

DOS NUEVAS CETONAS SESQUITERPENICAS AISLADAS
DE *LAURENCIA OBTUSA*

P. Caballero Ortega

Dpto. Biología, Facultad de Ciencias del Mar. ULPGC.
Las Palmas de Gran Canaria

RESUMEN

A partir del alga roja *Laurencia obtusa* se han aislado dos sesquiterpenos bromoclorados con esqueleto de chamigreno. La estructura de estos nuevos compuestos se determinó por métodos espectroscópicos.

ABSTRACT

Two new bromochlorinated sesquiterpenes with a chamigrene skeleton were isolated from the red seaweed *Laurencia obtusa*. The structures of the new compounds were elucidated by spectroscopic methods.

INTRODUCCION

Las algas marinas del género *Laurencia* están ampliamente distribuidas en las Islas Canarias. Estas algas son una rica fuente de sesquiterpenos polihalogenados con diferentes tipos de esqueletos. Se ha postulado, repetidamente, que esta variedad estructural debe su origen a reagrupamientos particulares del precursor de chamigreno o bisabolano. Sin embargo, el número de metabolitos con un esqueleto de chamigreno, aislados de especies de *Laurencia*, es más pequeño que los aislados con un esqueleto de chamigreno reagrupado (Martín y Darías, 1978; Erickson, 1983; Faulkner, 1984, 1986, 1987). En este artículo se da cuenta del aislamiento, a partir de la especie *Laurencia obtusa*

da cuenta del aislamiento, a partir de la especie *Laurencia obtusa* (Hudson) Lamoroux, y de la elucidación estructural, por métodos espectroscópicos, de dos nuevas cetonas sesquiterpénicas bromocloradas con un esqueleto de chamigreno (**3** y **4**) que están biogenéticamente relacionados con los metabolitos mayoritarios, obtusol (**1**) e isoobtusol (**2**), presentes en esta especie y aislados con anterioridad (González *et al.*, 1976, 1979a).

MATERIAL Y METODOS

Los puntos de fusión (p.f.) se determinaron en un KOFLEER y están sin corregir. La determinación de las actividades ópticas se hicieron en polarímetros PERKIN-ELEMER, modelo 241, a 25°C, usando la línea D del sodio y en disolución de CHCl_3 con una célula de 10 cm. Los espectros de infrarrojo se realizaron en un espectrofotómetro PERKIN-ELMER, modelo 257, usando el producto neto en film, en disolución de CHCl_3 en células de NaCl de 0.1 mm. Los espectros de masas se determinaron en un espectrómetro HEWLETT-PACKARD, modelo 5930A. Los espectros de resonancia magnética nuclear de ^{13}C y ^1H se hicieron en un espectrógrafo BRUKER, modelo WP-2000SY, a 200 MHz, en CDCl_3 ; los desplazamientos están en ppm. respecto al TMS. Los espectros ultravioleta-visible se realizaron en un espectrofotómetro PERKIN-ELMER, modelo 402, en disolución de etanol absoluto en células de 1 cm.

Las cromatografías en capa fina (CCF), analíticas y preparativas, fueron hechas con sílica gel comercial (Schleicher & Schüll, tipo F1500/LS254); los compuestos fueron detectados por luz UV o por revelado con una solución de H_2SO_4 -HOAc- H_2O (1:20:4) seguido por calentamiento a 120°. Las cromatografías en columna seca se hicieron usando sílica gel (60 G ó 60, 70-230 mesh); las cromatografías de fraccionamiento en gel se llevaron a cabo con Sephadex LH-20; las cromatografías húmedas en columna se desarrollaron en sílica gel usando una bomba peristáltica (FLUID METERING ING., modelo RP-SY). Todos los solventes usados fueron purificados por técnicas estándares. El Na_2SO_4 fue utilizado para secar las soluciones.

Material. Los ejemplares de la especie *Laurencia obtusa* fueron recolectados en Dos Roques (Gáldar, Gran Canaria), en mayo de 1986. El alga se recogió a mano durante la bajamar; después de ser separada de otras algas contaminantes, se secó a temperatura ambiente, en oscuridad. Un ejemplar de esta especie se encuentra depositado en el

Departamento de Biología Vegetal de la Universidad de La Laguna (TFC Phyc. 5589).

Extracción y separación cromatográfica. El alga seca y molida (1.5 kg) fue extraída en un Soxhlet con Me₂O durante tres días. El disolvente fue eliminado en un rotavapor a vacío obteniéndose un extracto de aspecto aceitoso y color marrón-verdoso (38 g, 2.53% del peso seco) que fue cromatografiado en columna de sílica gel (6 × 100 cm). La columna fue eluida con concentraciones crecientes de EtOAc en hexano. Se recogieron fracciones de 250 ml. Las fracciones que contenían similares productos se reunían según los patrones que presentaban en CCF, obteniéndose fracciones de polaridad creciente.

Aislamiento de la cetona isomerizada del 2-debromo isoobtusol (4). La reunión D (5.2 g, 0.35% del peso seco) se fraccionó con Sephadex LH-20 eluyéndose con una mezcla de CHCl₃-MeOH (1:1) con el fin de eliminar las clorofilas. Las fracciones resultantes fueron combinadas y cromatografiadas en una columna húmeda de media presión (velocidad de flujo 2 ml/min), eluyéndose con una mezcla de hexano-EtOAc (17:3), obteniéndose 26 mg (0.068% del peso del extracto) de la cetona isomerizada del 2-debromo isoobtusol (4).

Reacción del isoobtusol con alúmina. A 200 mg de isoobtusol disueltos en 7 ml de éter sulfúrico se le añadieron 150 mg de alúmina neutra de columna (activada durante 2 h a 160°C). A temperatura ambiente, la reacción se completó a las 48 h. Al finalizar la reacción de alúmina se separó por filtración y se obtuvo un producto cuyos datos espectroscópicos y movilidad en CCF coincidía con los del compuesto 4.

Aislamiento de la cetona isomerizada del 2-debromo obtusol (3). Las últimas fracciones de la cromatografía de media presión citada anteriormente fueron acetiladas. Así, 450 mg de mezcla se trataron con 0.5 ml de AC₂O y 5 ml de piridina a temperatura ambiente durante toda la noche. La mezcla obtenida, después de ser cromatografiada en capa fina preparativa usando hexano-EtOAc (19:1, 4 veces) como eluyente, rindió a 32 mg (0.084% del peso del extracto) del metabolito 3.

Reacción del obtusol con alúmina. A 300 mg de obtusol, disueltos en 10 ml. de éter seco, se le añadieron 100 mg de alúmina de columna. La mezcla se sometió a reflujo durante 24 h. Cuando todo el obtusol había reaccionado se separó la solución mediante filtración del

disolvente. Los datos espectrales y físicos (CCF, IR, RMN-¹H) de este producto están en total acuerdo con los de la cetona **3**.

RESULTADOS Y DISCUSION

La especie *L. obtusa* contiene los compuestos conocidos elatol (Sims *et al.*, 1974), obtusol (González *et al.*, 1979b), isoobtusol y obtusano (González *et al.*, 1979a), junto con los derivados del 2-debromo elatol, 2-debromo obtusol, 2-debromo isoobtusol (González *et al.*, 1976), 5,12-epoxiobtusol (Martín *et al.*, 1989) y los productos **3** y **4**, que no han sido previamente aislados de fuente natural.

La cetona isomerizada de 2-debromo obtusol (**3**) se aisló como un producto blanco cristalino de p.f. 101-103°C, $[\alpha]_D^{25} = +43.6^\circ$ (CHCl₃, c 0.6). La fórmula molecular, indicativa de cuatro lugares de insaturación en la molécula, se estableció como C₁₅H₂₂BrClO en base a su espectro de masas que muestra las siguientes señales: M⁺ a m/e 332, 334; m/e 317, 319 (M⁺-CH₃); m/e 297, 299; m/e 290, 292, (M⁺-C₂H₂O); m/e 276, 278, 280; m/e 252, 254 (M⁺-HBr). El espectro UV (EtOH) muestra un máximo de absorción a $\lambda_{\max} = 242$ nm ($\epsilon = 10.500$). El espectro de IR (CHCl₃) muestra absorción a 1670 y 1610 cm⁻¹. Estos datos sugieren que el compuesto **3** es una enona sesquiterpénica. En el espectro de RMN-¹³C (Tabla 1) no se observa la señal del grupo carbonílico; en cambio, se observan las señales de un doble enlace trisustituido (128.17, doblete, y 166.99, singlete). El espectro de RMN-¹H muestra las señales correspondientes a un protón vinílico a δ 5.87 y de un metilo vinílico a 2.25 (J = 1Hz). También se puede observar la señal de un metilo geminal a un átomo de bromo a δ 1.84 y de un protón en α a un halógeno a 4.85. En el espectro bidimensional COSY ¹H-¹H se observa la correlación existente entre la señal a 5.87 y 2.25, así como la señal a 4.85 con la señal centrada a 2.16 y ésta con la señal a δ 2,41.

Este producto coincide en su punto de fusión, actividad óptica y espectro de IR y de RMN-¹H con el producto que se obtiene de la reacción del obtusol con alúmina de columna en éter etílico.

La cetona isomerizada de 2-debromo isoobtusol (**4**) se aisló como un sólido cristalino, p.f. 67-69°C, $[\alpha]_D^{25} = +65.7^\circ$ (CHCl₃; c 0.275). La fórmula molecular, C₁₅H₂₂BrClO, fue establecida en base al espectro de masas de baja resolución que muestra un pico a m/e 332, 334, 336 con una característica pauta isotópica consistente con la presencia de un átomo de cloro y uno de bromo. El espectro IR muestra una absorción de carbonilo conjugado a 1660 y 1605 cm⁻¹. Esta funcionalidad fue confirmada por una absorción a λ_{\max} de 242 nm ($\epsilon = 11.200$) y las

absorciones en el espectro de RMN-¹³C a δ 178.45 (s), 127.43 (d) y 170.3 (s). Estos datos, junto con las señales de un metilo vinílico a δ 2.23 que está alílicamente acoplado (1 Hz) con un protón vinílico a 5.85 sugiere la presencia de una cetona α , β -insaturada.

El espectro de RMN-¹H (CDCl₃) mostró, además, las señales de tres grupos metilos (δ 1.01 y 1.19, de un gem-dimetilo, y 1.98, de un metilo en α a un bromo), un metino α a un cloro (δ 4.6), y las señales de los protones metilénicos a δ 3.05 y 2.13 (H-7), 2.53 y 2.18 (H-2), y a δ 1.77 y 1.57 (H-10 y H-11). El espectro COSY mostró señales cruzadas correlacionando la señal a 5.85 debido a los protones de C-4 con las señales a 2.23 (H-12). Además, en el espectro COSY se puede observar las correlaciones a larga distancia entre el protón vinílico H-4 a 5.85 y uno de los protones del C-2 a δ 2.18 que, a su vez, se correlaciona con la señal a 2.53. El triplete a δ 4.6 se correlaciona con la señal a 3.05 que, a su vez, se correlaciona con la señal a 2.13.

BIBLIOGRAFIA

- ERICKSON, K. L. (1983). En: *Marine Natural Products: Chemical and Biological Perspectives* (Scheuer, P. J., ed.). Vol. V, pp. 131-257. Academic Press, New York.
- FAULKNER, D. J. (1984). *Nat. Prod. Rep.*, 1: 251-280.
- (1986). *Nat. Prod. Rep.*, 3: 1-33.
- (1987). *Nat. Prod. Rep.*, 4: 539-576.
- GONZÁLEZ, A. G.; DARIAS, J.; DÍAZ, A.; FOURNERON, J. D.; MARTÍN, J. D. y PÉREZ, D. (1976). *Tetrahedron Letters*, 3.051-3.054.
- MARTÍN, J. D.; MARTÍN, V. S.; MARTÍNEZ-RIPOLL, M. y FAYOS, J. (1979a). *Tetrahedron Letters*, 2717-2718.
- MARTÍN, J. D.; MARTÍN, V. S. y NORTE, M. (1979b). *Tetrahedron Letters*, 2.719-2.722.
- MARTÍN, J. D. y DARIAS, J. (1978). En: *Marine Natural Products: Chemical and Biological Perspectives* (Scheuer, P. J., ed.). Vol. I, pp. 125-173. Academic Press, New York.
- CABALLERO, P.; FERNÁNDEZ, J. J.; NORTE, M.; PÉREZ, R. y RODRÍGUEZ, M. L. (1988). *Phytochemistry*, 28: 3.365-3.367.
- SIMS, J. L.; LIN, G. H. Y. y WING, R. M. (1974). *Tetrahedron Letters*, 3.487-3.490.

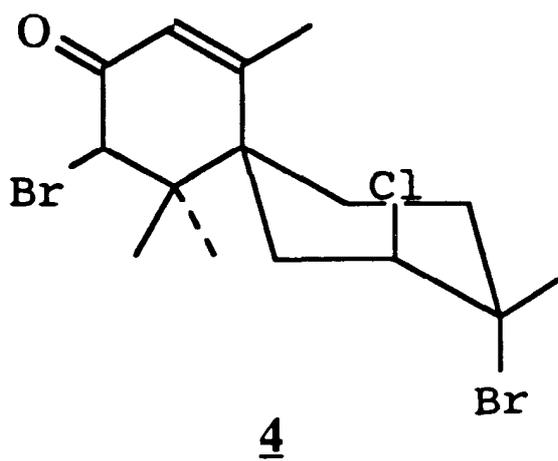
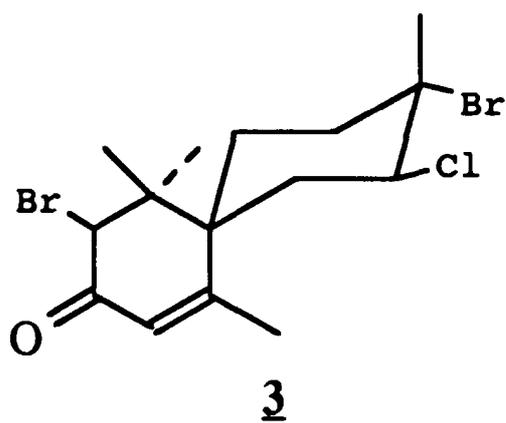
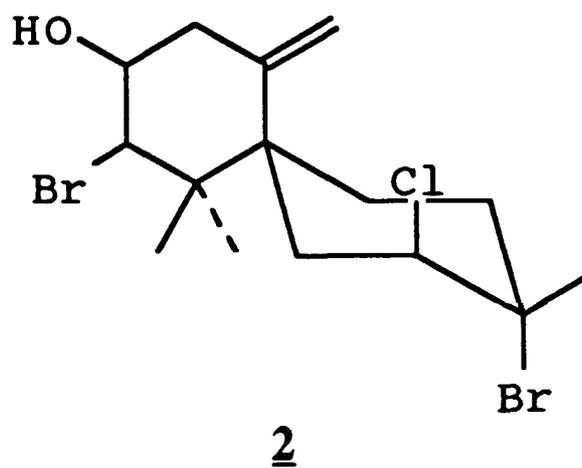
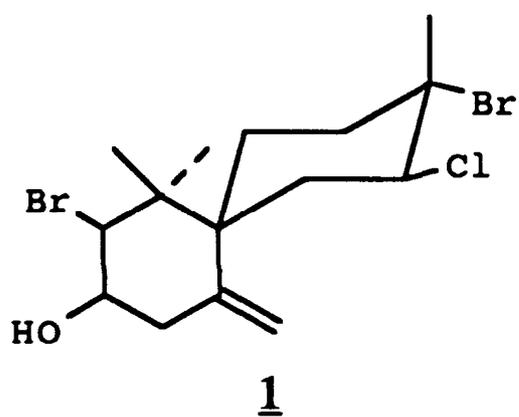


TABLA 1

Datos espectroscópicos de RMN-¹³C y de RMN-¹H de los productos 3 y 4

C	3			4		
	¹³ C	¹ H	m, J (Hz)	¹³ C	¹ H	m, J (Hz)
1	42.63 ^a s	—		42.41 ^a s	—	
2	48.82 t	2.38* 2.14*	m m	49-07 t	2.18* 2.53*	d, 18 d, 18
3	n.o.	—		178-45 s	—	
4	128.17 d	5.87	d, 1	127.43 d	5.85	d, 1
5	166.99 s	—		170.30 s	—	
6	42.20 ^a s	—		43.10 ^a s	—	
7	41.40 t	2.16* 2.41*	dd, 6, 15 dd, 12, 15	39.62 t	2.13* 3.05*	d, 15 dd, 4, 15
8	68.59 d	4.85	dd, 6, 12	65.38 d	4.60	t, 4
9	66.82 s	—		68.30 s	—	
10	36.13 t	1.74 ^a	m	36.32 t	1.57 ^a	
11	25.05 t	1.83 ^a	m	24.24 t	1.77 ^a	
12	26.46 c	2.25	d, 1	25.08 c	2.23	d, 1
13	24.12 ^b c	0.96 ^b	s	31.49 ^b c	1.01 ^b	s
14	24.44 ^b c	1.12 ^b	s	31.51 ^b c	1.19 ^b	s
15	23.68 c	1.86	s	24.05 c	1.98	s

^{a, b} Asignaciones con la misma letra en una columna pueden intercambiarse.
* Asignaciones realizadas en base al espectro bidimensional COSY.