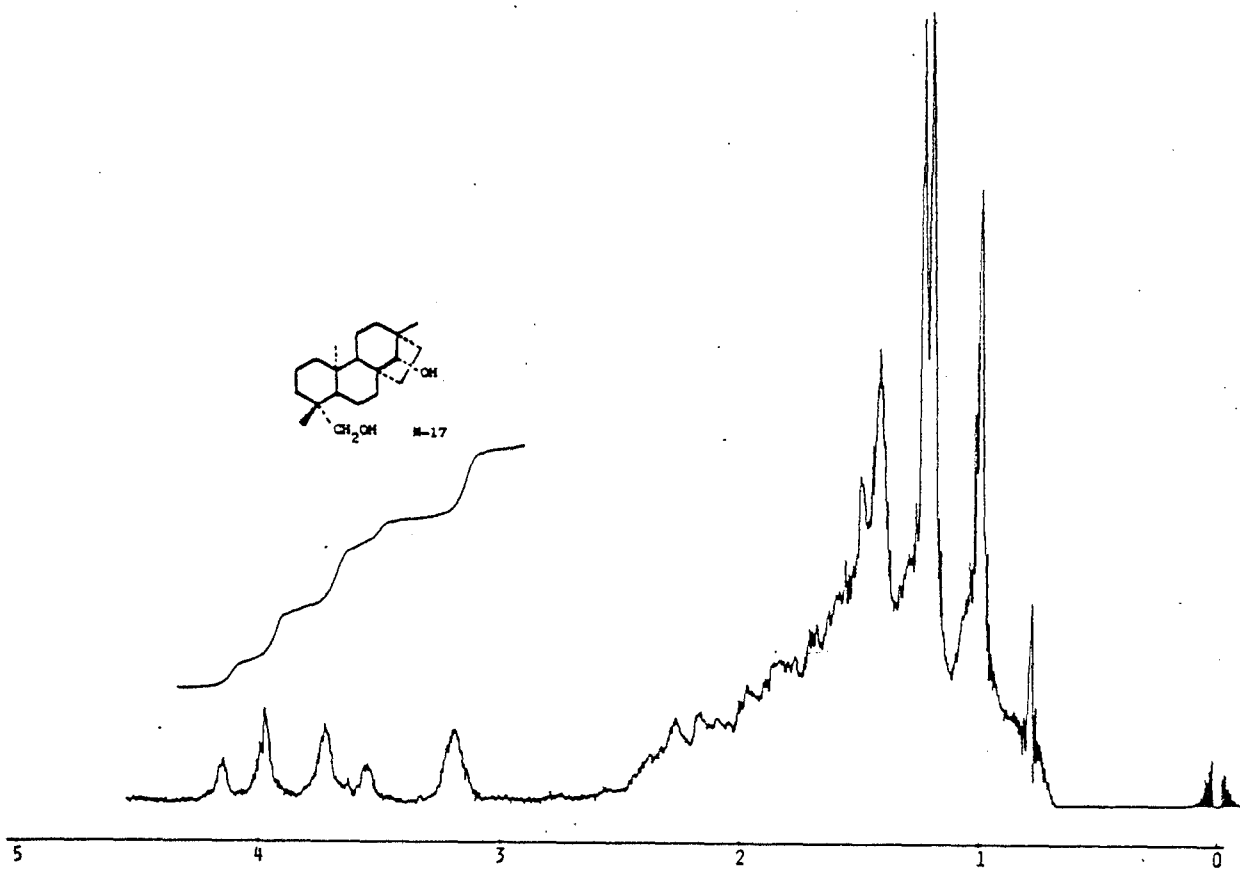


Fig. M-17c



Universitat d'Alacant
Universitat de Alicante

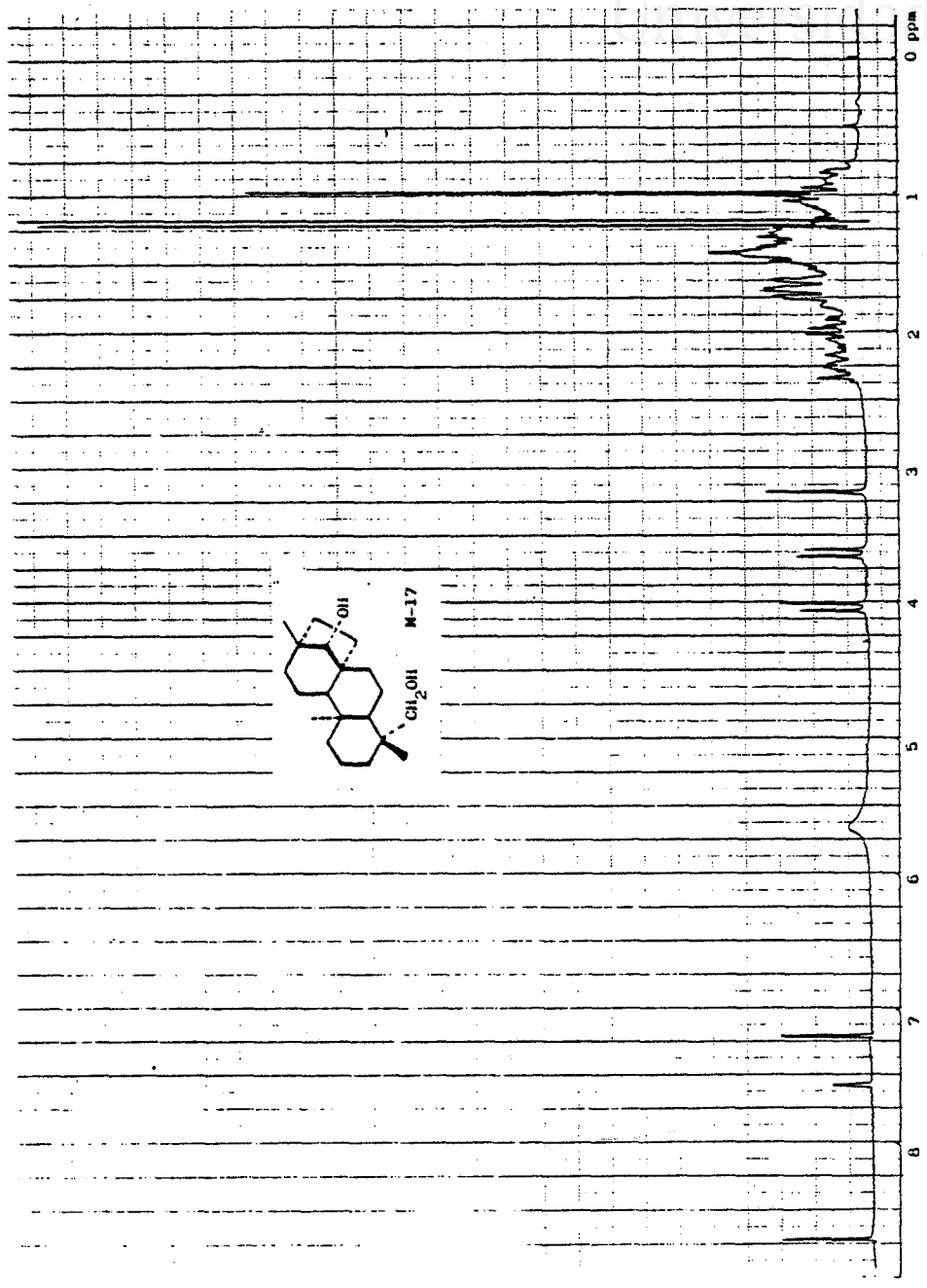


Fig. M-17d

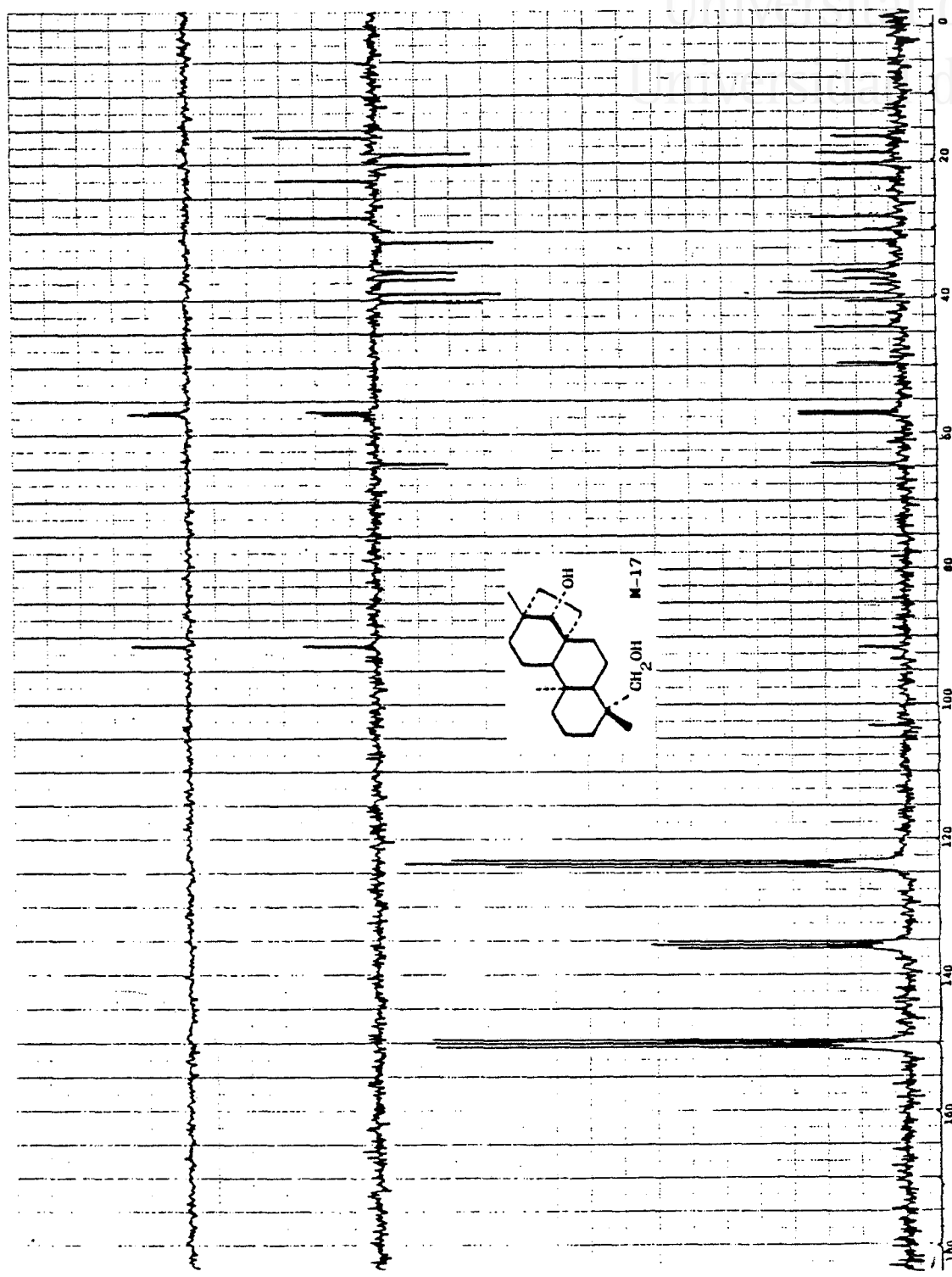


Fig. M-17e



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

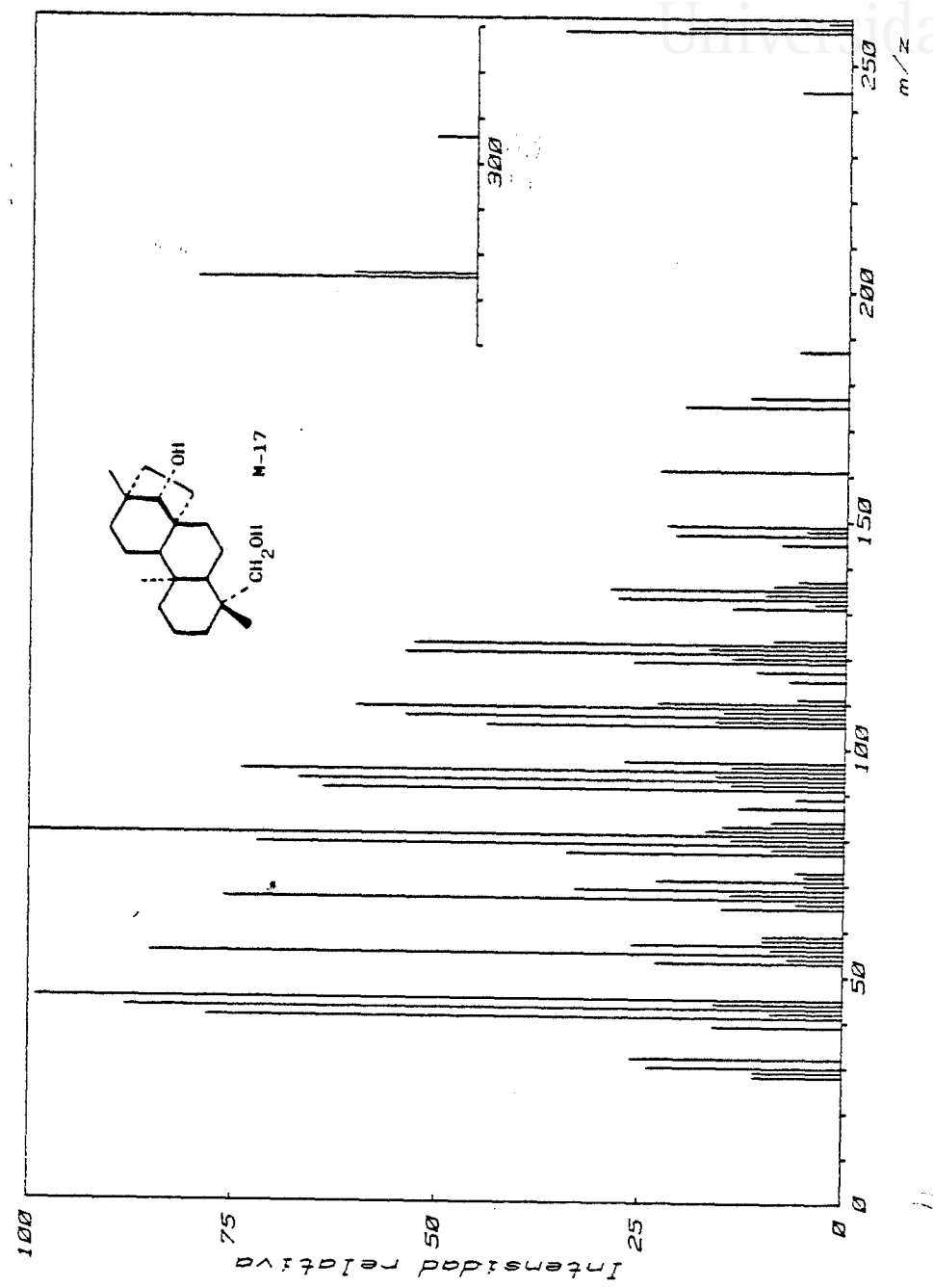


Fig. M-17f

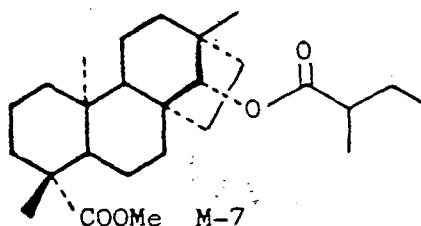
TRANSFORMACION DE A-4 EN EL DIOL T-10

Acetato hidrogenado M-7

Por hidrogenación de A-8, utilizando Ni-Raney como catalizador se obtuvo el compuesto M-7, el cual representa el primer paso de la serie de transformaciones (ver pag. 174), que se realizaron con objeto de correlacionar las sustancias citadas anteriormente, con el ent-beyer-14 α ,19-diol, cuyo enantiómero se encuentra descrito en bibliografía (68).

El espectro IR (fig. M-7a), difiere de A-8 en que desaparecen las absorciones de dobles enlaces, presentando la banda de carbonilo del tigolato solapada con la del éster metílico (1.725), debido a la ausencia de conjugación.

En el espectro de RMN ^1H (60MHz) (fig. M-7b), desaparecen las señales del doble enlace Δ^{15} , así como las del sustituyente tigloiloxilo, que debido a la saturación apantalla sus metilos a 1,20(3H,d,J=7Hz,H-5') y 0,93(3H,t,J=7Hz,H-4').





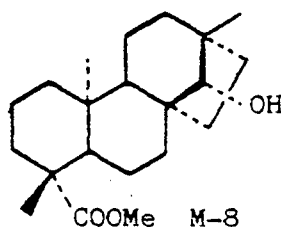
Universitat d'Alacant
 Universidad de Alicante

Alcohol M-8

La hidrólisis con KOH/MeOH 10% de M-7, dio M-8 que cristalizó en hexano dando Pf. 179-180°.

El espectro IR (fig, M-8a), presenta una banda intensa y aguda de grupo hidroxilo (3.520).

En el espectro de RMN ^1H (60MHz) (fig. M-8b), desaparecen las bandas del grupo 2-metilbuteniloxi, apantallándose el protón H-14 por efecto del hidroxilo geminal.



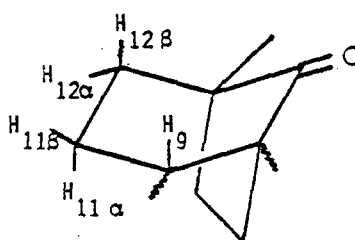
Cetona M-9

M-8 se oxidó con PCC/ CH_2Cl_2 , para dar la cetona M-9 que cristalizó en hexano dando un Pf. 119-120°.

En el espectro IR (fig. M-9b), desaparecen las bandas de hidroxilo y aparece una absorción de cetona (1.715).

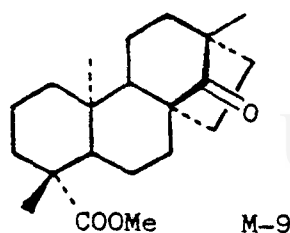
El espectro de RMN ^1H (200MHz) (fig, M-9d), presenta

los desplazamientos de los metilos muy similares a los de M-8. Las diferencias en el espectro radican en la ausencia del protón H-14, lo que confirma la existencia de un grupo C=O en C-14, y en la aparición de dos señales a 2,51(1H, m, H-11 α) y 2,16(1H, dddd, J=13,17Hz, J=3,50Hz, J=3,50Hz, J=1,61Hz, H-11 β).



Estos dos protones se encuentran desapantallados porque quedan dentro del cono desapantallante del grupo carbonilo de C-14. El protón H-11 α que se encuentra a campos más bajos aparece como un sistema complejo mientras que el H-11 β se muestra como un dddd, con un acoplamiento geminal grande (J=13,17Hz), dos acoplamientos iguales con los H-12 (J=3,50Hz) y un acoplamiento pequeño con H-9 (ángulo próximo a los 90°, J=1,61Hz).

El espectro de masas (fig. M-9d) confirma la estructura con un ión molecular a m/z 332 que corresponde a una fórmula C₂₁H₃₂O₃.

Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

Las asignaciones de los carbonos en RMN ^{13}C (fig. M-9c), se realizaron por comparación de los desplazamientos químicos de la cetona ent-beyeran-14-ona (columna A, tabla VIII), que se encuentra descrito en bibliografía (44), corrigiendo los datos con los incrementos calculados para un grupo metoxycarbonilo en C-19 (columna B). Estos últimos incrementos se calcularon por diferencia de las absorciones de los compuestos A-8 y ent-15-beyereno (41).

Los datos calculados (columna C) son concordantes con los experimentales (columna D).



TABLA VIII

Carbono	A	B	C	D
1	40,0	0,3	40,3	40,3
2	18,3	0,5	18,8	19,0
3	41,8	-4,2	37,6	37,9
4	33,1	10,5	43,6	43,8
5	55,1	0,2	55,3	56,0
6	18,6	0,4	19,0	20,2
7	32,2		32,2	32,6
8	51,2		51,2	51,1
9	60,2		60,2	59,3
10	38,9	1,4	39,3	39,1
11	19,1		19,1	19,5
12	42,2		42,2	42,1
13	46,8		46,8	46,8
14	222,7		222,7	222,7
15	30,3		30,3	30,3
16	27,8		27,8	27,4
17	19,6		19,6	19,5
18	33,6	-5,0	28,6	28,9
19	21,3	155,9	177,2	177,8
20	15,4	1,2	14,2	13,7
COOMe		51,1	51,1	51,1





Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

Diol M-10

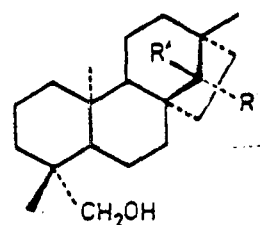
M-9 se redujo con LiAlH_4 para dar el compuesto M-10, que presenta un Pf. $203-204^\circ$ y $[\alpha]_D +1,54^\circ$.

Su espectro IR (fig. M-10a), presenta bandas de grupo hidroxilo, desapareciendo las absorciones características del carbonilo.

Su espectro de masas (fig. M-10e), presenta un ión molecular a m/z 306, correspondiente a una fórmula $\text{C}_{20}\text{H}_{34}\text{O}_2$, con fragmentos muy semejantes a los de M-17, a $288[\text{M}-\text{H}_2\text{O}]^+$, $276[\text{M}-\text{CH}_2\text{O}]^+$, y $275[\text{M}-\text{CH}_2\text{OH}]^+(100)$.

El espectro de RMN ^1H (200MHz) (fig. M-10c), es muy similar al descrito para M-17. La figura siguiente muestra los desplazamientos químicos en RMN de los protones de M-17 y M-10 que muestran diferencias significativas.

	R	R'	H-14	Me-17
M-10	H	OH	3,14	1,12
M-17	OH	H	3,18	1,23



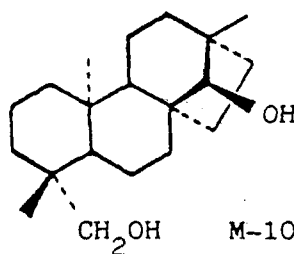
Como puede observarse el protón $\text{H}-14$ sufre un pequeño

apantallamiento cuando pasa de estar en posición ent-14 β (M-17) a ent-14 α (M-10). El metilo de C-17 se desapantalla cuando el hidroxilo está en ent-14 β .

Las asignaciones de los carbonos en RMN ^{13}C (fig. M-10d), se realizaron tomando como base los datos del ent-beyeran-14 α -ol (columna A, tabla IX), descrito en la bibliografía (44), incrementados por el efecto de un grupo hidroxilo axial en C-19 (columna B). Estos incrementos se calcularon por diferencia de las absorciones de los compuestos M-3 y ent-15-beyereno (41).

Los datos calculados (columna C) concuerdan con los experimentales (columna D).

Tanto las constantes físicas como los datos espectroscópicos, coinciden con los descritos en bibliografía para el enantiómero de este compuesto (68).



Los espectros de RMN ^1H de M-10 y los del enantiómero sintético que nos facilitó el Prof. Edwards, son idénticos.



TABLA IX

Carbono	A	B	C	D
1	39,7		39,7	40,3
2	18,5	-0,4	18,1	18,7
3	42,0	-6,6	35,4	36,2
4	33,2	5,2	38,4	39,2
5	56,0	0,8	56,8	57,0
6	19,2	0,1	19,3	20,2*
7	38,5	0,3	38,8	39,5
8	45,3		45,3	45,9
9	46,8		46,8	47,1
10	37,3		37,3	37,6
11	19,9		19,9	20,6*
12	32,4		32,4	32,9
13	40,1		40,1	40,6
14	83,8		83,8	83,3
15	31,9		31,9	32,6
16	29,6		29,6	30,0
17	25,1		25,1	25,7
18	33,6	-6,8	26,8	28,0
19	22,0	43,6	65,6	64,4
20	15,5	0,7	16,2	16,3

(*) Asignaciones intercambiables.



En la tabla X, se asignan las absorciones en RMN ^{13}C de los carbonos del compuesto M-17 visto anteriormente, por comparación con los datos de M-10.

En la primera columna de la tabla se representan las asignaciones para M-10, en la segunda las de M-17 y en la tercera los incrementos de desplazamiento más significativos entre las dos estructuras.

Como puede observarse, cuando el hidroxilo se encuentra en posición ent-14 α (M-10), los carbonos cuaternarios C-8 y C-13 que se encuentran en posición β sufren un desapantallamiento de aproximadamente 3,5 ppm. Igualmente los carbonos C-9 y C-12 pasan a estar en posición γ -anti por lo que también se encuentran desapantallados.

Los carbonos C-7 y C-17 tienen un efecto γ -gauche, cualquiera que sea la posición del hidroxilo en C-14, pero en el caso del OH ent-14 β el ángulo diedro es próximo a los 30°, mientras que en el ent-14 α (M-10) es de 90°, por lo que en este último deben de aparecer a campos más bajos.

El desapantallamiento de C-14, también es concordante con el calculado para un hidroxilo ent-14 β .



TABLA X

Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

Carbono	M-10	M-17	$\Delta_{M-17 - M-10}$
1	40,3	40,4	
2	18,7	18,7	
3	36,2	36,1	
4	39,2	39,2	
5	57,0	57,1**	
6	20,2*	20,3*	
7	39,5	37,2	-2,3
8	45,9	49,5	+3,6
9	47,1	56,7**	+9,6
10	37,6	38,2	
11	20,6*	20,4*	
12	32,9	39,2	+6,3
13	40,6	44,1	+3,5
14	83,3	91,4	+8,1
15	32,6	31,7	
16	30,0	30,0	
17	25,7	22,6	-3,1
18	28,0	28,1	
19	64,4	64,4	
20	16,3	16,3	

(*,**) Asignaciones intercambiables.



Fig. M-7a

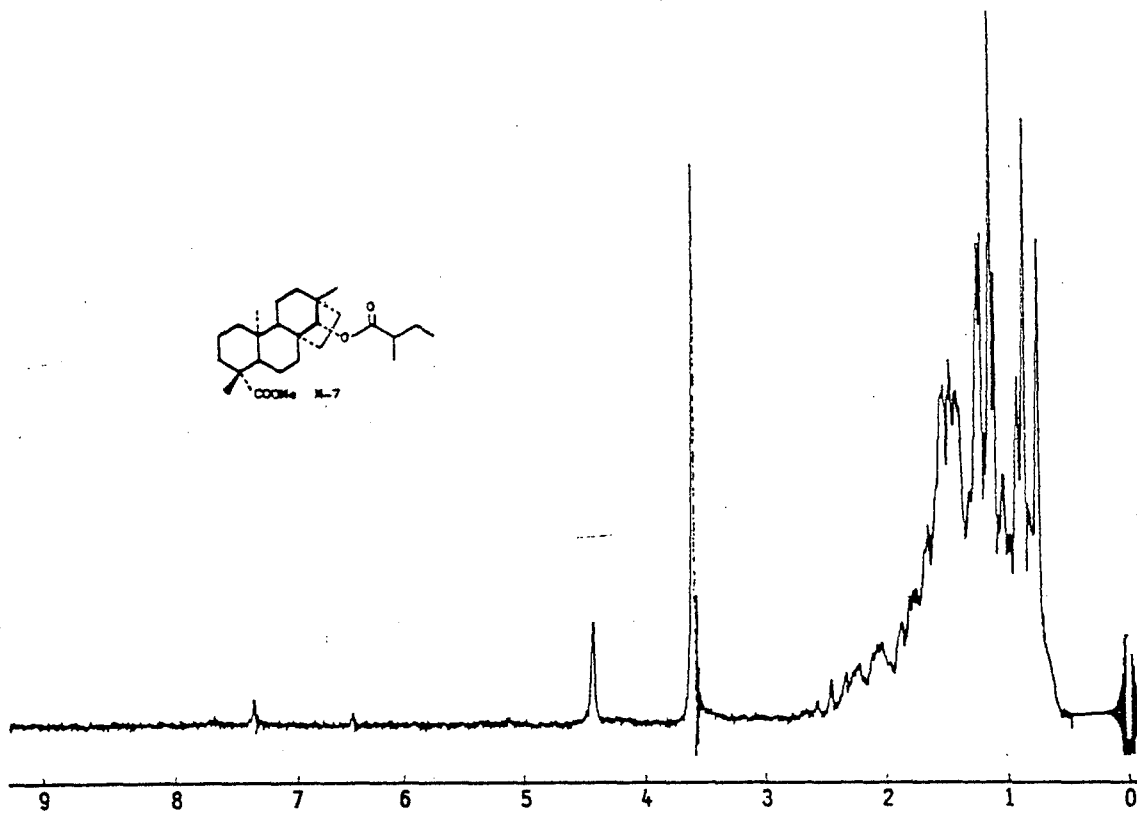


Fig. M-7b

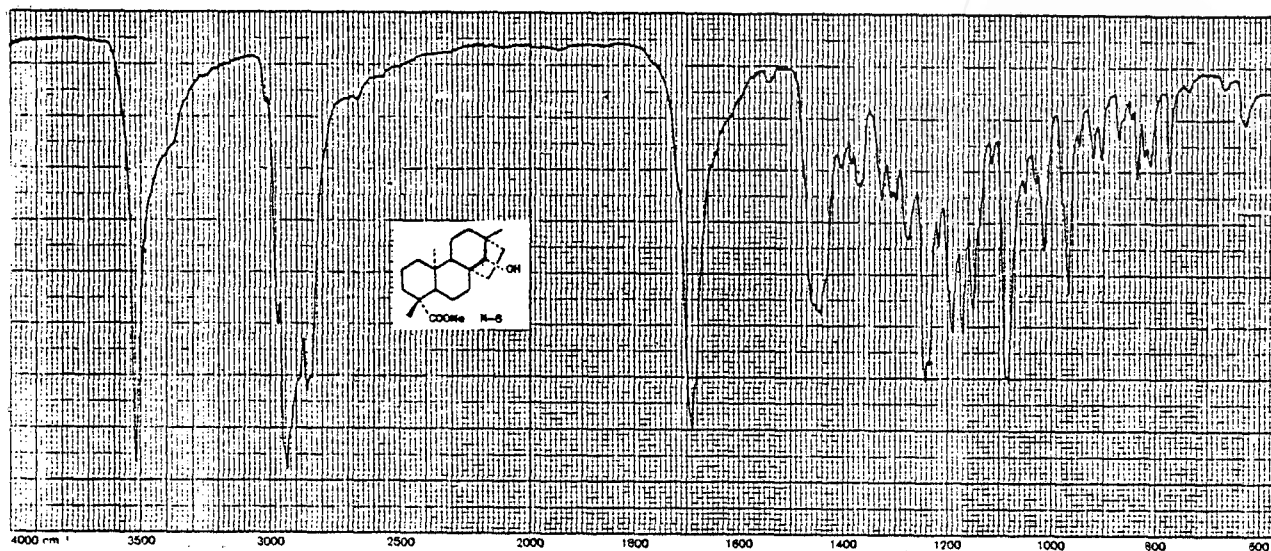


Fig. M-8a

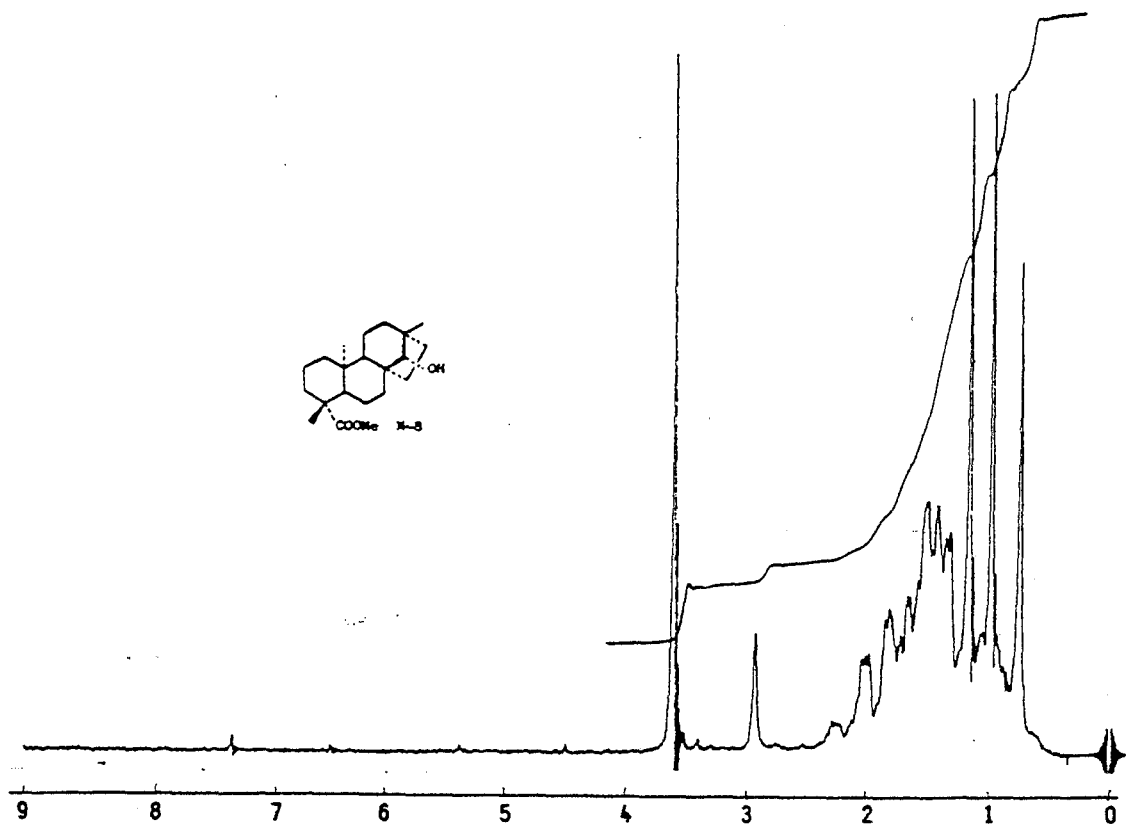


Fig. M-8b

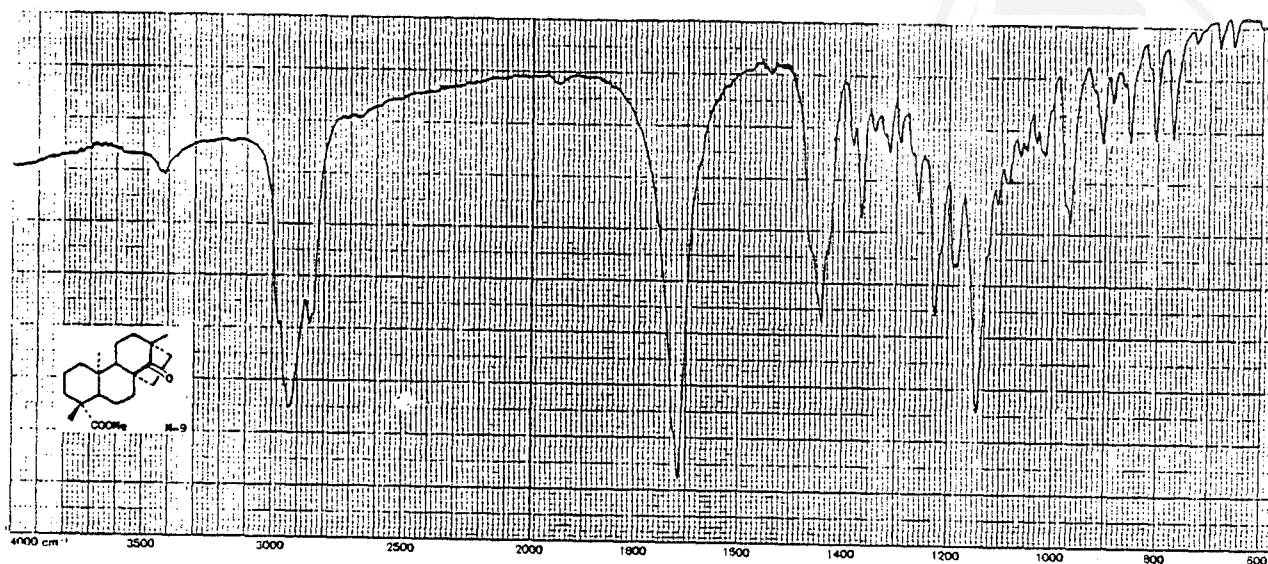


Fig. M-9b

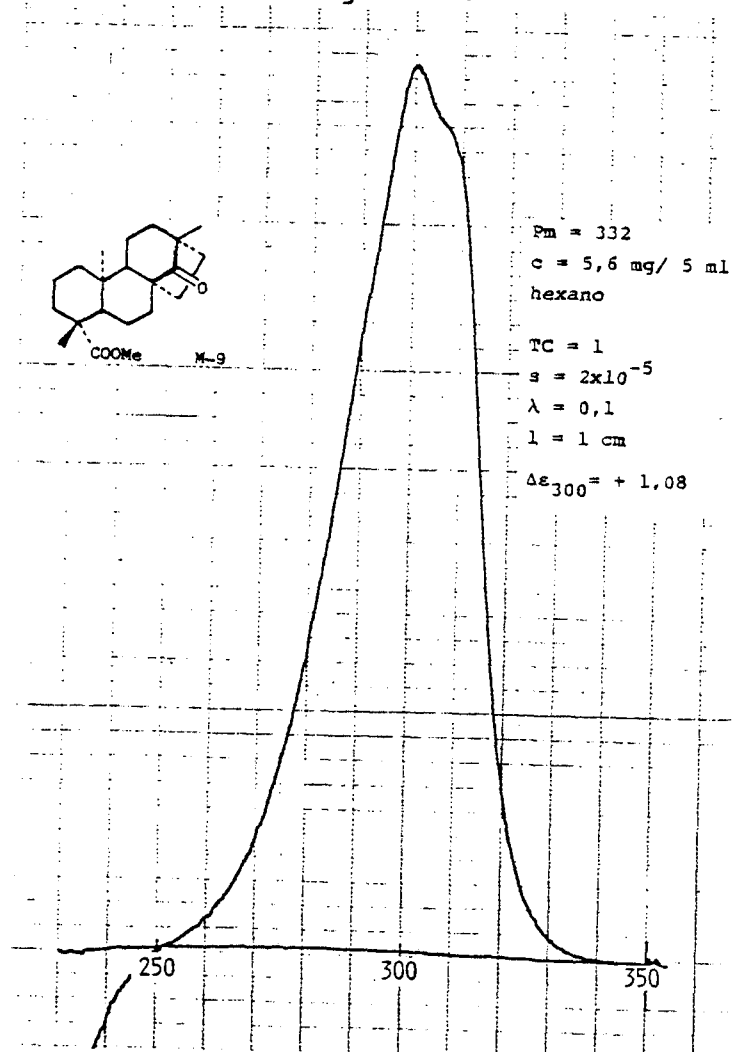


Fig. M-9a



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

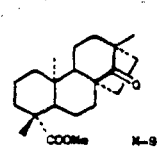
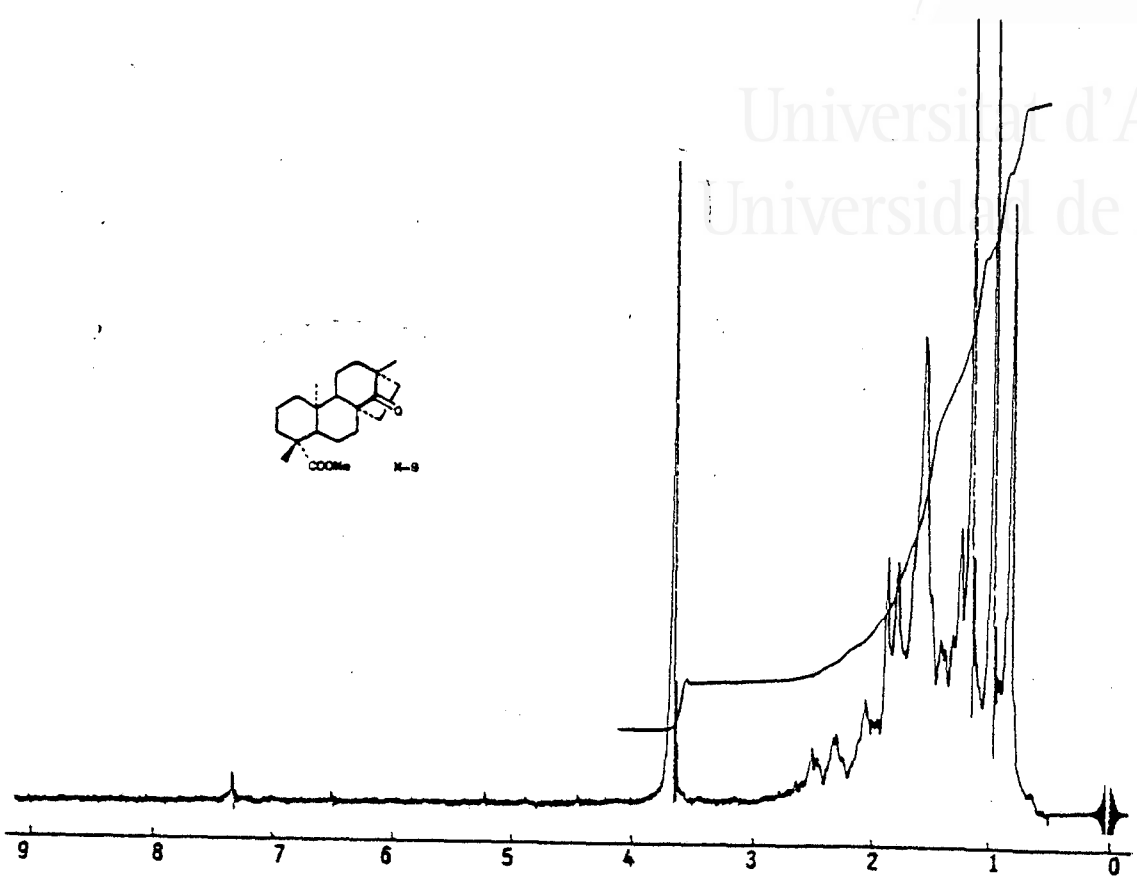


Fig. M-9c

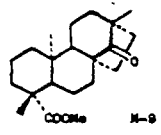
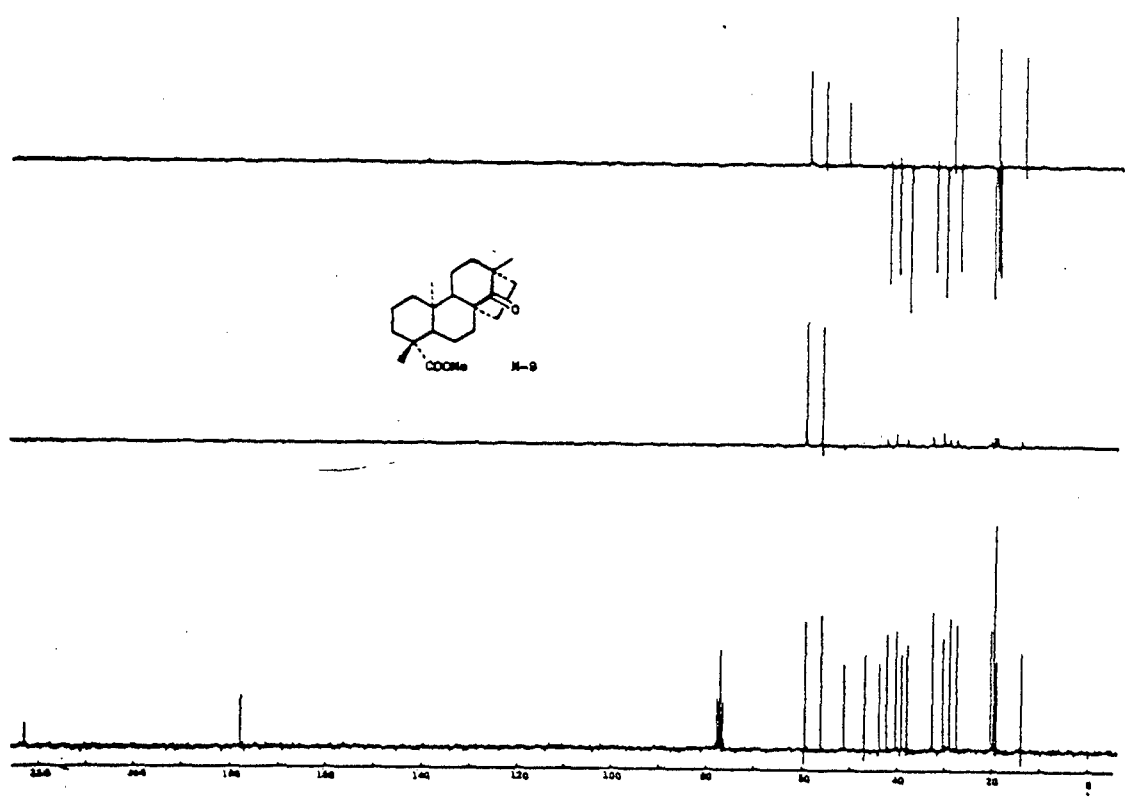


Fig. M-9e



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

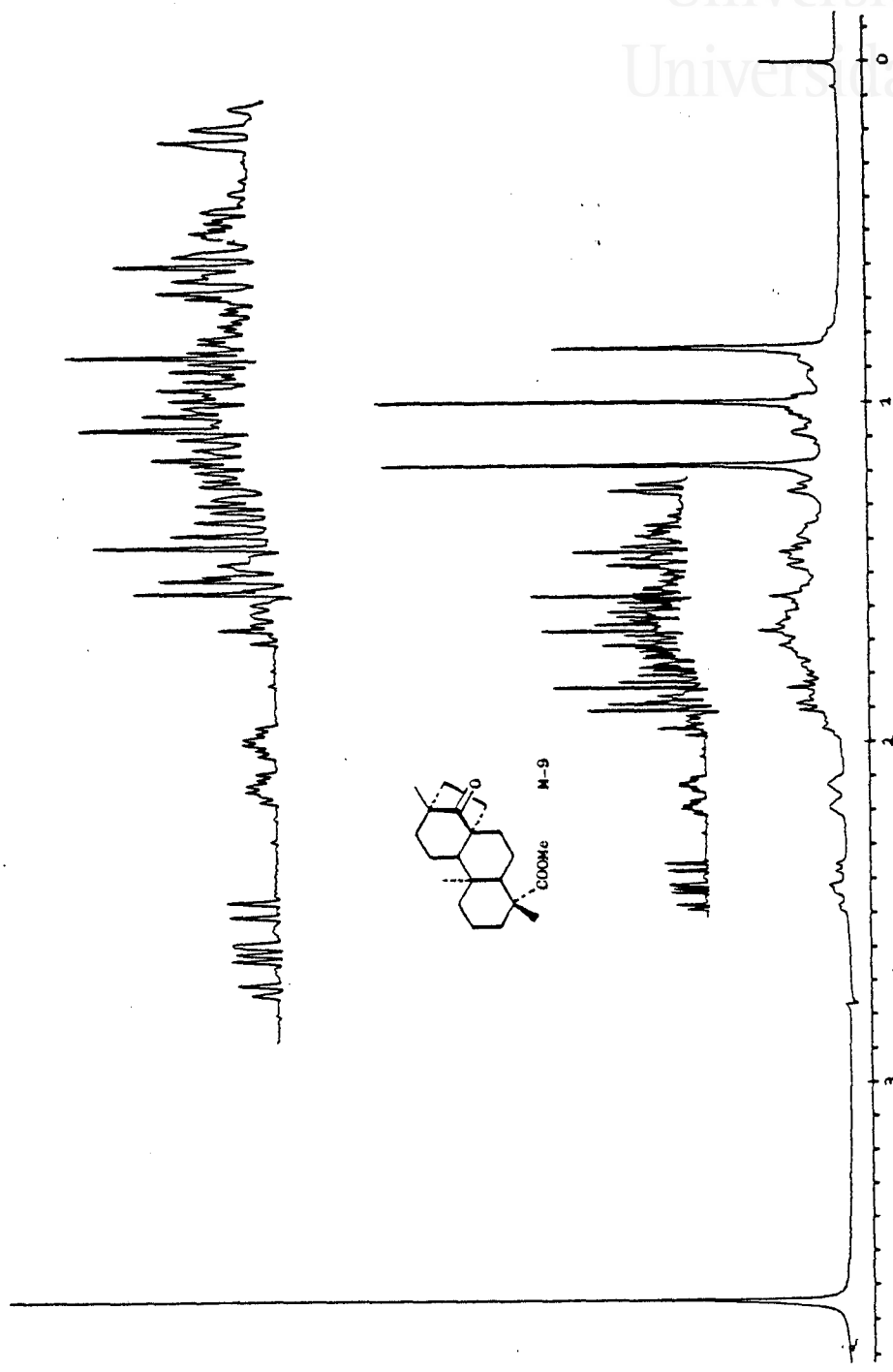
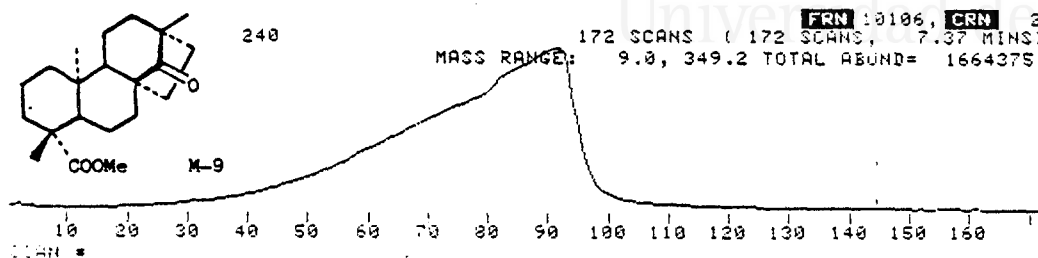


Fig. M-9d

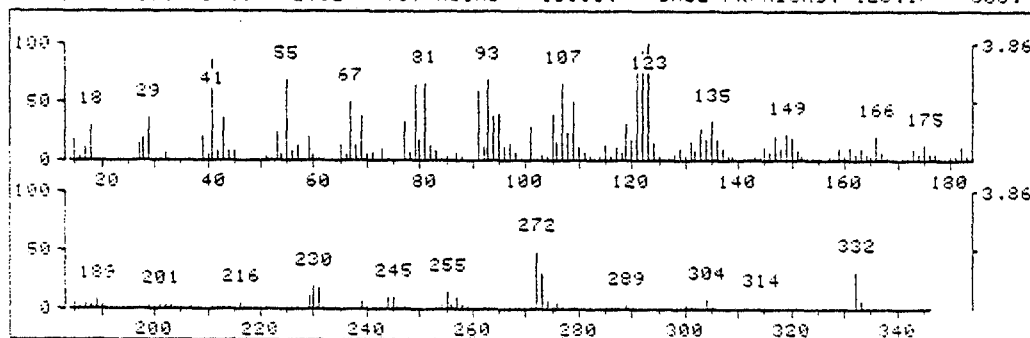


Universitat d'Alacant

Universidad de Alicante



54 RET. TIME: 2.62 TOT ABUND= 13086. BASE PK/ABUND: 123.1/ 505.



FRN 10106, SPECTRUM # 54 RET.TIME: 2.62, 215 PEAKS

M/Z	REL ABUND	M/Z	REL ABUND	M/Z	REL ABUND	M/Z	REL ABUND
15	19.4	73	9.5	115	14.1	151	7.9
17	11.7	77	34.1	117	11.7	159	10.3
18	31.1	79	65.1	119	31.3	161	11.7
27	14.3	80	18.6	120	18.6	163	10.9
28	19.6	81	66.9	121	89.1	166	20.4
29	36.4	82	12.9	122	94.5	173	9.5
39	20.8	83	9.1	123	100.0	175	14.1
41	86.1	91	60.4	124	15.2	182	12.1
42	8.5	92	12.5	129	10.3	189	7.9
43	36.0	93	69.5	131	16.2	229	11.3
44	8.7	94	38.2	132	8.5	230	19.8
45	8.7	95	39.8	133	27.1	231	18.2
53	24.6	96	12.3	134	18.6	244	9.5
55	69.7	97	15.4	135	32.9	245	9.7
56	8.9	101	29.1	136	18.0	255	14.3
57	13.9	105	39.4	137	10.7	257	9.9
59	21.0	106	16.6	145	11.1	272	48.9
65	13.5	107	66.7	147	20.8	273	30.3
67	50.1	108	24.2	148	9.7	304	8.7
68	13.7	109	50.3	149	22.2	332	32.5
69	39.0	110	12.5	150	20.0		

>PAUSE

Fig. M-9f

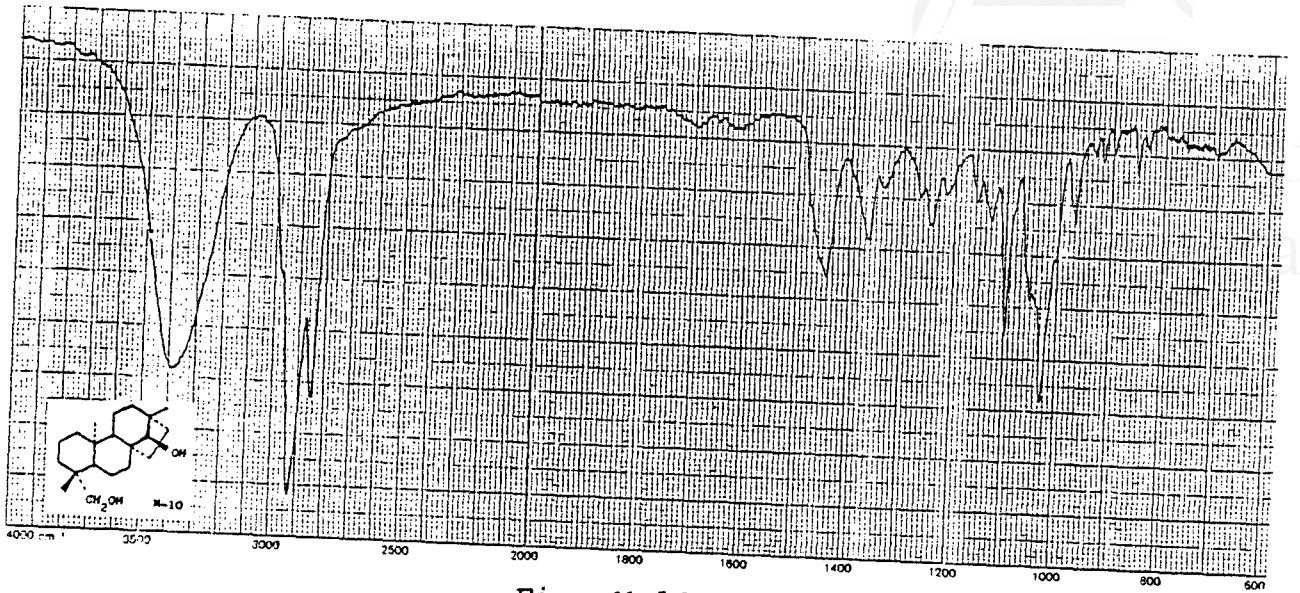


Fig. M-10a

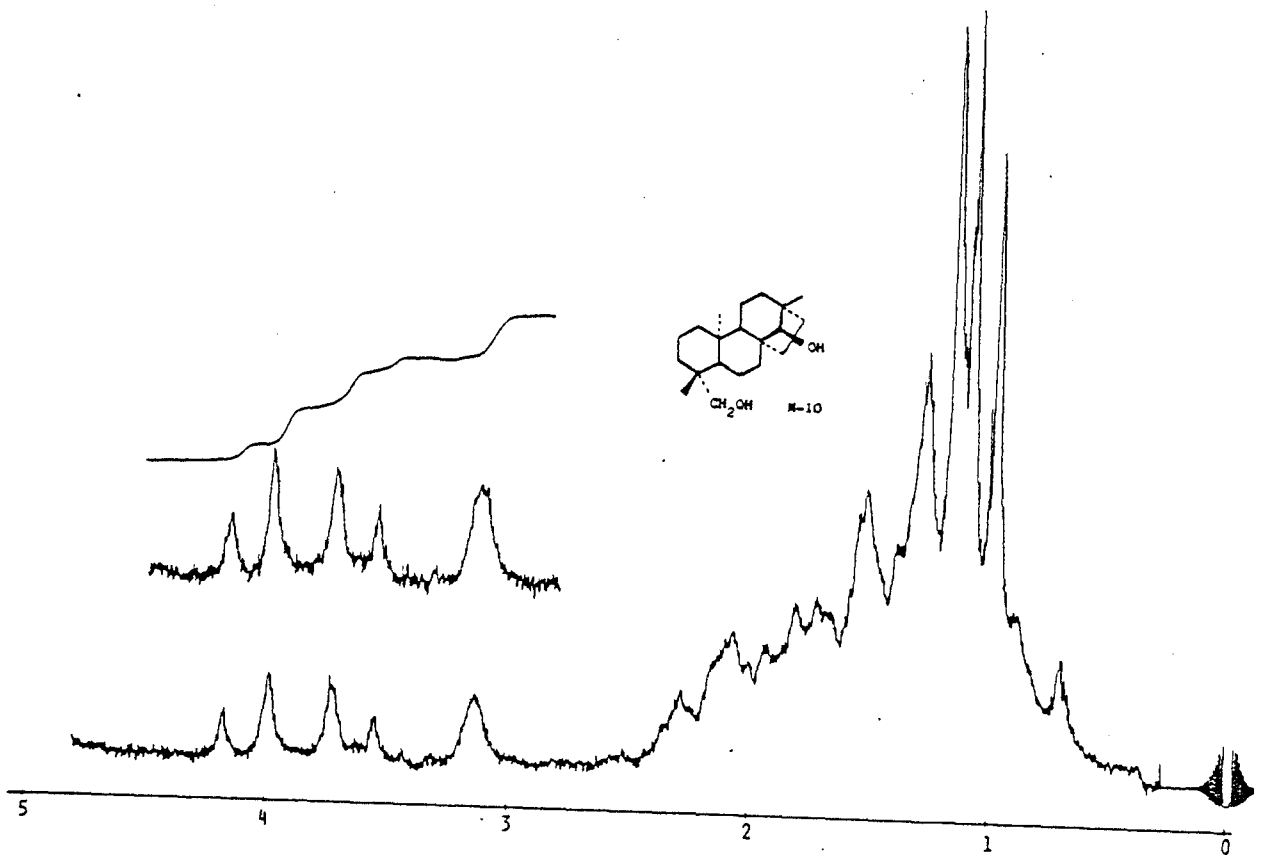


Fig. M-10b



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

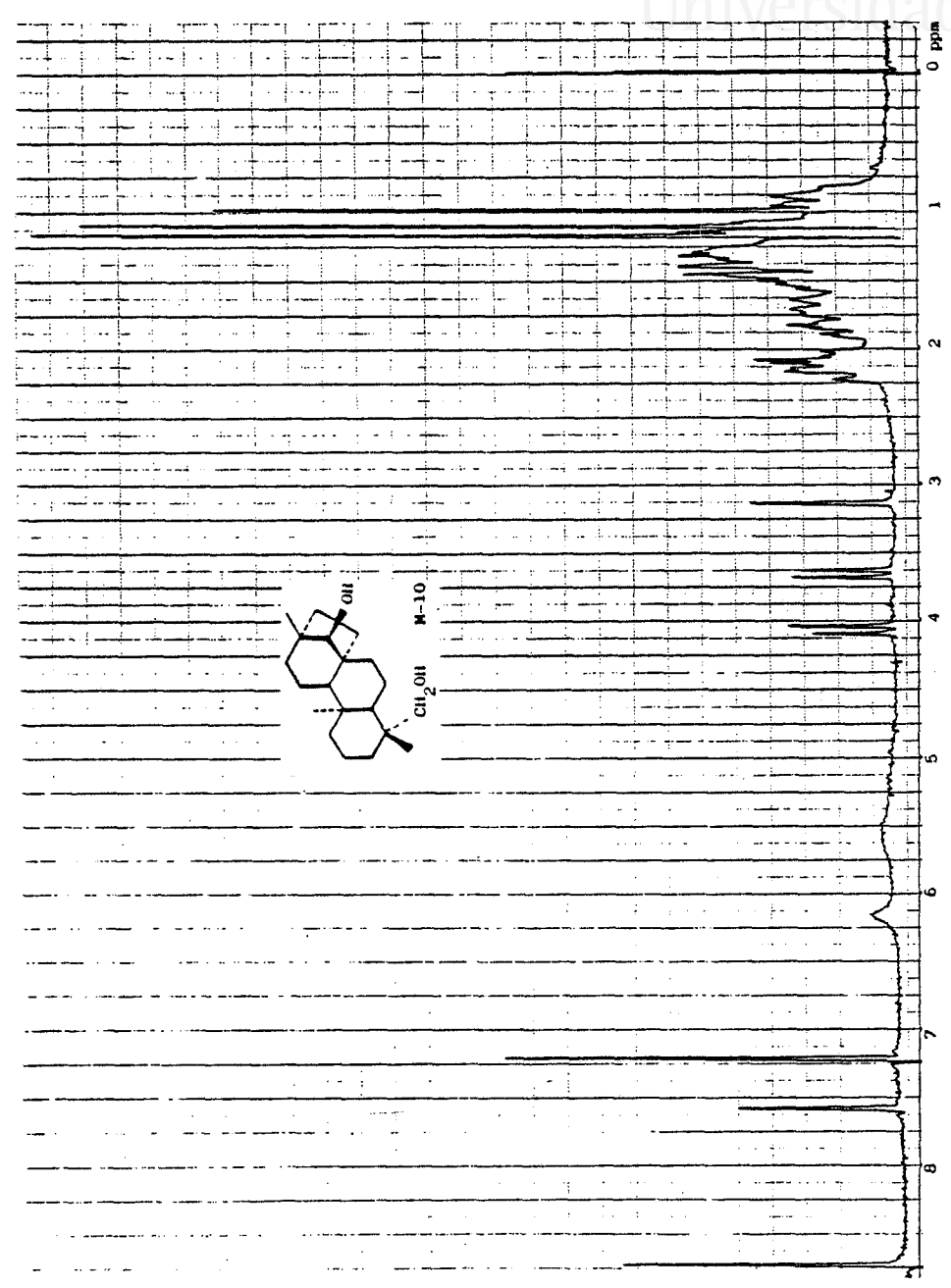


Fig. M-10C



Universidad d'Alacant
de Alicante

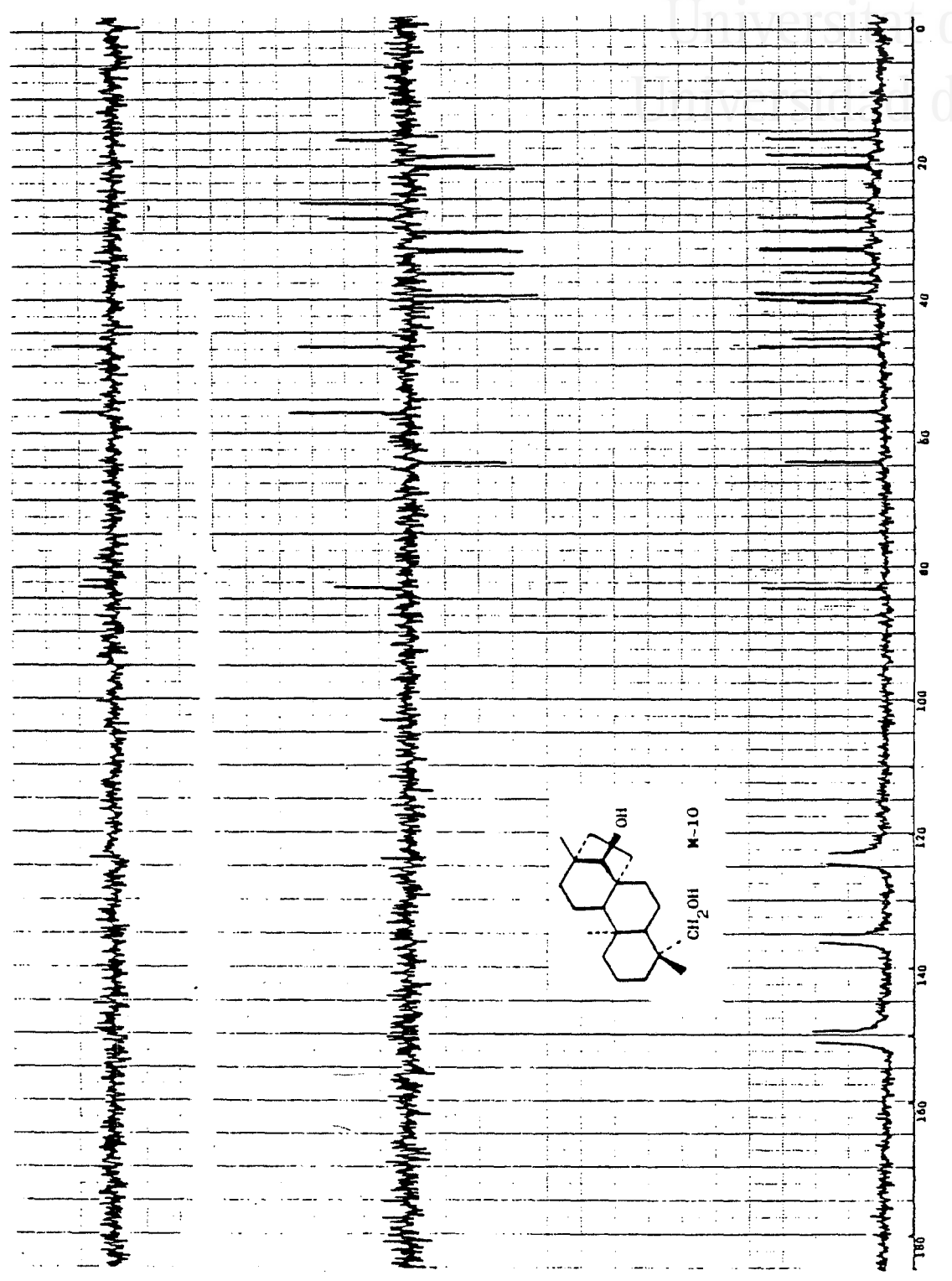
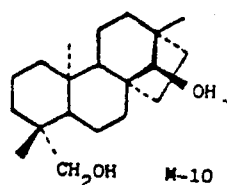


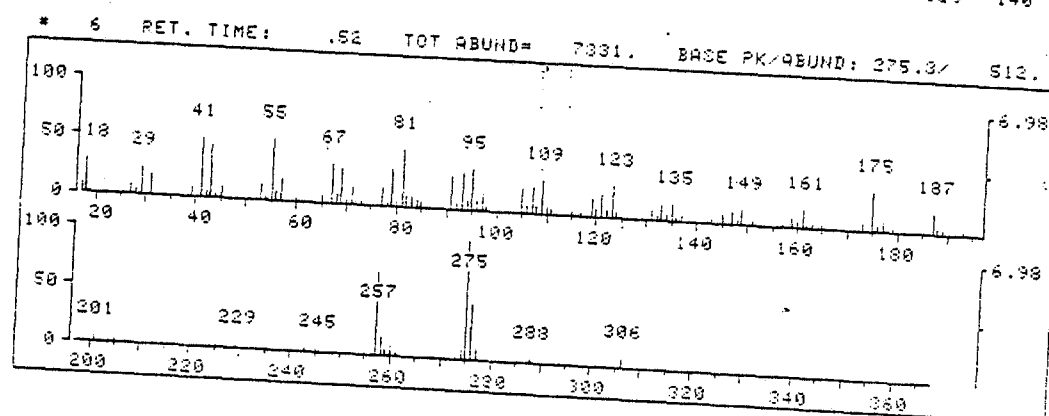
Fig. M-10d



FRN 10302. CRN 12
 147 SCANS (147 SCANS, 5.07 MINS)
 MASS RANGE: 9.0, 368.4 TOTAL ABUND= 424309.

Universitat d'Alacant
 Universidad de Alicante

SCAN * 10 20 30 40 50 60 70 80 90 100 110 120 130 140



FRN 10302, SPECTRUM # 6 RET. TIME: .52, 105 PEAKS

M/Z	REL ABUND	M/Z	REL ABUND	M/Z	REL ABUND	M/Z	REL ABUND
17	9.2	79	31.6	122	6.4	177	8.2
18	29.3	80	5.7	123	27.5	178	3.7
27	9.2	81	48.6	124	5.1	187	17.6
28	5.7	82	9.8	129	4.3	188	4.9
29	23.8	83	12.7	131	9.2	189	4.5
31	17.8	84	7.4	132	3.3	193	4.5
39	8.8	85	4.7	133	13.7	201	5.5
41	51.2	91	28.5	134	5.9	205	4.3
42	6.1	92	6.2	135	15.0	229	3.3
43	44.9	93	31.8	136	4.5	243	3.3
44	3.9	94	8.8	137	4.9	245	4.1
45	10.5	95	34.4	143	3.3	255	2.9
53	12.9	96	9.4	145	8.4	257	71.1
54	3.9	97	15.2	147	11.7	258	15.6
55	52.5	98	3.7	148	3.9	259	4.9
56	7.8	105	20.7	149	13.7	260	8.2
57	19.3	106	7.6	151	3.5	261	3.5
60	3.5	107	23.0	157	2.9	273	3.3
65	6.6	108	7.2	159	8.4	274	7.8
67	33.8	109	28.7	160	5.7	275	100.0
68	8.8	110	6.6	161	16.0	276	47.1
69	31.1	111	4.9	162	2.9	277	9.6
70	4.5	115	3.3	163	4.5	288	3.9
71	14.1	117	5.3	165	3.3	306	8.4
73	4.5	119	15.6	173	6.2		
77	15.6	120	6.4	175	34.0		
78	3.3	121	18.9	176	8.1		

>PAUSE

Fig. M-10e



M-2: ent-3 β -Acetoxi-14 β -tigloiloxi-15-beyeren-19-al

La sustancia M-2 se aisló de las fracciones C31 - C47 y después de purificada por cristalización en hexano, presentó un Pf. 169-171°.

El espectro IR (fig. M-2a) presenta absorciones características de dobles enlaces, posiblemente tri- y disustituídos en cis (3.050, 1.645, 790, 725), grupo aldehído (2.720, 1.700), acetato (1.720, 1.240) y éster conjugado (1.695, 1.265).

El espectro de RMN ^1H (200MHz) (fig. M-2d), es muy similar al descrito para el compuesto M-4. Aparecen las señales características del grupo tigloiloxilo a δ 6,80 (1H, cc, J=6Hz, J=0,8Hz, H-3'), 1,79 (3H, qnt, J=0,8Hz, H-5') y 1,77 (3H, dd, J=6Hz, J=0,8Hz, H-4'). El protón geminal a este sustituyente aparece a 4,54 (1H, s(a), H-14), formando un sistema ABX similar al discutido en M-4, con los protones vinílicos a 5,58 (1H, dd, J=5,8Hz, J=0,8Hz, H-16) y 5,45 (1H, dd, J=5,8Hz, J=1,1Hz, H-15). Este acoplamiento se comprobó por doble irradiación sobre la señal de H-14, consiguiéndose un estrechamiento de las señales de los protones olefínicos. El que estos últimos sigan sin presentar acoplamiento en α nos indica que debe tratarse también, de un ditérpeno tetracíclico de la serie beyerano, ya que



como en las sustancias descritas anteriormente, el doble enlace únicamente puede situarse entre los carbonos C-15 y C-16 de una estructura de este tipo.

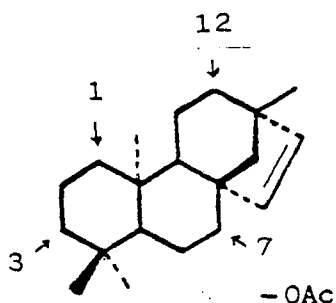
Una diferencia muy importante con respecto al espectro de RMN ^1H de M-4, es la desaparición del sistema AB del grupo hidroximetileno y la aparición a 10,05(1H,s, H-19) de un protón de aldehído. En principio, podemos suponer que el grupo aldehído ocupa la misma posición en C-9 que tenía el alcohol primario. Esta hipótesis está en concordancia con los desplazamientos químicos de los tres metilos, que absorben a 1,06(3H,s,H-18), 0,93(3H,s,H-17) y 0,68(3H,s,H-20). Estos desplazamientos son muy similares a los descritos en M-1 y M-1', que también presentan un aldehído axial en C-19. Los pequeños desapantallamientos de los metilos en C-18 y C-20, pueden explicarse satisfactoriamente por la presencia, como veremos más adelante, de un grupo acetoxilo ecuatorial en C-3 (74).

Del resto del espectro cabe destacar las señales a 2,04(3H,s,H-2") del metilo del grupo acetato y a 4,65(1H, dd, $J_{\text{XA}}=9,3\text{Hz}$, $J_{\text{XB}}=7,8\text{Hz}$, H-3), que corresponde a la parte X de un sistema ABX y se asigna a un protón geminal a acetato.

En resumen, la sustancia M-2 debe tratarse de un aldehído diterpénico de la serie beyerano, sustituido por

un grupo acetoxilo y otro tigloiloxilo, lo cual se confirma por el espectro de masas (fig. M-2f), que presenta un ión molecular a m/z 442, correspondiente a una fórmula empírica $C_{27}H_{38}O_5$.

Las posiciones del grupo aldehído y tigloiloxilo, han quedado fijadas por los datos de RMN 1H . En cuanto al grupo acetoxilo podría encontrarse situado en las posiciones C-1, C-7, C-3 y C-12, en configuración ecuatorial de acuerdo con las constantes de acoplamiento, observadas en su protón geminal.



El espectro de RMN ^{13}C (fig. M-2e) nos permitió definir la posición del grupo acetoxilo. Como puede apreciarse en la tabla XI, los desplazamientos de los carbonos correspondientes a los anillos B, C y D en los compuestos M-1' y M-2 son muy semejantes.

Esto en principio permite descartar las posiciones C-7 y C-12, así como la C-1, ya que dada la proximidad



TABLA XI

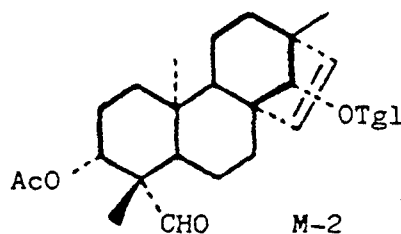
Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

Carbono	M-1'	M-2	$\Delta_{M-2 - M-1'}$
1	38,9	36,6	-2,3
2	18,4	24,1	5,7
3	34,2	78,6	44,4
4	48,2	51,8	3,6
5	56,0	56,9	0,9
6	19,9	20,2	
7	31,4	31,0	
8	52,9	52,8	
9	51,6	51,3	
10	37,6	37,0	-0,6
11	18,8	19,3	
12	32,3	32,3	
13	48,2	48,3	
14	94,1	94,1	
15	131,9	131,8	
16	133,9	134,1	
17	19,3	19,2	
18	24,4	20,2	-4,2
19	205,6	204,4	
20	14,8	16,3	1,5

espacial con este carbono, C-10 y C-11 deberían aparecer más apantallados (41).

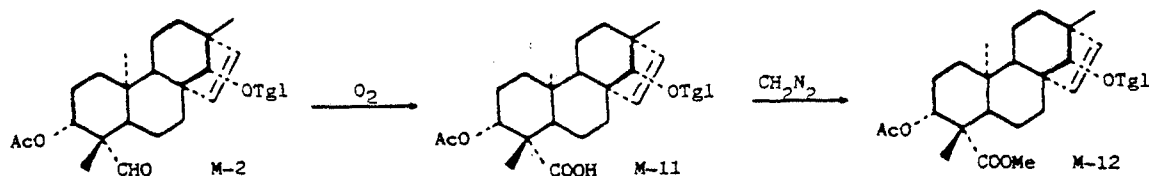
Los desplazamientos que presenta el grupo tiglato (ver tablas RMN ^{13}C) concuerdan perfectamente con los datos bibliográficos (35).

Las diferencias observadas entre M-2 y M-1' en el primer anillo (columna tercera), pueden explicarse perfectamente situando el grupo acetoxilo ecuatorial en C-3. Los efectos α y β de este grupo concuerdan con los desapantallamientos observados para C-2, C-3 y C-4. Igualmente el desapantallamiento que se observa en C-18 (γ -gauche) concuerda con la posición ecuatorial del acetoxilo en C-3. Si el sustituyente en C-3 fuera axial, el apantallamiento sufrido por C-1, C-5 y C-18 debería ser del mismo orden. Dado que esto no se observa, se propone en consecuencia la estructura siguiente:

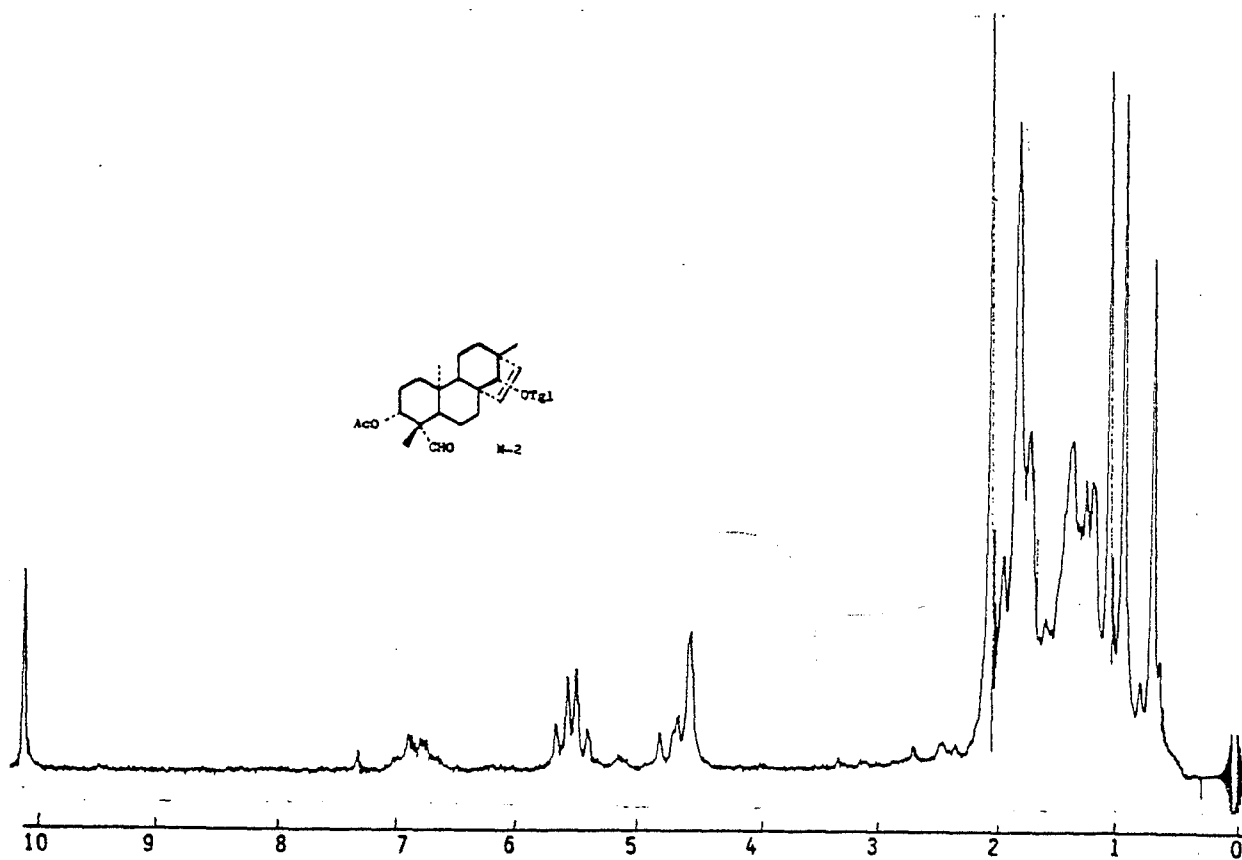
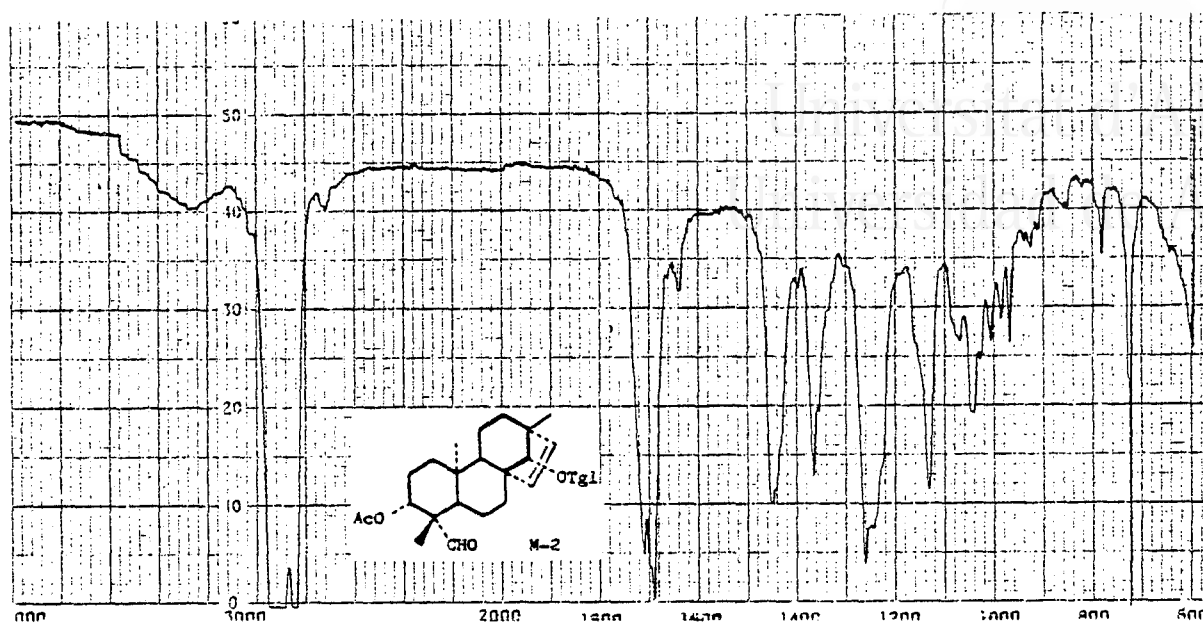


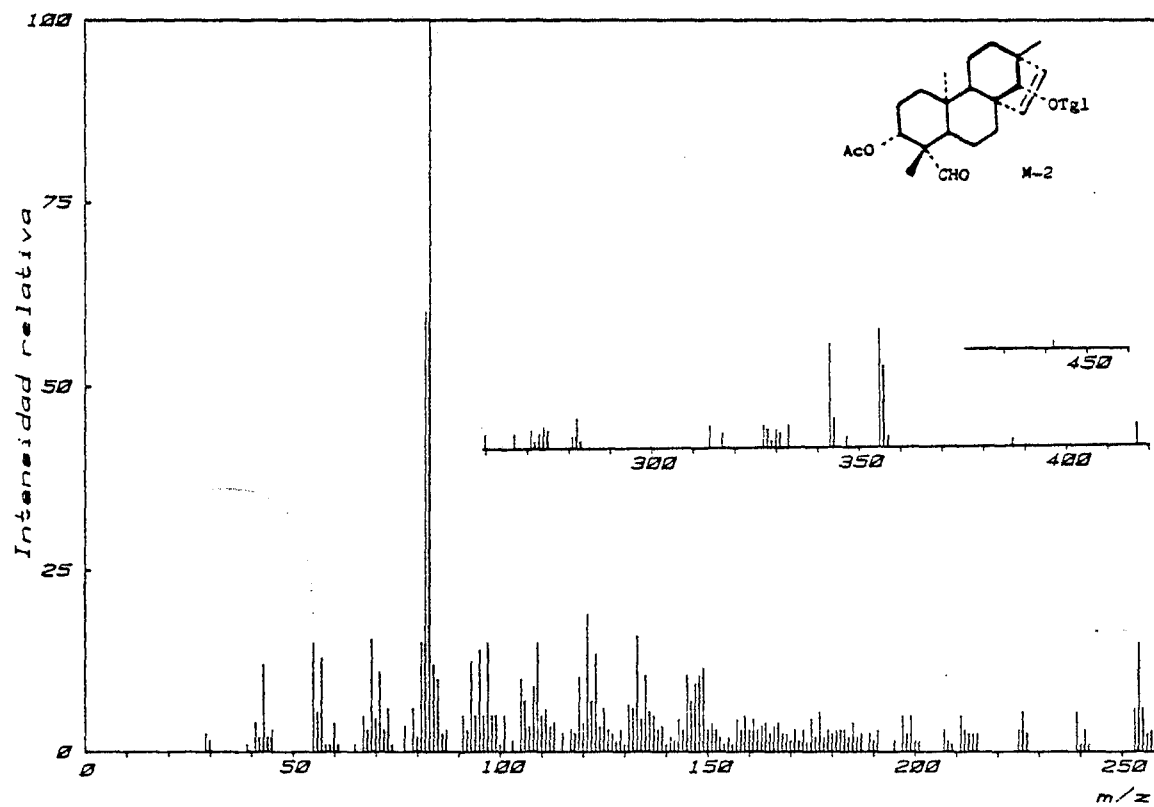
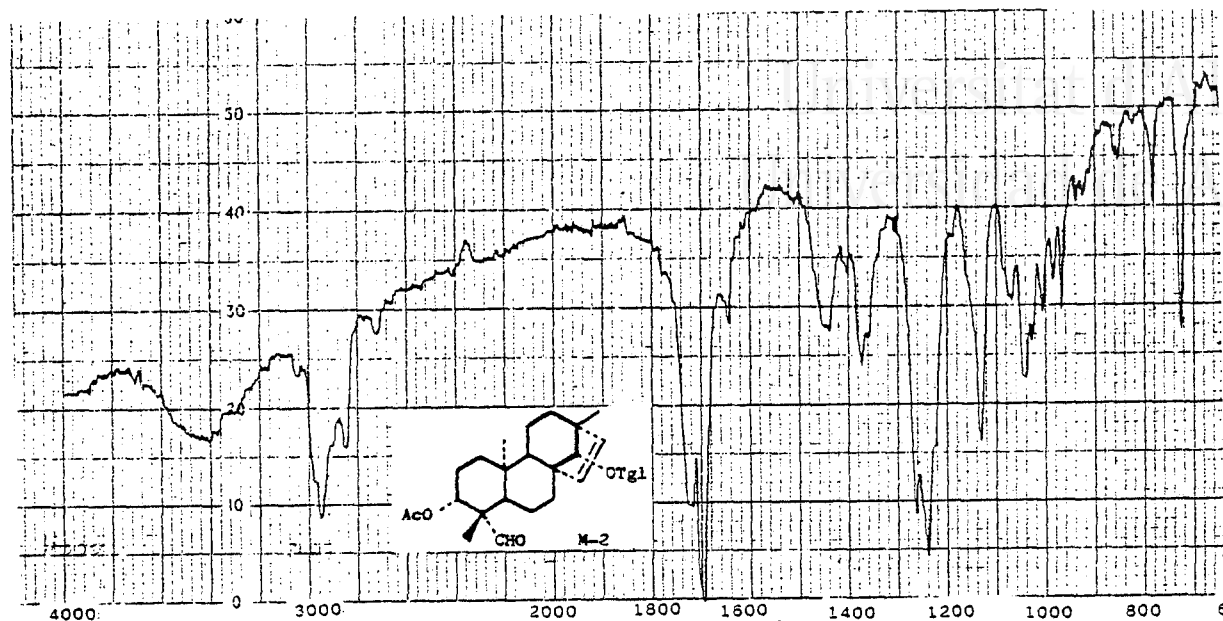
Con el transcurso del tiempo, pudo comprobarse como el aldehído natural M-2 se descomponía dando origen a productos más polares.

Separando el componente mayoritario de descomposición, se observó que se trataba de un ácido carboxílico (M-11), que se esterificó con CH_2N_2 dando el éster metílico M-12. Tanto los espectros IR (fig. M-11a y M-12a), como los datos de RMN ^1H (60MHz) (fig. M-11b y M-12b), concuerdan perfectamente con las estructuras propuestas.



La autooxidación, debe seguir un proceso radicalario similar al descrito para M-1.







Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

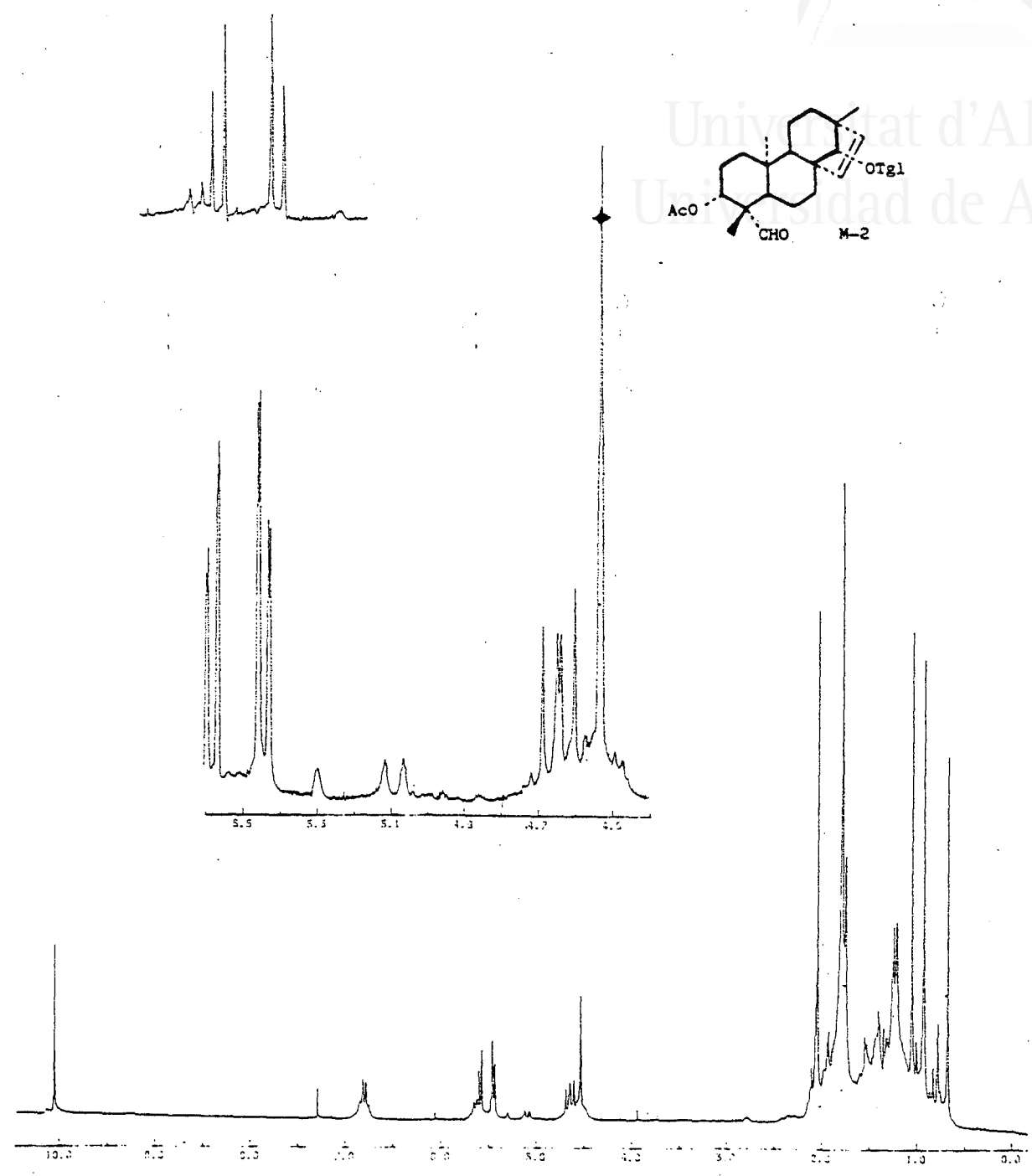


Fig. M-2d



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

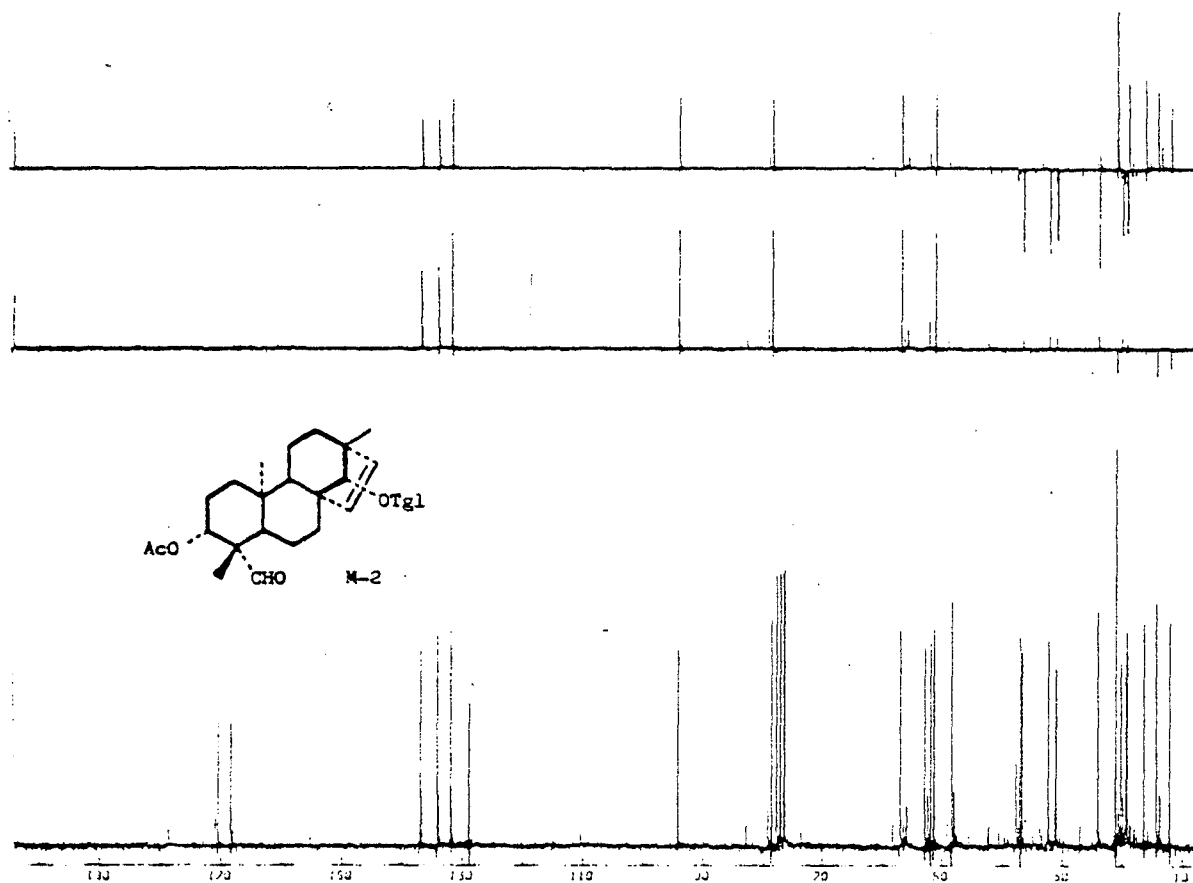


Fig. M-2e

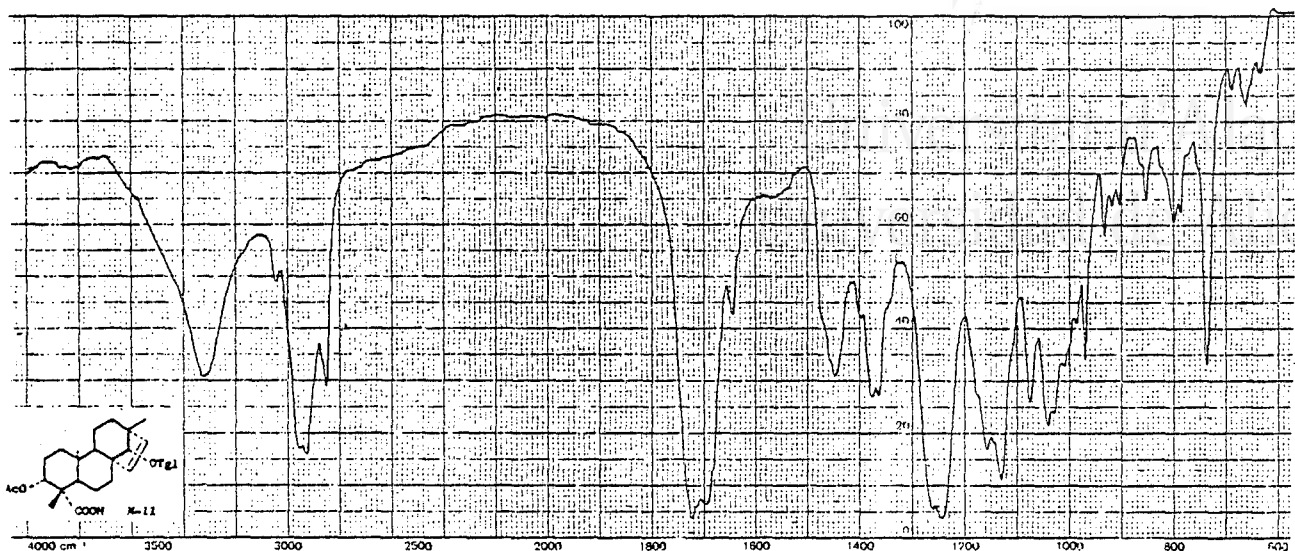


Fig. M-11a

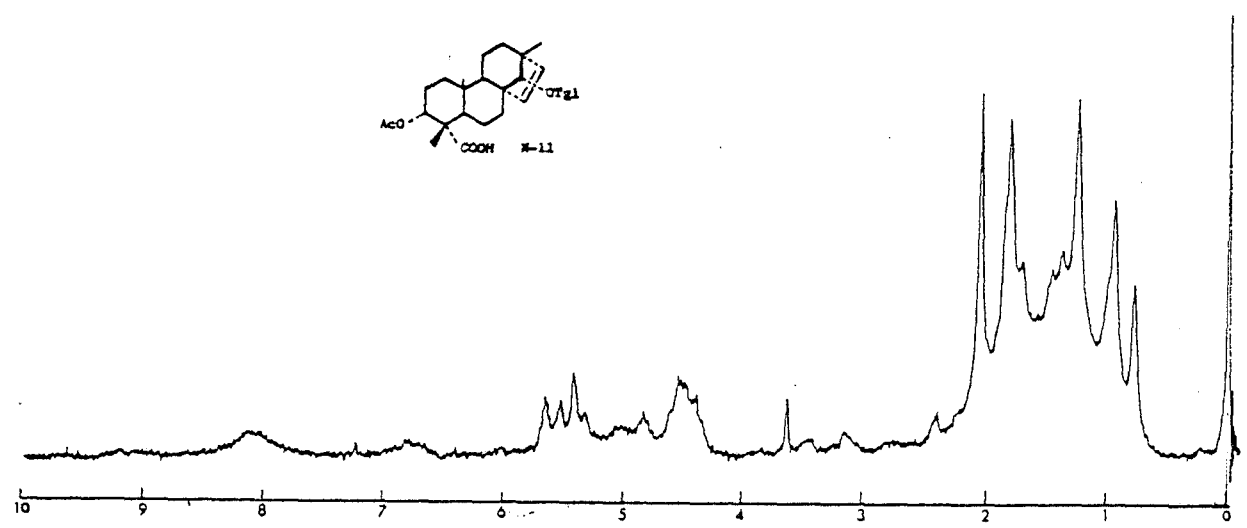


Fig. M-11b

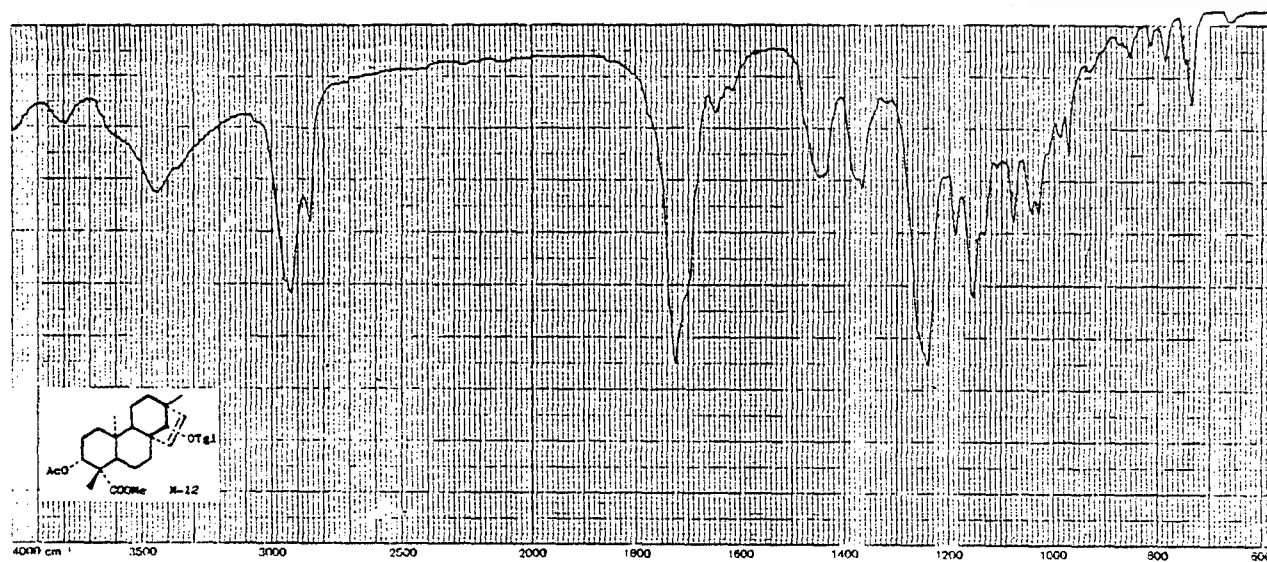


Fig. M-12a

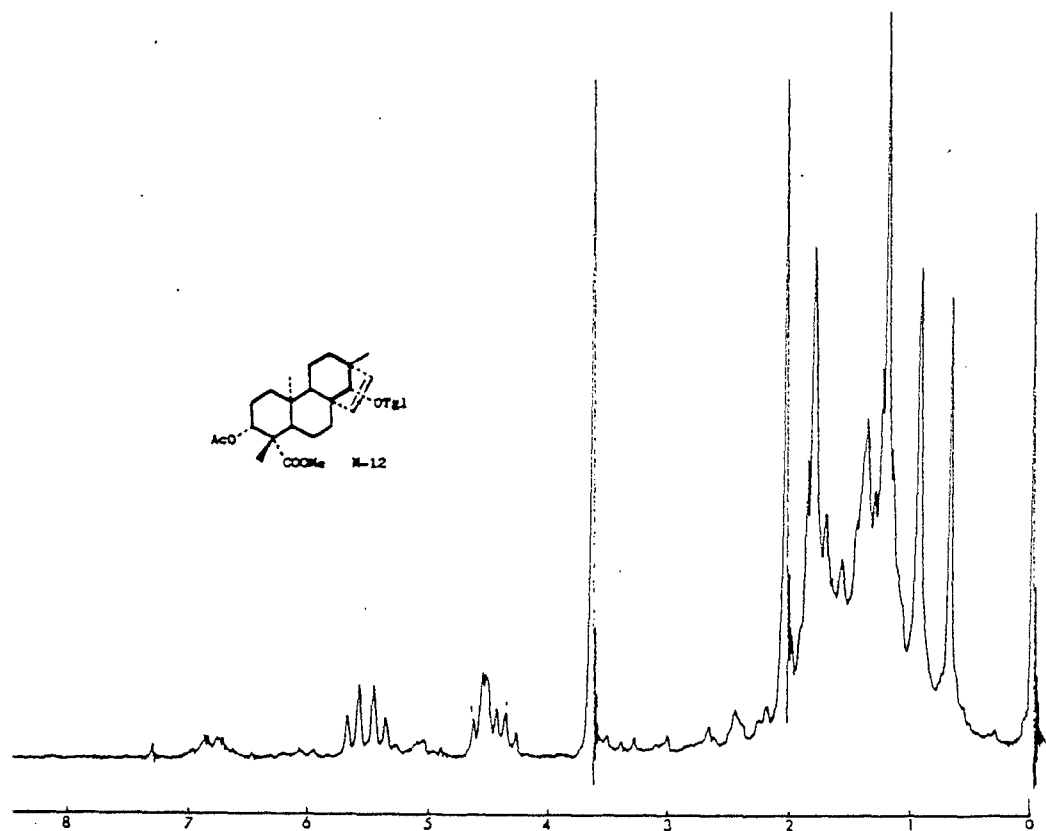


Fig. M-12b



M-3: ent-15-Beyeren-19-ol (Erythroxyol A)

La sustancia M-2, aparecía impurificada por una sustancia minoritaria con el mismo Rf que pudo ser separada, tratando parte de las fracciones C48 - C61 con LiAlH_4 , formando así el diol de M-2, más polar, mientras M-3 permaneció inalterable.

El compuesto una vez aislado se purificó por cristalización en hexano dando un Pf. 120° y $[\alpha]_D +38^\circ$.

En el espectro IR (fig. M-3a), se detectan bandas de grupo hidroxilo (3.370, 1.040) y de doble enlace cis disustituído (3.025, 1.620, 740), pero a diferencia de las sustancias anteriores no presenta absorciones de grupo carbonilo.

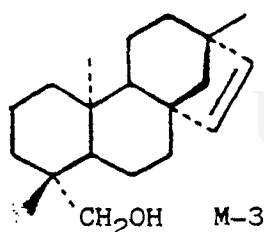
La ausencia de grupos éster en esta sustancia se puso en evidencia también, en el espectro de RMN ^1H (60MHz) (fig. M-3b). Comparando este espectro con el de M-4, la única diferencia apreciable es la ausencia de las señales debidas a los protones del grupo tigloiloxilo y su geminal.

El espectro de masas (fig. M-3d) presenta un ión molecular a m/z 288 ($\text{C}_{20}\text{H}_{32}\text{O}$) destacándose el fragmento a $257[\text{M}-\text{CH}_2\text{OH}]^+$.

De estos datos se deduce para M-3 la estructura siguiente:



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante



Esta estructura corresponde al alcohol diterpénico erythroxylool A (75), cuyas propiedades físicas y espectroscópicas concuerdan con las de M-3.

M-3 fue obtenida también por reducción con LiAlH_4 del compuesto A-7 (ver parte ácida).

Las asignaciones en RMN ^{13}C , se realizaron por comparación con las absorciones de otros diterpenos descritos en la bibliografía.

La tabla XII muestra el cálculo de las absorciones para M-3, que se realizó incrementando los desplazamientos del compuesto ent-15-beyereno (columna A) (41), con los efectos de un grupo CH_2OH en C-19 (columna B). Los datos de la columna B se calcularon por diferencia entre las absorciones de los compuestos ent-16-kauren-19-ol y ent-16-kaureno (42,67).

Los desplazamientos calculados (columna C), concuerdan con los experimentales de M-3 (columna D).



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

TABLA XII

Carbono	A	B	C	D
1	39,3		39,3	39,3
2	18,7	-0,4	18,3	18,3
3	42,2	-6,5	35,7	35,6
4	33,3	5,4	38,7	38,5
5	56,1	0,5	56,6	56,9
6	20,3*	0,2	20,5	20,4*
7	37,4		37,4	37,7
8	49,1		49,1	49,1
9	53,0		53,0	53,0
10	37,4	-0,2	37,2	37,3
11	20,5*		20,5	20,2*
12	33,7		33,7	33,2
13	43,6		43,6	43,7
14	61,3		61,3	61,2
15	135,2		135,2	135,1
16	136,1		136,1	136,5
17	25,0		25,0	24,9
18	33,8	-6,6	27,2	27,0
19	22,0	43,7	65,7	65,6
20	15,1	0,8	15,9	15,8

(*) Asignaciones intercambiables.

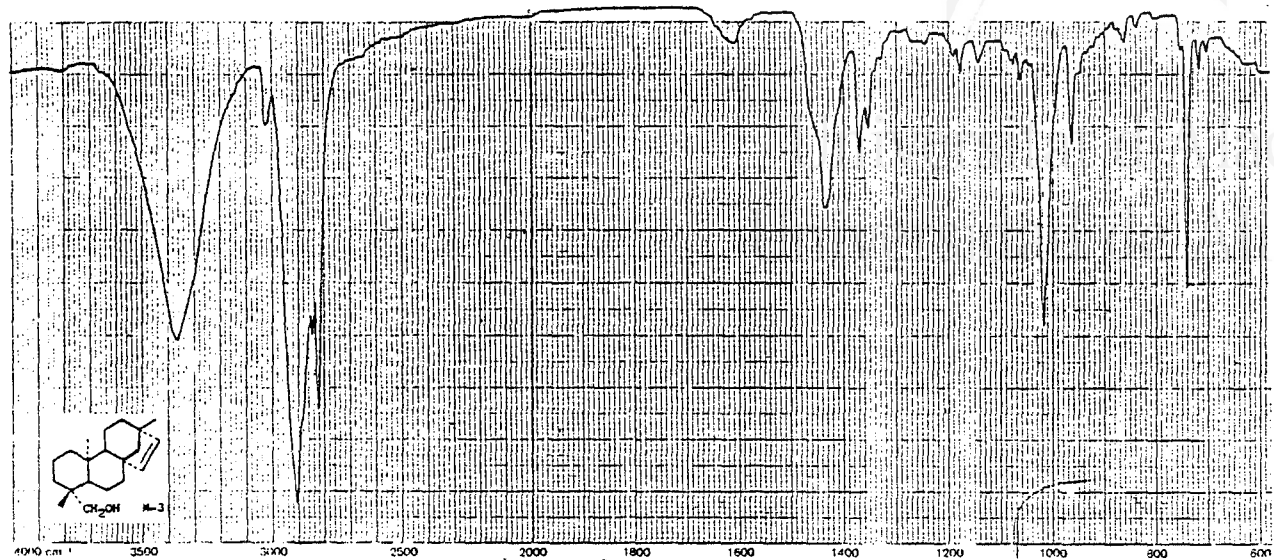


Fig. M-3a

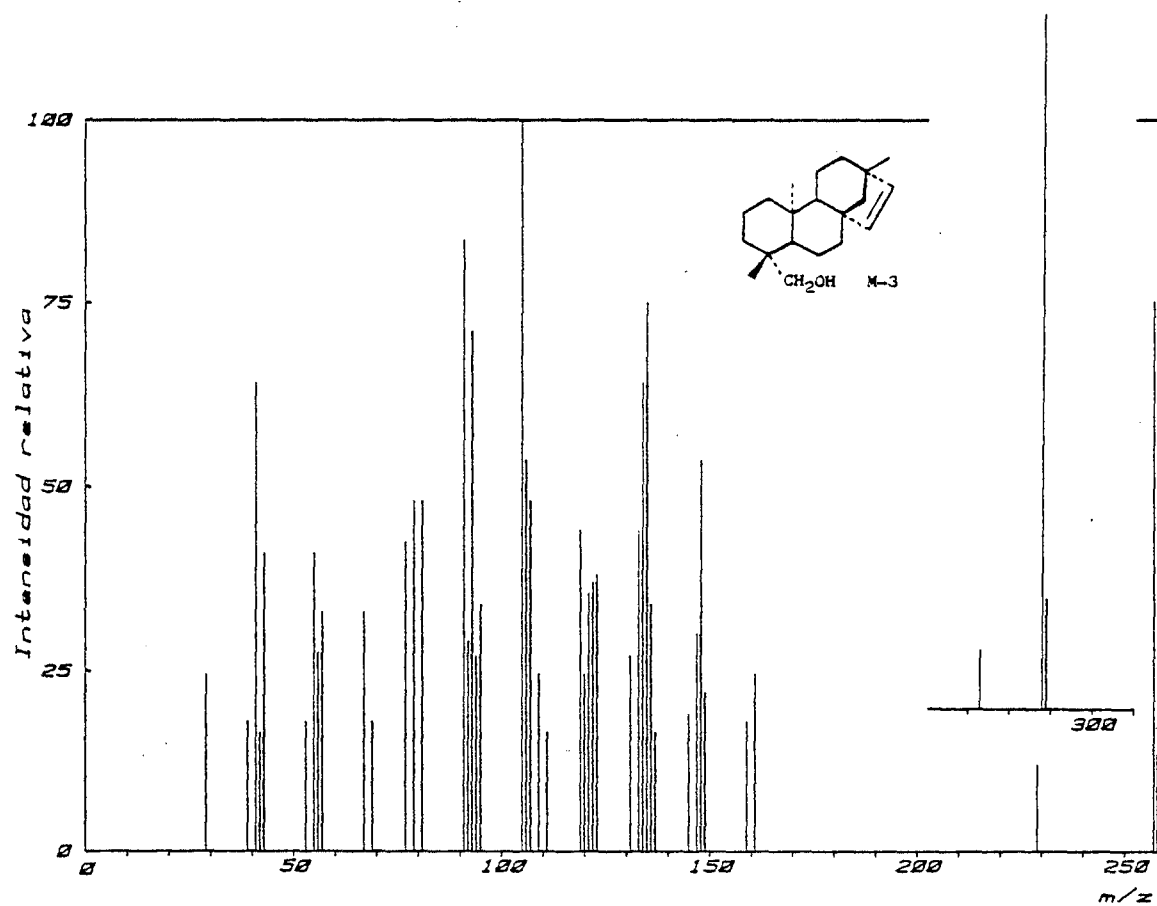


Fig. M-3d

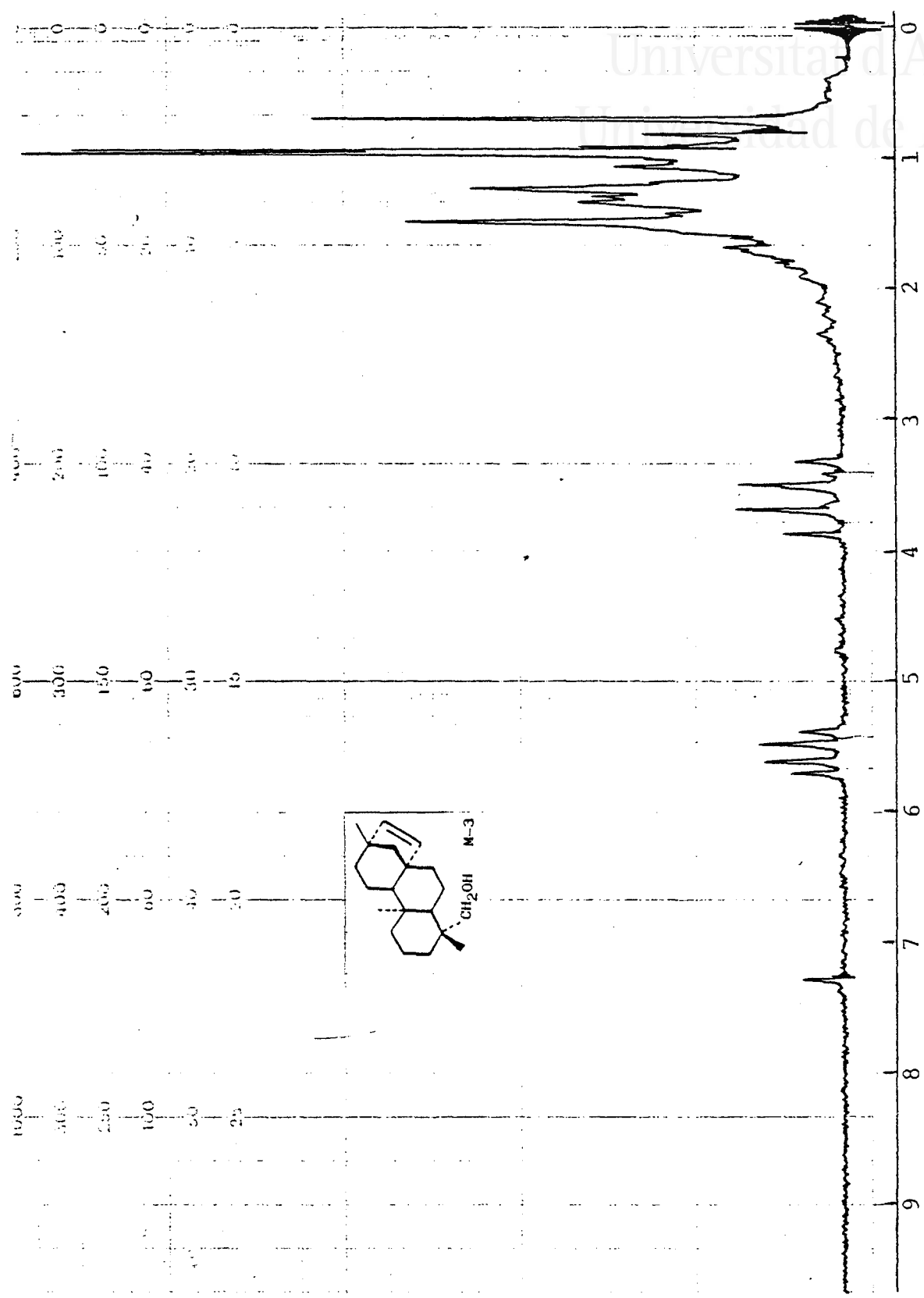


Fig. M-3b



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

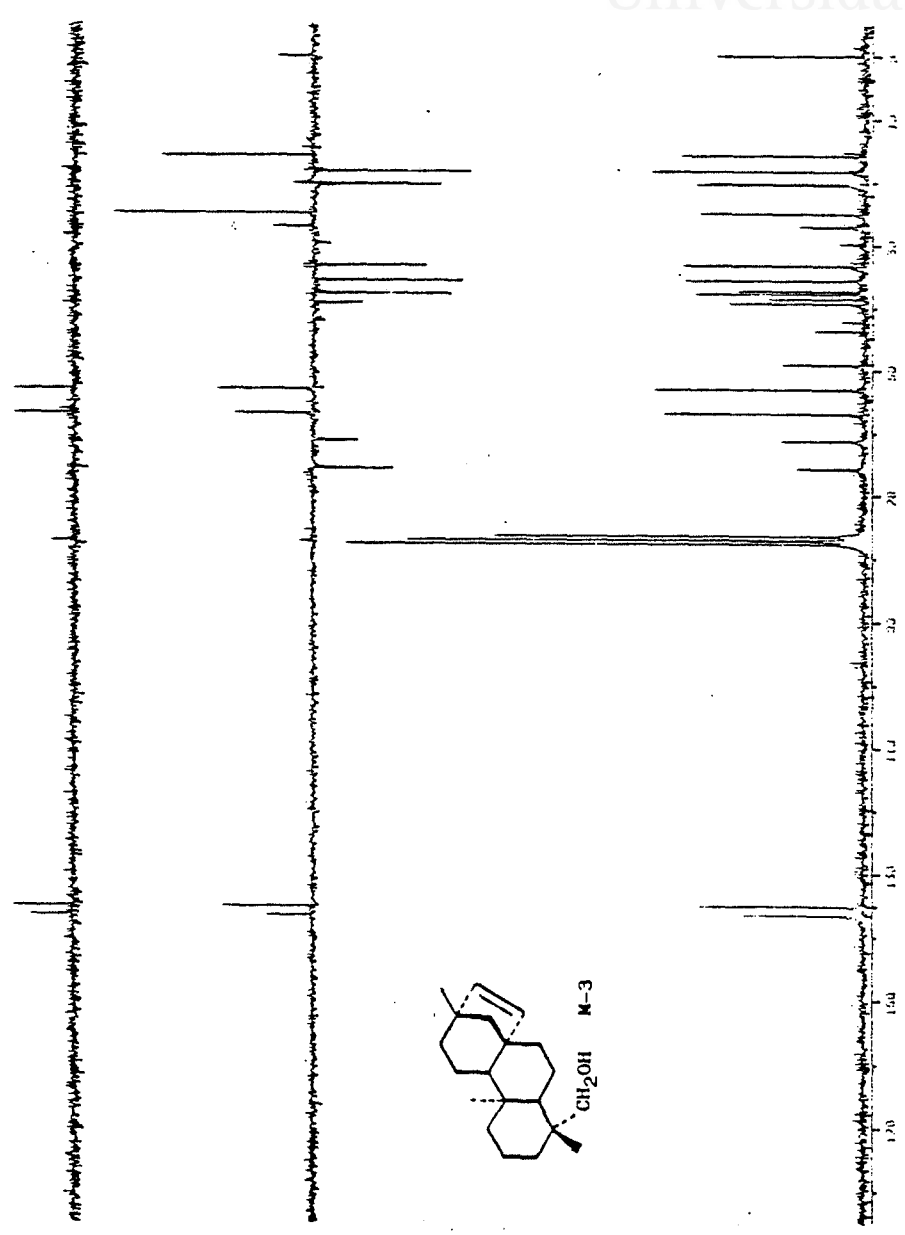


Fig. M-3c



M-5: ent-3 β -Hidroxi-14 β -tigloiloxi-15-beyeren-19-al

Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

La última de las sustancias estudiadas en la parte neutra, fue separada por cromatografía a partir de las fracciones D19 - D20. Este compuesto que denominamos M-5, es también un diterpeno tetracíclico con características espectroscópicas similares a las de las sustancias anteriormente descritas.

El espectro IR (fig. M-5a), presenta bandas de grupo hidroxilo (3.480), aldehído (2.730, 1.695), dobles enlaces (3.030, 1.640, 780, 730) y de grupo éster (1.695, 1.265).

En el espectro de RMN ^1H (60MHz) (fig. M-5b) se observan señales características de grupo aldehído sobre carbono tetrasustituído y del éster tíglico de un alcohol secundario, que aparecen prácticamente al mismo campo que en el compuesto M-2.

Centrada a 3,13(1H,m,H-3), se observa una señal ancha correspondiente a un protón geminal a hidroxilo secundario, parcialmente solapado con la señal del protón alcohólico. Finalmente destacan tres singletes a 1,25(3H, s,H-18), 0,93(3H,s,H-17) y 0,70(3H,s,H-20), que corresponden a metilos sobre carbonos cuaternarios.

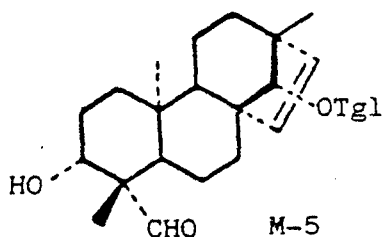
Dada la similitud de M-5 con los compuestos anteriores, se atribuyó a esta última sustancia una estructura

de 15-beyereno, con un grupo aldehído, un grupo tigloiloxi-
lo y un hidroxilo secundario.

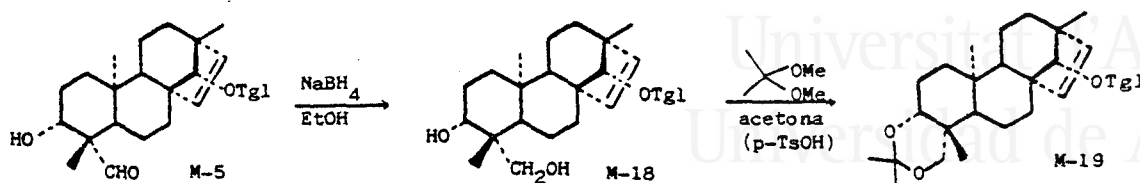
Los dos primeros deben de estar situados en C-19 y C-14 respectivamente, mientras que el hidroxilo puede estar situado en principio en C-1, C-3, C-7 o C-12.

Se pensó en primer lugar que el hidroxilo debería encontrarse en C-3, a causa del desapantallamiento que presenta el metilo en C-18 con respecto a M-2, lo cual parece indicar que debe tener una función desapantallante próxima.

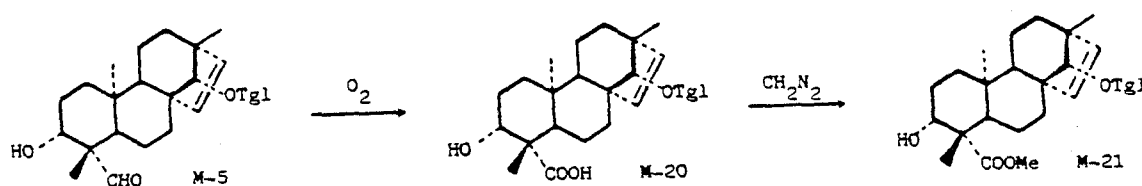
Con estos datos se propuso la estructura siguiente, que corresponde al alcohol precursor de M-2, lo cual se comprobó por acetilación (Ac_2O /piridina), obteniendo un acetato idéntico al producto natural M-2.



Con objeto de confirmar la posición y configuración relativa asignada al hidroxilo (acetato) secundario y al aldehído, se preparó el isopropiliden derivado M-19, como figura en el esquema de la página siguiente.



En el proceso de intento de separación de la sustancia M-5, por cromatografía en columna de la fracción A37, se observó que el compuesto natural sufría una autooxidación similar a la explicada para M-1 y M-2, que dio como producto el ácido carboxílico M-20, que una vez aislado se esterificó con CH_2N_2 dando el éster metílico M-21.



Tanto el espectro IR de M-21 (fig. M-21a) como los datos de RMN ^1H (60MHz) (fig. M-20a y M-21b) están en concordancia con las estructuras propuestas.

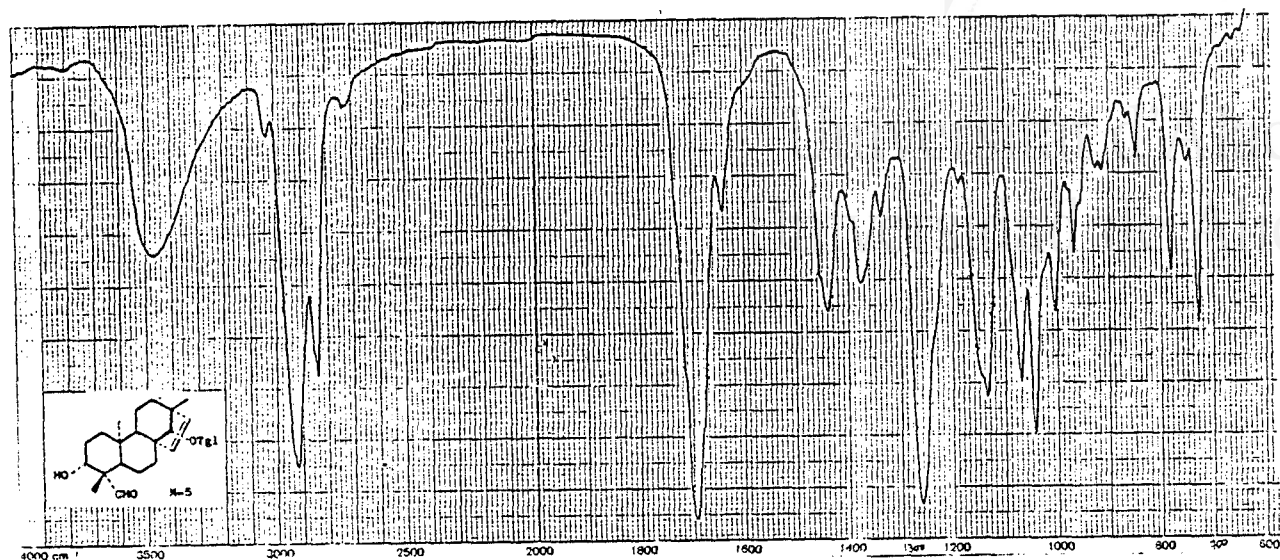


Fig. M-5a

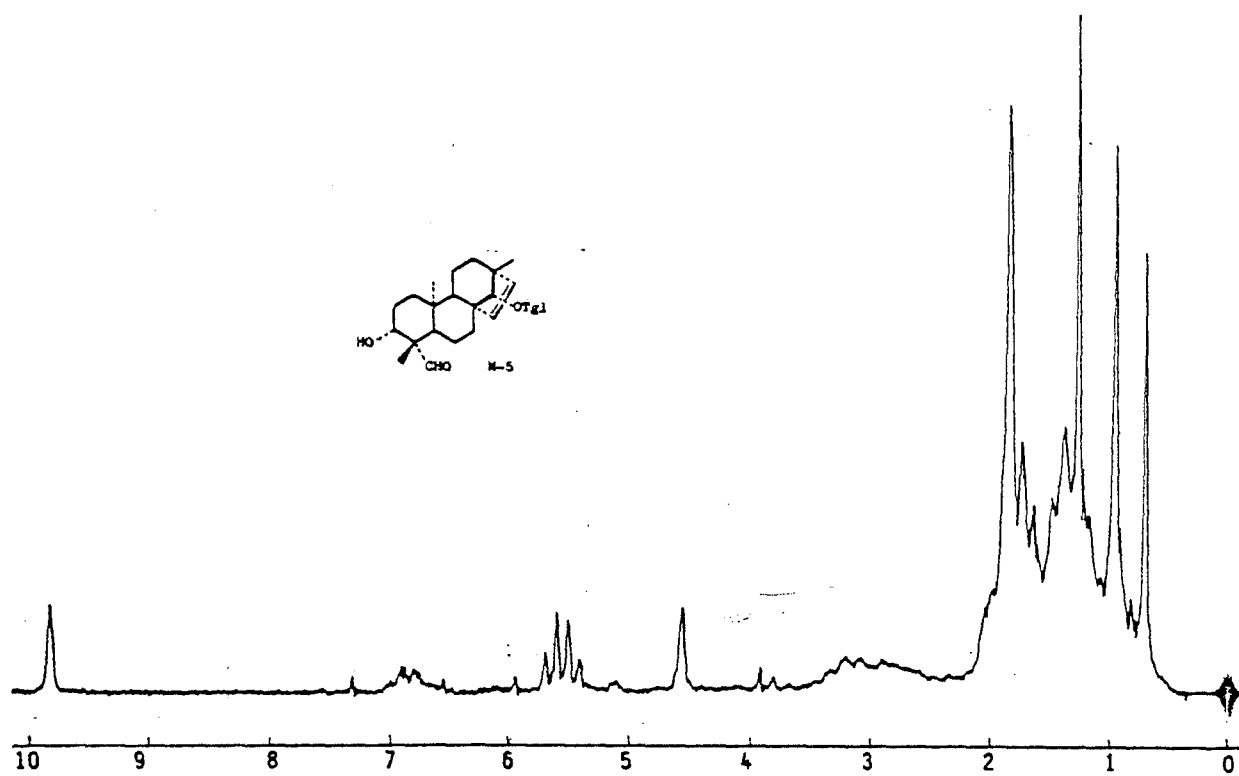


Fig. M-5b

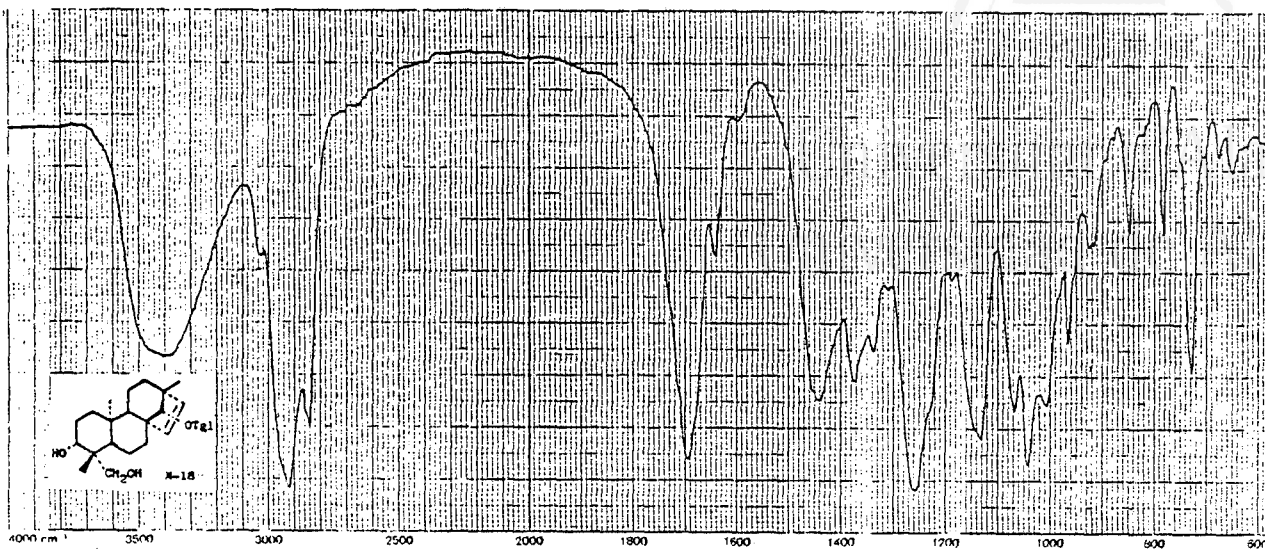


Fig. M-18a

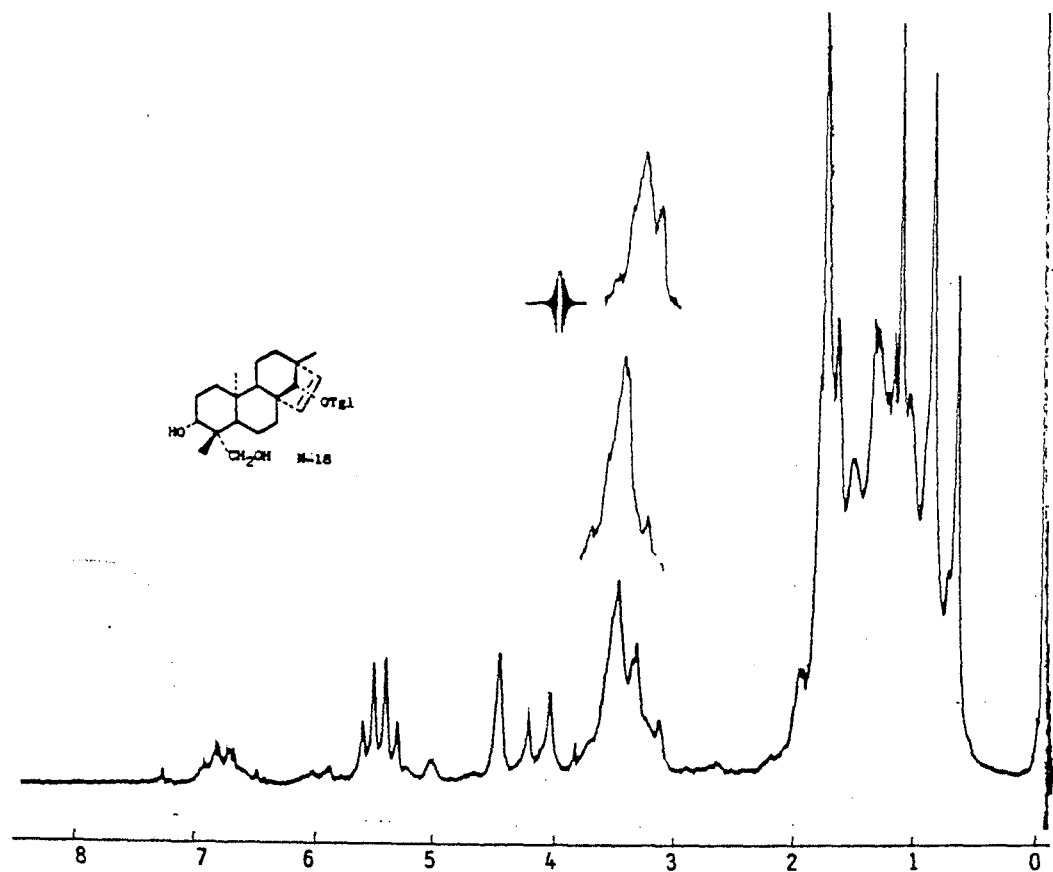


Fig. M-18b

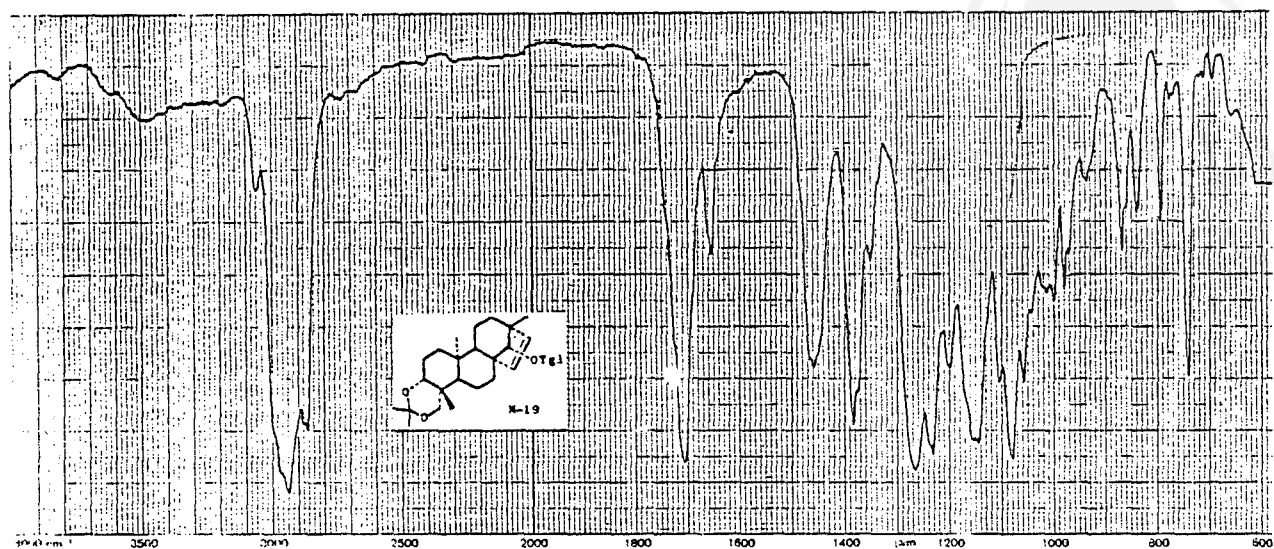


Fig. M-19a

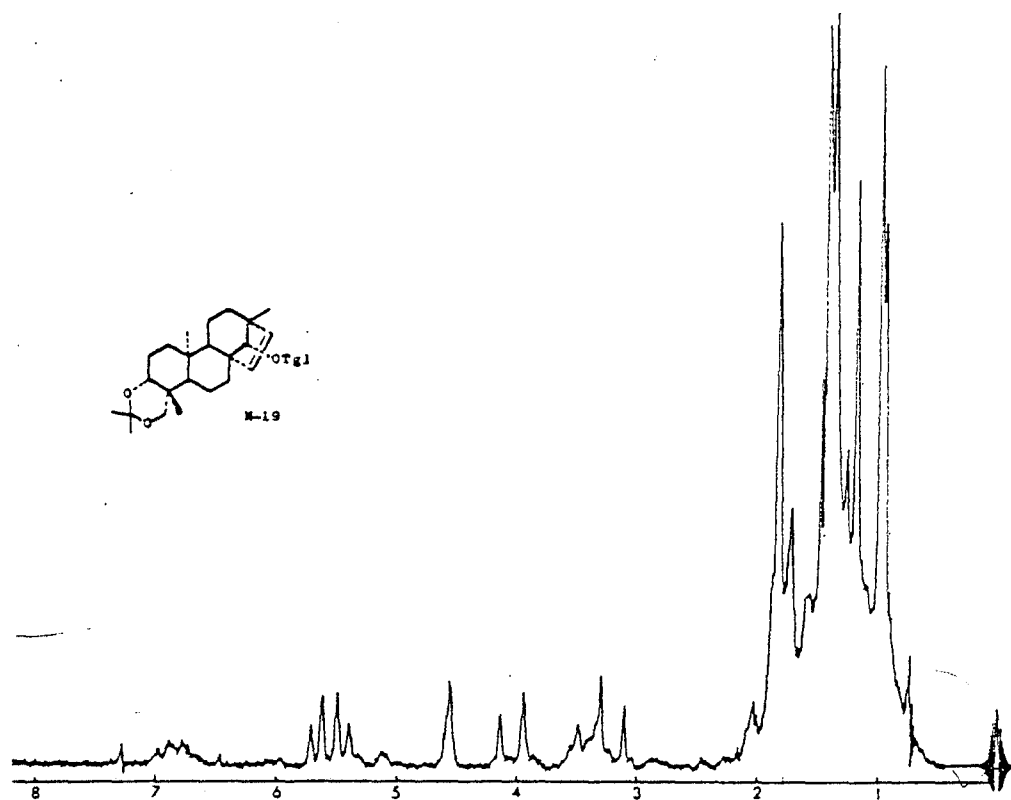


Fig. M-19b



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

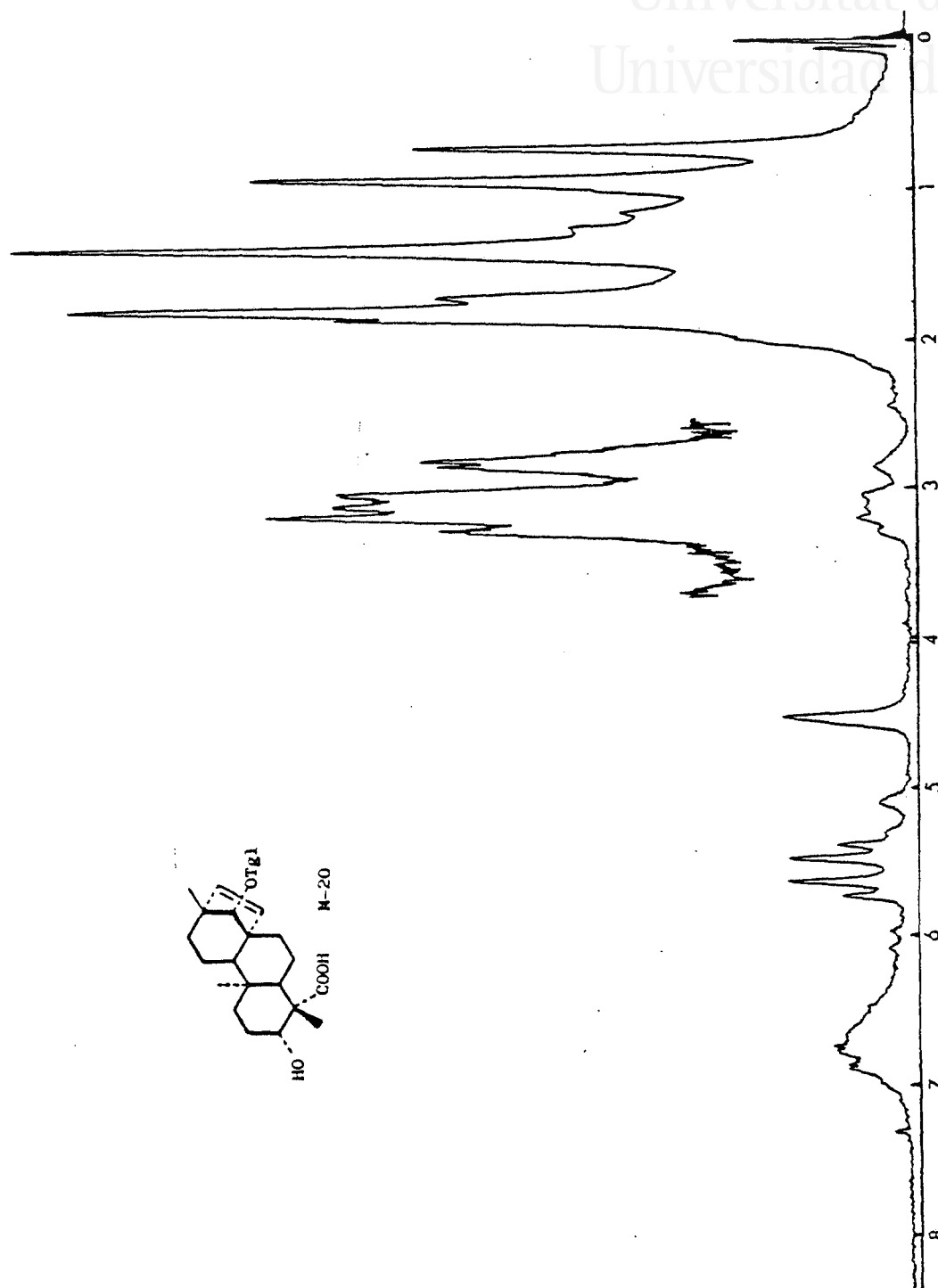


Fig. M-20a

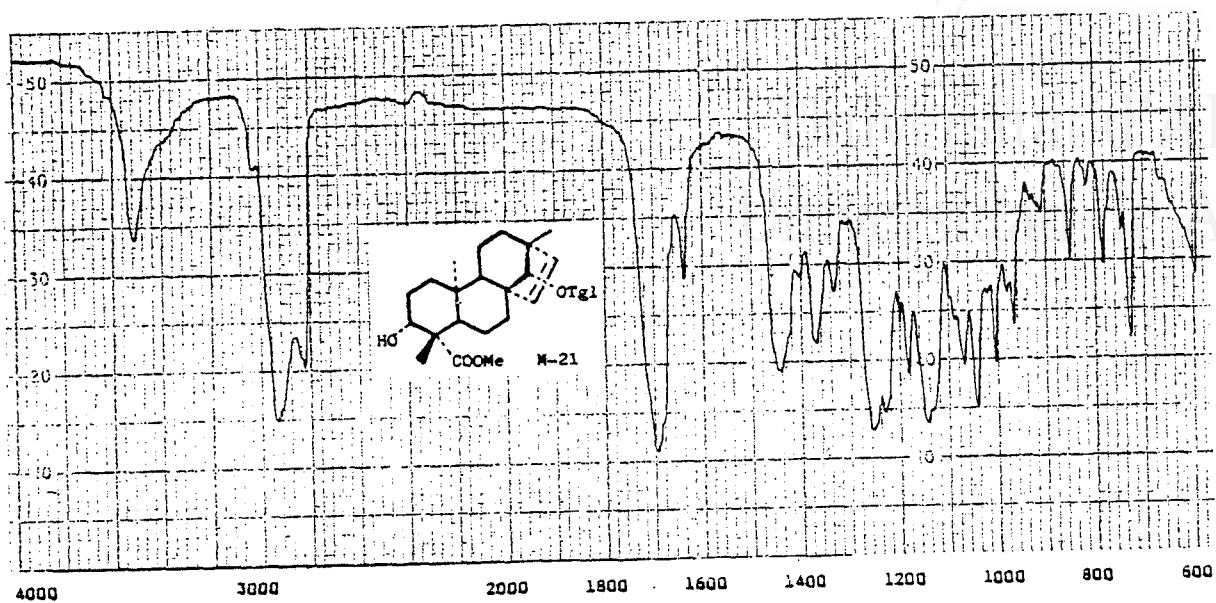


Fig. M-21a

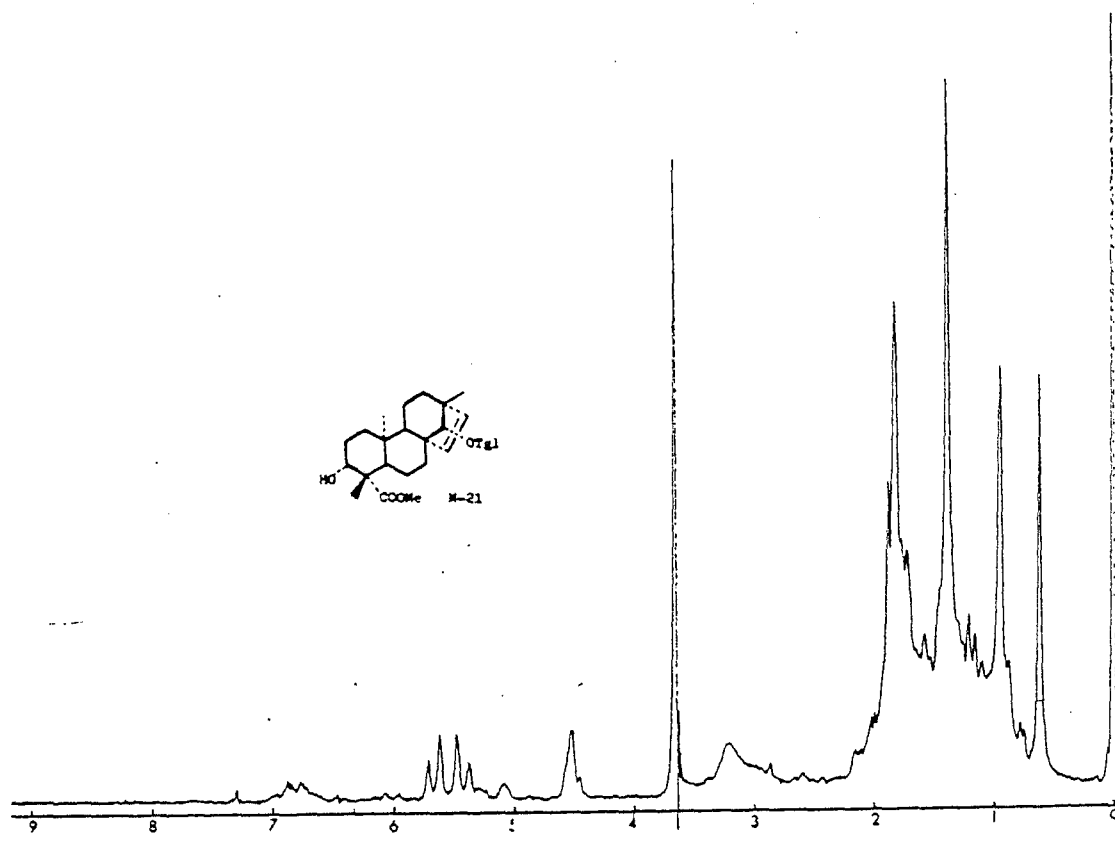


Fig. M-21b

Universitat d'Alacant
Universidad de AlicanteA-1: Acido ent-atis-16-en-19-oico

Este ácido una vez aislado se purificó por cristalización en metanol, dando un sólido de Pf. 219° y $[\alpha]_D$ -69,7°.

El espectro IR (fig. A-1a), presenta absorciones características de ácido carboxílico (3.600-3.200, 1.685, 1.265) y de grupo metileno terminal (3.060, 1.650h, 870).

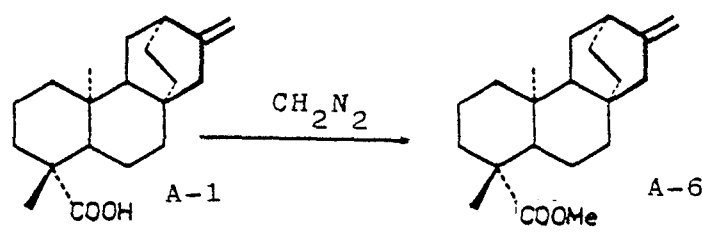
En el espectro de RMN ^1H (200MHz) (fig. A-1c), aparecen dos señales a 4,74(1H,c,J=2Hz,Ha-17) y 4,58(1H,c,J=2Hz,Hb-17), asignables a un grupo metileno terminal, así como dos singletes de metilos cuaternarios a 1,26(3H,s,H-18) y 0,91(3H,s,H-20).

El espectro de masas (fig. A-1e), presenta un ión molecular a m/z 302 correspondiente a una fórmula molecular $\text{C}_{20}\text{H}_{30}\text{O}_2$, con fragmentos significativos a 287[M-Me] $^+$, 259[287-C₂H₄] $^+$ y 257[M-COOH] $^+$.

De todos estos datos, así como de su similitud con el resto de compuestos citados en este trabajo, se deduce que A-1 debe presentar una estructura de diterpeno tetracíclico de las series kaurano, filocladano o atisano, con un grupo ácido en posición C-18 o C-19, debido al fuerte desapantallamiento que presenta uno de los metilos.

Tanto la forma de las señales del grupo metileno terminal ($c, J=2\text{Hz}$), como la presencia de una señal a 2,28 (1H,m,H-12), son características de una estructura de atisano. En estructuras de filocladano o kaurano el protón H-13 (H-12 en atisano) aparece desapantallado sobre 2,66 ppm (38,76).

Para el grupo COOH, se propone la posición C-19 axial debido a que en el espectro IR de su éster metílico A-6 (fig. A-6a), no aparece la banda intensa de 1.245 característica de los grupos metoxicarbonilo ecuatoriales (70).



El ácido A-1 no se encuentra descrito como tal en la bibliografía, pero sí su éster metílico A-6. Este último se obtuvo por esterificación CH_2N_2 de A-1 y sus constantes físicas y datos espectroscópicos coinciden perfectamente con las descritas para el compuesto ent-atis-16-en-19-oato de metilo. (17).

Las asignaciones para los carbonos de los compuestos A-1 y A-6 en RMN ^{13}C (fig. A-1d y A-6d), se realizaron por comparación con los datos de RMN ^{13}C descritos en bibliografía para A-6 (17).

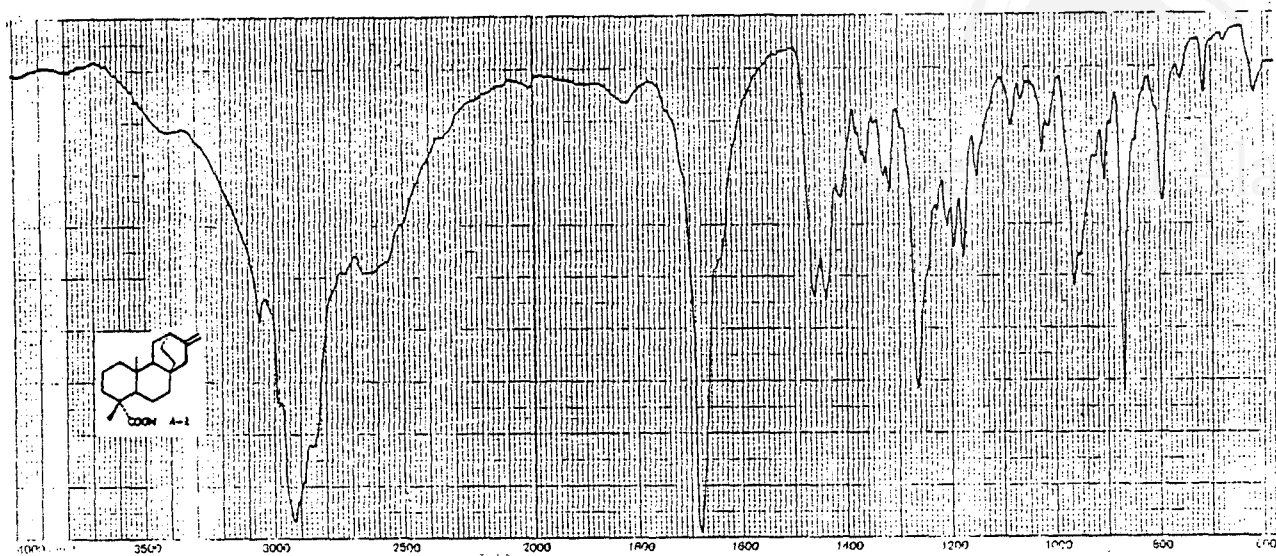


Fig. A-1a

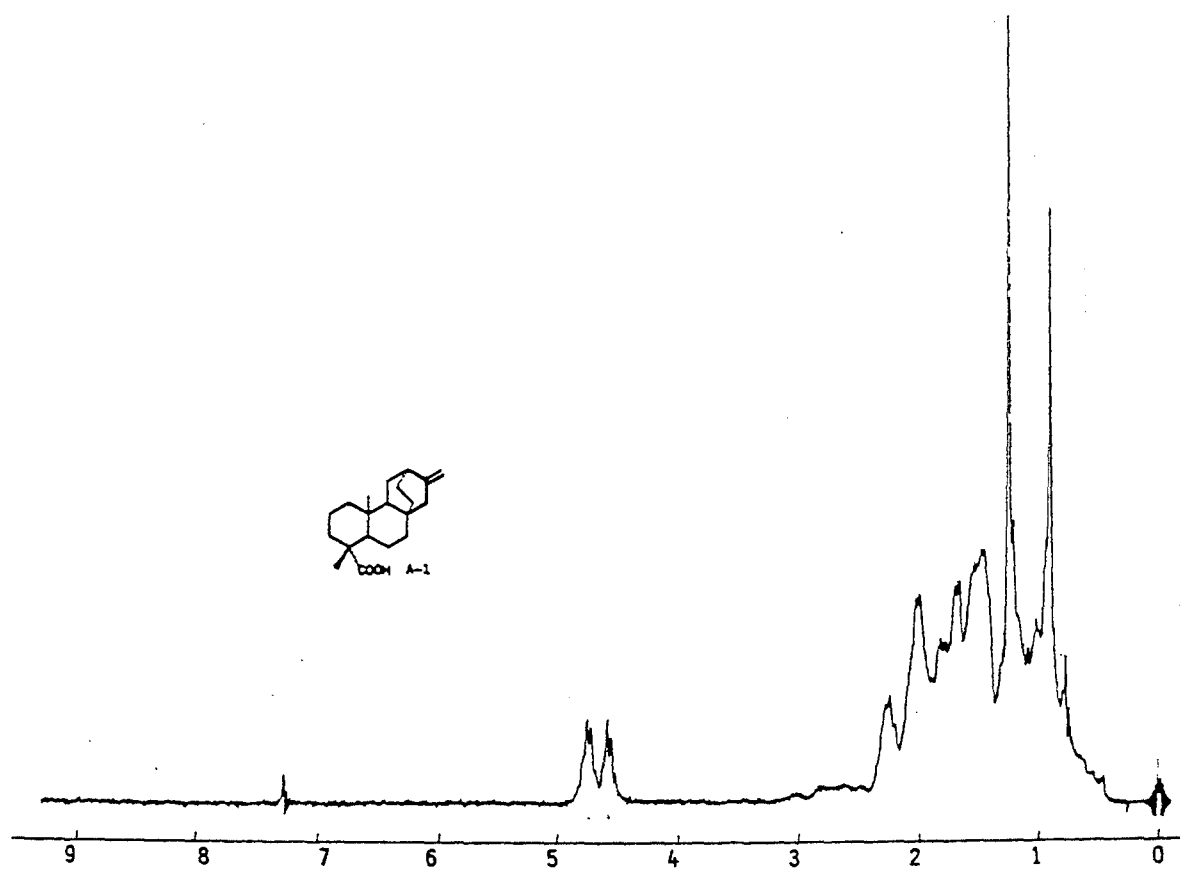


Fig. A-1b



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

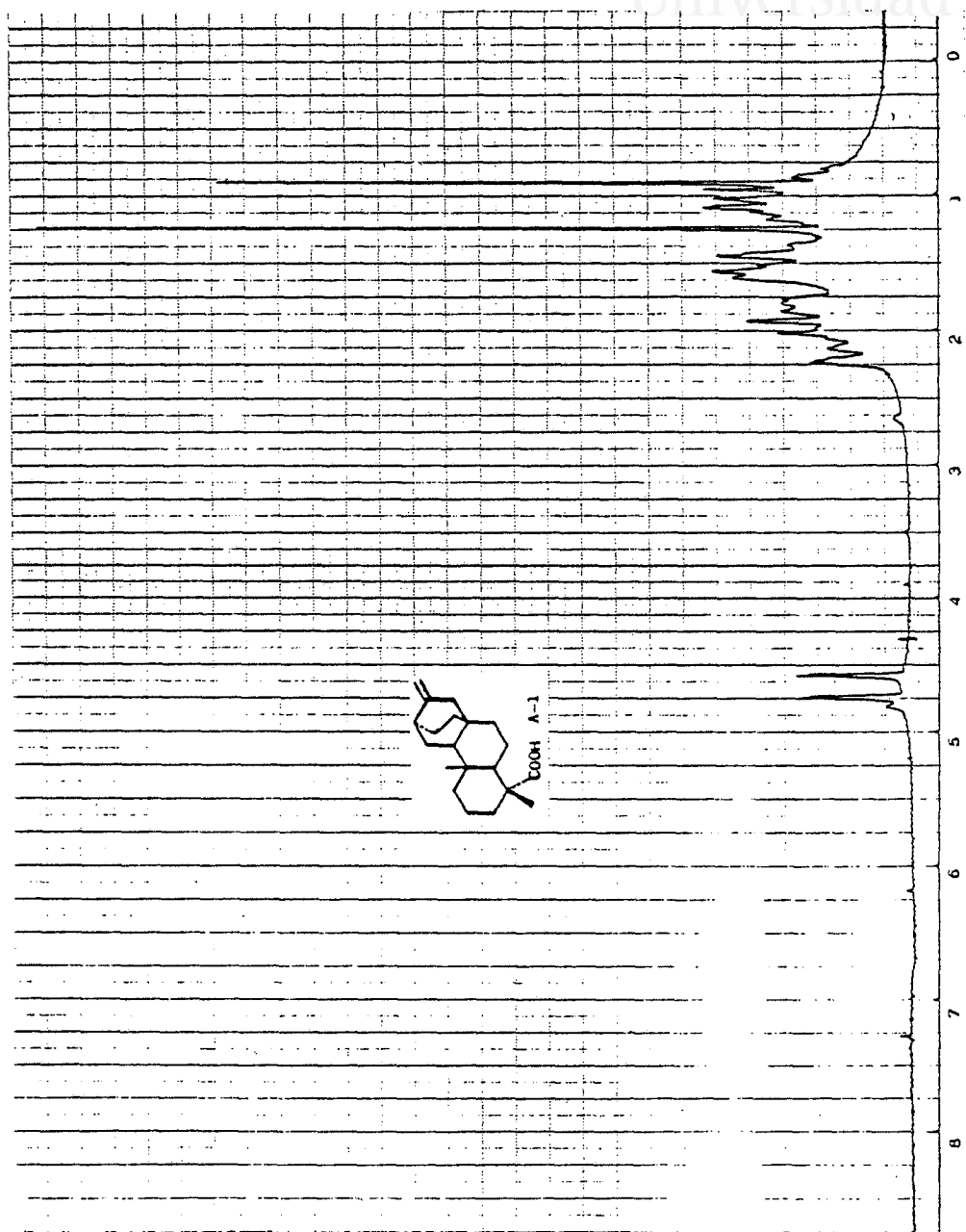


Fig. A-1c

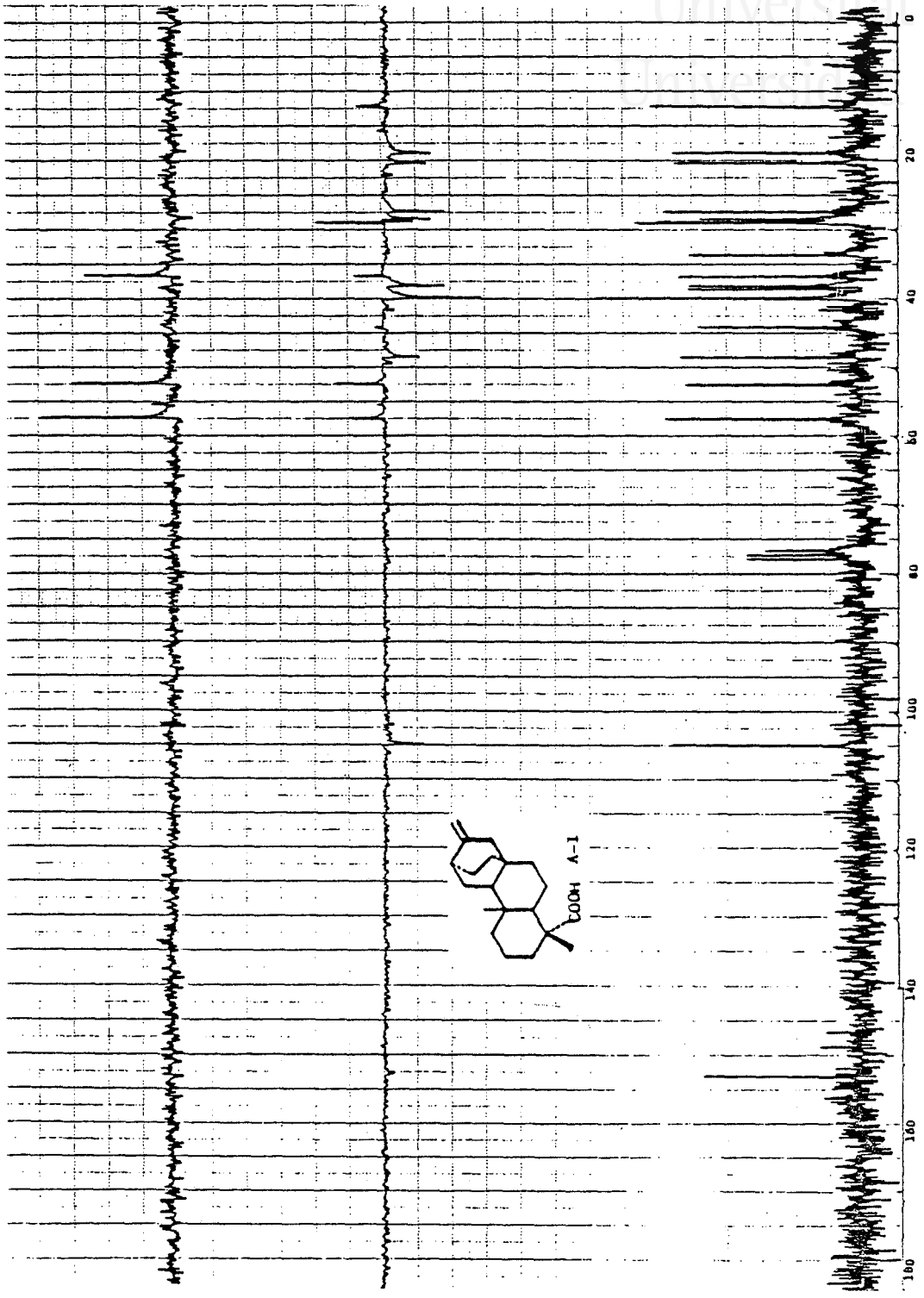
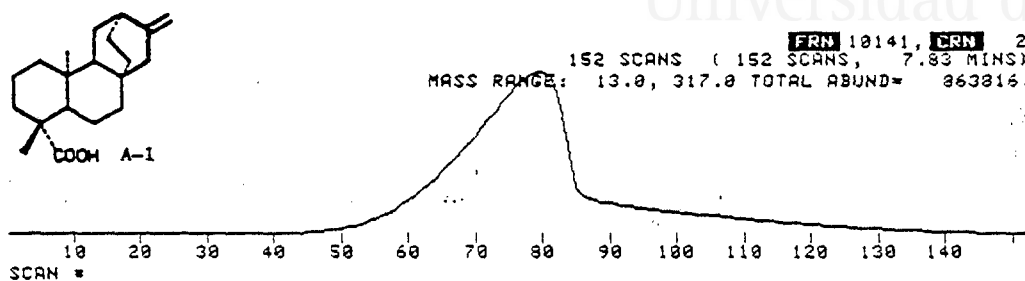


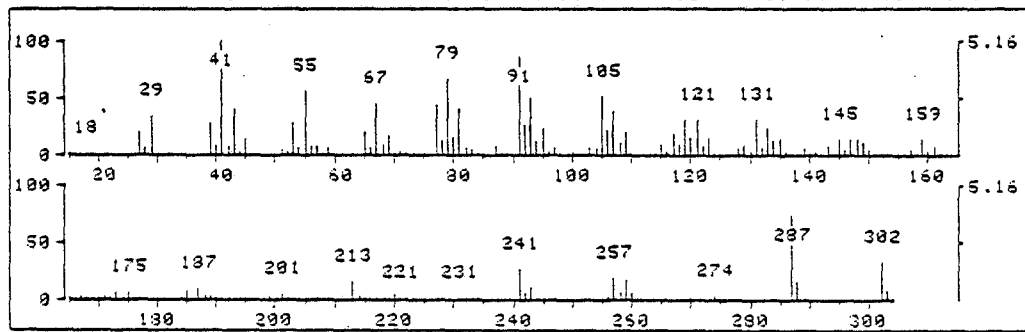
Fig. A-1d



Universitat d'Alacant
 Universidad de Alicante



* 80 RET. TIME: 4.43 TOT ABUND= 36914. BASE PK/ABUND: 41.1/ 1903.



FRN 10141, SPECTRUM # 80 RET. TIME: 4.43, 219 PEAKS

M/Z	REL ABUND	M/Z	REL ABUND	M/Z	REL ABUND	M/Z	REL ABUND
27	20.9	77	45.1	115	10.2	149	11.1
28	7.3	78	13.5	117	19.2	159	14.9
29	34.6	79	68.5	118	9.7	161	8.1
39	29.2	80	15.9	119	32.4	173	7.0
40	8.3	81	41.5	120	16.1	175	7.3
41	100.0	82	6.8	121	32.5	185	9.1
42	8.4	87	9.0	122	8.4	187	10.3
43	41.8	91	86.4	123	16.6	213	16.1
45	14.3	92	26.6	128	7.4	241	26.9
53	29.1	93	51.0	129	9.6	242	6.3
54	6.6	94	13.6	131	31.8	243	11.5
55	57.5	95	23.8	132	7.0	257	10.9
56	8.4	97	6.4	133	24.4	258	6.4
57	8.1	103	7.3	134	13.3	259	10.5
59	6.3	104	6.5	135	15.4	260	7.2
65	20.6	105	51.9	139	6.7	287	73.8
66	7.7	106	23.3	143	7.9	288	15.8
67	46.0	107	40.1	145	14.5	302	34.3
68	9.7	108	12.4	147	14.1	303	7.9
69	18.5	109	21.4	148	14.1		

Fig. A-1e

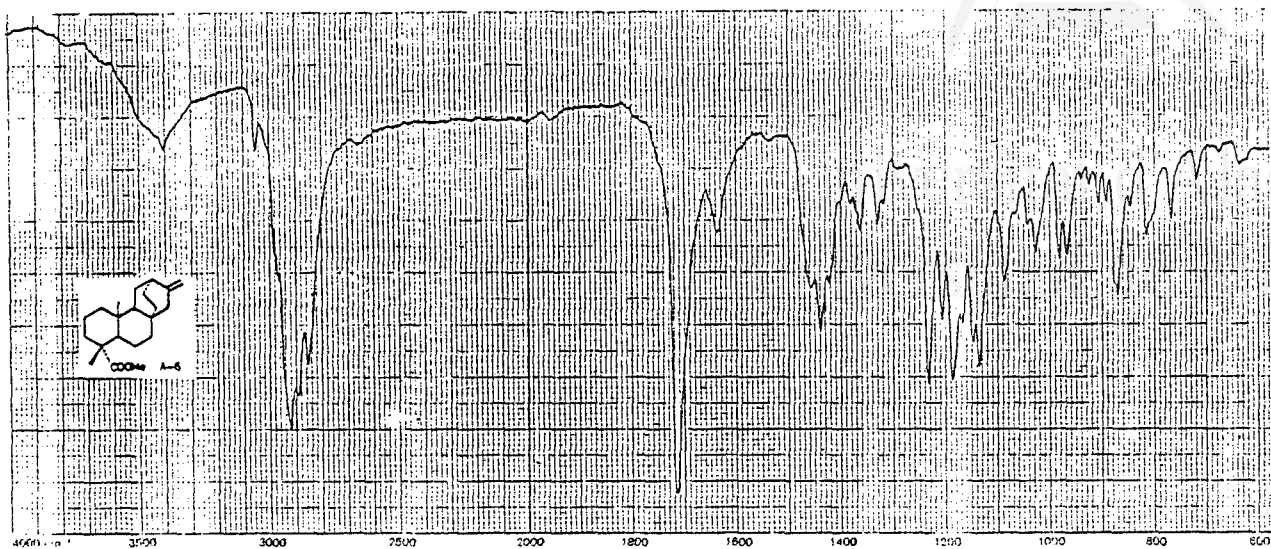


Fig. A-6a

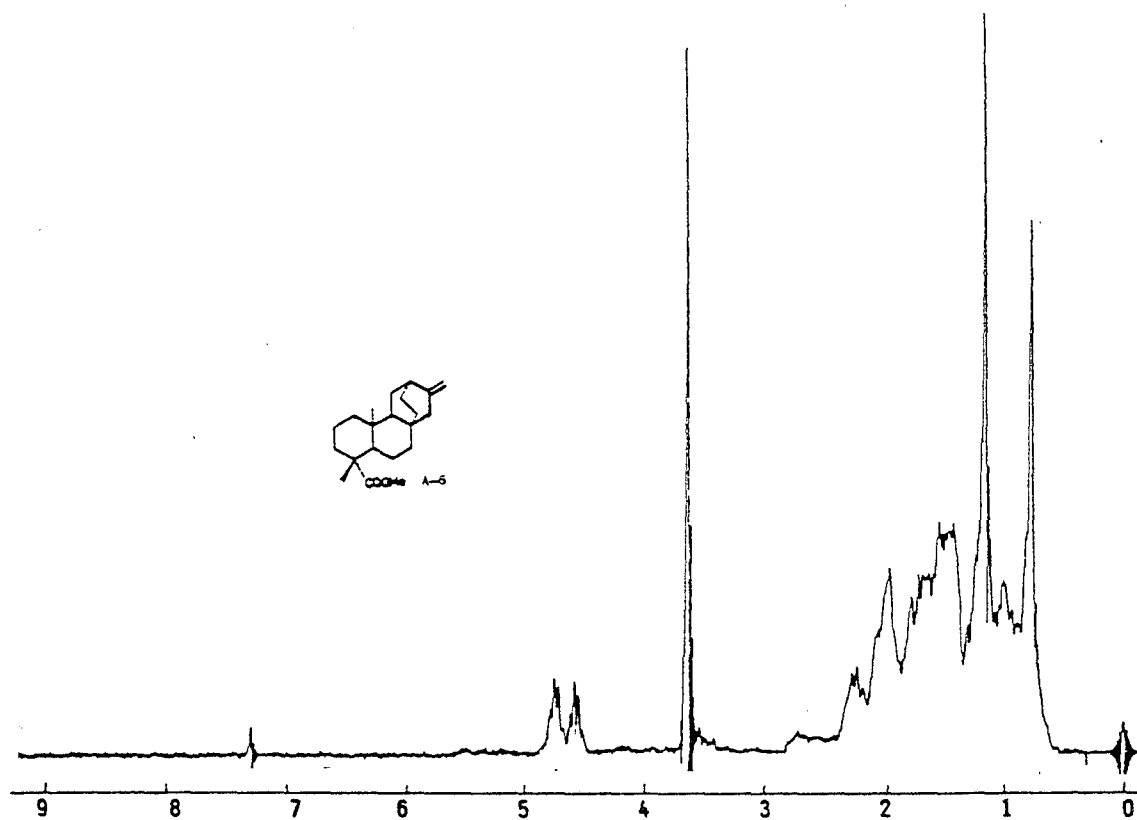


Fig. A-6b



Universitat d'Alacant
de Alicante

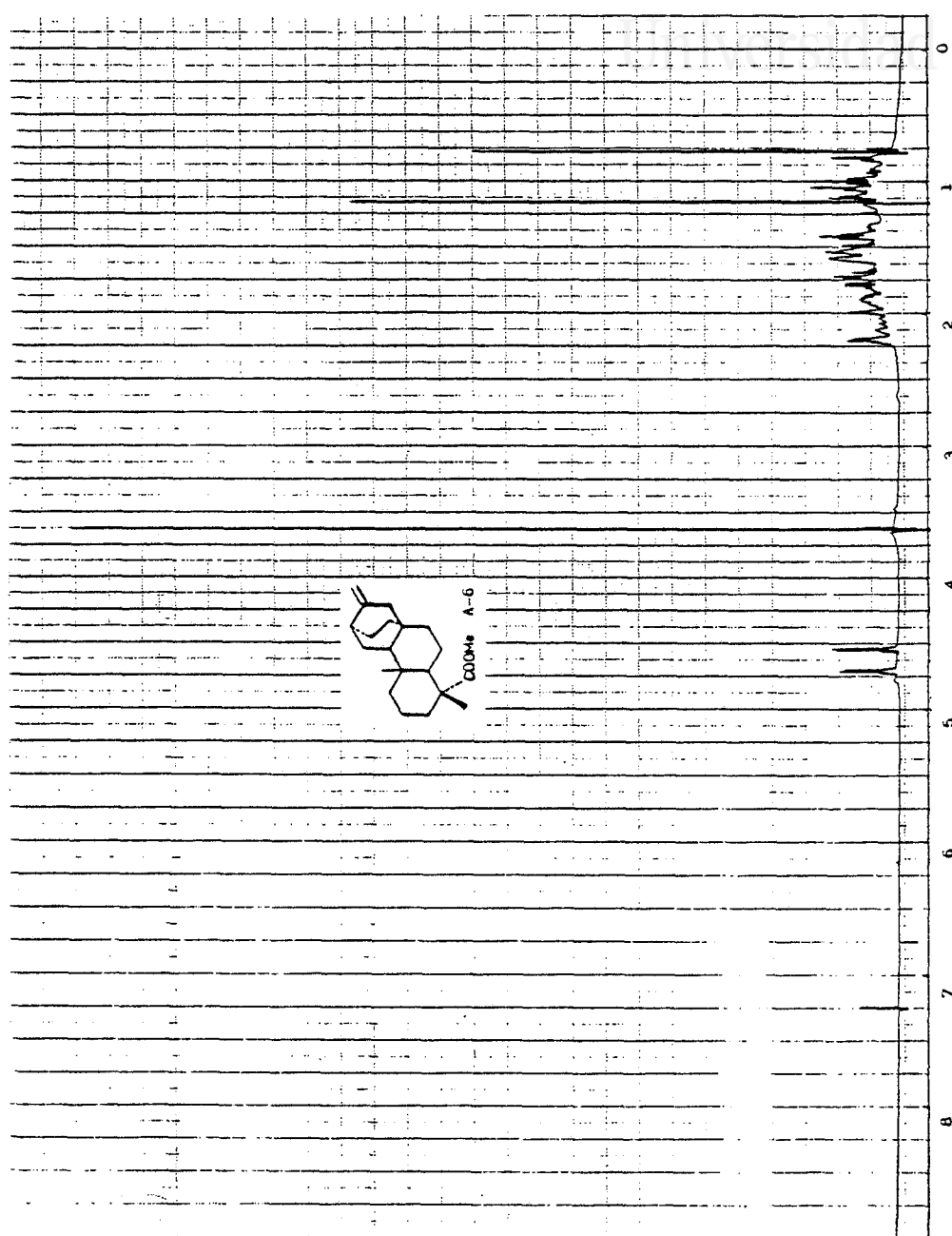


Fig. A-6C



Universitat d'Alacant
de Alicante

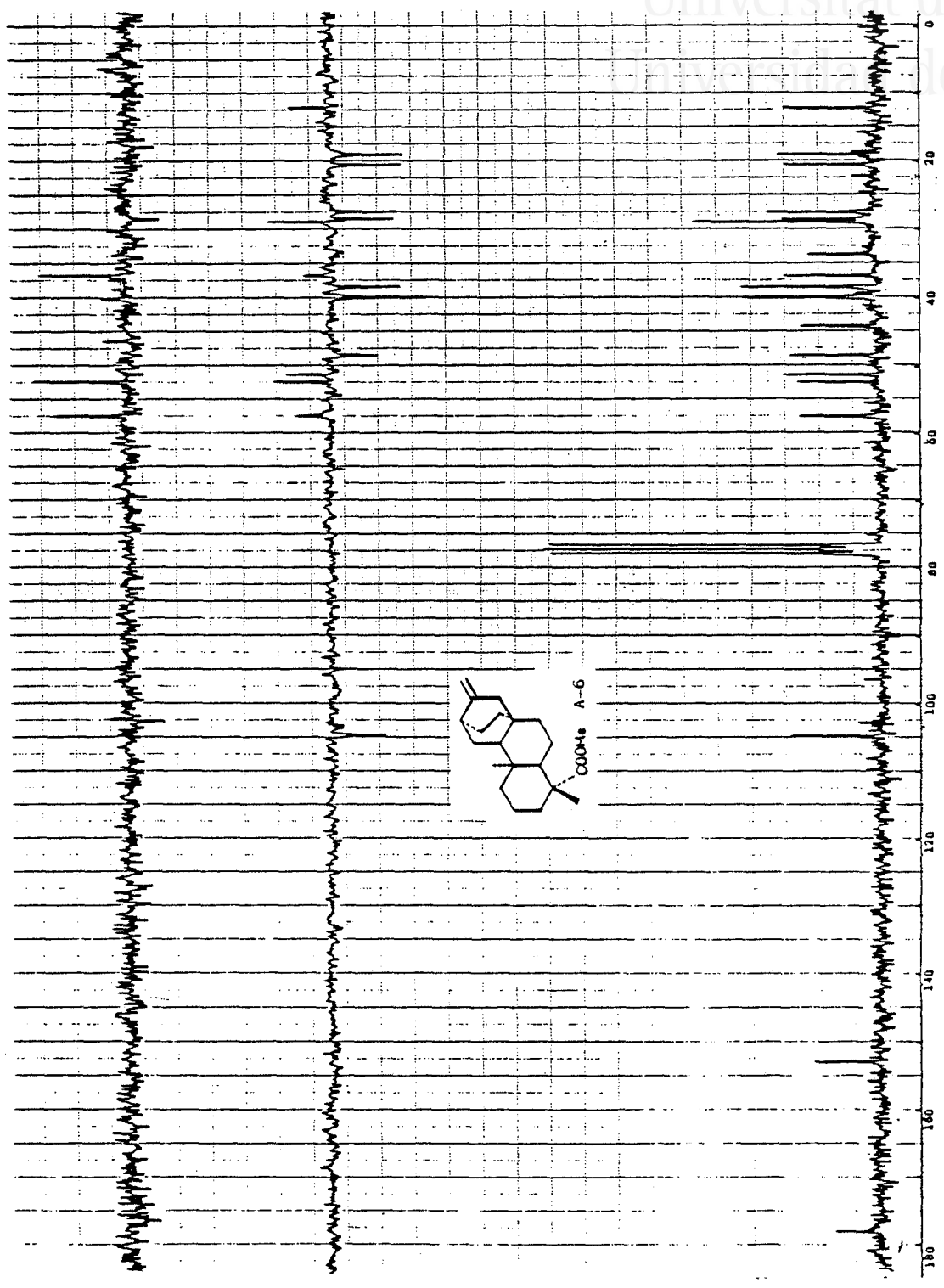
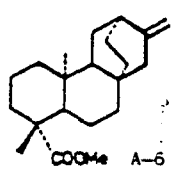


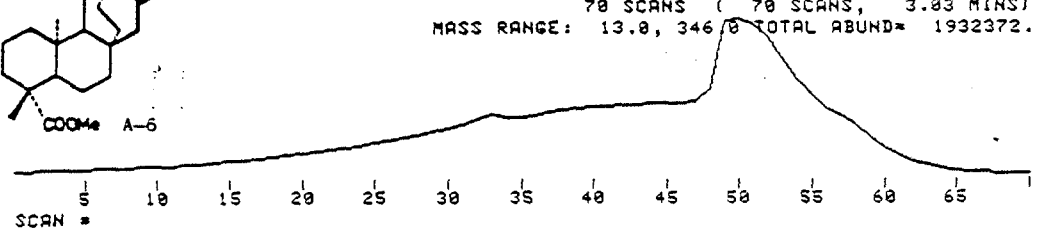
Fig. A-6d



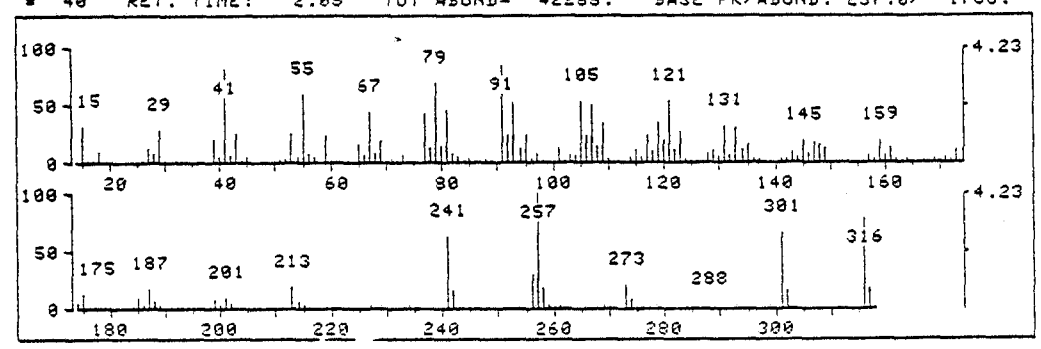
Universitat d'Alacant
 Universidad de Alicante



FRN 10140, CRN 2
 70 SCANS (70 SCANS, 3.03 MINS)
 MASS RANGE: 13.0, 346.0 TOTAL ABUND= 1932372.



40 RET. TIME: 2.05 TOT ABUND= 42265. BASE PK/ABUND: 257.0/ 1788.



FRN 10140, SPECTRUM # 40 RET. TIME: 2.05, 219 PEAKS

M/Z	REL ABUND	M/Z	REL ABUND	M/Z	REL ABUND	M/Z	REL ABUND
15	31.7	79	70.0	120	19.7	174	6.0
18	10.1	80	15.5	121	53.8	175	13.6
27	13.4	81	46.7	122	12.0	185	10.5
28	9.1	82	8.0	123	28.1	187	17.7
29	29.6	91	85.7	128	9.0	188	6.5
39	20.7	92	23.8	129	12.0	199	8.2
40	6.2	93	51.8	131	31.9	201	10.7
41	81.4	94	13.2	132	7.6	213	19.5
42	6.6	95	24.9	133	30.0	214	6.4
43	26.0	97	8.9	134	12.3	241	63.3
53	26.2	101	13.4	135	17.0	242	15.7
55	59.5	103	7.3	143	10.0	256	30.8
56	8.7	104	6.9	145	19.2	257	100.0
59	24.1	105	53.2	146	8.7	258	20.1
65	16.5	106	24.7	147	18.2	273	20.8
66	6.3	107	51.2	148	15.8	274	8.1
67	45.2	108	14.6	149	13.3	301	67.0
68	8.7	109	35.3	157	7.4	302	15.8
69	19.8	115	11.5	159	19.3	316	79.4
73	7.4	117	24.0	160	7.3	317	18.2
77	42.5	118	10.3	161	13.9		
78	13.3	119	35.7	173	11.8		

Fig. A-6e



A-2: Acido ent-15-beyeren-19-oico

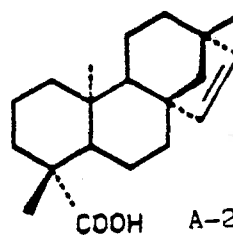
Este compuesto una vez aislado, cristalizó en metanol dando un Pf. 184° y $[\alpha]_D +7,0^\circ$.

El espectro IR (fig. A-2a) presenta como absorciones más significativas, bandas de grupo ácido (3.600-3.200, 1.685) y de doble enlace cis disustituído (3.025, 1.580, 740).

El espectro de RMN ^1H (60MHz) (fig. A-2b), es similar al del compuesto M-3 aislado en la parte neutra. Se mantienen las señales del sistema AB del doble enlace Δ^{15} [5,78(1H,d,J=6Hz,H-16) y 5,46(1H,d,J=6Hz,H-15)], desapareciendo las absorciones del grupo $-\text{CH}_2\text{OH}$ axial. Siguen apareciendo tres metilos cuaternarios a 1,25(3H,s,H-18), 1,00(3H,s,H-17) y 0,68(3H,s,H-20). Centrada a 10 ppm aparece una banda ancha asignable al protón de un grupo ácido.

Como podemos observar, dos de los metilos aparecen a campos muy similares a los de C-17 y C-20 en M-3, mientras que el correspondiente a C-18 sufre un desapantallamiento de 0,29 ppm.

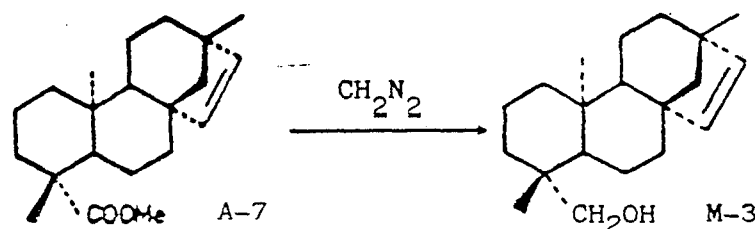
Todos estos datos parecen indicar que el compuesto A-2 es el ácido carboxílico del alcohol M-3 (erythroxyllol A) (75).



El compuesto A-2 no se encuentra descrito en bibliografía como ácido, pero sí se ha aislado en forma de su éster metílico ent-15-beyeren-19-oato de metilo (77), por lo que con objeto de confirmar la estructura realizamos la esterificación de A-2 con CH_2N_2 , obteniendo el compuesto A-7.

Tanto las constantes físicas como los datos espectroscópicos de A-7, coinciden con los descritos en bibliografía.

A-2 se correlacionó con el alcohol M-3 mediante la reducción con LiAlH_4 del éster metílico A-7.



Las asignaciones de RMN ^{13}C para los compuestos A-7 y A-2 (fig. A-7e y A-2d), se realizaron por comparación con datos de otros diterpenos conocidos.

A la columna A de la tabla XIII que contiene las absorciones para el compuesto ent-15-beyereno (41), se le sumaron los incrementos de desplazamiento esperados para un sustituyente metoxicarbonilo en C-19 (columna B). Los datos de la columna B se obtuvieron por diferencia entre las absorciones de los compuestos ent-16-kauren-19-oato de metilo y ent-16-kaureno (42).



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

TABLA XIII

Carbono	A	B	C	D
1	39,3	0,4	39,7	39,6
2	18,7	0,5	19,2	19,3
3	42,2	-4,0	38,2	38,0
4	33,3	10,6	43,9	43,9
5	56,1	0,9	57,0	57,2
6	20,3*	1,6	21,9	21,6
7	37,4		37,4	37,7
8	49,1		49,1	49,2
9	53,0	-0,9	52,1	52,4
10	37,4		37,4	37,7
11	20,5*		20,5	20,5
12	33,7		33,7	33,2
13	43,6		43,6	43,7
14	61,3		61,3	61,1
15	135,2		135,2	134,8
16	136,1		136,1	136,5
17	25,0		25,0	24,9
18	33,8	-4,9	28,9	29,1
19	22,0	156,3	178,3	184,3
20	15,1	-2,2	12,9	13,8

(*) Asignaciones intercambiables.

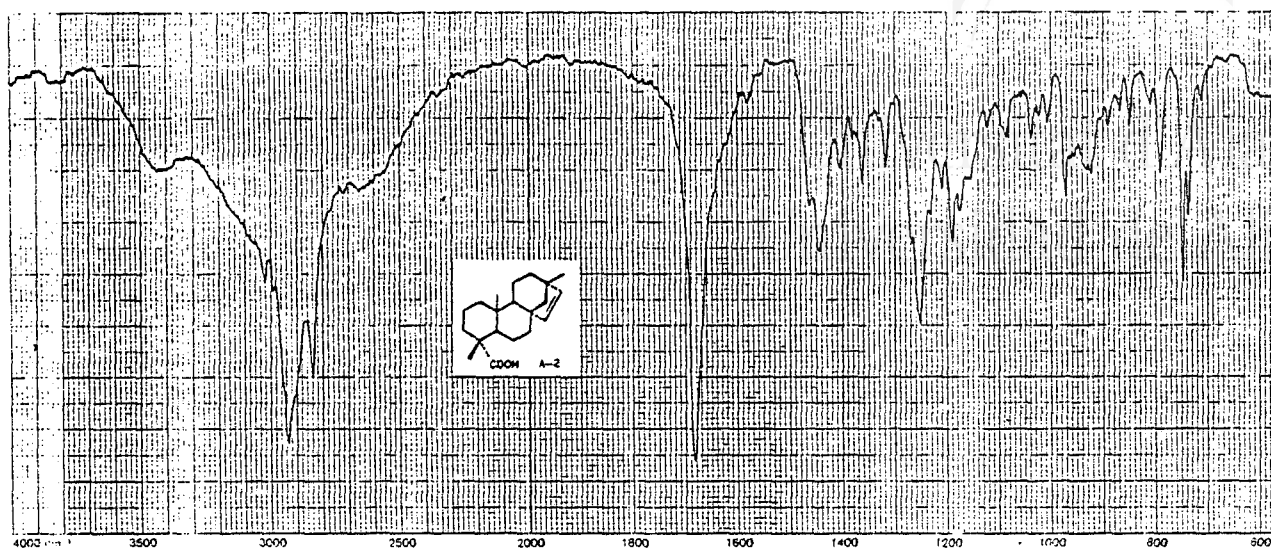


Fig. A-2a

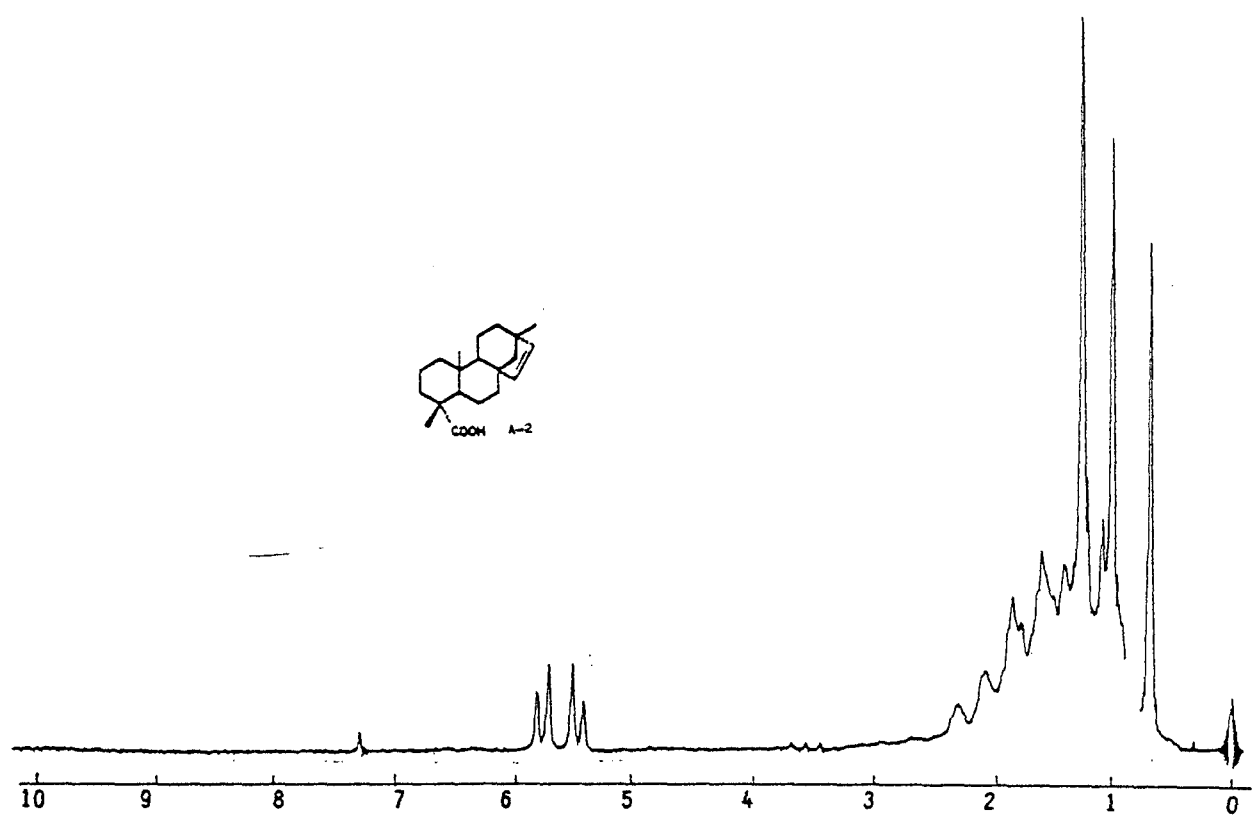


Fig. A-2b



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

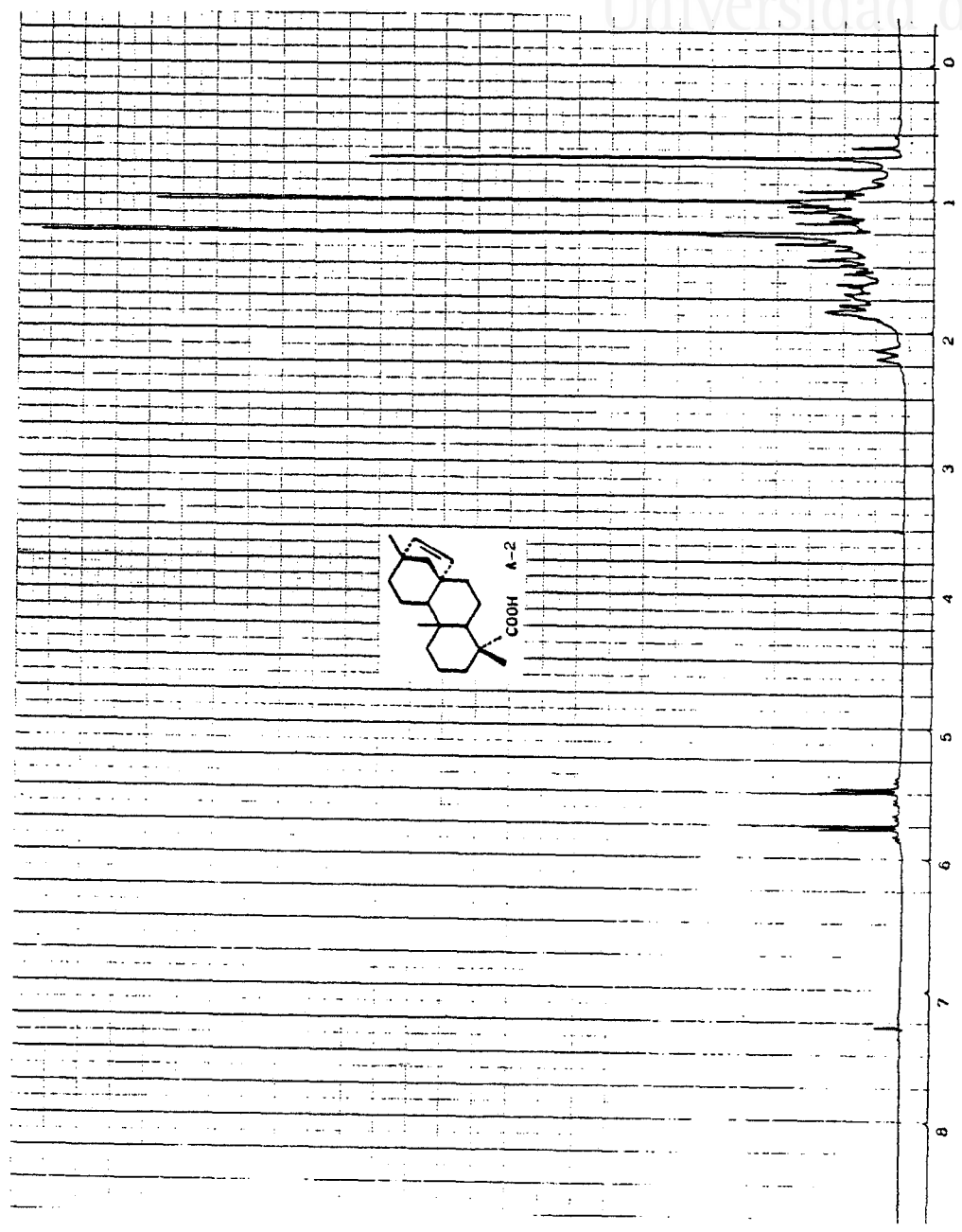


Fig. A-2c



Universitat d'Alacant
de Alicante

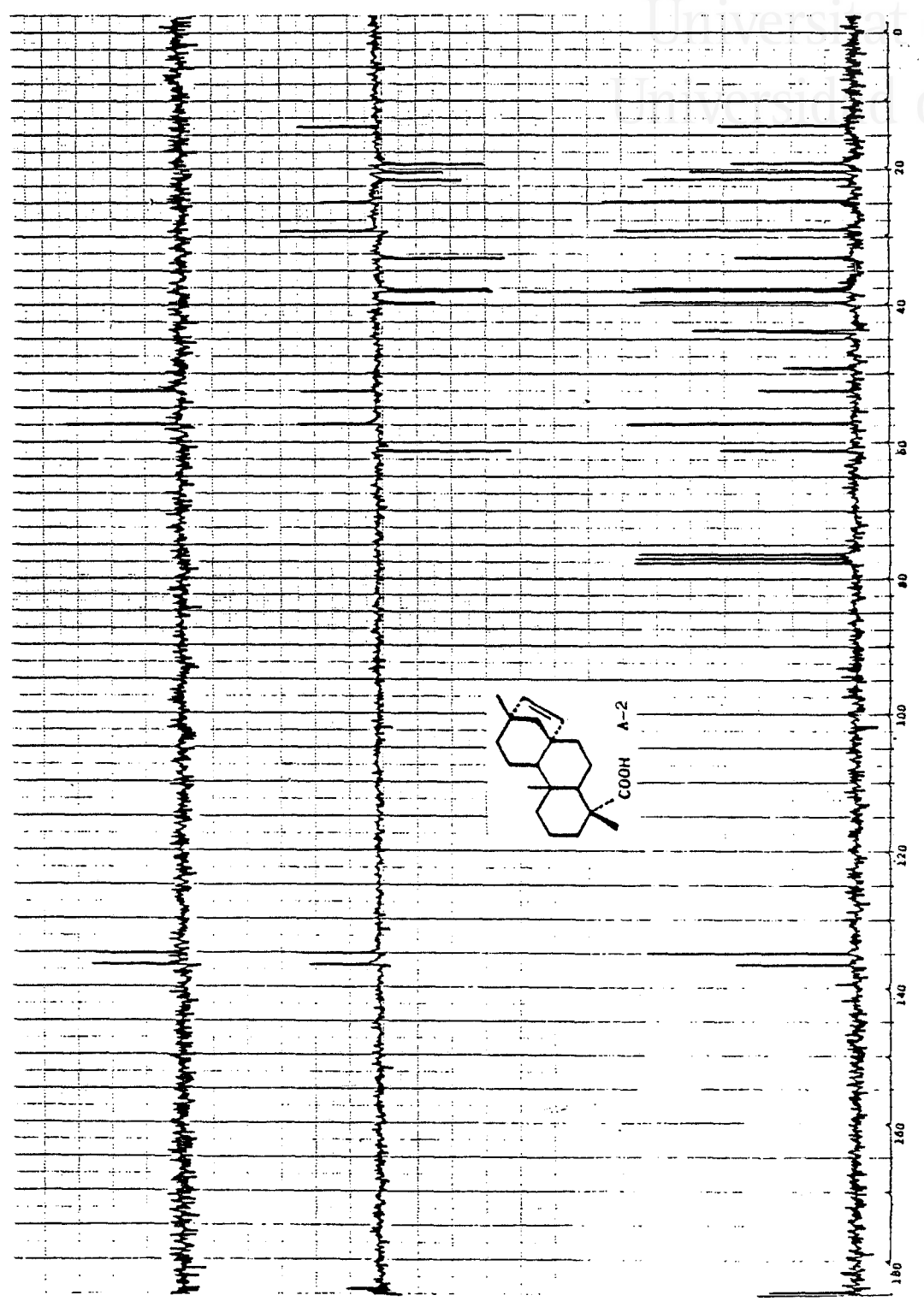
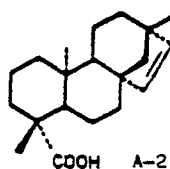


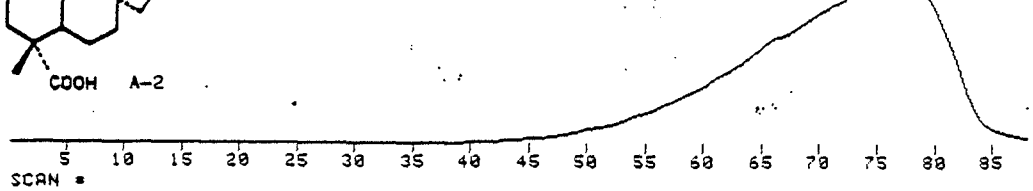
Fig. A-2d



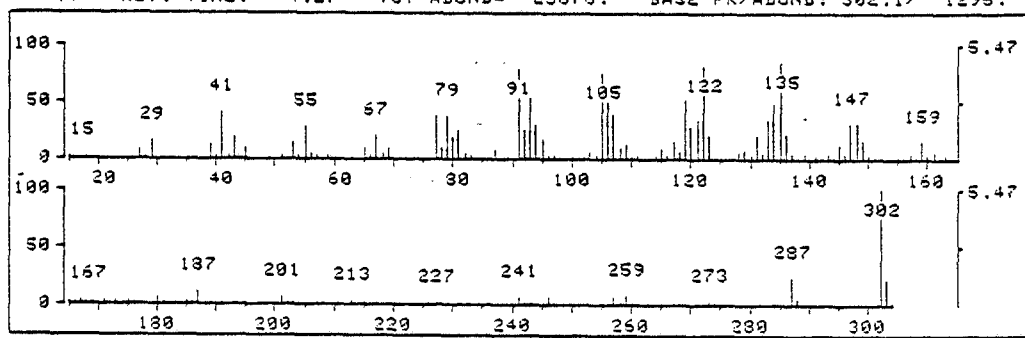
Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante



FRN 10142, CRN 2
88 SCANS (88 SCANS, 4.50 MINS)
MASS RANGE: 13.0, 316.1 TOTAL ABUND= 477703.



* 77 RET. TIME: 4.27 TOT ABUND= 23673. BASE PK/ABUND: 302.1/ 1295.



A-2
FRN 10142, SPECTRUM # 77 RET. TIME: 4.27, 179 PEAKS FRN 10142, CRN 2

M/Z	REL ABUND	M/Z	REL ABUND	M/Z	REL ABUND	M/Z	REL ABUND
27	8.2	81	25.6	118	7.6	147	31.5
29	16.6	87	8.3	119	51.7	148	31.3
39	13.1	91	79.5	120	29.7	149	16.7
41	40.8	92	25.6	121	35.0	159	17.1
43	19.3	93	67.0	122	81.6	161	6.6
45	10.0	94	30.0	123	21.4	180	7.1
53	15.4	95	18.1	128	6.8	187	11.1
55	29.3	103	6.9	129	8.1	201	6.3
65	10.0	105	75.7	131	21.8	241	7.3
67	20.6	106	50.7	133	34.5	246	6.8
69	10.5	107	40.5	134	50.0	257	6.9
77	37.6	108	10.7	135	84.6	259	9.0
78	10.9	109	13.1	136	23.3	287	24.5
79	38.2	115	10.1	143	6.1	302	100.0
80	19.0	117	15.0	145	14.0	303	22.1

Fig. A-2e

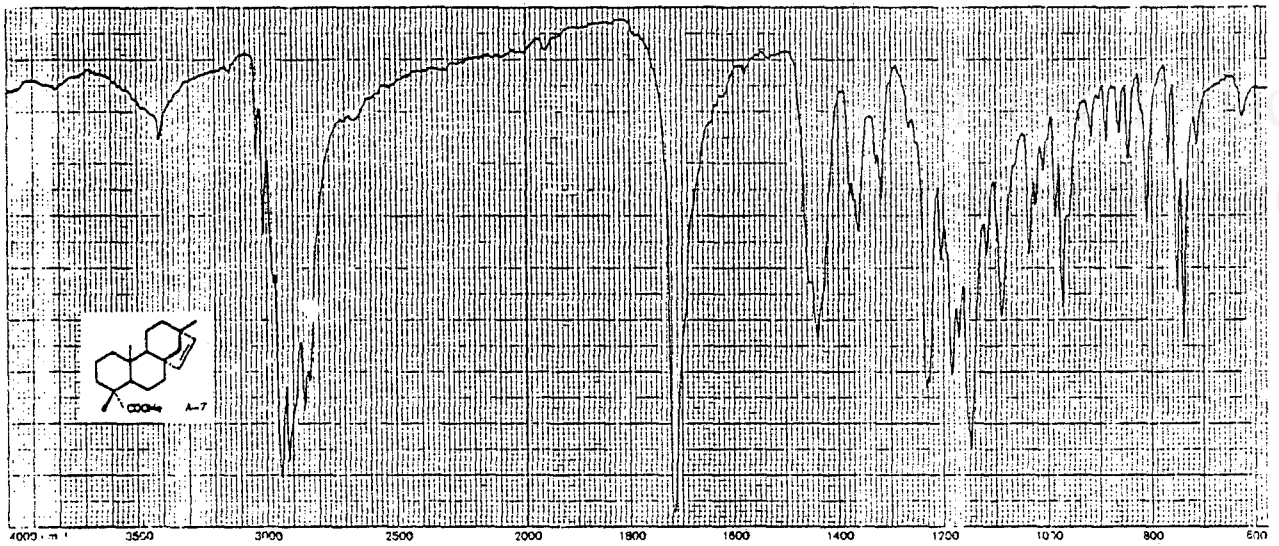


Fig. A-7a

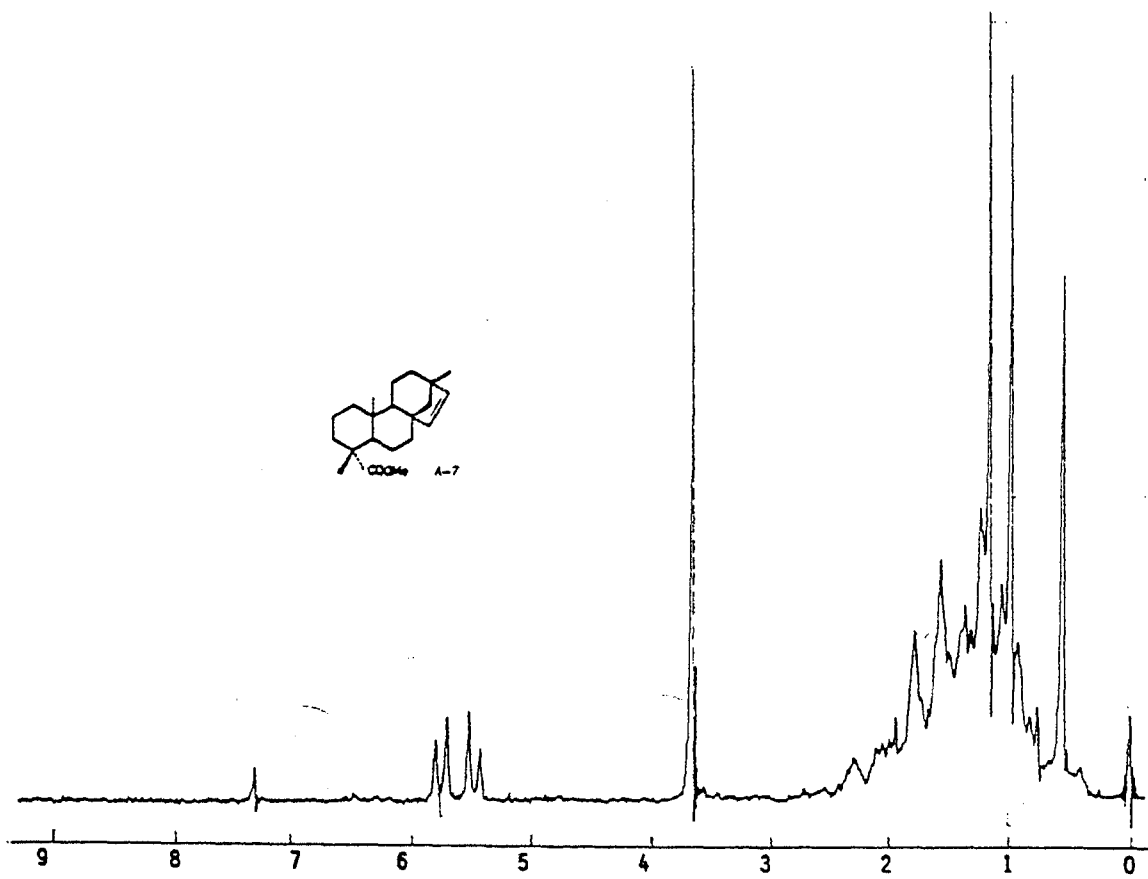


Fig. A-7c



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

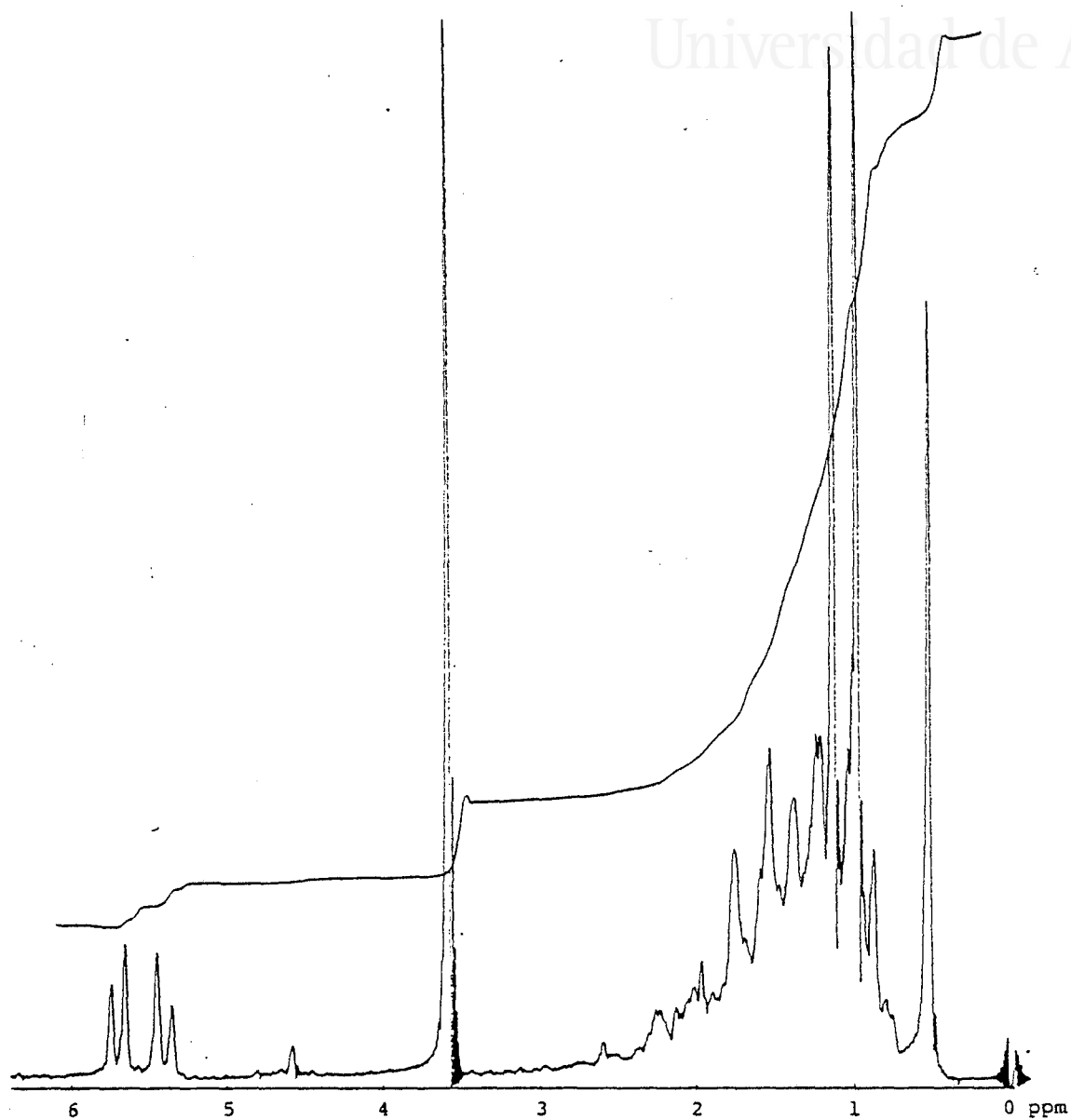


Fig. A-7b



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

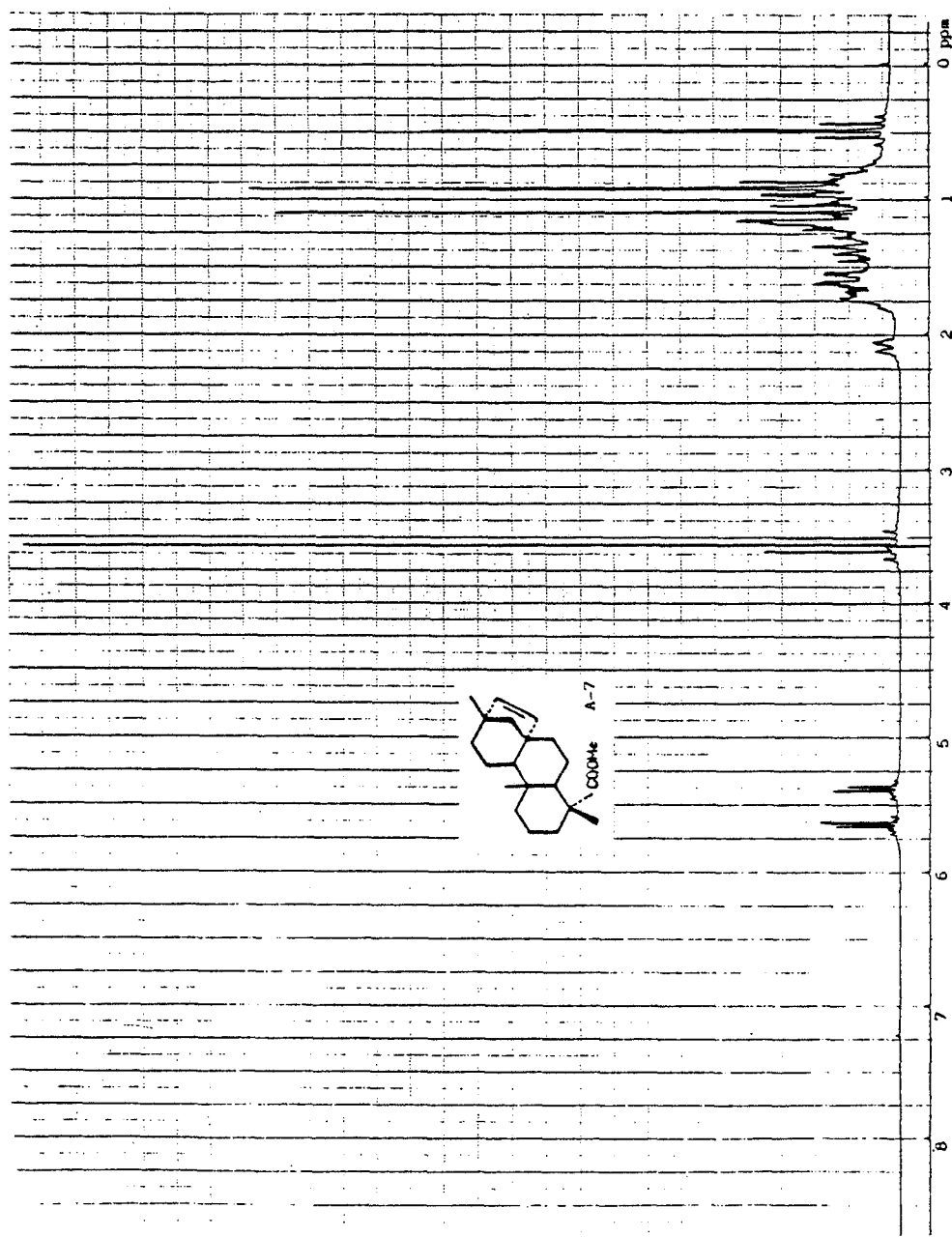


Fig. A-7d

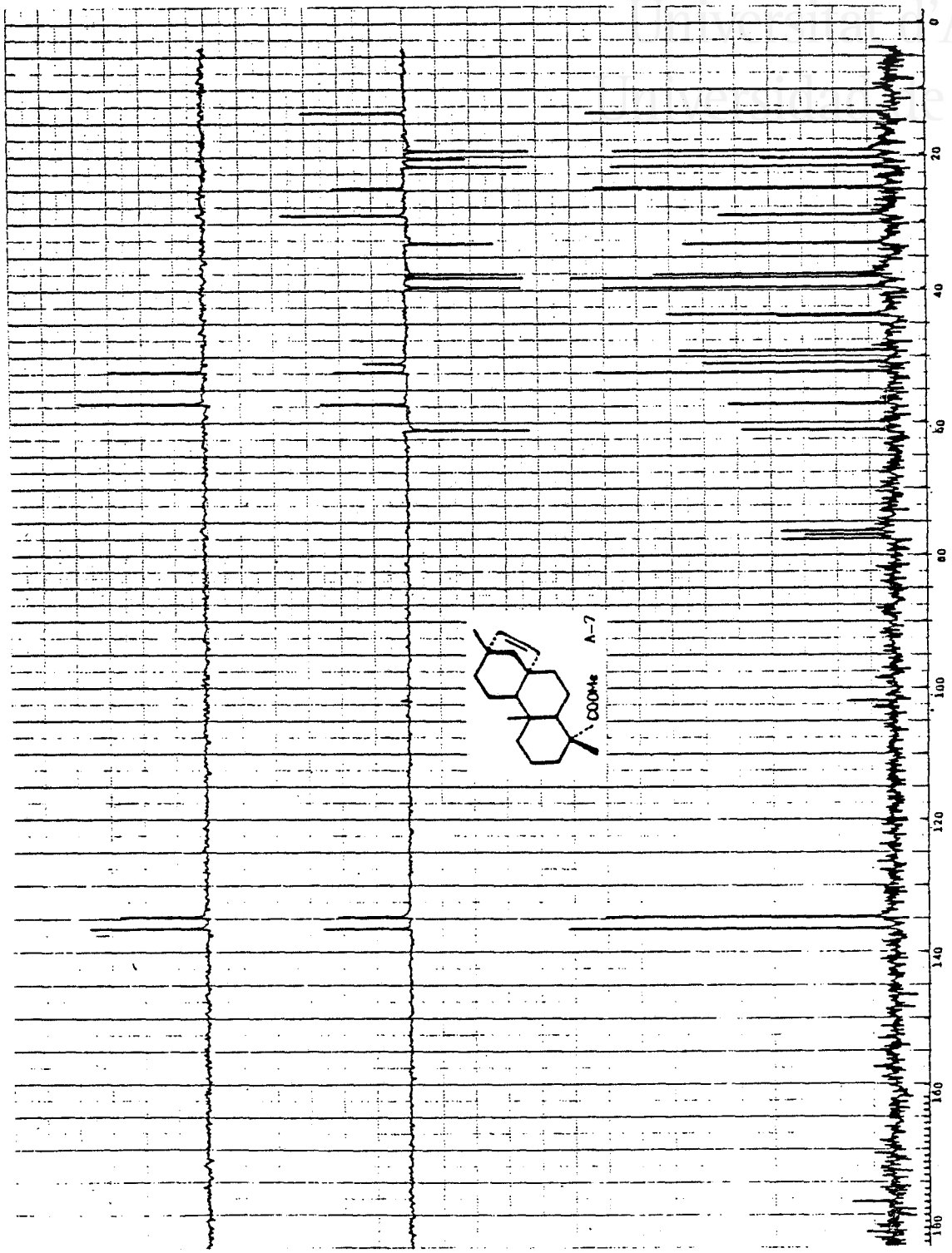
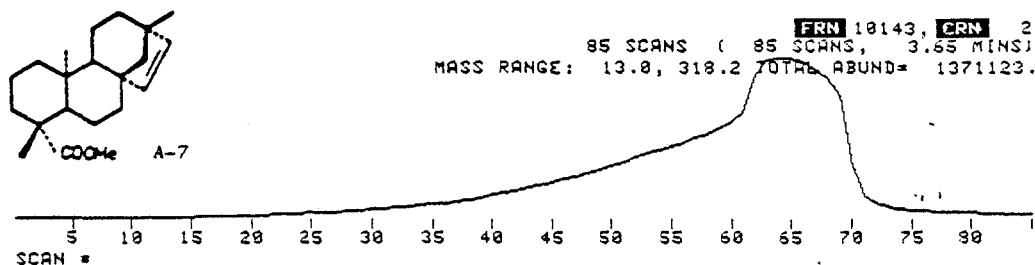


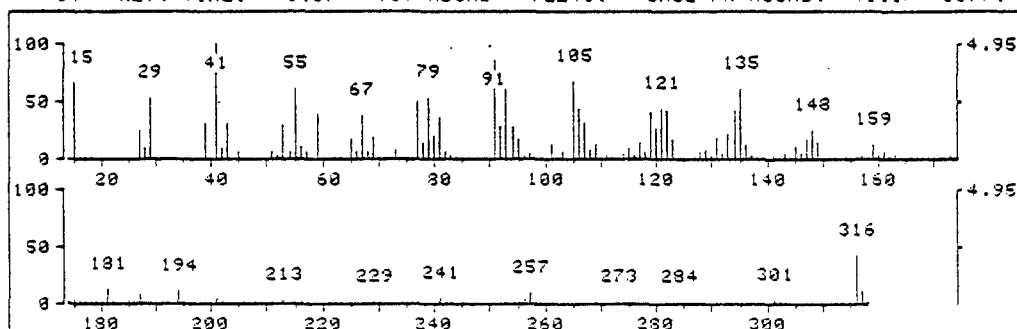
Fig. A-7e



Universitat d'Alacant
 Universidad de Alicante



* 64 RET. TIME: 3.07 TOT ABUND= 72246. BASE PK/ABUND: 41.1/ 3577.



FRN 10143, SPECTRUM * 64 RET. TIME: 3.07, 209 PEAKS

M/Z	REL ABUND	M/Z	REL ABUND	M/Z	REL ABUND	M/Z	REL ABUND
15	67.0	58	7.5	105	67.9	133	22.4
27	26.4	69	19.3	106	44.5	134	42.5
29	9.9	73	8.6	107	32.5	135	61.4
29	54.1	77	50.3	108	9.6	136	12.9
39	31.6	78	14.2	109	13.6	145	12.0
41	100.0	79	53.5	115	9.5	147	18.3
42	9.6	80	20.7	117	14.6	148	26.0
43	32.7	81	36.5	118	7.5	149	14.5
53	30.7	82	7.4	119	40.9	159	14.0
54	7.6	91	97.3	120	27.5	181	12.6
55	61.4	92	28.6	121	44.0	187	8.9
56	11.0	93	65.4	122	43.0	194	12.5
59	39.5	94	29.0	123	18.3	257	10.6
65	18.5	95	17.8	129	7.9	316	42.7
67	37.8	101	12.7	131	18.9	317	11.0

>PAUSE

Fig. A-7f

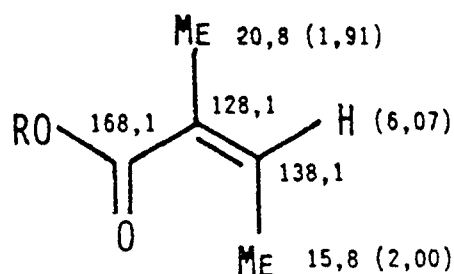


A-3: Acido ent-14 β -angeloiloxi-15-beyeren-19-oico

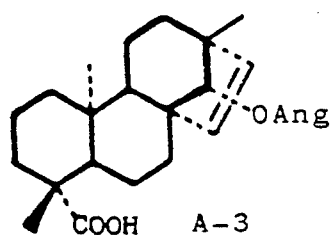
La sustancia A-4 aparecía acompañada por un componente A-3 de menor proporción en el extracto ácido y Rf. muy similar, que una vez aislado por CCF en columna, se purificó por cristalización en metanol, dando un sólido de Pf. 185° y $[\alpha]_D -18,9^\circ$.

Tanto el espectro IR (fig. A-3a) como el de RMN ^1H (60MHz) (fig. A-3b), son prácticamente idénticos a los de A-4.

La diferencia fundamental radica en que A-3 en lugar de un sustituyente tigloiloxilo, presenta las absorciones características de un grupo angeloiloxilo. Los desplazamientos químicos de este grupo en RMN ^1H y ^{13}C (fig. A-3c y A-3d), coinciden con los descritos en bibliografía (35).



Las asignaciones en el espectro de RMN ^{13}C (ver tablas pág. 388), se realizaron por comparación con las absorciones de A-4 y concuerdan con la estructura siguiente:



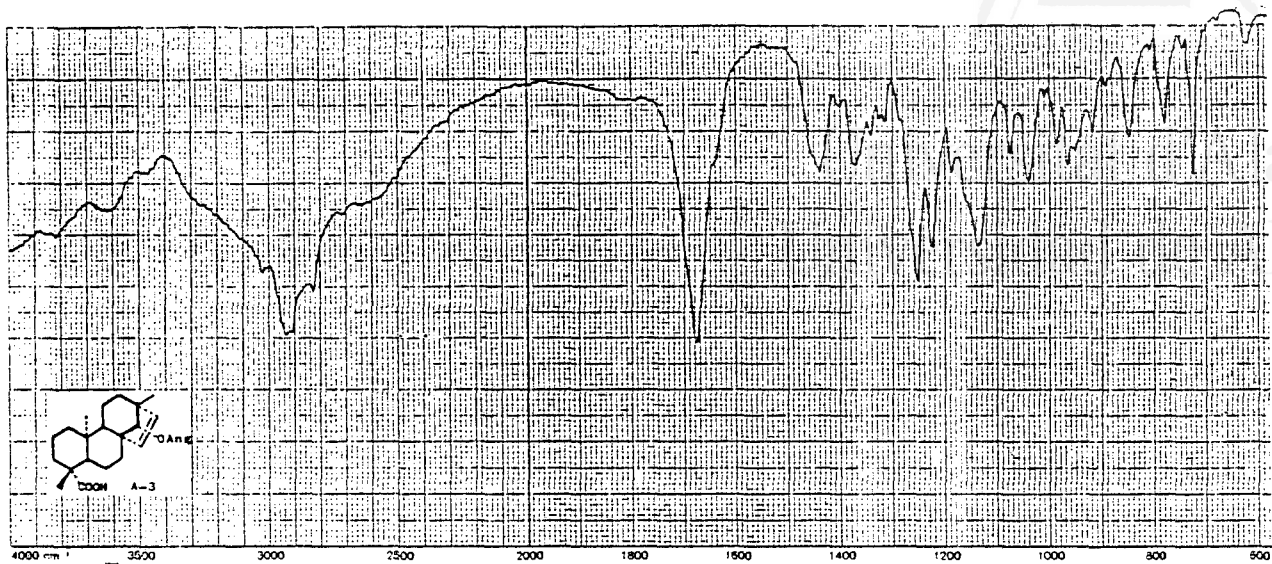


Fig. A-3a

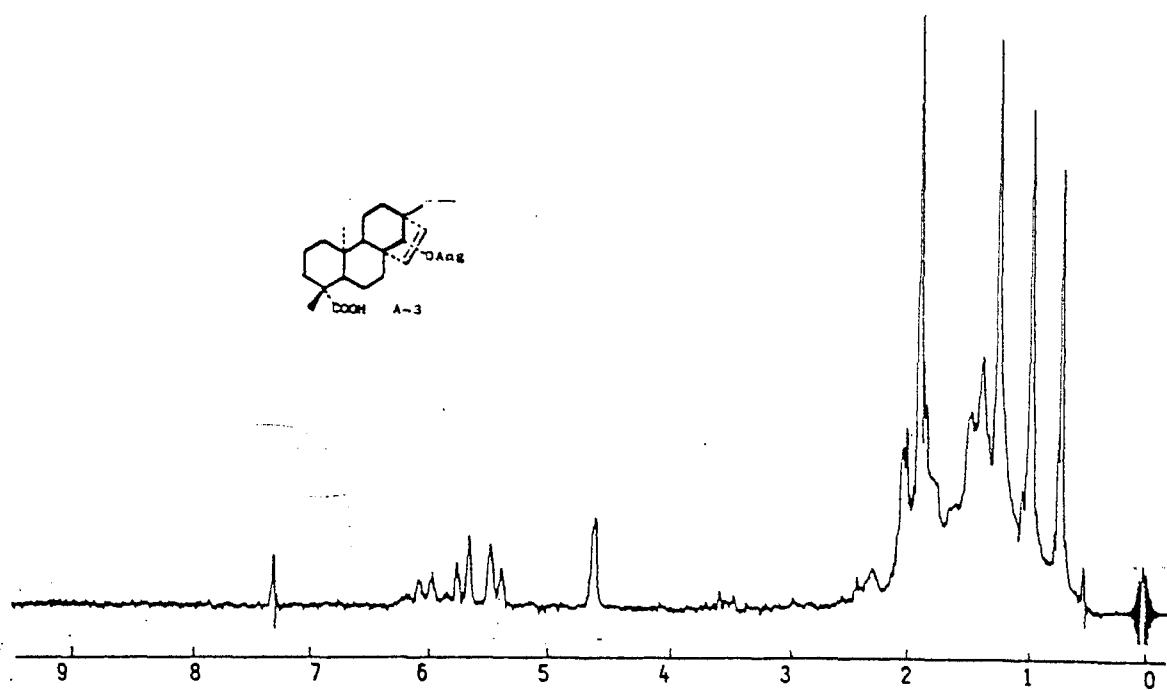


Fig. A-3b



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

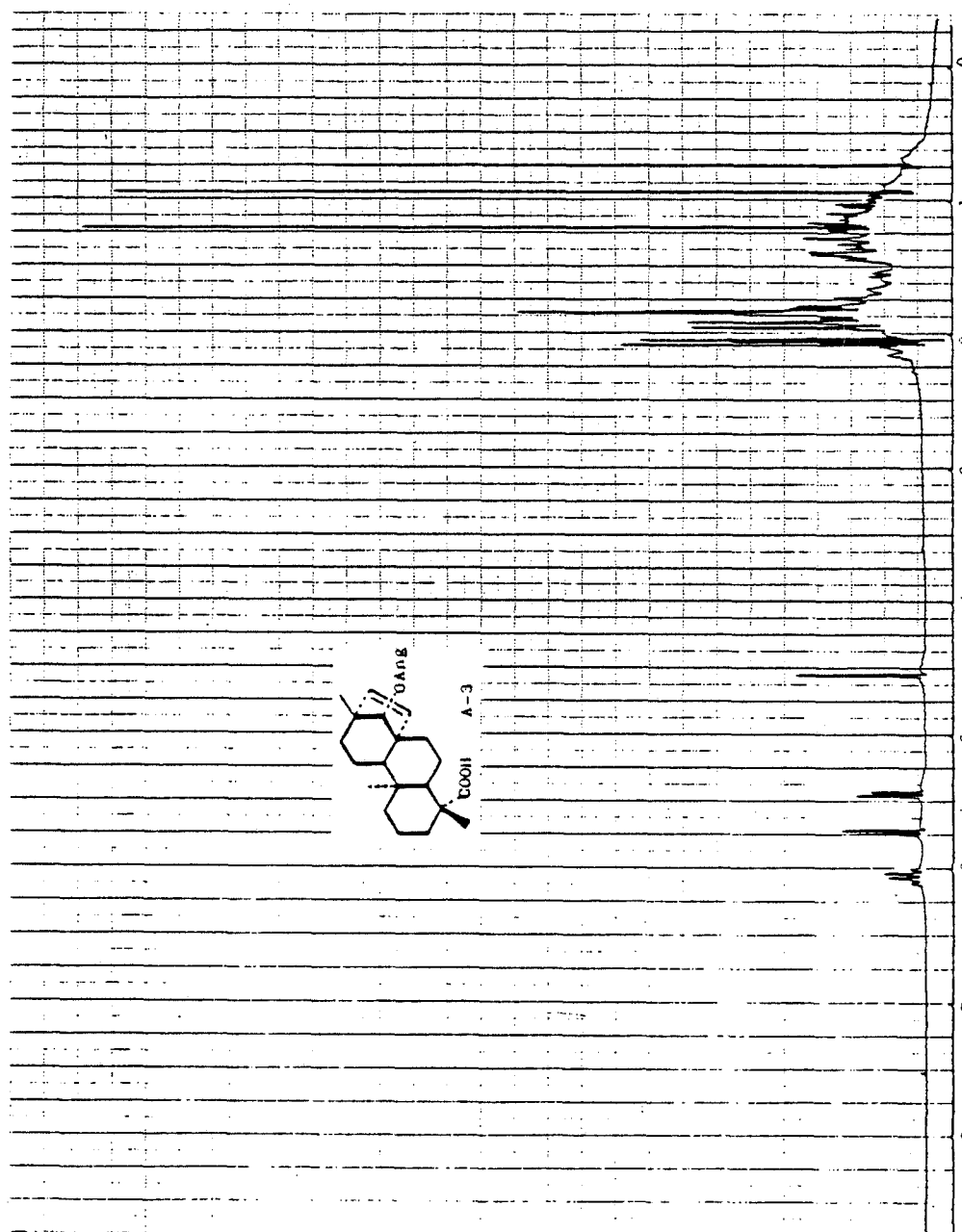


Fig. A-3C

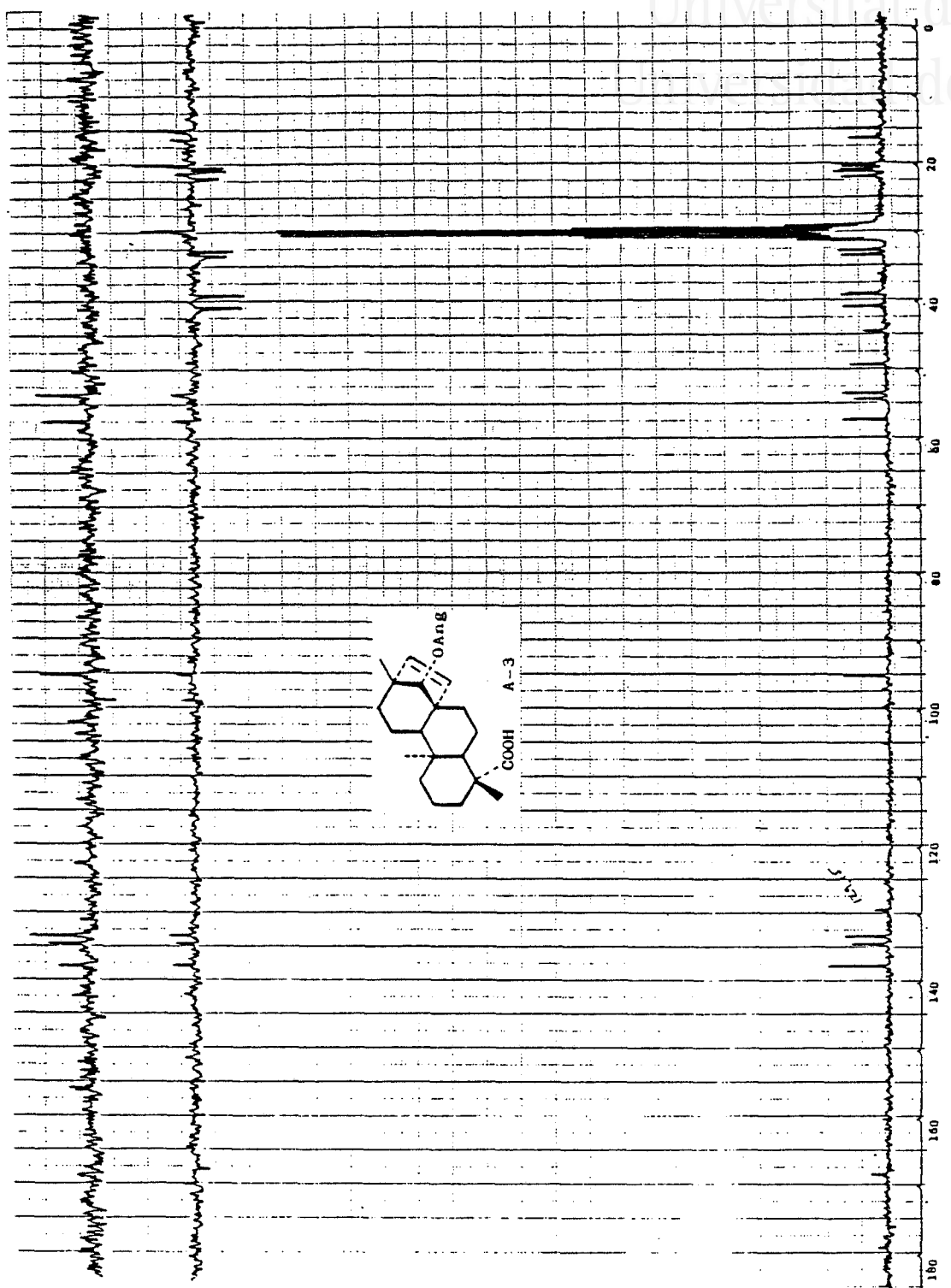
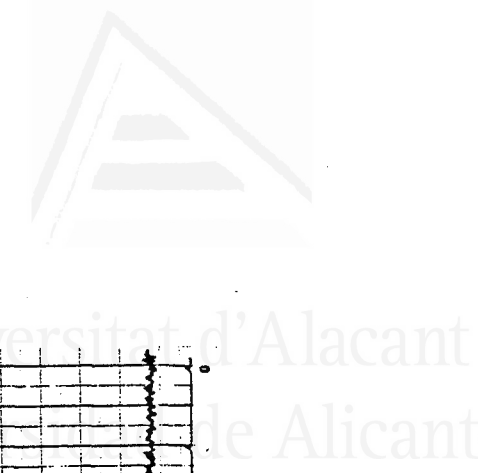
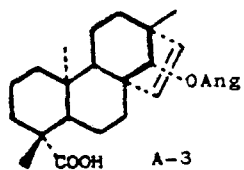


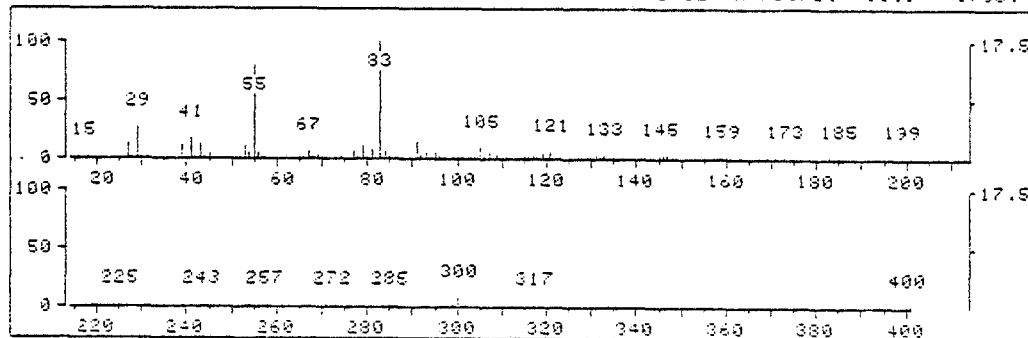
Fig. A-3d



FRN 10303, CRN 2
 195 SCANS (195 SCANS, 8.40 MIN)
 MASS RANGE: 9.0, 446.2 TOTAL ABUND= 824123.

SCAN * 20 40 60 80 100 120 140 160 180

* 140 RET. TIME: 6.37 TOT ABUND= 21479. BASE PK/ABUND: 91.17 3766.



FRN 10303, SPECTRUM # 140 RET. TIME: 6.37, 144 PEAKS

M/Z	REL ABUND	M/Z	REL ABUND	M/Z	REL ABUND	M/Z	REL ABUND
15	1.8	59	4.1	108	1.4	149	1.3
27	13.0	71	1.4	109	3.5	157	1.4
28	4.7	77	7.3	115	2.1	159	2.6
29	27.3	78	2.0	116	1.0	161	1.5
39	13.8	79	11.0	117	3.8	163	1.0
40	2.5	80	1.8	118	2.4	173	.9
41	17.6	81	8.5	119	5.3	185	1.7
42	2.0	83	100.0	120	1.9	243	1.9
43	13.8	84	6.4	121	6.9	253	1.5
44	1.0	85	1.6	122	1.6	254	1.5
45	4.8	87	2.3	123	2.2	255	1.4

51	1.6	91	15.6	128	1.3	257	2.6
52	1.4	92	3.7	129	1.7	258	1.1
53	11.4	93	9.1	131	3.8	271	1.8
54	7.6	94	2.0	132	3.0	272	2.6
55	81.0	95	5.2	133	3.9	285	2.5
56	5.1	97	1.2	134	1.5	299	2.1
57	2.6	100	2.7	135	2.0	300	7.9
59	1.7	103	1.5	139	.9	301	2.4
65	3.0	104	1.2	143	1.4	400	1.0
66	1.0	105	10.4	145	4.0		
67	7.8	106	2.9	146	3.6		
68	1.3	107	5.5	147	3.1		

>PAUSE

Fig. A-3e

**A-5: Acido ent-18-angeloiloxi-16-kauren-19-oico**

Este ácido se purificó de las fracciones I33 - I35, por cristalización en metanol dando un Pf. 154° y $[\alpha]_D -75,7^\circ$.

El espectro IR (fig. A-5a), presenta absorciones características de los siguientes grupos: =C-H (3.040), éster conjugado (1.720, 1.270, 1.150), ácido carboxílico (3.140, 1.655, 1.205), metileno terminal (1.645(h), 870) y doble enlace trisustituído (800).

En el espectro de masas (fig. A-5e), se observa un ión molecular M^+ a m/z 400 que corresponde a una fórmula molecular $C_{25}H_{38}O_3$, siendo además significativos los fragmentos a m/z: 317[M-Ang]⁺, 300[M-AngOH]⁺, 285[300-Me]⁺, 272[317-COOH]⁺, 257[272-Me]⁺, 83[Ang]⁺(100), 55[Ang-CO]⁺, (28, 34, 36).

En el espectro de RMN 1H (200MHz) (fig. A-5c), se observan las señales características de un grupo angeloilo-xilo (35) [6,08(1H,cc,J=7,2Hz,J=1,5Hz,H-3'), 1,97(3H,dd,J=7,2Hz,J=1,5Hz,H-4') y 1,86(3H,qnt,J=1,5Hz, H-5')], cuya presencia en la molécula concuerda con los datos espectroscópicos anteriores.

En el espectro de RMN 1H , se aprecian además las siguientes señales: 4,80(1H,s(a),H-17a) y 4,74(1H,s(a),

H-17b) de un grupo metileno terminal; 4,51(1H,d,J=10,5Hz, H-18a) y 4,03(1H,d,J=10,5Hz,H-18b) de un grupo metileno geminal a éster; (1H,s(a),COOH) de un grupo ácido; 0,99 (3H,s,H-20) de un metilo cuaternario.

De la fórmula molecular de A-5 y de los datos espectroscópicos citados, se concluye que este compuesto debe ser un diterpeno tetracíclico con estructura de kaurano, atisano o filocladano, sustituido por un grupo ácido y un éster angélico.

La señal en RMN ^1H a 2,64(1H,s(a),H-13) asignable al protón H-13, nos indica que A-5 tiene una estructura de kaurano, ya que el protón correspondiente a H-13 en una estructura de atisano (H-12) aparecería sobre 2,28 ppm (38). La estructura de filocladano queda descartada, como veremos más adelante, por los datos de RMN ^{13}C .

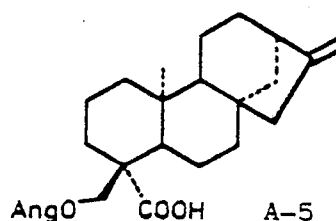
La presencia de un único metilo y de un metileno geminal al angelato, nos indica que los dos sustituyentes deben encontrarse en las posiciones C-18, C-19 y C-20. El desplazamiento del metilo parece indicar que se trata del C-20, lo que se confirmó más adelante por los datos de RMN ^{13}C .

A-5 se esterificó con CH_2N_2 , con objeto de confirmar la presencia del grupo ácido, obteniendo el éster metílico A-9. El estudio del espectro IR (fig. A-9a) de A-9, nos

indica que el grupo COOH debe encontrarse en C-19, ya que presenta absorciones (1.230, 1.190, 1.155) características de un grupo metoxicarbonilo en posición axial (70).

Por otra parte el desplazamiento químico del sistema AB del metileno geminal al angelato, nos indica que éste debe encontrarse en posición ecuatorial (64), por lo que le asignamos la posición C-18.

De todo ello concluimos que A-5 presenta la siguiente estructura:



Consultada la bibliografía, hemos comprobado que el ácido A-5 ha sido aislado anteriormente en forma de su éster metílico: ent-18-angeloiloxi-16-kauren-19-oato de metilo (36), cuyos datos espectrosópicos y constantes físicas concuerdan perfectamente para nuestro éster metílico A-9.

Dado que en bibliografía no aparecen descritos los datos de RMN ^{13}C de A-9 (fig. A-9d), las asignaciones para este compuesto y para A-5 (fig. A-5d), se realizaron por

comparación con las absorciones de otros diterpenos conocidos.

A los datos de RMN ^{13}C del compuesto ent-16-kauren-19-oato de metilo (42) (columna A, tabla XIV), se le sumaron los incrementos de desplazamiento producidos sobre una estructura de kaurano por un grupo acetato en C-18 (columna B). Hemos considerado que el efecto producido por un grupo angelato es prácticamente idéntico al de un sustituyente acetato. Los datos de la columna B, están calculados por diferencia entre las absorciones del ent-16-kaureno y el ent-18-acetoxi-16-kaureno (78) (ver tablas RMN ^{13}C).

Las absorciones calculadas (columna C), son coincidentes con las experimentales de A-9 (columna D).

Los desplazamientos químicos para el sustituyente angeloiloxilo en esta estructura, concuerdan con los descritos en bibliografía.

Las asignaciones para A-5, se realizaron por comparación con las de A-9.

La estructura de filocladano, queda definitivamente descartada debido al desplazamiento del carbono C-10 (39,7 ppm), por la misma razón ya explicada al estudiar el compuesto T-4 (pág. 34).



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

TABLA XIV

Carbono	A	B	C	D
1	40,9	-0,4	40,5	40,1
2	19,2	-1,3	17,9	18,5
3	38,1	-6,1	32,0	32,9*
4	43,9	3,2	47,1	47,8
5	57,2	-5,9	51,3	52,3
6	21,9	-0,1	21,8	21,8
7	41,4	-0,5	40,9	40,8
8	44,3		44,3	43,8
9	55,2		55,2	55,2
10	39,5		39,5	39,2
11	18,4		18,4	18,5
12	33,2		33,2	33,0*
13	43,9		43,9	43,8
14	39,7		39,7	39,6
15	49,0		49,0	48,9
16	155,8		155,8	155,5
17	103,1		103,1	103,1
18	28,8	39,4	68,2	71,9
19	178,0	3,8	181,8	175,1
20	15,4	0,4	15,8	15,4

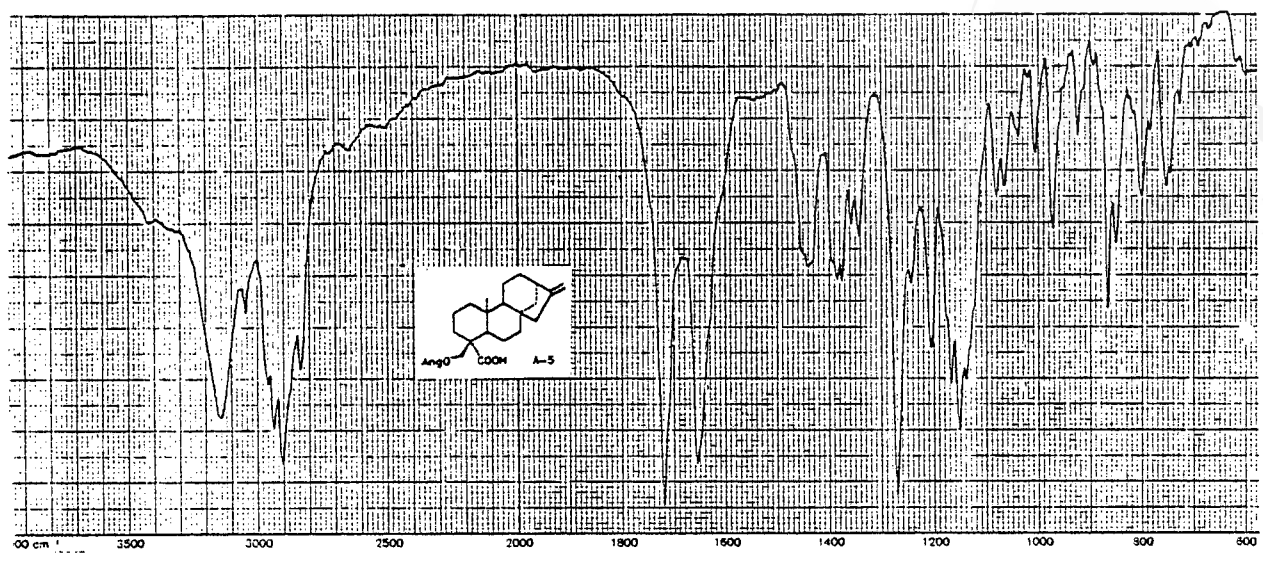


Fig. A-5a

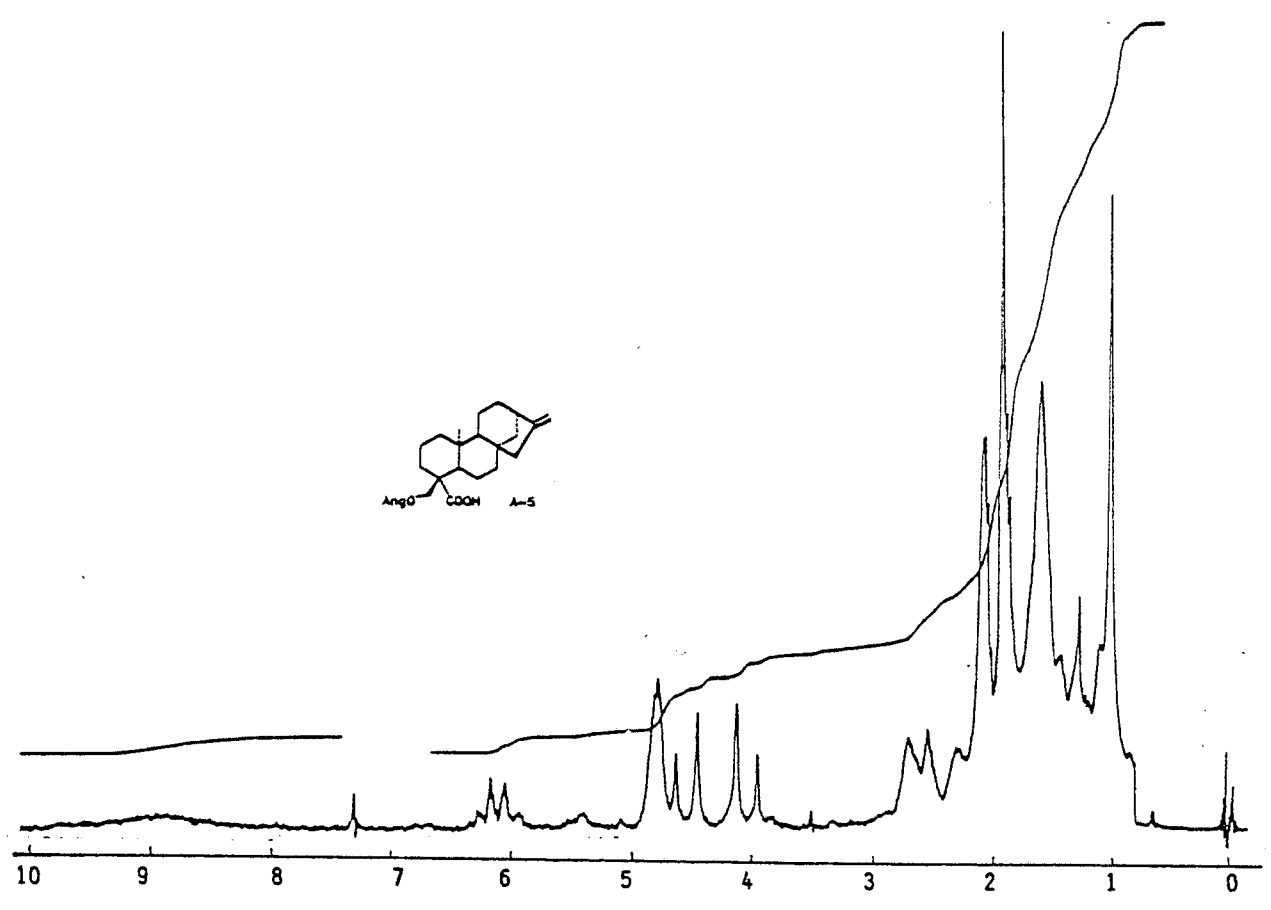
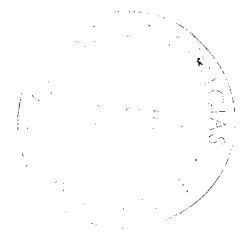


Fig. A-5b





Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

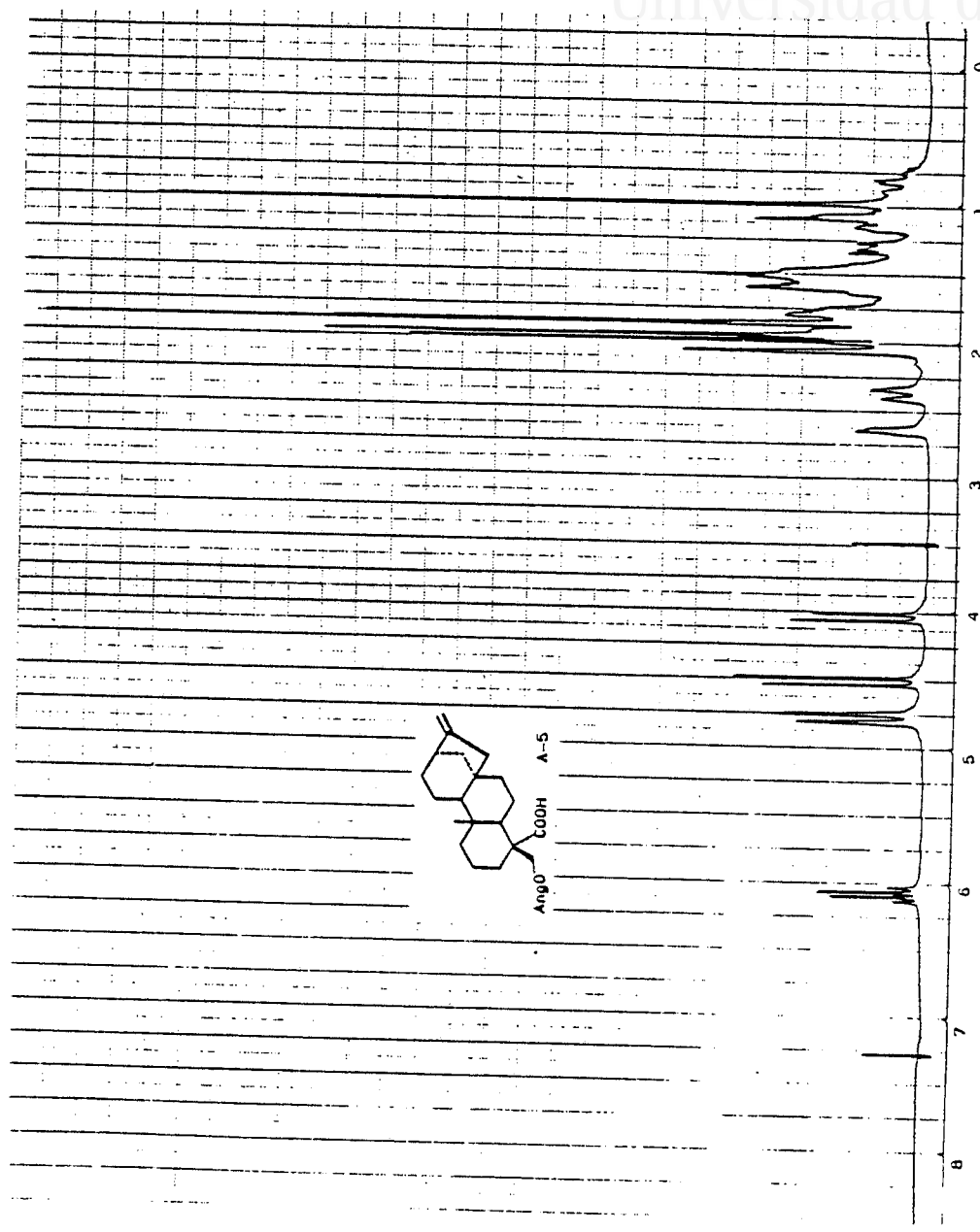


Fig. A-5C



Universidad d'Alacant
University of Alicante

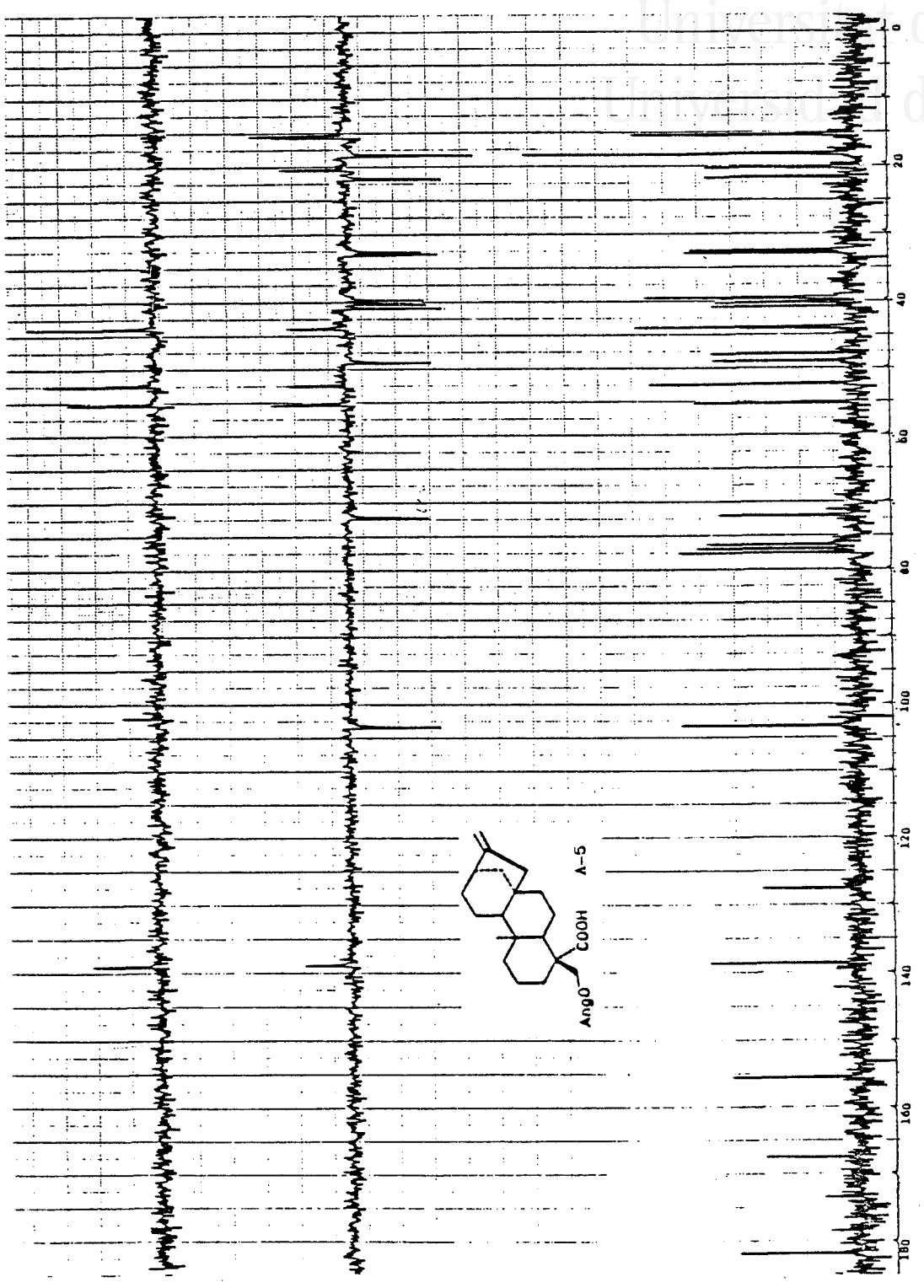
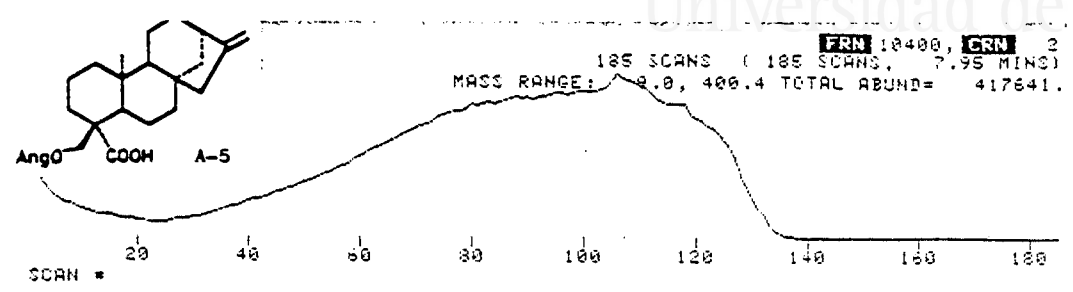


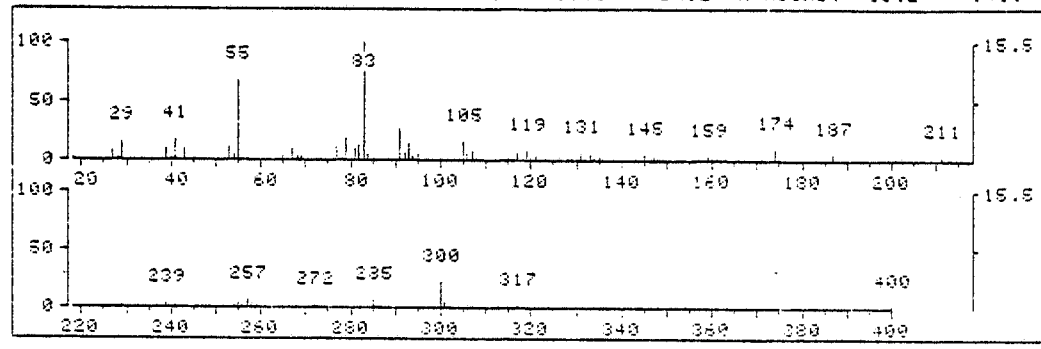
Fig. A-5d



Universitat d'Alacant
 Universidad de Alicante



* 106 RET. TIME: 4.88 TOT ABUND= 6115. BASE PK/ABUND: 23.2 946.



FRN 10400, SPECTRUM # 106 RET. TIME: 4.88, 93 PEAKS

M/Z	REL ABUND	M/Z	REL ABUND	M/Z	REL ABUND	M/Z	REL ABUND
13	2.5	79	19.2	109	2.4	173	2.3
27	9.0	80	4.0	115	2.7	174	9.9
28	3.0	81	10.1	117	6.8	175	2.7
29	16.9	82	12.6	118	2.2	187	4.8
39	10.7	83	100.0	119	9.7	211	4.1
41	17.3	84	6.0	120	2.6	239	3.8
43	9.7	85	2.2	121	5.0	241	2.5
45	2.3	91	27.3	129	2.6	254	2.6
53	11.0	92	6.3	131	7.4	255	3.7
54	6.1	93	15.3	132	2.2	256	2.1
55	67.5	94	3.5	133	5.0	257	7.1
56	4.0	95	5.9	134	3.2	272	2.3
57	2.7	100	2.5	135	3.5	285	6.9
65	4.3	103	2.1	143	2.5	300	23.0
67	9.7	104	2.2	145	5.1	301	5.3
68	3.2	105	16.2	147	4.0	317	2.3
69	3.6	106	4.8	148	2.2	400	2.3
77	12.2	107	8.6	159	4.5		
78	3.1	108	2.2	161	2.6		

>PAUSE

Fig.A-5e

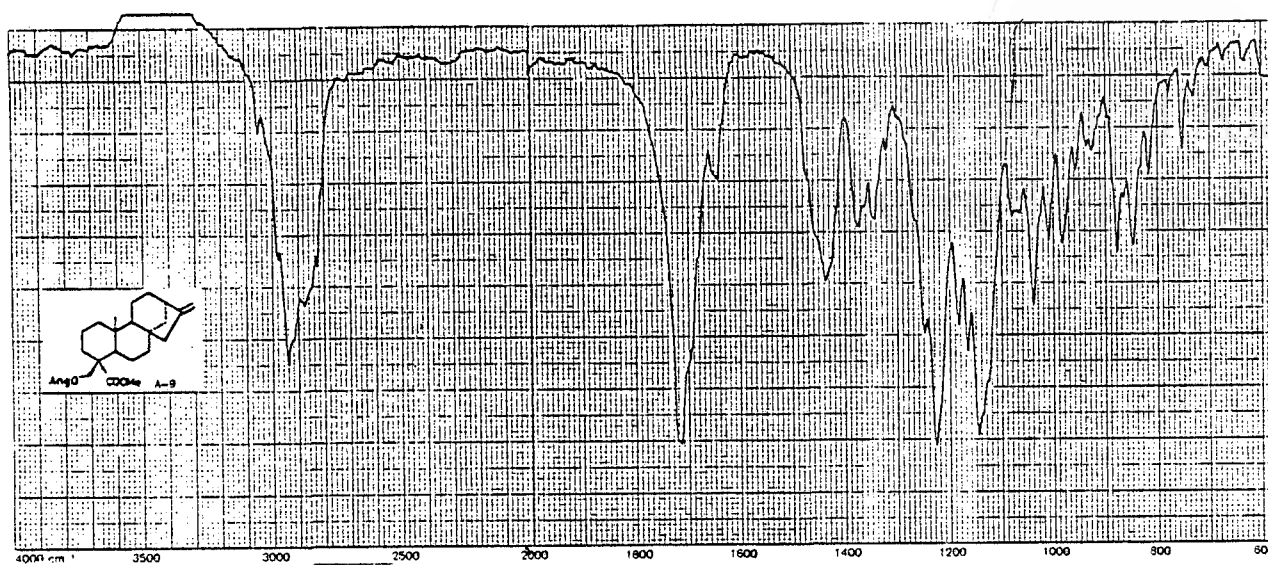


Fig. A-9a

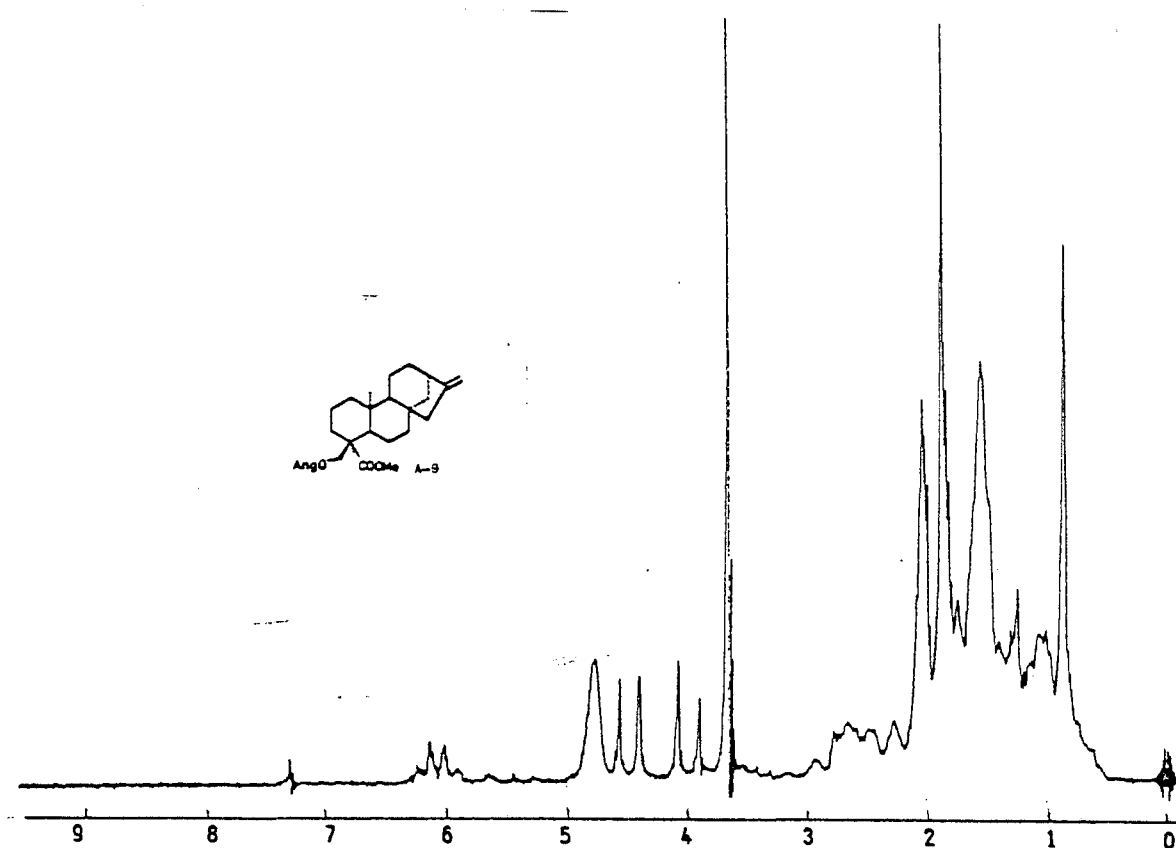


Fig. A-9b



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

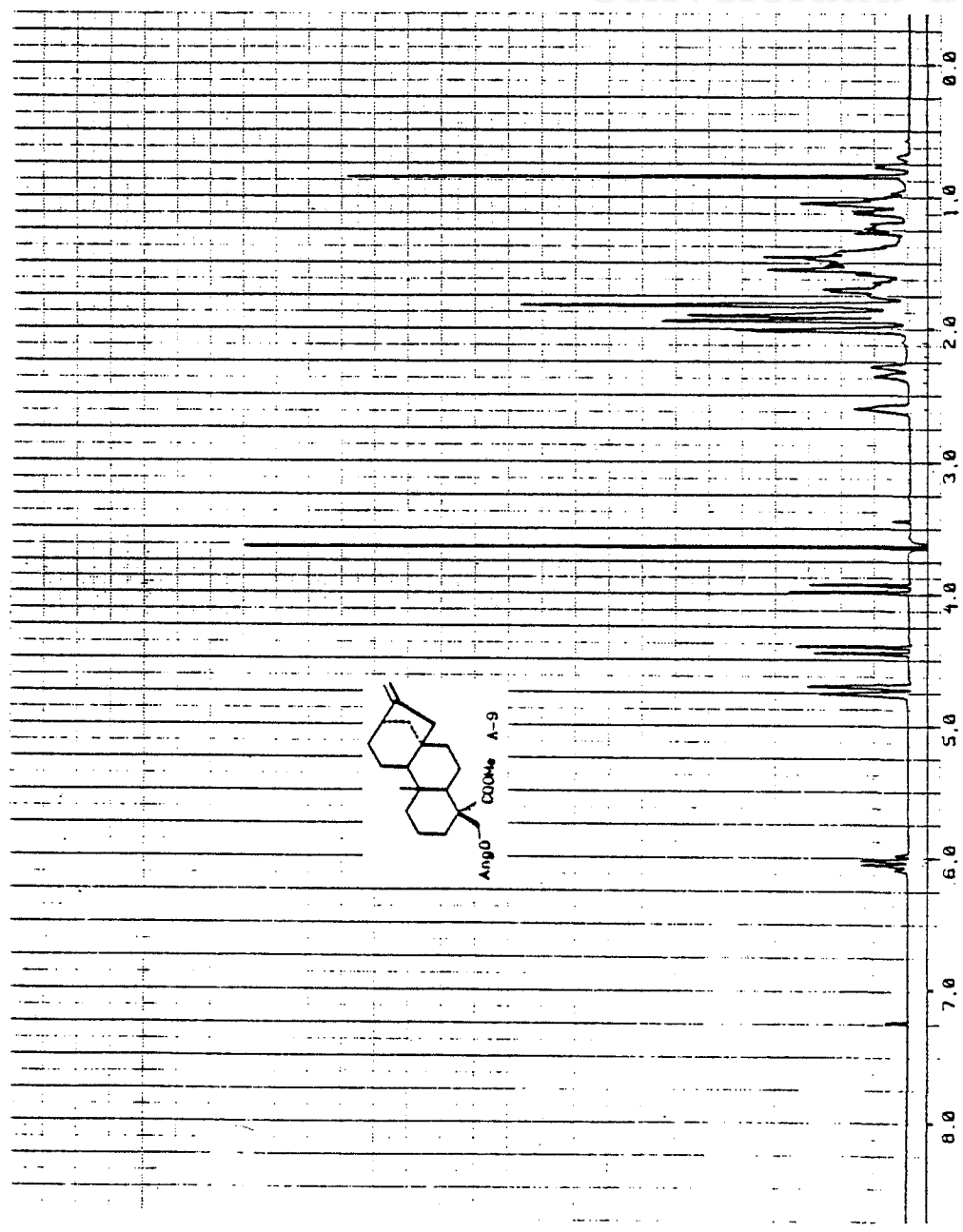


Fig. A-9c

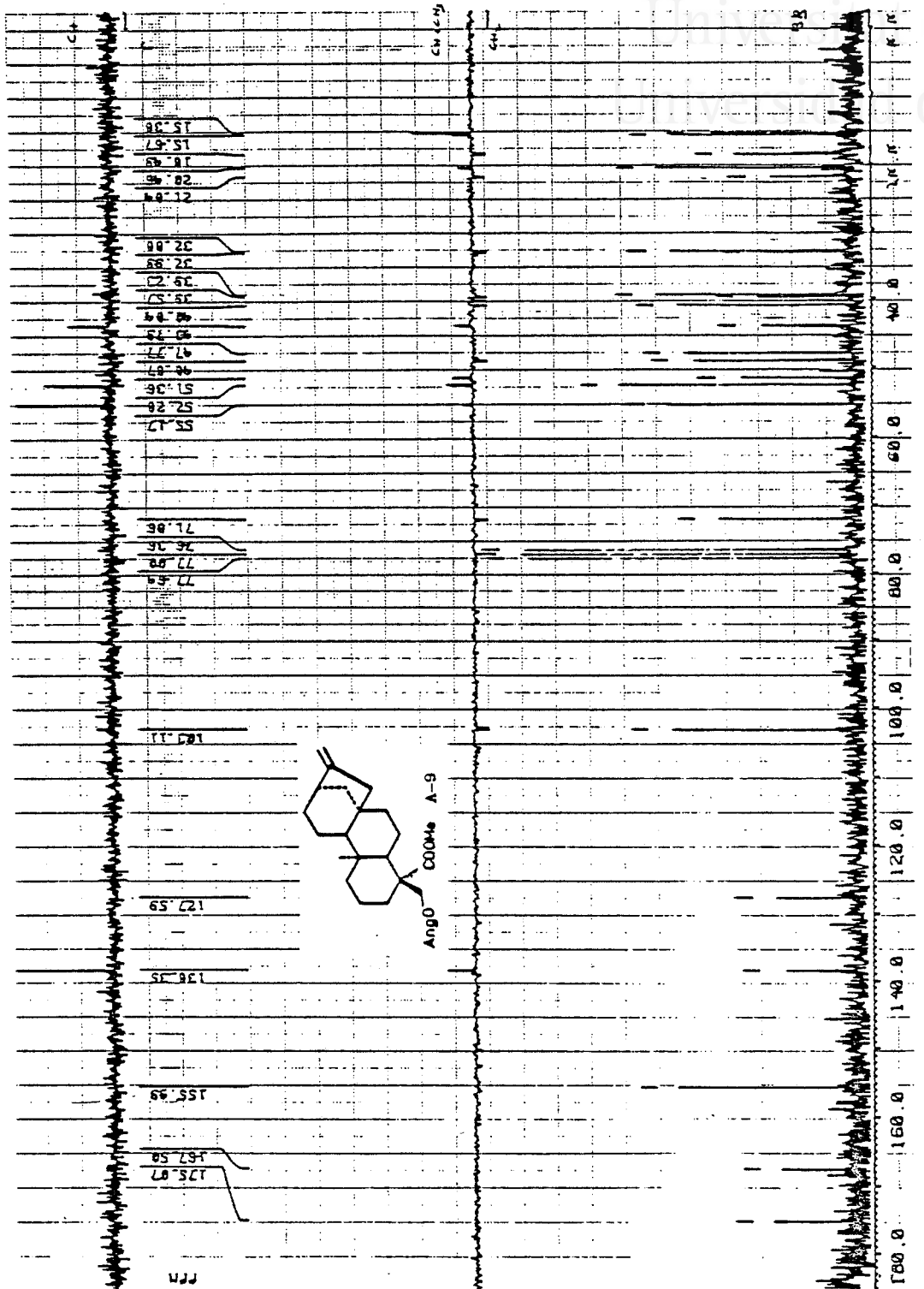
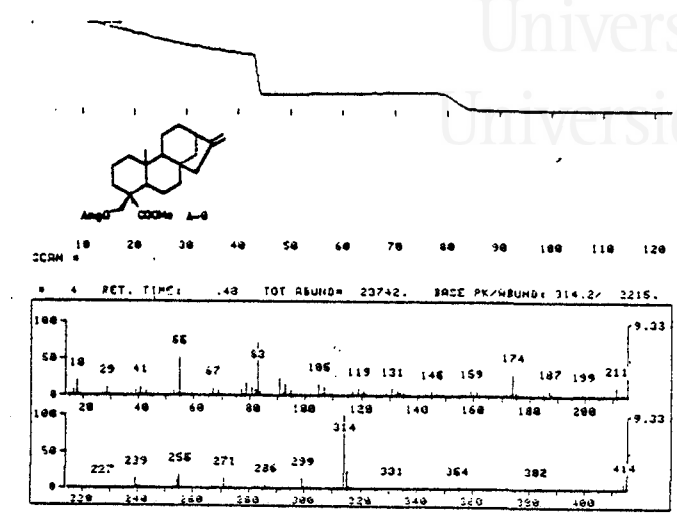


Fig. A-9d



Universitat d'Alacant
 Universidad de Alicante



FRN 10301, SPECTRUM 4 4 RET.TIME: .48, 216 PEAKS

N/Z	REL ABUND	N/Z	REL ABUND	N/Z	REL ABUND	N/Z	REL ABUND
15	2.1	104	2.4	163	1.3	226	2.8
16	2.4	105	16.5	164	.7	227	2.9
17	8.8	106	5.2	165	2.8	228	.8
18	21.3	107	11.6	166	1.4	229	.9
27	4.7	108	2.8	167	2.5	231	1.6
28	5.2	109	3.6	168	.7	232	.9
29	11.1	110	.7	169	2.8	238	2.4
31	.7	111	1.1	170	1.1	239	14.4
32	1.3	113	.8	171	4.8	240	3.8
39	6.3	115	2.3	172	2.1	241	3.2
40	1.1	116	1.1	173	5.6	242	.8
41	13.4	117	7.2	174	38.9	243	2.4
42	1.3	118	2.8	175	7.3	244	.9
43	7.8	119	18.6	176	1.8	245	1.4
44	2.1	120	4.2	177	1.1	246	.8
45	2.1	121	7.8	178	1.5	253	3.4
51	.9	122	2.8	179	2.8	254	13.4
53	7.8	123	2.4	180	8.8	258	18.8
54	4.5	125	1.8	181	1.2	256	4.3
55	52.5	127	1.3	183	4.8	257	2.3
56	3.7	128	1.8	184	1.4	258	1.5
57	3.8	129	3.9	185	5.3	259	.9
59	4.7	138	2.1	186	2.6	267	3.2
60	1.4	131	18.5	187	8.8	268	.8
65	2.9	132	3.6	188	3.3	269	.9
66	1.1	133	7.6	189	1.2	278	1.4
67	9.6	134	5.8	190	.9	271	14.7
68	2.5	135	5.6	191	1.7	272	4.3
69	7.4	136	1.8	192	1.7	273	3.8
70	1.2	137	1.7	193	2.8	274	.8
71	2.3	139	1.1	195	1.1	281	11.1
73	1.8	140	1.8	196	.7	282	4.9
77	9.3	141	3.6	197	3.7	283	1.4
78	2.5	142	1.4	198	1.6	285	1.9
79	17.9	143	4.1	199	5.1	286	5.2
80	3.8	144	1.6	200	1.8	287	1.6
81	11.3	145	7.4	201	3.7	295	15.8
82	9.8	146	3.8	202	2.8	300	3.5
83	72.6	147	6.1	203	1.2	301	3.8
84	4.7	148	3.3	204	.7	302	.7
85	2.3	149	3.6	205	1.4	313	2.8
87	.9	150	.9	206	1.3	314	100.8
91	24.3	151	1.4	207	.9	315	24.4
92	6.8	152	1.7	209	.7	316	3.7
93	15.9	153	1.3	211	12.9	331	3.8
94	3.7	154	1.5	212	3.8	332	.9
95	7.6	155	3.2	213	4.8	339	.9
96	1.5	156	1.8	214	2.3	354	2.6
97	2.8	157	4.3	215	1.6	355	1.4
98	.8	158	2.8	217	.9	382	2.1
99	.9	159	8.8	218	.9	383	1.9
100	1.1	160	3.5	219	.9	384	.8
101	1.1	161	7.2	221	1.8	414	8.8
103	1.8	162	1.7	225	2.6	415	2.1

Fig. A-9f



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

PARTE EXPERIMENTAL



INSTRUMENTACION

Puntos de fusión. Se determinaron en un microscopio de platina calefactora tipo Kofler, y estan sin corregir.

Espectros IR. Se realizaron con los espectrofotómetros PYE UNICAM SP3-200, y PYE UNICAM SP-2000. Las muestras se prepararon en pastilla de KBr, dispersión en nujol, película capilar sobre cristales de NaCl, y en disoluciones de CCl₄ o CHCl₃ en cubetas de espesor variable.

Espectros UV. El espectrómetro utilizado fue un Bausch-Lomb Spectronic 2000, usando cubetas de 1 cm de espesor y etanol como disolvente.

Espectros de RMN. Se han realizado en los espectrofotómetros Varian EM 360L (60MHz) y Bruker WP-200 (200MHz ¹H, 50,3MHz ¹³C)* utilizando CDCl₃ como disolvente, salvo indicación, y TMS com referencia interna. Los desplazamientos químicos se expresan en unidades δ ppm y las constantes de acoplamiento J en Hz.

Poderes rotatorios. Se utilizó un polarímetro Optical Activity AA-100, con $\lambda = 589$ nm, y cubetas de 1 dm de longitud y 2,5 mm de diámetro, en disolución de CHCl₃ o EtOH.

Espectros de masas: Fueron realizados en los espectrofotómetros Hewlett-Packard 5930 A o Hewlett-Packard 5993, con energía de ionización 70 eV.

Dicroísmo circular: Las curvas de dicroísmo circular se realizaron en un dicrógrafo Jovin-Yvon Dichrograph Mark III, en disolución metanólica, utilizando cubetas cilíndricas de 1 mm de espesor.

(*) En el caso de sustancias con espectros a 200MHz se incluyen además los datos y espectros a 60MHz con fines comparativos.

CROMATOGRAFIA

Cromatografía en capa fina (CCF). Se realizaron con silicagel Merck 60 G (ref. 7731), sobre placas de vidrio y con un espesor de 0,25 mm, activándose durante 2 h a 120°. Se utilizaron también cromatoplacas prefabricadas Schleibrer-Schüll, F 1500/LS 254, de silicagel con indicador fluorescente (254 nm) de 0,2 mm, sobre soporte de poliester.

Como reveladores se utilizaron vainillina en disolución de H₂SO₄/EtOH (4:1) (5 g/100 ml) y ácido fosfomolibdico (5% EtOH). Las placas una vez pulverizadas con el revelador se calentaron a 120° durante 5 minutos.

Cromatografía en columna húmeda. Estas cromatografías se hicieron en columnas de vidrio, sobre silicagel Merck 60, 0,2-0,5 mm (ref. 7733) y 0,063-0,2 mm (ref. 7734) preparando una "papilla" con el eluyente inicial, procurando eliminar el aire por agitación suave antes de introducir en la columna o bien directamente homogenizando a continuación con el eluyente.

La muestra se introdujo en disolución o adsorbida sobre silicagel Merck 60, 0,2-0,5 mm, eluyendo con disolventes o mezclas de polaridad creciente, comprobando la



composición de las fracciones eluidas por CCF.

Cromatografía en columna seca. Las cromatografías se realizaron homogenizando silicagel Merck 60, 0,063-0,2 mm con el eluyente (20 ml/100 g) y comprimiendola en pequeñas porciones en un saco de nailon, cerrado en su parte inferior, que posteriormente se punza con un alfiler.

La muestra se añade en la parte superior adsorbida en silicagel Merck 60, 0,2-0,5 mm. Una vez eluida la columna se toman muestras a diferentes alturas de la misma, comprobando la composición por CCF, o bien se marcan las diferentes zonas atendiendo a su fluorescencia en la lámpara UV. De acuerdo con estos datos se corta la columna y los distintos trozos se extraen en matraces Erlenmeyer con éter o AcOEt. Los extractos se filtran a vacío sobre placas de vidrio filtrante y se concentran.

Cromatografía en columna con silicagel de CCF. Este procedimiento que es una modificación de la técnica de columnas cortas, se llevó a cabo introduciendo silicagel Merck 60 PF₂₅₄ (ref. 7747) en columnas de vidrio y comprimiéndola mediante el empleo de aire a presión. (79)

La muestra se introdujo en disolución o adsorbida sobre silicagel Merck 60, 0,2-0,5 mm, eluyendo con la ayuda de aire o N₂ a presión. Es conveniente ajustar la presión para recoger aproximadamente una fracción por minuto.

Cromatografía con AgNO_3 . Esta técnica es básicamente la misma que la cromatografía en columna húmeda. La sílice se mezcla con un 8% de AgNO_3 disuelto previamente en metanol y unas gotas de agua. Realizada la mezcla se evapora el disolvente en un rotavapor con un matraz topacio, calentando posteriormente en la estufa durante dos horas, y enfriando seguidamente en un desecador. Una vez introducida la sílice en la columna, ésta se recubre con papel oscuro para preservarla de la luz.

Cromatografía en capa fina preparativa. Se utilizó silicagel Merck 60 PF₂₅₄ en placas de vidrio de 20x20 cm y 0,75 cm de espesor activadas durante 2 h a 120°.

Los cortes se realizaron con la ayuda de una lámpara UV, extrayendo las distintas porciones en una pequeña columna con AcOEt.

REACCIONES GENERALES MAS UTILIZADAS

Acetilación. Se disuelve el alcohol (100 mg) en piridina (1 ml) añadiendo posteriormente anhídrido acético (2 ml). Se deja que la reacción transcurra a temperatura ambiente siguiéndola por CCF, y una vez completada se añade hielo y extrae con éter. La disolución etérea se lava con HCl 2N, H₂O, NaHCO₃ y posteriormente con H₂O hasta pH neutro. Finalmente se seca con Na₂SO₄ anhidro y se evapora el disolvente.

Esterificación con diazometano. La muestra a esterificar se trata con disolución etérea de CH₂N₂ hasta ausencia de desprendimiento de N₂, manteniendo el recipiente en la oscuridad durante 12 h. Posteriormente se lava con HCl 2N, se extrae con NaHCO₃ y se lava con H₂O hasta pH neutro. La disolución etérea se seca finalmente con Na₂SO₄ anhidro.

Preparación de diazometano. En un matraz de fondo redondo se mezclan KOH (4,8 g), H₂O (8 ml), MeOH (28 ml) y éter (8 ml). Sobre esta mezcla agitada se deja caer gota a gota una disolución de N-nitroso-N-metil-p-tolil-sulfonil-amida (17,2 g) en éter (100 ml), a la vez que se calienta la mezcla a 60-65°. El diazometano formado se recoge sobre éter seco (80).

Hidrólisis de ésteres. El éster se disuelve en KOH/MeOH (5%). La mezcla, si es preciso, se calienta a reflujo en un baño, siguiendo la reacción por CCF. Una vez completada la hidrólisis, se añade H₂O hasta duplicar el volumen, concentrando a vacío a continuación con objeto de eliminar la mayor parte del metanol. Se extrae con éter, lavando con H₂O hasta pH neutro y secando finalmente con Na₂SO₄ anhidro.

Oxidación de alcoholes con PCC. Una disolución agitada del alcohol (0,65 mmoles) en CH₂Cl₂ anhidro (10 ml) se mezcla con clorocromato de piridinio, PCC, (1,3 mmoles). Una vez finalizada la reacción se diluye la mezcla reaccionante con éter seco (10 ml). Se decanta el líquido sobrenadante, lavando varias veces el precipitado con éter. La disolución etérea se percola en una pequeña columna con silicagel, evaporando finalmente el disolvente.(81).

Preparación de PCC. Sobre una disolución agitada de HCl 6N (184 ml, 1,1 moles), se añaden (100 g, 1 mol) de CrO₃. Pasados 5 minutos la disolución homogénea se enfría hasta 0°, añadiendo a continuación con precaución piridina (79,1 g, 1 mol), durante 10 minutos.

Volviendo a enfriar a 0°, aparece un precipitado cristalino amarillo-naranja. Se filtra sobre una placa de vidrio tirando a vacío durante 1 h, presionando el sólido



y removiendo de vez en cuando (82).

Hidrogenación catalítica con Ni-Raney. En un matraz Erlenmeyer 100 ml se pone la muestra disuelta en unos ml de etanol y se añade un exceso de catalizador. La reacción se lleva a cabo en atmósfera de H_2 bajo fuerte agitación y una vez finalizada se decanta el líquido sobrenadante lavando el residuo varias veces con éter. La disolución se percola en una pequeña columna con silicagel y se concentra

Preparación de Ni-Raney. Se prepara una disolución de NaOH (63,3 g) en H_2O (250 ml) en un vaso de 1 l equipado con un agitador. Se enfría en un baño de hielo y se añade una aleación de Ni-Al (50 g) en pequeñas porciones y agitación continuada durante 2 h. Finalizada la adición se deja que el vaso alcance la temperatura ambiente. Cuando el desprendimiento de H_2 se hace pequeño, se calienta la mezcla progresivamente hasta que el desprendimiento de H_2 vuelva a disminuir (de 8-12 h).

Una vez restablecido el volumen inicial con agua destilada, se agita bien la mezcla y se deja reposar decantando el líquido sobrenadante. El sólido se traslada a un recipiente cerrado y graduado con la ayuda de agua destilada que se decanta otra vez, añadiendo a continuación una disolución de NaOH (8,33 g) en H_2O (80 ml). Se agita y se deja reposar decantando el líquido sobrenadante. A conti-

nuación se efectúan lavados con H₂O destilada (250 ml cada vez) hasta que las aguas sean neutras al papel tornasol. Se vuelve a lavar tres veces con etanol (95%) repitiendo los lavados con etanol absoluto. Con este procedimiento se puede obtener 25 g de Ni-Raney en suspensión (0,6 g/1 ml) (83).

Reducción con LiAlH₄. La sustancia (0,1 mmol) se disuelve en éter seco (6 ml) y se vierte gota a gota sobre una suspensión agitada y calentada a reflujo de LiAlH₄ (1 mmol) en 10 ml de éter seco. Finalizada la adición se continúa la agitación a reflujo durante 1,5 h. Transcurrido este tiempo la mezcla de reacción se trata con éter saturado de agua para eliminar el exceso de hidruro y después se acidula con HCl 2N, extrayendo con éter. Se lava con agua hasta neutralidad y se seca sobre Na₂SO₄ anhidro.

Reducción con NaBH₄. En un matraz de dos bocas se pone una disolución de la sustancia (0,1 mmol) en etanol 96% (5 ml), y mediante un embudo de bromo se añade lentamente una disolución de NaBH₄ (1 mmol) en etanol (5 ml).

Una vez finalizada la reacción se duplica el volumen con H₂O, concentrando para evaporar el etanol. Se acidifica con HCl 2N y a continuación se extrae con éter, se lava a neutralidad y se seca sobre Na₂SO₄ anhidro.



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

ELAEOSELINUM TENUIFOLIUM



DESCRIPCION DE LA PLANTA

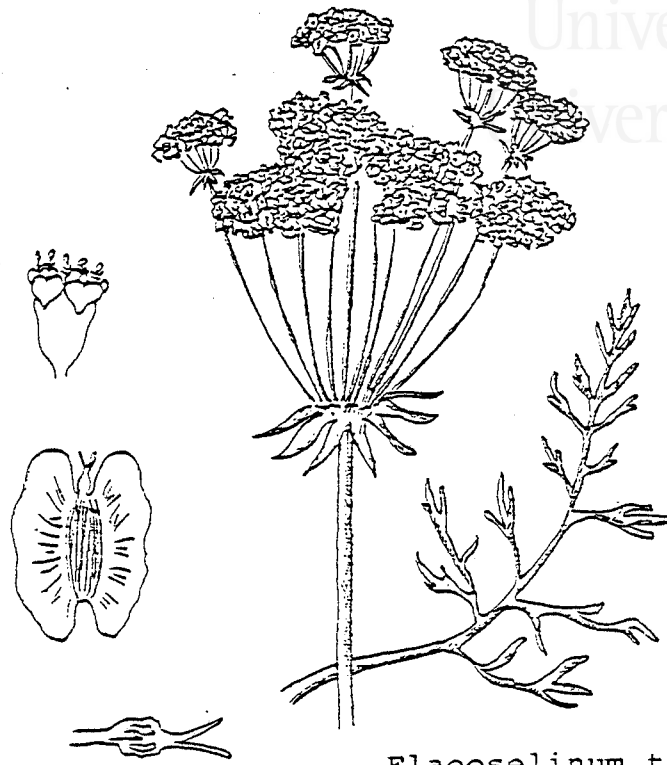
La planta *Elaeoselinum tenuifolium* (Lag) Lange, conocida también con los nombres de *Thapsia tenuifolia* Lag. y *Elaeoselinum lagascae* Boiss, fue recolectada en el mes de julio en el Cabo de Huertas (término municipal de Alicante) y presenta las siguientes características botánicas:

Planta perenne prácticamente glabra, con la base del tallo fibrosa y fistulosa. Tallo relativamente delgado, con estrías patentes y consistentes. Hojas basales manifestamente erectas, entre 30 y 40 cm de longitud, muy divididas, entre tri y pentapinnadas, con los lóbulos rígidos de forma lanceolada. Sépalos normalmente pequeños. Pétalos amarillos, oblongos, ligeramente emarginados y con el ápice retuso. Umbelas y umbelulas formadas por 10 a 27 radios. Brácteas y bracteolas numerosas de contorno lanceolado. Fruto de longitud comprendida entre 8 y 10 mm, de forma orbicular a ovado-oblonga. Las costillas dorsales de los mericarpos están provistas de alas normalmente anchas, más o menos truncadas en el ápice.

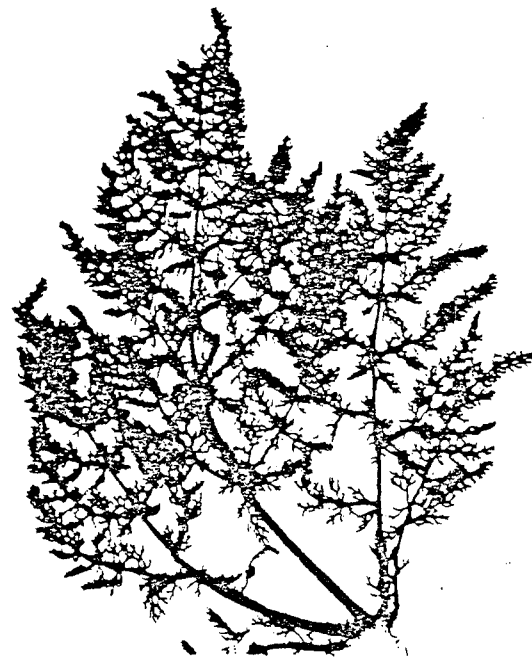
El área de distribución de esta especie se extiende por el sur de la península Ibérica y ha sido citada únicamente en España y Portugal.



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante



Elaeoselinum tenuifolium



Detalle hojas basales



EXTRACCION Y FRACCIONAMIENTO

Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

Después de recolectada la planta, se separaron las partes aéreas de las raíces. Los tallos y umbelas se dejaron secar a la sombra durante varias semanas. Una vez secas (7.534 g) se trituraron, extrayéndose con hexano (33 l) en un extractor Soxhlet, manteniendo cada cartucho (250 g) durante 5 h. Eliminando el disolvente se obtuvo un extracto (151,8 g) que representa el 2% de parte aérea seca.

Posteriormente se realizó una segunda extracción con MeOH en las mismas condiciones. Eliminando el disolvente en un rotavapor, dio un extracto (120,4 g) que representa el 16% del peso de parte aérea seca.

Las raíces (2.538 g), previamente troceadas se pusieron a reflujo con benceno en un aparato Dean Stark durante 24 h, eliminando el agua por destilación azeotrópica. Las raíces secas (1.343 g) se separaron del disolvente, se trituraron y fueron sometidas de nuevo a reflujo con benceno durante 24 h más. Se obtuvo un extracto (58,8 g) que representa el 3,9% del peso de raíces secas.

Las raíces se extrajeron a continuación con MeOH a reflujo durante 30 h, dando un extracto (155,8 g) que

representa el 10,8% del peso de raíces secas.

El extracto bencénico se trató con MeOH quedando un residuo insoluble (2,58 g) 4,4%*. Al concentrar la parte soluble apareció un precipitado no cristalino, cuyo análisis espectroscópico indicó que se trataba de una mezcla de compuestos lineales (9,35 g) 15,9%*.

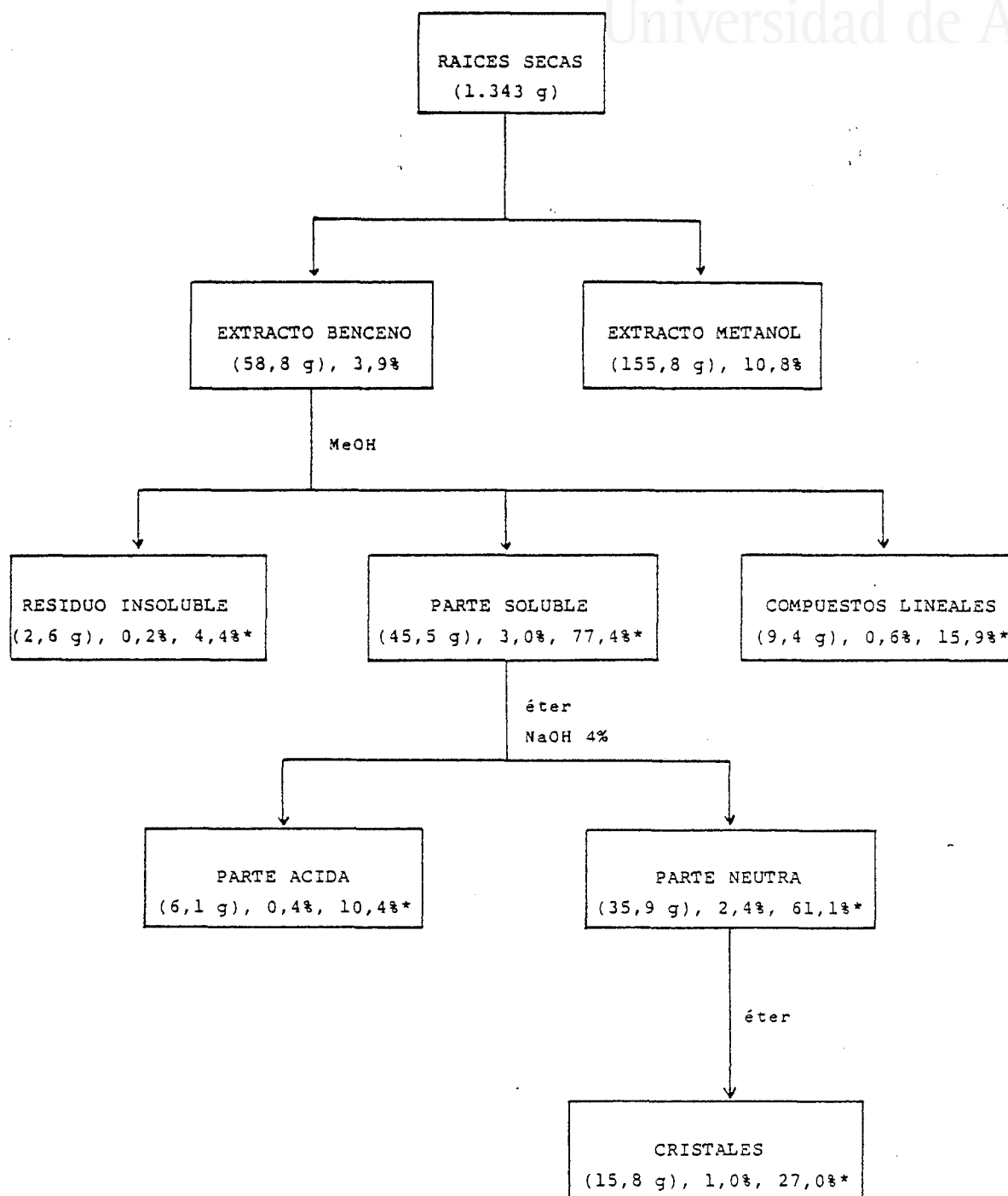
La parte soluble en MeOH (45,5 g) 77,4%*, se fraccionó con NaOH 4%, dando una parte ácida (6,1 g) 10,4%*, y una parte neutra (35,9 g) 61,1%*.

La parte neutra se puso a cristalizar en éter, obteniéndose varias cosechas de cristales (15,8 g) 27%*, mezcla de los componentes mayoritarios T-4 y T-6 que fueron separados mediante técnicas cromatográficas. El resto del extracto neutro se sometió a sucesivas cromatografías aislándose los compuestos T-1, T-2, T-3, T-5 y nuevas cantidades de T-4 y T-6.

(*) Referido al extracto bruto de benceno.



Universitat d'Alacant
 Universidad de Alicante





CROMATOGRAFIA A

Los cristales mezcla de T-4 y T-6 (1,35 g) se cromatografiaron en una columna seca de 60 cm de longitud sobre silicagel, 0,063-0,2 mm (160 g). La muestra se adsorbió en sílice, 0,2-0,5 mm y se utilizó como eluyente una mezcla de hexano-AcOEt (8:2), obteniéndose los siguientes resultados:

Fracción	Peso (mg)	Composición
A1	-	-
A2	595	T-4
A3	87	T-4
A4	68	T-4 y T-6
A5	41	T-6
A6	22	T-6
A7	11	T-6



CROMATOGRAFIA B

Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

Las aguas madre de la parte neutra (18,8 g) se cromatografiaron en una columna de vidrio sobre silicagel, 0,063-0,2 mm (410 g), adsorviendo la muestra en silicagel, 0,2-0,5 mm y empleando como eluyente mezclas de hexano-AcOEt de polaridad creciente.

Fracción	Peso (g)	%	Composición
B1 - B12	0,33	1,7	mezclas
B13 - B14	0,55	3,0	T-1
B15	3,48	18,5	T-1,T-2,mezclas
B16	1,81	9,7	T-2,T-3,mezclas
B17 - B20	2,79	14,9	T-3
B21 - B32	1,07	9,1	glicéridos
B33 - B36	0,24	1,3	mezclas
B37 - B52	0,94	5,0	mezclas
B53 - B59	3,24	17,2	T-4,T-5
B60 - B63	0,40	2,1	T-4,T-5,mezclas
B64 - B83	0,63	3,4	T-6,mezclas
B84 - B88	1,82	9,7	mezclas



CROMATOGRAFIA C

Después de someter la fracción B53 - B59 a sucesivas cristalizaciones con hexano, las aguas madre (417 mg), fueron cromatografiadas en columna húmeda montada en hexano con sílicagel, 0,063-0,2 mm, y eluida con mezclas de hexano-AcOEt.

Fracción	Peso (mg)	Eluyente	Composición
C1 - C40	12,8	99:1	-
C41 - C79	31,0	97:3	T-5
C80 - C167	344,0	96:4	T-5, T-6



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

T-1: 2-Isopropil-4-metilanol

Las fracciones B13 - B14 aparecieron constituidas mayoritariamente por un aceite de olor muy agradable. B13 - B14 se fraccionó sobre silicagel, 0,063-0,2, en una pequeña columna eluida con hexano. Una parte se cromatografió en capa fina preparativa, aislándose T-1 puro (50 mg).

T-1 (61 mg) se obtuvo también por cromatografía en columna de la fracción B15, eluida con hexano.

UV λ $\overset{\text{EtOH}}{\text{max}}$ nm (log ϵ): 221(4,1), 276(3,6), (fig. T-1a).

IR ν $\overset{\text{película}}{\text{max}}$ cm^{-1} : 3.010, 2.940, 2.840, 2.810, 1.600, 1.490, 1.455, 1.330, 1.280, 1.230, 1.160, 1.080, 1.030, 800, 740, (fig. T-1b).

RMN ^1H (60MHz, CDCl_3): δ 7,06(1H, d, $J_{\text{m}}=2\text{Hz}$, H-3), 7,00(1H, dd, $J_{\text{o}}=8\text{Hz}$, $J_{\text{m}}=2\text{Hz}$, H-5), 6,75(1H, d, $J_{\text{o}}=8\text{Hz}$, H-6), 3,80(3H, s, OMe), 3,30(1H, spt, $J=7\text{Hz}$, H-1'), 2,30(3H, s, Me-4), 1,20(6H, d, $J=7\text{Hz}$, H-2', H-3'), (fig. T-1c).

EM, m/z(%): 164[M]⁺(33), 149[M-Me]⁺(100), 134[149-Me]⁺(13), 121[M-C₃H₇]⁺(13), 119[134-Me]⁺(13), 88(13), 85(60), 82(73), 74(80), 59(87), 45(53), 36(47), 31(67), (fig. T-1d).



Eter metílico de timol

Una disolución de timol comercial (50 mg) en acetona anhidra (20 ml), se mantuvo a reflujo durante 1 h con IMe (0,3 ml) recientemente destilado y K_2CO_3 (500 mg) anhidro. El sólido se separó por filtración, extrayendo varias veces con acetona caliente, separándose timol metileter (40 mg).

RMN 1H (60MHz, $CDCl_3$): δ 7,10(1H,d,J=8Hz,H-6), 6,72(1H,d(a),J=8Hz,H-5), 6,63(1H,s(a),H-3), 3,80(3H,s,OMe), 3,30(1H,spt,J=7Hz,H-1'), 2,30(3H,s,Me-4), 1,20(6H,d,J=7Hz,H-2',H-3'), (fig. T-1e).

Universitat d'Alacant
Universidad de AlicanteT-2: Timoquinol dimetileter

La fracción B15, estaba compuesta por una mezcla de las sustancias T-1 y T-2. Por cromatografía en columna, eluyendo con mezcla de hexano-AcOEt (99:1) se aisló T-2.

UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ nm (log ϵ): 207,4(3,5), 220,6(3,4)h, 288,7(3,0), (fig. T-2a).

IR $\nu_{\text{max}}^{\text{película}}$ cm^{-1} : 3.040, 2.960, 1.500, 1.460, 1.395, 1.340, 1.205, 1.050, 860, 810, (fig. T-2b).

RMN ^1H (60MHz, CDCl_3): δ 6,55(1H,s,H-Ar), 6,52(1H,s,H-Ar), 3,70(6H,s,OMe), 3,20(1H,spt,J=7Hz,H-1'), 2,10(3H,s,Me-4), 1,16(6H,d,J=7Hz,H-2',H-3'), (fig. T-2c).



T-3: 1-Alil-3,4-metilendioxi-2,5-dimetoxibenceno (Apiol)

Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

La fracción B19 estaba constituida por un aceite cromatográficamente puro, que presenta las siguientes características:

UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ nm (log ϵ): 227,8(3,6), 279,1(2,8), (fig. T-3a).

IR $\nu_{\text{max}}^{\text{película}}$ cm^{-1} : 3.075, 2.930, 2.780, 1.635, 1.605, 1.490, 1.450, 1.430, 1.350, 1.320, 1.245, 1.205, 1.185, 1.140, 1.065, 1.050, 990, 955, 925, 910, (fig. T-3b).

RMN ^1H (60MHz, CDCl_3): δ 6,30(1H,s,H-6), 5,90(2H,s, -O-CH₂-O-), 6,23-5,60(1H,m,H-2'), 5,23-4,80(2H,d(complejo), H-3'), 3,85(3H,s,OMe), 3,83(3H,s,OMe), 3,30(2H,d(a),J=6Hz, H-1'), (fig. T-3c).

EM, m/z(%): 222[M]⁺(68), 207[M-Me]⁺(25), 177(30), 149(40), 121(22), 106(18), 91(28), 77(22), (fig. T-3d).



Universitat d'Alacant
 Universidad de Alicante

T-4: ent-15 α -Angeloiloxi-16-kauren-3 β -ol

La fracción A2 contenía un sólido cromatográficamente puro, que fue cristalizado en hexano.

Pf. 120-121°, $[\alpha]_D -89,1^\circ$ (CHCl₃, c 1,1).

UV $\lambda_{\max}^{\text{EtOH}}$ nm (log ϵ): 218,1(3,9), (fig. T-4a).

IR ν_{\max}^{KBr} cm⁻¹: 3.360, 3.070, 2.920, 2.860, 1.715, 1.650, 1.450, 1.380, 1.220, 1.150, 1.040, 890, 840, (fig. T-4b).

IR $\nu_{\max}^{\text{CCl}_4}$ (5%) cm⁻¹: 3.615, 3.070, 2.930, 2.865, 1.715, 1.640, 1.450, 1.380, 1.260, 1.230, 1.155, 1.040, 890, 850, (fig. T-4c).

RMN ¹H (60MHz, CDCl₃): δ 6.13(1H, c(a), J=7Hz, H-3'), 5,26(1H, t, J=2,5Hz, H-15), 4,91(2H, s(a), H-17), 3.21(1H, dd, J=9Hz, J=7Hz, H-3), 2,70(1H, m, H-13), 2,03(3H, d(a), J=7Hz, H-4'), 1,96(3H, s(a), H-5'), 1,06(3H, s, H-20), 0,96(3H, s, H-18), 0,76(3H, s, H-19), (fig. T-4d).

RMN ¹H (200MHz, CDCl₃): δ 6,07(1H, cc, J=7,2Hz, J=1,4Hz, H-3'), 5,23(1H, t, J=2,4Hz, H-15), 4,91(1H, d, J=2,4Hz, H-17a), 4,87(1H, m, $W_{1/2}$ =5Hz, H-17b), 3,17(1H, m, X(ABX), J_{AX+BX}=16,3Hz, H-3), 2,66(1H, m, H-13), 2,00(3H, dc, J=7,2Hz, J=1,4Hz, H-4'), 1,91(3H, qnt, J=1,4Hz, H-5'), 1,02(3H, s, H-20), 0,93(3H, s,

H-18), 0,74(3H,s,H-19), (fig. T-4e).

RMN ^{13}C (50,3MHz, CDCl_3): δ 168,1(s,C-1'), 153,9 (s,C-16), 138,1(d,C-3'), 128,1(s,C-2'), 106,3(t,C-17), 81,2(d,C-15), 78,9(d,C-3), 54,9(d,C-5), 48,2(d,C-9), 46,0 (s,C-8), 40,8(d,C-13), 39,0*(s,C-10), 39,0**(t,C-14), 38,8* (s,C-4), 38,8**(t,C-1), 36,5(t,C-7), 33,5(t,C-12), 28,4 (c,C-18), 27,4(t,C-2), 20,8(c,C-5'), 19,6(t,C-6), 17,8 (t,C-11), 17,8(c,C-20), 15,8(c,C-4'), 15,6(c,C-19), (fig. T-4f).

EM, m/z(%): 386[M] $^+$ (3), 303[M-Ang] $^+$ (1), 286[M-AngOH] $^+$ (20), 271[286-Me] $^+$ (10), 268[286-H $_2$ O] $^+$ (6), 253[271-H $_2$ O] $^+$ (9), 243[271-C $_2$ H $_4$] $^+$ (7), 225(4), 145(5), 119(7), 105(12), 91(19), 83[Ang] $^+$ (100), 55[Ang-CO] $^+$ (62), 41(47), (fig. T-4g).

El compuesto T-4 se transformó en T-6 , mediante la disolución de T-4 (70 mg) en CH_2Cl_2 (10 ml) en un matraz Erlenmeyer de 50 ml, añadiendo a continuación lentamente una disolución de ácido m-cloroperbenzoico en CH_2Cl_2 (5 ml). Finalizada la adición se mantuvo el matraz en agitación durante 2 h en un baño de hielo. Terminada la reacción se destruyó el exceso de perácido con disolución de Na_2CO_3 (10%), extrayendo a continuación con NaHCO_3 (5%). La fase orgánica se lavó con H_2O hasta pH neutro, secándose

(*,**) Asignaciones intercambiables.

(+) El CH_2Cl_2 que se ha usado en esta y otras aplicaciones se lavó en todos los casos con H_2O hasta pH neutro, destilando después de secar sobre Na_2SO_4 .

sobre Na_2SO_4 anhidro.

La CCF del producto (56,6 mg) reveló la presencia de impurezas por lo que se limpió en una pequeña columna sobre gel de sílice, eluyendo con mezcla de hexano-AcOEt (8:2). Las fracciones que contenían el compuesto puro (42 mg) se cristalizaron en hexano. El producto presentó propiedades físicas y espectroscópicas idénticas a las del producto natural T-6 (ver pag.323).

Acetilación de T-4: T-7

El compuesto T-4 (290 mg) se acetiló con piridina (1 ml) y Ac_2O (2 ml), dejando reaccionar la mezcla durante 20 h a temperatura ambiente, obteniéndose T-7 (275 mg) que cristalizó en hexano.

Pf. 94-95°, $[\alpha]_D -75,4^\circ$ (CHCl_3 , c 1,2).

IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 3.080, 2.940, 2.860, 1.735, 1.715, 1.660, 1.645, 1.480, 1.460, 1.440, 1.380, 1.370, 1.250, 1.225, 1.150, 1.030, 885, 760, (fig. T-7a).

RMN ^1H (60MHz, CDCl_3): δ 6,13(1H, c(a), J=7Hz, H-3'), 5,26(1H, t, J=2,5Hz, H-15), 4,92(2H, s(a), H-17), 4,46(1H, dd,

J=9Hz, J=7Hz, H-3), 2,70(1H, m, H-13), 2,03(3H, s, H-2"), 2,03(3H, d(a), J=7Hz, H-4'), 1,96(3H, s(a), H-5'), 1,07(3H, s, H-20), 0,84(6H, s, H-18, H-19), (fig. T-7b).

EM, m/z(%): 428[M]⁺(2), 368[M-AcOH]⁺(3), 353[368-Me]⁺(4), 345[M-Ang]⁺(2), 328[M-AngOH]⁺(5), 325(1), 313(2), 286(6), 253(9), 243(3), 225(3), 145(2), 131(5), 121(6), 105(7), 91(12), 83[Ang]⁺(100), 55[Ang-CO]⁺(39), 43(52), 29(13), (fig. T-7c).

Hidrólisis de T-4: T-8

T-4 (185 mg) se sometió a reflujo con KOH/MeOH 5% (20 ml) durante 7 h, aislándose finalmente el diol T-8 (135 mg) que cristalizó en benceno.

Pf. 167-168°, $[\alpha]_D -61,2^\circ$ (CHCl₃, c 1,4).

IR $\sqrt{\text{KBr}}_{\text{max}} \text{ cm}^{-1}$: 3.430, 3.350, 3.060, 2.960, 2.920, 2.830, 1.660, 1.440, 1.280, 1.180, 1.080, 1.060, 1.025, 990, 880, 865, (fig. T-8a).

RMN ¹H (60MHz, CDCl₃): δ 5,10(1H, m, W_{1/2}=5Hz, H-17a), 4,96(1H, d, J=2,5Hz, H-17b), 3,75(1H, t, J=2,5Hz, H-15), 3,21(1H, dd, J=9Hz, J=7Hz, H-3), 2,70(1H, m, H-13), 1,04(3H, s, H-20), 0,98(3H, s, H-18), 0,77(3H, s, H-19), (fig. T-8b).

RMN ^1H (200MHz, CDCl_3): δ 5,09(1H, m, $W_{1/2}=5\text{Hz}$, H-17a), 4,95(1H, d, $J=2,4\text{Hz}$, H-17b), 3,75(1H, t, $J=2,4\text{Hz}$, H-15), 3,21(1H, dd, $J=9\text{Hz}$, $J=7\text{Hz}$, H-3), 2,70(1H, m, H-13), 1,03(3H, s, H-20), 0,98(3H, s, H-18), 0,78(3H, s, H-19), (fig. T-8c).

RMN ^{13}C (50,3MHz, CDCl_3): δ 158,6(s, C-16), 104,8(t, C-17), 82,4(d, C-15), 79,0(d, C-3), 54,6(d, C-5), 46,5(d, C-9), 45,7(s, C-8), 40,2(d, C-13), 38,9*(s, C-10), 38,9** (t, C-14), 38,8**(t, C-1), 38,8*(s, C-4), 36,5(t, C-7), 33,3(t, C-12), 28,4(c, C-18), 27,5(t, C-2), 19,7(t, C-6), 18,2(t, C-11), 17,6(c, C-20), 15,5(c, C-19), (fig. T-8d).

EM, m/z(%): 304[M] $^+$ (35), 289[M-Me] $^+$ (22), 286[M-H $_2$ O] $^+$ (33), 271[286-Me] $^+$ (58), 253[271-H $_2$ O] $^+$ (20), 246(55), 229(16), 213(16), 203(28), 187(18), 173(18), 164(16), 159(18), 147(33), 135(45), 121(45), 107(55), 91(63), 84(70), 83(20), 81(58), 67(50), 55(70), 43(57), 41(100), 29(30), (fig. T-8e).

De las aguas madre del proceso de extracción de T-8 y siguiendo el procedimiento explicado en la pag. 368, se aisló ácido tíglico como producto de reordenamiento del ácido angélico, más inestable.



Universitat d'Alacant
 Universidad de Alicante

Reordenamiento de T-8: T-9

Una disolución de T-8 (64 mg) en metanol (10 ml) y éter (5 ml) se trató con HCl concentrado (2 ml) durante 24 h a temperatura ambiente. A continuación se añadió H₂O eliminando los disolventes orgánicos por destilación a vacío, extrayendo finalmente con éter. La fase etérea se lavó hasta pH neutro y se concentró después de secar sobre Na₂SO₄.

El producto de la reacción contenía una mezcla al 50% de T-8 y T-9, separándose ambas sustancias por cromatografía en columna sobre silicagel, eluida con hexano-AcOEt (8:2). El producto de reordenamiento T-9 (25 mg) se cristalizó en hexano.

Pf. 158-159°, $[\alpha]_D -80,7^\circ$ (CHCl₃, c 1,0).

UV $\lambda_{\max}^{\text{EtOH}}$ nm (log ϵ): 295(0,3), (fig. T-9a).

DC $\Delta\epsilon_{308}$ -1,04 (hexano), (fig. T-9b).

DC $\Delta\epsilon_{308}$ -0,53 y $\Delta\epsilon_{276}$ +0,09 (metanol), (fig. T-9c).

IR ν_{\max}^{KBr} cm⁻¹: 3.520, 3.300, 2.920, 2.860, 1.725, 1.470, 1.440, 1.380, 1.365, 1.175, 1.090, 1.035, 990, 920, (fig. T-9d).

RMN ^1H (200MHz, CDCl_3): δ 3,19(1H,m,seis líneas, X(ABX), $J_{\text{AX+BX}}=16,3\text{Hz}$, H-3), 2,43(1H,d(a), $J=12\text{Hz}$, H-14 α), 2,42(1H,m,H-13), 2,22(1H,qnt, $J=7\text{Hz}$, H-16), 1,09(3H,d, $J=7\text{Hz}$, H-17), 1,06(3H,s,H-20), 0,98(3H,s,H-18), 0,77(3H,s,H-19), (fig. T-9e).

RMN ^{13}C (50,3MHz, CDCl_3): δ 202,3(s,C-15), 78,8(d, C-3), 54,4(d,C-5), 52,5(s,C-8), 52,4(d,C-9), 47,8(d,C-16), 39,4(s,C-10), 38,9(s,C-4), 37,9(t,C-1), 37,5(t,C-7), 35,0(d,C-13), 34,3(t,C-14), 28,2(c,C-18), 27,1(t,C-2), 24,8(t,C-12), 18,7(t,C-6), 18,1(t,C-11), 17,8(c,C-20), 15,4(c,C-19), 10,1(c,C-17), (fig. T-9f).

EM, m/z(%): 304[M] $^+$ (65), 289[M-Me] $^+$ (9), 286[M-H $_2$ O] $^+$ (10), 271[289-H $_2$ O] $^+$ (15), 261(1), 253(8), 246(100), 228(21), 213(43), 161(11), 147(15), 135(51), 121(37), 107(43), 93(45), 79(41), 69(40), 55(50), 41(62), (fig. T-9g).

Oxidación de T-4: T-10

Sobre una disolución de T-4 (200 mg) en CH_2Cl_2 (20 ml), se añadió gradualmente bajo fuerte agitación cloro-cromato de piridinio (PCC, 300 mg). Después de 4 h a temperatura ambiente, el producto (245 mg) se aisló según el procedimiento general, presentando algunas impurezas de

sustancias minoritarias. Por cromatografía en columna sobre silicagel, eluyendo con hexano-AcOEt (95:5), se separó la cetona T-10 (211 mg).

$[\alpha]_D -106^\circ$ (CHCl₃, c 2,3).

DC $\Delta\epsilon_{293} -0,97$ (hexano), (fig. T-10a).

IR $\nu_{\max}^{\text{película}} \text{ cm}^{-1}$: 3.060, 2.930, 2.860, 1.710, 1.450, 1.380, 1.230, 1.150, 1.040, 960, 940, 890, 845, (fig. T-10b).

RMN ¹H (60MHz, CDCl₃): δ 6,13(1H, c(a), J=7Hz, H-3'), 5,30(1H, t, J=2,5Hz, H-15), 4,93(2H, s(a), H-17), 2,70(1H, m, H-13), 2,03(3H, d(a), J=7Hz, H-4'), 1,96(3H, s(a), H-5'), 1,13(3H, s, H-20), 1,06(3H, s, H-18), 1,03(3H, s, H-19), (fig. T-10c).

EM, m/z(%): 384 [M]⁺(1), 369 [M-Me]⁺(1), 301 [M-Ang]⁺(1), 284 [M-AngOH]⁺(5), 269 [284-Me]⁺(4), 256(1), 241(1), 227(1), 199(2), 185(2), 171(1), 131(3), 105(2), 93(5), 83 [Ang]⁺(100), 67(5), 55 [Ang-CO]⁺(61), 41(23), (fig. T-10d).

Reducción de T-10: T-11

La reducción de T-10 mediante el procedimiento de

Wolff-Kishner (modificación Huang-Minlon) (84) se realizó en cuatro ocasiones, variando las condiciones de reacción, obteniéndose en tres de ellas una mezcla compleja de productos con bajo rendimiento. El procedimiento citado a continuación dio como producto una mezcla de sustancias, de la que se aisló la mayoritaria T-11.

Una disolución de T-10 (175 mg) en dietilenglicol (4 ml), se sometió a reflujo (146°) con hidrato de hidracina 80% (1 ml) durante 2 h. Se adicionó KOH (300 mg) continuando el reflujo durante 45 minutos. Posteriormente se destiló la mezcla hasta 220° y el residuo se mantuvo de nuevo a reflujo (236°) durante 3 h. Finalmente se añadió H₂O y se extrajo con éter. La disolución etérea se lavó varias veces con H₂O, secándose sobre Na₂SO₄ anhidro.

El producto (75 mg) se cromatografió en una columna sobre silicagel, eluyendo con mezcla de hexano-AcOEt (95:5), aislándose T-11 (34,5 mg) que cristalizó en metanol.

Pf. 133-134°, $[\alpha]_D -50^\circ$ (CHCl₃, c 1,8).

IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}} \text{ cm}^{-1}$: 3.380, 2.980, 2.920, 2.880, 2.850, 1.460, 1.450, 1.365, 1.100, 1.020, 990, (fig. T-11a).

RMN ¹H (60MHz, CDCl₃): δ 3,56(1H, d, J=11Hz, H-15), 1,01 (3H, s, H-20), 0,93(3H, d, J=7Hz, H-17), 0,83(3H, s, H-18), 0,80

(3H,s,H-19), (fig. T-11b).

RMN ^1H (60MHz, CCl_4): δ 3,68(1H,d,J=11Hz,H-15), 1,04
(3H,s,H-20), 0,96(3H,d,J=7Hz,H-17), 0,88(3H,s,H-18), 0,82
(3H,s,H-19), (fig. T-11c).

EM, m/z(%): 290[M] $^+$ (58), 275[M-Me] $^+$ (89), 257[275-
 H_2O] $^+$ (12), 231(29), 205(8), 137(33), 123(28), 107(34), 91
(47), 69(50), 55(70), 41(100), 29(44), (fig. T-11d).

Acetilación de T-11: T-12

T-11 (34 mg) se acetiló con piridina (1 ml) y Ac_2O
(2 ml), por el procedimiento general dando T-12 (21 mg)
que cristalizó en metanol.

Pf. 111-112°.

IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 2.990, 2.940, 2.920, 2.860, 2.840,
1.720, 1.440, 1.365, 1.230, 1.085, 1.050, 1.015, 915,
(fig. T-12a).

RMN ^1H (60MHz, CDCl_3): δ 4,75(1H,d,J=11Hz,H-15), 2,10
(3H,s,H-2'), 1,03(3H,s,H-20), 0,83(3H,d,J=7Hz,H-17), 0,83
(3H,s,H-18), 0,80(3H,s,H-19), (fig. T-12b).

RMN ^1H (200MHz, CDCl_3): δ 4,76(1H,d,J=11Hz,H-15),

2,36(1H,ddc, $J_{15-16}=11\text{Hz}$, $J_d=7,2\text{Hz}$, $J_c=7\text{Hz}$,H-16), 2,11(3H,s,
H-2'), 1,03(3H,s,H-20), 0,84(3H,s,H-18), 0,83(3H,d, $J=7\text{Hz}$,
H-17), 0,80(3H,s,H-19), (fig. T-12c).

Bencensulfonato de T-4: T-13

T-4 (154 mg) se trató con piridina (1 ml) y cloruro de bencensulfonilo (5 ml), a temperatura ambiente. La reacción se siguió por CCF y una vez completada, se añadió H_2O extrayéndose con éter. La disolución étera se lavó con HCl 2N, H_2O , NaHCO_3 y H_2O hasta pH neutro. Finalmente se concentró después de secar sobre Na_2SO_4 anhidro, dando T-13 (204 mg).

IR ν_{max} película cm^{-1} : 3.060, 2.940, 2.860, 1.700, 1.640, 1.580, 1.440, 1.360, 1.230, 1.180, 1.040, 910, 870, 730, 610, (fig. T-13a).

RMN ^1H (60MHz, CDCl_3): δ 7,96(2H,dd, $J=8\text{Hz}$, $J=2\text{Hz}$,ArH-2, ArH-6), 7,56(3H,m,ArH-3,ArH-4,ArH-5), 6,13(1H,c(a), $J=7\text{Hz}$, H-3'), 4,25(1H,t, $J=2,5\text{Hz}$,H-15), 4,90(2H,s(a),H-17), 4,29 (1H,dd, $J=9\text{Hz}$, $J=7\text{Hz}$,H-3), 2,70(1H,m,H-13), 2,03(3H,d(a), $J=7\text{Hz}$,H-4'), 1,96(3H,s(a),H-5'), 1,03(3H,s,H-20), 0,80 (6H,s,H-18,H-19), (fig. T-13b).



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

Tosilato de T-4: T-14

El alcohol T-4 (687 mg) se disolvió en piridina (10 ml) añadiéndose gradualmente a 0° y con agitación continua una disolución de cloruro de p-toluensulfonilo (800 mg) en piridina (10 ml). La reacción se siguió por CCF, manteniendo la mezcla a 0° durante 48 h, pasadas las cuales, se vertió sobre hielo picado extrayéndose con éter. La disolución etérea se lavó con HCl 2N, NaHCO₃ 5% y H₂O, secando sobre Na₂SO₄ anhidro. El producto T-14 (503 mg) cristalizó en hexano.

Pf. 130-131°, $[\alpha]_D -66,5^\circ$ (CHCl₃, c 1,9).

IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3.080, 2.940, 2.870, 1.700, 1.640, 1.595, 1.440, 1.360, 1.225, 1.175, 1.155, 1.095, 920, 875, 710, 670, (fig. T-14a).

RMN ¹H (60MHz, CDCl₃): δ 7,80(2H, d, J=8,5Hz, H_o-Ar), 7,30(2H, d, J=8,5Hz, H_m-Ar), 6,13(1H, c(a), J=7Hz, H-3'), 5,21(1H, t, J=2,5Hz, H-15), 4,90(2H, s(a), H-17), 4,26(1H, dd, J=9Hz, J=7Hz, H-3), 2,67(1H, m, H-13), 2,42(3H, s, Me-Ar), 2,03(3H, d(a), J=7Hz, H-4'), 1,96(3H, s(a), H-5'), 1,03(3H, s, H-20), 0,80(6H, s, H-18, H-19), (fig. T-14b).

EM, m/z(%): 540[M]⁺(5), 497(11), 458(11), 440[M-

AngOH]⁺(17), 425[440-Me]⁺(12), 397(22), 368(56), 353(26), 325(35), 307(9), 286(50), 268(59), 253(55), 225(53), 172(26), 155(13), 135(18), 107(29), 83[Ang]⁺(100), 55[Ang-CO]⁺(46), (fig. T-14c).

Producto de eliminación de T-14: T-15

Una mezcla de T-14 (157 mg), diglimes (8 ml), KI (300 mg), Zn en polvo (300 mg) y H₂O (0,3 ml), se calentó a ebullición en un baño de agua durante 48 h. La reacción se siguió por CCF y al finalizar se disolvió el producto en éter, eliminando el material inorgánico por filtración. La disolución etérea se lavó con HCl 2N, NaHCO₃ 5%, Na₂S₂O₃ y H₂O, realizando varios lavados con H₂O entre un producto y otro. Después de secar sobre Na₂SO₄ anhidro y una vez purificado se aisló T-15 (57 mg), (85).

Con objeto de conseguir un mayor rendimiento, se siguió este otro procedimiento para la eliminación del tosilato: T-14 (803 mg) se trató con quinoleína (pasada a través de una columna de Al₂O₃, actividad I) a reflujo (160°) durante 1,5 h. El producto se vertió sobre H₂O y hielo picado, extrayendo con éter y lavando con HCl 2N, H₂O, NaHCO₃ y H₂O hasta neutralidad, secando sobre Na₂SO₄



anhidro. El producto purificado por cromatografía dió T-15 (450 mg).

$[\alpha]_D -101^\circ$ (CHCl_3 , c 1,1).

IR $\nu_{\text{max}}^{\text{película}} \text{ cm}^{-1}$: 3.060, 2.920, 2.860, 1.710, 1.645, 1.450, 1.375, 1.360, 1.225, 1.150, 1.045, 990, 965, 940, 885, 845, 750, 735, 720, (fig. T-15a).

RMN ^1H (60MHz, CDCl_3): δ 6,10(1H, c(a), J=7Hz, H-3'), 5,40(2H, d, AB(X_2), H-2, H-3), 5,26(1H, t, J=2,5Hz, H-15), 4,93(2H, s(a), H-17), 2,73(1H, m, H-13), 2,03(3H, d(a), J=7Hz, H-4'), 1,96(3H, s(a), H-5'), 1,10(3H, s, H-20), 0,95(3H, s, H-18), 0,88(3H, s, H-19), (fig. T-15b).

Hidrólisis de T-15: T-16

T-15 (350 mg) se hidrolizó con KOH/MeOH 5% a temperatura ambiente durante 6 h, aislándose T-16 (219 mg).

Este compuesto también se obtuvo a partir de T-15 (177 mg) por reducción con LiAlH_4 por el procedimiento general. Después de purificar por cromatografía en columna sobre silicagel, se aisló T-16 (47 mg).

$[\alpha]_D -69,6^\circ$ (CHCl_3 , c 2,7).

IR ν_{max} película cm^{-1} : 3.410, 3.060, 2.920, 2.850, 1.655, 1.640, 1.440, 1.370, 1.360, 1.250, 1.120, 1.070, 1.050, 990, 885, 720, (fig. T-16a).

RMN ^1H (60MHz, CDCl_3): δ 5,38(2H,m,AB(X_2),H-2,H-3), 5,06(1H,m, $W_{1/2}$ =5Hz,H-17a), 4,93(1H,d, $J=2,5$ Hz,H-17b), 3,76(1H,t, $J=2,5$ Hz,H-15), 2,68(1H,m,H-13), 1,05(3H,s,H-20), 0,93(3H,s,H-18), 0,86(3H,s,H-19), (fig.T-16b).

Hidrogenación de T-16

Una disolución de T-16 (60 mg) en ácido acético (5 ml) y PtO_2 (2 mg) como catalizador, se mantuvo con fuerte agitación durante varias horas en atmósfera de H_2 . La reacción se siguió por CCF y una vez finalizada se extrajo con éter, dando una mezcla 1:1 de los compuestos T-11 y T-19, que se separó por cromatografía en columna sobre silicagel.

Autooxidación de T-16: T-17

A temperatura ambiente y en contacto con el aire,

el alcohol T-16 se oxidó parcialmente a la cetona T-17. Esta sustancia se separó de T-16 por cromatografía en columna sobre silicagel, eluyendo con mezcla de hexano-AcOEt (9:1) y fue purificada por cristalización en metanol.

Pf. 100-101°, $[\alpha]_D -208^\circ$ (CHCl₃, c 1,0).

UV $\lambda_{\max}^{\text{EtOH}}$ nm (log ϵ): 232(3,8), (fig. T-17a).

IR ν_{\max}^{KBr} cm⁻¹: 3.060, 2.920, 2.850, 1.710, 1.630, 1.440, 1.250, 1.190, 1.160, 1.045, 1.035, 960, 940, 925, 715, (fig. T-17b).

RMN ¹H (60MHz, CDCl₃): δ 5,97(1H,s(a),H-17a), 5,40 (2H,m,AB(X₂),H-2,H-3), 5,23(1H,s(a),H-17b), 3,06(1H,m,H-13), 1,15(3H,s,H-20), 0,98(3H,s,H-18), 0,92(3H,s,H-19), (fig. T-17c).

EM, m/z(%): 284[M]⁺(100), 269[M-Me]⁺(32), 251(12), 239(35), 144(22), 136(22), 119(30), 105(41), 91(41), 77 (26), 67(14), 55(18), 41(26), (fig. T-17d).

Reordenamiento de T-16: T-18

T-16 (75 mg) se trató con MeOH (10 ml), éter (5 ml) y HCl concentrado (2 ml). La mezcla se dejó reaccionar



durante 24 h (ver procedimiento para la obtención de T-8). El producto fue purificado por cromatografía y cristalizado en etanol, dando T-18 (40 mg).

Pf. 107-108°.

IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 3.010, 2.920, 2.860, 1.725, 1.640, 1.450, 1.370, 725, (fig. T-18a).

RMN ^1H (60MHz, CDCl_3): δ 5,38(2H,m,AB(X_2),H-2,H-3), 1,10(3H,d,J=7Hz,H-17), 1,10(3H,s,H-20), 0,96(3H,s,H-18), 0,88(3H,s,H-19), (fig. T-18b).

Hidrogenación de T-18: T-19

En primer lugar T-19 se intentó obtener por hidrogenación catalítica de T-18 con Ni Raney, pero la sustancia de partida no sufría alteración por lo que se cambió de catalizador.

Una disolución de T-18 (40 mg) en ácido acético glacial (10 ml) con PtO_2 (2 mg) se dejó con fuerte agitación a temperatura ambiente, durante 6 h en atmósfera de H_2 . La reacción se siguió por CCF y una vez finalizada se extrajo con éter, filtrando y lavando con H_2O . T-19 se



purificó por cristalización en acetona.

Pf. 145-147°, $[\alpha]_D -92^\circ$ (CHCl₃, c 0,3).

IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 2.920, 2.860, 1.725, 1.480, 1.450, 1.385, 1.370, 1.190, 970, 920, (fig. T-19a).

RMN ¹H (60MHz, CDCl₃): δ 1,10(3H, d, J=7Hz, H-17), 1,07(3H, s, H-20), 0,86(3H, s, H-18), 0,80(3H, s, H-19), (fig. T-19b).

EM, m/z(%): 288[M]⁺(59), 273[M-Me]⁺(25), 255(9), 245(13), 230(100), 215(48), 149(12), 137(28), 123(40), 121(15), 107(23), 91(31), 55(36), 41(39), (fig. T-19c).



T-5:β -Sitosterol

Las fracciones C41 - C79, contenían únicamente la sustancia T-5 que fue cristalizada en MeOH.

Pf. 139-140°, $[\alpha]_D -33,5^\circ$ (CHCl₃, c 2,0).

IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3.420, 3.020, 2.920, 2.860, 1.640, 1.460, 1.375, 1.040, 1.010, 950, 835, (fig. T-5a).

RMN ¹H (60MHz, CDCl₃): δ 5,40(1H,m,H-6), 3,60(1H,m,H-3), 1,00(3H,s,H-19), 0,90(3H,t), 0,85(9H,d), 0,69(3H,s).



T-6: ent-15 α -Angeloiloxi-16 β ,17-epoxikauran-3 β -ol

Las fracciones A5 - A7 contenían un sólido cromatográficamente puro, que fue recristalizado en hexano.

Pf. 129-130°, $[\alpha]_D -22^\circ$ (CHCl₃, c 1,3).

IR ν_{\max}^{KBr} cm⁻¹: 3.360, 2.940, 2.870, 1.715, 1.650, 1.460, 1.380, 1.230, 1.150, 1.045, 850, (fig. T-6a).

RMN ¹H (60MHz, CDCl₃): δ 6,13(1H, c(a), J=7Hz, H-3'), 5,03(1H, s(a), H-15), 3,20(1H, dd, J=9Hz, J=7Hz, H-3), 2,80(2H, s, H-17), 2,03(3H, d(a), J=7Hz, H-4'), 1,93(3H, s(a), H-5'), 1,07(3H, s, H-20), 0,96(3H, s, H-18), 0,78(3H, s, H-19), (fig. T-6b).

EM, m/z(%): 402[M]⁺(0,5), 384[M-H₂O]⁺(0,5), 369 [384-Me]⁺(0,5), 319[M-Ang]⁺(0,5), 302[M-AngOH]⁺(7), 287 [302-Me]⁺(6), 284[302-H₂O]⁺(7), 269[284-Me]⁺(7), 251(3), 135(9), 93(9), 91(10), 83[Ang]⁺(100), 81(10), 79(9), 69(9), 57(18), 55[Ang-CO]⁺(48), 43(20), 41(25), (fig. T-6c).

Este compuesto se sintetizó a partir del alcohol natural T-4 (ver pag. 305).



Acetato de T-6: T-20

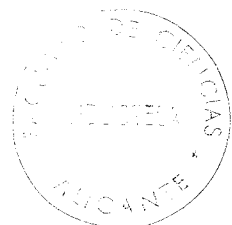
T-6 (127 mg) se acetiló con piridina (1 ml) y Ac_2O (2 ml) a temperatura ambiente durante 6 h. Siguiendo el procedimiento general se aisló T-20 (131 mg) que cristalizó en hexano.

Pf. 173-174°, $[\alpha]_D -25^\circ$ (CHCl_3 , c 1,0).

IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 2.920, 2.860, 1.730, 1.710, 1.650, 1.450, 1.360, 1.240, 1.160, 1.040, 980, 840, (fig. T-20a).

RMN ^1H (60MHz, CDCl_3): δ 6,13(1H, c(a), J=7Hz, H-3'), 5,02(1H, s(a), H-15), 4,96(1H, dd, J=9Hz, J=7Hz, H-3), 2,79(2H, s, H-17), 2,03(3H, s, H-2''), 2,03(3H, d(a), J=7Hz, H-4'), 1,93(3H, s(a), H-5'), 1,10(3H, s, H-20), 0,86(6H, s, H-18, H-19), (fig. T-20b).

EM, m/z(%): 444 $[\text{M}]^+$ (2), 361 $[\text{M-Ang}]^+$ (2), 344 $[\text{M-AngOH}]^+$ (12), 329 $[\text{344-Me}]^+$ (7), 326 $[\text{344-H}_2\text{O}]^+$ (5), 301 $[\text{361-AcOH}]^+$ (9), 284 $[\text{344-AcOH}]^+$ (10), 269 (12), 251 (10), 135 (13), 83 $[\text{Ang}]^+$ (100), 55 $[\text{Ang-CO}]^+$ (22), 43 (10), (fig. T-20c).





Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

ELAEOSELINUM ASCLEPIUM



DESCRIPCION DE LA PLANTA

La planta *Elaeoselinum asclepium* (L) subsp. *meoides* (Desf.) Fiori, conocida también con los nombres de *Elaeoselinum meoides* (Desf.) Koch ex D.C., y *Elaeoselinum millefolium* Boiss, fue recolectada en el mes de julio en el puerto de Albaida (límite de la provincia de Alicante con Valencia), presentando las siguientes características botánicas:

Es una planta perenne, casi glabra, con una altura comprendida normalmente entre 1 y 1,5 m. Base del tallo muy fibrosa y claramente fistulosa. El tallo es bastante delgado pero sólido, estriado y bastante ramificado en su mitad superior. Hojas basales erectas, muy divididas, de tri a penta pinnadas, de hasta 40 cm de longitud, con lóbulos de 2 a 3 mm, filiformes y divaricadas en todos los sentidos. Peciolos y raquis ligeramente hispídos o escábridos. Sépalos usualmente pequeños. Pétalos amarillos, oblongos, ligeramente emarginados con el ápice retuso. Umbela y umbelulas constituidas por 8 a 25 radios con escasas brácteas y bracteolas, que tienen forma limar-lanceolada.

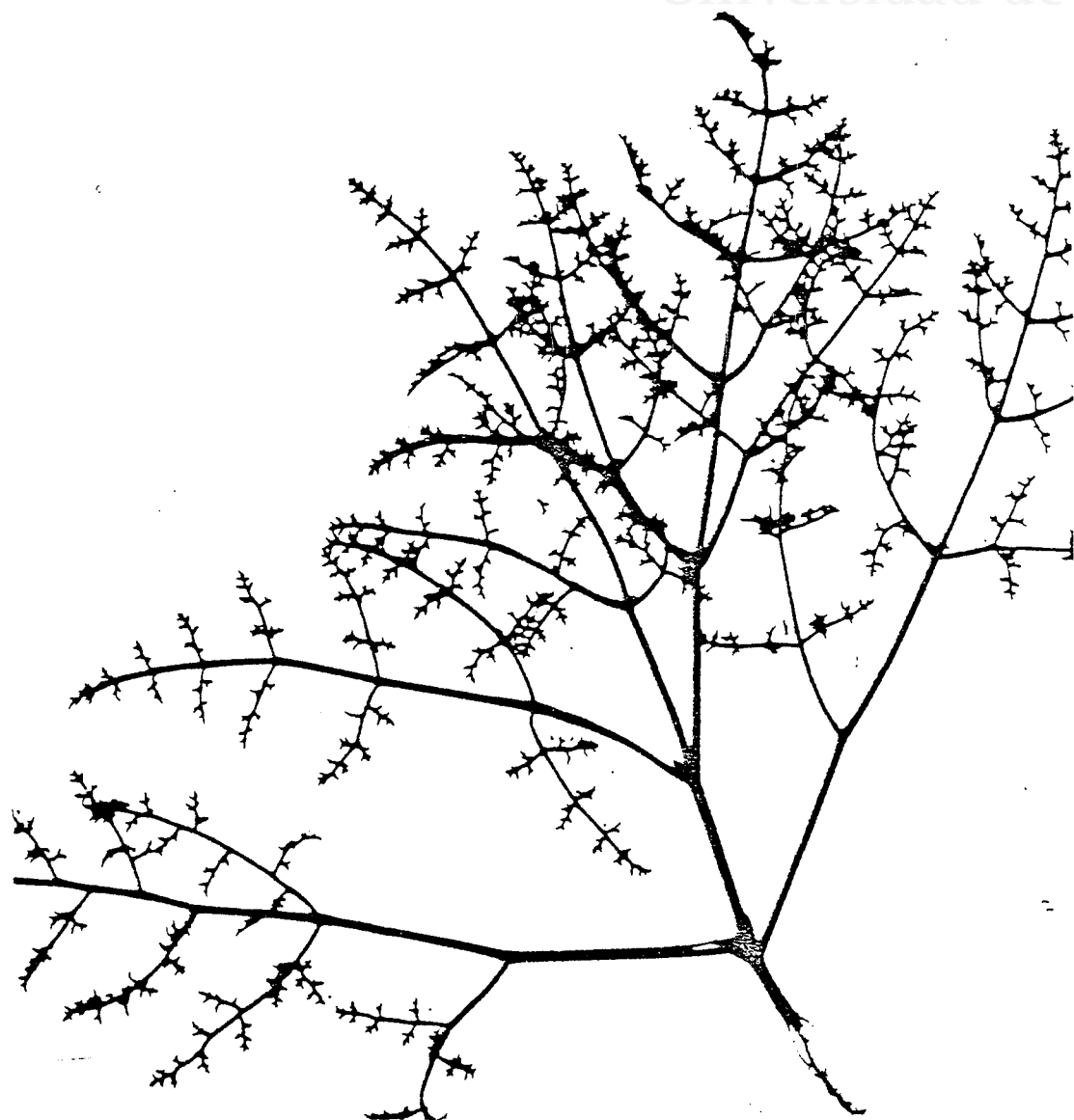
Los frutos miden entre 8 y 15 mm y tienen formas que van de obicular a ovado-oblonga. Las costilas dorsales de los mericarpos están claramente provistas de estrechas alas

que además están truncadas en el ápice y no sobrepasan por lo tanto el estilopodio.

El área de distribución de esta subespecie, comprende España y el sur de Italia y se extiende por el norte de Africa.



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante



Detalle de las hojas basales de *Elaeoselinum asclepium*



EXTRACCION Y FRACCIONAMIENTO

Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

Una vez recolectada la planta, se separaron la parte aérea de las raices. La primera se dejó secar durante varias semanas y fue triturada (2.959 g), extrayendo con hexano (12 l) en un Soxhlet, manteniendo cada cartucho (300 g) durante 5 h. Por eliminación del disolvente se obtuvo un extracto (155 g) que representa el 5,2% del peso de parte aérea seca.

El proceso de extracción se repitió utilizando MeOH (18 l) como disolvente. Cada cartucho se mantuvo durante 8 h, dando finalmente un extracto (467 g) que representa el 15,8% del peso de parte aérea.

Las raices húmedas (2.198 g) se extrajeron con benceno a reflujo en un aparato Dean-Stark durante 24 h, eliminando el agua por destilación azeotrópica. Las raices secas se trituraron y fueron sometidas de nuevo a reflujo con benceno durante 24 h. Los extractos reunidos (75 g) representan el 4,8% del peso de raices secas (1.564 g).

El extracto bencénico de las raices se disolvió en éter fraccionándose con NaOH 4%. El resultado fue una parte ácida I (0,8 g) que representaba el 1%* del peso inicial. Este porcentaje no estaba de acuerdo con los datos espec-

troscópicos del extracto bruto, que revelaban una elevada abundancia de ácidos carboxílicos.

Realizado el espectro IR de la parte neutra, reveló la presencia de bandas correspondientes a grupo carboxilato por lo que realmente la fase etérea del extracto original debía de ser una emulsión (gel). Para destruirla se mezcló de nuevo con H₂O, extrayendo con éter repetidas veces, hasta que el disolvente orgánico apareció incoloro. Esta verdadera disolución etérea se extrajo con disolución de NaHCO₃ 5%, dando una parte ácida II (0,4 g) 0,5%* y una parte neutra que se volvió a extraer con NaOH 4%, dando una parte ácida III (34,8 g) 46,4%* y una fracción neutra (28,3 g) 37,7%*.

La parte ácida III y la parte neutra final se fraccionaron inicialmente mediante el empleo de cromatografías en columna sobre silicagel. A partir de estos fraccionamientos se aislaron muestras puras de los compuestos M-2 (67 mg), M-3 (19 mg), M-4 (540 mg), M-5 (76 mg), M-6 (30 mg), M-11 (50 mg), M-22 (127 mg), A-1 (85 mg), A-2 (34 mg), A-3 (25 mg), A-4 (116 mg) y A-5 (60 mg), mediante sucesivas cromatografías y cristalizaciones, como se detalla en los apartados siguientes.

Al año siguiente de la primera recolección de plantas se realizó una segunda con el objeto de obtener un extracto

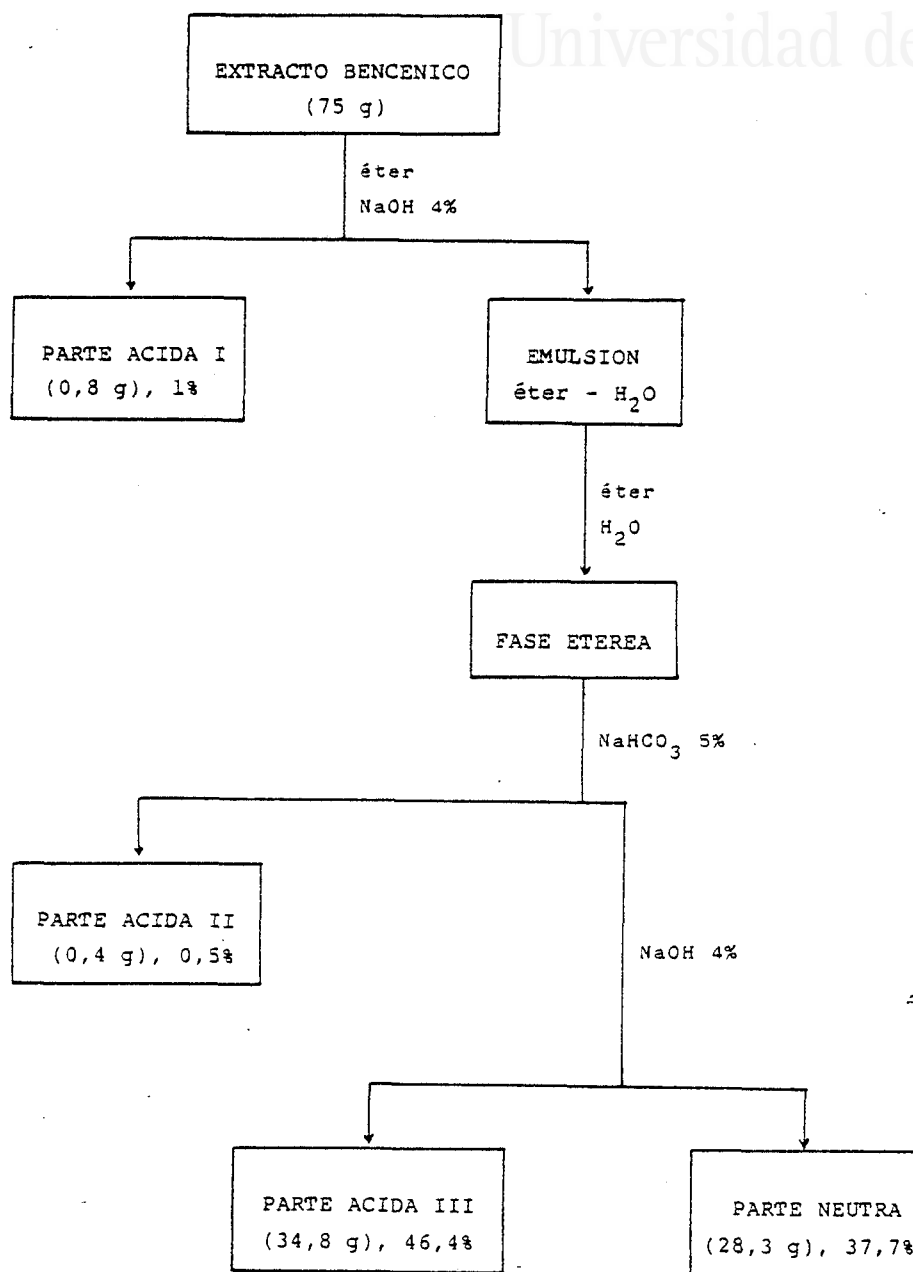
reciente de las raíces. De este nuevo extracto se aislaron los compuestos M-1 (30 mg) y M-1' (30 mg), que habían sufrido descomposición espontánea en el intento de aislarlos del primer extracto bencénico.

Las raíces de la segunda recolección se trocearon finamente, macerándose con benceno durante varios días, pasados los cuales, se trasladó el líquido a un embudo de decantación, donde se separó el agua desprendida por las raíces, de la fase orgánica. Concentrando la disolución bencénica en un rotavapor, con el baño a baja temperatura, se obtuvo un extracto bencénico II (16,5 g) que representa el 2,8% del peso de raíces secas (591 g).

(*) Referido al extracto bruto de benceno.



FRACCIONAMIENTO CON BASES DEL EXTRACTO BENCENICO I





AISLAMIENTO DE M-1, M-1', M-2, M-3, M-4, M-5 Y DERIVADOS

Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

CROMATOGRAFIA A

Una parte de la fracción neutra del extracto bencénico I de las raices (25,9 g), se fraccionó inicialmente en una columna sobre silicagel 0,2-0,5 mm (100 g) y eluyendo con mezclas de hexano-AcOEt.

Fracción	Peso (g)	%	Eluyente	Composición
A1 - A2	-	-	hexano	-
A3 - A4	7,1	27,4	Hx-AcOEt 97:3	mezclas
A5 - A9	3,8	14,7	"	M-1', M-1
A10 - A13	0,4	1,5	"	M-1, M-2
A14 - A19	1,1	4,3	"	M-2
A20 - A22	4,4	17,0	"	M-2, M-3, M-4
A23 - A24	1,7	6,6	Hx-AcOEt 95:5	M-2, M-4
A25 - A36	2,0	7,7	"	M-4
A37 - A38	3,3	12,8	"	M-5
A39 - A41	1,4	5,4	Hx-AcOEt 1:1	mezclas

CROMATOGRAFIA B

Las fracciones A5 - A7 (3,2 g) se cromatografiaron en una columna sobre silicagel 0,063-0,2 mm (200 g). La muestra se adsorbió sobre silicagel 0,2-0,5 mm (15 g), empleando como eluyente hexano-AcOEt (8:2).

Fracción	Peso (g)	Composición
B1	1,6	M-6 y A-4
B2 - B4	0,5	mezclas
B5 - B8	0,4	A-4
B9 - B11	0,2	mezclas



CROMATOGRAFIA C

Universitat d'Alacant

Universidad de Alicante

Las fracciones A20 - A22 (4,4 g) se cromatografiaron en columna húmeda sobre silicagel 0,063-0,2 mm (170 g), introduciendo la muestra disuelta en hexano y eluyendo con mezclas de hexano-AcOEt.

Fracción	Peso (g)	Eluyente	Composición
C1 - C24	0,35	9:1	mezclas
C25 - C30	0,06	"	M-2' y M-2
C31 - C47	2,13	"	M-2
C48 - C61	0,34	"	M-2 y M-3
C62 - C63	0,02	8:2	M-2 y M-4'
C64 - C71	0,09	"	M-4' y M-4
C72 - C113	1,10	"	M-4
C114- C120	0,18	1:1	mezclas

Las fracciones con M-2 y M-2' corresponden a mezclas de un tiglato y un angelato respectivamente, con el mismo esqueleto. El compuesto M-2' aunque se logró identificar como ent-3 β -acetoxi-14 β -angeloiloxi-15-beyeren-19-al, no pudo ser aislado puro, debido al poco peso obtenido y a que sufre descomposición espontánea.

Analogamente ocurre con las fracciones que contienen M-4 y M-4', que también son mezclas de tiglató y angelato de una misma sustancia. M-4' se identificó como ent-14 β -angeloiloxi-15-beyeren-19-ol, pero tampoco pudo aislarse por encontrarse en pequeña proporción e impurificado con compuestos lineales.



CROMATOGRAFIA D

Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

Parte de la fracción A38 (0,63 g) se cromatografió en una columna húmeda sobre silicagel 0,063-0,2 mm (41 mg). La muestra se introdujo disuelta en hexano-AcOEt (9:1) y como eluyente se utilizó mezcla de hexano-AcOEt (8:2), impulsado mediante aire a presión.

Fracción	Peso (g)	Composición
D1 - D9	-	-
D10 - D17	0,10	M-5 y M-5'
D18 - D24	0,23	M-5
D25 - D40	0,18	mezclas

Las fracciones con M-5 y M-5' corresponden a mezclas de un tiglató y un angelato con el mismo esqueleto. M-5' aunque se identificó como ent-3 β -hidroxi-14 β -angeloiloxi-15-beyeren-19-al, no pudo ser aislado debido al poco peso, y a que sufre descomposición espontánea.



CROMATOGRAFIA E

Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

Parte del extracto bruto de benceno II (8 g), obtenido por maceración de las raíces recogidas en la segunda recolección de planta, se fraccionó en directo en una columna sobre silicagel 0,063-0,2 mm (300 g). La muestra se introdujo en forma de pastilla adsorbida sobre silicagel 0,2-0,5 mm, pasando el eluyente bajo presión de N₂.

Fracción	Peso (g)	%	Eluyente	Composición
E1 - E17	0,15	1,9	hexano	-
E18 - E20	0,60	7,5	Hx-AcOEt 95:5	mezclas
E21 - E29	0,92	11,5	"	M-1' y M-1
E30 - E42	0,85	10,6	"	M-1, A-1, A-2*
E43	0,91	11,4	"	mezclas
E44 - E47	3,88	48,5	éter	mezclas
E48	0,33	4,1	AcOEt	mezclas

(*) Los compuestos que llevan el prefijo A, corresponden a componentes ácidos (ver parte ácida).

CROMATOGRAFIA FUniversitat d'Alacant
Universidad de Alicante

La fracción E21 - E29 se cromatografió a presión de N₂, sobre silicagel de capa fina Merck 60 PF₂₅₄ (50 g) en una columna de 4 cm de diámetro. La muestra se introdujo adsorbida sobre silicagel 0,2-0,5 mm, eluyendo con mezcla de hexano-AcOEt (97:3).

Fracción	Peso (mg)	Composición
F1 - F4	30	mezclas
F5 - F6	62	M-1'
F7	50	M-1' y M-1
F8 - F23	518	M-1, mezclas



AISLAMIENTO DE A-1, A-2, A-3, A-4 y A-5

Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

CROMATOGRAFIA G

Las fracciones E30 - E42 procedentes del fraccionamiento del extracto bruto bencénico II, presentaban en CCF una mancha mayoritaria de más polaridad que las restantes, que al ser revelada con vainillina da un color violáceo.

Tanto el espectro IR como el de RMN de estas fracciones, indican la existencia de grupos ácido, apareciendo también en menor proporción grupos aldehído. Se realizó un fraccionamiento con NaOH 2% produciéndose durante la extracción emulsiones difíciles de romper, por lo que se continuó con disolución de NaOH más diluída.

La parte neutra (228 mg) dió una mezcla de las sustancias M-1 y M-1'. La parte ácida (540 mg) era una mezcla de los ácidos A-1 y A-2 que presentaban un R_f muy similar, y que debido al alargamiento característico de los ácidos en CCF, aparecen como una única mancha.

Estas dos sustancias se separaron mediante la cromatografía G, realizada en una columna de 3 mm de diámetro, sobre silicagel 0,063-0,2 mm (60 g) mezclada con NO₃Ag 8%.



La muestra se introdujo en forma de pastilla mezclada con silicagel 0,2-0,5 mm y eluída con hexano-AcOEt (9:1).

Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante



CROMATOGRAFIA H

Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

La parte ácida III, obtenida mediante extracción con bases del extracto bencénico de las raíces, se separó en dos partes. Una de ellas (15 g) se fraccionó en una columna de 4 cm de diámetro sobre silicagel 0,2-0,5 mm (210 g), introduciendo la muestra en forma de pastilla adsorbida sobre silicagel 0,2-0,5 mm. La columna se eluyó con distintos disolventes, utilizando aire a presión.

Fracción	Peso (g)	%	Eluyente	Composición
H1 - H4	-	-	hexano	-
H5	0,1	6,7	Hx-AcOEt 9:1	mezclas
H6 - H8	3,1	20,7	"	A-1,A-2,A-3 A-4,mezclas
H9 - H12	3,8	25,3	"	A-1,A-2,A-3 A-4,ácidos
H13 - H22	3,6	24,0	"	A-3,A-4,A-5 ácidos
H23 - H24	3,7	24,6	AcOEt	mezclas



CROMATOGRAFIA I

Parte de las fracciones H13 - H21 se fraccionaron mediante la cromatografía I, realizada en columna sobre silicagel 0,063-0,2 (200 g), introduciendo la muestra adsorbida sobre silicagel 0,2-0,5 mm. La columna se eluyó inicialmente con hexano, continuando con mezclas hexano-AcOEt de polaridad creciente.

Fracción	Peso (mg)	Composición
I1 - I18	-	mezclas
I19 - I24	0,51	A-3, A-4, ácidos
I25 - I32	-	mezclas
I33 - I35	0,35	A-5

Los compuestos A-3 y A-4 se separaron de las fracciones A19 - A24, mediante cromatografía en columna, empleando sílice de capa fina Merck 60 PF₂₅₄ (30 g), mezclada con AgNO₃ (8%). La columna se eluyó con mezcla de hexano-AcOEt (9:1), empleando N₂ a presión.



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

M-1': ent-14 β -Angeloiloxi-15-beyeren-19-al

Por cristalización en hexano de las fracciones F5 - F6, se obtuvo M-1' (30 mg), que fue purificada por recristalización en el mismo disolvente.

Pf. 150°, $[\alpha]_D +13,8^\circ$ (CHCl₃, c 1,7).

IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}} \text{ cm}^{-1}$: 3.040, 2.945, 2.920, 2.845, 2.705, 1.700, 1.645, 1.455, 1.380, 1.360, 1.235, 1.175, 1.085, 1.050, 860, 785, 735, (fig. M-1'a).

RMN ¹H (60MHz, CDCl₃): δ 9,80(1H, s, H-19), 6,05(1H, c(a), J=7Hz, H-3'), 5,70(1H, d(a), J=6Hz, H-16), 5,45(1H, d(a), J=6Hz, H-15), 4,62(1H, s(a), H-14), 1,95(3H, d(a), J=7Hz, H-4'), 1,88(3H, s(a), H-5'), 1,00(3H, s, H-18), 0,96(3H, s, H-17), 0,64(3H, s, H-20), (fig. M-1'b).

RMN ¹H (200MHz, CDCl₃): δ 9,80(1H, s, H-19), 6,04(1H, cc, J=7,2Hz, J=1,5Hz, H-3'), 5,67(1H, d(a), J=6Hz, H-16), 5,45(1H, d(a), J=6Hz, H-15), 4,61(1H, s(a), H-14), 1,96(3H, dc, J=7,2Hz, J=1,5Hz, H-4'), 1,87(3H, qnt, J=1,5Hz, H-5'), 1,00(3H, s, H-18), 0,97(3H, s, H-17), 0,64(3H, s, H-20), (fig. M-1'c).

RMN ¹³C (50,3MHz, CDCl₃): δ 205,6(d, C-19), 168,3(s, C-1'), 137,2(d, C-3'), 133,9(d, C-16), 131,9(d, C-15), 128,3(s, C-2'), 94,1(d, C-14), 56,0(d, C-5), 52,9(s, C-8), 51,6(d,

C-9), 48,2(s,C-13), 48,2(s,C-4), 38,9(t,C-1), 37,6(s,C-10),
 34,2(t,C-3), 32,3(t,C-12), 31,4(t,C-7), 24,4(c,C-18), 20,6
 (c,C-5'), 19,9(t,C-6), 19,3(c,C-17), 18,8*(t,C-11), 18,4*
 (t,C-2), 15,8(c,C-4'), 14,8(c,C-20), (fig. M-1'd).

EM, m/z(%): 384[M]⁺(1), 356[M-CO]⁺(1), 301[M-Ang]⁺
 (1), 284[M-AngOH]⁺(4), 269[284-Me]⁺(1), 256(2), 255(2),
 241(1), 213(1), 199(1), 185(2), 173(1), 159(2), 145(4), 131
 (5), 119(5), 105(8), 93(7), 83[Ang]⁺(100), 67(5), 55[Ang-
 CO]⁺(42), 41(10), 29(9), (fig. M-1'e).

(*) Asignaciones intercambiables.



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

M-1: ent-14 β -Tigloiloxi-15-beyeren-19-al

La sustancia M-1, se intentó obtener en primer lugar de las fracciones A5 - A7 del extracto bencénico inicial mediante la cromatografía B, pero en contacto con la sílice sufrió una autooxidación dando los compuestos M-6 y A-4.

La sustancia M-1 contenida en las fracciones F8 - F10, obtenidas del extracto bencénico II, se encontraba impurificada por compuestos minoritarios de similar Rf., así como por productos de descomposición más polares.

La parte soluble en hexano de las fracciones F8 - F10 (270 mg) se cromatografió en una columna de 2,4 cm de diámetro, sobre silicagel de capa fina sin yeso (15 g). La muestra se introdujo disuelta en hexano y se eluyó con hexano-AcOEt (8:2), utilizando presión de N₂.

Las fracciones con M-1 pura (60 mg), volvieron a presentar en contacto con el aire productos de descomposición, por lo que se percolaron rápidamente sobre silicagel dando M-1 limpia (30 mg). Las constantes físicas y espectroscópicas se midieron inmediatamente después del aislamiento.

Aceite, $[\alpha]_D +17^\circ$ (CHCl₃, c 2,2).

IR $\nu_{\text{max}}^{\text{película}}$ cm^{-1} : 3.040, 2.920, 2.840, 2.710,
1.700, 1.645, 1.440, 1.370, 1.260, 1.135, 1.070, 1.050,
855, 785, 765, 730, (fig. M-1a).

RMN ^1H (60MHz, CDCl_3): δ 9,78(1H, s, H-19), 6,83(1H,
c(a), J=6Hz, H-3'), 5,70(1H, d(a), J=6Hz, H-16), 5,45(1H, d(a),
J=6Hz, H-15), 4,56(1H, s(a), H-14), 1,82(3H, s(a), H-5'), 1,76
(3H, d(a), J=6Hz, H-4'), 0,97(3H, s, H-18), 0,93(3H, s, H-17),
0,63(3H, s, H-20), (fig. M-1b).



Universitat d'Alacant

Universidad de Alicante

M-6: ent-14 β -Tigloiloxi-4 β -hidroperoxi-19-norbeyer-15-eno

De la fracción B1 se obtuvo por cristalización en hexano el compuesto M-6. La sustancia dio positiva en el ensayo de peróxidos, realizado al mezclar en un pequeño tubo de ensayo un poco de disolución etérea de M-6 con unas gotas de disolución de IK y almidón. El color azul que apareció al agitar, en contraste con el incoloro de un ensayo en blanco, reveló la presencia de peróxidos.

Pf. 175-177°.

IR ν_{\max}^{KBr} cm^{-1} : 3.335, 2.940, 2.840, 1.670, 1.640, 1.445, 1.370, 1.340, 1.270, 1.140, 1.080, 1.040, 780, 730, (fig. M-6a).

IR $\nu_{\max}^{\text{CHCl}_3}$ (4%) cm^{-1} : 3.520, 2.940, 2.840, 1.685, 1.640, 1.440, 1.360, 1.260, 1.130, 1.070, 860, (fig. M-6b).

IR $\nu_{\max}^{\text{CHCl}_3}$ (5×10^{-3} M) cm^{-1} : 3.520, 3.500-3.200(a), (fig. M-6c).

RMN ^1H (60MHz, CDCl_3): δ 7,25(1H, s(a), -OOH), 6,81(1H, c(a), J=6Hz, H-3'), 5,70(1H, d(a), J=6Hz, H-16), 5,41(1H, d(a), J=6Hz, H-15), 4,52(1H, s(a), H-14), 1,83(3H, s(a), H-5'), 1,76(3H, d(a), J=6Hz, H-4'), 1,23(3H, s, H-18), 0,91(3H, s, H-17), 0,87(3H, s, H-20), (fig. M-6d).

EM, m/z(%): 388[M]⁺(2), 371[M-OH]⁺(3), 355[M-OOH]⁺(10), 288[M-Tg1OH]⁺(7), 272(8), 271(6), 255(16), 254(12), 213(6), 187(10), 145(17), 133(16), 105(13), 83[Tg1]⁺(100), 55[Tg1-CO]⁺(28), 43(20), (fig. M-6e).



A-4: Acido ent-14 β -tigloiloxi-15-beyeren-19-oico

Las fracciones B5 - B6 se encontraban enriquecidas en el compuesto A-4, obtenido por transformación de M-1 durante la cromatografía B. Estas fracciones (0,2 g) se cromatografiaron en una columna sobre silicagel 0,063-0,2 mm (3 g) y se eluyeron con mezcla de hexano-AcOEt (9:1), obteniéndose A-4 pura (116 mg).

Aceite, $[\alpha]_D -8,4^\circ$ (EtOH, c 1,6).

IR $\nu_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3}$ (4%) cm^{-1} : (3.400-2.400), 2.945, 2.920, 2.840, 1.685, 1.640, 1.445, 1.370, 1.260, 1.140, 1.075, 1.040, 970, (fig. A-4a).

RMN ^1H (60MHz, CDCl_3): δ 6,84(1H, c(a), J=6Hz, H-3'), 5,73(1H, d(a), J=6Hz, H-16), 5,43(1H, d(a), J=6Hz, H-15), 4,54(1H, s(a), H-14), 1,83(3H, s(a), H-5'), 1,77(3H, d(a), J=6Hz, H-4'), 1,22(3H, s, H-18), 0,95(3H, s, H-17), 0,72(3H, s, H-20), (fig. A-4b).

RMN ^1H (200MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$): δ 6,77(1H, c(a), J=6Hz, H-3'), 5,72(1H, d(a), J=6Hz, H-16), 5,43(1H, d(a), J=6Hz, H-15), 4,49(1H, s(a), H-14), 1,77(3H, s(a), H-5'), 1,76(3H, d(a), J=6Hz, H-4'), 1,19(3H, s, H-18), 0,90(3H, s, H-17), 0,72(3H, s, H-20), (fig. A-4c).

RMN ^{13}C (50,3MHz, $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$): δ 179,1(s,C-19), 168,1(s, C-1'), 136,9(d,C-3'), 134,1(d,C-16), 132,9(d,C-15), 129,6(s,C-2'), 94,9(d,C-14), 56,9(d,C-5), 54,0(s,C-8), 53,0(d, C-9), 48,9(s,C-13), 44,0(s,C-4), 40,4(t,C-1), 38,8(s,C-10), 38,6(t,C-3), 33,1(t,C-12), 32,3(t,C-7), 29,4(c,C-18), 21,5(t,C-6), 20,5(t,C-11), 20,0(t,C-2), 19,6(c,C-17), 14,6(c,C-20), 14,2(c,C-4'), 12,2(c,C-5'), (fig. A-4d).

Este compuesto se aisló como producto natural en la parte ácida del extracto bencénico de las raíces. (Ver cromatografía H).

Esterificación de A-4: A-8

A-4 (80 mg) se esterificó con CH_2N_2 , dando el ester metílico A-8 (69 mg). Con el fin de obtener más cantidad de este compuesto, se esterificaron con CH_2N_2 las fracciones B4, B8 y B9 (479 mg) dando A-8 (435 mg).

Aceite, $[\alpha]_{\text{D}}$ $-0,8^{\circ}$ (CHCl_3 , c 2,3).

IR $\nu_{\text{max}}^{\text{película}}$ cm^{-1} : 2.940, 2.850, 1.720, 1.700, 1.645, 1.450, 1.375, 1.265, 1.230, 1.190, 1.150, 1.075, 1.050, 970, 790, 735, (fig. A-8a).

RMN. ^1H (60MHz, CDCl_3): δ 6,83(1H, c(a), J=6Hz, H-3'), 5,70(1H, d(a), J=6Hz, H-16), 5,42(1H, d(a), J=6Hz, H-15), 4,52(1H, s(a), H-14), 3,63(3H, s, COOMe), 1,80(3H, s(a), H-5'), 1,76(3H, d(a), J=6Hz, H-4'), 1,16(3H, s, H-18), 0,94(3H, s, H-17), 0,58(3H, s, H-20), (fig. A-8b).

RMN ^1H (200MHz, CDCl_3): δ 6,78(1H, c(a), J=6Hz, H-3'), 5,65(1H, d(a), J=6Hz, H-16), 5,40(1H, d(a), J=6Hz, H-15), 4,49(1H, s(a), H-14), 3,58(3H, s, COOMe), 1,76(3H, s(a), H-5'), 1,73(3H, d(a), J=6Hz, H-4'), 1,11(3H, s, H-18), 0,89(3H, s, H-17), 0,55(3H, s, H-20), (fig. A-8c).

RMN ^{13}C (50,3MHz, CDCl_3): δ 177,9(s, C-19), 168,3(s, C-1'), 136,6(d, C-3'), 133,5(d, C-16), 132,0(d, C-15), 128,8(s, C-2'), 94,3(d, C-14), 56,3(d, C-5), 53,3(s, C-8), 52,1(d, C-9), 51,1(c, COOMe), 48,2(s, C-13), 43,8(s, C-4), 39,6(t, C-1), 38,0(t, C-3), 37,7(s, C-10), 32,4(t, C-12), 31,4(t, C-7), 28,8(c, C-18), 20,7(t, C-6), 19,7(t, C-11), 19,2(t, C-2), 19,2(c, C-17), 14,2(c, C-4'), 13,9(c, C-20), 12,0(c, C-5'), (fig. A-8d).

EM, m/z(%): 414[M] $^+$ (7), 314[M-Tg1OH] $^+$ (50), 299[314-Me] $^+$ (19), 271(19), 255[M-COOMe] $^+$ (20), 254(25), 239(16), 185(19), 159(19), 147(20), 131(26), 121(40), 119(22), 117(20), 105(38), 91(44), 83[Tg1] $^+$ (100), 82(74), 55[Tg1-CO] $^+$ (94), 41(21), (fig. A-8e).

Esta sustancia se correlacionó por vía química con M-4 mediante la reducción con LiAlH_4 durante 4 h, dando una mezcla (52 mg) de los compuestos M-4 y M-14 (mayoritario), que se separaron mediante cromatografía en columna sobre silicagel 0,063-0,2 mm, utilizando como eluyente mezcla de hexano-AcOEt (8:2).



Universitat d'Alacant

Universidad de Alicante

Hidrogenación de A-8: M-7

A-8 (120 mg) se hidrogenó según el procedimiento general, en presencia de Ni-Raney como catalizador. Al cabo de 1 h de fuerte agitación en atmósfera de H₂, se comprobó por CCF que la reacción estaba concluida, aislándose M-7 (79 mg) en forma de aceite.

IR ν_{max} película cm^{-1} : 2.940, 2.865, 2.845, 1.725, 1.460, 1.375, 1.335, 1.260, 1.235, 1.190, 1.155, 1.075, 1.025, 970, 810, (fig. M-7a).

RMN ¹H (60MHz, CDCl₃): δ 4,45(1H, s, H-14), 3,63(3H, s, COOMe), 1,20(3H, d, J=7Hz, H-5'), 1,16(3H, s, H-18), 0,93(3H, t, J=7Hz, H-4'), 0,87(3H, s, H-17), 0,76(3H, s, H-20), (fig. M-7b).

Hidrólisis de M-7: M-8

M-7 (57 mg) se hidrolizó con KOH/MeOH 10% a reflujo. Al cabo de 24 h de agitación constante, la reacción estaba prácticamente terminada. El producto aislado después de un proceso de separación por cromatografía en columna,



cristalizó en hexano dando M-8 (41 mg).

Pf. 179-180°.

IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 3.520, 2.975, 2.940, 2.860, 1.690, 1.440, 1.365, 1.240, 1.185, 1.165, 1.145, 1.080, 1.010, 965, 830, 770, (fig. M-8a).

RMN ^1H (60MHz, CDCl_3): δ 3,63(3H,s,COOMe), 2,93(1H,s,H-14), 1,16(3H,s,H-18), 0,98(3H,s,H-17), 0,73(3H,s,H-20), (fig. M-8b).

Oxidación de M-8: M-9

M-8 (38 mg) se oxidó con PCC mediante el procedimiento general, en un matraz Erlenmeyer de 100 ml, provisto de un agitador magnético. La reacción se siguió por CCF y una vez finalizada, se aisló M-9 (35 mg) por cristalización en hexano.

Pf. 119-120°.

DC $\Delta\epsilon_{300}$ +1,08(hexano), (fig. M-9a).

IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 2.940, 2.860, 1.715, 1.440, 1.370, 1.225, 1.190, 1.145, 970, 910, 855, 805, 770, (fig. M-9b).

RMN ^1H (60MHz, CDCl_3): δ 3,62(3H, s, COOMe), 1,15(3H, s, H-18), 0,96(3H, s, H-17), 0,82(3H, s, H-20), (fig. M-9c).

RMN ^1H (200MHz, CDCl_3): 3,64(3H, s, COOMe), 2,51(1H, m, H-11 α), 2,16(1H, dddd, $J=13,17\text{Hz}$, $J=3,50\text{Hz}$, $J=3,50\text{Hz}$, $J=1,61\text{Hz}$, H-11 β), 1,18(3H, s, H-18), 0,99(3H, s, H-17), 0,84(3H, s, H-20), (fig. M-9d).

RMN ^{13}C (50,3MHz, CDCl_3): δ 222,7(s, C-14), 177,8(s, C-19), 59,3(d, C-9), 56,0(d, C-5), 51,1(s, C-8), 51,1(c, COOMe), 46,8(s, C-13), 43,8(s, C-4), 42,1(t, C-12), 40,3(t, C-1), 39,1(s, C-10), 37,9(t, C-3), 32,6(t, C-7), 30,3(t, C-15), 28,9(c, C-18), 27,4(t, C-16), 20,2(t, C-6), 19,5(t, C-11), 19,5(c, C-17), 19,0(t, C-2), 13,7(c, C-20), (fig. M-9e).

EM, m/z(%): 332[M] $^+$ (33), 304[M-CO] $^+$ (9), 273[M-COOMe] $^+$ (30), 272[M-COHOMe] $^+$ (49), 257[272-Me] $^+$ (10), 255(14), 245(10), 230(20), 189(8), 175(14), 166(20), 149(22), 135(33), 123(100), 107(67), 93(70), 81(67), 67(50), 55(70), 41(86), 18(31), (fig. M-9f).

Reducción de M-9: M-10

M-9 (30 mg), se redujo en presencia de LiAlH_4 , para dar M-10 (25 mg). Este compuesto se cristalizó en mezcla



hexano-AcOEt.

Pf. 203-204°, $[\alpha]_D +1,54^\circ$ (EtOH, c 1,6).

IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}} \text{ cm}^{-1}$: 3.390, 2.930, 2.850, 1.440, 1.365, 1.245, 1.100, 1.025, 970, 850, (fig. M-10a).

RMN ^1H (60MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$): δ 4,10(1H, d, J=10,5Hz, H-19a), 3,64(1H, d, J=10,5Hz, H-19b), 3,14(1H, s, H-14), 1,17(3H, s, H-18), 1,11(3H, s, H-17), 0,99(3H, s, H-20), (fig. M-10b).

RMN ^1H (200MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$): δ 4,07(1H, d, J=10,8Hz, H-19a), 3,66(1H, d, J=10,8Hz, H-19b), 3,14(1H, s, H-14), 1,18(3H, s, H-18), 1,12(3H, s, H-17), 1,00(3H, s, H-20), (fig. M-10c).

RMN ^{13}C (50,3MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$): δ 83,3(d, C-14), 64,4(t, C-19), 57,0(d, C-5), 47,1(d, C-9), 45,9(s, C-8), 40,6(s, C-13), 40,3(t, C-1), 39,5(t, C-7), 39,2(s, C-4), 37,6(s, C-10), 36,2(t, C-3), 32,9(t, C-12), 32,6(t, C-15), 30,0(t, C-16), 28,0(c, C-18), 25,7(c, C-17), 20,6*(t, C-11), 20,2*(t, C-6), 18,7(t, C-2), 16,3(c, C-20), (fig. M-10d).

EM, m/z(%): 306[M]⁺(8), 288[M-H₂O]⁺(4), 276[M-CH₂O]⁺(47), 275[M-CH₂OH]⁺(100), 257(71), 245(4), 229(3), 201(6), 187(18), 175(34), 161(16), 149(14), 135(15), 123(28), 109(29), 95(34), 81(49), 67(34), 55(53), 41(51), 29(24), 18(29), (fig. M-10e).

(*) Asignaciones intercambiables.



Universitat d'Alacant

Universidad de Alicante

M-2: ent-3 β -Acetoxi-14 β -Tigloiloxi-15-beyeren-19-al

M-2 se aisló de las fracciones C31 -C47, purificándola por cristalización en hexano.

Las fracciones C48 - C61 que presentaban productos de descomposición del aldehído, se cromatografiaron sobre silicagel 0,063-0,2 mm, eluyendo con hexano-AcOEt (9:1), obteniéndose M-2 pura (129 mg). Las fracciones que contenían mezclas se volvieron a cromatografiar dando M-2 (67 mg).

Este compuesto se obtuvo también mediante la acetilación con Ac₂O/piridina de M-5.

Pf. 169-171°.

IR $\nu_{\text{max}}^{\text{nujol}}$ cm⁻¹: 3.040, 2.720, 1.715, 1.700, 1.695, 1.640, 1.260, 1.240, 1.140, 1.040, 790, 720, (fig. M-2a).

IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3.050, 2.960, 2.840, 2.720, 1.720, 1700, 1.695, 1.645, 1.440, 1.375, 1.265, 1.240, 1.130, 790, 725, (fig. M-2b).

RMN ¹H (60MHz, CDCl₃): δ 10,06(1H, s, H-19), 6,83(1H, c(a), J=6Hz, H-3'), 5,63(1H, d(a), J=6Hz, H-16), 5,43(1H, d(a), J=6Hz, H-15), 4,66(1H, dd, J_{XA}=9Hz, J_{XB}=7Hz, H-3), 4,54(1H, s(a), H-14), 2,04(3H, s, H-2''), 1,82(3H, s(a), H-5'), 1,76(3H,

d(a), J=6Hz, H-4'), 1,06(3H, s, H-18), 0,93(3H, s, H-17), 0,68(3H, s, H-20), (fig. M-2c).

RMN ^1H (200MHz, CDCl_3): δ 10,05(1H, s, H-19), 6,80(1H, cc, J=6Hz, J=0,8Hz, H-3'), 5,58(1H, dd, J=5,8Hz, J=0,8Hz, H-16), 5,45(1H, dd, J=5,8Hz, J=1,1Hz, H-15), 4,65(1H, dd, $J_{\text{XA}}=9,3\text{Hz}$, $J_{\text{XB}}=7,8\text{Hz}$, H-3), 4,54(1H, s(a), H-14), 2,04(3H, s, H-2"), 1,79(3H, s(a), H-5'), 1,77(3H, dd, J=6Hz, J=0,8Hz, H-4'), 1,06(3H, s, H-18), 0,93(3H, s, H-17), 0,68(3H, s, H-20), (fig. M-2d).

RMN ^{13}C (50,3MHz, CDCl_3): δ 204,4(d, C-19), 170,4(s, C-1"), 168,3(s, C-1'), 136,9(d, C-3'), 134,1(d, C-16), 131,8(d, C-15), 128,8(s, C-2'), 94,1(d, C-14), 78,6(d, C-3), 56,9(d, C-5), 52,8(s, C-8), 51,8(s, C-4), 51,3(d, C-9), 48,3(s, C-13), 37,0(s, C-10), 36,6(t, C-1), 32,3(t, C-12), 31,0(t, C-7), 24,1(t, C-2), 21,0(c, C-2"), 20,2(t, C-6), 20,2(c, C-18), 19,3(t, C-11), 19,2(c, C-17), 16,3(c, C-20), 14,3(c, C-4'), 12,1(c, C-5'), (fig. M-2e).

EM, m/z(%): 442[M] $^+$ (1), 355(16), 343(14), 149(11), 148(11), 147(10), 133(17), 123(11), 121(19), 119(10), 109(15), 108(9), 105(11), 97(15), 91(7), 83[Tg1] $^+$ (100), 55[Tg1-CO] $^+$ (16), 43(12), 41(4), 29(3), (fig. M-2f).

M-11: Acido ent-3 β -acetoxi-14 β -tigloiloxi-15-beyeren-19-oico

De la fracción C31 - C47 se separó M-11 (50 mg), ácido proveniente de la autooxidación del aldehído M-2.

IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 3.930, 3,050, 2.960, 2.935, 2.850, 1.725, 1.695, 1.645, 1.450, 1.375, 1.365, 1.245, 1.160, 1.130, 1.075, 1.040, 970, 935, 855, 800, 735, (fig. M-11a).

RMN ^1H (60MHz, CDCl_3): δ 6,80(1H, c(a), J=6Hz, H-3'), 5,60(1H, d(a), J=6Hz, H-16), 5,33(1H, d(a), J=6Hz, H-15), 4,53(1H, s(a), H-14), 4,46(1H, m, H-3), 2,06(3H, s, H-2"), 1,80(3H, s(a), H-5'), 1,73(3H, d(a), J=6Hz, H-4'), 1,23(3H, s, H-18), 0,96(3H, s, H-17), 0,76(3H, s, H-20), (fig. M-11b).

Esterificación de M-11: M-12

M-11 (40 mg) se esterificó con CH_2N_2 para dar el éster metílico M-12. Este compuesto se obtuvo también por acetilación con Ac_2O /piridina de M-1 (35 mg), dando M-12 (25 mg).

IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 2.950, 2.930, 2.850, 1.725(a), 1.645,

1.445, 1.370, 1.240, 1.190, 1.155, 1.080, 1.045, 1.030, 975, 735, (fig. M-12a).

RMN ^1H (60MHz, CDCl_3): δ 6,82(1H, c(a), J=6Hz, H-3'), 5,63(1H, d(a), J=6Hz, H-16), 5,42(1H, d(a), J=6Hz, H-15), 4,54(1H, s(a), H-14), 4,46(1H, m, H-3), 3,65(3H, s, COOMe), 2,04(3H, s, H-2"), 1,82(3H, s(a), H-5'), 1,75(3H, d(a), J=6Hz, H-4'), 1,23(3H, s, H-18), 0,93(3H, s, H-17), 0,68(3H, s, H-20), (fig. M-12b).



Universitat d'Alacant

Universidad de Alicante

M-3: ent-15-Beyeren-19-ol (Erithroxylol A)

Por reducción con LiAlH_4 de parte de las fracciones C48 - C61 (129 mg), se comprobó por CCF que una parte no se transformaba. Mediante cromatografía en columna se separó una sustancia que presentaba prácticamente el mismo Rf. que M-2: M-3 (19 mg) se purificó por cristalización en hexano.

Pf. 120° , $[\alpha]_D +38^\circ$ (CHCl_3 , c 1,5).

IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 3.370, 3.025, 2.910, 2.840, 1.620, 1.435, 1.375, 1.355, 1.040, 965, 740, (fig. M-3a).

RMN ^1H (60MHz, CDCl_3): δ 5,66(1H, d, J=6Hz, H-16), 5,43(1H, d, J=6Hz, H-15), 3,78(1H, d, J=10,5Hz, H-19a), 3,41(1H, d, J=10,5Hz, H-19b), 0,96(3H, s, H-18), 0,93(3H, s, H-17), 0,70(3H, s, H-20), (fig. M-3b).

RMN ^{13}C (50,3MHz, CDCl_3): δ 136,5(d, C-16), 135,1(d, C-15), 65,6(t, C-19), 61,2(t, C-14), 56,9(d, C-5), 53,0(d, C-9), 49,1(s, C-8), 43,7(s, C-13), 39,3(t, C-1), 38,5(s, C-4), 37,7(t, C-7), 37,3(s, C-10), 35,6(t, C-3), 33,2(t, C-12), 27,0(c, C-18), 24,9(c, C-17), 20,4*(t, C-6), 20,2*(t, C-11), 18,3(t, C-2), 15,8(c, C-20), (fig. M-3c).

(*) Asignaciones intercambiables.

EM, m/z(%): 288[M]⁺(95), 257[M-CH₂OH]⁺(75), 229(12), 161(24), 148(53), 135(75), 123(38), 119(44), 105(100), 93(71), 55(41), 43(41), 41(64), (fig. M-3d).

M-3 (30 mg) fue obtenida también, por reducción del compuesto ácido A-7 (56 mg) con LiAlH₄ (ver parte ácida).



M-4: ent-14 β -Tigloiloxi-15-beyeren-19-ol

M-4 (0,54 g) se aisló por cristalización en hexano de las fracciones A25 - A32, purificándose por recristalización en el mismo disolvente.

Pf. 142-143°, $[\alpha]_D +45,4^\circ$ (CHCl₃, c 1,0).

UV $\lambda_{\max}^{\text{EtOH}}$ nm (log ϵ): 213,5(4,2) (fig. M-4a).

IR ν_{\max}^{KBr} cm⁻¹: 3.560, 3.480(a), 3.050, 2.960, 2.930, 2.845, 1.690, 1.640, 1.440, 1.385, 1.260, 1.150, 1.070, 1.030, 780, 735, (fig. M-4b).

RMN ¹H (60MHz, CDCl₃): δ 6,80(1H, c(a), J=6Hz, H-3'), 5,63(1H, d(a), J=6Hz, H-16), 5,40(1H, d(a), J=6Hz, H-15), 4,50(1H, s(a), H-14), 3,75(1H, d, J=10,5Hz, H-19a), 3,37(1H, d, J=10,5Hz, H-19b), 1,80(3H, s(a), H-5'), 1,77(3H, d(a), J=6Hz, H-4'), 0,93(6H, s, H-17, H-18), 0,74(3H, s, H-20), (fig. M-4c).

RMN ¹H (200MHz, CDCl₃): δ 6,82(1H, c(a), J=6Hz, H-3'), 5,63(1H, dd, J=6Hz, J=0,9Hz, H-16), 5,43(1H, dd, J=6Hz, J=1,3Hz, H-15), 4,54(1H, dd, J=0,9Hz, J=1,3Hz, H-14), 3,75(1H, d, J=10,5Hz, H-19a), 3,41(1H, d, J=10,5Hz, H-19b), 1,79(3H, s(a), H-5'), 1,78(3H, d(a), J=6Hz, H-4'), 0,94(3H, s, H-18), 0,93(3H, s, H-17), 0,75(3H, s, H-20), (fig. M-4d).

RMN ¹³C (50,3MHz, CDCl₃): δ 168,2(s, C-1'), 136,4

(d,C-3'), 133,5(d,C-16), 132,4(d,C-15), 128,9(s,C-2'), 94,4
 (d,C-14), 65,4(t,C-19), 56,1(d,C-5), 53,2(s,C-8), 52,9(d,
 C-9), 48,3(s,C-13), 39,4(t,C-1), 38,4(s,C-4), 37,3(s,C-10),
 35,6(t,C-3), 31,6*(t,C-7), 32,6*(t,C-12), 27,0(c,C-18),
 19,7**(t,C-6), 19,4**(t,C-11), 19,2(c,C-17), 18,3(t,C-2),
 16,0(c,C-20), 14,2(c,C-4'), 12,0(c,C-5'), (fig. M-4e).

EM, m/z(%): 386[M]⁺(3), 371[M-Me]⁺(2), 356[M-CH₂O]⁺
 (1), 355[M-CH₂OH]⁺(1), 303[M-Tg1]⁺(1), 286[M-Tg1OH]⁺(15),
 273(2), 271(3), 258(3), 255(10), 243(4), 227(2), 147(6),
 146(6), 109(2), 83[Tg1]⁺(100), 55[Tg1-CO]⁺(44), (fig.
 M-4f).

Acetilación de M-4: M-13

Por acetilación con Ac₂O/piridina, de las aguas madre de cristalización de M-4 (0,4 g) se obtuvo una mezcla de sustancias (0,41 g) en la que predominaba el acetato M-13. Esta sustancia se purificó mediante cromatografía en columna sobre silicagel 0,063-0,2 mm (38 g), eluyendo con mezcla de hexano-AcOEt (97:3) y recogiendo 15 fracciones. La reunión de las fracciones 5 - 13 contenía

(*,**) Asignaciones intercambiables



M-13 (0,35 g). Parte de esta sustancia se purificó por cristalización en metanol, dando M-13 (76 mg).

Pf. 86-87°, $[\alpha]_D +17,9^\circ$ (CHCl₃, c 1,0).

IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3.040, 2.960, 2.920, 2.840, 1.730, 1.690, 1.640, 1.445, 1.380, 1.360, 1.260, 1.240, 1.135, 1.050, 1.025, 855, 785, 745, 735, (fig. M-13a).

RMN ¹H (60MHz, CDCl₃): δ 6,83(1H, c(a), J=6Hz, H-3'), 5,66(1H, d(a), J=6Hz, H-16), 5,43(1H, d(a), J=6Hz, H-15), 4,56(1H, s(a), H-14), 4,28(1H, d, J=10,5Hz, H-19a), 3,88(1H, d, J=10,5Hz, H-19b), 2,01(3H, s, H-2"), 1,81(3H, s(a), H-5'), 1,76(3H, d(a), J=6Hz, H-4'), 0,94(6H, s, H-17, H-18), 0,78(3H, s, H-20), (fig. M-13b).

EM, m/z(%): 428[M]⁺(17), 328[M-Tg1OH]⁺(13), 313[328-Me]⁺(3), 300(3), 285(4), 268[328-AcOH]⁺(4), 255(6), 146(11), 132(11), 83[Tg1]⁺(100), 55[Tg1-CO]⁺(47), 44(22), (fig. M-13c).

Hidrólisis de M-13: M-14

M-13 (154 mg) se hidrolizó con KOH/MeOH 5% a reflujo durante 48 h, obteniéndose el diol M-14 (91 mg) que se

purificó por cristalización en benceno.

M-14 se obtuvo también por hidrólisis con KOH/MeOH 5% de M-4 (157 mg). Después de 2 h a reflujo, se comprobó por CCF que se había transformado aproximadamente el 40% del producto inicial, que se separó del diol mediante cromatografía en columna sobre silicagel 0,063-0,2 mm. La elución se realizó con mezcla de hexano-AcOEt (8:2), aislándose M-14 (68 mg).

Pf. 187-189°, $[\alpha]_D +51,4^\circ$ (CHCl₃, c 1,0).

IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3.480, 3.380(a), 2.960, 2.840, 2.760, 1.400, 1.390, 1.340, 1.050, 1.020, 990, 965, 930, 720, 715, (fig. M-14a).

IR $\nu_{\text{max}}^{\text{CCl}_4}$ (5x10⁻³M) cm⁻¹: 3.635(-CH₂OH), 3.580 (>CH-OH...H-C=C), 3.050(=C-H), (fig. M-14b).

RMN ¹H (60MHz, CDCl₃): δ 5,63(1H, d(a), J=6Hz, H-16), 5,41(1H, d(a), J=6Hz, H-15), 3,76(1H, d, J=10,5Hz, H-19a), 3,42(1H, d, J=10,5Hz, H-19b), 2,94(1H, s(a), H-14), 1,03(3H, s, H-17), 0,96(3H, s, H-18), 0,73(3H, s, H-20), (fig. M-14c).

EM, M/z(%): 304 [M]⁺ (55), 289 [M-Me]⁺ (11), 286 [M-H₂O]⁺ (11), 274 [286-Me]⁺ (68), 273 [M-CH₂OH]⁺ (61), 255 (44), 149 (47), 147 (48), 135 (61), 133 (50), 131 (44), 123 (52), 121 (77), 119 (58), 109 (58), 107 (77), 105 (68), 95 (71), 93 (71), 91 (77), 81 (100), 79 (65), 55 (58), 44 (61), 42 (52), (fig. M-14d).

Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

Acido tíglico

Las aguas básicas que quedaron después de la extracción con éter del producto de hidrólisis de M-13, contenían las sales sódicas de los ácidos tíglico y acético, que se encontraban esterificando la sustancia de partida. Estas aguas se concentraron para reducir el volumen, se acidularon con HCl y se extrajeron con éter. La fase etérea se secó con Na₂SO₄ anhidro y se concentró a baja temperatura para impedir la volatilización del ácido tíglico.

M-15 se intentó cristalizar en distintos disolventes, lográndose únicamente cuando se encontraba prácticamente a sequedad, con algunas trazas de éter.

Pf. 64-65°.

IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 2.600-2.400, 1.670, 1.630, 1.420, 1.375, 1.340, 1.285, 1.155, 1.075, 1.015, 925, 860, 780, 730, 640, (fig. M-14f).

RMN ¹H (60MHz, CDCl₃): δ 7,00(1H, c(a), J=6Hz, H-3), 1,91(3H, s(a), H-5), 1,86(3H, d(a), J=6Hz, H-4), (fig. M-14g).



Universitat d'Alacant
 Universidad de Alicante

Hidrogenación de M-13: M-16

M-13 (119 mg) en etanol (10 ml), se hidrogenó manteniendo una fuerte agitación a temperatura ambiente en atmósfera de H₂ y con Ni Raney como catalizador, durante 1,5 h. Finalizada la reacción se decantó el líquido sobrenadante y el residuo se lavó varias veces con MeOH. La disolución se filtró en una pequeña columna con gel de sílice y una vez concentrada dio M-16 (82 mg).

Aceite, $[\alpha]_D -15,4^\circ$ (CHCl₃, c 2,3).

IR $\nu_{\max}^{\text{película}} \text{ cm}^{-1}$: 2.920, 2.840, 1.725(a), 1.450, 1.380, 1.360, 1.230, 1.175, 1.140, 1.070, 1.020, 965, 980, 780, (fig. M-16a).

RMN ¹H (60MHz, CDCl₃): δ 4,45(1H, s, H-14), 4,23(1H, d, J=10,5Hz, H-19a), 3,82(1H, d, J=10,5Hz, H-19b), 2,03(3H, s, H-2"), 1,16(3H, d, J=7Hz, H-5'), 0,92(6H, s, H-17, H-18), 0,90(3H, t, J=7Hz, H-4'), 0,85(3H, s, H-20), (fig. M-16b).

EM, m/z(%): 432[M]⁺(10), 360[M-CHOAc]⁺(24), 331(13), 330[M-C₅H₁₀O₂]⁺(51), 315[330-Me]⁺(10), 271(15), 270(51), 257(23), 255(14), 135(32), 107(36), 105(35), 95(37), 93(40), 91(44), 85(54), 83(100), 82(62), 79(45), 55(42), 43(94), 41(50), (fig. M-16c).





Universitat d'Alacant
 Universidad de Alicante

Hidrólisis de M-16: M-17

M-17 se intentó obtener en primer lugar por hidrógeno-
 nación catalítica con Ni Raney de M-14 (69 mg) según el
 procedimiento general. El producto fué una sustancia muy
 insoluble que se descompuso con extrema facilidad. Por esta
 razón M-17 se preparó por reducción de M-16 (50 mg) con
 LiAlH_4 durante 1,5 h. El producto de la reacción (45 mg)
 se encontraba impurificado por grasas, por lo que se
 limpió en una pequeña columna sobre silicagel 0,063-0,2
 mm, eluyendo con aire a presión con mezcla de hexano-AcOEt
 (9:1), dando M-17 (30 mg), que cristalizó en mezcla de
 hexano-acetona.

Pf. 216-217°, $[\alpha]_D +13,5^\circ$ (EtOH, c 0,8).

IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 3.450(a), 2.960, 2.840, 1.430, 1.370,
 1.360, 1.130, 1.070, 1.000, 960, 925, (fig. M-17a).

IR $\nu_{\text{max}}^{\text{CCl}_4}$ ($5 \times 10^{-3}\text{M}$) cm^{-1} : 3.635(- CH_2OH , $>\text{CHOH}$,
 libres), (fig. M-17b).

RMN ^1H (60MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$): δ 4,06(1H, d, J=10,5Hz, H-19a),
 3,64(1H, d, J=10,5Hz, H-19b), 3,18(1H, s, H-14), 1,23(3H, s,
 H-17), 1,18(3H, s, H-18), 0,98(3H, s, H-20), (fig. M-17c).

RMN ^1H (200MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$): 4,03(1H, d, J=10,6Hz, H-19a),

3,63(1H,d,J=10,6Hz,H-19b), 3,17(1H,s,H-14), 1,23(3H,s,H-17), 1,19(3H,s,H-18), 0,99(3H,s,H-20), (fig. M-17d).

RMN ^{13}C (50,3MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$): δ 91,4(d,C-14), 64,4(t,C-19), 57,1*(d,C-5), 56,7*(d,C-9), 49,5(s,C-8), 44,1(s,C-13), 40,4(t,C-1), 39,2(s,C-4), 39,2(t,C-12), 38,2(s,C-10), 37,2(t,C-7), 36,1(t,C-3), 31,7(d,C-15), 30,0(d,C-16), 28,1(c,C-18), 22,6(c,C-17), 20,4**(t,C-11), 20,3**(t,C-6), 18,7(t,C-2), 16,3(c,C-20), (fig. M-17e).

EM, m/z(%): 306[M] $^+$ (5), 276[M-CH₂O] $^+$ (15), 275[M-CH₂OH] $^+$ (34), 258[276-H₂O] $^+$ (20), 257[275-H₂O] $^+$ (36), 244(6), 175(20), 161(26), 149(22), 135(29), 133(28), 123(54), 121(55), 109(61), 107(55), 105(44), 95(75), 93(78), 91(64), 81(100), 79(73), 77(34), 67(77), 55(86), 45(99), 43(88), 41(78), (fig. M-17f).

(*,**) Asignaciones intercambiables



M-5: ent-3 β -Hidroxi-14 β -tigloiloxi-15-beyeren-19-al

Universitat d'Alacant

Universidad de Alicante

El compuesto M-5 se intentó obtener, purificando la fracción A37, mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice 0,063-0,2 mm, pero en el transcurso de la misma se produjo la autooxidación del compuesto, favorecida por la presencia de SiO₂.

Posteriormente M-5 se aisló de las fracciones D19 - D20 procedentes de la cromatografía de la fracción A38, que fue eluida utilizando aire a presión.

IR $\nu_{\text{max}}^{\text{película}}$ cm⁻¹: 3.480, 3.030, 2.920, 2.840, 2.730, 1.695, 1.640, 1.440, 1.375, 1.340, 1.265, 1.135, 1.070, 1.045, 1.005, 970, 780, 730, (fig. M-5a).

RMN ¹H (60MHz, CDCl₃): δ 9,82(1H,s,H-19), 6,83(1H,c(a),J=6Hz,H-3'), 5,65(1H,d(a),J=6Hz,H-16), 5,46(1H,d(a),J=6Hz,H-15), 4,55(1H,s(a),H-14), 3,13(1H,m,H-3), 1,82(3H,s(a),H-5'), 1,75(3H,d(a),J=6Hz,H-4'), 1,25(3H,s,H-18), 0,93(3H,s,H-17), 0,70(3H,s,H-20), (fig. M-5b).



Universitat d'Alacant

Universidad de Alicante

Reducción de M-5: M-18

Por reducción con NaBH_4 de M-5 (76 mg) por el procedimiento general, se obtuvo el diol M-18 (32 mg).

Posteriormente la reducción con NaBH_4 de las fracciones D10 - D17 y parte de las D18 - D24, dió más M-18 (100 mg).

IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 3.420, 3.030, 2.930, 2.840, 1.695, 1.640, 1.450, 1.375, 1.340, 1.260, 1.130, 1.070, 1.050, 970, 850, 785, 730, (fig. M-18a).

RMN ^1H (60MHz, CDCl_3): δ 6,83(1H, c(a), J=6Hz, H-3'), 5,63(1H, d(a), J=6Hz, H-16), 5,43(1H, d(a), J=6Hz, H-15), 4,52(1H, s(a), H-14), 4,20(1H, d, J=10,5Hz, H-19a), 3,30(1H, d, J=10,5Hz, H-19b), 1,83(3H, s(a), H-5'), 1,76(3H, d(a), J=6Hz, H-4'), 1,20(3H, s, H-18), 0,93(3H, s, H-17), 0,73(3H, s, H-20), (fig. M-18b).

Isopropilidén derivado de M-18: M-19

Una disolución de M-18 (100 mg) en acetona seca (10 ml), se trató con 2,2-dimetoxipropano (6 gotas), y un

cristal de ácido p-toluensulfónico. Al cabo de 1,5 h se dió por finalizada la reacción, añadiendo unos cristales de NaCO_3H , filtrando y concentrando a sequedad. El producto de la reacción M-19 se limpió en una pequeña columna con gel de sílice, eluyendo con hexano-AcOEt (6:4).

IR $\nu_{\text{max}}^{\text{película}}$ cm^{-1} : 3.060, 2.940, 2.860, 1.710, 1.655, 1.460, 1.385, 1.265, 1.230, 1.200, 1.150, 1.080, 1.060, 870, 840, 795, 740, (fig. M-19a).

RMN ^1H (60MHz, CDCl_3): δ 6,83(1H, c(a), J=6Hz, H-3'), 5,68(1H, d(a), J=6Hz, H-16), 5,45(1H, d(a), J=6Hz, H-15), 4,56(1H, s(a), H-14), 4,05(1H, d, J=10,5Hz, H-19a), 3,23(1H, d, J=10,5Hz, H-19b), 1,83(3H, s(a), H-5'), 1,76(3H, d(a), J=6Hz, H-4'), 1,43(3H, s, H-1'), 1,36(3H, s, H-1''), 1,18(3H, s, H-18), 1,00(3H, s, H-17), 0,93(3H, s, H-20), (fig. M-19b).



M-20: Acido ent-3 β -hidroxi-14 β -tigloiloxi-15-beyeren-19-oico

La fracción 5 (727 mg) de la cromatografía de A37, contenía productos de descomposición de M-5. Esta fracción se cromatografió sobre silicagel 0,063-0,2 mm, eluyendo con mezcla benceno-acetona (7:3), aislándose el ácido M-20 (127 mg).

RMN ^1H (60MHz, CDCl_3): δ 6,83(1H, c(a), J=6Hz, H-3'), 5,70(1H, d(a), J=6Hz, H-16), 5,43(1H, d(a), J=6Hz, H-15), 4,53(1H, s(a), H-14), 3,16(1H, m, H-3), 1,80(3H, s(a), H-5'), 1,76(3H, d(a), J=6Hz, H-4'), 1,36(3H, s, H-18), 0,90(3H, s, H-17), 0,70(3H, s, H-20), (fig. M-20a).

Esterificación de M-20: M-21

M-20 (120 mg) se esterificó con CH_2N_2 por el procedimiento general, dando el éster metílico M-21.

IR ν_{max} película cm^{-1} : 3.520, 3.330, 2.940, 2.820, 1.700, 1.640, 1.450, 1.370, 1.260, 1.230, 1.150, 1.050, 1.000, 970, 850, 790, 730, (fig. M-21a).

RMN ^1H (60MHz, CDCl_3): δ 6,83(1H, c(a), J=6Hz, H-3'),
5,66(1H, d(a), J=6Hz, H-16), 5,43(1H, d(a), J=6Hz, H-15), 4,52
(1H, s(a), H-14), 3,66(3H, s, COOMe), 3,20(1H, m, H-3), 1,83
(3H, s(a), H-5'), 1,76(3H, d(a), J=6Hz, H-4'), 1,36(3H, s, H-18),
0,93(3H, s, H-17), 0,60(3H, s, H-21), (fig. M-21b).

La acetilación con Ac_2O /piridina de M-21, dió un compuesto cuyas características espectroscópicas concuerdan con las de M-12.

A-1: Acido ent-atis-16-en-19-oico

Las fracciones de la cromatografía G enriquecidas en A-1 (240 mg) se cristalizaron en metanol, obteniendo el compuesto cristalino puro (85 mg).

Pf. 219°, $[\alpha]_D -69,7^\circ$ (CHCl₃, c 2,0).

IR $\sqrt{\frac{\text{KBr}}{\text{max}}}$ cm⁻¹: 3.600-3.200, 3.060, 2.920, 1.685, 1.650(h), 1.460, 1.440, 1.360, 1.320, 1.265, 1.195, 1.175, 965, 870, 795, 715, (fig. A-1a).

RMN ¹H (60MHz, CDCl₃): δ 4,73(1H, c, J=2Hz, H-17a), 4,56(1H, c, J=2Hz, H-17b), 2,28(1H, m, H-12), 1,26(3H, s, H-18), 0,89(3H, s, H-20), (fig. A-1b).

RMN ¹H (200MHz, CDCl₃): δ 4,74(1H, c, J=2Hz, H-17a), 4,58(1H, c, J=2Hz, H-17b), 2,28(1H, m, H-12), 1,26(3H, s, H-18), 0,91(3H, s, H-20), (fig. A-1c).

RMN ¹³C (50,3MHz, CDCl₃): δ 177,7(s, C-19), 152,7(s, C-16), 104,6(t, C-17), 57,3(d, C-5), 52,3(d, C-9), 48,2(t, C-15), 43,9(s, C-4), 39,7(t, C-1), 39,7(t, C-7), 38,4(s, C-10), 38,0(t, C-3), 36,6(d, C-12), 33,6(s, C-8), 29,0(c, C-18), 28,8* (t, C-14), 28,4*(t, C-13), 27,2(t, C-11), 20,3(t, C-6), 18,8

(*) Asignaciones intercambiables.



(t,C-2), 12,1(c,C-20), (fig. A-1c).

EM, m/z(%): 302[M]⁺(34), 287[M-Me]⁺(74), 259[287-C₂H₄]⁺(19), 257[M-COOH]⁺(19), 241(27), 213(16), 187(10), 175(7), 159(15), 145(15), 131(32), 121(33), 105(52), 91(86), 79(69), 67(46), 55(58), 41(100), 29(35), (fig. A-1d).

Esterificación de A-1: A-6

Las aguas madre de cristalización de A-1 se esterificaron con CH₂N₂, y el producto se purificó por cristalización en metanol dando A-6 (61 mg).

Pf. 125-126°, [α]_D -68,7°(CHCl₃, c 1,5).

IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3.060, 2.920, 2.900, 2.860, 1.715, 1.635, 1.440, 1.235, 1.190, 1.035, 980, 970, 870, 815, (fig. A-6a).

RMN ¹H (60MHz, CDCl₃): δ 4,73(1H, c, J=2Hz, H-17a), 4,56(1H, c, J=2Hz, H-17b), 3,63(3H, s, COOMe), 2,26(1H, m, H-12), 1,16(3H, s, H-18), 0,77(3H, s, H-20), (fig. A-6b).

RMN ¹H (200MHz, CDCl₃): δ 4,70(1H, c, J=2Hz, H-17a), 4,54(1H, c, J=2Hz, H-17b), 3,62(3H, s, COOMe), 2,28(1H, m, H-12), 1,15(3H, s, H-18), 0,76(3H, s, H-20), (Fig. A-6c).

RMN ^{13}C (50,3MHz, CDCl_3): δ 177,7(s, C-19), 152,7(s, C-16), 104,5(t, C-17), 57,2(d, C-5), 52,1(d, C-9), 51,0(c, COOMe), 48,2(t, C-15), 43,8(s, C-4), 39,7(t, C-1), 39,7(t, C-7), 38,2(s, C-10), 38,2(t, C-3), 36,6(d, C-12), 33,4(s, C-8), 28,7(c, C-18), 28,7*(t, C-14), 28,3*(t, C-13), 27,2(t, C-11), 20,3(t, C-6), 18,8(t, C-2), 11,9(c, C-20), (fig. A-6d).

EM, m/z(%): 316[M] $^+$ (79), 301[M-Me] $^+$ (67), 288[M-C₂H₄] $^+$ (4), 273[301-C₂H₄] $^+$ (21), 257[316-COOMe] $^+$ (7), 241(63), 213(20), 201(11), 187(18), 175(14), 159(19), 131(32), 121(54), 105(53), 91(86), 79(70), 67(45), 55(60), 41(81), 29(30), 15(32), (fig. A-6e).

(*) Asignaciones intercambiables.



A-2: Acido ent-15-beyeren-19-oico

Las fracciones de la cromatografía G enriquecidas en A-2 (160 mg), se cristalizaron en metanol dando A-2 puro (34 mg).

Pf. 184°, $[\alpha]_D +7,0^\circ$ (CHCl₃, c 1,8).

IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3.600-3.200, 3.025, 2.935, 2.840, 1.685, 1.580, 1.445, 1.405, 1.370, 1.320, 1.255, 1.190, 970, 930, 850, 790, 750, 740, (fig. A-2a).

RMN ¹H (60MHz, CDCl₃): δ 5,78(1H, d, J=6Hz, H-16), 5,46(1H, d, J=6Hz, H-15), 1,25(3H, s, H-18), 1,00(3H, s, H-17), 0,68(3H, s, H-20), (fig. A-2c).

RMN ¹H (200MHz, CDCl₃): δ 5,76(1H, d, J=5,7Hz, H-16), 5,47(1H, d, J=5,7Hz, H-15), 1,26(3H, s, H-18), 1,01(3H, s, H-17), 0,69(3H, s, H-20), (fig. A-2c).

RMN ¹³C (50,3MHz, CDCl₃): δ 184,3(s, C-19), 136,5(d, C-16), 134,8(d, C-15), 61,1(t, C-14), 57,2(d, C-5), 52,4(d, C-9), 49,2(s, C-8), 43,9(s, C-4), 43,7(s, C-13), 39,6(t, C-1), 38,0(t, C-3), 37,7(t, C-7), 37,7(s, C-10), 33,2(t, C-12), 29,1(c, C-18), 24,9(c, C-17), 21,6(t, C-6), 20,5(t, C-11), 19,3(t, C-2), 13,8(c, C-20), (fig. A-2d).

EM, m/z(%): 302[M]⁺(100), 287[M-Me]⁺(25), 259

[287-C₂H₄]⁺(9), 257[M-COOH]⁺(7), 201(6), 187(11), 159(17), 147(32), 135(85), 122(82), 105(76), 91(80), 79(38), 67(21), 55(29), 41(41), 29(17), (fig. A-2e).

Esterificación de A-2: A-7

Las aguas madre de cristalización de A-2, se esterificaron con CH₂N₂ dando A-7 (70 mg) que cristalizó en metanol.

Pf. 118°, [α]_D +5,0°(CHCl₃, c 1,5).

IR ν_{\max}^{KBr} cm⁻¹: 3.040, 3.020, 2.940, 2.920, 2.860, 2.840, 1.720, 1.440, 1.365, 1.320, 1.230, 1.185, 1.150, 1.090, 1.040, 975, 845, 810, 770, 750, 740, (fig. A-7a).

RMN ¹H (60MHz, Cl₄C): δ 5,70(1H, d, J=6Hz, H-16), 5,40(1H, d, J=6Hz, H-15), 3,58(3H, s, COOMe), 1,13(3H, s, H-18), 0,98(3H, s, H-17), 0,52(3H, s, H-20), (fig. A-7b).

RMN ¹H (60MHz, CDCl₃): δ 5,74(1H, d, J=6Hz, H-16), 5,45(1H, d, J=6Hz, H-15), 3,63(3H, s, COOMe), 1,16(3H, s, H-18), 0,98(3H, s, H-17), 0,55(3H, s, H-20), (fig. A-7c).

RMN ¹H (200MHz, CDCl₃): δ 5,65(1H, d, J=5,7Hz, H-16), 5,38(3H, d, J=5,7Hz, H-15), 3,56(3H, s, COOMe), 1,10(3H, s, H-18),

0,92(3H,s,H-17), 0,49(3H,s,H-20), (fig. A-7d).

RMN ^{13}C (50,3MHz, CDCl_3): δ 177,9(s,C-19), 136,4(d, C-16), 134,7(d,C-15), 61,1(t,C-14), 57,1(d,C-5), 52,3(d, C-9), 51,0(c,COOMe), 49,1(s,C-8), 43,6(s,C-4), 43,6(s, C-13), 39,6(t,C-1), 38,2(t,C-3), 37,7(t,C-7), 37,7(s,C-10), 33,2(t,C-12), 28,9(c,C-18), 24,8(c,C-17), 21,6(t,C-6), 20,4 (t,C-11), 19,3(t,C-2), 13,6(c,C-20), (fig. A-7e).

EM, m/z(%): 316[M] $^+$ (43), 301[M-Me] $^+$ (2), 273[301-C₂H₄] $^+$ (2), 257[M-COOMe] $^+$ (11), 241(5), 229(2), 213(4), 194 (13), 181(13), 159(14), 148(6), 135(61), 121(44), 105(68), 91(87), 79(54), 67(38), 55(61), 41(100), 29(54), 15(67), (fig. A-7f).

Las aguas madre de cristalización de A-7 se redujeron según el procedimiento general con LiAlH_4 , para dar el compuesto M-3 (30 mg).



Universitat d'Alacant

Universitat d'Alacant

A-3: Acido ent-14 β -angeloiloxi-15-beyeren-19-oico

Las fracciones de la cromatografía I enriquecidas en el compuesto A-3 (60 mg) se cristalizaron en metanol dando A-3 puro (25 mg).

Pf. 185°. $[\alpha]_D -18,9^\circ$ (CHCl₃, c 1,6)

IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3.400-2.200, 3.015, 2.920, 2.830, 1.680(a), 1.440, 1.370, 1.255, 1.225, 1.135, 1.040, 850, 780, 725, (fig. A-3a).

RMN ¹H (60MHz, CDCl₃): δ 6,00(1H, c(a), J=7Hz, H-3'), 5,70(1H, d(a), J=6Hz, H-16), 5,40(1H, d(a), J=6Hz, H-15), 4,56(1H, s(a), H-14), 1,94(3H, d(a), J=7Hz, H-4'), 1,85(3H, s(a), H-5'), 1,20(3H, s, H-18), 0,93(3H, s, H-17), 0,67(3H, s, H-20), (fig. A-3b).

RMN ¹H (200MHz, C₃D₆O): δ 6,03(1H, cc, J=7,3Hz, J=1,6Hz, H-3'), 5,72(1H, d(a), J=5,8Hz, H-16), 5,44(1H, d(a), J=5,8Hz, H-15), 4,54(1H, s(a), H-14), 1,93(3H, dd, J=7,3Hz, J=1,6Hz, H-4'), 1,83(3H, qnt, J=1,6Hz, H-5'), 1,19(3H, s, H-18), 0,92(3H, s, H-17), 0,72(3H, s, H-20), (fig. A-3c).

RMN ¹³C (50,3MHz, C₃D₆O): δ 179,0(s, C-19), 168,2(s, C-1'), 137,4(d, C-3'), 134,2(d, C-16), 133,1(d, C-15), 129,5(s, C-2'), 94,8(d, C-14), 56,9(d, C-5), 54,0(s, C-8), 53,1

(d,C-9), 48,9(s,C-13), 44,1(s,C-4), 40,5(t,C-1), 38,8(t,C-3), 38,7(s,C-10), 33,1(t,C-12), 32,4(t,C-7), 29,5(c,C-18), 21,6(t,C-6), 20,9(c,C-5'), 20,5(t,C-11), 20,1(t,C-2), 19,7(c,C-17), 15,9(c,C-4'), 14,6(c,C-20), (fig. A-3d).

EM, m/z(%): 400[M]⁺(1), 317[M-Ang]⁺(1), 300[M-AngOH]⁺(8), 285[300-Me]⁺(3), 272[317-COOH]⁺(3), 257(3), 243(2), 185(2), 173(1), 159(3), 145(4), 133(4), 121(7), 105(10), 83[Ang]⁺(100), 67(8), 55[Ang-CO]⁺(81), 41(18), 29(27), (fig. A-3e).



A-5: Acido ent-18-angeloiloxi-16-kauren-19-oico

Las fracciones I33 - I35, se pusieron a cristalizar en metanol aislándose A-5 (60 mg).

Pf. 154°, $[\alpha]_D -75,7^\circ$ (CHCl₃, c 1,9).

IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3.140, 3.040, 2.960, 2.940, 2.910, 2.840, 1.720, 1.655, 1.645(h), 1.440, 1.380, 1.270, 1.205, 1.170, 1.150, 970, 870, 850, 800, 755, (fig. A-5a).

RMN ¹H (60MHz, CDCl₃): δ 6,10(1H, c(a), J=7Hz, H-3'), 4,76(2H, s(a), H-17), 4,53(1H, d, J=10,5Hz, H-18a), 4,03(1H, d, J=10,5Hz, H-18b), 2,68(1H, s(a), H-13), 2,40(1H, d(a), J=13Hz, H-5), 1,97(3H, d(a), J=7Hz, H-4'), 1,90(3H, s(a), H-5'), 0,98(3H, s, H-20), (fig. A-5b).

RMN ¹H (200MHz, CDCl₃): δ 6,08(1H, cc, J=7,2Hz, J=1,5Hz, H-3'), 4,80(1H, s(a), H-17a), 4,74(1H, s(a), H-17b), 4,51(1H, d, J=10,5Hz, H-18a), 4,03(1H, d, J=10,5Hz, H-18b), 2,64(1H, s(a), H-13), 2,37(1H, d(a), J=13,2Hz, H-5), 1,97(3H, dd, J=7,2Hz, J=1,5Hz, H-4'), 1,86(3H, qnt, J=1,5Hz, H-5'), 0,99(3H, s, H-20), (fig. A-5c).

RMN ¹³C (50,3MHz, CDCl₃): δ 181,7(s, C-19), 167,5(s, C-1'), 155,4(s, C-16), 138,6(d, C-3'), 127,6(s, C-2'), 103,2(t, C-17), 72,0(t, C-18), 55,3(d, C-9), 52,4(d, C-5), 48,9(t,

C-15), 47,8(s,C-4), 44,0(s,C-8), 43,8(d,C-13), 40,8(t,C-7),
40,2*(t,C-1), 39,7(s,C-10), 39,5*(t,C-14), 33,0**(t,C-12),
32,7**(t,C-3), 21,8(t,C-6), 20,4(c,C-5'), 18,4(t,C-11),
18,4(t,C-2), 15,7(c,C-4'), 15,6(c,C-20), (fig. A-5d).

EM, m/z(%): 400[M]⁺(2), 317[M-Ang]⁺(2), 301[M-AngO]⁺
(2), 300[M-AngOH]⁺(23), 285[300-Me]⁺(7), 272[317-COOH]⁺(2),
257[272-Me]⁺(7), 239(4), 211(4), 187(5), 174(10), 159(5),
145(5), 131(7), 119(9), 105(16), 83[Ang]⁺(100), 55[Ang-CO]⁺
(68), 41(17), 29(17), (fig. A-5e).

Esterificación de A-5: A-9

Las aguas madre de cristalización de la sustancia A-5, se trataron con solución etérea de CH₂N₂, aislándose por cristalización en metanol el derivado A-9 (140 mg).

Pf. 109°, [α]_D -82,7°(CHCl₃, c 1,5).

IR $\nu_{\text{KBr max}}$ cm⁻¹: 3.060, 2.980, 2.940, 2.880, 1.720,
1.645, 1.440, 1.375, 1.345, 1.230, 1.190, 1.155, 1.145,
1.040, 880, 850, 755, (fig. A-9a).

(*,**) Asignaciones intercambiables.

RMN ^1H (60MHz, CDCl_3): δ 0,65(1H, C(a), J=7Hz, H-3'), 4,76(2H, s(a), H-17), 4,50(1H, d, J=10,5Hz, H-18a), 4,00(1H, d, J=10,5Hz, H-18b), 3,66(3H, s, COOMe), 1,96(3H, d(a), J=7Hz, H-4'), 1,88(3H, s(a), H-5'), 0,87(3H, s, H-20), (fig. A-9b).

RMN ^1H (200MHz, CDCl_3): δ 6,03(1H, c(a), J=7Hz, H-3'), 4,78(1H, s(a), H-17a), 4,73(1H, s(a), H-17b), 4,46(1H, d, J=10,5Hz, H-18a), 3,99(1H, d, J=10,5Hz, H-18b), 3,66(3H, s, COOMe), 2,60(1H, s(a), H-13), 2,33(1H, d(a), J=13Hz, H-5), 1,95(3H, d(a), J=7Hz, H-4'), 1,85(3H, s(a), H-5'), 0,87(3H, s, H-20), (fig. A-9c).

RMN ^{13}C (50,3MHz, CDCl_3): δ 175,1(s, C-19), 167,5(s, C-1'), 155,5(s, C-16), 138,4(d, C-3'), 127,6(s, C-2'), 103,1(t, C-17), 71,9(t, C-18), 55,2(d, C-9), 52,3(d, C-5), 51,4(c, COOMe), 48,9(t, C-15), 47,8(s, C-4), 43,8(s, C-8), 43,8(d, C-13), 40,8(t, C-7), 40,1*(t, C-1), 39,6*(t, C-14), 39,2(s, C-10), 33,0**(t, C-12), 32,9**(t, C-3), 21,8(t, C-6), 20,5(c, C-5'), 18,5(t, C-2), 18,5(t, C-11), 15,7(c, C-4'), 15,4(c, C-20), (fig. A-9d).

EM, m/z(%): 414[M]⁺(8), 382[M-MeOH]⁺(2), 355[M-COOH]⁺(1), 354[M-COOHMe]⁺(3), 331[M-Ang]⁺(3), 314[M-AngOH]⁺(100), 299[314-Me], 286(6), 271(15), 255(19), 239(14), 227(3), 211(13), 199(5), 187(9), 174(31), 159(9), 145(7), 131(11), 119(11), 105(17), 83(73), 67(10), 55(53), 41(13), 29(11).

(*,**) Asignaciones intercambiables.

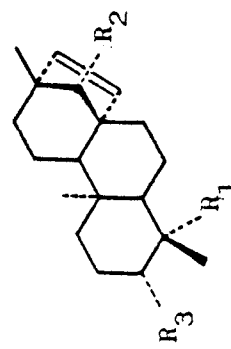


Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

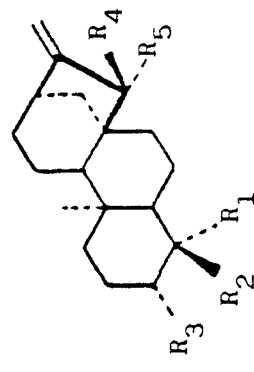
TABLAS



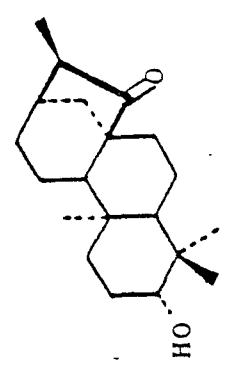
Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante



	R ₁	R ₂	R ₃
12	CH ₃	H	H
13	CH ₂ OH	H	H
14	COOH	H	H
15	COOMe	H	H
16	CH ₂ OH	OTgl	H
17	COOH	OTgl	H
18	COOMe	OTgl	H
19	COOH	OAng	H
20	CHO	OTgl	OAc
21	CHO	OAng	H



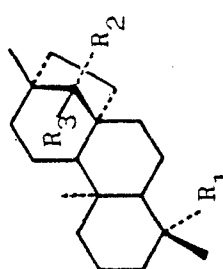
	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅
1	CH ₃	CH ₃	H	H	H
2	CH ₂ OH	CH ₃	H	H	H
3	COOH	CH ₃	H	H	H
4	COOMe	CH ₃	H	H	H
5	CH ₃	CH ₃	OH	OAng	H
6	CH ₃	CH ₃	OH	OH	H
7	COOMe	CH ₃	H	H	OH
8	COOMe	CH ₃	H	OH	H
9	COOH	CH ₂ OAng	H	H	H
10	COOMe	CH ₂ OAng	H	H	H



11

carbono	1	1	2	3	4	4	4	5	6	7	7	8	8	9	10	11
1	40,5	40,5	40,5	41,1	40,8	40,9	38,8	38,8	38,8*	40,9	40,9	40,9	40,9	40,2**	40,1*	37,9.
2	18,9*	18,7*	18,3	19,8	19,5	19,2	27,4	27,4	27,5	19,6	19,2	19,6	19,6	18,4	18,5	27,1
3	42,2	42,1	35,6	38,6	38,2	38,1	78,9	78,9	79,0	38,3	38,1	38,3	38,3	32,7**	32,9**	78,8
4	33,3	33,3	38,7	43,8	43,9	43,9	38,8	38,8	38,8**	44,0	43,9	44,0	44,0	47,8	47,8	38,9
5	56,2**	56,3**	56,8	57,1	56,9	57,2	54,9	54,9	54,6	57,1	57,1	56,7	56,7	52,4	52,3	54,4
6	20,4	20,3	20,5	22,5	22,2	21,9	19,6	19,6	19,7	21,7	21,1	22,2	22,2	21,8	21,8	18,7
7	41,3	41,3	41,6	41,5	41,4	41,4	36,5	36,5	36,5	36,6*	36,3*	36,8	36,8	40,8	40,8	37,5
8	44,3	44,3	44,2	44,4	44,4	44,3	46,0	46,0	45,7	48,2	47,8	46,3	46,3	44,0	43,8	52,5
9	56,1**	56,1**	56,2	55,2	55,1	55,2	48,2	48,2	46,5	54,0	53,5	46,0	46,0	55,3	55,2	52,4
10	39,5	39,4	39,2	39,9	39,6	39,5	39,0	39,0	38,9**	39,9	39,7	39,4	39,4	39,7	39,2	39,4
11	18,3*	18,2*	18,2	18,6	18,6	18,4	17,8	17,8	18,2	18,7	18,3	18,3	18,3	18,4	18,5	18,1
12	33,5	33,3	33,2	33,3	33,3	33,2	33,5	33,5	33,3	33,1	32,6	33,9	33,1	33,0**	33,0**	24,8
13	44,3	44,0	44,0	44,2	44,2	43,9	40,8	40,8	40,2	42,8	42,3	40,7	40,1	43,8	43,8	35,0
14	40,0	39,9	39,7	39,9	39,8	39,7	39,0	39,0	38,9*	36,2*	35,3*	39,4	38,9	39,5*	39,6*	34,3
15	49,4	49,2	49,1	49,2	49,1	49,0	81,2	81,2	82,4	82,6	82,7	82,2	82,5	48,9	48,9	202,3
16	155,8	156,0	155,8	155,7	155,7	155,8	153,9	153,9	158,6	161,1	160,3	159,6	158,4	155,4	155,5	47,8
17	103,4	102,8	103,0	103,5	103,6	103,1	106,3	106,3	104,8	107,8	108,2	104,4	104,7	103,2	103,1	10,1
18	33,7	33,7	27,1	29,3	28,6	28,8	28,4	28,4	28,4	28,7	28,8	28,7	28,7	72,0	71,9	28,2
19	21,7	21,7	65,4	179,9	177,5	178,0	15,6	15,6	15,5	177,7	178,0	177,7	178,0	181,7	175,1	15,4
20	17,7	17,6	18,5	16,0	15,5	15,4	17,8	17,8	17,6	15,9	15,7	15,8	15,5	15,3	15,4	17,8
COOME					51,1	51,1				51,1	51,2	51,1	51,1		51,4	
1'							168,1							167,5	167,5	
2'							128,1							127,6	127,6	
3'							138,1							138,6	138,4	
4'							15,8							15,7	15,7	
5'							20,8							20,4	20,5	
Disolvente	C ₅ D ₅ N	CDCl ₃	C ₅ D ₅ N	C ₅ D ₅ N	C ₅ D ₅ N	CDCl ₃	CDCl ₃	CDCl ₃	CDCl ₃	C ₅ D ₅ N	CDCl ₃	C ₅ D ₅ N	CDCl ₃	CDCl ₃	CDCl ₃	CDCl ₃
Referencias	(42)	(42)	(67)	(42)	(42)	(42)	(T-4)	(42)	(T-8)	(42)	(42)	(42)	(42)	(A-5)	(A-9)	(T-9)

carbone	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
1	39,3	39,3	39,6	39,6	39,4	40,4	39,6	40,5	36,6	38,9
2	18,7	18,3	19,3	19,3	18,3	20,0	19,2	20,1	24,1	18,4
3	42,2	35,6	38,0	38,2	35,6	38,6	38,0	38,8	78,6	34,2
4	33,3	38,5	43,9	43,6	38,4	44,0	43,8	44,1	51,8	48,2
5	56,1	56,9	57,2	57,1	56,1	56,9	56,3	56,9	56,9	56,0
6	20,3*	20,4*	21,6	21,6	19,7*	21,5	20,7	21,6	20,2	19,9
7	37,4	37,7	37,7	37,7	31,6**	32,3	31,4	32,4	31,0	31,4
8	49,1	49,1	49,2	49,1	53,2	54,0	53,3	54,0	52,8	52,9
9	53,0	53,0	52,4	52,3	52,9	53,0	52,1	53,1	51,3	51,6
10	37,4	37,3	37,7	37,7	37,3	38,8	37,7	38,7	37,0	37,6
11	20,5*	20,2*	20,5	20,4	19,4*	20,5	19,7	20,5	19,3	18,8
12	33,7	33,2	33,2	33,2	32,6**	33,1	32,4	33,1	32,3	32,3
13	43,6	43,7	43,7	43,6	48,3	48,9	48,2	48,9	48,3	48,2
14	61,3	61,2	61,1	61,1	94,4	94,9	94,3	94,8	94,1	94,1
15	135,2	135,1	134,6	134,7	132,4	132,9	132,0	133,1	131,8	131,9
16	136,1	136,5	136,5	136,4	133,5	134,1	133,5	134,2	134,1	133,9
17	25,0	24,9	24,9	24,8	19,2	19,6	19,2	19,7	19,2	19,3
18	33,8	27,0	29,1	28,9	27,0	29,4	28,8	29,5	20,2	24,4
19	22,0	65,6	184,3	177,9	65,4	179,1	177,9	179,0	204,4	205,6
20	15,1	15,8	13,8	13,6	16,0	14,6	13,9	14,6	16,3	14,8
COOMe				51,0			51,1			
1'					168,2	168,1	168,3	168,2	168,3	168,3
2'					128,9	129,6	128,8	129,5	128,8	128,3
3'					136,4	136,9	136,6	137,4	136,9	137,2
4'					14,2	14,2	14,2	15,9	14,3	15,8
5'					12,0	12,2	12,0	20,9	12,1	20,6
CH ₃ CO									170,4	
CH ₃ CO									21,0	
Disolvente	CDCl ₃	CDCl ₃	CDCl ₃	CDCl ₃	CDCl ₃	C ₃ D ₆ O	CDCl ₃	C ₃ D ₆ O	CDCl ₃	CDCl ₃
Referencias	(41)	(M-3)	(A-2)	(A-7)	(M-4)	(A-4)	(A-8)	(A-3)	(M-2)	(M-1)

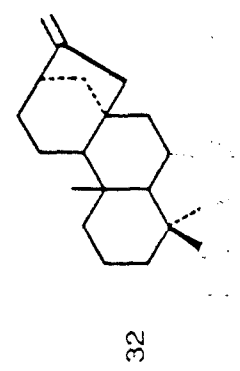
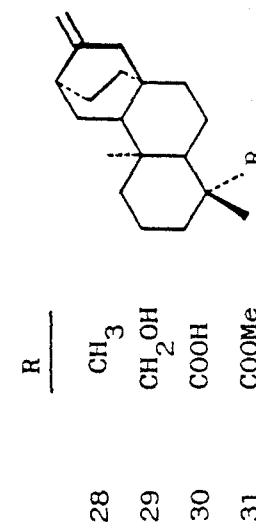


	R ₁	R ₂	R ₃
22	CH ₃	H	H
23	CH ₃	H	OH
24	CH ₂ OH	H	OH
25	CH ₂ OH	OH	H
26	CH ₃	=O	
27	COOMe	=O	

carbono	22	23	24	25	26	27
1	39,7	39,7	40,3	40,4	40,0	40,3
2	18,5	18,5	18,7	18,7	18,3	19,0
3	42,0	42,0	36,2	36,1	41,8	37,9
4	33,1	33,2	39,2	39,2	33,1	43,8
5	56,5	56,0	57,0	57,1**	55,1	56,0
6	20,4*	19,2	20,2*	20,3*	18,6	20,2
7	41,2**	38,5	39,5	37,2	32,2	32,6
8	44,9	45,3	45,9	49,5	51,2	51,1
9	56,9	46,8	47,1	56,7**	60,2	59,3
10	37,6	37,3	37,6	38,2	38,9	39,1
11	20,2*	19,9	20,6*	20,4*	19,1	19,5
12	40,0**	32,4	32,9	39,2	42,2	42,1
13	39,2	40,1	40,6	44,1	46,8	46,8
14	57,7	83,8	83,3	91,4	222,7	222,7
15	37,6	31,9	32,6	31,7	30,3	30,3
16	33,6	29,6	30,0	30,0	27,8	27,4
17	27,1	25,1	25,7	22,6	19,6	19,5
18	33,7	33,6	28,0	28,1	33,6	28,9
19	21,9	22,0	64,4	64,4	21,3	177,8
20	15,1	15,5	16,3	16,3	15,4	13,7
COOMe						51,1
Dieluyente	CDCl ₃	CDCl ₃	C ₅ D ₅ N	C ₅ D ₅ N	CDCl ₃	CDCl ₃
Referencias	(44)	(44)	(M-10)	(M-17)	(44)	(M-9)



carbono	28	29	30	31	31	32
1	39,6*	39,9*	39,7	39,6	39,7	39,5
2	18,2	17,8	18,8	18,8	18,8	18,5
3	42,3	35,8	38,0	38,2	38,2	42,0
4	33,1	37,6	43,9	43,8	43,8	33,2
5	56,4	57,0	57,3	57,1	57,2	56,6
6	18,8	19,0	20,3	20,2	20,3	20,3
7	39,5*	39,5*	39,7	39,6	39,7	41,1
8	33,5	33,5	33,6	33,3	33,4	43,7
9	52,9	53,0	52,3	52,0	52,1	57,0
10	37,8	38,4	38,4	38,2	38,2	37,9
11	28,7	28,6**	27,2	27,2	27,2	19,0
12	36,6	36,5	36,6	36,5	36,6	34,0
13	28,7**	28,8**	28,4*	28,2*	28,3*	42,7
14	27,4**	27,3**	28,8*	28,7*	28,7*	50,4
15	48,4	48,1	48,2	48,1	48,2	41,5
16	152,7	152,5	152,7	152,5	152,7	157,9
17	104,2	104,3	104,6	104,3	104,5	102,4
18	33,7	26,8	29,0	28,7	28,7	33,7
19	21,7	65,6	177,7	177,7	177,7	21,9
20	13,9	14,5	12,1	11,9	11,9	15,1
COOMe				51,1	51,0	
Disolvente	CDCl ₃	CDCl ₃	CDCl ₃	CDCl ₃	CDCl ₃	CDCl ₃
Referencias	(43)	(43)	(A-1)	(39)	(A-6)	(44)





Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

CONCLUSIONES



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

En el presente trabajo, se ha realizado un estudio fitoquímico de las raíces de *Elaeoselinum tenuifolium* (Lag) Lange y *Elaeoselinum asclepium* (L) subs. *meoides*, especies pertenecientes a la familia de las Umbelíferas y endémicas de la zona sur mediterránea.

Los componentes mayoritarios de los extractos, se han aislado mediante el empleo de distintas técnicas cromatográficas y/o cristalizaciones. La determinación estructural de cada una de las sustancias, se ha realizado basándonos en sus características espectroscópicas (IR, RMN ^1H , RMN ^{13}C , UV, DC y EM) y en transformaciones y correlaciones químicas con sustancias conocidas.

Podemos resumir el estudio en las siguientes conclusiones:

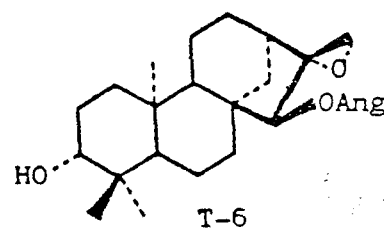
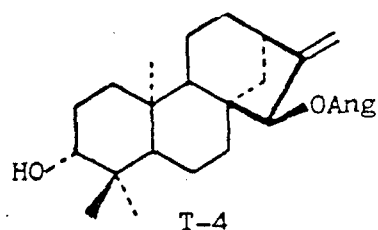
1ª. El extracto bencénico de las raíces de *Elaeoselinum tenuifolium*, representa el 4% en peso de raíces secas. La parte soluble en metanol del extracto bencénico se sometió a un fraccionamiento con bases. La

parte ácida (no estudiada), corresponde al 10% del peso de extracto bruto y presenta predominio de ácidos grasos.

De la parte neutra que representa el 61% del peso del extracto bencénico, se aislaron e identificaron los componentes T-1 a T-6.

2ª. La sustancia más abundante del extracto neutro (aprox. 20% extracto bruto), se identificó como ent-15 α -angeloiloxi-16-kauren-3 β -ol (T-4) y no está descrita en la bibliografía. La estructura propuesta, deducida principalmente de los espectros IR, RMN ^1H y RMN ^{13}C , así como de la reactividad del hidroxilo en C-15, se confirmó por vía química mediante transformación en las sustancias ent-(16S)-kauran-15-ona y ent-(16S)-kauran-15 α -ol, descritas anteriormente.

Otra sustancia relativamente abundante (aprox. 8% extracto bruto) que tampoco se encuentra descrita en la bibliografía, se le asignó la estructura de ent-15 α -angeloiloxi-16 β ,17-epoxikauran-3 β -ol (T-6) y fue sintetizada a partir de T-4 por epoxidación.



3ª. Entre los componentes menos polares se aislaron los compuestos 2-isopropil-4-metilanisol (T-1), timoquinol dimetiléter (T-2) y apiol (T-3). Con Rf próximo a T-4, se purificó una sustancia identificada como β -sistosterol (T-5). Las características espectroscópicas y restantes constantes físicas de todos ellos concuerdan con las descritas en la bibliografía.

4ª. El extracto bencénico de las raíces de Elaeoselinum asclepium representa el 5% en peso de planta seca. Por fraccionamiento con bases, dio una parte ácida, 46% extracto bruto, y una parte neutra, 38% extracto bruto.

5ª. A los componentes neutros de Elaeoselinum asclepium se les asignaron las siguientes estructuras:

M-1: ent-14 β -Angeloiloxi-15-beyeren-19-al

M-1: ent-14 β -Tigloiloxi-15-beyeren-19-al

M-2: ent-3 β -Acetoxi-14 β -tigloiloxi-15-beyeren-19-al

M-3: ent-15-Beyeren-19-ol

M-4: ent-14 β -Tigloiloxi-15-beyeren-19-ol

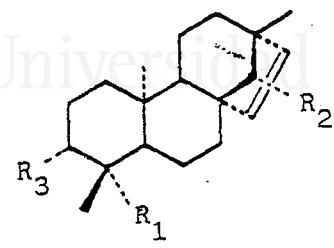
M-5: ent-3 β -Hidroxi-14 β -tigloiloxi-15-beyeren-19-al

Excepto el erithroxylol A (M-3), las restantes sustancias se describen por primera vez en este trabajo.



Universitat d'Alacant
 Universitat de Alicante

	R_1	R_2	R_3
M-1'	CHO	OAng	H
M-1	CHO	OTgl	H
M-2	CHO	OTgl	OAc
M-3	CH ₂ OH	H	H
M-4	CH ₂ OH	OTgl	H
M-5	CHO	OTgl	OH

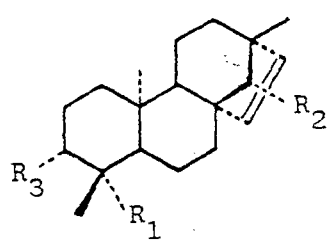


6ª. Los componentes con grupos aldehído axial, sufrieron transformaciones químicas durante los procesos de aislamiento. Estas sustancias por autooxidación se transforman en primer lugar en ácidos y posteriormente por descarboxilación seguida de oxidación en C-4, dan los correspondientes hidroperóxidos.

Entre los productos de transformación se aislaron los mayoritarios, a los que se les asignaron las estructuras siguientes:

- M-6: ent-14β-Tigloiloxi-4β-hidroperoxi-19-norbeyer-15-eno
- A-4: Acido ent-14β-tigloiloxi-15-beyeren-19-oico
- M-11: Acido ent-3β-acetoxi-14β-tigloiloxi-15-beyeren-19-oico
- M-20: Acido ent-3β-hidroxi-14β-tigloiloxi-15-beyeren-19-oico

	R_1	R_2	R_3
M-6	OOH	OTgl	H
A-4	COOH	OTgl	H
M-11	COOH	OTgl	OAc
M-20	COOH	OTgl	OH





Universitat d'Alacant
 Universidad de Alicante

7ª. Los componentes de la parte ácida de Elaeoselinum asclepium se identificaron como:

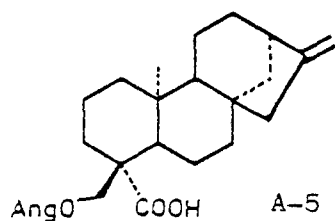
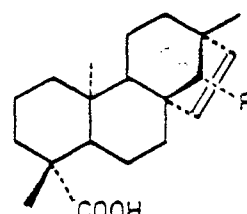
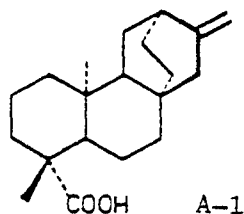
A-1: Acido ent-16-atisen-19-oico

A-2: Acido ent-15-beyeren-19-oico

A-3: Acido ent-14 β -angeloiloxi-15-beyeren-19-oico

A-4: Acido ent-14 β -tigloiloxi-15-beyeren-19-oico

A-5: Acido ent-18-angeloiloxi-16-kauren-19-oico



A-2 R= H
 A-3 R= OAng
 A-4 R= OTgl

Ninguno de estos ácidos se ha encontrado descrito como tal en la bibliografía, si bien los compuestos A-1, A-2 y A-5 se han aislado anteriormente en forma de ésteres metílicos.

8ª. Las estructuras de las sustancias nuevas de Elaeoselinum asclepium, se han confirmado mediante

transformaciones químicas entre ellas mismas y en el compuesto ent-beyeran-14,19-diol, sustancia enantiómera de la descrita en la bibliografía, sintetizada a partir de agatadiol.

9ª. Se han estudiado los espectros de RMN ^{13}C de 19 sustancias correspondientes a derivados con esqueletos de kaurano (5), atisano (2) y beyerano (12) y se han realizado las asignaciones teniendo en cuenta los datos bibliográficos y los efectos de los distintos sustituyentes. Se ha obtenido así un conjunto de datos que presentan gran consistencia lo cual, además de constituir una prueba de las estructuras propuestas, permite ampliar el número de sustancias de referencia disponibles.

10ª. En esta memoria se han descrito y caracterizado 40 sustancias de las que no hemos encontrado referencias bibliográficas. De ellas 13 son productos naturales nuevos y es la primera vez que se aislan derivados con esqueleto de beyerano en la familia Umbelliferae.



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

BIBLIOGRAFIA

1. P. Torres Campello. Tesis de Licenciatura. Universidad de Alicante (1.982).
2. B. Mancheño Magán. Tesis de Licenciatura. Universidad de Alicante (1.982).
3. M.T. Aguado Jiménez. Tesis de Licenciatura. Universidad de Alicante (1.983).
4. E. Olcina Aragonés. Tesis de Licenciatura. Universidad de Alicante (1.983).
5. A. Cuenca Catalán. Tesis de Licenciatura. Universidad de Murcia (1.984).
6. A. Rigual Magallón. "Flora y vegetación de la provincia de Alicante". Tesis doctoral. I.E.A., Excma. Diputación Provincial de Alicante. 2ª ed. (1.985).
7. T.G. Tutin et al. Ed. "Flora Europea". Cambridge University Press. Cambridge, Vol. 2 (1.968).
8. V.H. Heywood. "The Biology chemistry of the Umbelliferae". Academic Press. London (1971).
9. F.J. Evans y R.J. Schmidt. Planta med., 38, 289 (1980).
10. E. Rodríguez, G.H.N. Towers y J.C. Mitchell. Phytochemistry, 15, 1573 (1.976).
11. P. Font Quer. "Plantas medicinales. El Dioscorides renovado". Labor. Barcelona (1.973).
12. J. Sintés Pros. "Cúrate con las plantas medicinales". Sintés S.A. 2ª Edición. Barcelona (1.981).
13. R.D. Gibbs. "Chemotaxonomy of flowering plants". McGill Queen's University Press. London (1.974).
14. R. Hegnauer. "Chemotaxonomie der Pflazen". Vol. 6. Birkhauser Verlag, Suttgart (1.973).

15. F. Bohlmann y C. Zdero. Chem. Ber., 107, 1416 (1.974).
16. J. de Pascual, C. Grande, J.R. Moran y M. Grande. Chem. Lett., 247 (1.984).
17. M. Pinar, B. Rodríguez y A. Alemany, Phytochemistry, 17, 1637 (1.978).
18. B. Rodríguez y M. Pinar, Phytochemistry, 18, 891 (1.974).
19. B. Rodríguez y M. Pinar, An. Quim., 75, 936 (1.979).
20. M. Pinar, Phytochemistry, 23, 2075 (1.984).
21. A.G. González, R.J. Cardona, M. López, J.M. Medina y F. Rodríguez Luís. Rev. R. Acad. Cien. Exactas, Fis. Nat., 70, 109 (1.976).
22. R.D.H. Murray, Fortsch. Chem. Org. Naturstoffe, 35, 199 (1.978).
23. M. Grande, M.T. Aguado, B. Mancheño, F. Piera, Phytochemistry, 25, en prensa (1.986).
24. J. de Pascual Teresa, M.A. Villaseo, J.M. Hernández, J.R. Morán y M. Grande, Planta med., (remitido).
25. J. Mann. "Secondary Metabolism". Oxford University Press, Oxford (1.978).
26. T.A. Geissman y D.H.G. Crout. "Organic Chemistry of Secondary Plant Metabolism". Freeman, Cooper & Co., San Francisco (1.969).
27. K. Nakanishi, T. Goto, S. Ito, S. Natori y S. Nozoe. "Natural Products Chemistry". Academic Press, New York, Vol. 1 (1.974).
28. E. Pretsch, T. Clerk, J. Seibl, W. Simon. "Tablas para la elucidación estructural de compuestos orgánicos por métodos espectroscópicos". Alhambra, Madrid, (1.979).

29. D.H. Williams e I. Fleming. "spectroscopic Methods in Organic Chemistry". 3ª ed., McGraw-Hill. Londres (1.980).
30. R.T. Conley. "Espectroscopia Infrarroja". Alhambra, Madrid (1.979).
31. J.B. Lambert, H.F. Shurvell, L. Verbit, R.G. Cooks y G.H. Stout. "Organic Structural Analysis". McMillan Publishing Co., Inc. New York (1.976).
32. L.M. Jackman y S. Sternhell. "Applications of N.M.R. in Organic Chemistry". Pergamon Press. 2ª ed. Londres (1.969).
33. A.I. Scott. "Interpretation of the Ultraviolet Spectra of Natural Products". Pergamon Press. Oxford (1.964).
34. J. Seibl. "Espectrometría de masas". Alhambra, Madrid (1.973).
35. P. Joseph-Nathan, J.R. Wesener and H. Guenther, Org. Magn. Reson., 22, 190 (1.984).
36. F. Bohlmann and C. Zdero, Chem Ber., 109, 1.670 (1.976).
37. C.J. Ponchert y R. Campbell. "The Aldrich Library of N.M.R. Spectra". Aldrich Chemical Company. Milwaukee, Vol. 2 (1.974).
38. B. Rodríguez y M. Pinar, An. Quím., 75, 936 (1.979).
39. M. Pinar, B. Rodríguez y A. Alemany. Phytochemistry, 17, 1637 (1.978).
40. F.W. Wehrli y T. Nishida, Fortsch. Chem. Org. Naturstoffe, 36, 64 (1.979).
41. C. Von Carstenn-Lichterfelde, C. Pascual, R.M. Rabanal, B. Rodríguez y S. Valverde, Tetrahedron, 33, 1989 (1.977).

42. K. Yamasaki, H. Khoda, T. Kobayashi, R. Kasai y O. Tanaka, Tetrahedron Lett., 1005 (1.976).
43. B. Rodríguez, A. Alemany y M. Pinar, Tetrahedron Lett., 3069 (1.978).
44. D. Do Kahc Manh, M. Fetizon y S. Lazare, Tetrahedron Lett., 2371 (1.981).
45. J.S. Glasby. "Enciclopedia of the Terpenoids". John Wiley & Sons. Londres (1.980).
46. R.M. Carman, Aust. J. Chem., 16, 1104 (1.963).
47. J.A. Pinto del Rey. "Componentes del *Cistus Albidus* L.". Tesis doctoral. Universidad de Salamanca (1.976).
48. J.M. Lehn y G. Ourisson, Bull. Soc. Chim. France., 1137 (1962).
49. J.K.M. Sanders y D.H. Williams, Nature, 240, 15 (1.972).
50. S. Ito, M. Kodama, M. Sunagawa y T. Oba, Tetrahedron Lett. 2905 (1.969).
51. S. Ito, M. Kodama y M. Sunagawa, Tetrahedron Lett. 3989 (1.967).
52. E. Wenkert, G.V. Baddeley, I.R. Burfitt y L.N. Moreno, Org. Magn Reson., 11, 7 (1.978).
53. M.F. Barnes y J. McMillan, J. Chem. Soc.(C)., 361 (1.967).
54. H. Krieger, K. Manninen y J. Paasivirta, Soumen Kemistilehts, 39B, 8 (1.966). Chem. Abs., 64, 17441c (1.966).
55. W. Moffit, R.B. Woodward, A. Moscowitz, W. Klyne, C. Djerassi, J. Am. Chem. Soc., 83 (1.961).

56. J. McMillan, E.R.H. Walker, J. Chem. Soc., 986 (1.972).
57. A. Matsuo, J. Kodoma, M. Nakayama y S. Hayashi, Phytochemistry, 16, 489 (1.977).
58. J.R. Cannon, P.W. Chow, P.R. Jefferies y G.V Meehan, Aust. J. Chem., 19, 861 (1.966).
59. J.A. Steele, J. Org. Chem., 28, 572 (1.963).
60. P. Basabe. "Flavonoides del *Cistus ladaniferus* L.". Tesis doctoral. Universidad de Salamanca. (1.979).
61. F. Bohlman, K.H. Knoll, C. Zdero, P.K. Mahanta, M. Grenz, A. Suwita, D. Ehlers, N. Le Van, W.R. Abraham y A.A. Natu, Phytochemistry, 16, 965 (1.977).
62. R.J. Park and M.D. Sutherland, Aust. J. Chem., 22, 495 (1.969).
63. O.B. Von Heinz y K. Thiele, Helv. Chim. Acta, 61, 6, (1.978).
64. A. Gaudemer, M^{me} J. Polonsky y E. Wenkert, Bull. Soc. Chim. Fr., 407 (1.964).
65. E.I. Snyder y B. Franzus, J. Am. Chem. Soc., 86, 1166 (1.964).
66. P. Laszlo y R. Von Schleyer, J. Am. Chem. Soc., 86, 1171 (1.964).
67. I. Wahlberg, C.R. Enzell y J.W. Rowe, Phytochemistry, 14, 1677 (1.975).
68. O.E. Edwards y R.S. Rosich, Can. J. Chem., 46, 1113 (1.968).
69. R.M. Rabanal, B. Rodríguez y S. Valverde, Experientia, 30, 977 (1.974).

70. S. Bory y M. Fetizon, Bull. Soc. Chim. Fr., 570 (1.964).
71. O. Tanaka, S. Nihashi, I. Yanagisama, T. Nikaido y S. Shibata, Tetrahedron, 28, 4523 (1.972).
72. R. Caputo, L. Mangoni, L. Revitere y R. Iaccanino, Tetrahedron Lett., 3731 (1.971).
73. D. Do Khac Manh, J. Bastard y M. Fetizon, J. Nat. Prod., 46, 262 (1983).
74. N.S. Bhacca y H. Williams. "Applications of NMR Spectroscopy in Organic Chemistry". Holden-Day, Inc. (1.964).
75. R. McCrindle, A. Martin, R.D.H. Murray, J. Chem. Soc. (C) 2349 (1.968).
76. K.M. Baker, Lindsay H. Briggs, J.G. St.C. Buchanan, R.C. Cambie, B.R. Davis, R.C. Hayward, G.A.S. Long y P.S. Rutledge, J.C.S. Perkin I, 194 (1.972).
77. F. Bohlmann y L.V. Ngo., Chem. Ber., 109, 1446 (1.976).
78. A.G. González, B.M. Fraga, M.G. Hernández y J. R. Hanson, Phytochemistry, 20, 846 (1.981).
79. D.F. Taber, J. Org. Chem., 47, 1351 (1.982).
80. T.J. Boer y H.J. Backer, Rec. Trav. Chim. Pays Bas, 73, 229 (1.954).
81. E.J. Corey y J.W. Suggs, Tetrahedron Lett., 2647 (1.975).
82. Yu-Shia Cheng, Weng-Liang Liu y Shu-hsia Chen, Synthesis, 223 (1.980).

83. A. Vogel. "Textbook of practical organic chemistry".
4th ed., pág. 303. Longman, London (1.978).
84. Huang-Minlon, J. Am. Chem. Soc., 71, 3301 (1.949).
85. P. Kocovsky y V. Cerny, Collect. Czech. Chem. Commun.,
44, 246 (1.979).
86. W. Kline, D.N. Kirk. en "Fundamental Aspects and
Recent Developments in ORD and CD" (F. Ciardelli and
P. Salvadori, Eds.) pag. 99. Heyden & Sons, Londres,
1.973.



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

INDICE



PARTE TEORICA

Universitat d'Alacant
 Universidad de Alicante

INTRODUCCION.....6

Características químicas de las Umbelíferas.....10

Biogénesis de diterpenos tetracíclicos.....23

ELAEOSELINUM TENUIFOLIUM.....26

Extracción y fraccionamiento.....27

T-4: ent-15 α -Angeloiloxi-16-kauren-3 β -ol.....29

Acetato T-7.....53

Diol T-8.....54

Cetona T-9.....55

Correlación de T-4 con T-11 y T-19.....67

Cetona T-10.....68

Alcohol T-11.....69

Acetato T-12.....70

Tosilato T-14.....72

Compuesto T-15.....73

Alcohol T-16.....74

Cetona T-17.....75

Cetona T-18.....76

Cetona T-19.....77

T-5: β -Sitosterol.....96

T-6: ent-15 α -Angeloiloxi-16 β ,17-epoxikauran-3 β -ol.....98

Acetato T-20.....100

T-1: 2-Isopropil-4-metilanisol.....104

T-2: Timoquinol dimetiléter.....	114
T-3: Apiol.....	119
<u>ELAEOSELINUM ASCLEPIUM</u>	125
Extracción y-fraccionamiento.....	126
M-4: <u>ent</u> -14 β -Tigloiloxi-15-beyeren-19-ol.....	129
Aislamiento de M-1, M-1' y productos de transformación..	145
A-4: <u>ent</u> -14 β -Tigloiloxi-15-beyeren-19-oico.....	145
Ester metílico A-8.....	149
M-6: <u>ent</u> -14 β -Tigloiloxi-4 β -hidroperoxi-19-norbeyer- 15-eno.....	157
M-1: <u>ent</u> -14 β -Tigloiloxi-15-beyeren-19-al y M-1': <u>ent</u> -14 β -Angeloiloxi-15-beyeren-19-al.....	164
Síntesis de los dioles epímeros M-10 y M-17.....	174
Acetato M-13.....	175
Diol M-14.....	176
Acetato hidrogenado M-16.....	178
Diol M-17.....	179
Transformación de A-4 en el diol T-10.....	193
Acetato hidrogenado M-7.....	193
Alcohol M-8.....	194
Cetona M-9.....	194
Diol M-10.....	198
M-2: <u>ent</u> -3 β -Acetoxi-14 β -tigloiloxi-15-beyeren-19-al.....	213
M-3: <u>ent</u> -15-Beyeren-19-ol.....	225
M-5: <u>ent</u> -3 β -Hidroxi-14 β -tigloiloxi-15-beyeren-19-al.....	231
A-1: Acido <u>ent</u> -16-atisen-19-oico.....	239

A-2: Acido <u>ent</u> -15-beyeren-19-oico.....	249
A-3: Acido <u>ent</u> -14 β -angeloiloxi-15-beyeren-19-oico.....	262
A-5: Acido <u>ent</u> -18-angeloiloxi-16-kauren-19-oico.....	268

PARTE EXPERIMENTAL

INSTRUMENTACION.....	282
CROMATOGRAFIA.....	284
REACCIONES GENERALES MAS UTILIZADAS.....	287
<u>ELAEOSELINUM TENUIFOLIUM</u>	291
Descripción de la planta.....	292
Extracción y fraccionamiento.....	294
Cromatografía A.....	297
Cromatografía B.....	298
Cromatografía C.....	299
T-1.....	300
Eter metílico de timol.....	301
T-2.....	302
T-3.....	303
T-4 y derivados.....	304
T-5.....	322
T-6.....	323
<u>ELAEOSELINUM ASCLEPIUM</u>	325
Descripción de la planta.....	326

Extracción y fraccionamiento.....	329
Aislamiento de M-1', M-2, M-3, M-4, M-5 y derivados.....	333
Aislamiento de A-1, A-2, A-3, A-4 y A-5.....	340
M-1'.....	344
M-1.....	346
M-6.....	348
A-4 y derivados.....	350
M-2 y derivados.....	358
M-3.....	362
M-4 y derivados.....	364
M-5 y derivados.....	372
A-1.....	377
A-2.....	380
A-3.....	383
A-5.....	385
TABLAS RMN ¹³ C.....	388
CONCLUSIONES.....	394
BIBLIOGRAFIA.....	401

