



UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA
Departamento de Química

***“ESTUDIO QUÍMICO DE ESPECIES DE LUGOA,
GONOSPERMUM Y TANACETUM ENDÉMICAS DE
CANARIAS: APLICACIONES QUIMIOTAXONÓMICAS Y
DE ACTIVIDAD BIOLÓGICA”***

MEMORIA

Presentada para obtener el grado de
Doctor en Ciencias Químicas por
Juan José Ortega Rodríguez

Las Palmas de Gran Canaria, Enero 2007



UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA
Departamento de Química

D. JORGE TRIANA MÉNDEZ, CATEDRÁTICO DE LA UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA Y D. JOSE LUIS EIROA MARTÍNEZ CATEDRÁTICO DE ESCUELA UNIVERSITARIA DE LA UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA

CERTIFICAN: Que el presente trabajo de investigación titulado “Estudio químico de especies de Lugoa, Gonospermum y Tanacetum endémicos de Canarias: aplicaciones quimiotaxonómicas y de actividad biológica” ha sido realizado bajo nuestra dirección en los laboratorios del Departamento de Química de esta Universidad y constituye la Memoria que presenta D. Juan José Ortega Rodríguez, para aspirar el grado de Doctor en Ciencias Químicas.

AUTORIZAN: La defensa de la presente Memoria, ya que consideramos reúne los requisitos legales vigentes para optar al grado de Doctor por la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria.

Las Palmas de Gran Canaria, 31 de Octubre de 2006

Fdo: Jorge Triana Méndez

Fdo: José Luis Eiroa Martínez

Dedicada a mi familia

AGRADECIMIENTOS

A los miembros del Grupo Química Orgánica I del Dpto de Química de la U.L.P.G.C. por la ayuda en la realización de este trabajo.

Al Dr. Jaime Bermejo Barrera y a los miembros de su grupo del Instituto de Productos Naturales y Agrobiología, C.S.I.C. de Tenerife, en especial al Dr. Francisco León por su ayuda en la obtención de los datos de RMN y Masas, así como a los técnicos encargados de dichos equipos pertenecientes al C.S.I.C e I. U.B.O.

Al Dr. Francisco Estévez Rosas del Departamento de Bioquímica de la U.L.P.G.C. por la realización de las pruebas de actividad citotóxica.

Al Dr. Josep Coll del Consejo Superior de Investigaciones Científicas de Barcelona por la realización de las pruebas de actividad antialimentaria.

A la Dra. Rosa Febles Hernández del Jardín Canario Viera y Clavijo de Las Palmas de Gran Canaria por la clasificación botánica de las especies estudiadas.

ÍNDICE

1. Introducción.....	1
2. Objetivos.....	35
3. Estudio fitoquímico	
3.1. <i>Lugoa revoluta</i> (DC.) Sch. Bip. (Tenerife)	
3.1.1. Parte teórica.....	41
3.1.2. Parte experimental.....	67
3.2. <i>Gonospermum gomerae</i> Bolle (La Gomera)	
3.2.1. Parte teórica.....	93
3.2.2. Parte experimental.....	121
3.3. <i>Gonospermum fruticosum</i> Less (La Gomera)	
3.3.1. Parte teórica.....	141
3.3.2. Parte experimental.....	153
3.4. <i>Gonospermum fruticosum</i> Less (Anaga, Tenerife)	
3.4.1. Parte teórica.....	165
3.4.2. Parte experimental.....	177
3.5. <i>Gonospermum fruticosum</i> Less (El Hierro)	
3.5.1. Parte teórica.....	189
3.5.2. Parte experimental.....	195
3.6. <i>Gonospermum fruticosum</i> Less (Güímar, Tenerife)	
3.6.1. Parte teórica.....	203
3.6.2. Parte experimental.....	215
3.7. <i>Tanacetum oshanahanii</i> (Marrero, Febles y Suárez) (Gran Canaria)	
3.7.1. Parte teórica.....	231
3.7.2. Parte experimental.....	243
4. Actividad biológica de lactonas sesquiterpénicas	
4.1. Actividad citotóxica.....	257
4.2. Actividad antialimentaria.....	271
5. Técnicas generales.....	281
6. Abreviaturas y acrónimos.....	287
7. Conclusiones.....	291

INTRODUCCIÓN

El estudio de las floras insulares resulta de un interés especial en el conocimiento de los procesos evolutivos, ya que este tipo de territorios geográficamente bien definidos se caracterizan por la existencia de endemismos como un fenómeno generalizado. De hecho, las islas oceánicas son consideradas como ejemplos de diferenciación y especiación de la flora; este es el caso de archipiélagos bien caracterizados por su elevado porcentaje de endemismos como son las Islas Canarias y las Islas Hawaii.

De todos es conocido que las Islas Canarias son un caso concreto de islas de origen volcánico y por lo tanto se trata de islas oceánicas, y como suele suceder en este tipo de islas, se caracterizan por la existencia de paisajes vegetales muy diversos, así como de la existencia de una gran variedad de nichos ecológicos que tienen como resultado una gran variedad de especies vegetales como se refleja en el gran número de endemismos existentes en las mismas, que pueden variar incluso de una isla a otra y que son el resultado de una serie de procesos de evolución vegetal especialmente interesantes. Así, en el caso de las Islas Canarias, de un total de 1.860 especies de plantas vasculares presentes, 520 son endemismos (28%), lo que las convierte, junto con los restantes archipiélagos de la región denominada Macaronesia (Islas Azores, Madeira y Porto Santo, Islas Salvajes y Cabo Verde), en uno de los más importantes enclaves florísticos a nivel mundial, constituyendo de hecho auténticos laboratorios naturales para el estudio de los procesos de evolución vegetal.

La comprensión de las características de la flora de la Macaronesia requiere de un conocimiento adecuado del origen de las islas. Como hemos dicho las Islas Canarias son de origen volcánico aunque durante mucho tiempo se planteó la discusión sobre el carácter continental de las mismas, ya que algunos geólogos planteaban la posibilidad de que las islas correspondían de hecho a trozos desgajados del continente africano o bien que se tratase de territorios que habían surgido de forma independiente del fondo oceánico.

Cuando se procede al estudio de la flora de la Macaronesia, el principal problema es determinar el origen de la misma que a su vez esta directamente relacionado con su historia geológica. Es un hecho que la flora de los archipiélagos macaronésicos ha ido llegando a las islas procedente de las zonas continentales más próximas, proceso que tuvo lugar probablemente durante el periodo Terciario a través de procesos de dispersión a distancia y más recientemente como resultado de la actividad humana.

Como consecuencia, podemos decir que la actual composición de la flora está formada por una serie de diferentes elementos florísticos que podemos agrupar en los siguientes grupos:

1. Elementos Mediterráneos. Agrupa aquellas especies cuya distribución se extiende actualmente por el Sur de Europa, Oriente Medio y Norte de África. Está compuesto por unas 900 especies (56%), el cual sumado al endémico de afinidad mediterránea representa un 81% de la flora canaria. Ello es indicativo de la existencia de una estrecha relación entre las floras de ambas regiones, de hecho, desde un punto de vista fitogeográfico, la región de la Macaronesia es considerada a veces como una subregión mediterránea.
2. Elementos Atlánticos. Correspondería a la zona del Oeste europeo y es un componente que está escasamente representado con un 1% del total.
3. Elementos Saharo-Índico. Está constituido por especies distribuidas por el Norte de África hasta Arabia e incluso a Pakistán, estando representado en la flora canaria por un 3%.
4. Elementos tropicales. Al igual que los elementos atlánticos están escasamente representados.
5. Elementos cosmopolitas. Estos elementos están representados por el 3% correspondiendo en la mayoría de los casos a especies que han sido introducidas.
6. Elementos endémicos. Están representados por el 37% y a su vez se encuentran divididos según las relaciones con la flora de otras partes del mundo.

El grupo más amplio entre los diferentes elementos no endémicos es el de los mediterráneos, lo cual sería el reflejo de una estrecha relación entre las floras de la Macaronesia y la región Mediterránea.

En lo que respecta al elemento endémico, aunque como se ha indicado presenta afinidades con diversas especies de otras zonas florísticas, debe ser considerado como relicto de una flora que antiguamente tuvo una distribución mucho más amplia perteneciente a la flora subtropical, la cual se distribuía por Europa y el Norte de África hasta el final del Terciario.

Los cambios climáticos que tuvieron lugar durante el periodo Terciario dieron lugar a una serie de grandes cambios en la composición de la flora que hasta ese momento se desarrollaba en los continentes. En su desplazamiento hacia el Sur, muchas de esas especies quedaron refugiadas en las islas donde, gracias al efecto tampón del océano que ha impedido que se produzcan profundas variaciones climáticas en el transcurso de la historia geológica, pudieron sobrevivir hasta nuestros días pudiendo ser consideradas como verdaderos fósiles vivientes.

Otro factor a considerar es que, debido al aislamiento de las islas en el océano Atlántico, tuvieron lugar fenómenos de evolución en la flora por medio de procesos como la *radiación adaptativa* y la *vicariancia*, como respuesta a la gran diversidad de nichos ecológicos presentes en el territorio. Como resultado, en varios géneros se han llegado a producir un gran número de especies endémicas, muchas de las cuales se localizan en una sola isla y en zonas muy reducidas de la misma. Asimismo, la gran antigüedad de la flora de la Macaronesia se puede comprobar por el hecho de la distribución disyunta de sus parientes más cercanos, así como por el predominio de formas leñosas en géneros que en otras partes del mundo están representadas por formas herbáceas como es el caso de *Sonchus* y *Limonium* entre otros.

Se entienden por formas vicariantes aquellas que se originan de nuevo en un sitio diferente pero desde un origen común, considerándose que si distintas poblaciones ocupan áreas separadas y son claramente descendientes de un inmediato ancestro común, entonces son especies vicariantes. Se definen como especies vicariantes aquellas especies alopátricas estrechamente relacionadas que descienden de una población ancestral común y alcanzan el aislamiento¹.

Cuando una serie de individuos que conforman una población va colonizando diversos nichos ecológicos y dicha población presenta la suficiente diversidad genética como consecuencia de la selección natural, el primer efecto que se produce es la

¹ Kunkel, G., Beltrán, E., Afonso, J., Bañares, A., Gil, M.C., González, M.N., González, J.M., Haroun, R.J., Hernández, C., Losada, A., Marrero, A., Rodríguez, J.L., Rodrigo, J. (1992). "Flora del Archipiélago Canario. Tratado florístico. Primera Parte. Tomo XV. Edirca S.L. Las Palmas de Gran Canaria.

formación de una clina de las frecuencias genéticas, es decir, aquellas formas con tendencia a presentar hojas grandes y verdes vivirán mejor en ambientes sombríos o boscosos, las formas arrosietadas y de tallos cortos podrán colonizar bien los ambientes rupícolas, y las que presentan hojas pelosas o pequeñas podrán soportar mejor condiciones xéricas. La clina en principio genética, que puede manifestarse como una clina morfológica observable, constituye la primera expresión de la radiación adaptativa. En definitiva consiste en fases sucesivas de divergencia adaptativa, y resulta particularmente interesante en la especiación insular.

Con el fin de establecer las relaciones filogenéticas entre diferentes grupos desde un punto de vista morfológico, la flora canaria ha sido objeto de diversos estudios taxonómicos, observándose diferentes modelos de evolución por radiación adaptativa y vicariancia, que son procesos evolutivos muy frecuentes en la especiación en islas oceánicas.

La radiación adaptativa se hace patente en distintos niveles taxonómicos y en varios géneros, algunos de los cuales han sufrido una fuerte diversificación, presentando actualmente un gran número de especies. Esta diversificación viene determinada por los distintos hábitats presentes en las islas: halófito o costero, xerófito o de cardonal-tabaibal, bosque termo-esclerófilo, laurisilva, pinar y zona de alta montaña. A su vez estos hábitats se pueden subdividir en función de factores orográficos como son los roques y cantiles, piederriscos, barrancos, etc, así como la diferente exposición que estos pueden presentar según su ubicación en una isla.

No obstante en muchos casos, estos estudios no permiten concretar de forma clara cuales son las relaciones entre las distintas especies. Un ejemplo lo tenemos en la posición taxonómica de muchos componentes de la tribu *Anthemideae* (familia *Compositae*) que ha sido siempre muy conflictiva, pues las diferenciaciones morfológicas establecidas dentro de dicha tribu son muchas veces de escaso valor. Esto implica que sea necesario el análisis que utilice estudios morfológicos, citológicos y químicos que provean apoyos filogenéticos a la monofilia de las especies. Es el caso de las especies de los géneros endémicos canarios de *Gonospermum* y *Lugoa*, así como de las especies endémicas del género *Tanacetum*, todas ellas pertenecientes a la tribu *Anthemideae* de la familia *Compositae* (*Asteraceae*) y que se distribuyen por las cinco islas más occidentales del archipiélago.

La *Gonosperminae* es una de las 12 subtribus actualmente reconocidas de *Anthemideae* que proporcionan uno de los ejemplos putativos de distribución discontinua entre las Islas Canarias y Sudáfrica. La distribución geográfica de los miembros de esta subtribu parecía apoyar en principio un enlace, durante el periodo Terciario, entre la Flora Canaria y la Flora Rand de Sudáfrica. La *Gonosperminae* está compuesta por dos géneros endémicos de las Islas Canarias, *Gonospermum* con cuatro especies y *Lugoa* con una sola especie, y el género *Inulanthera*, constituido por diez especies restringidas al sur de Africa, aunque muchos de las especies se encuentran principalmente en la zona de Natal-Transvaal en el noreste de Sudáfrica.

El género *Tanacetum*, con unas 150 especies distribuidas por Europa, Asia y América, está representado en las Islas Canarias por 3 especies endémicas, todas ellas localizadas en la isla de Gran Canaria. Estas especies son *T. oshanahanii*, la cual es extramadamente rara, con una población limitada a unos pocos ejemplares en la vertiente norte de la isla; *T. ptarmiciflorum*, también extremadamente rara y solo se conocen dos poblaciones en zonas de elevada altitud del pinar del centro de Gran Canaria y *T. ferulaceum*, que se encuentra en la vertiente sur de la isla, aunque una variedad de la misma, *T. ferulaceum* var. *latipinum* (Svent.) está restringida a la vertiente norte de la isla.

La distribución de las diferentes especies de los géneros *Gonospermum* y *Lugoa* es diferente, *G. fruticosum* esta ampliamente distribuido y se presenta en tres de las islas, concretamente Tenerife, La Gomera y El Hierro. En contraste, *G. canariense*, *G. gomerae*, *G. elegans* y *Lugoa revoluta* están restringidas a una sola isla en cada caso, La Palma, La Gomera, El Hierro y Tenerife respectivamente. Dos de las especies, *G. elegans* y *G. canariense*, se encuentran fundamentalmente en zonas de pinar, siendo *G. canariense* relativamente común en La Palma, en las vertientes norte- sur, mientras que *G. elegans* es rara y esta restringida a las zonas bajas de los pinares del sudeste de El Hierro. Las otras especies de *Gonospermum* se encuentran en la vertiente norte de la zona de matorrales de las tierras bajas, *G. gomerae* se suelen encontrar en las partes más elevadas de las zonas subhúmedas de los bosques de laurisilva y cinturón de brezal, aunque nunca se encuentra dentro de los límites del bosque de laurisilva, siendo poco abundante y limitada a poblaciones diseminadas en zonas del noreste de La Gomera, mientras que *L. revoluta* se encuentra solamente en el extremo noreste de Tenerife.

Aunque inicialmente se sugirió un enlace entre los géneros canarios y del sur de África, estudios de la filogenia ITS (Internal Transcribed Spacers) sugieren que la subtribu *Gonosperminae* no es monofilética, y que no representa un enlace geográfico entre el sur de África y las Islas Canarias. Además, estudios citológicos, de proteína de semillas y morfológicos, también sugieren que las especies canarias de *Tanacetum* están tan estrechamente relacionadas con *Gonospermum* y *Lugoa* que todas estas especies podrían ser fusionadas en un único género endémico².

La familia *Compositae* (*Asteraceae*) esta representada en Canarias por unos 32 géneros, de los cuales 8 son endémicos, habiéndose llevado a cabo un estudio químico de unas 54 especies pertenecientes a 16 géneros. De este estudio se deduce que los compuestos químicos que predominan son fundamentalmente lactonas sesquiterpénicas, seguidas de flavonoides y cumarinas³.

Las lactonas sesquiterpénicas constituyen un grupo muy importante de sesquiterpenos que son típicos de esta familia y que están caracterizados por una serie de diferentes tipos que son el resultado de modificaciones estructurales altamente sustituidas que han permitido su aplicación como caracteres químicos desde el punto de vista taxonómico, tanto a nivel infraespecífico como infragenérico⁴. Este tipo de estructuras presentes en estos compuestos parecen tener un origen común, habiéndose formado en procesos biogénicos estrechamente relacionados y que permiten proporcionar caracteres químicos útiles dentro de la tribu. Un esquema de una posible ruta biogénica que da lugar a los tres tipos de lactonas más característicos parte de un posible precursor de estos compuestos, el pirofosfato de farnesilo, donde la oxidación del grupo isopropilo y cierre en las posiciones C₆ ó C₈ da lugar a un sesquiterpeno del tipo germacrano. La formación de lactonas que dan lugar al grupo representativo más sencillo, las germacranolidas, tiene lugar a partir de la oxidación y ciclación de la cadena lateral de tres carbonos de los germacranos (fig. 1).

² Francisco-Ortega, J.; Barber, J.C.; Santos-Guerra, A.; Febles-Hernández, R. y Jansen, R.K. *American Journal of Botany* 88(1): 161-169, 2001.

³ Valera, a., Santos, A.(2002) Investigaciones fitoquímicas en plantas de canarias. Ed. Centro de Estudios Ramón Areces S.A.

⁴ Yoshioka, H., Mabry, T.J., Timmermann, B.N. (1973). *Sesquiterpene Lactones. Chemistry, NMR and Plant Distribution*. University of Tokyo Press.

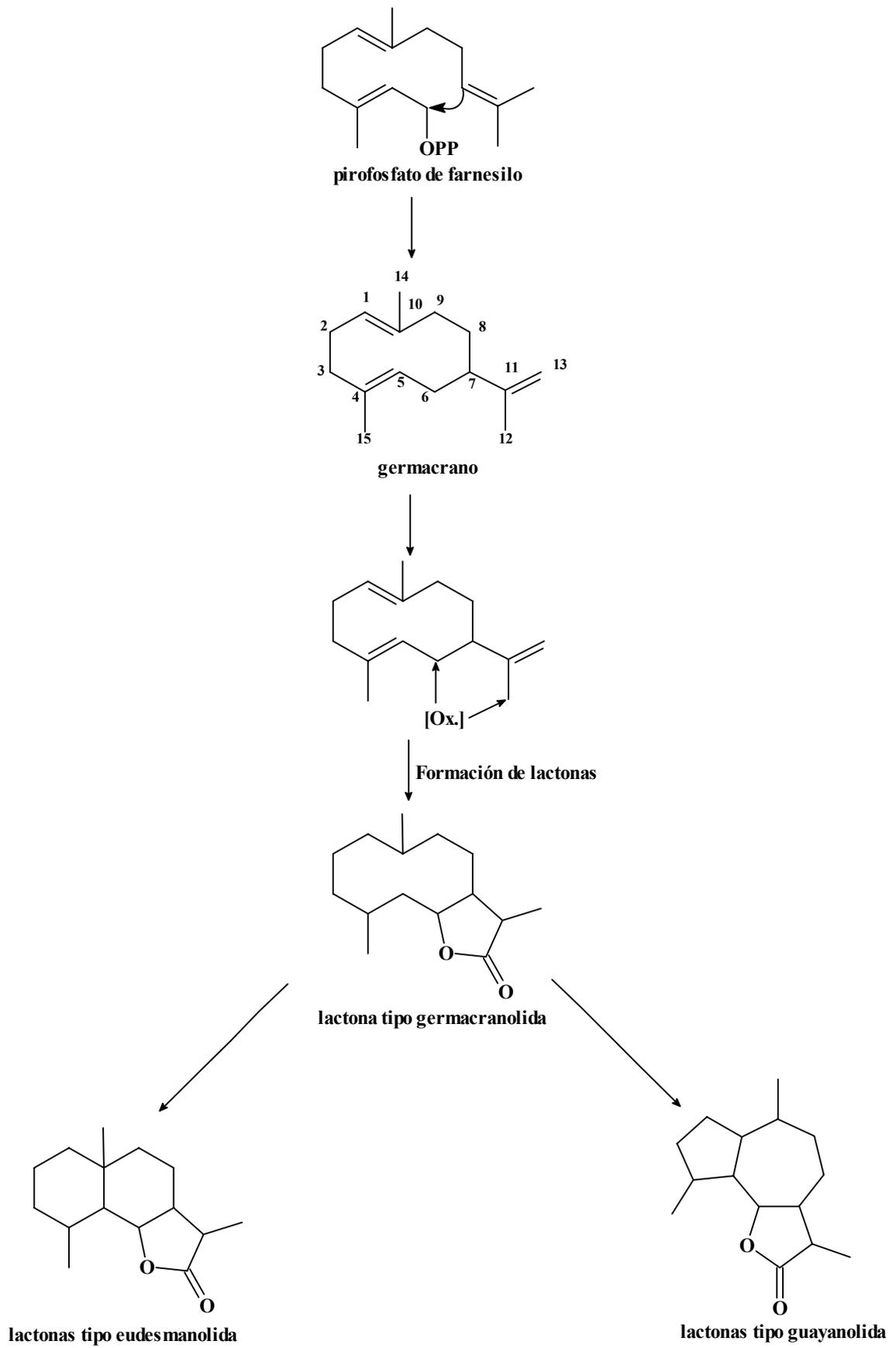


Fig. 1

Las germacranolidas constituyen el grupo de lactonas sesquiterpénicas más abundante en la naturaleza, presentando una amplia variedad estructural en función de las características configuracionales y conformacionales del esqueleto ciclodecadieno. Se encuentran como productos naturales cuatro subgrupos de germacranolidas, estando clasificados de acuerdo con la configuración de los dobles enlaces del ciclodecadieno según se muestra en la siguiente figura.⁵

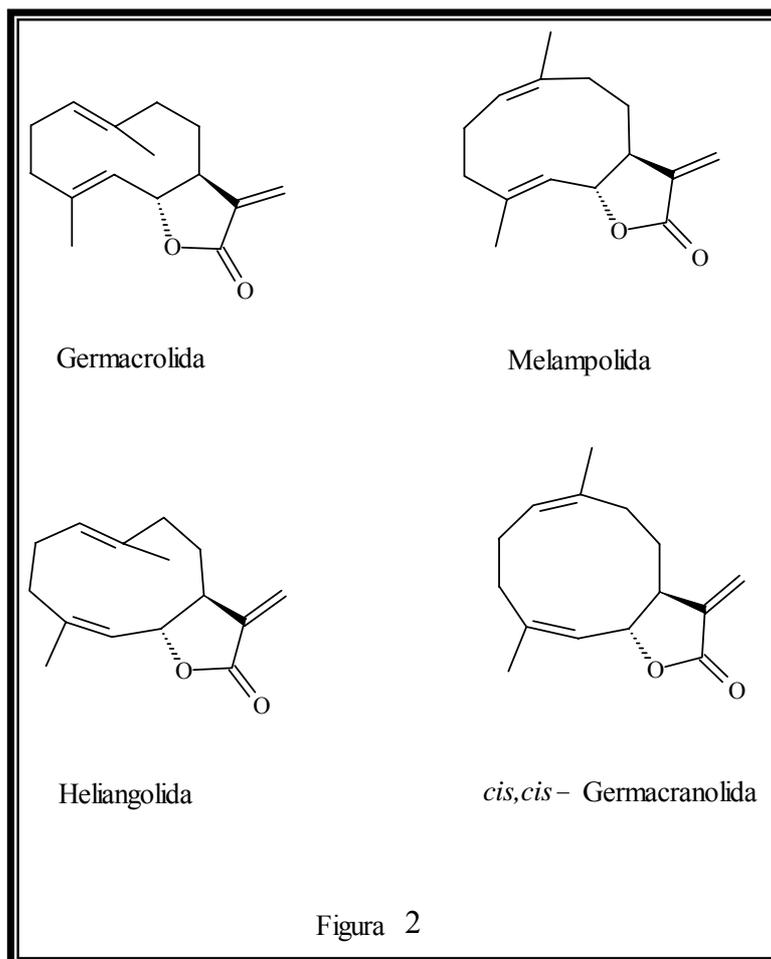


Figura 2

⁵ Fischer, N.H., Oliver, E.J., Fischer, H.D. (1979) The biogenesis and Chemistry of Sesquiterpene lactones en "Progress in the Chemistry of Organic Natural Products". Ed. Springer-Verlag/Wien. Vol 38

La mayoría de las lactonas sesquiterpénicas presentes en plantas superiores contiene el agrupamiento α -metilén- γ -lactona, el cual es un potente receptor para nucleófilos que pueden inhibir los enzimas que contienen centros nucleofílicos esenciales, como grupos amino (- NH₂) y tiol (- SH). Por todo ello, las lactonas sesquiterpénicas exhiben un amplio rango de actividades biológicas, que están en muchos casos basadas en sus propiedades alquilantes. Estos procesos incluyen efectos antibióticos, citotóxicos, anticancerígenos, insecticidas, molusquicidas, alergénicos y alelopáticos.

Desde un punto de vista biogenético, un proceso evolutivo de adaptación a los diferentes nichos ecológicos determina la elaboración de los diferentes tipos de lactonas partiendo del sesquiterpeno germacrano, considerándose de hecho que la ocupación de hábitats más secos lleva aparejado un incremento en la complejidad de la síntesis de lactonas sesquiterpénicas⁶.

Todo este proceso de establecimiento de relaciones entre especies esta condicionado por las divergencias relativamente rápidas que se producen en los caracteres y taxones durante el proceso de adaptación, y a los diversos tipos de convergencia que pueden aparecer durante la evolución del taxón. En estos casos, los caracteres químicos y en particular las lactonas sesquiterpénicas pueden ser de gran ayuda. Así, el género *Inulanthera* fue primeramente incluido en el género Sudáfricano *Athanasia*, siendo posteriormente elevado al nivel de género tomando como base evidencias tanto morfológicas como químicas². Desde un punto de vista químico las especies del género *Athanasia* se caracteriza por la presencia de furanosesquiterpenos mientras que en las especies transferidas al nuevo género los compuestos furanosesquiterpénicos han sido reemplazados por compuestos acetilénicos y lactonas sesquiterpénicas, excepto una especie (*I. leucolada*) que no contiene lactonas sesquiterpénicas como se puede observar en la tabla I. Estos compuestos acetilénicos son muy similares a los encontrados en especies del género *Tanacetum*.

⁶ Heywood, V.H., y Harborne, J.B. (1977) "The Biology and Chemistry of the Compositae. Chapter 32". Academic Press. London.

TABLA I.- LACTONAS SESQUITERPÉNICAS GÉNERO *Inulanthera*.

Especies	Tipo Germacranolida	Tipo Eudesmanolida	Tipo Guayanolida
<i>calva</i> ⁷	- Costunolido.	- Santamarina. - 8 α -(2-fenilacetoxi) santamarina. - 8 α -(2-fenilacetoxi) reynosina.	- Ludartina.
<i>coronopifolia</i> ⁸			- 11,13-dehidromatricarina.
<i>drageana</i> ⁸			- Athanadrageolido. - 8 α -hidroxi-athanadrageolido. - 10- <i>epi</i> athanadrageolido.
<i>leucolada</i> ⁸			
<i>montana</i> ⁹		- Montathanolido.	- 8 α -acetoxi-4-anhidro athamontanolido. - 8 α -isobutiriloxi-4-anhidro athamontanolido. - 8 α -acetoxi-athamontanolido. - 8 α -isobutiriloxi-athamontanolido. - 8 α -acetoxi-4- <i>epi</i> -athamontanolido. - 8 α -isobutiriloxi-4- <i>epi</i> -athamontanolido. - 8 α -[2-metilbutiriloxi]-4- <i>epi</i> athamontanolido.
<i>nuda</i> ¹⁰			- 1 α ,4 β ,10 β -trihidroguaiia. 2,11(13)-dien-12,6 α -lactona. - 4 β ,10 β -dihidroxi-1 α -metoxi guaia-2,11(13)-dien-12,6 α -lactona.
<i>thodei</i> ⁸	- Costunolido.	- Santamarina.	

Dada la importante presencia de lactonas sesquiterpénicas en los resultados obtenidos en los estudios químicos previos de especies canarias de la familia Compositae y la utilidad de este tipo de compuesto desde el punto de vista

⁷ Zdero, C., Lehmann, L., Bohlmann, F. (1991). *Phytochemistry* 30, 1161-1163.

⁸ Bohlmann, F., Knoll, K. (1979). *Phytochemistry*, 18, 995-1001.

⁹ Bohlmann, F., Schmeda-Hirschmann, G., Jakupovic, J., Castro, V., Ciccio, J. F., Calvo, G. (1984). *J. Nat. Prod.* 47, 663.

¹⁰ Gafner, S., Wolfender, J., Hostettmann, K. (1998). *Helvetica Chimica Acta* 81, 2062.

quimiotaxonómico, hemos procedido a realizar una revisión química de los diferentes tipos de lactonas sesquiterpénicas obtenidas de las distintas especies de los géneros *Tanacetum* y *Gonospermum* estudiadas con anterioridad, exponiendo en las Tabla II, III y IV los resultados obtenidos. Las estructuras de los compuestos citados en dichas tablas se exponen en las figuras 3, 4 y 5, agrupándose como “GE” las lactonas de tipo germacranolida, “EU” las eudesmanolida y “GU” las guayanolida.

TABLA II. LACTONAS SESQUITERPÉNICAS GÉNERO *Tanacetum*.

Especie	Tipo Germacranolida	Tipo Eudesmanolida	Tipo Guayanolida
<i>albipannosum</i> ¹¹ ¹²	- Tanalbina A (GE-I) - Tanalbina B (GE-II)		
<i>annuum</i> ^{13 14}			- Tannunolido A. (GU-I) - Tannunolido B. (GU-II) - Tannunolido C. (GU-III) - Tannunolido D. (GU-IV) - Tannunolido E. (GU-V) - 8 α -acetoxi-Tannunolido E. (GU-VI) - 8 α - acetoxi-6- <i>epi</i> -Tannunolido A. (GU-VII) - Artabsina. (GU-VIII) - 6- <i>epi</i> -tannunolido A(GU-IX) - 6- <i>epi</i> -tannunolido B(GU-X) - 8 α -Acetoxitannunolida A(GU-XI) - Desacetoximatricina(GU-XII)
<i>argenteum ssp. argenteum</i> . ¹⁵	- Tatridina A (GE-III) - Tatridina B (GE-IV) - Espiciformina (GE-V) - Desacetillaurenololido (GE-VI) - 8 α -angeloiloxicostunolido (GE-VII) - 8 α -angeloiloxi-1 β -peroxicostunolido (GE-VIII)	-Desacetil- β -ciclopiretrosina. (EU-I)	
<i>argenteum ssp. flabellifolium</i> . ^{16 17}	- Tatridina A (GE-III) - 1- <i>epi</i> -Tatridina B (GE-IX) - Partenolido (GE-X) - Desacetillaurenololido. (GE-VI)	-Desacetil- β -ciclopiretrosina. (EU-I) - Sivasinolido. (EU-II) - Dentatina A. (EU-III)	- Flabellina. (GU-XIII)

¹¹ Gören, N. and Jakupovic J. (1990) *Phytochemistry* **29**, 3032.

¹² Barrero, A. F., Sánchez, J. F. Barrón, A. And Ramírez, A. (1991) *Phytochemistry* **31**, 332-335.

¹³ Barrero, A. F., Sánchez, J. F., Molina, J., Barrón, A. And Salas, M. (1990) *Phytochemistry* **29**, 3575-3580.

¹⁴ Barrero, A. F., Sánchez, Zafra, M. M. San Feliciano, A. (1990) *Phytochemistry* **26**, 1531.

¹⁵ Gören, N., Tahtasakal, E., Pezzuto, J. M., Cordell, G. A., Schwarz, B. And Proksch, P. (1994) *Phytochemistry* **36**, 389-392.

¹⁶ Metwally, M. A., El-Dahmy, S., Jakupovic, J., Bohlmann, F., Dawidar, A. M. and Metwally, S. A. (1986) *Phytochemistry* **25**, 255-257.

¹⁷ Gören, N., Tahtasakal, E., Krawiec, M. and Watson, W. H. (1996) *Phytochemistry* **42**, 757-760.

Introducción

	<ul style="list-style-type: none"> - Espiciformina (GE-V) - Isospiciformina (GE-XI) - Tamirina (GE-XII) - 1β,10α-epóxidodesacetiltulipinolido (GE-XIII) 		
<i>argenteum ssp. canum var. canum</i> ^{18 19}	<ul style="list-style-type: none"> - 1-<i>epi</i>-Tatridina B. (GE-IX) - Partenolido. (GE-X) - Peroxipartenolido. (GE-XIV) - Dihidropartenolido. (GE-XV) - Michenolido. (GE-XVI) - 1β-hidroxi-6α-angeloiloxigerma-4(5),10(14),11(13)-trien-8,12-olida (GE-XVII) 	<ul style="list-style-type: none"> - Sivasinolido. (EU-II) - Santamarina. (EU-IV) - Douglanina. (EU-V) - 1β,4α-dihidroxi-6α-angeloiloxieudesm-11(13)-en-8,12-olida. (EU-VI) - 1β-hidroxi-6α-angeloiloxieudesm-4(5),11(13)-dien-8,12-olida. (EU-VII) - 1β,4α-dihidroxi-6α-isobutiloxieudesm-11(13)-en-8,12-olida. (EU-VIII) 	<ul style="list-style-type: none"> - Flabellina. (GU-XIII) - Magnograndiolido. (GU-XIV) - Epoxiflabellina. (GU-XV) - $\Delta^{3(4)}$-15-oxoflabellina. (GU-XVI) - $\Delta^{3(4)}$-15-hidroxi dihidroflabellina. (GU-XVII) - 11α-Dihidroflabellina. (GU-XVIII) - 11β-Dihidroflabellina. (GU-XIX)
<i>argyrophyllum var. argyrophyllum</i> ²⁰	<ul style="list-style-type: none"> - Tatridina A. (GE-III) - 1-<i>epi</i>-Tatridina B. (GE-IX) - Isospiciformina. (GE-XI) - Tamirina. (GE-XII) - Tanargyrolido. (GE-XVIII) - 8α-hidroxianhidroverlotrina. (GE-XIX) - Germacrano 1,5 epóxido. (GE-XX) 	<ul style="list-style-type: none"> - Dentatina A. (EU-III) 	
<i>balsamita</i> ^{21 22}		<ul style="list-style-type: none"> - Erivanina. (EU-IX) 	
<i>cadmeum ssp. cadmeum</i> ²³	<ul style="list-style-type: none"> - Tatridina A. (GE-III) - 1-<i>epi</i>-Tatridina B. (GE-IX) - Tamirina. (GE-XII) 	<ul style="list-style-type: none"> - Artesina. (EU-X) - Taurina. (EU-XI) - Artemina. (EU-XII) - Maritimina (EU-XIII) 	
<i>chiliophyllum var. heimerlei</i> ^{24 25}	<ul style="list-style-type: none"> - Tatridina A. (GE-III) - 1-<i>epi</i>-Tatridina 	<ul style="list-style-type: none"> - Dentatina A. (EU-III) 	

¹⁸ Gören, N. and Tahtasakal, E. (1997) *Phytochemistry* **45**, 107-109.

¹⁹ Gören, N., Tahtasakal, E., Drawiec, M. and Watson, W. H. (1998) *J. Nat. Prod.* **61**, 560-563.

²⁰ Gören, N., Jakupovic, J. and Topal, S. (1990) *Phytochemistry* **29**, 1467-1469.

²¹ Kubo, A. and Kubo, I. (1995) *J. Nat. Prod.* **58**, 1565-1569.

²² Samek, Z., Holub, M., Bloszyk, E., Drozd, B., Herout, V. (1975) *Coll. Czech. Chem. Comm.* **40**, 2676

²³ Caliskan, Z., Gören, N., Watson, W. H. (2004). *Journal Of Chemical Crystallography* **34**, 307-310.

²⁴ Gören, N., and Tahtasakal, E. (1993) *Phytochemistry* **34**, 1071-1073.

Introducción

	<p>B. (GE-IX) - Tamirina. (GE-XII) - Espiciformina. (GE-V) - Desacetillaurenob iolido. (GE-VI) - Heimerleina. (GE-XXI) - Chiliophyllina. (GE-XXII) - Hidroperoxi-1-desoxo chrysanolido. (GE-XXIII)</p>		
<i>cilicium</i> ²⁶			<p>- Canina. (GU-XX) - 8α-metilbutiriloxi canina. (GU-XXI) - 8α-isovaleriloxi canina. (GU-XXII) - Tanciloide. (GU-XXIII) - Isoanciloide. (GU-XXIV) - - Dehidroleukodina. (GU-XXV) -11,13-dehidrodesacetilmatricarina. (GU-XXVI) - 1α,2β-epoxi-3β,4α, 10α-trihidroxiguaian 6α,12-olida. (GU-XXVII) - 8α-metilburiloxitanciloide. (GU-XXVIII)</p>
<i>densum ssp. sivasicum</i> ^{27 28 29}	<p>- Tatridina A. (GE-III) - 1-<i>epi</i>-Tatridina B. (GE-IX) - Espiciformina. (GE-V) - Isospiciformina. (GE-XI) - 8α-hidroxianhidroverlitorina. (GE-XIX) - Desacetillaurenob iolido. (GE-VI) -1β,10α-epoxi-1,10H-</p>	<p>- Sivasinolido. (EU-II) - Desangeloilchrysanina. (EU-XIV)</p>	<p>- Cumambrina A. (GU-XXIX) - Cumambrina B. (GU-XXX)</p>

²⁵ Nickavar, B., Amin, G., Mehregan, N. (2003). *Iranian Journal Of Pharmaceutical Research* (2003) 249-250.

²⁶ Öksüz, S. (1990) *Phytochemistry* **29**, 887-890.

²⁷ Gören, N., Bozok-Johansson, C., Jakupovic, J., Lin, L., Shieh, H., Cordell, G. and Çelik, N. (1992) *Phytochemistry* **31**, 101-104.

²⁸ Gören, N., Cai, P., Scott, L., Tianosoa-Ramomonjy, M. and Snyder, J. K. (1995) *Tetrahedron* **51**, 4627-4634.

²⁹ Gören, N. (1993) *Phytochemistry* **34**, 743-745.

Introducción

	<p>desacetillaurenob iolido (GE-XXIV)</p> <ul style="list-style-type: none"> - Chrysanolido. (GE-XXV) - 1α-hidroperoxi-1-desoxochrysanolido. (GE-XXIII) - Tulirinol. (GE-XXVI) - 4α,5β-epóxido del 1α-hidroxidesacetiltulirinol. (GE-XXVII) - 4α,5β-epóxido del 1α-hidroxi-1-dosoxotamirina. (GE-XXVIII) 		
<i>densum ssp. amani</i> ³⁰	<ul style="list-style-type: none"> - 1-<i>epi</i>-Tatridina B. (GE-IX) - Partenolido. (GE-X) - Peroxipartenolido. (GE-XIV) - Espiciformina. (GE-V) - 8α-hidroxianhidroverlitorina. (GE-XIX) - Desacetillaurenob iolido. (GE-VI) - 1β,10α-epóxido del desacetiltulipinolido. (GE-XIII) 	<ul style="list-style-type: none"> - Dentatina A. (EU-III) - 1β,4α,6α-trihidroxi eudesm-11-en-8α,12-olida. (EU-XV) 	- 8-deoxi cumambrina B. (GU-XXXI)
<i>densum ssp. eginense</i> ³¹	<ul style="list-style-type: none"> - Tatridina A. (GE-III) - 1-<i>epi</i>-Tatridina B. (GE-IX) - Desacetillaurenob iolido. (GE-VI) - Espiciformina. (GE-V) - 1α-hidroperoxi-1-desoxochrysanolido. (GE-XXIII) - 1β,10α-epóxido del desacetiltulipinolido. (GE-XIII) - Tamirina. (GE-XII) 	<ul style="list-style-type: none"> - Armexifolina. (EU-XVI) - Desacetil-β-ciclopiretosina. (EU-I) - Eginense. (EU-XVII) 	

³⁰ Gören, N., Ulubelen, A., Bozok-Johansson, C. and Tahtasakal, E. (1993) *Phytochemistry* **33**, 1157-1159.

³¹ Gören, N. and Tahtasakal, E. (1994) *Phytochemistry* **36**, 1281-1282.

Introducción

<i>fruticosum</i> ^{32 33}			- Carlaolido A. (GU-XXXII) - Carlaolido B. (GU-XXXIII)
<i>larvatum</i> ³⁴	- Partenolido. (GE-X)	- Douglanina. (EU-V)	
<i>longifolium</i> ³⁵			- Ludartina. (GU-XXXIV) - Arteglasina A. (GU-XXXV)
<i>macrojillum</i> ³⁶	- Hanfilina. (GE-XXIX)		- Canina. (GU-XX) - Artecanina. (GU-XXXVI) - Tanafilina. (GU-XXXVII) - ChrisarteminaA.(GU-XXXVIII) - Macrostanacina. (GU-XXXIX)
<i>microfillum</i> ^{37 38}			Hidroxiachilina. (GU-XL)
<i>parthenium</i> ^{39 40} <small>41 42 43 44 39</small>	- Partenolido. (GE-X) - 3 β -hidroxipartenolido. - Costunolido. (GE-XXX) - 1 β -hidroxi-10,14-dehidro-1,10H-partenolido. (GE-XXXI) - Partenolido. (GE-X) - 3 β -hidroxipartenolido. (GE-XXXII) - 3 β -hidroxicostunolido. (GE-XXXIII) - Artemorina. (GE-XXXIV) - 3 β -hidroxianhidroverlolorina. (GE-XXXV) - 4 α ,5 β epóxido de anhidroverlolorina. (GE-XXXVI)	- Santamarina. (EU-IV) - Reynosina. (EU-XVIII) - Epoxisantamarina. (EU-XIX) - 1 β -hidroxiarbusculina(EU-XX) - 8 α -hidroxireinosina(EU-XXI)	- 3,4 β -epoxi-8-deoxicumambrina B. (GU-XLI) - Artecanina. (GU-XXXVI) - Canina. (GU-XX) - α peróxido de Tanapartina. (GU-XLII) - β peróxido de Tanapartina. (GU-XLIII) - 10- <i>epi</i> -canina. (GU-XLIV) - 8 α -hidroxi estafiatina. (GU-XLV) - 8 α -isobutiriloxi estafiatina. (GU-XLVI) - 8 α -angeloiloxi estafiatina. (GU-XLVII)

³² Hadjiakhondi, A., Ameri, N., Khalighi-Sigaroodi, F. and Rustaiyan, A. (2003) *DARU* **11**, 171-174.

³³ Rustaiyan, A., Sedaghat, S. (2006). ISHS Acta Horticulturae 677:III WOCMAP Congress on Medicinal and Aromatic Plants-Vol 3.

³⁴ Aljančić, I., Vajs, V., Bulatović, V., Menković, N. and Milosavljević, S. (2001) *Biochemical Syst. and Ecol.* **29**, 655-657.

³⁵ Mahmood, U., Kaul, V. K. and Singh, B. (2002) *Phytochemistry* **61**, 913-917.

³⁶ Todorova, M., Ognyanov, I. (1985). *Planta Médica* **2**, 174.

³⁷ Abad, M. J., Bermejo, P. And Villar, A. (1995) *General Pharmacology* **26**, 815-819.

³⁸ Martinez, J., Silván, A. M., Abad, M. J., Bermejo, P. And Villar, A. (1997) *J. Nat. Prod.* **60**, 142-144.

³⁹ Bohlmann, F. And Zdero, C. (1982) *Phytochemistry* **21**, 2543-2549.

⁴⁰ Milbrodt, M., Schröder, F. And König, W. A. (1997) *Phytochemistry* **44**, 471-474.

⁴¹ Williams, C. A., Harborne, J. B., Geiger, H. And Houlst, J. R. S. (1999) *Phytochemistry* **52**, 1181-1182.

⁴² Williams, C. A., Harborne, J. B., Geiger, H. And Houlst, J. R. S. (1999) *Phytochemistry* **51**, 417-423.

⁴³ Begley, M. J., Hewlett, M. M. Knight, D. W. (1989) *Phytochemistry* **28**, 940.

⁴⁴ Stefanovic, M., Mladenovic, S., Djermanovic, M. Ristic, N. (1985). *J. Serb. Chem. Soc.* **50**, 435.

Introducción

<i>Polycephalum</i> ¹¹	<ul style="list-style-type: none"> - Tatridina A. (GE-III) - Tatridina B (GE IV) - 1-<i>epi</i>-Tatridina B. (GE-IX) - Tamirina. (GE-XII) - 4α,5β-epóxido 1α-hidroxi-desoxotamirina. (GE-XXVIII) -4α,5β-epóxido 1α-hidroxi-desacetiltulirinol. (GE-XXVII) - Desacetilarenobolido. (GE-VI) - 1-peroxitatrídina B (GE-XXXVII) -1-peroxi-epi-tatrídina B (GE-XXXVIII) 		
<i>praeteritum ssp. praeteritum</i> ^{45 17 46}	<ul style="list-style-type: none"> - 1-<i>epi</i>-Tatrídina B. (GE-IX) - Tatridina A. (GE-III) - Tamirina. (GE-XII) 	<ul style="list-style-type: none"> - Douglanina. (EU-V) - Santamarina. (EU-IV) - Reynosina. (EU-XVIII) - Arglanina. (EU-XXII) - Ludovicina A. (EU-XXIII) - Ludovicina B. (EU-XXIV) - Armexino. (EU-XXV) - Armefolina. (EU-XXVI) - Armexifolina. (EU-XXVI) - 3α-hidroxireynosina. (EU-XXVII) - 3α-peroxiarmefolina. (EU-XXVIII) - 1α-hidroxi-1-desoxoarglanina. (EU-XXIX) - Praeterinolido. (EU-XXX) - Epoxisantamarina. (EU-XIX) - Tanapraetenolido. (EU-XXXI) 	
<i>pseudoachillea</i> ^{47 48 49}	<ul style="list-style-type: none"> - Tatridina A. (GE-III) - 1-<i>epi</i>-Tatrídina 	<ul style="list-style-type: none"> - Tanapsina. (EU-XXXII) - Taxillina. (EU-XXXIII) 	

⁴⁵ Gören, N. (1995) *Phytochemistry* **38**, 1261-1264.

⁴⁶ Lee, K. H., Geissman, T. A. (1970) *Phytochemistry* **9**, 403.

⁴⁷ Yunusov, A. I., Kasymov, S. H. Sidyakin, G. P. (1975) *Khim. Prir. Soedin.* **2**, 262

⁴⁸ Yunusov, A. I., Abdullaev, N. D., Kasymov, S. Z., Sidyakin, G. P. Yagudaev, M. R. (1976). *Khim. Prir. Soedin* **2**, 263

⁴⁹ Yunusov, A. I. Didyakin, G. P. (1979). *Khim. Prir. Soedin.* **15**, 411.

Introducción

	<p>B. (GE-IX) - Tanadina. (GE-XXXIX) - Tanacina. (GE-XL) - Desacetillaurenobiolido. (GE-VI) - dihidrodesacetil laurenobiolido. (GE-XLI)</p>		
<i>santolido</i> ⁵⁰	<ul style="list-style-type: none"> - 1α,3β-dihidroxi-7α,11βH-germacra-4Z-10 (14)-dien-12,6α-olida. (GE-XLII) - 1β,3β-dihidroxi-7α,11β-germacra-4Z-10 (14)-dien-12,6α-olida. (GE-XLIII) - 1α,3β-dihidroxi-7α,10β-epoxi-7α,11βH-germacra-4Z—en-12,6α-olida. (GE-XLIV) - 1α,3β-dihidroxi-7α,11βH-germacra-4Z-9Z-dien-12,6α-olida. (GE-XLV) 	<ul style="list-style-type: none"> - 1α,3β,4β-Trihidroxi-(5α,7α,11βH,10α-metil)-eudesman-12,6α-olida. (EU-XXXIV) 	
<i>santolina</i> ^{51 52}			<p>Cumambrina A(GU-XXIX) Cumambrina B(GU-XXX)</p>
<i>santolinoides</i> ⁵³	<ul style="list-style-type: none"> - dihidroridentina. (GE-XLVI) - 4-Z-1-epidihroridentina. (GE-XLVII) 	<ul style="list-style-type: none"> - Erivanina. (EU-IX) 	
<i>serotinum L</i> ⁵⁴		<ul style="list-style-type: none"> - Beogradolido A. (EU-XXXV) - Beogradolido B. (EU-XXXVI) 	

⁵⁰ Abdel-Mogib, M., Jakupovic, J., Dawidar, E. M., Metwally, M. E., Abou-Elzahab, M. (1989). *Phytochemistry* **28**, 268-271.

⁵¹ Yunusov, A. I., Sidyakin, G. P., Kurvanov, D. (1978). *Khim. Prir. Soedin* **5**, 656.

⁵² Abduazimov, B. K. H., Yunusov, A. I., Sidyakin, G. P. (1981). *Khim. Prir. Soedin* **16**, 452.

⁵³ Stepanova, T. A., Glyzin, V. I., Smirnova, L.P., Isaikina, A. P. (1981). *Khim. Prir. Soedin* **4**, 519

⁵⁴ Stefanovic, M., Mladenovic, S., Djermanovic, M., Ristic, N.(1982). *Glas. Hem. Drus.* **47**, 13.

Introducción

<p><i>Vulgare</i>^{41 42 55} 56 57 58</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Tatridina A. (GE-III) - Tatridina B. (GE-IV) - 1-<i>epi</i>-Tatridina B. (GE-IX) - Diacetato de 1-<i>epi</i>-tatridina B. (GE-XLVIII) - Diacetato de tatridina A. (GE-XLIX) - Tamirina. (GE-XII) - Partenolido. (GE-X) - Diepóxido costunolido. (GE-LI) - 4α,5β-epóxido de anhydroverlotorina. (GE-XXXVI) - Artemorina. (GE-XXXIV) - 4α,5β-epóxido de Artemorina. (GE-LI) - Crispolido. (GE-LII) - Desacetilpiretrosona (GE-LIII) 	<ul style="list-style-type: none"> - 1-<i>epi</i>-Ludovicina B. (EU-XXXVII) - 1-<i>epi</i>-ludovicina C. (EU-XXXVIII) - Armefolina. (EU-XXVI) - 1β-hidroxiarbusculina A. (EU-XXXIX) - Reynosina. (EU-XX) - Santamarina. (EU-IV) - Magnolialido. (EU-XL) - Tanacetina. (EU-XLI) - 3-α-hidroxireinosina. (EU-XXVII) - 3-<i>epi</i>-armefolina. (EU-XLII) - Dentatina A. (EU-III) - Taxillina). (EU-XXXIII) 	<p>-11,13-dehidrodesacetilmatricarina. (GU-XXVI)</p>
---	---	---	--

⁵⁵ Samek, Z., Holub, M., Grabarczyk, H., Drozd, B. And Herout, V. (1973) *Collection Czechoslov. Chem. Commun.* **38**, 1971-1975.

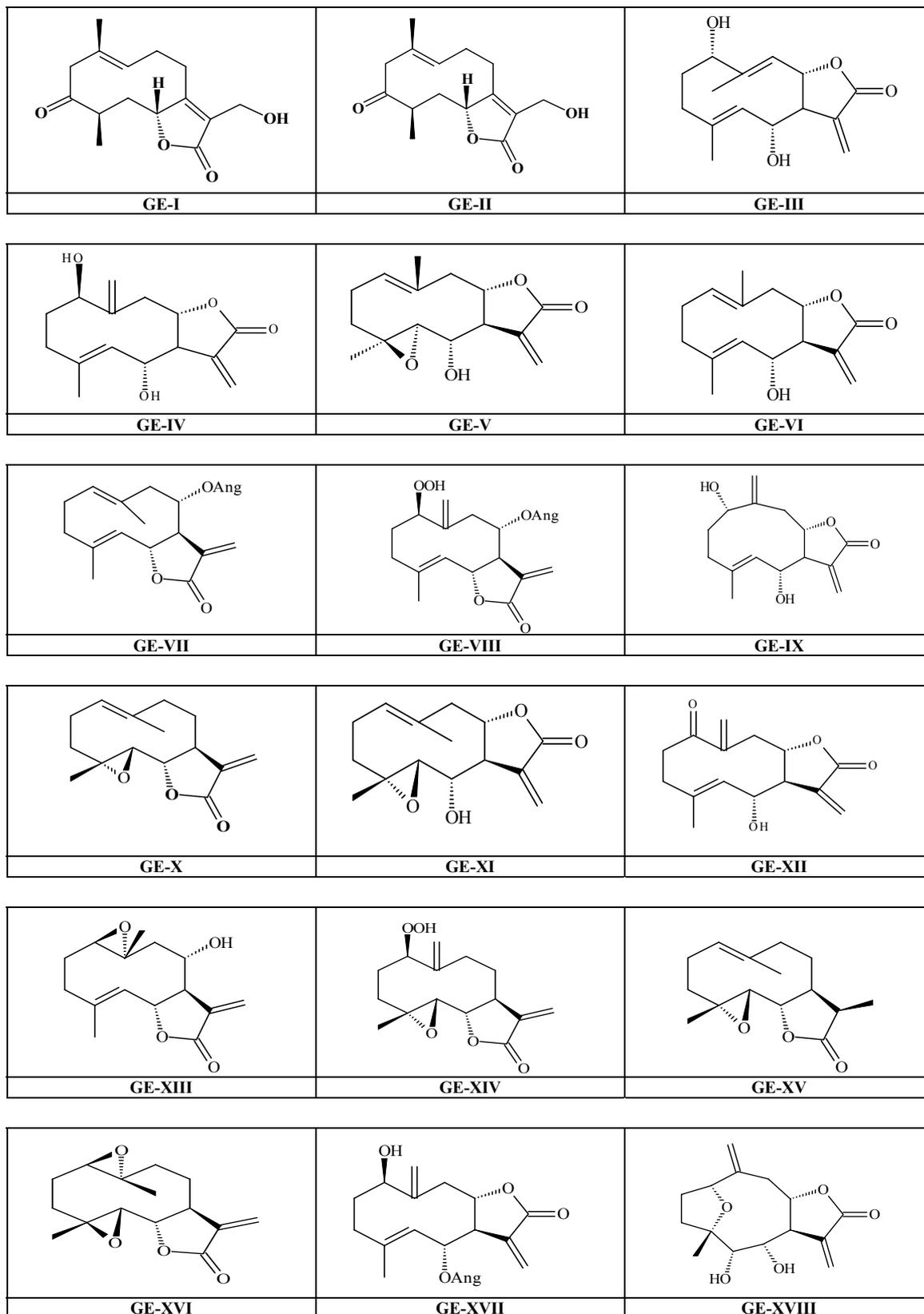
⁵⁶ Appendino, G., Gariboldi, P. And Nano, G. M. (1983) *Phytochemistry* **22**, 509-512.

⁵⁷ Ognyanov, I., Todorova, M. (1983). *Journal Of Medicinal Plant Research* **48**, 181-183.

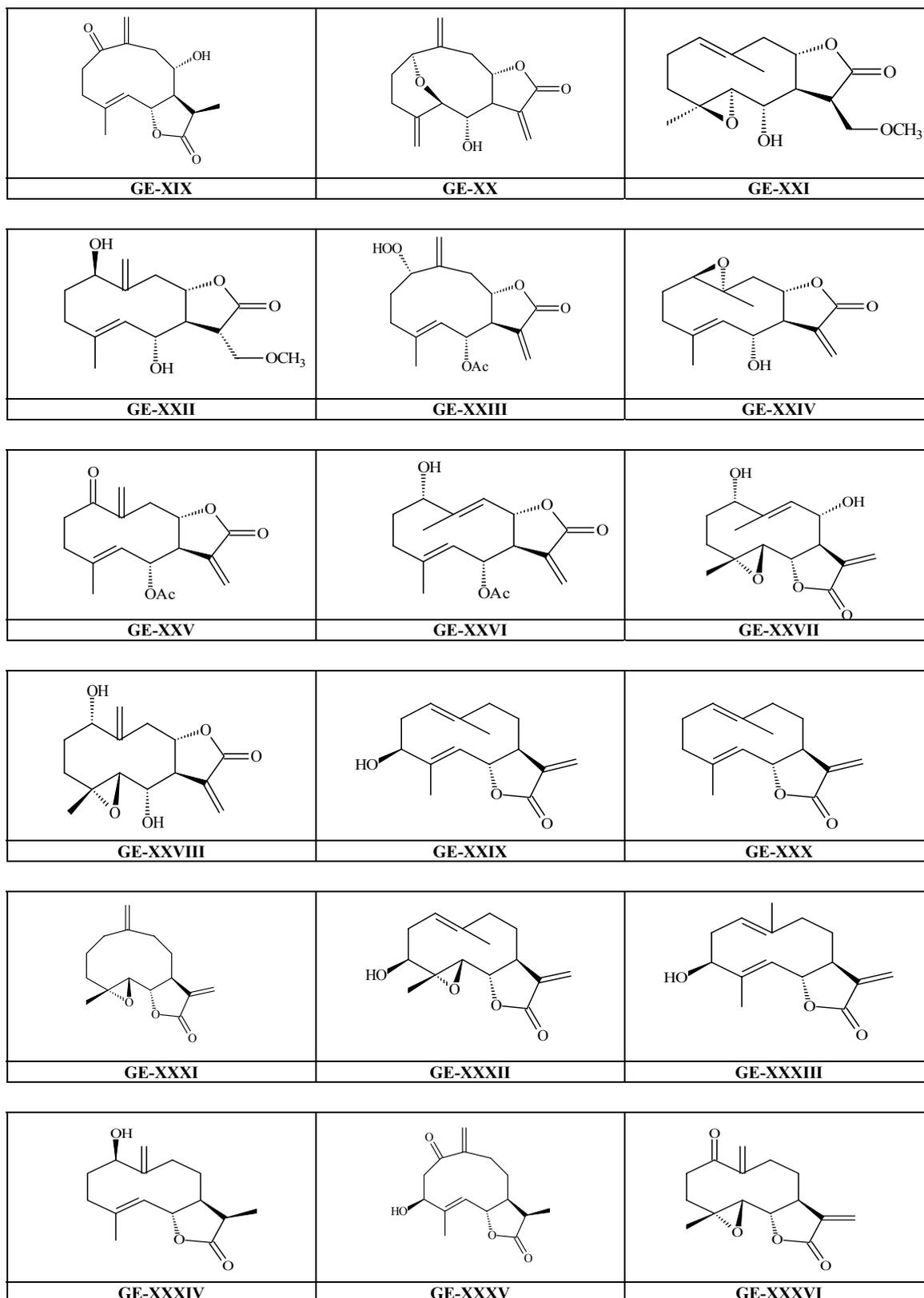
⁵⁸ Appendino, G., Garivoldi, P., Nano, G. M. (1982) *Phytochemistry* **21**, 1099-1102.

Introducción

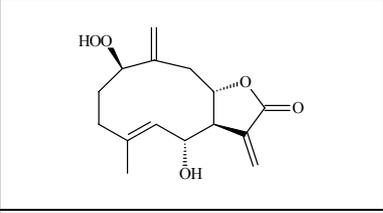
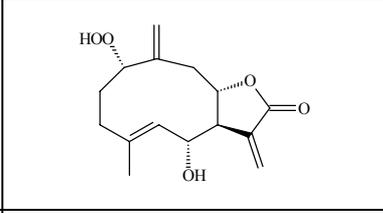
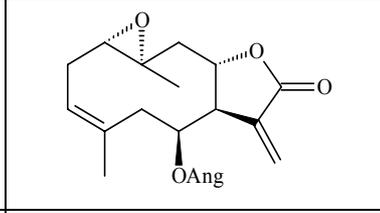
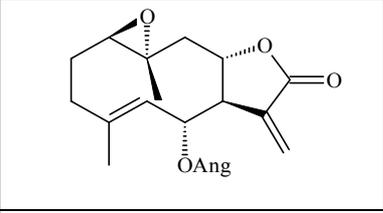
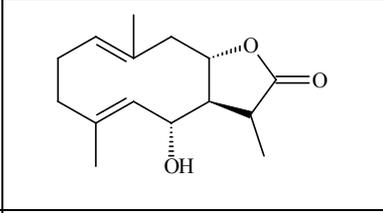
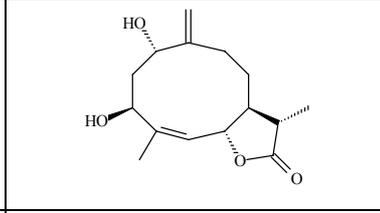
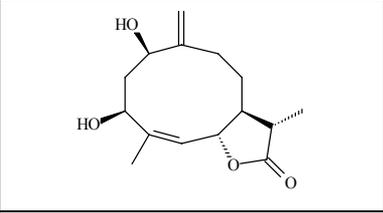
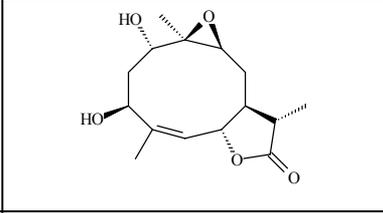
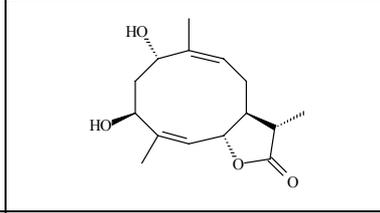
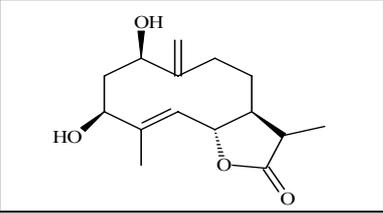
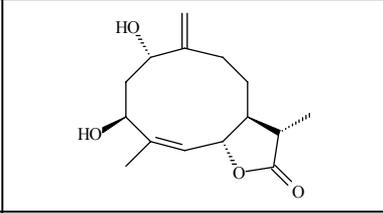
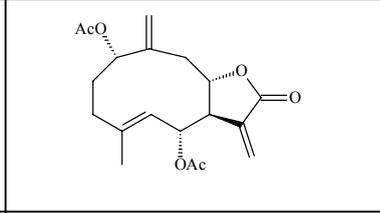
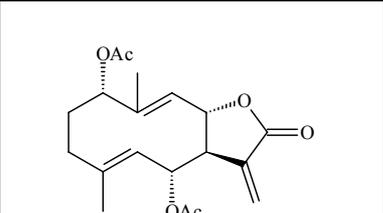
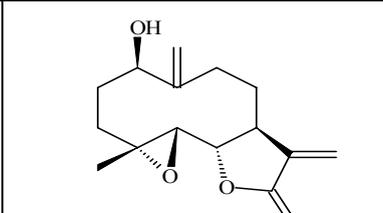
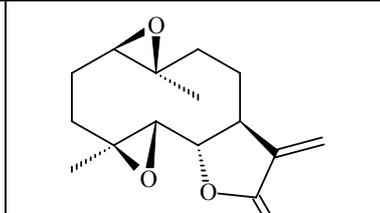
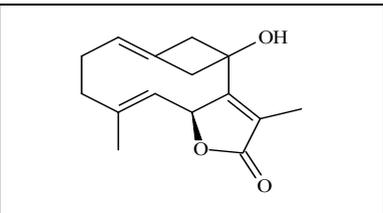
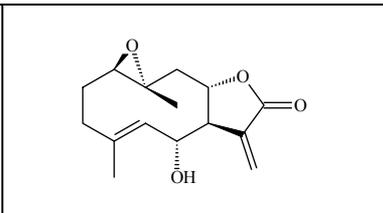
FIGURA 3. LACTONAS SESQUITERPÉNICAS TIPO GERMACRANOLIDA
Género Tanacetum



Introducción

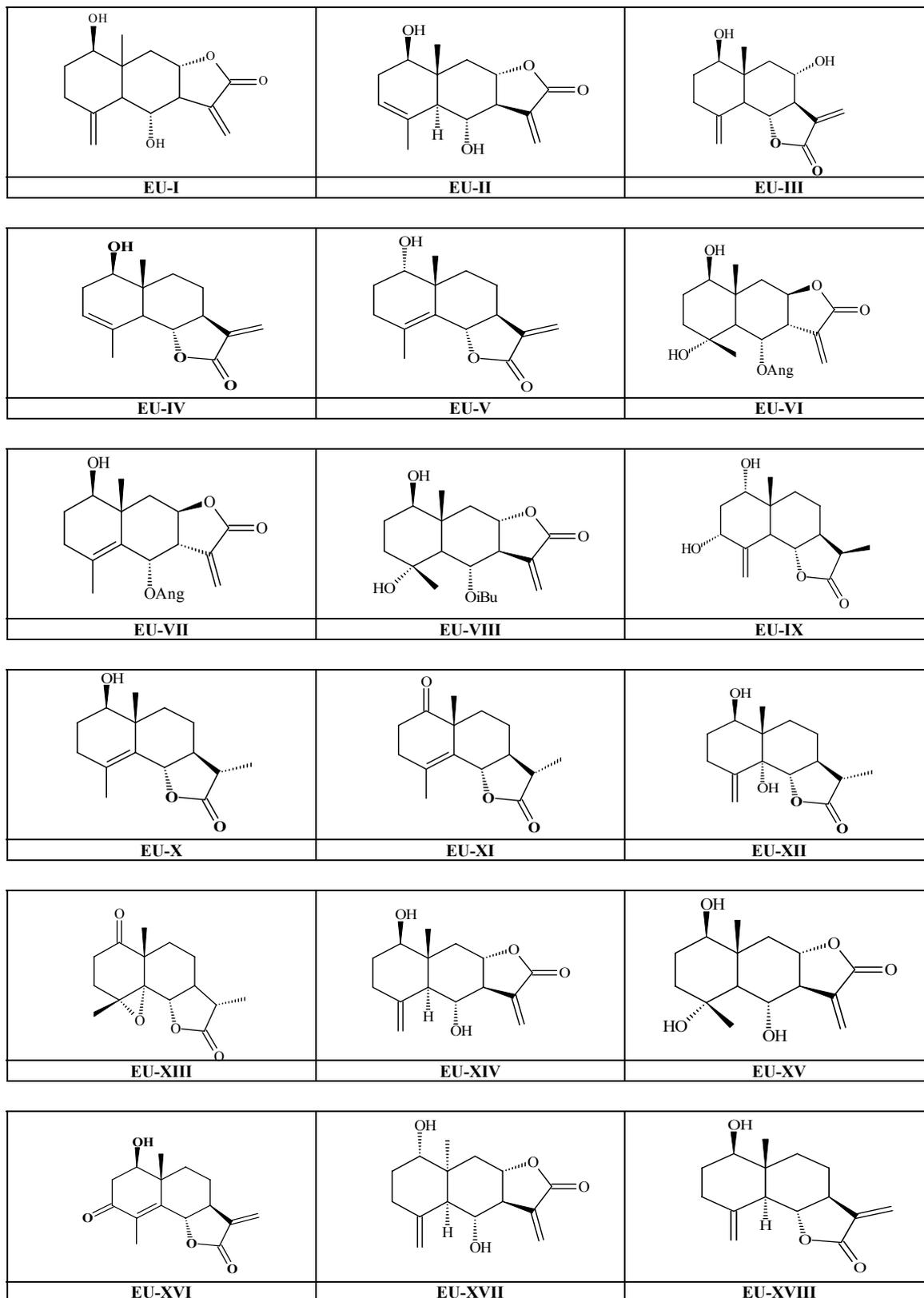


Introducción

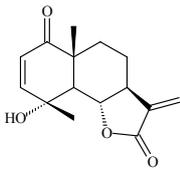
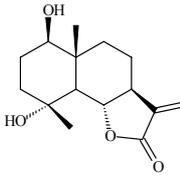
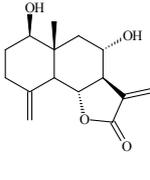
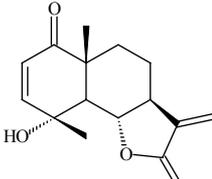
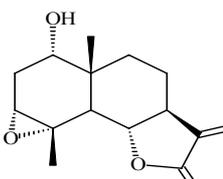
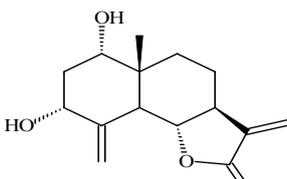
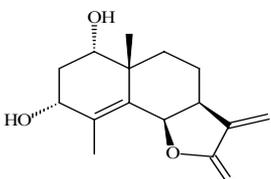
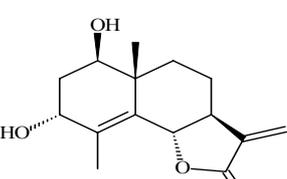
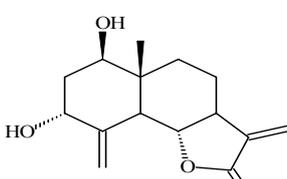
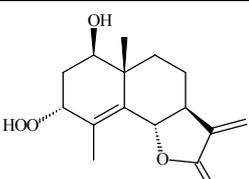
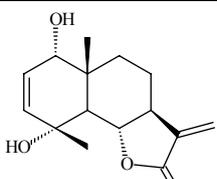
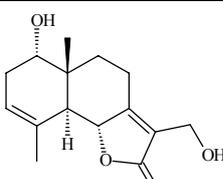
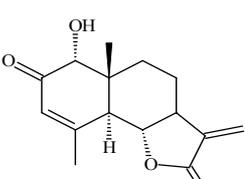
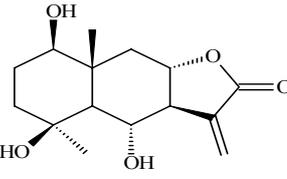
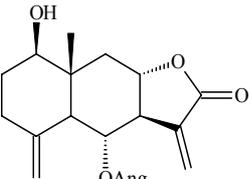
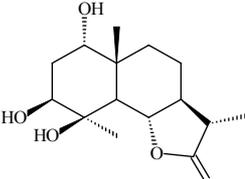
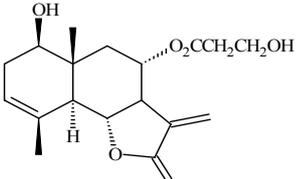
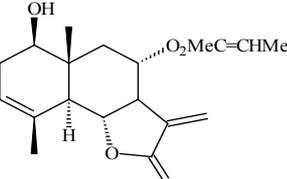
		
GE-XXXVII	GE-XXXVIII	GE-XXXIX
		
GE-XL	GE-XLI	GE-XLII
		
GE-XLIII	GE-XLIV	GE-XLV
		
GE-XLVI	GE-XLVII	GE-XLVIII
		
GE-XLIX	GE-L	GE-LI
		
GE-LII	GE-LIII	

Introducción

FIGURA 4. LACTONAS SESQUITERPÉNICAS TIPO EUDESMANOLIDA
Género Tanacetum



Introducción

		
EU-XXIX	EU-XX	EU-XXI
		
EU-XXII	EU-XXIII	EU-XXIV
		
EU-XXV	EU-XXVI	EU-XXVII
		
EU-XXVIII	EU-XXIX	EU-XXX
		
EU-XXXI	EU-XXXII	EU-XXXIII
		
EU-XXXIV	EU-XXXV	EU-XXXVI

Introducción

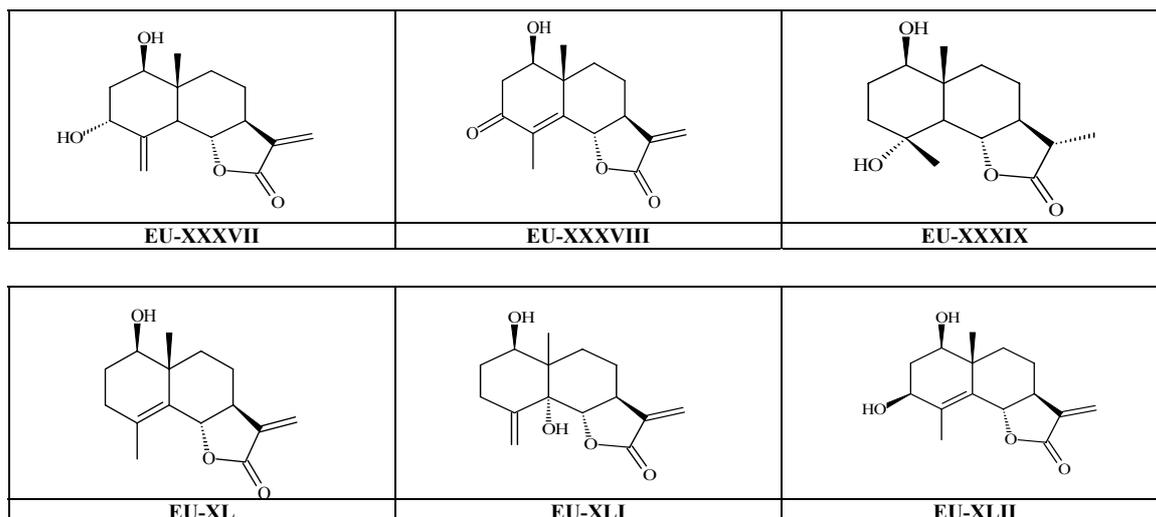
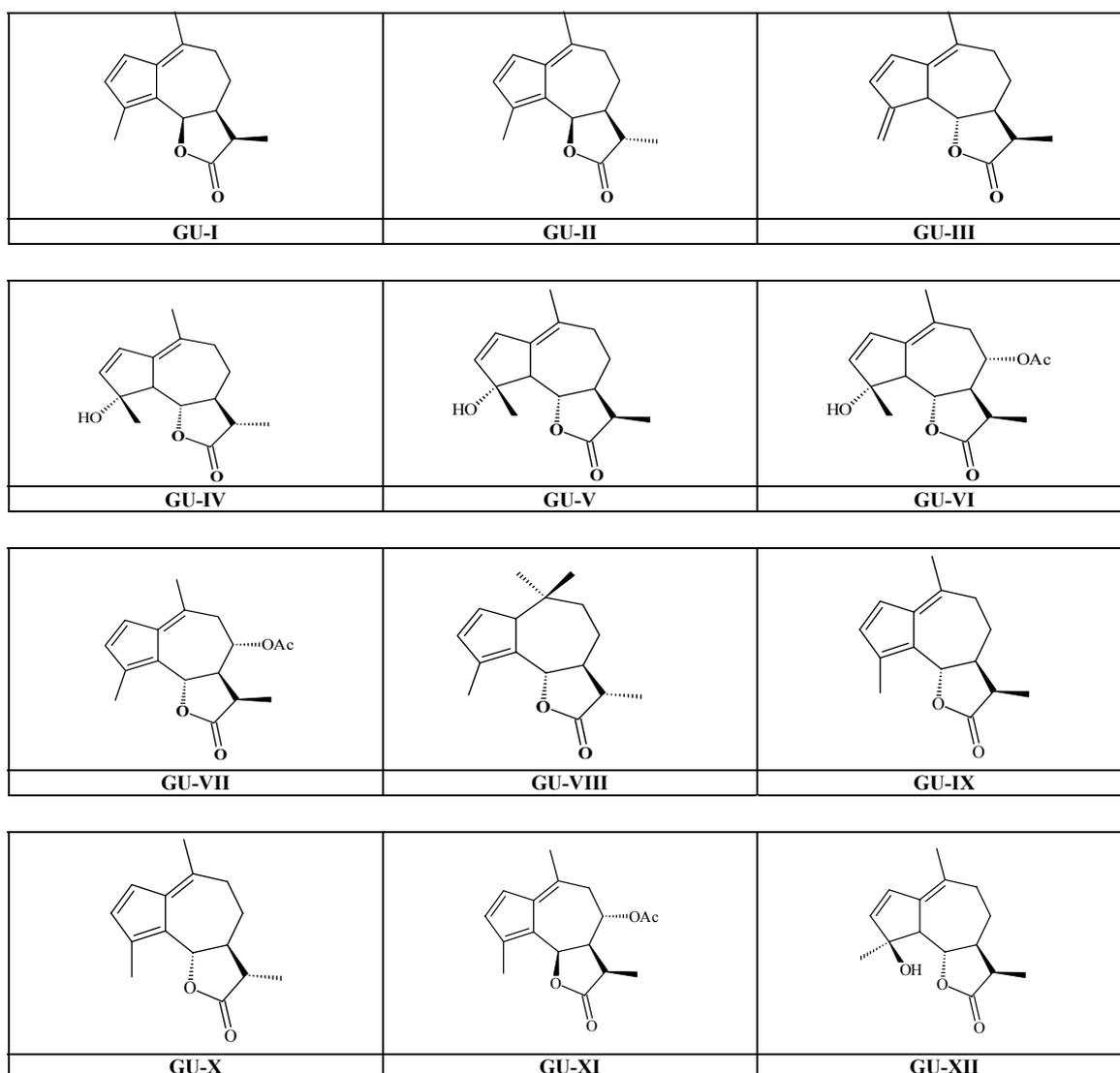
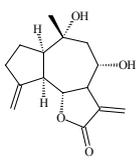
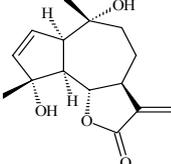
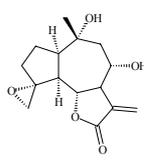
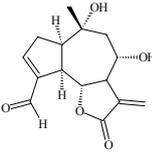
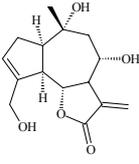
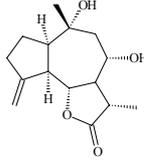
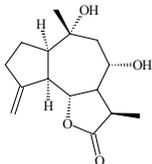
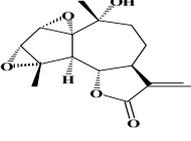
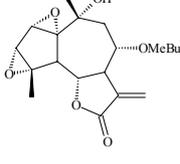
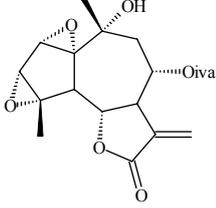
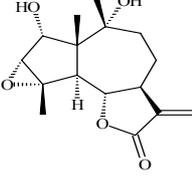
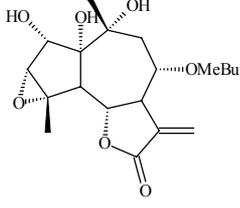
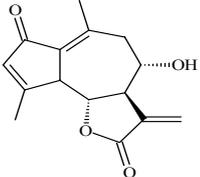
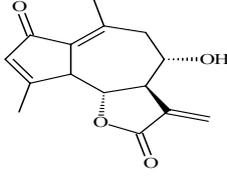
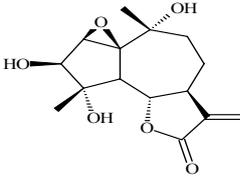
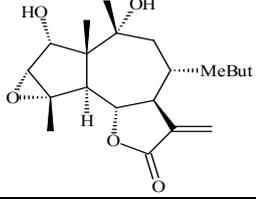
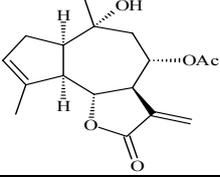
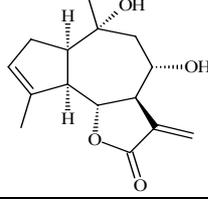


FIGURA 5. LACTONAS SESQUITERPÉNICAS TIPO GUAYANOLIDA

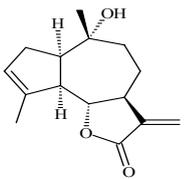
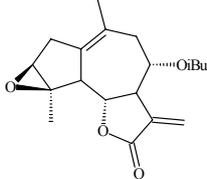
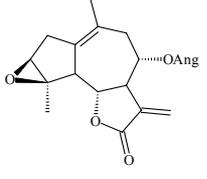
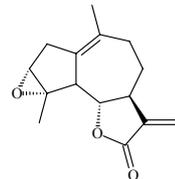
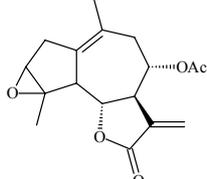
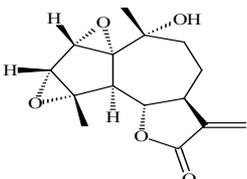
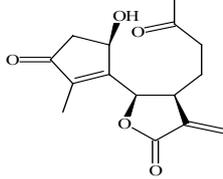
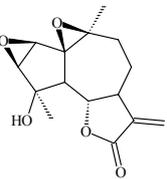
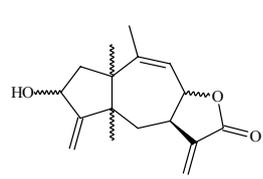
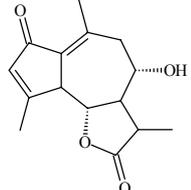
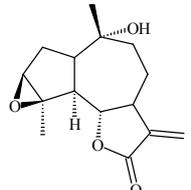
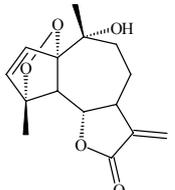
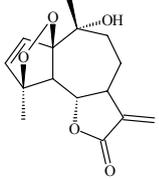
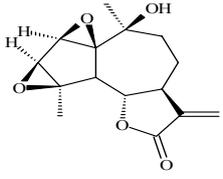
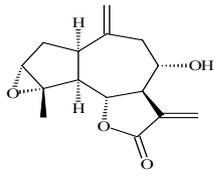
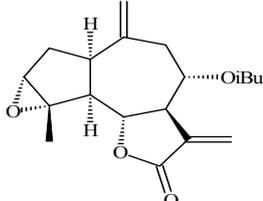
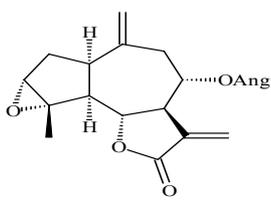
Género Tanacetum



Introducción

		
GU-XIII	GU-XIV	GU-XV
		
GU-XVI	GU-XVII	GU-XVIII
		
GU-XIX	GU-XX	GU-XXI
		
GU-XXII	GU-XXIII	GU-XXIV
		
GU-XXV	GU-XXVI	GU-XXVII
		
GU-XXVIII	GU-XXIX	GU-XXX

Introducción

		
GU-XXXI	GU-XXXII	GU-XXXIII
		
GU-XXXIV	GU-XXXV	GU-XXXVI
		
GU-XXXVII	GU-XXXVIII	GU-XXXIX
		
GU-XL	GU-XLI	GU-XLII
		
GU-XLIII	GU-XLIV	GU-XLV
		
GU-XLVI	GU-XLVII	

Introducción

Del análisis de los resultados obtenidos en la revisión realizada, las especies del género *Tanacetum* se pueden agrupar, desde un punto de vista químico en función de los tipos de lactonas sesquiterpénicas obtenidas, de la siguiente forma:

Grupo I.- Este grupo estaría constituido por todas aquellas especies que se caracterizan por poseer como patrón común la presencia de las lactonas *Tatridina A*, *Tatridina B* y sus derivados, y un predominio de las lactonas sesquiterpénicas del tipo germacranolida y eudesmanolida como productos mayoritarios. Este grupo sería también el que presentaría una mayor relación con las especies canarias.

- *T. argenteum* ssp. *argenteum*.
- *T. argenteum* ssp. *flabellifolium*.
- *T. argyrophyllum* var. *argyrofillum*.
- *T. cadmeum* ssp. *cadmeum*.
- *T. chilliophyllum* var. *Heinerlei*.
- *T. densum* ssp. *sivasicum*.
- *T. densum* ssp. *egienense*.
- *T. polycephalum*.
- *T. praeteritum* ssp. *praeteritum*.
- *T. pseudoachillea*.
- *T. vulgare*.

Grupo II.- Estaría constituido por aquellas especies que se caracterizan por tener además de germacranolidas y eudesmanolidas, lactonas del tipo guayanolida, siendo *Partenolido* y derivados un patrón común.

- *T. argenteum* ssp. *canum* var. *canum*.
- *T. densum* ssp. *amani*.
- *T. parthenium*.

Grupo III.- Lo constituyen todas aquellas especies cuyo patrón común es el predominio de lactonas sesquiterpénicas del tipo guayanolida.

- *T. annum*.
- *T. cilicium*.
- *T. fruticosum*.
- *T. longifolium*.
- *T. macrophyllum*.

Introducción

- *T. santolina*.

Grupo IV.- Lo constituyen aquellas especies que no se pueden situar en ninguno de los grupos anteriores, bien sea porque requieren un estudio más exhaustivos de los metabolitos secundarios presentes o bien porque los compuestos aislados no se corresponden con ninguno de los patrones indicados.

- *T. albipannosum*.
- *T. balsamita*.
- *T. larvatum*.
- *T. microphyllum*.
- *T. santolido*.
- *T. santolinoides*.

Los estudios químicos previos de las especies canarias de *Tanacetum*, concretamente *T. ferulaceum* y *T. ptarmiciflorum*, así como de las especies de *Gonospermum*: *G. canariense* de La Palma y *G. elegans* de El Hierro, ponen de manifiesto la estrecha relación existente entre las especies endémicas de *Tanacetum* y la especies de *Gonospermum*, concretamente en lo que se refiere a las lactonas sesquiterpénicas como caracteres taxonómicos como se puede observar en la tabla III y IV. Sin embargo, de un estudio previo de *G. fruticosum* no se reporta la presencia de lactonas sesquiterpénicas, indicándose solamente la presencia de alcoholes sesquiterpénicos derivados del costol⁵⁹.

El genero *Inulanthera* se caracteriza por la presencia predominante de lactonas sesquiterpénicas tipo guayanolida mientras que las especies canarias del género *Tanacetum* y las especies del género *Gonospermum* ya estudiadas se caracterizan por la presencia de lactonas tipo germacranolida y eudesmanolida y la ausencia total de guayanolidas.

⁵⁹ González, A., Bermejo, J., Triana, J., López, M., Eiroa, J.L., (1992). *Phytochemistry* **31**, 1816-1817.

TABLA III.- LACTONAS SESQUITERPÉNICAS GÉNERO *Tanacetum*
(Especies canarias)

Especie	Tipo Germacranolida	Tipo Eudesmanolida	Tipo Guayanolida	Alcoholes sesquiterpénicos
<i>ferulaceum</i> ^{60 61}	<ul style="list-style-type: none"> - Tatridina A. - Dehidrotatridina A. - Tatridina B. - Espiciformina. - 1α,10β-epoxidesacetil laurenobiolido. - costunolido. 	<ul style="list-style-type: none"> - Arbusculina A. - Desacetil-β-ciclo piretosina. - 6α-hidroxi-5,7αH,8β-eudesm-4(15)-en-8,12-olida. -4β,6α-dihidroxi-5,7αH,8βH-eudesm-8,12-olida. - Desacetil-8-ciclotulipinolido. - 6α-hidroxi-11,13-dihidro-5,7αH,8,11βH-eudesm-8,12-olida. - 4β,6α-dihidroxi-5,7αH,8,11β-eudesm-8,12-olida. - 8α-hidroxiarbusculina A. 		
<i>ptarmiciflorum</i> ⁶¹	<ul style="list-style-type: none"> - Tatridina A. - Tatridina B. - Espiciformina. 			<ul style="list-style-type: none"> - 1β-hidroxi-β-eudesmol.

⁶⁰ Gonzalez, A. G., Bermejo, J., Triana, J., Lopez, M., Eiroa, J. L. (1990). *Phytochemistry* **29**, 2339-2341.

⁶¹ Gonzalez, A. G., Bermejo, J., Triana, J., Lopez, M., Eiroa, J. L. (1992). *Phytochemistry* **31**, 1821-1822.

TABLA IV.- LACTONAS SESQUITERPÉNICAS GÉNERO *Gonospermum*

Especie	Tipo Germacranolida	Tipo Eudesmanolida	Tipo Guayanolida
<i>canariense</i> ⁶²	<ul style="list-style-type: none"> - Tatridina A. - Tatridina B. - Espiciformina. - 1β-hidroxi-1-deoxotamirina. - 4α,5β-epoxideacetil laurenobiolido. - 4α,5β-epoxido de 1α-hidroxi deacetiltulirinol. 	<ul style="list-style-type: none"> - Reynosina. - deacetil-β-ciclopiretrosina. - Sivasinolido. - 6-O-tiglato del deacetiltanapsina. 	
<i>elegans</i> ⁶³	<ul style="list-style-type: none"> - Tatridina A. - Tatridina B. - 1-<i>epi</i>-tatridina B. - Espiciformina. - 4α, 5β-epoxideacetil laurenobiolido. - 11,13-dihidrotatridina B. - 4α,5β-epóxido de 1α-hidroxi 1-desoxotamirina. - Eleganolactona B. - Elegaina. 	<ul style="list-style-type: none"> - Reynosina. - deacetil-β-ciclopiretrosina. - 4α,5β-epóxido de 1α-hidroxideacetiltulirinol. - Sivasinolido. - Eleganolactona A. 	

⁶² Triana, J., Lopez, M., Eiroa, J. L., Gonzalez, A., Bermejo, J. (2000). Biochemical Systematics And Ecology 28, 95-96.

⁶³ Triana, J., Lopez, M., Rico, M., Gonzalez, J., Quintana, J., Estevez, F., Leon, F., Bermejo, J. (2003). J. Nat. Prod. 66, 943-948.

Introducción

Introducción

OBJETIVOS

Introducción

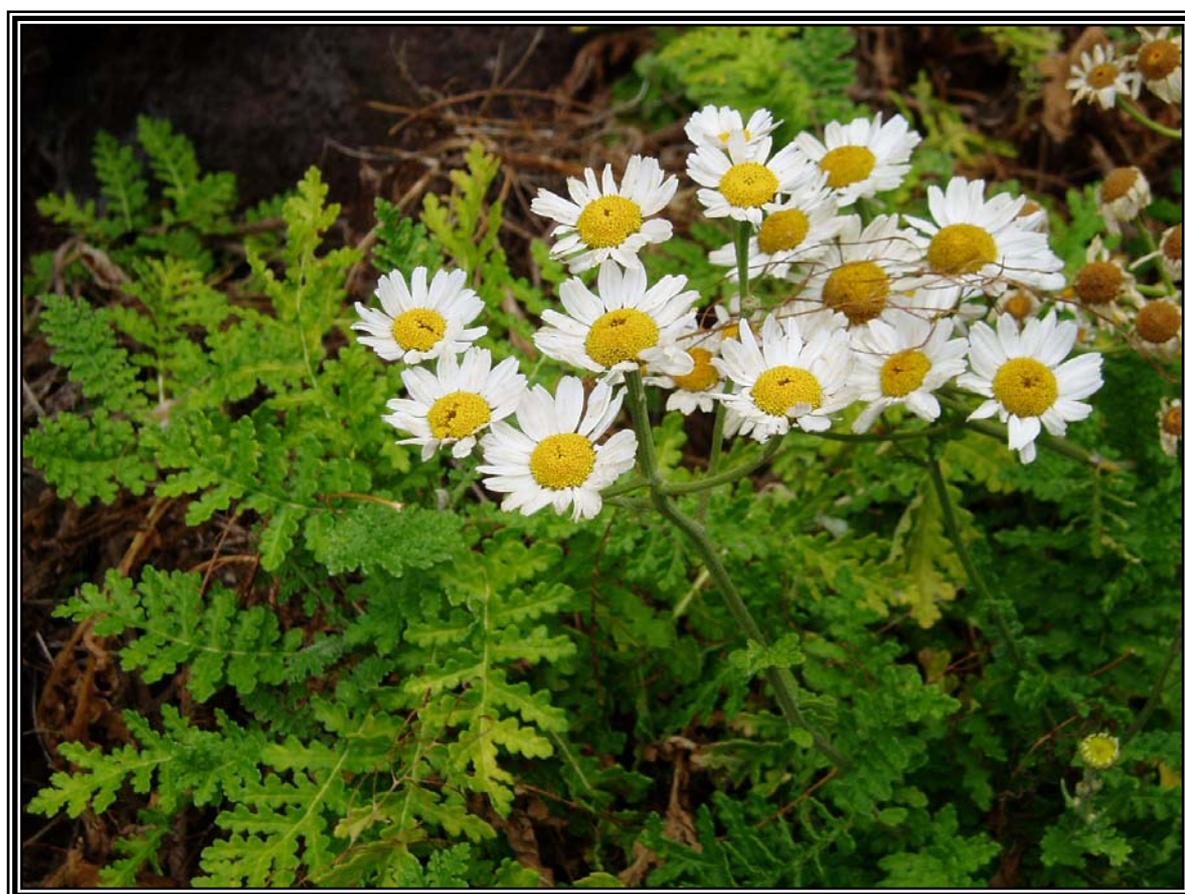
Introducción

Dentro de la línea de investigación que lleva a cabo el Grupo de Química Orgánica I del Departamento de Química de la UPLGC, correspondiente al aislamiento y elucidación estructural de productos de origen natural con la finalidad de evaluar la situación taxonómica y actividad biológica, la presente Memoria pretende alcanzar los siguientes objetivos:

1. Completar el estudio químico de todas las especies canarias de los géneros *Tanacetum*, *Lugoa* y *Gonospermum*, mediante el aislamiento e identificación de los metabolitos presentes en las especies que aún no han sido estudiadas, *Tanacetum oshanahanii*, *Lugoa revoluta* y *Gonospermum gomerae*, centrando dicho estudio en el análisis de los tipos de lactonas sesquiterpénicas presentes.
2. Dada la no presencia de lactonas sesquiterpénicas en el estudio químico previo realizado en nuestro laboratorio del *Gonospermum fruticosum* recolectado en Tenerife, se llevará a cabo la realización de una investigación más completa de dicha especie teniendo en cuenta que es la única de dicho género presente en más de una isla. Para ello, se estudiará de nuevo la especie haciendo recolecciones en la isla de Tenerife (en dos nichos ecológicos diferentes, Anaga y Güimar) y en las islas de La Gomera y El Hierro con el fin de observar la naturaleza de las sustancias encontradas.
3. Obtener resultados que apoyen la propuesta de estudios taxonómicos previos, que sugieren una segregación de las especies del género africano *Inulathera* de la subtribu *Gonosperminae*, tomando como referencia la presencia de compuestos químicos, de manera análoga a la realizada entre los género *Pentzia* y *Athanasia*.
4. Poner de manifiesto la estrecha relación entre los géneros *Gonospermum* y *Lugoa* con las especies canarias del género *Tanacetum*, tomando como base los tipos de lactonas sesquiterpénicas presentes y apoyar la sugerencia de la fusión de todas estas especies en un único género endémico.
5. Realización de ensayos de actividad biológica de productos obtenidos que puedan ser de interés para su aplicación tanto desde el punto de vista farmacológico como agrícola, así como modificaciones estructurales que aumente dicha actividad.

Lugoa revoluta (DC.) Sch. Bip.

Parte teórica



La *Lugoa revoluta* (DC.) Sch. Bip. es una planta endémica de la región de Anaga en Tenerife. Se distribuye por las rocas costeras entre los 20 y 200 metros sobre el nivel del mar a lo largo de Punta del Hidalgo, Taganana y Roque Bermejo.

Es una planta subfruticosa de 40 a 50 cm de altura, perenne. Sus hojas se disponen en espiral en la base de las ramas formando una roseta más o menos compacta, más laxa a medida que se asciende en el tallo, pinnasectas con pinnas oblongas, obtusas, irregularmente lobuladas con márgenes revolutos y raquis entero alado. Escapos florales en corimbos simples. Involucro hemiesférico de 1 cm de ancho con capítulos multifloros, heterógamos. Las flores son radiales 1-serie, liguladas, femeninas con lígulas oblongas, de color blanco con el ápice 3-crenado, estilo bifurcado, exerto, y con las ramas arqueadas, ápice truncado, bifurcado. Las flores del disco hermafroditas, tubulares con dientes triangulares y estilo exerto en grupos de 5, ecaudadas. Florece en el mes de Mayo y fructifica en Junio.

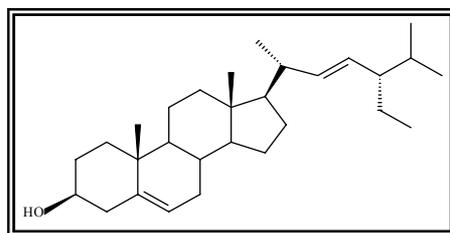
La extracción de esta planta con etanol hasta agotamiento y posterior tratamiento del extracto tal y como se describe en la parte experimental, nos permitió obtener un líquido de aspecto siruposo que por posterior cromatografía en columna dio como resultado la obtención de 15 sustancias cuyo estudio pasamos a describir en función de sus relaciones estructurales y las cuales hemos agrupado de la siguiente forma:

- 1 Esterol
- 2 Cumarinas
- 2 Flavonoides
- 10 Lactonas sesquiterpénicas:
 - 8 Tipo Germacrano
 - 2 Tipo Eudesmano

Esterol

Sustancia 1

La sustancia **1** se obtuvo a partir de las fracciones 26 a 41 de la cromatografía general como un sólido cristalino de punto de fusión 166-168°C. Da positivo en ensayo de Liebermann-Burchard y el análisis en cromatografía en capa fina hizo pensar que se trataba de un esteroide, siendo sus datos espectroscópicos totalmente superponibles a los de una muestra auténtica de **estigmasterol**⁶⁴.



1

Cumarinas

Sustancia 2

Esta sustancia se obtuvo de las fracciones 42 a 54 de la cromatografía general como un sólido cristalino de punto de fusión 144-146 °C. Presenta una fluorescencia azul cuando es expuesta a la luz ultravioleta lo que sugiere que puede tener naturaleza cumarínica. Analizando su espectro de masas se observa el ión molecular $[M^+]$ a m/z 206 que concuerda con la fórmula molecular $C_{11}H_{10}O_4$ y el espectro I R muestra bandas de absorción típicas del grupo cumarínico (1725 y 1620 cm^{-1}). Esto se confirma mediante el espectro de $^1\text{H-RMN}$ (Fig. 6) que da las señales siguientes: dos singuletes a δ 3,92 y 3,95 correspondientes a dos grupos metoxilos; un singulete que asignamos a los protones H-5 y H-8; un doblete a δ 6,29 ($J=9,4$) perteneciente a H-3 y otro doblete a δ 7,62 ($J=9,4$) de H-4.

⁶⁴ Shoppee, Ch.W., (1964). In Chemistry of the Sterols. Butterworths, London, pp. 62-63.

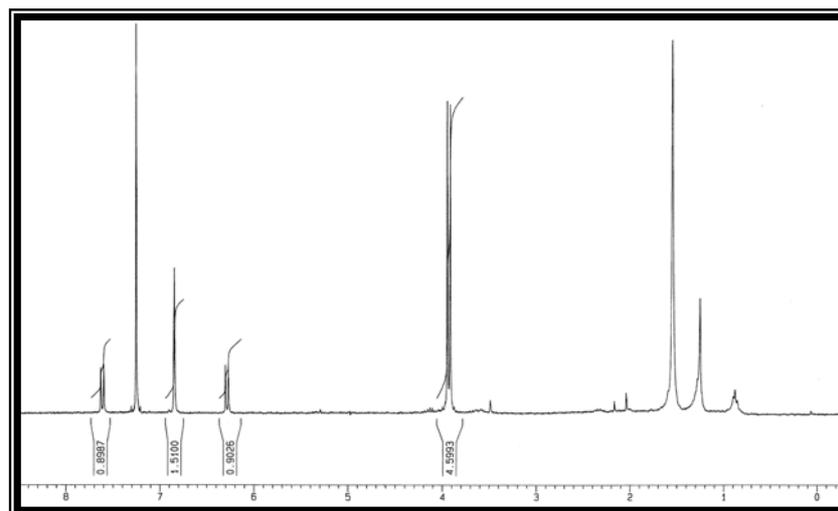
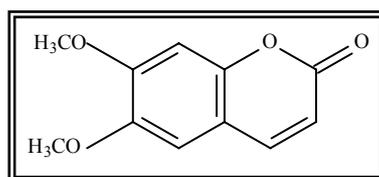


Figura 6. Espectro de ^1H -RMN de la sustancia 2.

Los datos físicos y espectroscópicos así como la comparación directa con una muestra auténtica en cromatografía en capa fina nos indicó que nuestra sustancia se corresponde con la “Escoparona”⁶⁵.



2

Sustancia 3

Sólido cristalino de punto de fusión 203-204°C separado en las fracciones 42-54 de la cromatografía general y que presenta un comportamiento en cromatografía en capa fina similar al de la sustancia anterior así como fluorescencia azul a la luz ultravioleta.

El ion molecular que presenta la espectrometría de masas a m/z 192 corresponde con la fórmula molecular $\text{C}_{10}\text{H}_8\text{O}_4$; también se detecta un fragmento intenso a m/z 177 $[\text{M}-\text{Me}]^+$. El espectro IR presenta las bandas de absorción de grupos hidroxilos (3507 cm^{-1}) y del grupo cumarínico (1705 y 1620 cm^{-1}).

El espectro de ^1H -RMN (Fig. 7) presenta las siguientes señales: a δ 3,95 un singlete correspondiente a un metoxilo aromático; dos dobletes a δ 6,27 y 7,59 con una

⁶⁵ Murray, R.H.D. , Méndez, J., Brown, S.A., (1982) The Natural Coumarins. John Wiley, Chichester, UK.

constante de acoplamiento para ambos de 9,5 típicos de los protones α y β cumarínicos y dos singuletes correspondientes a sendos protones aromáticos H-5 y H-8 a δ 6,92 y 6,85 respectivamente.

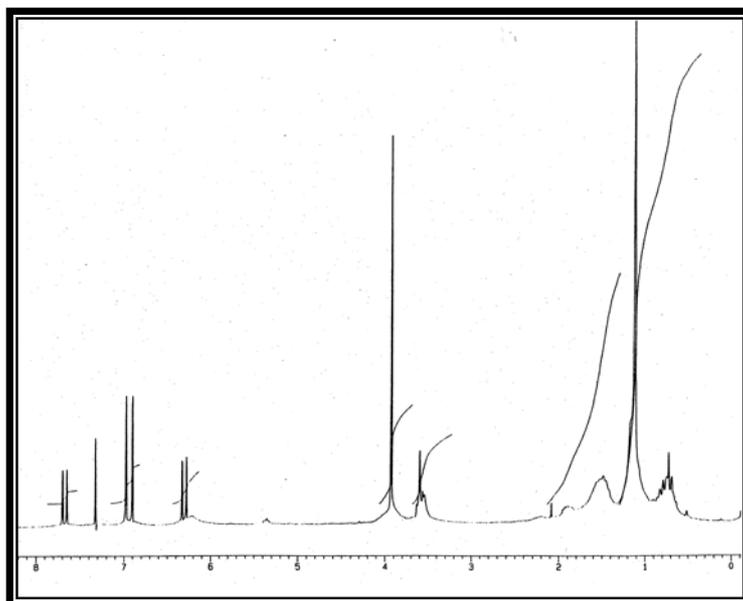
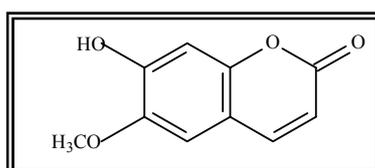


Figura 7. Espectro de ^1H -RMN de la sustancia **3**.

Analizados los datos físicos y espectroscópicos de la sustancia **3** proponemos para la misma la estructura **3**. Sus datos son totalmente coincidentes con los encontrados en la bibliografía para la **escopoletina**⁶⁵.



3

Flavonoides

Sustancia 4

De las fracciones 42-54 de la cromatografía general se obtuvo un sólido cristalino de punto de fusión 338-340°C, y que presenta coloración amarilla en cromatografía en capa fina tras el revelado.

En su espectro de masas se registra el ion molecular a m/z 270, valor que coincide con la fórmula $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_5$. Su espectro U.V. presenta dos bandas de absorción a 335 y 267 nm lo que sugiere la naturaleza flavonoide de esta sustancia. Para determinar

la posición de los grupos hidroxilo se procedió a la adición de reactivos de desplazamiento y posterior análisis por espectroscopía de U.V. Los resultados se presentan en la tabla siguiente:

Ensayo	Banda I	Banda II	Conclusiones
MeOH	234,5	271,5	Flavona
MeOH/MeONa	401,5	276,5 327,0	4' -OH
MeOH/MeONa (5 min)	401,5	276,5 325,5	
MeOH/AlCl ₃	379,5 357	280,0 302,0	
MeOH/AlCl ₃ /HCl	349	301	No -OH en orto

Tabla V. Espectro ultravioleta de la sustancia 4.

Las señales registradas en el espectro de ¹H-RMN (Fig. 8) se asocian a los protones de la molécula de la manera siguiente: el singulete a δ 6,65 corresponde al protón aromático H-3; dos dobletes a δ 6,46 y 6,57 con sendas constantes de acoplamiento de 2,0 Hz pertenecen a los protones aromáticos H-6 y H-8 respectivamente; y dos dobletes, que integran a dos protones cada uno y con constantes de acoplamiento de 9,0 Hz, se asignan a los protones H-3' y H-5' ($\delta=7,10$) y H-2' y H-6' ($\delta=7,84$). Finalmente y a campo muy bajo δ 11,77 aparece el singulete correspondiente a un protón de un grupo hidroxilo.

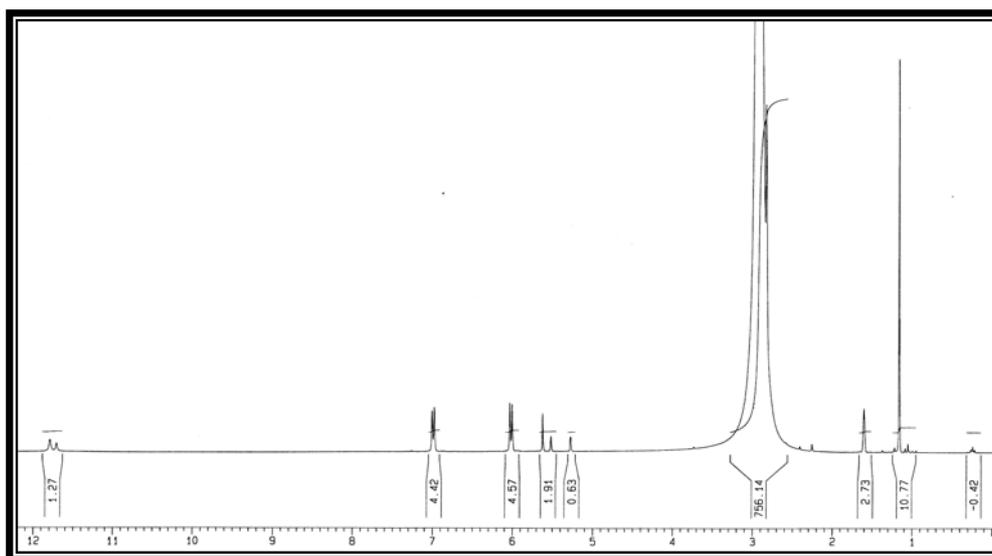
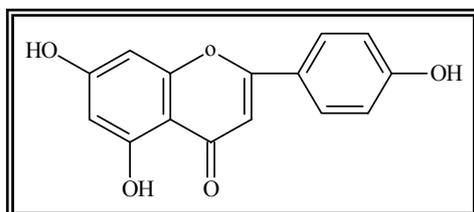


Figura 8. Espectro de ¹H-RMN de la sustancia 4.

De los datos anteriores deducimos que nuestra sustancia se corresponde con la estructura **4',5,7, trihidroxiflavona**, datos que son totalmente coincidentes con los reportados por la bibliografía para la **apigenina**⁶⁶.



4

Sustancia 7

Fue obtenida de las fracciones 55-64 de la cromatografía general como un sólido cristalino de punto de fusión 229-230°C y que presenta coloración amarilla en cromatografía en capa fina después de revelado.

La naturaleza flavonoide de esta sustancia se justifica por: a) los datos recogidos de la espectrometría de masas que muestran la existencia de un ion molecular a m/z 330, que corresponde a la fórmula molecular $C_{17}H_{14}O_7$, así como un fragmento intenso a m/z 315 $[M-Me]^+$; b) el espectro de U.V presenta dos bandas de absorción a 342,5 nm (banda I) y 271.0 nm (banda II) y c) su coloración amarilla y su intensificación con NaOH. La posición de los hidróxilos fue determinada como anteriormente, recogiéndose los resultados del análisis por espectroscopia de UV en la tabla siguiente:

Ensayo	Banda I	Banda II	Conclusiones
MeOH	342,5	271,0	Flavonol No 2 OR en anillo B
MeOH/MeONa	400,5	275,0 327,0 i	4' -OH
MeOH/AlCl ₃	370,0	280,0 305,0 i	5 -OH 6 -OCH ₃
MeOH/AlCl ₃ /HCl	359,0	280,0 305,0 i	5-OH No OH en orto
MeOH/AcONa	362,0	273,0 299,0 i	7-OH
MeOH/AcONa/H ₃ BO ₃	344,0	271,5	---

⁶⁶ Sashida, Y., Nakata, H., Shimomura, H., Kagaya, M. (1983). *Phytochemistry*, **22**, 1219.

El análisis del espectro de ^1H -RMN (Fig. 9) confirma la presencia de cuatro protones en un anillo aromático como dos dobletes a δ 6,92 ($J=9,0$) y 7,90 ($J=9,0$), además de un quinto como singulete a δ 6,49 situado en C-8. Los tres singuletes restantes se asignan a dos grupos metoxilos a δ 3,73 y 3,76 y al hidroxilo en C-5 (δ 12,74).

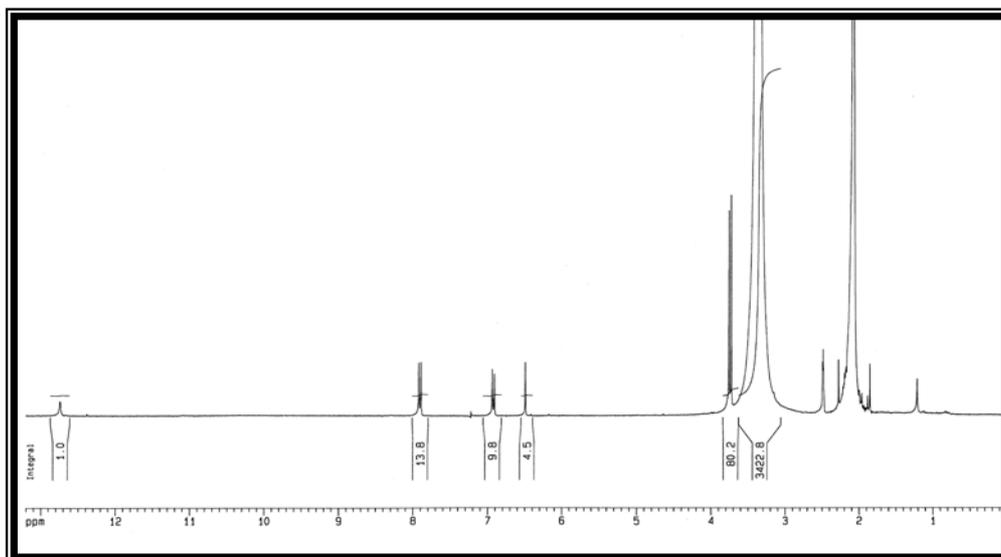
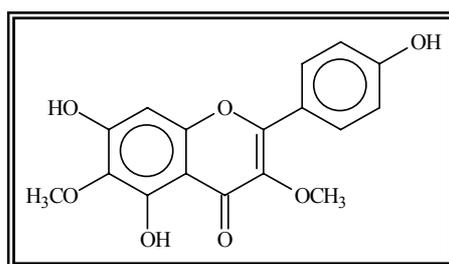


Figura 9. Espectro de ^1H -RMN de la sustancia 7.

La estructura propuesta para esta sustancia es la **7** cuyos datos físicos y espectroscópicos coinciden con los descritos en la bibliografía para la sustancia **5, 7, 4'-trihidroxi-3,6-dimetiloxiflavona**⁶⁷.



7

⁶⁷ Rosler, H., Star, A. E., Mabry, T. J. (1971). *Phytochemistry*, **10**, 450

Lactonas sesquiterpénicas**Sustancia 6**

Esta sustancia fue aislada a partir del conjunto de fracciones comprendidas entre la 42 y la 54 como un sólido cristalino de punto de fusión 156-157°C. Los datos obtenidos de la espectrometría de masas confirman la existencia de un fragmento a m/z 246 $[M-H_2O]^+$ que, aunque no aparece el ion molecular, se corresponde con la fórmula $C_{15}H_{20}O_4$, lo que sugiere la posibilidad de que se trate de una lactona sesquiterpénica. Además, el espectro de IR incluye las bandas de absorción propias del grupo hidroxilo (3470 cm^{-1}), γ -lactona (1765 cm^{-1}) y dobles enlaces (1650 cm^{-1}).

Las señales presentes en el espectro de ^1H -RMN (Fig. 10) muestran la existencia de un agrupamiento α -metileno- γ -lactona como dos dobletes a δ 6,32 y 6,24, cuyas constantes de acoplamiento son 3,2 y 3 Hz, respectivamente. El doblete a δ 5,44, de constante de acoplamiento de 10,3 Hz, se asocia al protón vinílico presente en C-5. Los multipletes registrados a 4,11 y 4,23 de desplazamiento químico corresponden a los protones de cierre de la lactona y geminal al grupo hidroxílico. Las posiciones de los picos correspondientes al protón situado en C-1 ($\delta=2,68$) y al grupo metilo en C-10 ($\delta=1,45$) determinan la existencia de un grupo epóxido entre ambos carbonos. Finalmente el singulete a 1,84 se asocia al metilo vinílico presente en C-4.

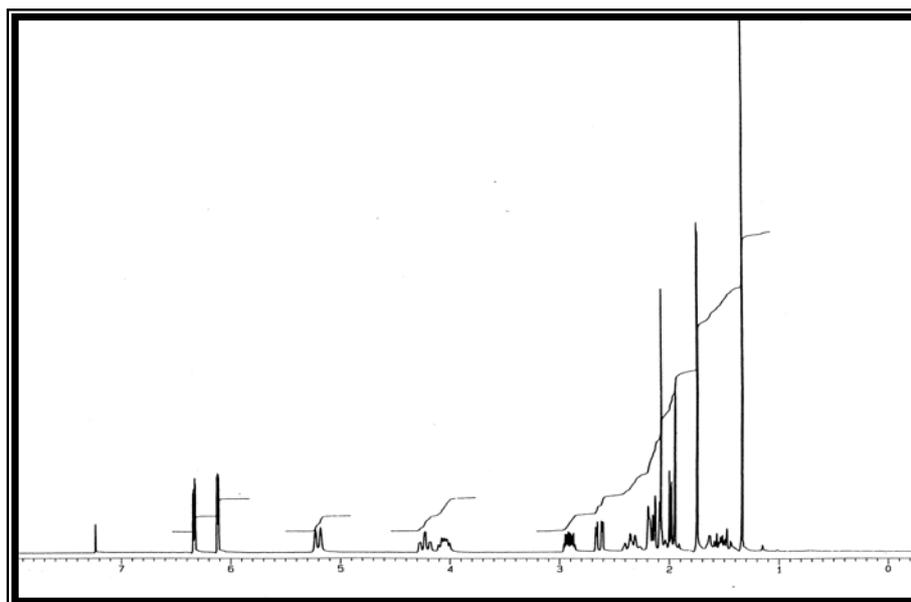
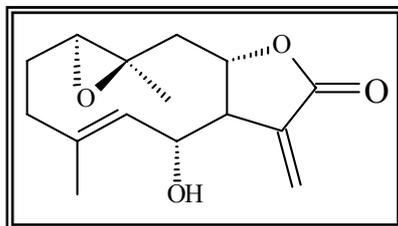


Figura 10. Espectro de ^1H -RMN de la sustancia 6.

Proponemos como estructura para nuestra sustancia la correspondiente a **6**, cuyos datos físicos y espectroscópicos coinciden con los que la bibliografía aporta para **1 α ,10 β -Epoxidesacetillaurenobiolido**⁶⁸.



6

Sustancia 10

Presente en las fracciones 64 a 74 de la cromatografía general, esta sustancia fue aislada como un sólido cristalino de punto de fusión 153-155°C. Sus datos espectroscópicos indican que esta sustancia es una lactona sesquiterpénica. Así, aunque los resultados de la espectrometría de masas no incluyen la señal del ion molecular, sí el de un fragmento de m/z 246 correspondiente a $[M-H_2O]^+$ y concordante con la fórmula $C_{15}H_{20}O_4$. Por otra parte, el espectro de IR muestra bandas de absorción a 3350 cm^{-1} (grupo hidroxilo), 1755 (grupo γ -lactona) y 1660, (dobles enlaces).

El espectro de 1H -RMN (Fig. 11) muestra las siguientes señales: dos típicos dobletes del agrupamiento α -metileno- γ -lactona a δ 6,29 ($J=3,0$ Hz) y 6,19 ($J=3,0$ Hz); dos protones vinílicos como dobletes a δ 5,31 ($J=10,2$ Hz), asignado al protón en C-9, y δ 4,98 ($J=10,5$ Hz) para el situado en C-5; un doblete a δ 4,38 ($J= 5.0$ Hz y 4,9 Hz) y un doblete a δ 4,50 ($J=10,5$ Hz) correspondientes a dos protones geminales a grupos hidroxílicos en C-1 y C-6 respectivamente, y dos metilos vinílicos representados por dos singuletes a δ 1,77 y 1,81.

La presencia de dos grupos hidroxilos fue confirmada cuando, una vez obtenido el derivado acetilado **10a** y analizado el espectro 1H -RMN del mismo se observaron dos singuletes a δ 2,01 y 2,08 correspondientes a los grupos acetilo, así como los desplazamientos de los protones geminales a estos grupos apareciendo ahora como una sola señal tipo multiplete ($\delta =5,42$ Hz) que engloba a ambos protones y al protón vinílico situado en el carbono 9.

⁶⁸ Bohlmann, F., Jakupovic, J., Maniruddin, A., Schuster, A. (1983). *Phytochemistry*, **22**, 1623-1636

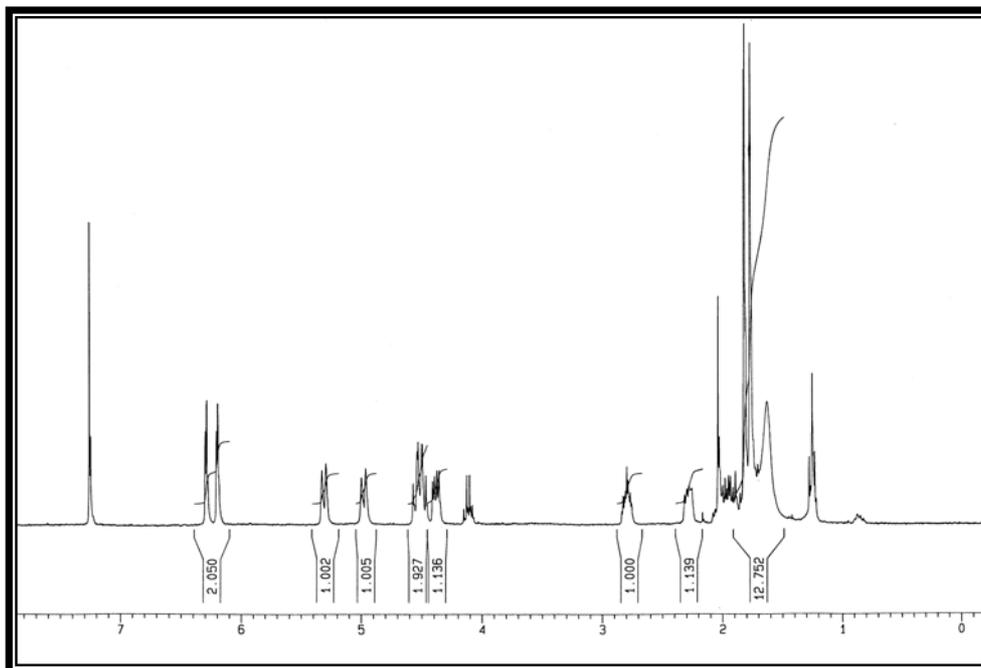
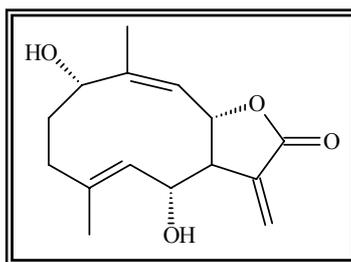


Figura 11. Espectro de ^1H -RMN de la sustancia **10**.

Proponemos como estructura para nuestra sustancia la **10**, y una vez analizados los datos físicos y espectroscópicos vemos que coinciden con los que la bibliografía da para la **tatridina A**⁶⁹.



10

⁶⁹ Ognyanov, I. Todorova, M. (1983). *Planta Médica*, **48**, 181.

Sustancia 8

Se aisló esta sustancia a partir del proceso cromatográfico de las fracciones 65-74 como un aceite incoloro. Su comportamiento en capa fina y sus datos espectroscópicos son muy similares a los de la sustancia anterior ya que la espectrometría de masas da como resultado la presencia de un ion molecular a m/z 280 que corresponde con la fórmula molecular $C_{15}H_{20}O_5$, así como los fragmentos a m/z 262 $[M - H_2O]^+$ y $[262 - Me]^+$, mientras que el espectro de IR registra absorciones típicas de grupos hidroxilo (3459cm^{-1}), grupo γ -lactona (1761cm^{-1}) y dobles enlaces (1653cm^{-1}).

El espectro de ^1H -RMN (Fig. 12) también muestra señales muy similares al de la sustancia anterior. Así, se observan dos dobletes característicos del agrupamiento α -metileno- γ -lactona a δ 6,21 ($J=3,0\text{ Hz}$) y 6,26 ($J=3,4\text{ Hz}$); un singulete a δ 5,38 ($J=10\text{ Hz}$) correspondiente a un protón vinílico en C-9; los protones geminales a grupos hidroxilos aparecen ahora como un doblete a δ 4,73 ($J=11,1\text{ Hz}$ y $5,8\text{ Hz}$) para el de C-1 y como un triplete a δ 3,70 ($J=9,4\text{ Hz}$) para el de C-6, mientras que los dos metilos, C-14 y C-15 dan dos singuletes a δ 1,79 y 1,42, cuyas posiciones nos indican su característica de vinílico y sobre anillo epoxídico respectivamente.

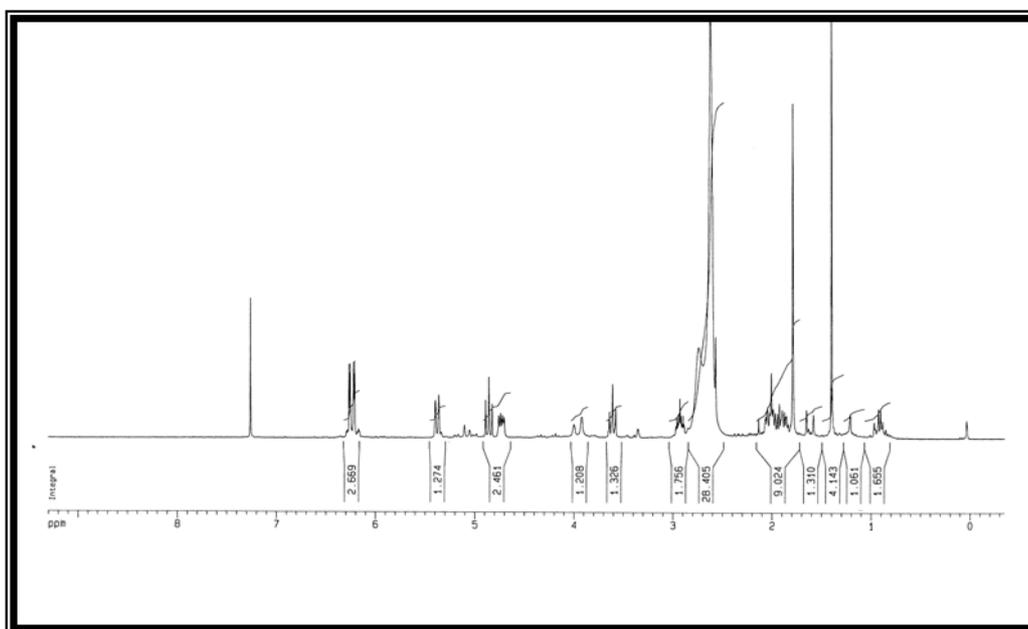


Figura 12. Espectro de ^1H -RMN de la sustancia 8.

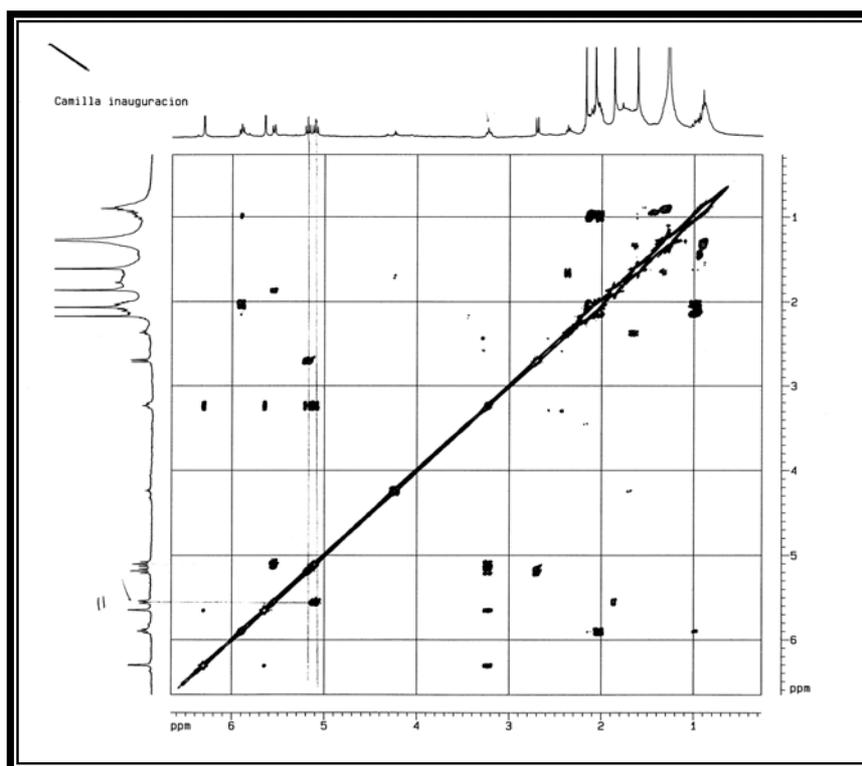
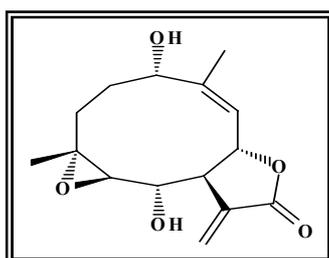


Figura 13. Espectro de COSY de la sustancia **8**.

Comparados los datos físicos y espectroscópicos con los reportados por la bibliografía para **4 α ,5 β -Epóxido de tatrídina A**⁷⁰ vemos que son totalmente coincidentes, por lo que proponemos para esta sustancia la estructura **8**.



8

⁷⁰ Rustaiyan, A., Zare, K., Habibi, Z., Hashemi, M. (1990) *Phytochemistry*, **29**, 3022-3023

Sustancia 9

La sustancia **9** se obtuvo como un sólido amorfo a partir de las fracciones comprendidas entre la 65 y la 74, no consiguiéndose su cristalización en ninguno de los disolventes ensayados.

El análisis de los resultados de la espectrometría de masas indican la existencia de un ion molecular a m/z 264 y dos fragmentos significativos a m/z 246 $[M-H_2O]^+$ y m/z 228 $[M-2H_2O]^+$, concordantes con la fórmula molecular $C_{15}H_{20}O_4$ y por tanto, isómero de la sustancia descrita como tatrídina A. La presencia de los grupos hidroxilo, γ -lactona y dobles enlaces fue detectada en el espectro de IR, que registraba bandas de absorción características a 3350, 1740 y 1650 cm^{-1} respectivamente.

El espectro de $^1\text{H-RMN}$ (Fig. 14) para esta sustancia da las siguientes señales: dos dobletes a δ 6,20 ($J=2,4\text{ Hz}$) y 6,35 ($J=2,7\text{ Hz}$) característicos de una α -metileno- γ -lactona; dos singuletes a δ 5,11 y 5,13 correspondientes a un metileno exocíclico aislado; doblete a δ 5,03 ($J=10,0\text{ Hz}$) típico de un protón vinílico; otro doblete a δ 4,27 ($J=10,0\text{ Hz}$) que asociamos al protón geminal al grupo hidroxilo presente en C-6; doblete a δ 3,84 ($J=4,5; 10,1\text{ Hz}$) del protón presente en C-1 (geminal a otro hidroxilo) y multiplete a δ 3,97 asignable al protón geminal al oxígeno lactónico. Finalmente, en la región de los metilos, un singulete a δ 1,70 (que integra para tres protones), lo asignamos a un metilo vinílico.

Su acetilación y el análisis de los espectros de IR y $^1\text{H-RMN}$ del derivado acetilado confirman la existencia de dos grupos hidroxilos secundarios así como su ubicación: por un lado, el espectro de IR del derivado acetilado no muestra banda de absorción propia de grupo hidroxilo; por otra parte, su espectro de $^1\text{H-RMN}$ presenta dos singuletes a δ 2,04 y 2,06 correspondientes a dos grupos acetilo, triplete a δ 5,05 ($J=5,6\text{ Hz}$) asociado al protón geminal en C-1 y un multiplete a δ 5,26 correspondiente al otro protón geminal en C-6 y que incluye además a los protones situados en C-14.

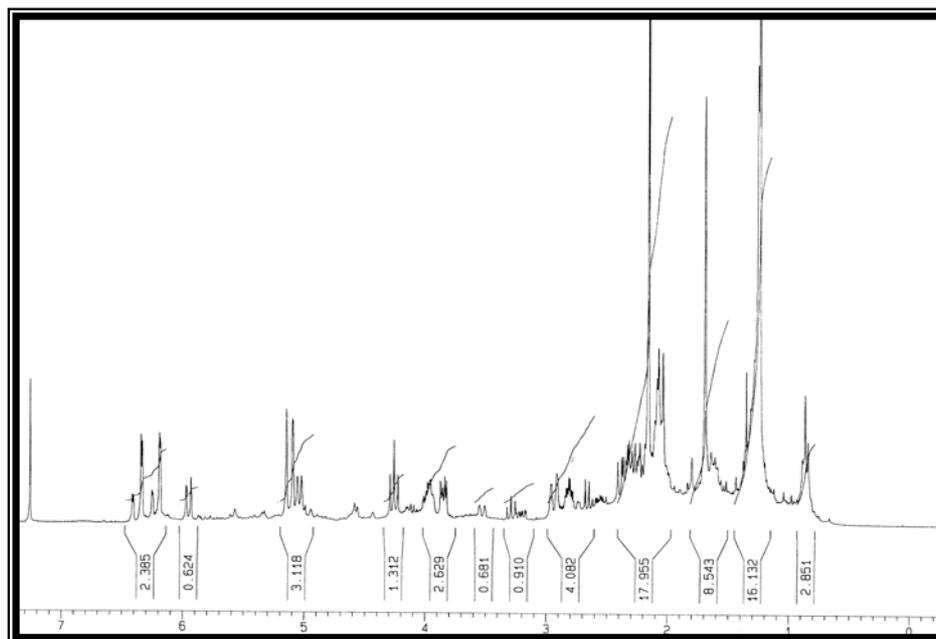
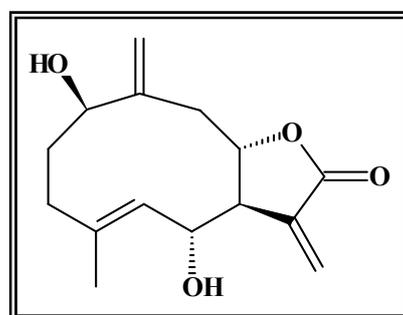


Figura 14. Espectro de ^1H -RMN de la sustancia **9**.

Comparados los datos físicos y espectroscópicos con los aportados en la bibliografía comprobamos que concuerdan perfectamente con los de la **tatridina B**⁶⁹, por lo que proponemos la siguiente estructura para la sustancia **9**.



9

Sustancia 5

Esta sustancia se obtuvo de las fracciones 42 a 54 de la columna general como un aceite incoloro. De los datos espectroscópicos se deduce que esta sustancia tiene una estructura muy similar a la anterior. Su espectro de IR muestra también las bandas de absorción correspondientes a grupos hidroxilo (3450 cm^{-1}), γ -lactona (1765 cm^{-1}) y dobles enlaces (1653 cm^{-1}); el espectro de masas, aunque no da la señal correspondiente

al ion molecular, sí la de fragmentos a m/z 246 $[M-RCO_2H]^+$, 228 $[246-H_2O]^+$ y 213 $[228-Me]$, concordantes con la fórmula molecular $C_{20}H_{26}O_5$.

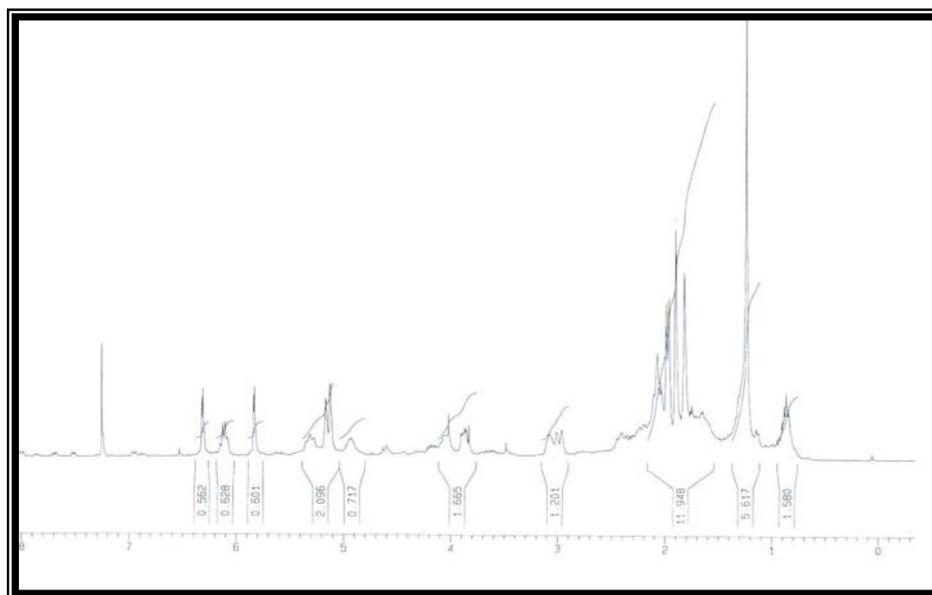
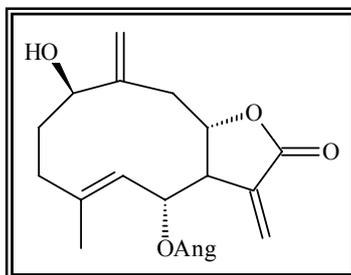


Figura 15. Espectro de 1H -RMN de la sustancia **5**.

Su espectro de 1H -RMN (Fig. 15) es muy similar al de la sustancia **9** diferenciándose en la presencia de las señales típicas del angelato: multiplete a δ 6,14, doblete a δ 1,98 ($J=7,0$ Hz) y singulete a δ 1,91, y en el desplazamiento a campo bajo del protón presente en C-6 (debido a la presencia del grupo angeloiloxi) cuya señal aparece ahora como un triplete a δ 5,32 ($J=11,5$ Hz y 8,8 Hz). El resto de las señales son: los dos dobletes característicos del agrupamiento α -metileno- γ -lactona a δ 6,32 ($J=3,0$ Hz) y 5,89 ($J=2,5$ Hz); dos singuletes anchos a δ 5,17 y δ 5,13 que asignamos a un metileno exocíclico aislado en C-14; un singulete a δ 1,83 correspondiente a un metilo vinílico (C-15) y tres multipletes a δ 3,88, 4,93 y 4,03, de un protón cada uno, asignables a protones geminal a grupo hidroxilo, vinílico y cierre de lactona, respectivamente. La presencia del grupo hidroxilo en C-1 fue confirmada al observar el espectro de 1H -RMN del derivado acetilado (**5a**) de esta sustancia ya que la señal del protón ubicado en este carbono en el alcohol sufrió un desplazamiento a campo bajo ($\delta=5,07$) así como los dos singuletes anchos del metileno exocíclico, ahora a δ 5,27 y δ 5,24.

Comparando los datos anteriormente citados con los que encontramos en la bibliografía para **6-angelato de tatridina B**⁷¹ observamos que son totalmente coincidentes por lo que proponemos para la sustancia **5** la siguiente estructura.



5

Sustancia 13

La sustancia **13** se obtuvo a partir de las fracciones 75 a 76 de la cromatografía general y, dada la dificultad para su purificación se procedió a obtener su derivado acetilado **13a**. Éste es un aceite incoloro que se comporta en capa fina como una sustancia pura. Sus datos espectroscópicos muestran gran similitud con los obtenidos para la sustancia **10**. Su espectro de IR coincide en absorciones tales como las bandas características del grupo γ -lactona (1771 cm^{-1}), éster (1734 cm^{-1}) y dobles enlaces (1660 cm^{-1}), mientras que en el espectro de masas, aunque no da la señal del ion molecular, presenta un fragmento a $m/z\ 304\ [M-Mecr]^+$ que concuerda con la fórmula $C_{21}H_{26}O_6$.

El espectro de $^1\text{H-RMN}$ de **13a** (Fig. 16) nos confirma dicha similitud ya que también presenta los dos dobletes característicos a $\delta\ 6,39$ ($J=2,8\text{ Hz}$) y $5,81$ ($J=2,7\text{ Hz}$) así como los dos singuletes a $\delta\ 5,42$ y $5,36$ del metileno exocíclico (C-14). El metilo vinílico aparece ahora a $\delta\ 1,92$ mientras que los multipletes de los protones vinílico (C-5) y cierre de la lactona (C-8) lo hacen a $\delta\ 4,70$ y $4,02$ respectivamente. Las diferencias más relevantes con el espectro de $^1\text{H-RMN}$ de la sustancia **10** son: la presencia de las señales características de un grupo metacrilato (dos multipletes a $\delta\ 6,10$ y $5,76$ y un singulete a $2,08$) en lugar de un angelato, y un singulete a $\delta\ 2,12$ correspondiente a un grupo acetilo. Los protones geminales a estos dos grupos aparecen ahora desplazados con respecto a las señales registradas en el espectro de **9** a $\delta\ 5,31$ (doblete, $J=3,0\text{ Hz}$) y $\delta\ 4,89$ (triplete, $J=9,7\text{ Hz}$), respectivamente.

⁷¹ Bohlmann, F., Schmeda-Hirschmann, G., Jakupovic, J., King, R.M., Robinson, H.(1984). *Phytochemistry*, **23**, 1989-1993

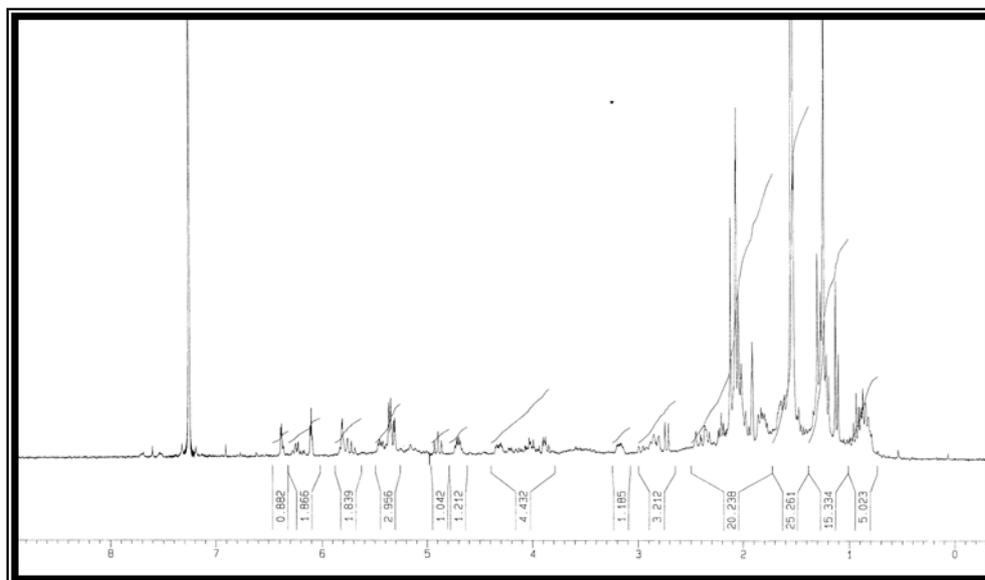
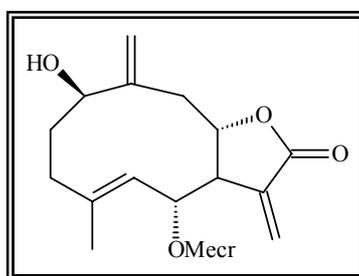


Figura 16. Espectro de ^1H -RMN de la sustancia **13a**.

Consultada la bibliografía y con los datos espectroscópicos analizados, proponemos para este derivado acetilado la estructura **13a** (acetato de 6-metacrilato de tatrídina B)⁶⁸, siendo por tanto el producto original el alcohol correspondiente **13** (6-metacrilato de tatrídina B).



13

Sustancia 15

Esta sustancia fue obtenida también a partir de las fracciones 75 a 76 de la cromatografía general como un sólido amorfo y, al igual que la anterior, purificada mediante acetilación **15a**. Sus datos espectroscópicos presentan numerosas coincidencias con los de la sustancia **13a** ya que su espectro de IR presenta las bandas características del grupo γ -lactona (1770 cm^{-1}), éster (1741 cm^{-1}) y dobles enlaces (1660 cm^{-1}), mientras que en el espectro de masas aparece la señal del mismo fragmento a m/z 304 $[\text{M}-70]^+$ concordante con la fórmula molecular $\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{O}_6$.

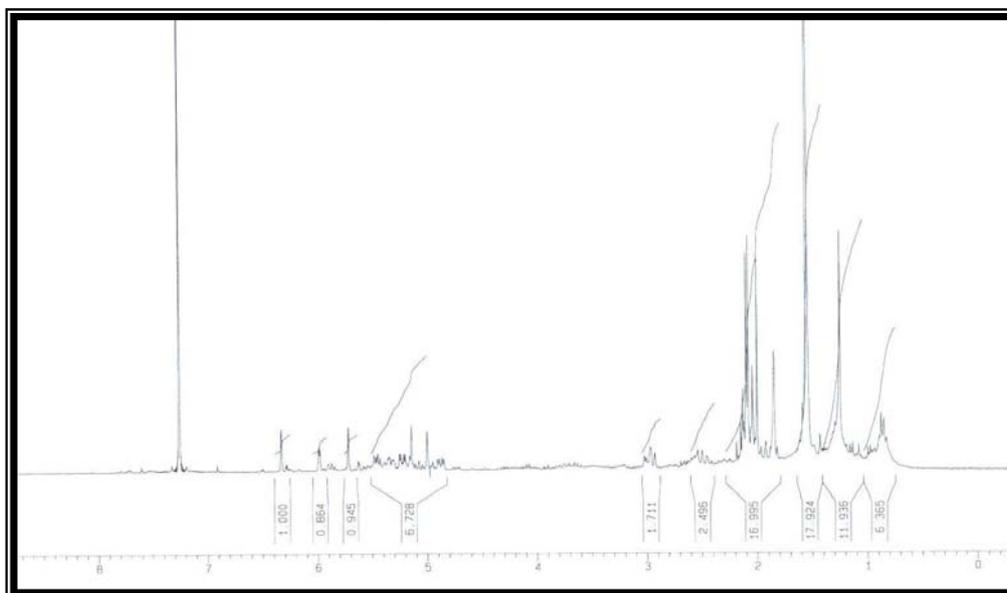
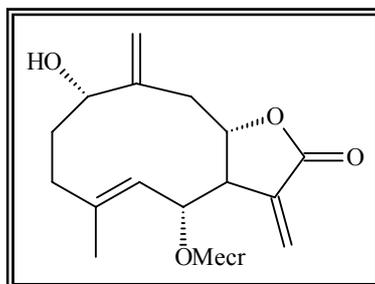


Figura 17. Espectro de ^1H -RMN de la sustancia **15a**.

En el espectro de ^1H -RMN de **15a** (Fig. 17) se observan las señales características del agrupamiento α -metileno- γ -lactona (dos singuletes a δ 6,33 y 5,72), un singulete propio del grupo acetilo a δ 2,05 y las tres señales, doblete a δ 5,99 ($J= 4,6$ Hz), multiplete a δ 5,44 y singulete a δ 2,00, típicas del grupo metacrílico. La diferencia con la sustancia anterior está en el desplazamiento químico de los dos singuletes del metileno exocíclico (C-14), ya que ahora aparecen a campo más alto (δ 5,16 y 5,00) lo que indica que el grupo acetilo ejerce sobre ambos un apantallamiento menor y por lo tanto éste debe encontrarse en posición α no en β . El resto de las señales también son muy similares a las de **13a**: doblete a δ 4,88 ($J= 4,8$ Hz y 4,8 Hz) para el protón geminal al grupo acetilo y a δ 5,23 ($J= 3,5$ Hz y 3,5 Hz) para el geminal al grupo metacrililo; singulete a δ 1,85 para el grupo metilo vinílico (C-15) y multiplete a δ 5,14 para el protón vinílico H-5; doblete a δ 3,01 ($J= 4,6$ Hz) para el protón vecinal (H-7) al grupo metacrilato y multiplete a δ 4,15 para el protón de cierre de la lactona.

Los datos espectroscópicos de este derivado acetilado coinciden con los descritos en la bibliografía para la sustancia **15a** obtenida por síntesis parcial, **acetato de 6-metacrilato de 1-epi-tatridina B**⁶⁸, por lo que proponemos para la sustancia original la estructura **15** (**6-metacrilato de 1-epi-tatridina B**).

**15**

Sustancia 11

Fue aislada de las fracciones 65 a 74 de la cromatografía general como un aceite incoloro que en cromatografía en capa fina se comportaba como una sustancia química pura dando una mancha de color marrón. Sus datos espectroscópicos sugieren también una estructura tipo lactona sesquiterpénica ya que su espectro de IR presenta bandas de absorción a 3420 y 1762 cm^{-1} típicas de grupos hidroxilos y γ -lactona respectivamente. Además, en el espectro de masas aparece la señal a m/z 262 correspondiente al ion molecular $[M]^+$, concordante con la fórmula $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{O}_4$.

El espectro de ^1H -RMN (Fig. 18) confirma su naturaleza de lactona sesquiterpénica ya que registra los dobletes típicos del agrupamiento α -metileno- γ -lactona a δ 6,36 ($J= 2,5$ Hz) y 6,16 ($J= 2,8$ Hz). Además aparecen dos singuletes a δ 5,82 y 5,78 correspondientes a un metileno exocíclico y otro más intenso a δ 1,66 propio de un metilo vinílico. Otras dos señales, un doblete a δ 5,07 ($J= 9,7$ Hz) y un triplete a δ 4,15 ($J= 18,5$ Hz), se asignan a un protón vinílico y a uno geminal a grupo hidroxilo, mientras que el multiplete a 3,95 se asigna al protón de cierre de la lactona. El estudio del espectro de ^1H -RMN del derivado acetilado (**11a**) de esta sustancia confirma la posición del grupo hidroxilo en C-6 ya que el protón situado en este carbono sufre desplazamiento a campo más bajo apareciendo ahora a δ 5,08 como un doble doblete ($J= 12,7$ Hz y 10 Hz), mientras que las señales del agrupamiento α -metileno- γ -lactona sufren un mayor distanciamiento entre ellas registrándose a δ 6,33 ($J= 2,7$ Hz) y 5,85 ($J= 2,2$ Hz).

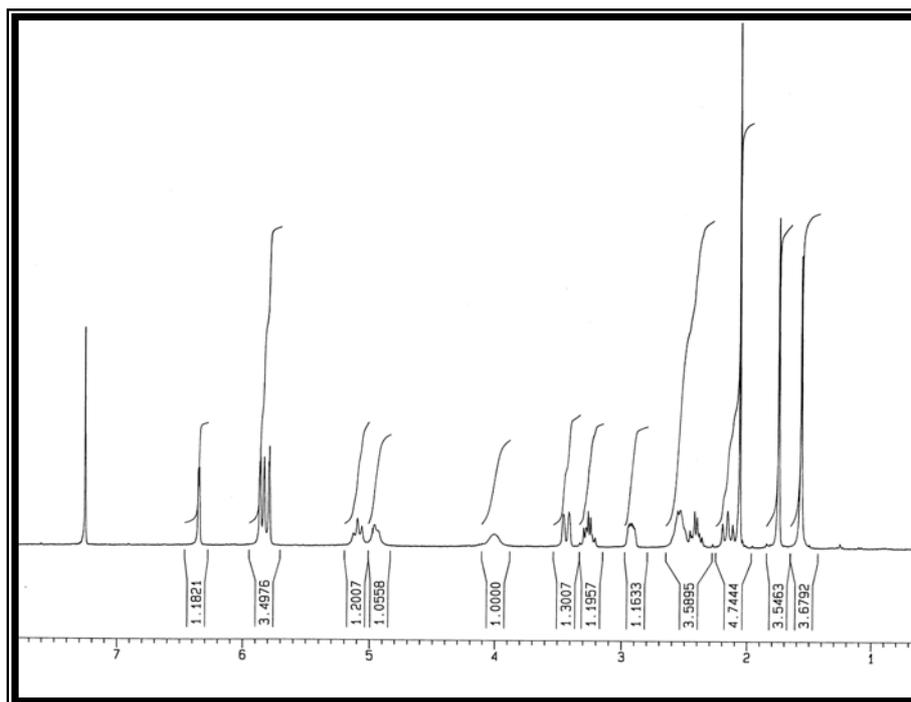
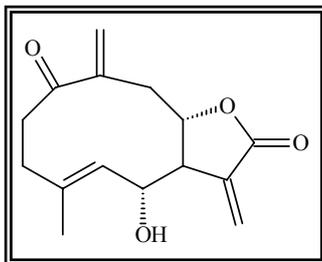


Figura 18. Espectro de ^1H -RMN de la sustancia **11**.

Comparados estos datos con los que aporta la bibliografía para la **tamirina**⁷² vemos que son totalmente coincidentes, por lo que proponemos para nuestra sustancia la estructura **11**.



11

⁷² Sanz, J.F., Marco, J.A.,(1991). *Journal of Natural Products*, **54**, 591-596

Sustancia 14

Esta sustancia se obtuvo como aceite incoloro a partir de las fracciones 75 a 76 de la cromatografía general y fue posteriormente purificada mediante acetilación. El estudio de los datos espectroscópicos del derivado acetilado **14a** muestra que se trata de una lactona sesquiterpénica de tipo eudesmano. El espectro de IR presenta las bandas de absorción características de grupos hidroxilo (3520 cm^{-1}), γ -lactona (1773 cm^{-1}) y dobles enlaces (1630 cm^{-1}), mientras que la espectrometría de masas, aunque no da la señal del ion molecular, da el fragmento a m/z 246 $[\text{M}-\text{HOAc}-\text{RCO}_2\text{H}]$ y a m/z 228 $[\text{246}-\text{H}_2\text{O}]$, concordantes con la fórmula $\text{C}_{22}\text{H}_{30}\text{O}_7$.

Su espectro de ^1H -RMN (Fig. 19) muestra los dos dobletes típicos del agrupamiento α -metileno- γ -lactona a δ 6,11 ($J= 2,8\text{ Hz}$) y 5,32 ($J= 2,8\text{ Hz}$), y las señales correspondientes a un grupo angeloiloxi: multiplete a δ 6,23, doblete a δ 2,02 ($J= 1,4\text{ Hz}$) y triplete a δ 1,92 ($J= 1,4\text{ Hz}$). Un singulete a 2,08 se asigna al grupo acetilo, mientras que los multipletes a δ 4,70, 5,80 y 4,03 corresponden a los protones geminal a grupo acetilo, geminal a grupo angeloiloxi y cierre de la lactona respectivamente.

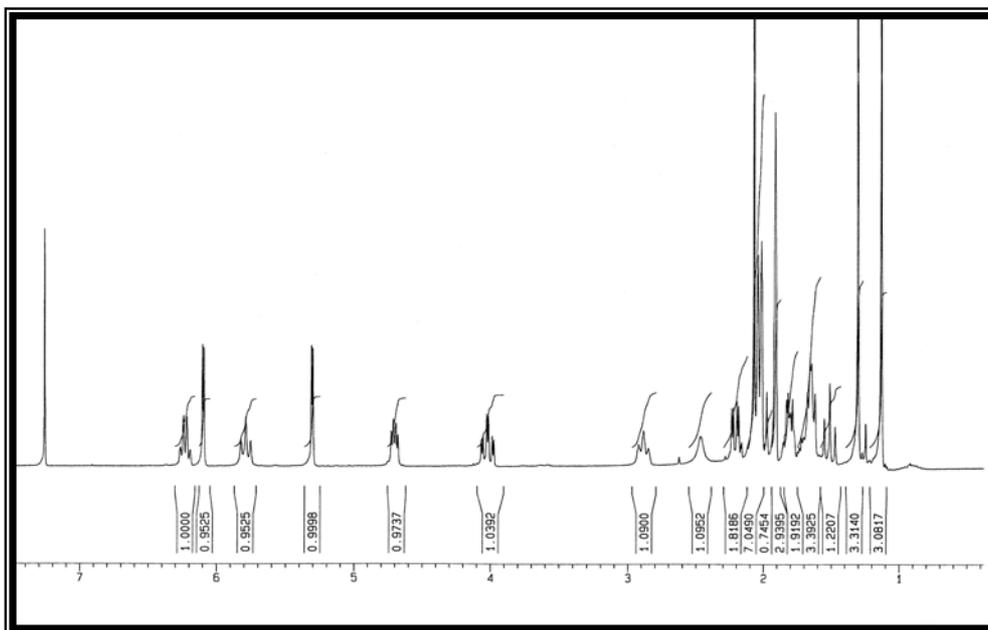


Figura 19. Espectro de ^1H -RMN de la sustancia **14a**.

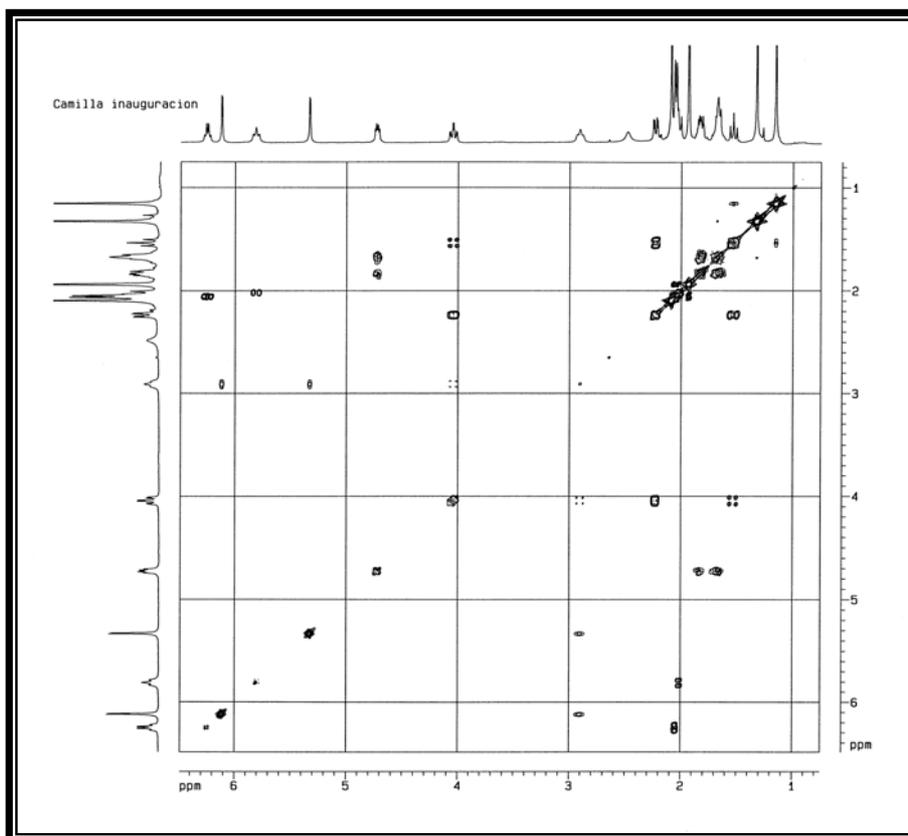


Figura 20. Espectro de COSY de la sustancia **14a**.

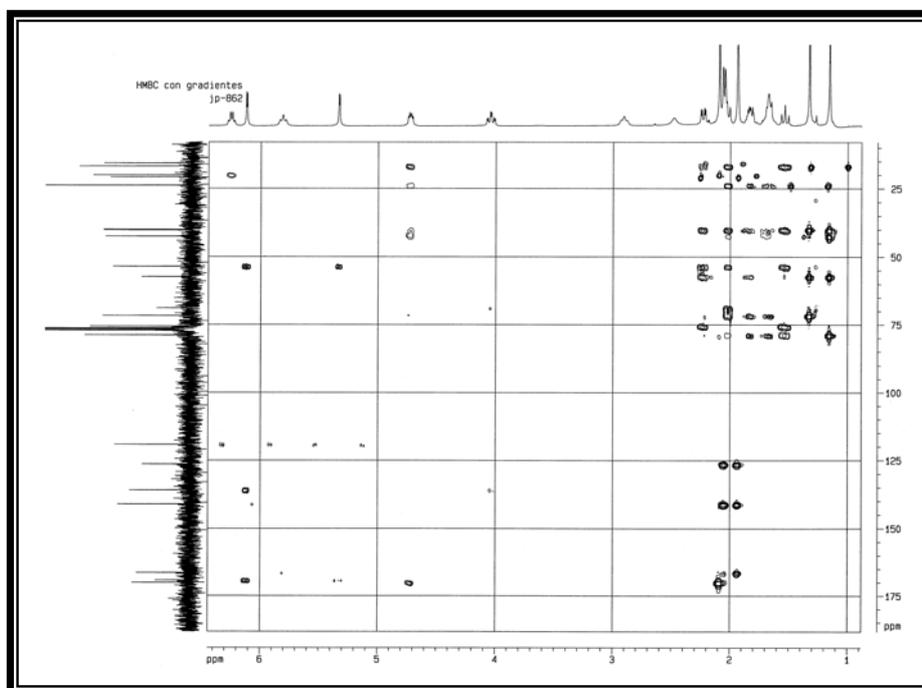
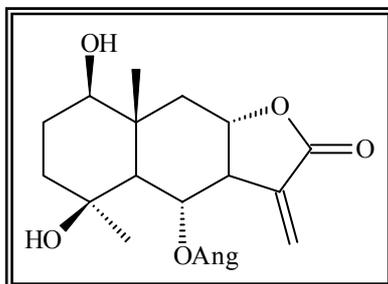


Figura 21. Espectro de HMBC de la sustancia **14a**.

De los datos anteriores deducimos que **14a** corresponde al derivado acetilado de tanapsina, por lo que **tanapsina**⁶⁸ sería el producto natural, estando ésta descrita con anterioridad en la bibliografía.



14

Sustancia 12

Fue obtenida a partir de las fracciones 65 a 74 de la cromatografía general como un aceite incoloro. Los datos espectroscópicos de esta sustancia guardan gran similitud con los obtenidos para **14**. Así, su espectro de IR muestra bandas de absorción típicas de grupos hidroxilo a 3479 cm^{-1} , γ -lactona a 1773 cm^{-1} y dobles enlaces a 1651 cm^{-1} , mientras que su espectro de masas da la señal del ion molecular a m/z 346 que concuerda con la fórmula $\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{O}_5$.

En su espectro de $^1\text{H-RMN}$ (Fig. 22) aparecen, al igual que en el de la sustancia anterior, las señales características del agrupamiento α -metileno- γ -lactona, dos dobletes a δ 6,11 ($J= 3,0\text{ Hz}$) y 5,44 ($J= 2,9\text{ Hz}$), y las señales correspondientes a un grupo angeloiloxi: multiplete a δ 6,10, doblete a δ 1,93 ($J= 7,2\text{ Hz}$) y doblete a δ 1,83 ($J= 1,4\text{ Hz}$). También se registra un singulete a δ 0,86 propia de un metilo angular que asignamos a los tres protones del metilo en C-10, y dos singuletes a δ 4,87 y 4,63 típicos de dos protones de un metileno exocíclico que asignamos en C-15. El resto de las señales son: doble doblete para el protón geminal al grupo hidroxilo en C-1 a δ 3,58 ($J= 4,7\text{ Hz}$ y $4,6\text{ Hz}$), doblete para un protón sobre carbono terciario (C-5) a δ 2,22 ($J= 10,3\text{ Hz}$) acoplado con el protón geminal al grupo angeloiloxi cuyo triplete aparece a δ 5,61 ($J=10,3\text{ Hz}$) y que ubicamos por tanto en C-6, y triple doblete para el protón de cierre de la lactona a δ 4,07 ($J= 3,7\text{ Hz}$, $3,6\text{ Hz}$ y $3,6\text{ Hz}$). El espectro de $^1\text{H-RMN}$ correspondiente al derivado acetilado de esta sustancia (**12a**) muestra el desplazamiento a campo bajo de la señal correspondiente al protón H-1 que ahora aparece, superpuesto con H-6, como un multiplete a δ 5,61.

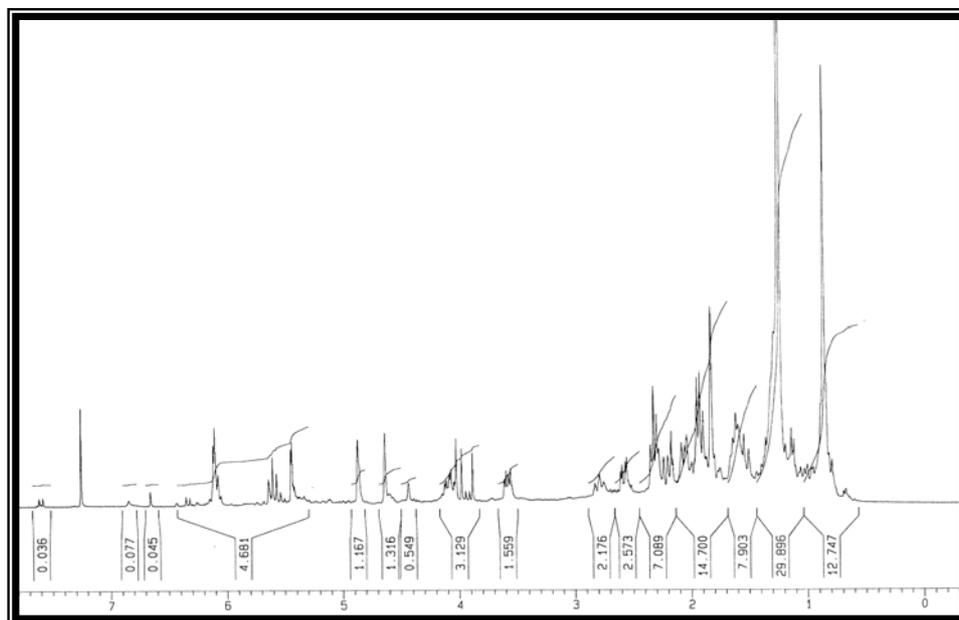
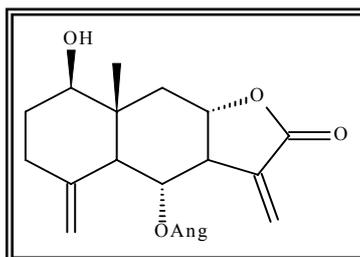


Figura 22. Espectro de ^1H -RMN de la sustancia **12**.

Estos datos espectroscópicos concuerdan con los que la bibliografía da para el **6-angelato de desacetil- β -ciclopiretosina**⁶⁸, por lo que proponemos para nuestra sustancia la estructura **12**.



12

Lugoa revoluta (DC.) Sch. Bip.

Parte experimental

Procedimiento de extracción

La parte aérea de *Lugoa revoluta* (DC.) Sch. Bip. fue recogida el 26 de Mayo de 1995 en el Roque de las Ánimas en Taganana, Tenerife. Se partió de 2,150 kilogramos de planta seca que fueron extraídos en un aparato soxhlet con etanol.

Este extracto se concentró posteriormente en rotavapor, obteniéndose 345,2 gramos de un producto aceitoso.

Cromatografía general

Se disuelven 345,2 gramos del producto concentrado en acetona y se mezcla con sílica gel. Se separa el disolvente mediante el rotavapor quedando el producto adsorbido a la gel, material que servirá de cabeza de columna para posterior proceso de cromatografía. El eluyente utilizado fue n-hexano y una mezcla de n-hexano y acetato de etilo, incrementándose la proporción de acetato de etilo para terminar con acetato de etilo solamente.

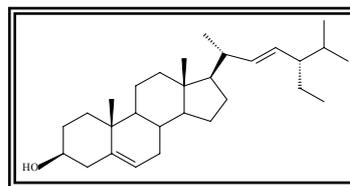
Se recogieron un total de 97 fracciones de 1 litro cada una, agrupándose posteriormente según la similitud de las señales que las mismas revelaron por cromatografía de capa fina. A continuación se presentan los resultados de estos agrupamientos:

FRACCIONES	ELUYENTES	SUSTANCIAS
1-8	n-hexano	
9-11	n-hexano/Ac. Etilo (90:10)	
12-25	n-hexano/Ac. Etilo (80:20)	
26-41	n-hexano/Ac. Etilo (70:30)	1
42-54	n-hexano/Ac. Etilo (60:40)	2, 3, 4, 5, 6
55-64	n-hexano/Ac. Etilo (50:50)	7
65-74	n-hexano/Ac. Etilo (40:60)	8, 9, 10, 11, 12
75-76	n-hexano/Ac. Etilo (40:60)	13, 14, 15
77-82	n-hexano/Ac. Etilo (40:60)	
83-86	n-hexano/Ac. Etilo (30:70)	
87-97	Acetato de etilo	

Fracciones 26-41

La reunión de estas fracciones condujo a 400 mg de una mezcla de varios productos, según revela una cromatografía en capa fina, que fueron sometidos a una cromatografía en columna de sílica gel empleando como eluyente una mezcla de n-hexano y acetato de etilo 70:30. De las fracciones obtenidas se logró el aislamiento de 43 mg de un producto mayoritario que se identificó como **estigmasterol**.

- **Datos físicos de 1**
(Estigmasterol)



Sólido cristalino

Punto de fusión: 166-8°C.

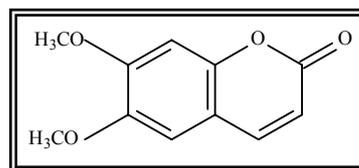
IR, EM y ¹H-RMN: Fueron totalmente superponibles con los de una muestra auténtica de **estigmasterol**.

Fracciones 42-54

Un análisis por cromatografía en placa fina de estas fracciones revela la presencia de distintas señales lo que hace pensar en la existencia de varios productos. La totalidad de la mezcla, que dio un peso de 5,445 gramos, fue sometida a cromatografía en columna usando como eluyente una mezcla de hexano y acetato de etilo 70:30, lográndose separar 15 mg de la sustancia **2**, 29 mg de **3** y 11 mg de **4**.

Por posterior recromatografía usando una mezcla de hexano-acetato de etilo 75:25 como eluyente se obtuvo 19 mg de **5** y 23mg de **6**.

- **Datos físicos de la sustancia 2**
(Escoparona)



Sólido cristalino

Punto de fusión: 144-146°C (AcOEt/n-Hex).

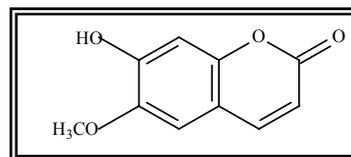
IR (KBr) ν_{\max} : 3000, 1725, 1620, 1560, 1520, 1450, 1420, 1380, 1280, 1250, 1205, 1170, 1140, 1100, 1000 cm^{-1} .

EM m/z (%): 206 $[\text{M}]^+$ (100) ; 191 $[\text{M-Me}]^+$ (28) ; 178 $[\text{M-CO}]^+$ (13) ; 107 (16) ; 69 (25) y 55 (21).

$^1\text{H-RMN}$ (300 MHz, CDCl_3)

H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)	Integral
H-3	6,29	d	9,4	1
H-4	7,62	d	9,4	1
H-5 y H-8	6,85	s	-	2
OMe	3,92	s	-	3
OMe	3,95	s	-	3

- **Datos físicos de la sustancia 3**
(Escopoletina)



Sólido cristalino

Punto de fusión: 203-204°C (AcOEt/n-Hex).

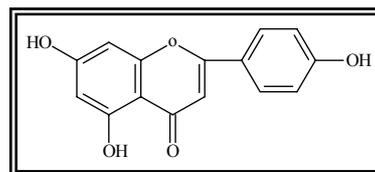
IR (CHCl_3) ν_{\max} : 3507, 2950, 1705, 1620, 1565, 1295, 1240, 1130 y 870 cm^{-1} .

EM m/z (%): 192 $[\text{M}]^+$ (100) ; 177 $[\text{M-Me}]^+$ (71) ; 164 $[\text{M-CO}]^+$ (38) ; 149 (76) ; 121 (45) ; 79 (38) y 69 (82).

$^1\text{H-RMN}$ (300 MHz, CDCl_3)

H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)	Integral
H-3	6,27	d	9,5	1
H-4	7,59	d	9,5	1
H-5	6,92	s	-	1
H-8	6,85	s	-	1
OMe	3,95	s	-	3

- **Datos físicos de la sustancia 4**
(Apigenina)



Sólido cristalino

Punto de fusión: 338-340°C (MeOH)

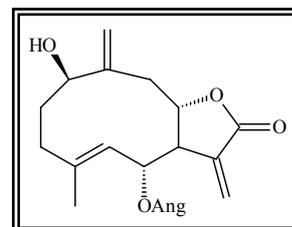
UV (MeOH) λ_{\max} : 335 y 267 nm.

EM m/z (%): 270 [M]⁺ (100) ; 242 (12) ; 153 (23) ; 152 (15) ; 124 (15) ; 118 (14).

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃)

H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)	Integral
H-3	6,65	s	-	1
H-3' y H-5'	7,10	d	9,0	2
H-2' y H-6'	7,84	d	9,0	2
H-6	6,46	d	2,0	1
H-8	6,57	d	2,0	1
-OH	11,77	s	--	1

- **Datos físicos de la sustancia 5**
(6-angelato de tatrídina B)



Aceite incoloro

IR (CHCl₃) ν_{\max} : 3450, 2919, 2850, 1765, 1717, 1653, 1457, 1379, 1230, 1146, 1029, 1005, 963, 848, 814, 627. cm⁻¹.

EM (m/z) (%): 246 [M-RCO₂H]⁺ (3,09), 228 [246-H₂O]⁺ (8,75), 213 [228-Me] (2,96), 83 (100), 57 (14,62).

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃).

H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)	Integral
H-1	3,88	m	--	1
H-5	4,93	m	--	1
H-6	5,32	t	11,5; 8,8	1
H-7	3,08	m	--	1
H-8	4,03	m	--	1
H-9	2,99	d	13,7	2
H-13	6,32	d	3,0	1
H-13'	5,89	d	2,5	1
H-14	5,17	s	--	1
H-14'	5,13	s	--	1
H-15	1,83	s	--	3
OAng	6,14	m	--	1
	1,98	d	7,0	3
	1,91	s	--	3

- **Acetilación de 5**

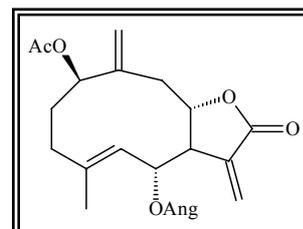
15 mg de la sustancia **5** fueron tratados con anhídrido acético (2ml) y piridina (1ml) durante 12 horas a temperatura ambiente. El producto resultante fue extraído, después de tratarlo de la manera usual, con acetato de etilo y sometido a una cromatografía en placa fina preparativa utilizando como eluyente una mezcla de n-hexano y acetato de etilo 80:20, separándose 20 mg de la sustancia **5a**.

- **Datos físicos de 5a**

(Acetato de 6-angelato de tatrídina B)

Aceite incoloro

IR (CHCl₃) ν_{\max} : 2958, 2929, 2858, 1734, 1665, 1457, 1375, 1240, 1123, 1073, 745 cm⁻¹.

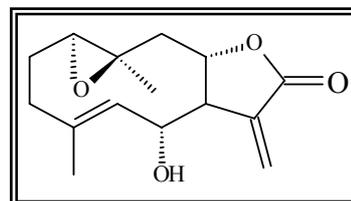


EM (m/z) (%): 386 (3,48), 303 (13,52), 291 (10,56), 279 (7,45), 262 (11,97), 248 (19,54), 246 (21,14), 244 (10,54), 228 (46,23), 213 (13,00), 125 (100), 83 (64), 57 (35).

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃)

H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)	Integral
H-1	5,07	m	--	1
H-5	4,96	d	10	1
H-6	5,24	m	--	1
H-7	3,00	m	--	1
H-8	4,12	m	--	1
H-9	2,81	m	--	1
H-13	6,28	d	3,1	1
H-13'	5,77	d	2,8	1
H-14	5,27	s	--	1
H-14'	5,24	s	--	1
H-15	1,84	s	--	3
OAng	6,15	m	--	1
	1,97	m	--	3
	1,89	s	--	3
OAc	2,08	s	--	3

• **Datos físicos de la sustancia 6**
(1α,10β-Epoxidesacetillaurenobiolido)



Sólido cristalino

Punto de fusión: 156-157°C (n-Hex).

I R (KBr) v_{max}: 3470, 2920, 1765, 1650, 1280, 1145, 1030 y 810 cm⁻¹.

EM m/z (%): 246 [M-H₂O]⁺ (1); 231 (1); 217 (1); 203 (1); 167 (5); 149 (12); 111 (22); 97 (70); 83 (75); 81 (63); 55 (100).

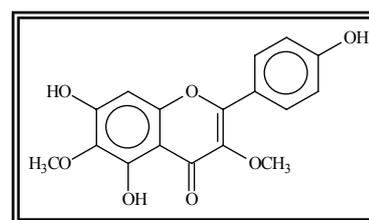
¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃)

H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)	Integral
H-1	2,68	d	13,0	1
H-5	5,44	d	10,3	1
H-6	4,23	m	-	1
H-7	2,97	m	-	1
H-8	4,11	m	-	1
H-13	6,32	d	3,2	1
H-13'	6,24	d	3	1
H-14	1,45	s	-	3
H-15	1,84	s	-	3

Fracciones 55-64

Concentradas al rotavapor estas fracciones obtenemos 3,421 gramos de un líquido siruposo que es sometido a un proceso de cromatografía en columna utilizando como eluyente una mezcla de hexano y acetato de etilo (70:30). Se logró separar de esta manera 28 mg de 7.

- **Datos físicos de la sustancia 7**
(5, 7, 4'-trihidroxi-3,6-dimetoxiflavona)

**Sólido cristalino**

Punto de fusión: 229-230°C (AcOEt/n-Hex).

UV (MeOH) λ_{max}: 342,5 y 271,0 nm.

EM m/z (%): 330[M⁺] (100), 315 [M-Me]⁺ (44), 287 (39), 269 (23), 244 (12), 134 (16), 121 (40), 93 (17) y 69 (89).

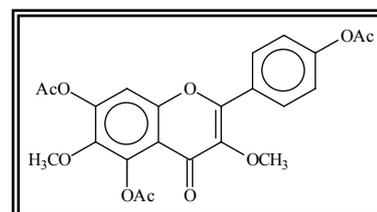
¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃)

H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)	Integral
H-2' y H-6'	7,90	d	9	2
H-3' y H-5'	6,92	d	9	2
H-8	6,49	s	-	1
-OCH ₃	3,76	s	-	3
-OCH ₃	3,73	s	-	3
-OH	12,74	s	-	1

- **Acetilación de 7**

20 mg de la sustancia **7** fueron tratados con piridina (1mL) y anhídrido acético (2mL) dejando la mezcla de reacción en reposo durante 12 horas. El producto fue extraído con acetato de etilo, lavado de manera usual y sometido a una cromatografía líquida en columna empleando una mezcla de n-hexano y acetato de etilo 80:20, separándose 18 mg de la sustancia **7a**.

- **Datos físicos de la sustancia 7a**
(Triacetato de 5, 7, 4'-trihidroxi
-3,6-dimetoxiflavona)

**Sólido cristalino**

Punto de fusión: 108-110°C (AcOEt/n-Hex).

EM m/z (%): 426 [M]⁺ (1), 414 (2), 384 (2), 299 (3), 279 (34), 206 (5), 167 (31), 149 (110), 113 (13), 97 (13), 71 (21), 57 (32).

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃)

H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)	Integral
H-2' y H-6'	8,09	d	8,8	2
H-3' y H-5'	7,28	d	8,8	2
H-8	7,25	s	-	1
-OCH ₃	3,86	s	-	3
-OCH ₃	3,81	s	-	3
-OAc	2,51	s	-	3
-OAc	2,37	s	-	3
-OAc	2,33	s	-	3

Fraciones 65-74

Una vez reunidas las fracciones 65 a 74 se concentran en rotavapor hasta la total separación del disolvente quedando un residuo líquido de masa 6,866 gramos. Este residuo es cromatografiado en columna utilizando como eluyente una mezcla de hexano y acetato de etilo (60:40), lográndose por cristalización en n-hexano aislar 60 mg de la sustancia **10**.

Por recromatografía de 346 mg del residuo aceitoso obtenido, utilizando el mismo eluyente se obtuvo 52mg de **8**, 9mg de **9**, 15mg de **11** y 30mg de **12**.

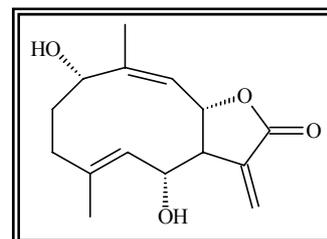
- **Datos físicos de la sustancia 10**
(Tatridina A)

Sólido cristalino

Punto de fusión: 153-155°C (AcOEt/n-Hex)

IR (CHCl₃) ν_{\max} : 3350, 2935, 1755, 1660, 1270, 1150, 1000 y 950 cm⁻¹.

EM m/z (%): 246 [M-H₂O]⁺ (2); 191 (3); 180 (6); 162 (7); 149 (10); 121 (24) y 97(100).



¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃)

H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)	Integral
H-1	4,38	dd	5,0; 4,9	1
H-3	2,29	m	--	1
H-5	4,98	d	10,5	1
H-6	4,50	d	10,5	1
H-7	2,79	m	--	1
H-8	4,54	d	10,2	1
H-9	5,31	d	10,2	1
H-13'	6,19	d	3	1
H-13	6,29	d	3	1
H-14	1,81	s	--	3
H-15	1,77	s	--	3

- **Acetilación de 10**

Se trataron 40 mg de **10** con 1 mL de piridina y 2 mL de anhídrido acético dejándose a temperatura ambiente durante 12 horas. El producto obtenido se recuperó mediante procesos de extracción y posteriormente fue purificado por cromatografía en capa fina preparativa, con una mezcla de n-hexano y acetato de etilo 75:25, obteniéndose 30 mg de la sustancia **10a**.

- **Datos físicos de la sustancia 10a**

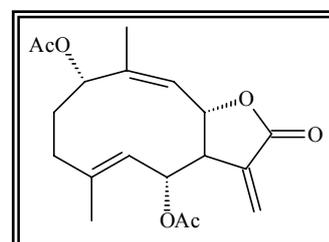
(Diacetato de tatrídina A)

Sólido cristalino

Punto de fusión: 196-199°C (EtOAc/n-Hex).

IR (CHCl₃) ν_{\max} : 2900, 1750, 1715, 1655, 1220, 1125, 1010 y 950 cm⁻¹.

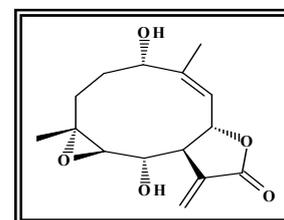
EM m/z (%): 348 [M⁺] (2); 288 [M-AcOH]⁺ (3); 246 (15); 228 [M-2AcOH]⁺ (20); 162 (20); 149 (41); 121 (44) y 91 (100).



¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃)

H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)	Integral
H-1, H-6 y H-9	5,42	m	-	3
H-5	4,88	d	10,5	1
H-7	3,03	m	-	1
H-8	4,77	t	9,5	1
H-13'	5,72	d	3	1
H-13	6,27	d	3,3	1
H-14	1,82	d	1,1	3
H-15	1,94	s	-	3
OAc	2,01	s	-	3
OAc	2,08	s	-	3

- **Datos físicos de la sustancia 8**
(4α,5β-epóxido de tatrídina A)



Aceite incoloro

IR (KBr) $\nu_{\text{máx}}$: 3459, 2928, 1761, 1653, 1418, 1274, 1005 y 901 cm^{-1} .

EM m/z (%): 280 $[\text{M}]^+$ (18,21), 262 $[\text{M} - \text{H}_2\text{O}]^+$ (31,10), $[\text{262} - \text{Me}]$ 247 (7,18), $[\text{262} - \text{H}_2\text{O}]$ 244 (20, 31), 121 (22,65), 95 (100,00).

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃)

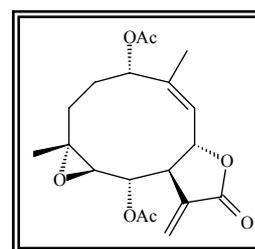
H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)	Integral
H – 1	4,73	dd	11,1; 5,8	1
H – 5	2,47	d	9,6	1
H – 6	3,70	t	9,4	1
H – 7	2,92	m	---	1
H – 8	4,85	t	9,6	1
H – 9	5,38	d	10	1
H – 13	6,26	d	3,4	1
H – 13'	6,21	d	3,0	1
H – 14	1,79	s	---	3
H – 15	1,42	s	---	3

- **Acetilación de 8**

Se trataron 40 mg de la sustancia **8** con 2 mL anhídrido acético en medio básico de piridina (1mL) durante 12 horas. Tras extracción del producto con acetato de etilo, fue purificado mediante cromatografía en placa fina preparativa eluyendo con mezcla de n-hexano y acetato de etilo 80:20, obteniéndose 25 mg del producto **8a**.

- Datos físicos de la sustancia **8a**

(Diacetato de 4α,5β-Epóxido de tatridina A)



Aceite incoloro

IR (CHCl₃) ν_{\max} : 2926, 2854, 1738, 1672, 1454, 1371, 1234, 1128, 1022, 966 cm⁻¹.

EM **m/z** (%): 284 (3,3), 279 (11,9), 262 (4,1), 256 (7,5), 213 (4,4), 185 (3,5), 179 (5,4), 167 (27,9), 150 (10,5), 149 (100), 140 (21,1), 129 (10,8), 95 (25,9), 57 (71,9).

$^1\text{H-RMN}$ (300 MHz, CDCl_3)

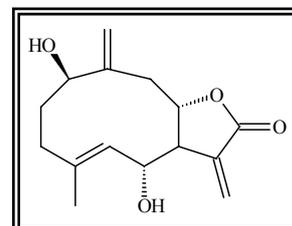
H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)	Integral
H-1	5,85	m	--	2
H-5	2,67	d	9,7	1
H-7	3,20	m	--	1
H-6	5,15	t	9,7	1
H-8	5,07	t	9,7	1
H-9	5,52	d	10,1	1
H-13	6,28	d	3,0	1
H-13'	5,62	d	3,0	1
H-14	1,84	s	--	3
H-15	1,59	s	--	3
OAc	2,02	s	--	3
OAc	2,14	s	--	3

- **Datos físicos de la sustancia 9**
(Tatridina B)

Sólido amorfo

IR (nujol) ν_{max} : 3350, 2900, 1740, 1650, 1150 y 1020 cm^{-1} .

EM m/z (%): 264 [M^+] (3) ; 246 [$\text{M}-\text{H}_2\text{O}^+$] (3) ; 228 [$\text{M}-2\text{H}_2\text{O}^+$] (5) ; 221 (9) ; 163 (18) ; 149 (32) ; 109 (48) ; 97 (50) ; 95 (60) ; 71 (64) y 55 (100).



¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃)

H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)	Integral
H - 1	3,84	dd	4,5; 10	1
H - 3	2-2,30	m	---	1
H - 3'	2-2,30	m	---	1
H - 5	5,03	d	10,0	1
H - 6	4,27	d	10,0	1
H - 7	2,81	m	---	1
H - 8	3,97	m	---	1
H - 9	2,95	dd	1,7; 14	1
H - 9'	2,38	dd	10; 14	1
H - 13'	6,20	d	2,4	1
H - 13	6,35	d	2,7	1
H - 14	5,11	s	---	1
H - 14'	5,13	s	---	1
H - 15	1,70	s	---	3

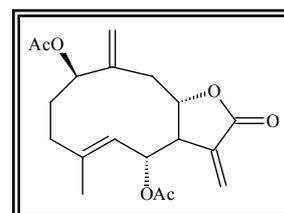
- **Acetilación de 9**

Se tratan 30 mg de **9** con 1 mL de piridina y 2 mL de anhídrido acético, dejando reaccionar la mezcla durante 12 horas. El producto orgánico se extrae con acetato de etilo y se procede al lavado de esta fase de manera usual. Tras concentrar en rotavapor hasta sequedad, se somete el residuo a un proceso de cromatografía líquida en columna utilizando como eluyente una mezcla de n-hexano y acetato de etilo en proporción (70:30), lográndose separar 28 mg de **9a**.

- **Datos físicos de la sustancia 9a**
(Diacetato de tatrídina B)

Aceite incoloro

IR (KBr) $\nu_{\text{máx}}$: 2900, 1775, 1740, 1655, 1400, 1230, 1020, 915 cm^{-1} .



EM m/z (%): 288 [M-AcOH]⁺ (1); 246 (2); 228 (5); 213 (5); 115 (34); 84 (44) y 43 (100).

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃)

H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)	Integral
H-1	5,05	t	5,6	1
H-5	4,90	m	--	1
H-6, H-14, H-14'	5,26	m	--	3
H-7	3,00	m	--	1
H-8	4,12	m	--	1
H-9	2,81	d	10,4	1
H-13	6,34	d	2,0	1
H-13'	5,86	d	1,8	1
H-15	1,85	s	--	3
OAc	2,04	s	--	3
OAc	2,06	s	--	3

¹³C-RMN (CDCl₃) δ:

17,54 (C-15), 20,79 (CH₃CO), 21,01 (CH₃CO), 26,91 (C-2), 32,67 (C-3), 47,59 (C-7), 67,89 (C-6), 71,04 (C-1), 73,18 (C-8), 123,0 (C-13), 128,1 (C-5), 136,0 (C-11), 139,7 (C-10), 140,7 (C-4), 168,5 (COCH₃), 169,8 (COCH₃), 169,96 (C-12).

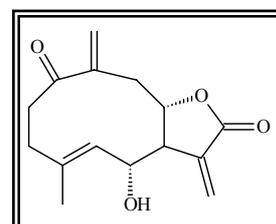
- **Datos físicos de la sustancia 11**

(Tamirina)

Aceite incoloro

IR (KBr) ν_{máx}: 3420, 2932, 1762, 1455, 1384, 1270, 1138, 1009, 817 cm⁻¹.

EM m/z (%): 262 [M]⁺ (43,8), 244 [M - H₂O]⁺ (17,3), 228 (36,7), 179 (18,8), 105 (17,9), 91 (26,2), 83 (100), 80 (66,6), 55 (31,0).



¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃)

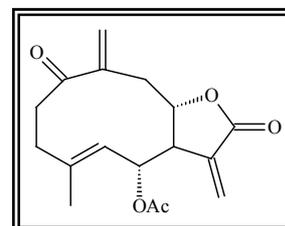
H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)	Integral
H-2	2,39	m	--	1
H-2'	3,28	m	--	1
H-3	2,54	m	--	2
H-5	5,07	d	9,7	1
H-6	4,15	t	18,5	1
H-7	2,73	m	--	1
H-8	3,95	m	--	1
H-9	3,41	d	13,0	1
H-13	6,36	d	2,5	1
H-13'	6,16	d	2,8	1
H-14	5,82	s	--	1
H-14'	5,78	s	--	1
H-15	1,66	s	--	3

- **Acetilación de 11**

10 mg de la sustancia **11** se hacen reaccionar con 1 mL de piridina y 2 mL de anhídrido acético durante 12 horas. El producto obtenido se extrae con acetato de etilo de manera usual y se concentra hasta total eliminación del disolvente, purificándose posteriormente mediante cromatografía en placa fina preparativa con n-hexano/acetato de etilo 80:20 como eluyente, separándose 8 mg del producto **11a**.

- **Datos físicos de la sustancia 11a**

(Acetato de Tamirina)



Aceite incoloro

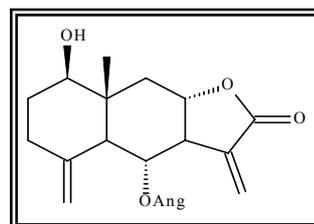
IR (KBr) $\nu_{\text{máx}}$: 2950, 1756, 1730, 1667, 1233, 1152, 1034 cm^{-1} .

EM m/z (%): 304 [M]⁺ (9,31), 262 (81,50), 244 (27,66), 226 (6,20), 216 (21,34), 201 (5,68), 179 (33,73), 164 (24,95), 147 (25,37), 133 (15,16), 119 (12,70), 105 (20,16), 97 (40,18), 91 (29,47), 69 (16,78), 55 (19,77).

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃)

H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)	Integral
H - 3/3'	2,30-2,60	m	---	2
H - 5	4,95	d	9,7	1
H - 6	5,08	dd	12,7; 10	1
H - 7	2,93	m	---	1
H - 8	4,00	m	---	1
H - 9	3,41	d	12	1
H - 9'	2,15	dd	12; 12	1
H - 13	6,33	d	2,7	1
H - 13'	5,85	d	2,2	1
H - 14	5,83	s	---	1
H - 14'	5,79	d	1,1	1
H - 15	1,74	s	---	3
OAc	2,05	s	---	3

- **Datos físicos de la sustancia 12**
(6-angelato de desacetil-β-ciclopiretosina)



Aceite incoloro

IR (KBr) $\nu_{\text{máx}}$: 3479, 2930, 2855, 2360, 1773, 1715, 1651,

1457, 1384, 1356, 1262, 1226, 1160, 1124, 1103, 1074, 1032, 1003, 905 cm^{-1} .

EM m/z (%): 346 $[\text{M}]^+$ (2,1), 328 (0,6), 278 (0,4), 246 (30,3), 228 (57,8), 213 (34,2), 202 (17,8), 183 (10,4), 167 (6,9), 157 (9,5), 143 (6,7), 119 (6,0), 105 (9,3), 91 (12,2), 83 (100), 55 (72,5).

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃)

H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)	Integral
H-1	3,58	dd	4,7; 4,6	1
H-3	2,04	m	--	1
H-5	2,22	d	10,3	
H-6	5,61	t	10,3	1
H-7	2,81	m	--	1
H-8	4,07	ddd	3,7; 3,6; 3,6	1
H-9α	2,58	dd	3,7; 3,6	1
H-13	6,11	d	3,0	1
H-13'	5,44	d	2,9	1
H-14	0,86	s	-	3
H-15	4,87	s	-	1
H-15'	4,63	s	-	1
OAng	6,10	m	-	1
	1,93	d	7,2	3
	1,83	d	1,4	3

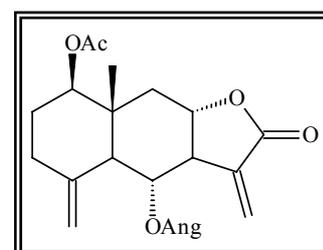
- **Acetilación de 12**

Se hacen reaccionar 25 mg de la sustancia **12** con 2 mL de anhídrido acético y 1 mL de piridina durante 12 horas. La mezcla se somete a una extracción con acetato de etilo y posterior lavado de manera usual, obteniéndose un residuo seco que es purificado mediante cromatografía en placa fina preparativa utilizando mezcla de h-hexano y acetato de etilo 80:20, lográndose separar 20 mg de **12a**.

- **Datos físicos de la sustancia 12a**
(Acetato de 6-angelato de desacetil-β-ciclopiretosina)

Aceite incoloro

IR (KBr) ν_{máx}: 2924, 2360, 2341, 1773, 1733, 1374, 1240, 1126, 1025 y 669 cm⁻¹.



EM m/z (%): 383 (0,7), 368 (0,8), 360 (0,7), 329 (0,7), 321 (0,9), 304 (1,7), 288 (2,2), 262 (3,4), 257 (8,6), 244 (9,8), 230 (26,4), 228 (68,6), 213 (31,7), 200 (9,4), 185 (13,7), 183 (21,4), 173 (8,9), 159 (12,8), 157 (25,3), 143 (17,6), 131 (13,6), 119 (20,4), 105 (21,6), 97 (14,6), 91 (23,2), 83 (100), 71 (19,5), 57 (34,4), 55 (53,5).

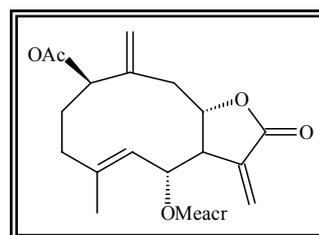
¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃)

H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)	Integral
H-1, H-6	5,61	t	10,3	2
H-7	2,77	m	--	1
H-8	4,04	m	--	1
H-13	6,11	d	3,1	1
H-13'	5,44	d	3,1	1
H-14	0,95	s	--	3
H-15	4,90	s		1
H-15'	4,67	s		1
OAng	6,10	m	-	1
	1,94	d	7,2	3
	1,83	d	1,4	3
OAc	2,07	s	--	3

Fracciones 75-76

790 mg del producto resultante de la reunión de estas fracciones fue cromatografiado en columna de sílica gel utilizando como eluyente una mezcla de hexano y acetato de etilo en proporción 60:40. Tras dicho proceso no se logró la separación de ninguna sustancia por lo que una muestra de 63 mg de la reunión de las fracciones resultantes del proceso cromatográfico anterior fue tratada con 1 mL de piridina y 2 mL de anhídrido acético, dejándose reaccionar durante 12 horas. Los productos resultantes fueron extraídos de manera usual y sometidos posteriormente a una cromatografía en placa fina preparativa y eluyendo con n-hexano/acetato de etilo 85:15 separándose 19 mg de **13a**, 12 mg de **14a**, y 25 mg de **15a**.

- **Datos físicos de la sustancia 13a**
(Acetato de 6-metacrilato de tatrídina B)



Aceite incoloro

IR (KBr) $\nu_{\text{máx}}$: 3005, 2955, 1771, 1734, 1660, 1424, 1351, 1228, 1100, 1076, 1025, 929, 867 cm^{-1} .

EM m/z (%): 304 $[\text{M-Mearc}]^+$ (16,7), 262 (29,0), 244 (25,0), 226 (14,4), 201 (6,1), 179 (12,5), 166 (26,6), 149 (23,1), 139 (100), 119 (17,8), 107 (25,5), 97 (87,9), 79 (48,8), 69 (15,6), 55 (22,4).

$^1\text{H-RMN}$ (300 MHz, CDCl_3)

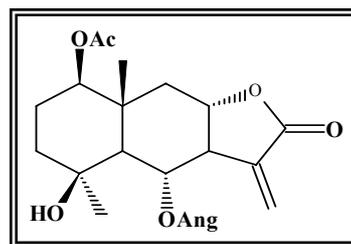
H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)	Integral
H-1	4,89	t	9,7	1
H-5	4,70	m	--	1
H-6 β	5,31	d	3,0	1
H-7 α	3,15	m	--	1
H-8 β	4,02	m	--	1
H-9'	2,73	d	9,6	1
H-9	2,37	m	--	1
H-13	6,39	d	2,8	1
H-13'	5,81	d	2,7	1
H-14	5,42	s	--	1
H-14'	5,36	s	--	1
H-15	1,92	s	--	3
Oac	2,12	s	--	3
Mearc	6,10	m	--	1
	5,76	m	--	1
	2,08	s	--	3

- **Datos físicos de la sustancia 14a**
(Acetato de tanapsina)

Aceite incoloro

IR (KBr) $\nu_{\text{máx}}$: 3520, 2956, 1773, 1735, 1630, 1457, 1374, 1238, 1147, 1038, 976, 815 cm^{-1} .

EM m/z (%): $[\text{M}-\text{HOAc}-\text{RCO}_2\text{H}]^+$ 246 (11,5), 228 (18,4), 188 (42,2), 175 (5,5), 164 (31,0), 149 (9,6), 119 (8,9), 101 (23,8), 91 (7,5), 83 (100), 55 (34,4).



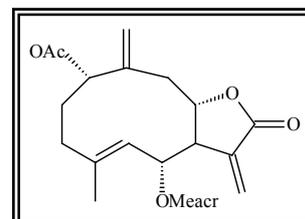
^1H -RMN (300 MHz, CDCl_3)

H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)	Integral
H-1	4,70	m	-	1
H-2, H-2', H-3, H-3'	1,52-1,68	m	-	4
H-6	5,80	m	-	1
H-7	2,89	m	-	1
H-8	4,03	m	-	1
H-13'	6,11	d	2,8	1
H-13	5,32	d	2,8	1
OAc	2,08	s	-	3
OAng	6,23	m	-	1
	2,02	d	1,4	3
	1,92	t	1,4	3

- **Datos físicos de la sustancia 15a**
(Acetato de 6-metacrilato de -1-epi-tatridina B)

Sólido amorfo

IR (KBr) $\nu_{\text{máx}}$: 3018, 2956, 2931, 2871, 1770, 1741, 1660, 1434, 1371, 1238, 1120, 1076, 1022, 923, 869, 817, 754, 667 cm^{-1} .



EM m/z (%): 304 [M-70]⁺ (24,47), 262 (28,84), 244 (27,34), 226 (16,25), 215 (13,28), 205 (9,21), 179 (7,75), 166 (26,20), 149 (28,39), 139 (100), 131 (9,06), 123 (11,83), 107 (15,43), 97 (68,80), 79 (40,42), 69 (8,53), 55 (12,11).

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃)

H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)	Integral
H-1	4,88	dd	4,8; 4,8	1
H-5	5,14	m	--	1
H-6β	5,23	dd	3,5; 3,5	1
H-7α	3,01	d	4,6	1
H-8α	4,15	m	--	1
H-9'	2,95	d	10,9	1
H-9	2,51	m	--	1
H-13	6,33	s	--	1
H-13'	5,72	s	--	1
H-14	5,16	s	--	1
H-14'	5,00	s	--	1
H-15	1,85	s	--	3
OAc	2,05	s	--	3
Meacr	5,99	d	4,6	1
	5,44	m	--	1
	2,00	s	--	3

Gonospermum gomerae Bolle

Parte teórica



Género GONOSPERMUM.

Este género endémico de las Islas Canarias está constituido por cuatro especies, las cuales se distribuyen entre las islas más occidentales, es decir, Tenerife, La Gomera, El Hierro y La Palma.

En lo que se refiere a sus aspectos morfológicos, las hojas se disponen en espiral a partir de la base de las ramas, disminuyendo progresivamente en tamaño a medida que se avanza hacia el ápice, pudiendo ser de pinnatipartidas a pinnatisectas. Los escapos florales forman corimbos compuestos, con flores tubulares hermafroditas, de color amarillo.

Desde un punto de vista morfológico las afinidades dentro de este grupo permiten establecer dos grupos claramente diferenciados, que son por un lado:

- *Gonospermum canariense*.
- *Gonospermum elegans*.

y, por otro:

- *Gonospermum gomerae*.
- *Gonospermum fruticosum*.

Veamos las características de cada una de las especies estudiadas.

1.- *Gonospermum gomerae* Bolle.

Esta especie se encuentra únicamente en las regiones del Norte de la isla de La Gomera, en riscos entre los 150 y 500 metros sobre el nivel del mar, presentando una distribución bastante reducida.

La morfología de esta especie es más parecida a *G. fruticosum* que al resto de las especies del género, diferenciándose de esta última por presentar las hojas pinnapartidas, con pinnas más anchas, de subenteras a pinnapartidas. Los escapos florales forman corimbos más laxos y los capítulos presentan menor número de flores. Los pappus forman pequeñas prominencias en los finales de los nervios de forma similar al de las poblaciones de *G. fruticosum* de las islas de La Gomera y El Hierro, aunque menos patentes que en estas.

Florece en el mes de Mayo y fructifica en Julio.

2.- *Gonospermum fruticosum* Less.

De las cuatro especies que componen este género, esta es la que presentan una más amplia distribución pudiéndose encontrar en las islas de Tenerife, La Gomera y El Hierro, concretamente en las regiones entre los 100 y 500 metros sobre el nivel del mar.

En la isla de Tenerife es relativamente frecuente en los barrancos de la zona interior en el Norte de la isla, existiendo también una población más aislada en la región Este (Municipio de Güimar). En El Hierro, se encuentra distribuida principalmente en el Norte y Este de la isla, mientras que las poblaciones presentes en la isla de La Gomera se sitúan en el Oeste y el Este, mientras que en la región Norte se encuentra ocupada por el *G. gomerae*.

Forma arbustos de hasta 1 m de altura, con hojas ovado u obovadooblanceoladas, bipinnatisectas, con pinnas secundarias dentadas. Los escapos florales presentan corimbos menos densos que *G. canariense* y *G. elegans*. Los pappus están formados por dientes rígidos córneos como prolongaciones de los nervios del aquenio en las poblaciones de Tenerife y, ocasionalmente en las poblaciones de La Gomera y, formado únicamente por unas pequeñas prominencias en los finales de los nervios, en las poblaciones de La Gomera y El Hierro; estas poblaciones presentan además una coloración púrpura en el tallo, hojas e involucre que las diferencia de las poblaciones de la isla de Tenerife.

Florece en Mayo y Abril y fructifica en Junio y Julio, siendo la excepción la población de El Hierro debido a que al estar situada en un hábitat más húmedo experimenta un ligero retraso en la floración (florece en Mayo y fructifica a finales de Julio ó principio de Agosto).

Tal y como se describe en la parte experimental, la extracción con etanol de partes aéreas de esta planta dio un líquido de aspecto siruposo que fue sometido a sucesivos procesos de separación mediante cromatografía en columna. El resultado fue la obtención de 20 sustancias cuyo estudio pasamos a describir en función de sus relaciones estructurales y las cuales hemos agrupado de la siguiente forma:

- 1 Esterol
- 1 Lignano
- 2 Cumarinas
- 2 Flavonoides
- 2 Sesquiterpenos

- 12 Lactonas sesquiterpénicas:
 - 8 Tipo Germacrano
 - 4 Tipo Eudesmano

Esterol

Sustancia 1

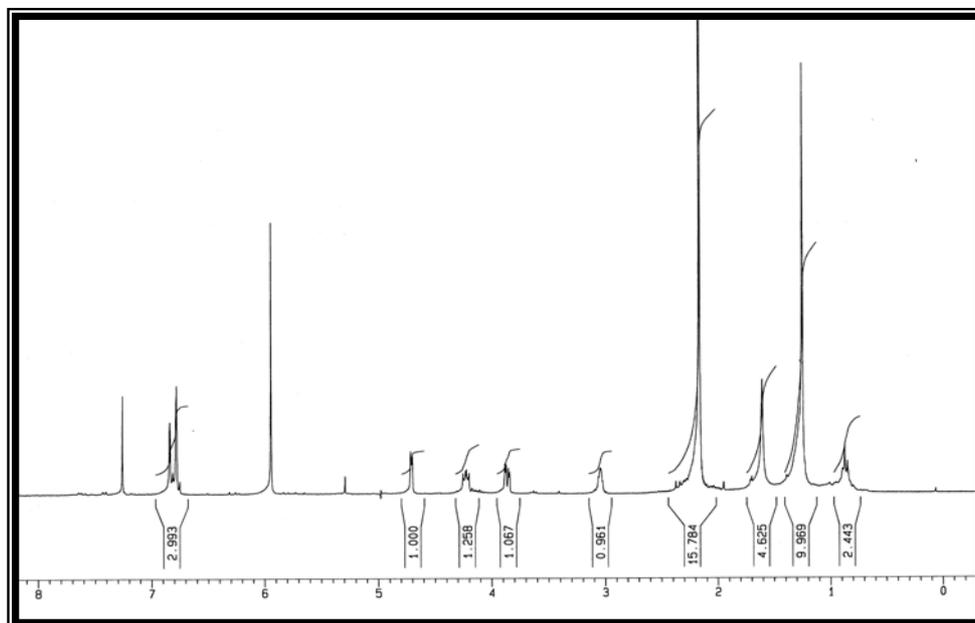
Fue aislada como un sólido cristalino cuyas propiedades físicas y espectroscópicas coinciden con las de **estigmasterol**, descrita en *Lugoa revoluta* (pág. 42).

Lignano

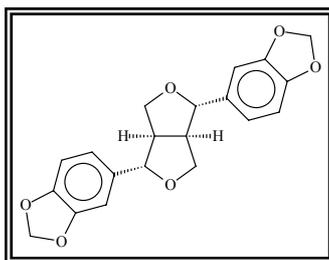
Sustancia 21

Esta sustancia se obtuvo a partir de las fracciones 56-70 de la cromatografía general como un sólido cristalino cuyo punto de fusión resultó ser 122-123°C. Los resultados de la espectrometría de masas indican un pico a m/z 354 que se asigna al ión molecular M^+ , coincidente con la fórmula $C_{20}H_{16}O_6$, además de las fragmentaciones típicas de un lignano tipo 7,7'-diaril-furofurano (ver parte experimental).

En el espectro de 1H -RMN (Fig. 23), la presencia de cuatro señales distintas correspondientes a los ocho protones alifáticos indica la existencia de cuatro entornos químicos distintos para dichos protones asignándose para H-7 y H-7' el doblete a δ 4,72 ($J=4,4$ Hz), para H-8 y H-8' el multiplete a δ 3,05, y distinguiéndose en dos señales tipo doble-doblete los protones presentes en C-9 y C-9' de manera que los H-9, H-9' (exo) sufren un desplazamiento a campos más bajos ($\delta =4,24$) como consecuencia del efecto de desapantallamiento que ejercen los grupos arilos en posición ecuatorial. Además, el doblete intenso a δ 5,96 ($J=1,8$ Hz) corresponde a los cuatro protones de los dos grupos metilendioxi y los protones aromáticos presentan dos señales: un singulete a 6,78 para los protones H-2 y H-2' y un doblete a δ 6,82 ($J=10,3$ Hz) para los cuatro restantes.

Figura 23. Espectro de ^1H -RMN de la sustancia **21**.

Comparando los resultados anteriores con los reportados en la bibliografía para el lignano **sesamina**⁷³ se puede comprobar que son totalmente coincidentes, por lo que se propone como estructura para la sustancia **21** la siguiente:

**21**

⁷³ Pelter, A., Ward, R. S., Rao, E. V., Sastry, K. V. (1976) *Tetrahedron* **32**, 2783

Cumarinas

Sustancia 2

Fue aislada como un sólido cristalino cuyas propiedades físicas y espectroscópicas coinciden con las de **escoparona**, descrita en *Lugoa revoluta* (pág. 42).

Sustancia 3

Fue aislada como un sólido cristalino cuyas propiedades físicas y espectroscópicas coinciden con las de **escopoletina**, descrita en *Lugoa revoluta* (pág. 43).

Flavonoides

Sustancia 7

Fue aislada como un sólido cristalino cuyas propiedades físicas y espectroscópicas coinciden con las de **5, 7, 4'-trihidroxi-3, 6-dimetoxiflavona**, descrita en *Lugoa revoluta* (pág. 46).

Sustancia 23

Fue obtenida a partir de las fracciones 56 a 70 de la cromatografía general como un sólido cristalino cuyo punto de fusión en mezcla de n-hexano y acetato de etilo dio 208-210 °C, y que analizada en cromatografía en capa fina dio, tras el revelado, una mancha de color amarilla, lo que hizo pensar que se trataba de una sustancia de naturaleza flavonoide.

Su espectro de masas da la señal correspondiente al ion molecular a m/z 346 que concuerda con la fórmula molecular $C_{17}H_{14}O_8$, además de otros fragmentos de importancia como el registrado a m/z 331 $[M-Me]^+$. Además, el espectro de U.V. nos confirma su naturaleza flavonoide, ya que los desplazamientos al adicionar los reactivos específicos así lo indican tal y como queda reflejado en la siguiente tabla:

Ensayo	Banda I	Banda II	Conclusiones
MeOH	355,5	257, 270 i	Flavonol 2 oxígenos en anillo B
MeOH/MeONa	410,5	271,0 336,0 i	4' -OH 3-OR 7-OH
MeOH/AlCl ₃	437	277	5 -OH 3',4'-dihidroxi
MeOH/AlCl ₃ /HCl	371	266	3',4'-ortodihidroxi
MeOH/AcONa	408	273,0	7-OH
MeOH/AcONa/H ₃ BO ₃	410	271,5	---

En su espectro de ¹H-RMN (Fig. 24) se observan dos singletes característicos de metoxilos aromáticos a δ 3,81 y 3,90; un singlete a δ 6,59 asignado a H-8; un doblete a δ 7,15 ($J= 8,3$ Hz) atribuido al protón H-5'. Finalmente, los protones H-2' y H-6' aparecen como doblete (δ 7,96, $J= 2$ Hz) y doble doblete (δ 7,68, $J= 2$ Hz y 8,5 Hz) respectivamente.

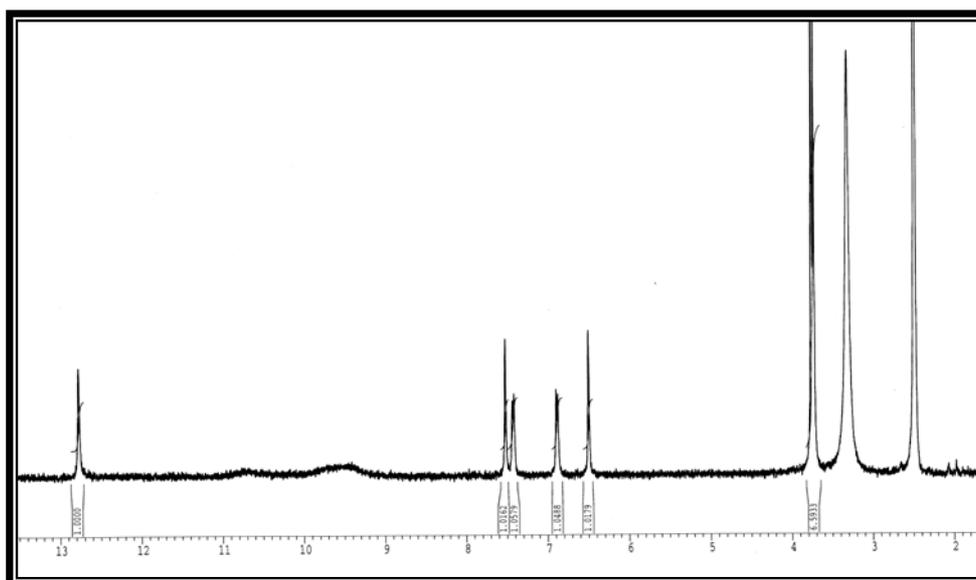
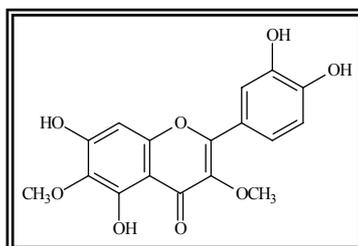


Figura 24. Espectro de ¹H-RMN de la sustancia 23.

Consultada la bibliografía encontramos esta sustancia descrita con el nombre de **axillarina**, cuyos datos físicos y espectroscópicos coinciden con los anteriores por lo que proponemos para la sustancia **23** la estructura **3', 4', 5, 7-tetrahidroxi-3, 6-dimetoxiflavona**⁷⁴.

**23**

Sesquiterpenos

Sustancia 26

Fue aislada a partir de las fracciones 71 a 96 de la cromatografía general como un aceite que se comporta en capa fina como una especie química pura y que al revelar da una mancha de color marrón.

Su espectro de IR presenta bandas de absorción típicas de grupos hidroxilo (3424 cm^{-1}), γ - lactona (1736 cm^{-1}) y dobles enlaces (1657 cm^{-1}) y el espectro de masas no da el ion molecular aunque el fragmento a m/z 192 $[M-H_2O]^+$ concuerda con la fórmula molecular $C_{12}H_{18}O_3$. Esto nos hace pensar que esta sustancia es una lactona norsesquiterpénica derivada del nerolidol. Ello fue confirmado al obtener su espectro de $^1\text{H-RMN}$ (Fig. 25) que muestra la presencia de dos grupos metilos terciarios en carbonos que soportan funciones oxigenadas como dos singuletes a δ 1,50 y 1,27. Un grupo vinilo queda definido mediante un sistema ABC en el que el protón H-2 aparece como un doble doblete a δ 5,89 ($J=8,0\text{ Hz}$ y $J=12,9\text{ Hz}$), mientras que los protones H-1 y H-1' lo hacen como dos dobletes a δ 5,19 ($J=13,0\text{ Hz}$) y δ 5,06 ($J=8,0\text{ Hz}$), respectivamente. El resto de las señales son: un multiplete a δ 5,70 y un doblete a δ 5,60 ($J=11,8\text{ Hz}$) asociados a dos protones vinílicos, dos dobles dobletes que asignamos a los protones de los metilenos C-4 (δ 2,28, $J=2,7\text{ Hz}$ y $2,5\text{ Hz}$) y C-9 (δ 2,55, $J=5,6\text{ Hz}$ y $8,0\text{ Hz}$) y dos multiplotes a δ 2,07 y δ 2,17 que corresponden a H-8 y H-8'.

⁷⁴ Herz, W. Sudarsaman, V. (1970). *Phytochemistry* **8**, 895.

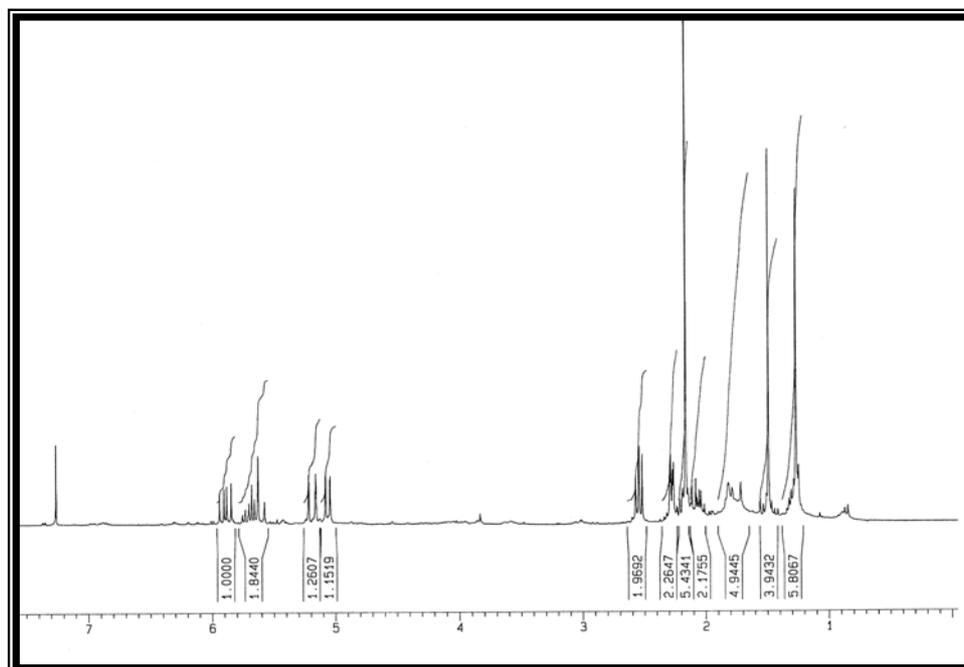


Figura 25. Espectro de ^1H -RMN de la sustancia **26**.

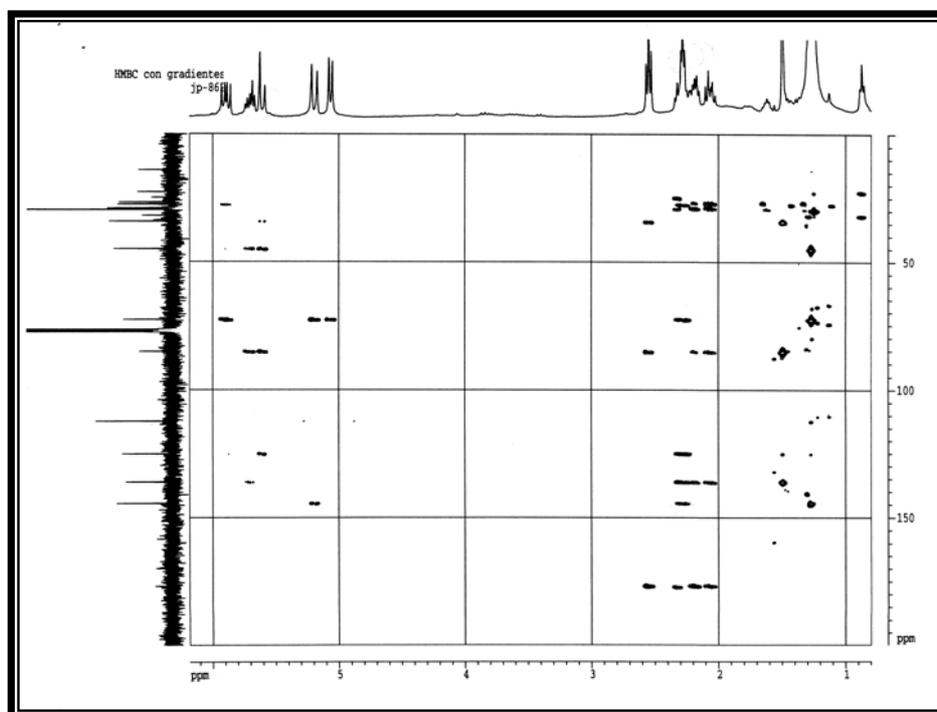
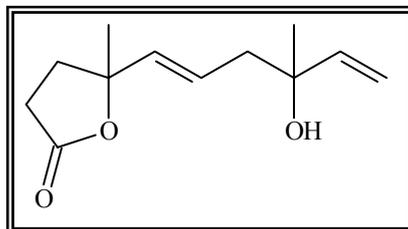


Figura 26. Espectro de HMBC de la sustancia **26**.

Con estos datos espectroscópicos proponemos para nuestra sustancia la estructura **26**, que son coincidentes con los que la bibliografía aporta para el norsesquiterpeno **crocinervolido**⁷⁵.



26

Sustancia 22

Esta sustancia se obtuvo de las fracciones 56 a 70 de la cromatografía general como un aceite incoloro que se comporta en cromatografía en capa fina como una especie química pura. Sus datos espectroscópicos sugieren la estructura de un hidroxiácido sesquiterpénico ya que en su espectro de IR aparecen las absorciones características de los grupos hidroxilo (3418 cm^{-1}), ácido (1715 cm^{-1}) y dobles enlaces (1645 cm^{-1}), mientras que su espectro de masas confirma la fórmula $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{O}_3$ con la señal del ion molecular a m/z 250.

En el espectro de ^1H -RMN (Fig. 27) puede apreciarse un singulete a δ 1,07 típico de un metilo angular, por lo que se deduce que se trata de un sesquiterpeno tipo eudesmano. También se registran dos singuletes a δ 5,23 y 5,00 correspondientes a un metileno aislado (C-15), y otros dos a δ 6,32 y 5,70 atribuibles a metileno conjugado a grupo carboxilo en C-13. El resto de las señales son multipletes: a δ 2,84 que asignamos H-7, a δ 2,49 para H-3, y otros dos entre 1,53 y 1,66 que integra para cinco protones (H-2, H-2', H-6', H-8 y H-8'), y entre 2,02 y 2,20 que corresponde a H-3' y H-6.

⁷⁵ Ortega, A., Del C. López, J., Maldonado, E. (1989). *Phytochemistry* **28**, 2735-2736

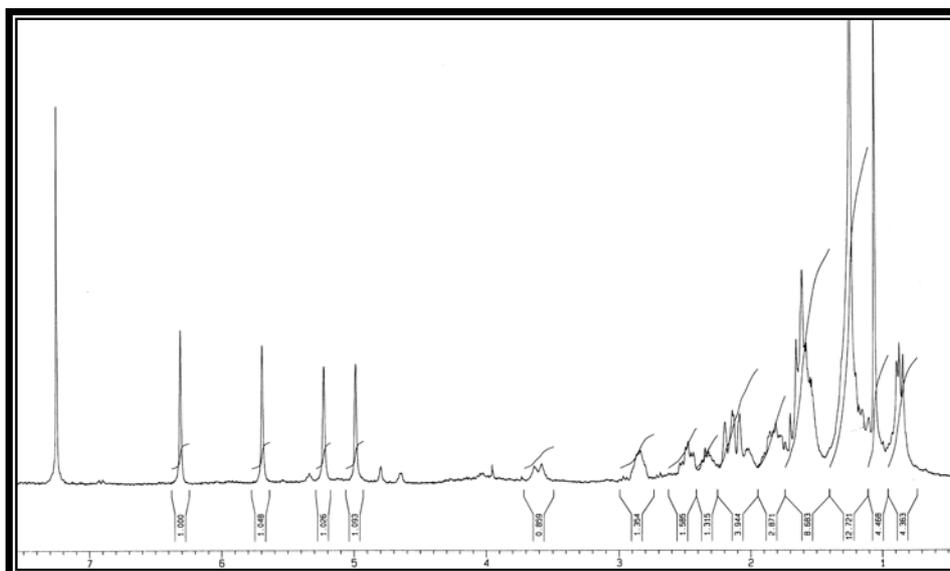


Figura 27. Espectro de ^1H -RMN de la sustancia 22.

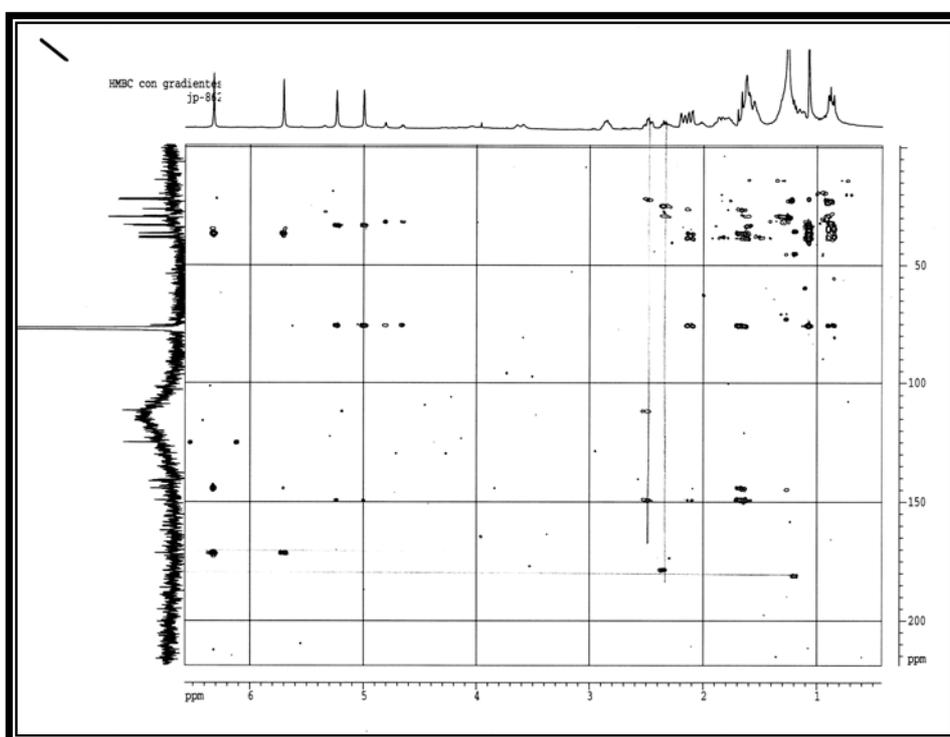
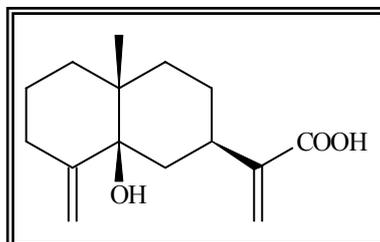


Figura 28. Espectro de HMBC de la sustancia 22.

Consultada la bibliografía vemos que los datos de nuestro producto coinciden con los reportados para el **ácido 5 β -hidroxicóstico**⁷⁶, por lo que proponemos la estructura **22**.



22

Lactonas sesquiterpénicas

Sustancia 10

Fue aislada como un sólido cristalino cuyas propiedades físicas y espectroscópicas coinciden con las de **tatridina A**, descrita en *Lugoa revoluta* (pág. 49).

Sustancia 8

Fue aislada como aceite incoloro cuyas propiedades espectroscópicas coinciden con las de **4 α ,5 β epóxido de tatridina A**, descrita en *Lugoa revoluta* (pág. 51).

Sustancia 9

Fue aislada como un sólido amorfo cuyas propiedades espectroscópicas coinciden con las de **tatridina B**, descrita en *Lugoa revoluta* (pág. 53).

Sustancia 11

Fue aislada como un aceite incoloro cuyas propiedades espectroscópicas coinciden con las de **tamirina**, descrita en *Lugoa revoluta* (pág. 59).

Sustancia 12

Fue aislada como un aceite incoloro cuyas propiedades espectroscópicas coinciden con las de **6-angelato de desacetil β ciclopiretrosina**, descrita en *Lugoa revoluta* (pág. 63).

⁷⁶ Ahmed, A., Jakupovic, J. (1990). *Phytochemistry*, 29, 3658.

Sustancia 20

Esta sustancia fue aislada de las fracciones 56 a 70 de la cromatografía general como un aceite incoloro. Su espectro de masas no da la señal del ion molecular aunque sí la de un fragmento importante a m/z 244 $[M-HOAng]^+$, concordante con la fórmula $C_{19}H_{24}O_5$. El espectro de IR muestra bandas de absorción correspondientes a grupos hidroxilo (3458 cm^{-1}), γ -lactona (1732 cm^{-1}) y dobles enlaces (1660 cm^{-1}).

Su espectro de $^1\text{H-RMN}$ (Fig. 29) muestra los dobletes típicos del agrupamiento α -metileno- γ -lactona a δ 6,34 ($J=2,7\text{ Hz}$) y 5,85 ($J=2,4\text{ Hz}$), y las señales características del grupo angeloiloxi a δ 6,13 (multiplete), δ 1,98 (doblete, $J=7,1\text{ Hz}$) y δ 1,91 (singulete). También registra un singulete a δ 1,79 atribuible a un metilo vinílico y un singulete (δ 5,81) y doblete (δ 5,85, $J=2,4\text{ Hz}$) característicos de un metileno conjugado con un grupo carbonilo. La posición del grupo angeloiloxi propuesta es la de C-6 ya que la señal del protón H-6 sufre un desplazamiento a campo bajo con respecto a la sustancia **11**, apareciendo ahora como un doblete a δ 5,21 ($J=10,0\text{ Hz}$ y $10,0\text{ Hz}$). El resto de las señales son: doblete a δ 5,21 ($J=10,0$ y $10,0\text{ Hz}$) que asignamos al protón geminal al grupo angeloiloxi, multiplete a δ 4,05 para el protón de cierre de la lactona y multiplete a δ 2,99 para el situado en el carbono vecinal (H-7).

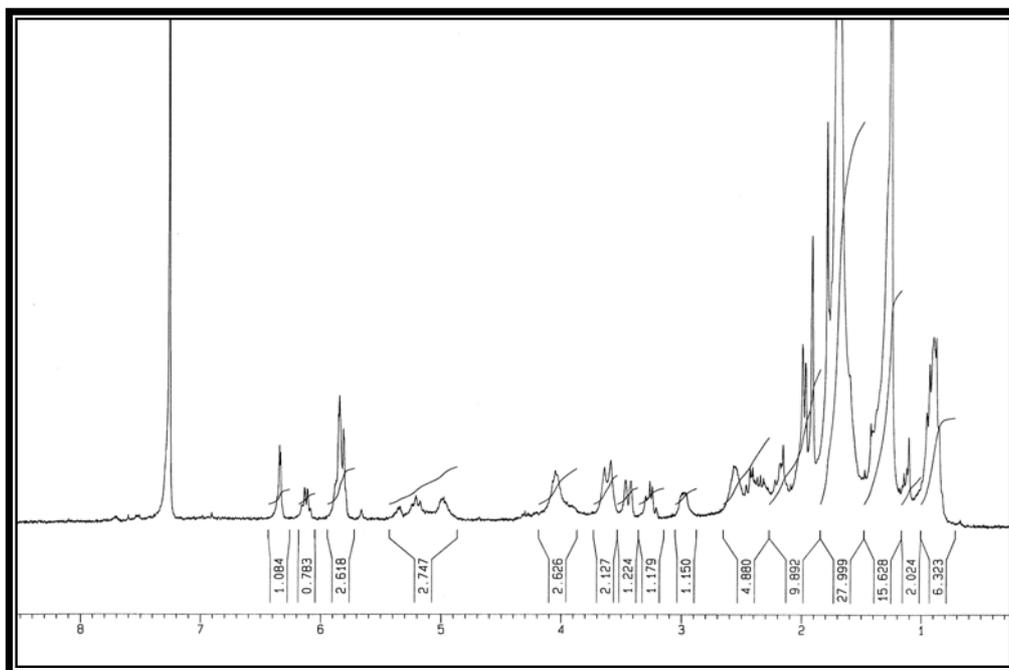
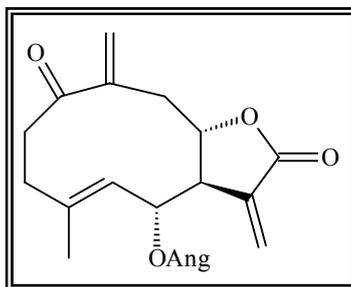


Figura 29. Espectro de $^1\text{H-RMN}$ de la sustancia **20**.

De lo anterior se deduce que esta sustancia tiene la siguiente estructura **6-angelato de tamirina (20)**, que no ha sido encontrada en la bibliografía consultada.



20

Sustancia 16

Se obtuvo de las fracciones 31 a 51 de la cromatografía general y se identificó a partir de la obtención de su derivado acetilado que condujo a una mezcla de dos compuestos, **16a** y **16b**.

La sustancia **16a** presenta unos datos espectroscópicos que sugieren una estructura de lactona sesquiterpénica ya que su espectro de IR presenta bandas de absorción características de grupos hidroxilos (3418 cm^{-1}), γ -lactona (1738 cm^{-1}) y dobles enlaces (1645 cm^{-1}), mientras que su espectro de masas da el fragmento a m/z 246 $[M-\text{HOAc}-\text{H}_2\text{O}]^+$, concordante con la fórmula molecular $\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{O}_6$.

El espectro de ^1H -RMN de **16a** (Fig. 30) confirma la presencia del agrupamiento α -metileno- γ -lactona al registrar los dos dobletes característicos a δ 6,14 ($J=2,8\text{ Hz}$) y 5,96 ($J=2,7\text{ Hz}$) así como la existencia de un alcohol terciario ya que aparece un singlete intenso a δ 1,42 característico de un metilo geminal a grupo hidroxilo. Además aparecen otros dos singletes: a δ 1,05, propio de un metilo angular, y a δ 2,05 correspondiente a los tres protones del grupo acetilo; este grupo se ubica en el carbono C-1 ya que el triplete correspondiente al protón geminal al otro grupo hidroxilo (H-6) aparece a δ 4,26 ($J=10\text{ Hz}$) mientras que el doblete del protón de C-1 sale desplazado a campo más bajo, δ 4,67 ($J=5,1\text{ Hz}$ y $9,2\text{ Hz}$), debido a la presencia del grupo acetilo. Otras señales importantes son: doblete a δ 1,85 ($J=10\text{ Hz}$) que asignamos a un protón (vecinal a grupo hidroxilo) situado en un carbono terciario (C-5), triplete a δ 3,89 ($J=3,5\text{ Hz}$, $5,7\text{ Hz}$ y 10 Hz) que corresponde al protón de cierre de la

lactona, y dos dobles dobletes a δ 2,14 ($J= 3,5$ Hz y 12,0 Hz) y δ 1,48 ($J= 12,0$ Hz y 12,0 Hz) para los dos protones vecinales al anterior.

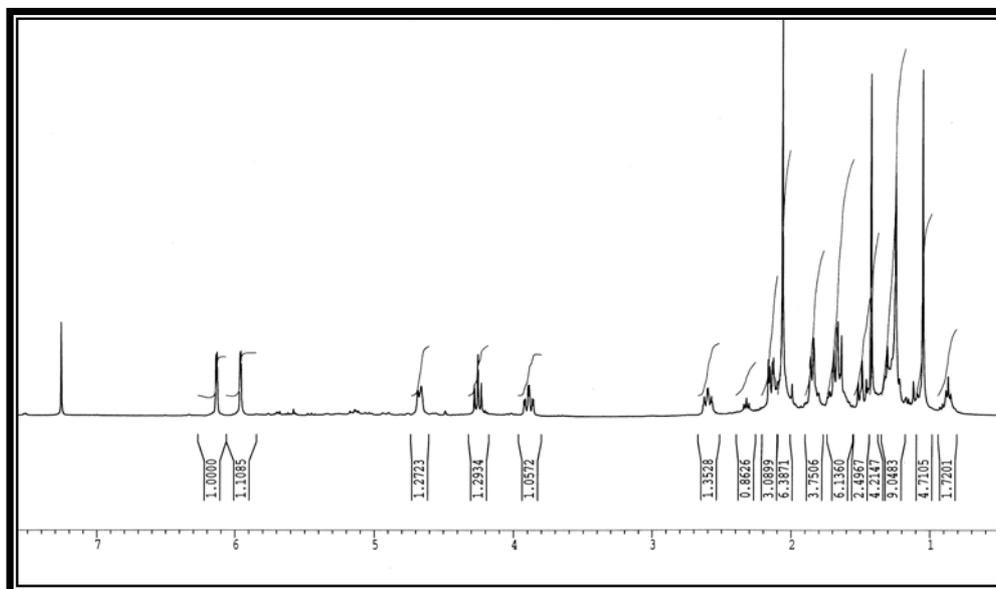
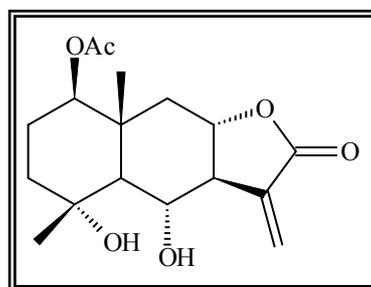


Figura 30. Espectro de ^1H -RMN de la sustancia **16a**.

Con los datos espectroscópicos descritos proponemos para **16a** la estructura (**1 β -acetoxi-4 α ,6 α ,-dihidroieudesm-11-en-8 α ,12-olida**).



16a

La sustancia **16b** también se trata de una lactona sesquiterpénica estrechamente relacionada con la anterior como se deduce de sus datos espectroscópicos. Así, presenta las bandas de absorción características de los grupos hidroxilo (3674 cm^{-1}), γ -lactona (1772 cm^{-1}) y dobles enlaces (1635 cm^{-1}), en su espectro de IR, mientras que su espectro de masas, aunque no da el ion molecular, sí da el fragmento a m/z 246 $[\text{M}-2\text{HOAc}]^+$ concordante con la fórmula $\text{C}_{19}\text{H}_{26}\text{O}_7$.

Su espectro de ^1H -RMN (Fig. 31) corrobora la similitud antes mencionada ya que en él aparecen también las señales características del agrupamiento α -metileno- γ -lactona como dos dobletes a δ 6,11 ($J=3,0$ Hz) y 5,36 ($J=2,8$ Hz) así como el singulete intenso correspondiente a los tres protones del grupo metilo geminal al hidroxilo a δ 1,30. La señal correspondiente al metilo angular (C-14) aparece a δ 1,11, mientras que ahora son dos los singuletes propios de grupos acetilo a δ 2,07 y 2,12. Este segundo grupo acetilo se asigna sobre el carbono C-6, ya que la señal del protón situado en dicho carbono se desplaza a campo bajo apareciendo como un doble doblete a δ 5,65 ($J=10,2$ y 10,5 Hz). El resto de las señales también presentan analogías con las de la sustancia anterior: el doblete a δ 1,88 ($J=10,5$ Hz) se asigna al protón de C-5, el triple doblete a δ 3,97 ($J= 4,0$ Hz, 12,0 Hz y 12,0 Hz) corresponde al protón de cierre de la lactona y los vecinales a este último aparecen como dos dobles dobletes a δ 2,21 ($J= 4,0$ Hz y 12,0 Hz) y δ 1,50 ($J= 12,0$ Hz y 12,0 Hz).

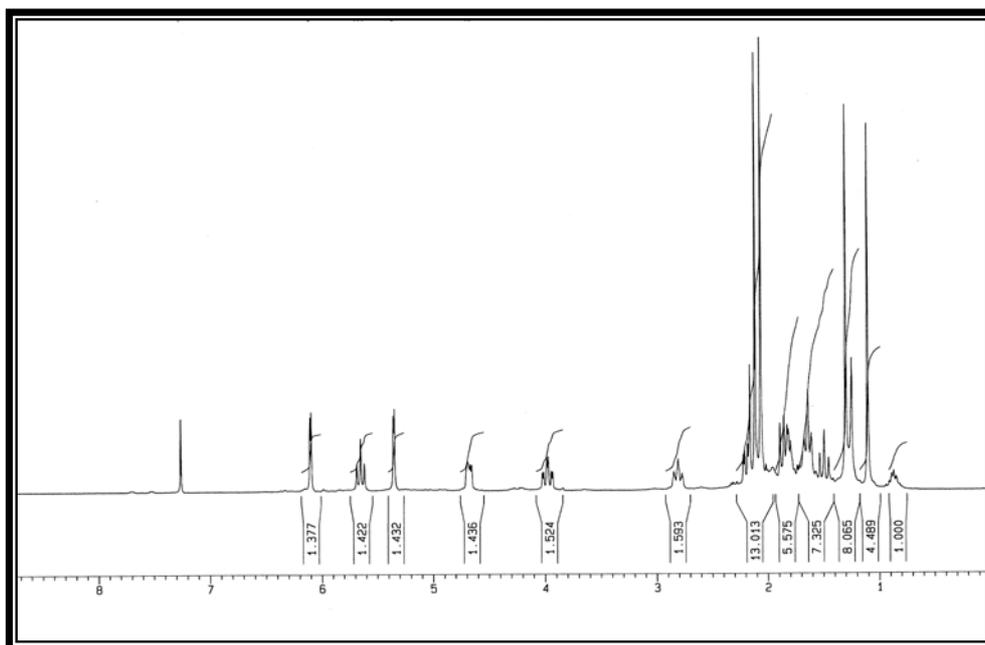
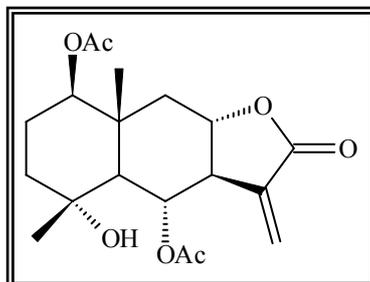
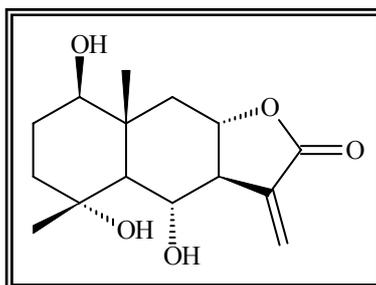


Figura 31. Espectro de ^1H -RMN de la sustancia **16b**.

Con los datos mencionados se propone para esta sustancia la estructura **16b** que aparece descrita en la bibliografía como **1 β ,6 α -diacetoxi-4 α -hidroxieudesm-11-en-8 α ,12-olida**⁷⁷.

**16b**

De acuerdo a lo anterior, la sustancia **16** corresponde por tanto a **1 β ,4 α ,6 α -trihidroxieudesm-11-en-8 α ,12-olida**, no habiendo sido encontrada descrita con anterioridad en la bibliografía consultada.

**16**

Sustancia 19

Esta sustancia fue obtenida de las fracciones 52 a 55 de la cromatografía general y purificada mediante acetilación. El espectro IR del derivado acetilado (**19a**) presenta bandas de absorción características de dobles enlaces (1650 cm^{-1}) y γ -lactona (1755 cm^{-1}); el de masas, aunque no da el ion molecular, da cuenta de un fragmento a m/z 264 $[\text{M}-\text{CH}_2\text{CO}]^+$ que concuerda con la fórmula $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{O}_4$. El estudio del espectro de ^1H -RMN del derivado acetilado de esta sustancia (Fig. 32), un sólido de punto de fusión $155\text{-}156^\circ\text{C}$, revela la formación de un monoacetato (singulete a δ 2,06) y la presencia del α -hidroxilo adyacente a la lactona al detectarse el desplazamiento a campo alto de

⁷⁷ Jakupovic, J., Schuster, A., Bohlmann, F., King, M., Lander, S. (1988). *Phytochemistry* **27**, 3181-85.

uno de los dos dobletes correspondientes al grupo metileno exocíclico que aparecen ahora a δ 6,38 ($J=2,4$ Hz) y 5,82 ($J=2$ Hz). Además aparece: un triplete a δ 5,34 ($J=9,0$ Hz) característico del protón vinílico en C-1; un singulete a δ 1,75 asignado a un metilo vinílico en C-10; un doble doblete a δ 5,26 ($J= 11,5$ Hz y 3,5 Hz) que asignamos al protón geminal al grupo acetilo en C-6 por considerar que un multiplete a δ 4,55 corresponde al protón situado en el carbono de cierre de la lactona. Por último, la presencia de un único protón en C-5 (doblete a δ 2,68, $J=3,5$ Hz) y la ausencia de grupos hidroxilos que revelaba el espectro IR sugirió la presencia de un grupo epóxido en C-4 y C-5, lo que fue apoyado por una señal tipo singulete a δ 1,41 atribuida a un grupo metilo en C-4.

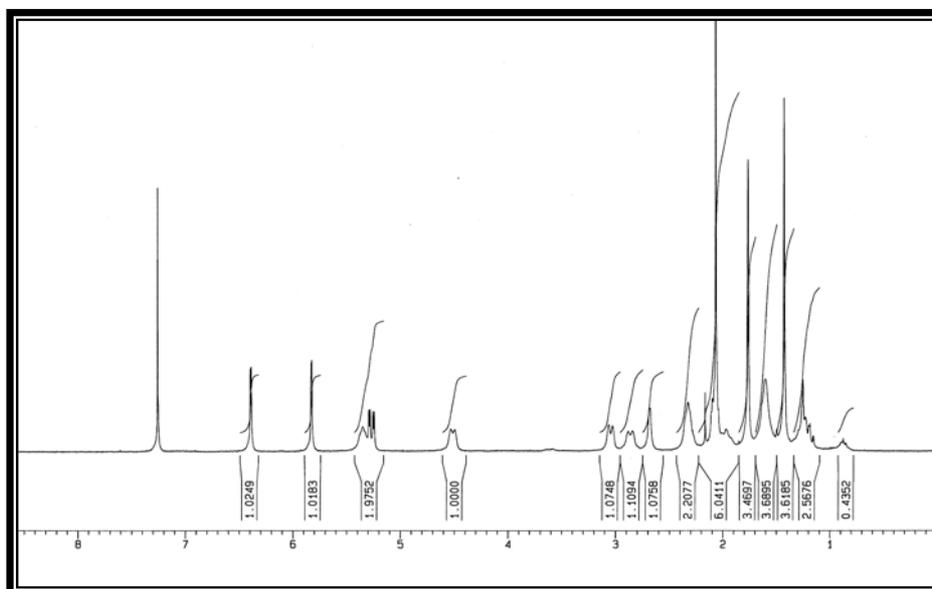
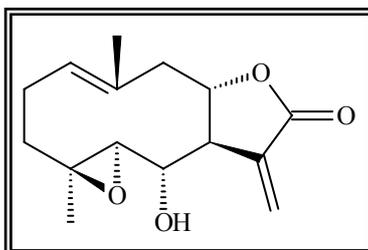


Figura 32. Espectro de ^1H -RMN de la sustancia **19a**.

Con estos datos se propone para este derivado acetilado la estructura **19a**, por lo que el producto original es el alcohol **19** cuyos datos espectroscópicos coinciden con los reportados por la bibliografía para la **espificiformina**⁷⁸.



19

⁷⁸ Shafizadeh, F., Bhadane, N.R. (1973). *Phytochemistry* **12**, 857.

Sustancia 25

Se obtuvo de las fracciones 71 a 96 de la cromatografía general en forma de aceite incoloro que en cromatografía en capa fina da una mancha de color marrón después de revelado. El estudio de sus espectros sugiere que esta sustancia es una lactona sesquiterpénica. Su espectro de IR muestra señales de absorción típicas de grupos hidroxilos a 3419 cm^{-1} , de γ -lactona a 1760 cm^{-1} y de dobles enlaces a 1647 cm^{-1} . En su espectro de masas se observa la señal correspondiente al ion molecular a m/z 264 concordante con la fórmula molecular $C_{15}H_{20}O_4$, así como los fragmentos a m/z 246 $[M-H_2O]^+$ y 228 $[M-2H_2O]^+$.

El espectro de 1H -RMN (Fig. 33) muestra las señales correspondientes a los protones de un agrupamiento α -metileno- γ -lactona como dos dobletes a δ 6,17 ($J=2,9$ Hz) y 5,97 ($J=2,4$ Hz); dos singuletes anchos en δ 4,19 y 5,08 típicos de un metileno exocíclico aislado; un triplete a δ 4,12 ($J=10,0$ Hz) y un doble doblete a δ 3,57 ($J=4,7$ Hz y 11,4 Hz) asignados a dos protones geminales a grupos hidroxilo y un triple doblete a δ 3,99 ($J=3,5$ Hz, 11,5 Hz y 12 Hz) correspondiente al protón de cierre de la lactona. En la región de los metilos aparece un singulete a δ 0,82. La posición y constante de acoplamiento de las señales de los protones de cierre de la lactona y geminales a grupo hidroxilo nos llevan a proponer una estructura de γ -lactona cerrada en C-8 y los grupos hidroxilos en posición β en C-1 y α en C-6.

La presencia de los dos grupos hidroxilo así como la ubicación de sus protones geminales fue confirmada al obtener su derivado acetilado, ya que su espectro de IR no muestra las bandas típicas de los grupos hidroxilos y el de 1H -RMN refleja el desplazamiento de la señal de los protones geminales a los grupos hidroxilos de C-1 a δ 4,82 (doble doblete, $J=4,8$ Hz y 11,5 Hz) y de C-6 a δ 5,50 (triplete, $J=10,3$ Hz). Además, aparece un singulete intenso a δ 2,07 correspondiente a los seis protones de los dos grupos acetilo y las señales asociadas a los protones del agrupamiento α -metileno- γ -lactona aparecen ahora como dos dobletes a δ 6,12 ($J=3,1$ Hz) y 5,42 ($J=2,9$ Hz).

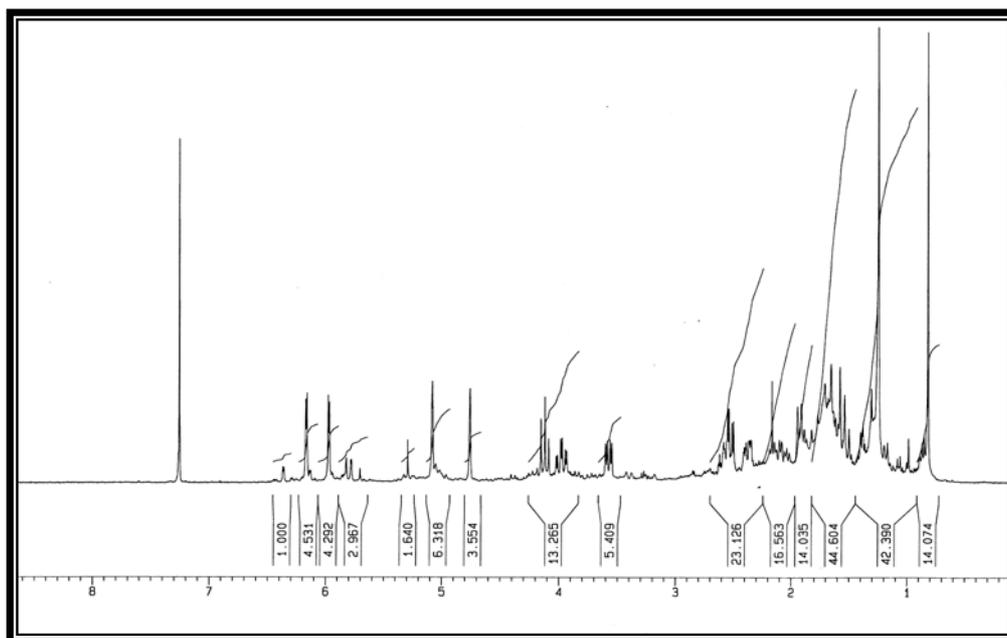
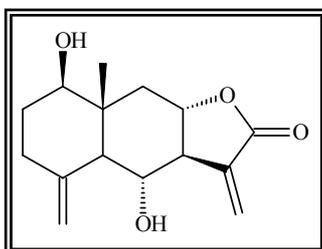


Figura 33. Espectro de ^1H -RMN de la sustancia **25**.

Con todos estos datos se propone la estructura **25** para esta sustancia, que ha sido descrita en la bibliografía con el nombre de **desacetil β -ciclopiretosina**⁷⁹, con la que concuerdan los datos espectroscópicos.



25

Sustancia 24

Esta sustancia se obtuvo a partir de las fracciones 56 a 70 de la columna general como un aceite incoloro. Sus datos espectroscópicos eran muy similares a los de la sustancia anterior lo que nos condujo a pensar que se trataba de una lactona sesquiterpénica. Así, su espectro IR incluye bandas de absorción típicas de grupos hidroxilos (3479 cm^{-1}), de γ -lactona (1770 cm^{-1}) y dobles enlaces (1651 cm^{-1}), mientras que el espectro de masas, aunque no da la señal correspondiente al ion molecular, sí

⁷⁹ Bohlmann, F., Adler, A., Jaiupovic, J., King, R., Robinson, H. (1982). *Phytochemistry* **21**, 1349

muestra fragmentos a m/z 246 $[M-AcOH]^+$ y m/z 228 $[M-AcOH-H_2O]^+$, que concuerdan con la fórmula molecular $C_{17}H_{22}O_5$.

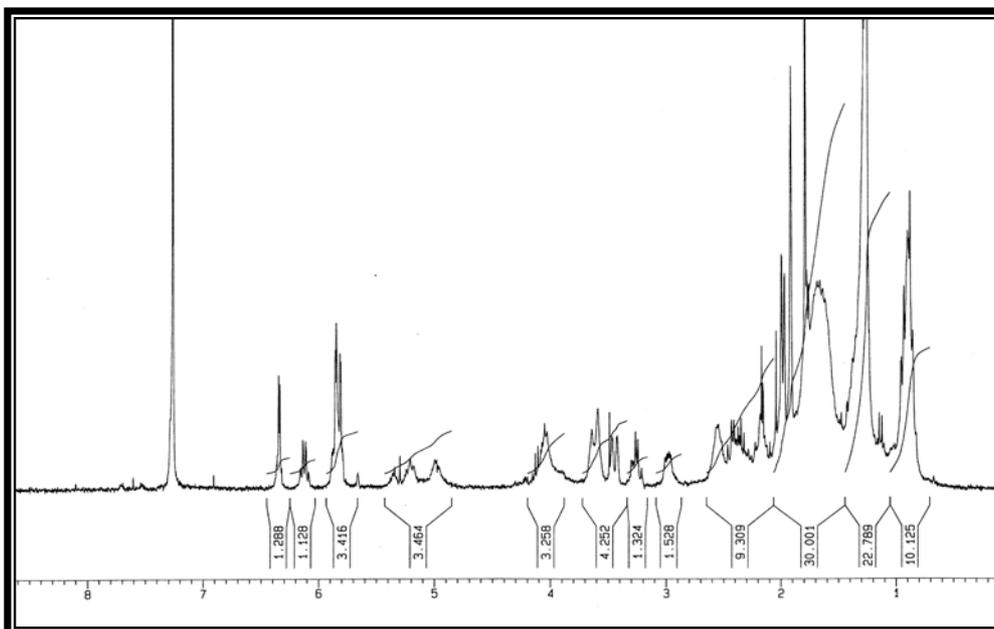
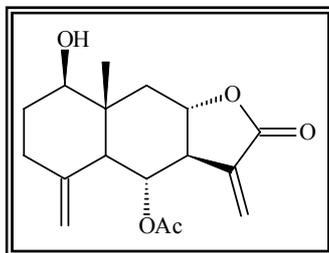


Figura 34. Espectro de 1H -RMN de la sustancia **24**.

Las señales de su espectro de 1H -RMN (Fig. 34) son: dos dobletes correspondientes a los protones de un agrupamiento α -metileno- γ -lactona a δ 6,11 ($J=3,1$ Hz) y 5,43 ($J=3,0$ Hz); un singulete a δ 2,05 y de intensidad relativa a tres protones que corresponden a un grupo acetilo; un doble doblete a δ 3,58 ($J= 4,6$ Hz y 4,6 Hz), que asignamos a un protón geminal a grupo hidroxilo en C-1; dos singuletes anchos típicos de un metileno exocíclico aislado a δ 4,87 y δ 4,64; un triple doblete a 4,07 ($J=3,7$ Hz, 3,7 Hz y 3,7 Hz) que asignamos al protón del carbono de cierre de la lactona y un singulete en la zona de los metilos a δ 0,86. Finalmente, la señal del protón situado en C-6 aparece a campo más bajo (triplete a δ 5,51, $J=10,3$ Hz) que en la sustancia anterior lo que sugiere que el grupo acetilo se ubica en este carbono.

Comparando estos datos con los reportados por la bibliografía para β -ciclopiretosina⁸⁰ comprobamos que son totalmente coincidentes por lo que proponemos la siguiente estructura para la sustancia **24**.



24

Sustancia 17

Fue obtenida a partir de las fracciones 31 a 51 de la cromatografía general y purificada mediante la formación de su derivado acetilado **17a** que genera una sustancia aceitosa que presentaba en capa fina una mancha de color marrón. Los datos espectroscópicos de este derivado mostraron gran coincidencia con la sustancia anterior ya que el espectro de IR presentaba absorciones características de grupos γ -lactona (1770 cm^{-1}), éster (1731 cm^{-1}) y dobles enlaces (1673 cm^{-1}), y la espectrometría de masas daba dos fragmentos importantes a m/z 288 $[M-HOAc]^+$ y m/z 228 $[M-2HOAc]^+$, coincidentes con la fórmula $C_{19}H_{24}O_6$.

Su espectro de $^1\text{H-RMN}$ (Fig. 35) muestra como diferencia fundamental que el protón de cierre de la lactona se encuentra sobre C-6 y no en C-8, lo que se deduce de los desplazamientos químicos y multiplicidades de las señales que se registran a δ 4,04 (triplete, $J=11,1\text{ Hz}$) y a δ 5,14 (triple doblete, $J=4,2\text{ Hz}$, $4,4\text{ Hz}$ y $4,4\text{ Hz}$). El resto de las señales son: los dos dobletes correspondientes a los protones de un agrupamiento α -metileno- γ -lactona a δ 6,10 ($J=3,1\text{ Hz}$) y 5,48 ($J=3,1\text{ Hz}$); dos singuletes a δ 2,01 y δ 2,06, cada uno con intensidad relativa a tres protones, que corresponden a dos grupos acetilo; dos singuletes anchos típicos de un metileno exocíclico aislado a δ 5,03 y δ 4,86 y un singulete en la zona de los metilos a δ 0,91 que asignamos a los tres protones en C-14.

⁸⁰ Doskotch, R. W., El-Feraly, R. S. (1969) *Canad. J. Chemistry* **47**, 1139

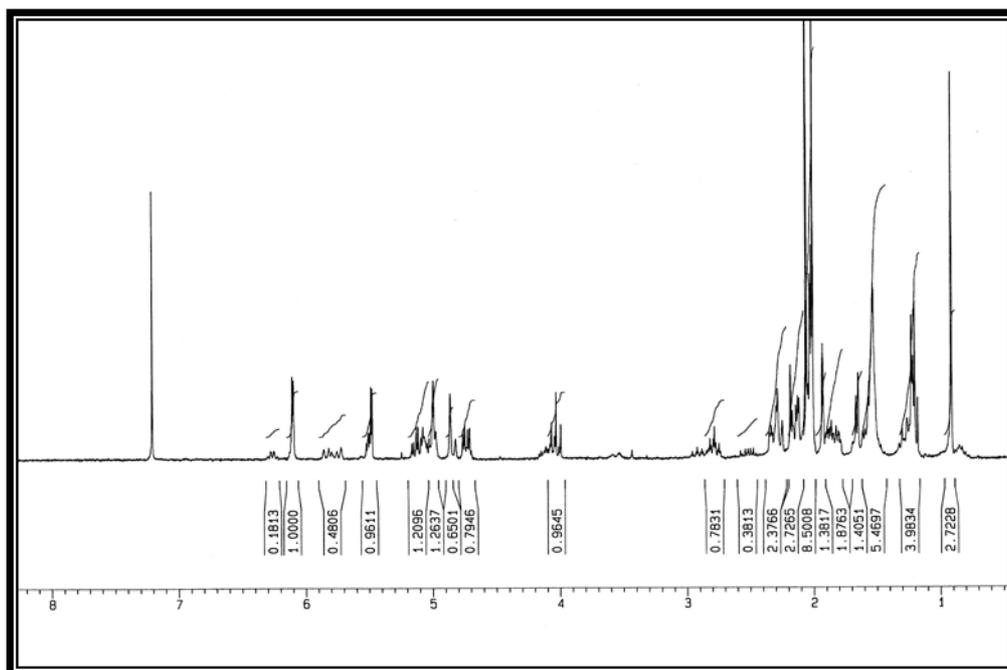
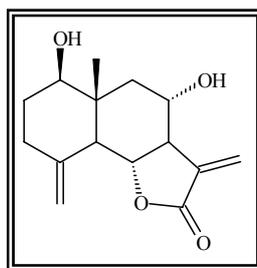


Figura 35. Espectro de ^1H -RMN de la sustancia **17a**.

Los datos espectroscópicos de este derivado acetilado **17a** son similares con los encontrados en la bibliografía para el **8-acetoxi derivado de 8 α -hidroxireynosina**⁶⁸, por tanto nuestro producto original **17** corresponde a **8 α -hidroxireynosina**, descrita en la bibliografía con el nombre de **dentatina A**⁵.



17

Sustancia 18

Esta sustancia se obtuvo como un aceite incoloro a partir de las fracciones 31 a 51 de la cromatografía general y fue purificada también mediante acetilación.

Los datos espectroscópicos del derivado acetilado **18a** muestran algunas coincidencias con los de las sustancias anteriores por lo que pensamos que pueda tratarse de otra lactona sesquiterpénica.

El espectro de IR muestra bandas de absorción típicas del grupo γ -lactona (1770 cm^{-1}), acetoxi (1742 cm^{-1}) y de dobles enlaces (1648 cm^{-1}), mientras que su espectro de masas, a pesar de que no da la señal del ion molecular, da la de un fragmento a m/z 364 $[M-42]^+$ concordante con la fórmula $C_{21}H_{26}O_8$.

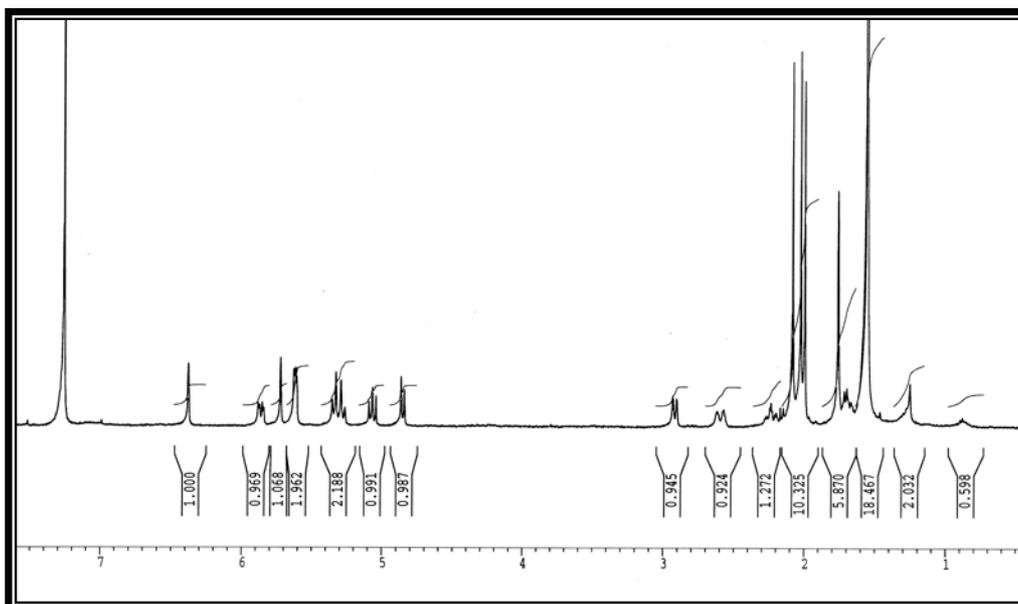


Figura 36. Espectro de ^1H -RMN de la sustancia **18a**.

En su espectro de ^1H -RMN (Fig. 36) se confirma la presencia del agrupamiento α -metileno- γ -lactona por los dos singuletes a δ 6,37 y 5,72, así como la de tres grupos acetilo por tres singuletes intensos a δ 2,00, 2,03 y 2,08. También se registran dos dobletes a δ 5,63 ($J= 1,8\text{ Hz}$) y δ 5,61 ($J= 1,8\text{ Hz}$) típicos de un grupo metileno exocíclico, y un singulete a δ 1,76 que asignamos metilo vinílico que situamos en C-10. Los protones geminales a los grupos acetilo dan señales a δ 5,86 (H-1, doble doblete, $J= 4,0\text{ Hz}$ y $11,6\text{ Hz}$), δ 4,85 (H-5, doblete, $J= 9,3\text{ Hz}$) y δ 5,34 (H-8, doblete, $J= 10,7\text{ Hz}$). En el espectro H-H COSY, H-6 (δ 5.07) correlaciona con H-5 (δ 4.85) y H-7 (δ 2.92) y este último con H-8 (δ 5.34), sugiriendo la localización de los grupos acetoxi en C-5 y C-8 así como el cierre del anillo lactónico en C-6. Además, H-1 (δ 5.86) correlaciona con H-2 (δ 2.20) y H-9 (δ 5.28), lo que permite localizar el tercer grupo acetoxi en C-1

dada la conectividad observada en el espectro HMBC entre las señales a δ 5.86 (H-1) y C-2, C-10 y C-14.

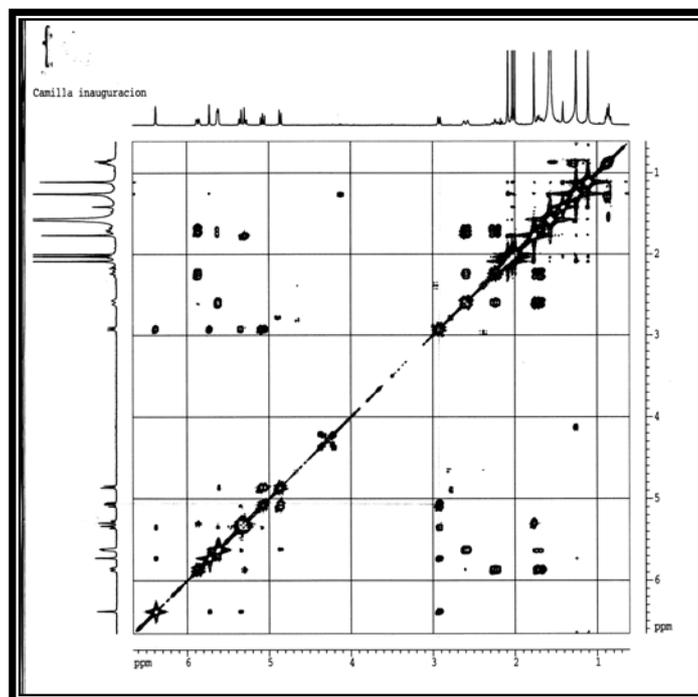


Figura 37a. Espectro de COSY de la sustancia 18a.

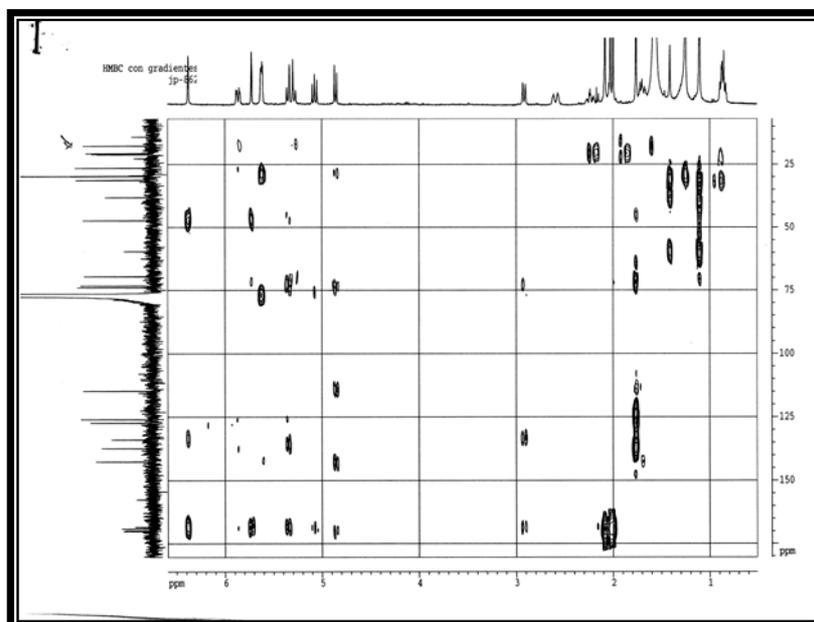
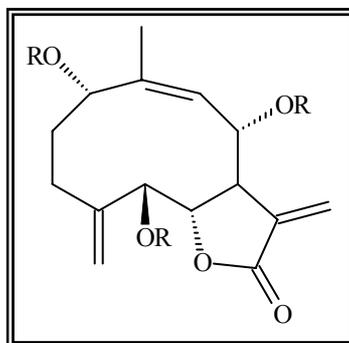


Figura 37b. Espectro de HMBC de la sustancia 18a.

De acuerdo a lo anterior, la sustancia **18a** corresponde al derivado acetilado de **1 α ,5 β ,8 α -trihidroxigermacra-4,9(Z),11(13)-trien-6 α ,12-olida,(18)**, que no ha sido encontrada descrita con anterioridad en la bibliografía consultada.

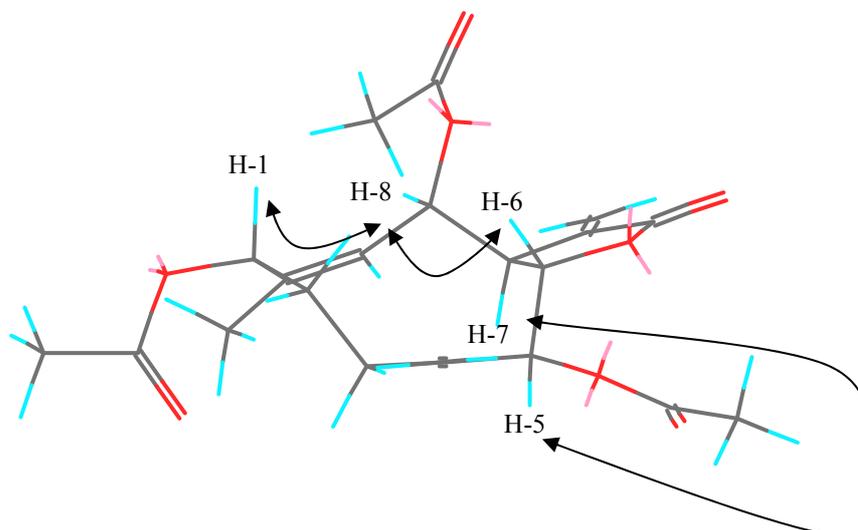


18a: R=Ac

18: R=H

La configuración relativa de **18a** fue determinada mediante experimentos ROESY (Fig. 38a y Fig. 38b), asumiendo que, como en todas las lactonas sesquiterpénicas aisladas de plantas de la familia Compositae, H-7 tiene una estereoquímica relativa α ⁵. Así, H-7 presenta una correlación con la señal a δ 4,85 (H-5) permitiéndonos deducir que el acetilo en la posición C-5 es β . La configuración de los otros centros estereogénicos fue obtenida a partir de las correlaciones entre H-6 (δ 5,07) y H-8 (δ 5,34) y entre éste último y H-1 (δ 5,86), lo que permite afirmar que los acetilos en las posiciones C-1 y C-8 se encuentran con una configuración α .

También podemos observar una correlación entre el CH₃-14 (δ 1,76) y el H-9 (δ 5,28), indicando una configuración E del doble enlace entre los carbonos C-9 y C-10.



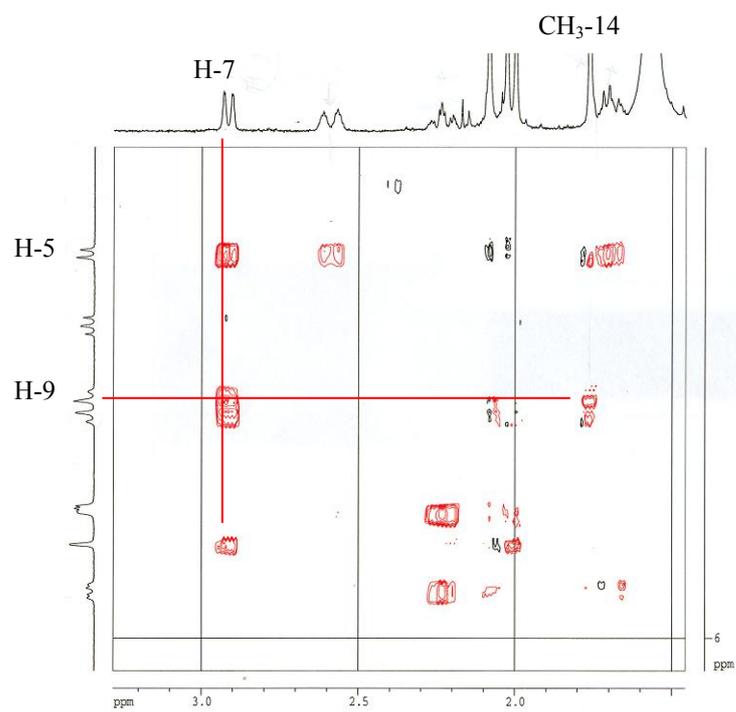


Figura 38a. Experimento ROESY de la sustancia 18a.

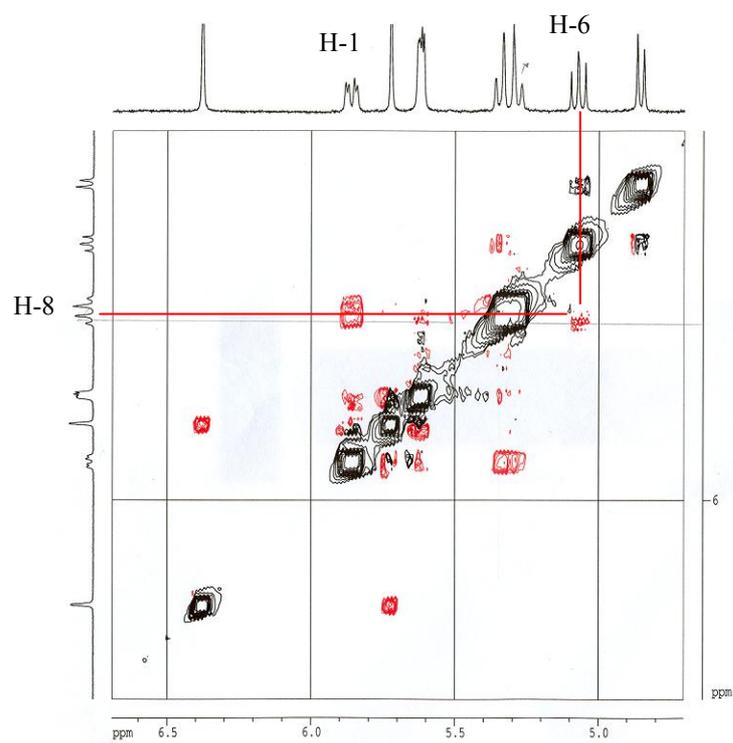


Figura 38b. Experimento ROESY de la sustancia 18a.

Gonospermum gomeræ Bolle

Parte experimental

Procedimiento de extracción

La parte aérea de *Gonospermum gomerae* Bolle fue recogida en el Barranco de Agulo en la isla de la Gomera en el mes de abril del año 1999.

Dicho material vegetal fue secado al aire y sometido a un proceso de trituración del que resultaron 2,950 kg de planta seca. La extracción se llevó a cabo en un aparato soxhlet con etanol hasta agotamiento, concentrándose posteriormente a presión reducida y obteniéndose de esta manera 410 gramos de un líquido aceitoso.

Cromatografía general

Se disolvió la totalidad del extracto anterior en acetona reabsorbiéndose posteriormente sobre sílica gel. Dicho material, una vez eliminado el disolvente, fue cromatografiado en columna húmeda de sílica gel en hexano, utilizando como eluyente una mezcla de n-hexano / acetato de etilo cuya concentración en este último iba creciendo a medida que avanzaba el proceso cromatográfico.

Se recogieron un total de 131 fracciones que fueron agrupadas según la similitud de las señales que presentaban en cromatografía de capa fina, y cuyos resultados se resumen en la siguiente tabla:

FRACCIONES	ELUYENTES	SUSTANCIAS
1-20	n-hexano/acetato de etilo (90:10)	
21-30	n-hexano/acetato de etilo (80:20)	
31-51	n-hexano/acetato de etilo (70:30)	1, 8, 9, 12, 16, 17, 18
52-55	n-hexano/acetato de etilo (70:30)	2, 3, 19
56-70	n-hexano/acetato de etilo (60:40)	20, 21, 22, 23, 24
71-96	n-hexano/acetato de etilo (50:50)	7, 10, 11, 25, 26
97-107	n-hexano/acetato de etilo (40:60)	
108-119	n-hexano/acetato de etilo (20:80)	
120-131	acetato de etilo	

Fracciones 31-51

Las fracciones comprendidas entre la número 31 y la 51 fueron reunidas y concentradas a rotavapor. El residuo resultante dio un peso de 26 g, cantidad que fue cromatografiada en su totalidad en columna de sílica gel usando como eluyente una

mezcla de n-hexano / acetato de etilo 80:20. De este proceso no logró aislarse ninguna sustancia dividiéndose la totalidad de las fracciones eluidas en dos grupos:

a) Las más polares fueron sometidas a un proceso de cromatografía líquida en columna utilizando como eluyente una mezcla de n-hexano y acetato de etilo 80:20 obteniéndose 25 mg de un aceite incoloro que corresponde a la sustancia **12**, 50 mg de la sustancia **9**, 35mg de **8** y 30 mg de **1**.

b) Las menos polares fueron recromatografiadas con mezcla de n-hexano y acetato de etilo 70:30. De este proceso no se separó ninguna sustancia por lo que una muestra de 125 mg de las fracciones obtenidas fue tratada con 1mL de piridina y 2 mL de anhídrido acético dejando en reposo durante 12 horas. Extraído el producto de manera usual con acetato de etilo, se purificó mediante cromatografía preparativa en placa fina usando como eluyente una mezcla de n-hexano y acetato de etilo en proporción 80:20, aislándose 12 mg de **16a**, 17 mg de **16b**, 15 mg de **17a** y 21mg de **18a**.

- **Datos físicos de la sustancia 12**

Aceite incoloro

IR, EM y ¹H-RMN: Totalmente coincidentes con los reportados para **6-angelato de desacetil-β-ciclopiretosina**.(ver pag. 83).

- **Datos físicos de la sustancia 9**

Sólido amorfo

IR, EM y ¹H-RMN: Totalmente coincidentes con los reportados para **tatridina B**. (ver pag. 79).

- **Datos físicos de la sustancia 8**

Aceite incoloro

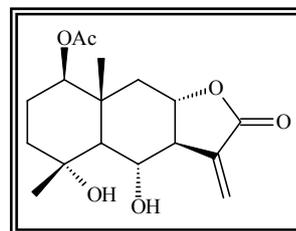
IR, EM y ¹H-RMN: Totalmente coincidentes con los reportados para **4α,5β epóxido de tatridina A** (ver pag. 77).

- **Datos físicos de la sustancia 1**

Punto de fusión: 166-168°C (n-Hex/AcOEt).

IR, EM y ¹H-RMN: Totalmente coincidentes con los reportados para **estigmasterol**. (ver pag. 68).

- Datos físicos de la sustancia 16a
(1 β -acetoxi-4 α ,6 α -dihidroxiudesm-11-en-8 α ,12-olida)



Sólido amorfo

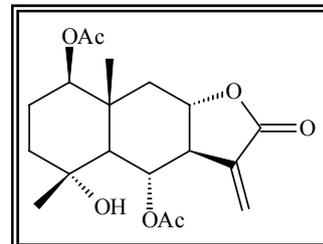
IR (KBr) ν_{\max} : 3418, 1738, 1645, 1462, 1374, 1374, 1244, 1142, 1080, 1034, 976 cm^{-1} .

EM m/z (%): 246 [M-HOAc-H₂O]⁺ (29,1), 228 (21,8), 213 (13,0), 188 (10,6), 164 (15,0), 157 (18,0), 149 (29,9), 129 (23,6), 121 (44,4), 107 (67,5), 101 (26,4), 95 (35,9), 93 (46,3), 91 (48,0), 83 (50,3), 69 (66,3), 57 (100), 55 (93,2).

¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃)

H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)	Integral
H-1	4,67	dd	5,1; 9,2	1
H-2, H-2'	1,84	m	--	2
H-3, H-3'	1,66	dd	8,5; 10,2	2
H-5	1,85	d	10	1
H-6	4,26	t	10	1
H-7	2,60	ddd	2,8; 5,7; 10,0	1
H-8	3,89	ddd	3,5; 5,7; 10,0	1
H-9	2,14	dd	3,5; 12,0	1
H-9'	1,48	dd	12,0; 12,0	1
H-13	6,14	d	2,8	1
H-13'	5,96	d	2,7	1
H-14	1,05	s	--	3
H-15	1,42	s	--	3
OAc	2,05	s	--	3

- **Datos físicos de la sustancia 16b**
(1 β ,6 α -diacetoxi-4 α -hidroxieudesm-11-en-8 α ,12-olida)



Aceite incoloro

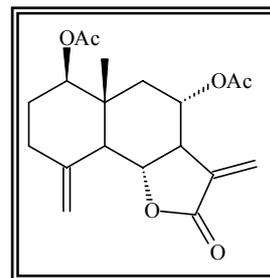
IR (KBr) ν_{\max} : 3674, 1772, 1635, 1370, 1240, 1142, 1074, 1040, 977 cm^{-1} .

EM m/z (%): 246 [M-2HOAc]⁺ (15,7), 228 (18,6), 213 (6,4), 188 (95,1), 164 (84,3), 146 (27,4), 118 (29,9), 101 (77,7), 91 (25,6), 83 (100), 55 (17,6).

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃)

H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)	Integral
H-1	4,67	m	--	1
H-2, H-2'	1,82	m	--	2
H-3, H-3'	1,64	dd	9,0; 9,7	2
H-5	1,88	d	10,5	1
H-6	5,65	dd	10,2; 10,5	1
H-7	2,81	dd	10,0; 10,7	1
H-8	3,97	ddd	4,0; 12,0; 12,0	1
H-9	2,21	dd	4,0; 12,0	1
H-9'	1,50	dd	12,0; 12,0	1
H-13	6,11	d	3,0	1
H-13'	5,36	d	2,8	1
H-14	1,11	s	--	3
H-15	1,30	s	--	3
OAc	2,07	s	--	3
OAc	2,12	s	--	3

- **Datos físicos de la sustancia 17a**
(Diacetato de 8 α -hidroxireynosina)



Aceite incoloro

IR (KBr) ν_{\max} : 3087, 2950, 2850, 1770, 1731, 1673, 1242, 1124, 1033, 970, 902, 754, cm^{-1} .

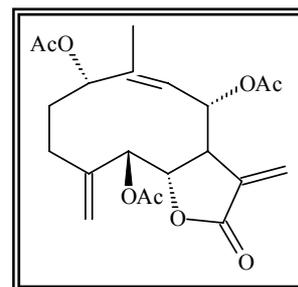
EM m/z (%): 288 $[\text{M}-\text{HOAc}]^+$ (9,6), 228 $[\text{M}-2\text{HOAc}]^+$ (100), 213 $[\text{228}-\text{Me}]^+$ (15,0), 199 (19,8), 185 (10,5), 157 (14,4), 131 (11,8), 106 (20,8), 91 (20,4), 83 (30,2), 55 (23,3).

^1H -RMN (300 MHz, CDCl_3)

H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)	Integral
H-1	4,73	dd	4,6; 4,6	1
H-2 α	1,84	m	--	1
H-2 β	1,55	d	11,1	1
H-3 α	2,11	m	--	1
H-3 β	2,29	m	--	1
H-5	2,18	d	4,3	1
H-6 β	4,04	t	11,1	1
H-7	2,82	m	--	1
H-8 β	5,14	ddd	4,2; 4,4; 4,4	1
H-9 α	2,50	m	--	1
H-13	6,10	d	3,1	1
H-13'	5,48	d	3,1	1
H-14	0,91	s	--	3
H-15	5,03	s	--	1
H-15'	4,86	s	--	1
OAc	2,01	s	--	3
OAc	2,06	s	--	3

- Datos físicos de la sustancia 18a

(Triacetato de 1 β ,4 α ,6 α -trihidroxi-eudesm-11-en-8 α ,12-olida)



Aceite incoloro

IR (KBr) ν_{\max} : 2938, 2360, 2341, 1770, 1742, 1648, 1435, 1373, 1276, 1242, 1123, 1024, 967, 669 cm^{-1} .

EM m/z (%): 364 $[\text{M}-42]^+$ (7,4), 347 (100), 304 (51,6), 286 (9,1), 262 (42,8), 244 (94,5), 234 (6,3), 226 (44,7), 215 (35,7), 199 (21,5), 175 (16,6), 162 (21,1), 148 (30,7), 133 (24,1), 121 (26,1), 105 (29,1), 95 (87,1), 79 (27,6), 55 (18,7).

^1H -RMN (300 MHz, CDCl_3)

H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)	Integral
H-1	5,86	dd	4,0; 11,6	1
H-2 α	1,70	m	--	1
H-2 β	2,23	m	--	1
H-3 α	2,59	m	--	1
H-3 β	1,67	m	--	1
H-5	4,85	d	9,3	1
H-6	5,07	dd	9,3; 10,5	1
H-7	2,92	d	10,6	1
H-8	5,34	d	10,7	1
H-9	5,28	d	11,4	1
H-13	6,37	s	--	1
H-13'	5,72	s	--	1
H-14	1,76	s	--	3
H-15	5,63	d	1,8	1
H-15'	5,61	d	1,8	1
OAc	2,00	s	--	3
OAc	2,03	s	--	3
OAc	2,08	s	--	3

¹³C-RMN (CDCl₃) δ:

69,6 (C-1), 26,5 (C-2), 29,7 (C-3), 142,5 (C-4), 77,2 (C-5), 73,2 (C-6), 47,3 (C-7), 74,0 (C-8), 125,9 (C-9), 137,3 (C-10), 133,9 (C-11), 170,0 (C-12), 127,3 (C-13), 17,7 (C-14), 114,8 (C-15), 20,7, 20,9, 21,1 3(CH₃CO), 169,0, 169,1, 169,7 3(COCH₃).

Fraciones 52-55

El residuo obtenido del agrupamiento y posterior concentración a presión reducida de las fracciones 52 a 55 dio un peso de 4,55 g. La totalidad de esta cantidad fue preparada como cabeza de una columna húmeda de sílica gel y cromatografiada utilizando como eluyente una mezcla de n-hexano y acetato de etilo 80:20.

Las fracciones obtenidas tras este proceso y que contenía los productos menos polares (950 mg) fueron cromatografiadas nuevamente utilizando como eluyente una mezcla de n-hexano / acetato de etilo al 80:20, lográndose separar 25 mg de la sustancia **3** y 30 mg de **2**.

Las fracciones más polares (350 mg) fueron tratadas con 2 mL de anhídrido acético y 1 mL de piridina durante 12 horas. El producto se extrajo de manera usual con acetato de etilo, y siendo purificado mediante cromatografía en capa fina preparativa empleando mezcla de hexano y acetato de etilo 80:20, se obtuvo 22 mg de **19a**.

- **Datos físicos de la sustancia 3**

Sólido cristalino

Punto de fusión: 200-201 °C (n-Hex/AcOEt)

IR, EM y ¹H-RMN: Totalmente coincidentes con los reportados para **escopoletina**. (ver pag. 69).

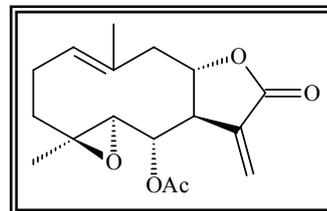
- **Datos físicos de la sustancia 2**

Sólido cristalino

Punto de fusión: 135-138 °C (n-Hex/AcOEt)

IR, EM y ¹H-RMN: Totalmente coincidentes con los reportados para **escoparona**. (ver pag. 68).

- **Datos físicos de la sustancia 19a**
(Acetato de espiciformina)



Sólido cristalino

Punto de fusión: 155-156°C (AcOEt/n-Hex).

IR (nujol) ν_{\max} : 2920, 2860, 1750, 1655, 1220, 1140, 1075, 1005, 935 y 815 cm^{-1} .

EM m/z (%): 264 $[\text{M}-\text{CH}_2\text{CO}]^+$ (7); 246 $[\text{M}-\text{AcOH}]^+$ (7); 236 (9); 218 (8); 203 (12); 180 (14); 149 (19); 138 (21); 127 (26); 109 (31); 97 (38); 81 (54); 69 (91); 68 (100) y 55 (66).

^1H -RMN (300 MHz, CDCl_3)

H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)	Integral
H-1	5,34	t	9,0	1
H-5	2,68	d	3,5	1
H-6	5,26	dd	3,5 y 11,5	1
H-7	3,02	m	--	1
H-8	4,55	m	--	1
H-13'	5,82	d	2,0	1
H-13	6,38	d	2,4	1
H-14	1,75	s	--	3
H-15	1,41	s	--	3
OAc	2,06	s	--	3

Fracciones 56-70

Las fracciones agrupadas por similitud de su análisis cromatográfico en capa fina fueron concentradas en rotavapor y el residuo obtenido se pesó resultando una cantidad de 22,1 gramos. Esta mezcla se colocó como cabeza de una columna de sílica gel y fue sometida a una cromatografía utilizando como eluyente una mezcla de hexano y acetato de etilo en proporción 80:20. Las fracciones resultantes de este proceso se agruparon por similitud de señales en cromatografía en capa fina en tres grupos:

a) El análisis en cromatografía en capa fina de las fracciones de polaridad intermedia revelaba la presencia de dos señales con distinto Rf. Una vez concentradas, los 48 mg de residuo fueron sometidos a una separación por cromatografía en columna utilizando el mismo eluyente que para las fracciones anteriores, obteniendo 10 mg de la sustancia **20** y 12 mg de **21**.

b) Concentradas en rotavapor las fracciones más polares se obtuvo un residuo de 881 mg que, tras varios procesos de cromatografía en columna usando como eluyente una mezcla de hexano y acetato de etilo 70:30 logró separarse 30 mg de **22**.

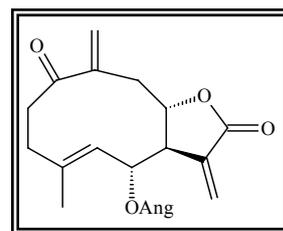
c) Las fracciones menos polares se concentraron a rotavapor y el residuo (63 mg) fue cromatografiado en columna de sílica gel usando una mezcla de benceno y acetato de etilo 80:20, separándose 35 mg de la sustancia **23** y 23 mg de **24**.

- **Datos físicos de la sustancia 20**
(6-angelato de tamirina)

Aceite incoloro

IR (KBr) ν_{\max} : 3458, 2957, 2918, 1851, 1769, 1732, 1660, 1454, 1229, 1144, 961 cm^{-1} .

EM m/z (%): 244 [M-HOAng]⁺ (21,6), 226 (46,3), 181 (69,3), 165 (41,8), 149 (31,7), 111 (20,1), 97 (36,5), 83 (60,7), 71 (52,7), 69 (52,1), 57 (95,4), 55 (100).



¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃)

H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)	Integral
H-2, H-2'	3,26	m	--	2
H-3, H-3'	2,30-2,60	m	--	2
H-5	4,99	d	5,9	1
H-6	5,21	dd	10,0; 10,0	1
H-7	2,99	m	--	1
H-8	4,05	m	--	1
H-9	3,44	d	11,0	1
H-9'	2,16	m	--	1
H-13	6,34	d	2,7	1
H-13'	5,85	d	2,4	1
H-14	5,81	s	--	1
H-14'	5,85	d	2,4	1
H-15	1,79	s	--	3
OAng	6,13	m	--	1
	1,98	d	7,1	3
	1,91	s	--	3

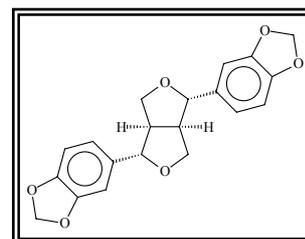
- **Datos físicos de la sustancia 21**
(Sesamina)

Sólido cristalino

Punto de fusión: 122-123°C (AcOEt).

IR (KBr) ν_{\max} : 3069, 2918, 2851, 1607, 1504, 1443, 1246, 1040, 933, 810 cm⁻¹.

EM m/z (%): 354 [M⁺] (28), 203 (19), 178 (13), 162 (10), 161 (47), 160 (9), 151 (10), 150 (56), 149 (100), 148 (36), 136 (11), 135 (69), 133 (10), 131 (49), 121 (39), 103 (25), 77 (34), 65 (35).

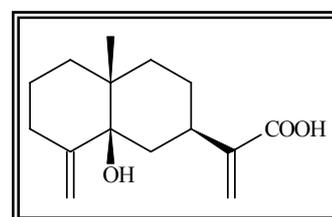


¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃)

H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)	Integral
H-2, H-2'	6,78	s	--	2
H-5, H-5', H-6, H-6'	6,82	d	10,3	4
H-7, H-7'	4,72	d	4,4	2
H-8, H-8'	3,05	m	--	2
H-9, H-9' (exo)	4,24	dd	9,2 ;6,9	2
H-9, H-9' (endo)	3,87	dd	9,2; 3,6	2
2x(-O-CH ₂ -O-)	5,96	d	1,8	4

- Datos físicos de la sustancia 22

(Acido 5β-hidroxicóstico)

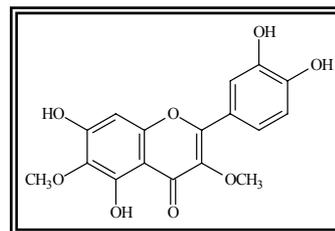


Aceite incoloro

IR (KBr) ν_{\max} : 3626, 3418, 2929, 2855, 2360, 2090,1715, 1645, 1455, 1267, 1170, 1032, 1005, 937, 879, 518, 478, 465, 453 cm⁻¹.EM m/z (%): 250 [M]⁺ (36,8), 232 (100), 217 (26,3), 204 (19,8), 189 (18,0), 181 (7,00), 171 (15,6), 149 (46,2), 137 (29,9), 124 (32,7), 109 (59,4), 95 (54,5), 81 (54,2), 67 (42,2), 55 (61,8).¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃)

H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)	Integral
H-2, H-2', H-6', H-8, H-8'	1,53-1,66	m	--	5
H-3	2,49	m	--	1
H-3', H-6	2,02-2,20	m	--	2
H-7	2,84	m	--	1
H-13	6,32	s	--	1
H-13'	5,70	s	--	1
H-14	1,07	s	--	3
H-15	5,23	s	--	1
H-15'	5,00	s	--	1

- **Datos físicos de la sustancia 23**
(Axillarina)



Sólido cristalino

Punto de fusión: 208-210 °C (AcOEt/n-Hex).

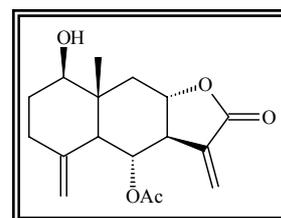
U.V (MeOH) λ_{max} : 355, 270 y 257 nm.

EM m/z (%): 346 $[M]^+$ (55), 331 $[M-\text{Me}]^+$ (23), 303 (19), 183 (4), 167 (12), 159 (14), 150 (18), 139 (9), 137 (38), 109 (16) y 69 (100).

$^1\text{H-RMN}$ (300 MHz, CDCl_3)

H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)	Integral
H-8	6,59	s	--	1
H-2'	7,96	d	2,0	1
H-5'	7,15	d	8,3	1
H-6'	7,68	dd	2,0; 8,5	1
-OCH ₃	3,81	s	--	3
-OCH ₃	3,90	s	--	3

- **Datos físicos de la sustancia 24**
(β -ciclopiretosina)



Aceite incoloro

IR (KBr) ν_{max} : 3479, 2939, 1770, 1714, 1671, 1651, 1444,

1402, 1381, 1354, 1261, 1225, 1155, 1126, 1104, 1074, 1032, 975, 756 cm^{-1} .

EM m/z (%): 246 $[M-\text{AcOH}]^+$ (16,7), 228 (46,1), 213 (27,4), 202 (12,1), 183 (7,3), 157 (6,0), 91 (6,3), 83 (100), 55 (23,8).

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃)

H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)	Integral
H-1	3,58	dd	4,6; 4,6	1
H-5	2,29	m	--	1
H-6	5,51	t	10,3	1
H-7	2,74	m	--	1
H-8	4,07	ddd	3,7; 3,7; 3,7	1
H-9 α	2,58	dd	3,8; 3,8	1
H-13	6,11	d	3,1	1
H-13'	5,43	d	3,0	1
H-14	0,86	s	--	3
H-15	4,87	s	--	1
H-15'	4,64	s	--	1
OAc	2,05	s	--	3

Fracciones 71-96

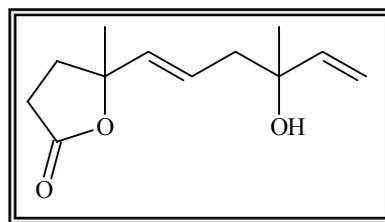
Las fracciones 71-96 fueron analizadas mediante una cromatografía en capa fina en la que se observó la presencia de varios productos. Concentradas en rotavapor se obtuvo 3,2 gramos de residuo que fue sometido a una cromatografía en columna seca de sílica gel, usando como eluyente n-hexano/acetato de etilo 70:30. Finalizado este proceso se logró separar 45 mg de la sustancia **26** y 29 mg de **7**.

El resto de las fracciones se dividieron en dos partes según las similitudes de las señales en la cromatografía en capa fina:

a) 600 mg de las menos polares fueron recromatografiadas en columna de sílica gel usando como eluyente una mezcla de n-hexano/acetato de etilo 80:20, obteniéndose 40 mg de **25** y 15 mg de **10**.

b) 950 mg de las fracciones más polares se sometieron al mismo proceso de separación usando como eluyente una mezcla de n-hexano/acetato de etilo 70:30, obteniéndose 28 mg de la sustancia **11**.

- **Datos físicos de la sustancia 26**
(Crocínervolido)



Aceite incoloro

IR (KBr) ν_{\max} : 3844, 3787, 3693, 3424, 2969, 2927, 1736, 1657, 1547, 1511, 1462, 1371, 1241, 1170, 1027 cm^{-1} .

EM m/z (%): 192 $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}]^+$ (19,2), 177 (8,6), 149 (10,5), 140 (100), 133 (9,9), 119 (14,8), 107 (9,6), 95 (76,7), 79 (27,4), 71 (94,5), 55 (24,0).

^1H -RMN (300 MHz, CDCl_3)

H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)	Integral
H-1	5,19	d	13,0	1
H-1'	5,06	d	8,0	1
H-2	5,89	dd	8,0; 12,9	1
H-4, H-4'	2,28	dd	2,7; 2,5	2
H-5	5,70	m	--	1
H-6	5,60	d	11,8	1
H-8	2,07	m	--	1
H-8'	2,17	m	--	1
H-9', H-9	2,55	dd	5,6; 8,0	2
H-14	1,50	s	--	3
H-15	1,27	s	--	3

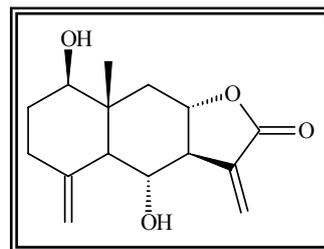
- **Datos físicos de la sustancia 7**

Sólido cristalino

Punto de fusión: 229-230 $^{\circ}\text{C}$ (n-Hex/AcOEt).

IR, EM y ^1H -RMN: Totalmente coincidentes con los reportados para **5, 7, 4'-trihidroxi-3,6-dimetiloxiflavona**. (ver pag. 73).

- **Datos físicos de la sustancia 25**
(Desacetil β -ciclopiretosina)



Aceite incoloro

IR (NaCl) ν_{\max} : 3419, 2927, 1760, 1647, 1262 y 1137 cm^{-1} .

EM m/z (%): 264 [M^+] (13,64), 246 [$M-H_2O$] $^+$ (22,1), 228 [$M-2H_2O$] $^+$ (14,9), 178 (31,3), 121 (66,5), 108 (95,0), 93 (80,9), 69 (100), 81 (69,5) y 55 (68,2).

$^1\text{H-RMN}$ (300 MHz, CDCl_3)

H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)	Integral
H-1	3,57	dd	4,7; 11,4	1
H-5	1,93	d	9,3	1
H-6	4,12	t	10,0	1
H-7	2,55	t	10,0	1
H-8	3,99	ddd	3,7; 11,5 y 12	1
H-13'	5,97	d	2,4	1
H-13	6,17	d	2,9	1
H-14	0,82	s	--	3
H-15	4,19	s	--	1
H-15'	5,08	s	--	1

- **Acetilación de la sustancia 25**

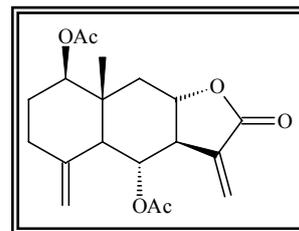
Se hacen reaccionar 30 mg de **25** con 1 mL de piridina y 2 mL de anhídrido acético durante 12 horas. Tras extracción del producto orgánico de manera usual con acetato de etilo, se concentra en rotavapor hasta eliminación total del disolvente, obteniéndose un residuo de 25 mg. Dicho residuo se purifica mediante cromatografía en capa fina preparativa utilizando como eluyente mezcla de benceno y acetato de etilo 85:15, separándose finalmente 15 mg de la sustancia **25a**.

- **Datos físicos de la sustancia 25a**
(Diacetato de desacetil β -ciclopiretrosina)

Sólido amorfo

IR (CHCl₃) ν_{\max} : 2950, 2930, 1760, 1720, 1645, 1355, 1230, 1120, 1090, 1070, 1020, 960, 970 y 905 cm⁻¹.

EM m/z (%): 288 [M-AcOH]⁺ (2); 228 [M-2AcOH-Me]⁺ (51); 200 (26); 183 (47); 157 (27); 149 (21); 143 (18); 105 (16); 91 (24); 69 (14) y 55 (23).



¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃)

H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)	Integral
H-1	4,82	dd	4,8; 11,5	1
H-5	2,16	d	10,0	1
H-6	5,50	t	10,3	1
H-7	2,73	t	10,8	1
H-8	4,01	ddd	3,7; 11,6; 12,1	1
H-13	6,12	d	3,1	1
H-13'	5,42	d	2,9	1
H-14	0,93	s	--	3
H-15	4,61	s	--	1
H-15'	4,90	s	--	1
2x(OAc)	2,07	s	--	6

- **Datos físicos de la sustancia 10**

Sólido cristlino

Punto de fusión: : 153-155°C (AcOEt/n-Hex).

IR, EM y ¹H-RMN: Totalmente coincidentes con los reportados para **tatridina A** (ver pag. 75).

- **Datos físicos de la sustancia 11**

Aceite incoloro

IR, EM y ¹H-RMN: Totalmente coincidentes con los reportados para **tamirina** (ver pag.81).

Gonospermum fruticosum Less (La Gomera)

Parte teórica



Tal y como se describe en la parte experimental, las partes aéreas secas de *Gonospermum fruticosum Less* fueron extraídas con etanol hasta agotamiento obteniendo, tras eliminación del disolvente mediante rotavapor, un líquido de aspecto siruposo que por posterior cromatografía en columna dio como resultado la obtención de 14 sustancias cuyo estudio pasamos a describir en función de sus relaciones estructurales y las cuales hemos agrupado de la siguiente forma:

- 2 Cumarinas
- 1 Flavonoide
- 3 Nortrpenos
- 8 Lactonas sesquiterpénicas:
 - 5 Tipo Germacrano
 - 3 Tipo Eudesmano

Cumarinas

Sustancia 2

Fue aislada como un sólido cristalino cuyas propiedades físicas y espectroscópicas coinciden con las de **escoparona**, descrita en *Lugoa revoluta* (ver pág. 42).

Sustancia 3

Fue aislada como un sólido cristalino cuyas propiedades físicas y espectroscópicas coinciden con las de **escopoletina**, descrita en *Lugoa revoluta* (ver pág. 43).

Flavonoide

Sustancia 7

Fue aislada como un sólido cristalino cuyas propiedades físicas y espectroscópicas coinciden con las de **5, 7, 4'-trihidroxi-3, 6-dimetoxiflavona**, descrita en *Lugoa revoluta* (ver pág. 46).

Nortrpenos

Sustancia 26

Fue aislada como un aceite incoloro cuyas propiedades espectroscópicas coinciden con las de **crocinervolido**, descrita en *Gonospermum gomerae* (ver pág.99).

Sustancia 27

Esta sustancia se obtuvo a partir de las fracciones 19 a 51 de la cromatografía general como un aceite incoloro que en cromatografía en capa fina se comporta como una especie químicamente pura. Sus datos espectroscópicos sugieren para esta sustancia una estructura del tipo norterpeno ya que su espectro de masas da la señal del ion molecular a m/z 154, que concuerda con la fórmula $C_9H_{14}O_2$, mientras que las bandas de absorción de su espectro de IR en 3444 y 1731 cm^{-1} indican que se trata de una hidroxiketona.

En el espectro de ^1H -RMN (Fig. 40) aparece la señal del protón de un grupo hidroxilo sobre carbono terciario como un singulete a δ 4,74, además de otros dos singuletes intensos correspondientes a dos grupos metilo, uno unido a un grupo carbonilo a δ 2,26, y el otro a un grupo hidroxilo a δ 1,33. El resto de las señales son de multiplicidad distinta: tres dobles dobles a δ 5,13 ($J= 11,0\text{ Hz}$ y $1,5\text{ Hz}$), 5,26 ($J= 17,0\text{ Hz}$ y $1,5\text{ Hz}$), y 5,95 ($J= 17,0\text{ Hz}$ y $11,0\text{ Hz}$), cuyos desplazamientos químicos y constantes de acoplamiento geminales y vecinales se corresponden con los de protones vinílicos, necesariamente en C-1 y C-2; un doble triplete a δ 6,79 ($J= 15,5$ y $8,0\text{ Hz}$) y un doblete a δ 6,11 ($J= 15,5\text{ Hz}$) los asignamos a dos protones vinílicos en C-5 y C-6, y finalmente, un doblete que integra a dos protones a δ 2,46 ($J= 8,0\text{ Hz}$) cuya posición de desplazamiento y constante de acoplamiento indica que ambos deben situarse en C-4.

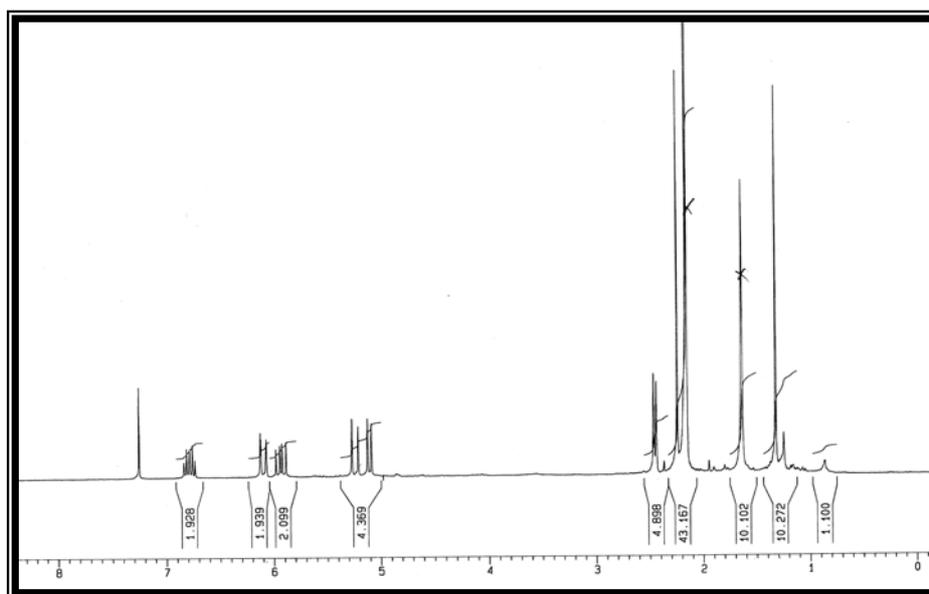
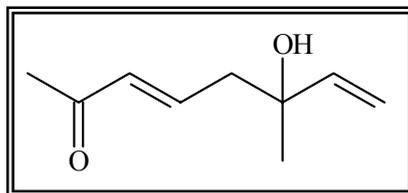


Figura 40. Espectro de ^1H -RMN de la sustancia 27.

Con los datos espectroscópicos analizados proponemos para nuestra sustancia la estructura **27**, datos que coinciden con los que la bibliografía aporta para la **3-hidroxi-3-metilocta-1,5-dien-7-ona**⁸¹.



27

Sustancia 28

Fue obtenida a partir de las fracciones 98 a 113 de la cromatografía general como un aceite incoloro. Sus datos espectroscópicos muestran gran similitud con los de la sustancia **18** (ver pag.114), por lo que su estructura es la de un derivado del nerolidol.

Su espectro de IR presenta bandas de absorción típicas de grupo alcohol (3429 cm^{-1}) y dobles enlaces (1651 cm^{-1}). En el espectro de masas no se registra la señal del ion molecular, pero sí las de fragmentos a m/z 278 y 260 que concuerdan con la pérdida de dos moléculas de agua y 200 [260-HOAc], correspondiendo a nuestra sustancia la fórmula molecular $\text{C}_{17}\text{H}_{28}\text{O}_4$.

Su espectro de ^1H -RMN (Fig. 41) muestra la presencia de dos grupos metilos terciarios en carbonos que soportan una función hidroxilo a δ 1.27 (6H,s), un grupo vinilo que genera un sistema ABC donde el protón A (H-2) es una señal a δ 5.93 (dd, $J=17.0\text{ Hz}$ y 10.7 Hz), mientras que B (H-1) y C (H-1') aparecen como dos señales a δ 5.20 (d, $J=17.2\text{ Hz}$) y 5.05 (d, $J=10.7\text{ Hz}$) respectivamente, indicando la multiplicidad de H-2 que dicho grupo está enlazado a un carbono tetrasustituido y también los protones de un doble enlace en trans a δ 5.59 (H-6) y 5.61 (H-5) vecinal a un grupo metileno a δ 2.28 (H-4). El resto de la estructura lo compone un grupo isopropenilo [δ 4.88 (H-12'), 4.93 (H-12) y 1.70 (H-13)], con el grupo acetoxi en posición alílica en C-10 y localizado junto a una única unidad metilénica puesto que su protón geminal (δ 5.14, H-10) se correlaciona con un metileno, δ 1.65 (H-9), y éste a su vez a otro metileno δ 1.49 (H-8) según experimentos H-H COSY, así como también la conectividad observada en el espectro HMBC entre las señales a δ 5.14 (H-10) y C-8, C-9, C-11, C-12 y C-13.

⁸¹ Bohlmann, F., Gupta, R.K., Jakupovic, J., King, R.M., Robinson, H. (1981). *Phytochemistry* **20**, 1635-1637

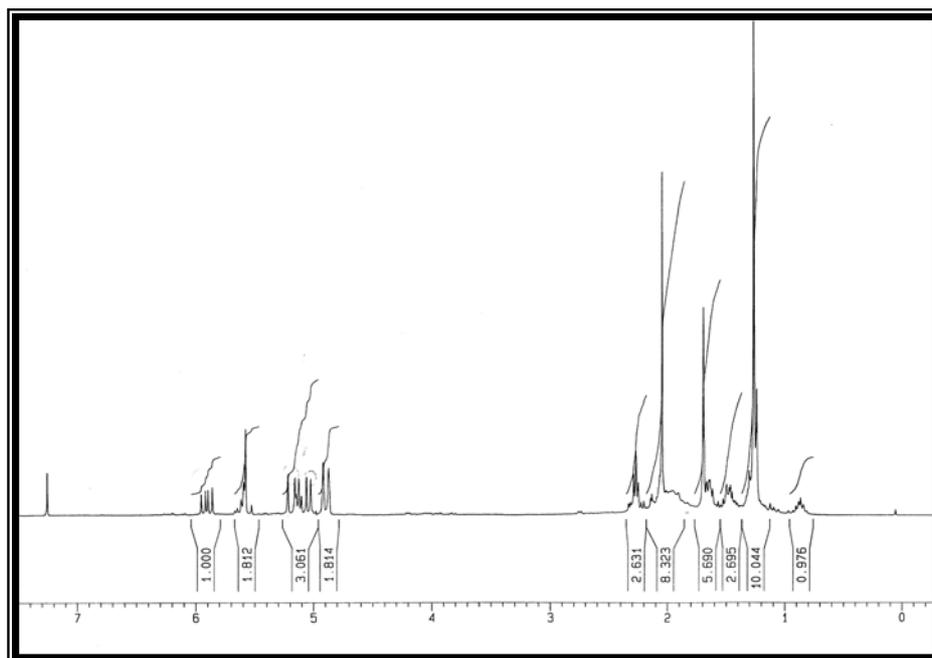


Figura 41. Espectro de ^1H -RMN de la sustancia **28**.

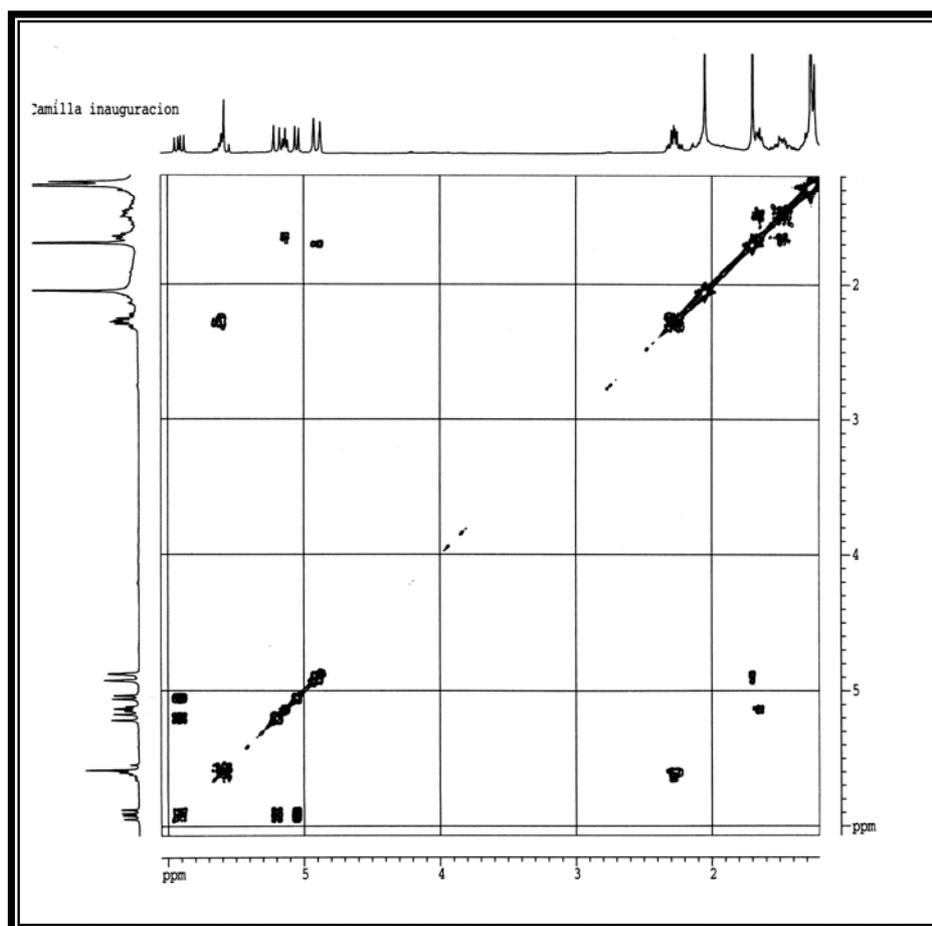


Figura 42. Espectro de COSY de la sustancia **28**.

Sustancia 8

Fue aislada como un aceite incoloro cuyas propiedades espectroscópicas coinciden con las de **4 α ,5 β epóxido de tatridina A**, descrita en *Lugoa revoluta* (ver pág. 51).

Sustancia 9

Fue aislada como un sólido amorfo cuyas propiedades espectroscópicas coinciden con las de **tatridina B**, descrita en *Lugoa revoluta* (pág. 53).

Sustancia 11

Fue aislada como un aceite incoloro cuyas propiedades espectroscópicas coinciden con las de **tamirina**, descrita en *Lugoa revoluta* (pág. 59).

Sustancia 12

Fue aislada como un aceite incoloro cuyas propiedades espectroscópicas coinciden con las de **6-angelato de desacetil- β -ciclopiretosina**, descrita en *Lugoa revoluta* (ver pág. 63).

Sustancia 25

Fue aislada como un aceite incoloro cuyas propiedades espectroscópicas coinciden con las de **desacetil- β -ciclopiretosina**, descrita en *Gonospermum gomerae* (ver pág. 110).

Sustancia 29

Fue aislada como un aceite incoloro a partir de las fracciones 98 a 113 de la cromatografía general y purificada mediante acetilación, **29a**, dando en cromatografía en capa fina una señal de color marrón.

El espectro de IR de este derivado acetilado evidencia que puede tratarse de una lactona sesquiterpénica al observarse bandas de absorción a 1736 y 1674 cm^{-1} , típicas del agrupamiento α -metileno- γ -lactona y dobles enlaces respectivamente. El espectro de masas no da el ion molecular, dando en cambio fragmentos significativos a 328 [M-60] y 228 [M-60-100], concordantes con la fórmula $\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{O}_6$.

En el espectro de ^1H -RMN (Fig. 44) se confirma que esta sustancia es una lactona sesquiterpénica, ya que se observan los dos dobletes característicos del agrupamiento α -metileno- γ -lactona a δ 6,24 ($J= 2,9$ Hz) y 5,71 ($J= 3,3$ Hz), siendo bastante similar al diacetato de tatrídina A, donde uno de sus acetilos está reemplazado por un grupo tigolato. Este grupo viene reflejado en el espectro por sus señales características de un quintuplete a δ 6,97, un singulete intenso a δ 1,88 que integra para tres protones y un doblete a δ 1,83 correspondiente a otros tres protones. Además del grupo tigolato, la molécula contiene un grupo acetato, responsable del singulete a δ 2,01, siendo el resto de las señales: doble doblete a δ 5,48 ($J= 10,0$ Hz y 4,2 Hz) correspondiente a H-1, doble doblete a δ 5,48 ($J= 10,5$ Hz y 9,7 Hz) para H-6, doblete a δ 5,39 ($J= 9,7$ Hz) correspondiente a H-9, doblete a δ 4,90 ($J= 10,0$ Hz) que asignamos al protón vinílico de C-5, un triplete a δ 4,80 ($J= 9,2$ Hz) del protón de cierre de la lactona, multiplete a δ 2,78 correspondiente a H-7 y dos singuletes, de tres protones cada uno, a δ 1,82 y 1,95, que corresponden a los metilos vinílicos C-14 y C-15 respectivamente. La ubicación del tigolato en C-6 se dedujo del pequeño desplazamiento a campo bajo de la señal H-6.

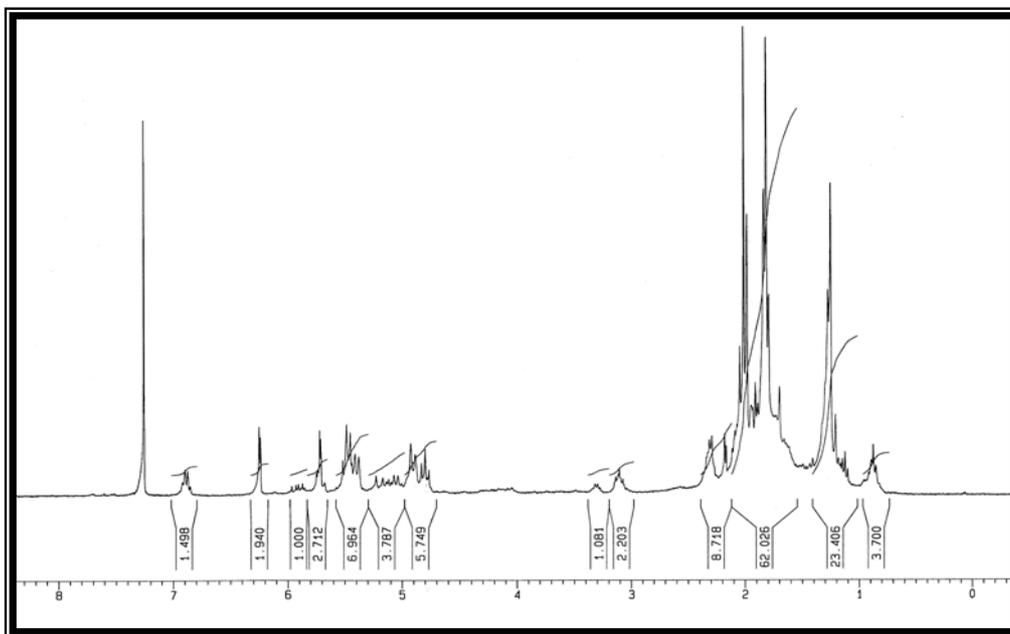
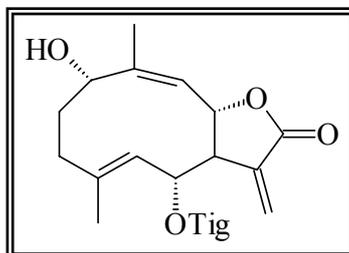


Figura 44. Espectro de ^1H -RMN de la sustancia **29a**.

De acuerdo con lo anterior, proponemos para esta sustancia la estructura **29a**, siendo por tanto el producto original el **6-tiglato de tatrídina A (29)**, el cual no hemos encontrado descrito en la bibliografía consultada.



29

Sustancia 30

Fue obtenida de las fracciones 98 a 113 de la cromatografía general y purificada también mediante acetilación, **30a**, dando en cromatografía en capa fina una señal de color marrón. Los datos espectroscópicos nos hacen sospechar que se trata también de otra lactona sesquiterpénica. El espectro de IR muestra las bandas de absorción típicas del agrupamiento α -metileno- γ -lactona a 1776 cm^{-1} , éster a 1731 cm^{-1} y dobles enlaces, 1651 cm^{-1} . Su espectro de masas no da el ion molecular, pero el fragmento a m/z 288 [M-RCO₂H] concuerda con la fórmula C₂₂H₂₈O₆.

Su espectro de ¹H-RMN (Fig. 45) muestra las señales típicas del agrupamiento α -metileno- γ -lactona, dos dobletes a δ 6,12 (J= 2,7 Hz) y 5,38 (J= 2,6 Hz), y del grupo tiglate, multiplete a δ 6,84 y dos singuletes intensos a δ 1,88 y 1,81. También el singulete a δ 2,06 confirma la existencia del grupo acetilo y el grupo metilo, ahora no vinílico sino angular, (C-14) da un singulete a δ 0,95 indicándonos su característica eudesmanolida. Además, aparecen dos dobletes a δ 4,88 (J= 5,0 Hz) y δ 4,65 (J= 5,9 Hz) propios de un metileno exocíclico (C-15). El resto de las señales son: dos multipletes para sendos protones sobre carbono terciario a δ 2,31 y 2,78 que asignamos a H-5 y H-7, un multiplete a δ 4,05 para el protón de cierre de la lactona, y otro a campo más bajo (δ 5,60) para el geminal al tiglate. Finalmente, el protón geminal al grupo acetilo de C-1 da un doble doblete a δ 4,83 (J= 4,6 Hz y 4,7 Hz).

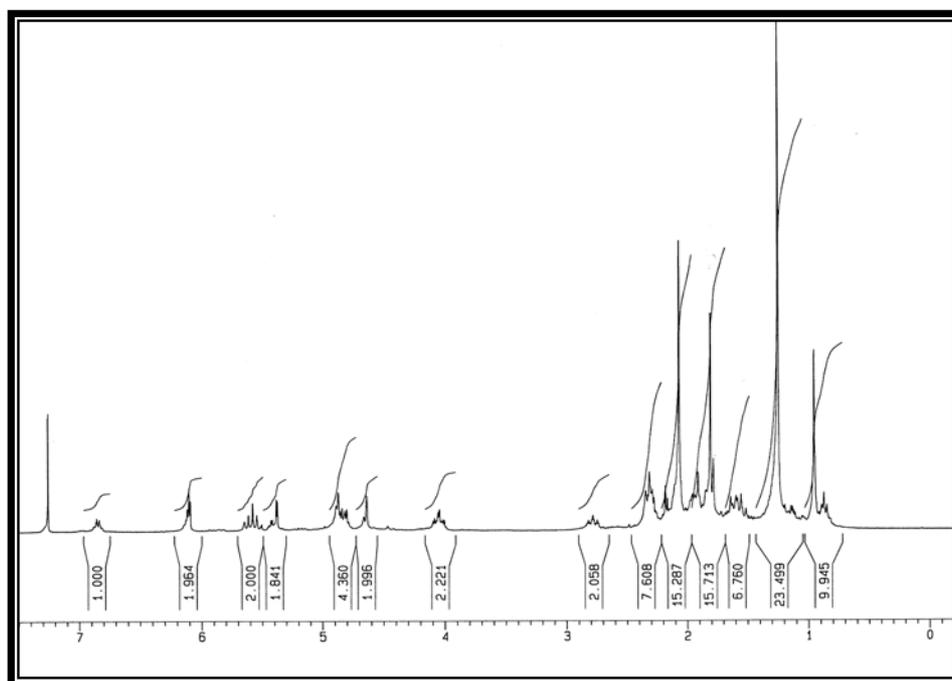
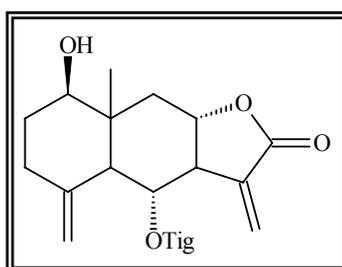


Figura 45. Espectro de ^1H -RMN de la sustancia **30a**.

Con los datos espectroscópicos analizados proponemos para este derivado acetilado la estructura **30a** (acetato de 6-tiglato de desacetil- β -ciclopiretosina), siendo por tanto el producto original el alcohol correspondiente **30** (6-tiglato de desacetil- β -ciclopiretosina), que no hemos encontrado descrito en la bibliografía consultada.



30

Gonospermum fruticosum (La Gomera)

Parte experimental

Gonospermum fruticosum Less (La Gomera)

Parte experimental

Procedimiento de extracción

Las partes aéreas de *Gonospermum fruticosum Less* fueron recolectadas en Alojera (La Gomera) en Abril de 1999. Los 1295 gramos de planta seca de partida fueron extraídos en soxhlet con etanol.

El producto fue posteriormente concentrado en rotavapor pesándose 199,5 gramos de un líquido aceitoso.

Cromatografía general

Los 199,5 gramos del producto se disuelven en acetona y se mezcla con sílica gel. Se separa el disolvente mediante rotavapor quedando el producto adsorbido a la gel. Este material se utilizó como cabeza de una columna líquida de sílica gel y se empleó mezcla de n-hexano y acetato de etilo, cuya concentración en acetato de etilo iba incrementándose a medida que avanzaba el proceso cromatográfico.

Se recogieron 115 fracciones de 1 litro cada una agrupándose posteriormente según la similitud de las señales que las mismas revelaron la cromatografía de capa fina. Los resultados de estos agrupamientos fueron:

FRACCIONES	ELUYENTES	SUSTANCIAS
1-18	n-hexano/Ac. Etilo (90:10)	
19-55	n-hexano/Ac. Etilo (80:20)	2, 3, 27
56-72	n-hexano/Ac. Etilo (70:30)	7, 26
73-79	n-hexano/Ac. Etilo (60:40)	8, 10
80-97	n-hexano/Ac. Etilo (50:50)	9, 25, 11
98-113	n-hexano/Ac. Etilo (40:60)	29, 30, 12, 28
114-115	n-hexano/Ac. Etilo (30:70)	
116-128	n-hexano/Ac. Etilo (20:80)	
129-133	Acetato de etilo	

Fracciones 19-55

Reunidas y concentradas en rotavapor las fracciones 19 a 55 de la cromatografía general dieron un peso de 2,7 g, que fueron analizados mediante cromatografía en columna usando mezcla de n-hexano y acetato de etilo 90:10. Las fracciones obtenidas fueron recromatografiadas utilizando el mismo eluyente separándose 52 mg de **3**, 12 mg de **2** y 23 mg de **27**.

- **Datos físicos de la sustancia 3**

Sólido cristalino

Punto de fusión: 200-201 °C (n-Hex/AcOEt).

IR, EM y ¹H-RMN: Totalmente coincidentes con los reportados para **escopoletina** (ver pag. 69).

- **Datos físicos de la sustancia 2**

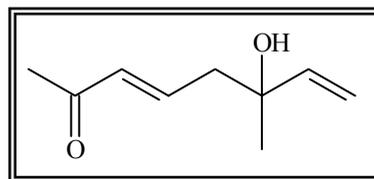
Sólido cristalino

Punto de fusión: 135-138 °C (n-Hex/AcOEt).

IR, EM y ¹H-RMN: Totalmente coincidentes con los reportados para **escoparona** (ver pag. 68).

- **Datos físicos de la sustancia 27**

(3-Hidroxi-3-metil octa-1,5-dien-7-ona)



Aceite incoloro

IR (KBr) ν_{\max} : 3444, 3018, 2923, 2850, 2588, 1770, 1731, 1645, 1539, 1456, 1373, 1215, 756 cm^{-1} .

EM m/z (%): 154 $[\text{M}]^+$ (10,3), 136 $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}]^+$ (22,3), 129 (24,5), 121 (34,0), 107 (43,6), 98 (65,7), 83 (99,0), 71 (63,0), 57 (100).

¹H-RMN (300 MHz, CDCl_3)

H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)	Integral
H-1c	5,13	dd	11; 1,5	1
H-1t	5,26	dd	17; 1,5	1
H-2	5,95	dd	17; 11	1
H-4	2,46	d	8,0	2
H-5	6,79	dt	15,5; 8,0	1
H-6	6,11	d	15,5	1
H-8	2,26	s	--	3
H-9	1,33	s	--	3
-OH	4,74	s	--	1

Fracciones 56-72

Las fracciones 56 a 72 de la cromatografía general, una vez fueron reunidas y concentradas en rotavapor, se sometieron en su totalidad (3,45 gramos) a un proceso de cromatografía en columna de sílica gel utilizando como eluyente n-hexano y acetato de etilo en proporción 80:20. La totalidad de las fracciones fueron divididas en dos grupos:

- a) Las más polares fueron recromatografiadas con el mismo eluyente obteniéndose 26 mg de **26**.
- b) Las menos polares se sometieron a una cromatografía en capa preparativa utilizando como eluyente n-hexano y acetato de etilo 70:30, lográndose aislar 19 mg de **7**.

- **Datos físicos de la sustancia 26**

Aceite incoloro

IR, EM y ¹H-RMN: Totalmente coincidentes con los reportados para **crocínervolido** (ver pag. 134).

- **Datos físicos de la sustancia 7**

Sólido cristalino

Punto de fusión: 229-230 °C (n-Hex/AcOEt).

IR, EM y ¹H-RMN: Totalmente coincidentes con los reportados para **5, 7, 4'-trihidroxi-3,6-dimetiloxiflavona** (ver pag. 73).

Fracciones 73-79

Los 3,15 gramos obtenidos una vez reunidas y concentradas estas fracciones fueron sometidos a un proceso de cromatografía en columna utilizando como eluyente mezcla de n-hexano y acetato de etilo 70:30, lográndose separar 24 mg de **10**.

Por posterior recromatografía en columna utilizando el mismo eluyente se aisló 16 mg de **8**.

- **Datos físicos de la sustancia 10**

Sólido cristalino

Punto de fusión: : 153-155°C (AcOEt/n-Hex).

IR, EM y ¹H-RMN: Totalmente coincidentes con los reportados para **tatridina A** (ver pag. 75).

- **Datos físicos de la sustancia 8**

Aceite incoloro

IR, EM y ¹H-RMN: Totalmente coincidentes con los reportados para **4 α ,5 β epóxido de tatridina A** (ver pag. 77).

Fracciones 80-97

Las fracciones 80 a 97 de la cromatografía general se reúnen y concentran en rotavapor hasta eliminación total del disolvente. Los 4 g de producto obtenido se sometieron a cromatografía en columna de sílica gel y fase móvil mezcla de n-hexano y acetato de etilo 60:40, separándose 21 mg de **9**.

Mediante recromatografía utilizando n-hexano y acetato de etilo 70:30 como eluyente, se lograron obtener dos grupos de fracciones analizados por cromatografía en capa fina:

- a) Las que presentan productos más polares fueron cromatografiadas en capa preparativa eluyendo con mezcla de n-hexano y acetato de etilo 60:40 separándose 13 mg de **25**.
- b) Los de polaridad más baja fueron tratados de forma similar pero con mezcla de n-hexano y acetato de etilo 70:30 lográndose aislar 34 mg de **11**.

- **Datos físicos de la sustancia 9**

Sólido amorfo

IR, EM y ¹H-RMN: Totalmente coincidentes con los reportados para **tatridina B** (ver pag. 79).

- **Datos físicos de la sustancia 25**

Aceite incoloro

IR, EM y ¹H-RMN: Totalmente coincidentes con los reportados para **desacetil β-ciclopiretosina** (ver pag. 135).

- **Datos físicos de la sustancia 11**

Aceite incoloro

IR, EM y ¹H-RMN: Totalmente coincidentes con los reportados para **tamirina** (ver pag. 81).

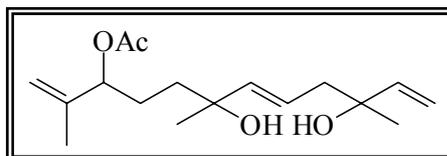
Fracciones 98-113

Los 4,15 gramos de producto obtenidos tras agrupamiento y posterior concentración de las fracciones 98 a 113 de la cromatografía general fueron cromatografiados en columna de sílica gel utilizando como eluyente mezcla de n-hexano y acetato de etilo 50:50. De este proceso no se logró separar ningún producto. Las fracciones obtenidas se separaron en dos grupos:

a) Las menos polares fueron recromatografiadas utilizando como eluyente una mezcla de n-hexano y acetato de etilo 40:60 separándose 40 mg de **28**.

b) Una muestra (85 mg) de las más polares fue disuelta en 1 mL de piridina y se hizo reaccionar con 2 mL de anhídrido acético durante 12 horas. El producto obtenido fue extraído con acetato de etilo y recromatografiado en columna de sílica gel usando como eluyente mezcla de hexano y acetato de etilo 90:10, obteniéndose 5 mg de **29a**, 10 mg de **30a** y 30 mg de **12a**.

- **Datos físicos de la sustancia 28**
(3,7,11-trimetildodeca-1,5,11-trien-3,7,10-triol)

**Aceite incoloro**

IR (KBr) ν_{\max} : 3429, 3083, 2972, 2930, 1738, 1651, 1454, 1371, 1242, 1120, 920 cm^{-1} .

EM m/z (%): 296 (ausente), 278 (1,7), 260 (1,0), 218 (1,1), 208 (3,1), 200 (4,5), 185 (3,6), 166 (5,7), 148 (24,1), 133 (39,2), 125 (6,0), 119 (19,0), 107 (44,4), 93 (59,4), 85 (21,0), 80 (45,1), 71 (100), 55 (22,9).

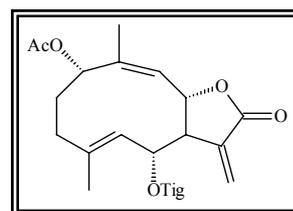
 ^1H -RMN (300 MHz, CDCl_3)

H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)	Integral
H-1	5,05	d	10,7	1
H-1'	5,20	d	17,2	1
H-2	5,93	dd	17,0; 10,7	1
H-4	2,28	ddd	5,5; 13,3; 19	2
H-5	5,61	m	--	1
H-6	5,59	s	--	1
H-8	1,49	m	--	2
H-9	1,65	m	--	2
H-10	5,14	t	6,6	1
H-12	4,93	s	--	1
H-12'	4,88	s	--	1
H-13	1,70	s	--	3
H-14 y H-15	1,27	s	--	6
-OAc	2,05	s	--	3

¹³C-RMN (CDCl₃) δ:

18,00 (C-13), 21,20 (CH₃CO), 27,07 (C-4), 27,40 (C-14), 28,46 (C-15), 37,76 (C-5), 45,09 (C-9), 72,44 (C-6), 72,58 (C-10), 77,40 (C-3), 111,97 (C-12), 112,90 (C-1), 122,87 (C-8), 140,91 (C-7), 142,81 (C-2), 144,68 (C-11), 170,31 (COCH₃).

- **Datos físicos de la sustancia 29a**
(acetato de 6-tigolato de tatrídina A)



Aceite incoloro

IR (KBr) ν_{\max} : 2929, 2360, 1736, 1674, 1241, 1135, 1020.

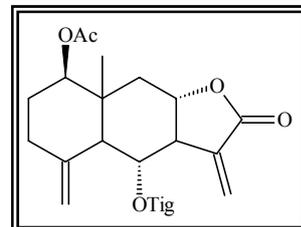
EM m/z (%): 388 (3,6), 346 (2,9), 328 (3,5), 246 (3,3), 228 (6,2), 149 (2,4), 113 (21,0), 105 (4,1), 93 (4,0), 83 (8,4), 71 (4,7), 55 (32,7).

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃)

H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)	Integral
H-1	5,48	dd	10,0; 4,2	1
H-5	4,90	d	11,3	1
H-6	5,48	dd	10,5; 9,7	1
H-7	2,78	m	--	1
H-8	4,80	t	9,2	1
H-9	5,39	d	9,7	1
H-13'	6,24	d	2,9	1
H-13	5,71	d	3,3	1
H-14	1,82	s	--	3
H-15	1,95	s	--	3
OTig	6,97	m	--	1
	1,88	s	--	3
	1,83	s	--	3
OAc	2,01	s	--	3

- Datos físicos de la sustancia 30a

(Acetato de 6-tiglato de desacetil- β -ciclopiretosina)



Aceite incoloro

IR (KBr) ν_{\max} : 2918, 2849, 2360, 1776, 1731, 1651, 1462, 1375, 1242, 1126, 1076, 1025, 977, 907, 814, 756, 667, 607 cm^{-1} .

EM m/z (%): 383 (0,7), 368 (0,8), 360 (0,7), 329 (0,7), 321 (0,9), 304 (1,7), 288 (2,2), 262 (3,4), 257 (8,6), 244 (9,8), 230 (26,4), 228 (68,6), 213 (31,7), 200 (9,4), 185 (13,7), 183 (21,4), 173 (8,9), 159 (12,8), 157 (25,3), 143 (17,6), 131 (13,6), 119 (20,4), 105 (21,6), 97 (14,6), 91 (23,2), 83 (100), 71 (19,5), 57 (34,4), 55 (53,5).

$^1\text{H-RMN}$ (300 MHz, CDCl_3)

H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)	Integral
H-1	4,83	dd	4,6; 4,7	1
H-5	2,31	m	--	1
H-6	5,60	m	--	1
H-7	2,78	m	--	1
H-8	4,05	m	--	1
H-13'	6,12	d	2,7	1
H-13	5,38	d	2,6	1
H-14	0,95	s	--	3
H-15'	4,88	d	5,0	1
H-15	4,65	d	5,9	1
OTig	6,84	m	--	1
	1,88	s	--	3
	1,81	s	--	3
OAc	2,06	s	--	3

- **Datos físicos de la sustancia 12a**

Aceite incoloro

IR, EM y ¹H-RMN: Totalmente coincidentes con los reportados para **acetato de 6-angelato de desacetil- β -ciclopiretosina** (ver pag. 84).

Gonospermum fruticosum Less. (Anaga, Tenerife)

Parte teórica

La extracción con etanol hasta agotamiento y posterior tratamiento del extracto de *G. fruticosum* Less tal y como se describe en la parte experimental, nos permitió obtener un líquido de aspecto siruposo que por posterior cromatografía en columna dio como resultado la obtención de 9 sustancias cuyo estudio pasamos a describir en función de sus relaciones estructurales y las cuales hemos agrupado de la siguiente forma:

- 1 Flavonoide
- 1 Lignano
- 4 Sesquiterpenos
- 1 Lactonas sesquiterpénica.
- 2 Cumarinas

Flavonoide

Sustancia 7

Fue aislada como un sólido cristalino cuyas propiedades físicas y espectroscópicas coinciden con las de **5, 7, 4'-trihidroxi-3, 6-dimetoxiflavona**, descrita en *Lugoa revoluta* (ver pág. 46).

Lignano

Sustancia 21

Fue aislada como un sólido cristalino cuyas propiedades físicas y espectroscópicas coinciden con las de **sesamina**, descrita en *Gonospermum gomerae* (ver pág. 95).

Sesquiterpenos

Sustancia 36

Esta sustancia se obtuvo a partir de las fracciones 60 a 79 de la cromatografía general como un aceite incoloro.

El espectro de IR de esta sustancia presenta las bandas de absorción correspondientes a grupos hidroxilo (3560 cm^{-1}) y dobles enlaces (1630 y 890 cm^{-1}).

Por otra parte, el espectro de masas da la señal correspondiente al ion molecular a m/z 236 y concordante con la fórmula $C_{15}H_{24}O_2$, así como dos fragmentos a m/z 218 $[M-H_2O]^+$ y m/z 203 $[M-H_2O-Me]^+$, lo que indica que podría tratarse de un alcohol sesquiterpénico.

Su espectro de 1H -RMN (Fig. 46) presenta las siguientes señales: un singulete a δ 4,14 correspondiente a dos protones de un alcohol primario alílico a un metileno cuyas señales aparecen como dos singuletes a δ 5,05 y 4,94; un metileno exocíclico como dos singuletes a δ 4,76 y 4,49; un triplete a δ 4,23 ($J=2,8$ Hz) que asignamos a un protón geminal a grupo hidroxilo, y un singulete correspondiente a los tres protones de un metilo angular a δ 0,72.

El estudio del derivado acetilado de esta sustancia confirma la asignación propuesta para los protones geminales ya que éstos sufren un desplazamiento a campo bajo a δ 5,34 y 4,58, para los correspondientes a H-3 y H-12 respectivamente, estando además el primero en posición alílica y en α , dada su constante de acoplamiento.

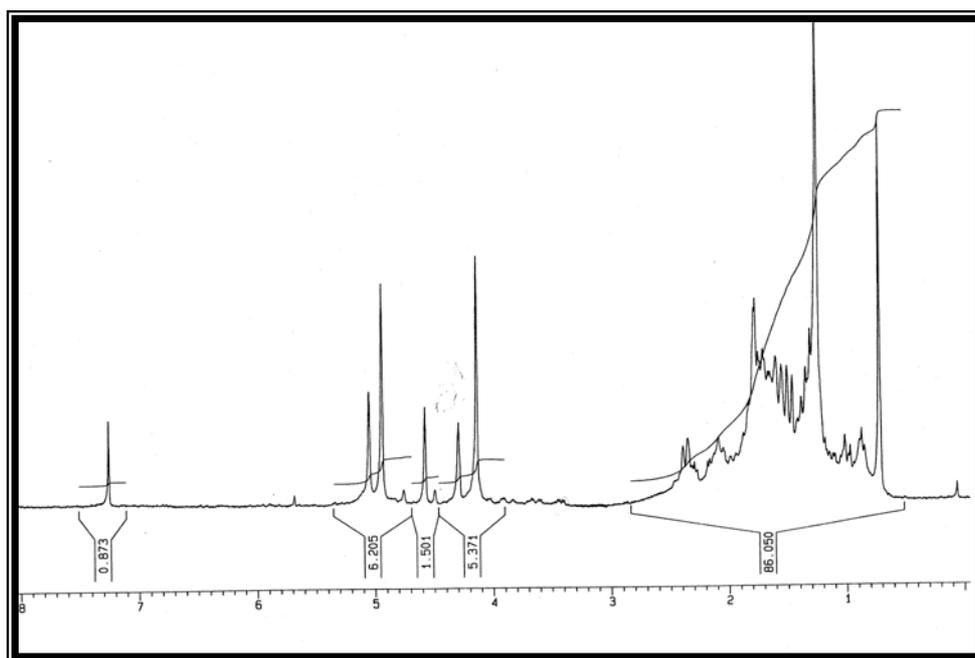
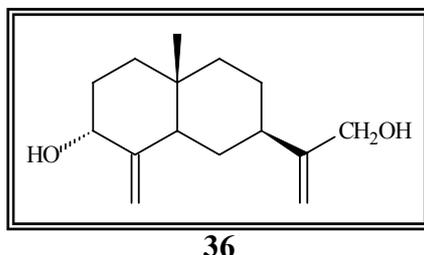


Figura 46. Espectro de 1H -RMN de la sustancia 36.

Los datos espectroscópicos obtenidos nos conducen a proponer la estructura **36**, que consultada la bibliografía vemos que encajan perfectamente con los reportados para la sustancia **3 α -hidroxi- β -costol**⁵⁹.



Sustancia 32

Se obtuvo de las fracciones 42 a 51 de la cromatografía general como un aceite incoloro. Se trata de un alcohol sesquiterpénico estrechamente relacionado con la sustancia anterior como se deduce de sus datos espectroscópicos.

Presenta también, en su espectro de IR, las bandas de absorción características de grupos hidroxilos (3417 cm^{-1}) y dobles enlaces (1653 cm^{-1}). Además, la espectrometría de masas da la señal del ion molecular a m/z 236 que concuerda con la fórmula molecular $C_{15}H_{24}O_2$ así como fragmentos como el registrado a m/z 218 $[M-H_2O]^+$.

Los datos de su espectro de $^1\text{H-RMN}$ (Fig. 47) fueron muy similares a los del 3α -hidroxicostol. La única diferencia fue la presencia de un grupo hidroxilo adicional de naturaleza terciaria, ya que no sufre acetilación, que se ubica en C-5 con orientación α como se deduce de los desplazamientos químicos de H-15 (δ 4.68 y 4.82) y de H-14 (δ 0.89). Se observan también las señales correspondientes a los protones de un metileno aislado como un singulete a δ 5,08 y un doblete a δ 4,96 ($J= 2,5\text{ Hz}$), y un singulete intenso a δ 4,16 correspondería con los dos protones geminales de un alcohol primario. Finalmente, dos multipletes a δ 2,15 y δ 2,60 se asignan a los protones H-3 en β y α respectivamente.

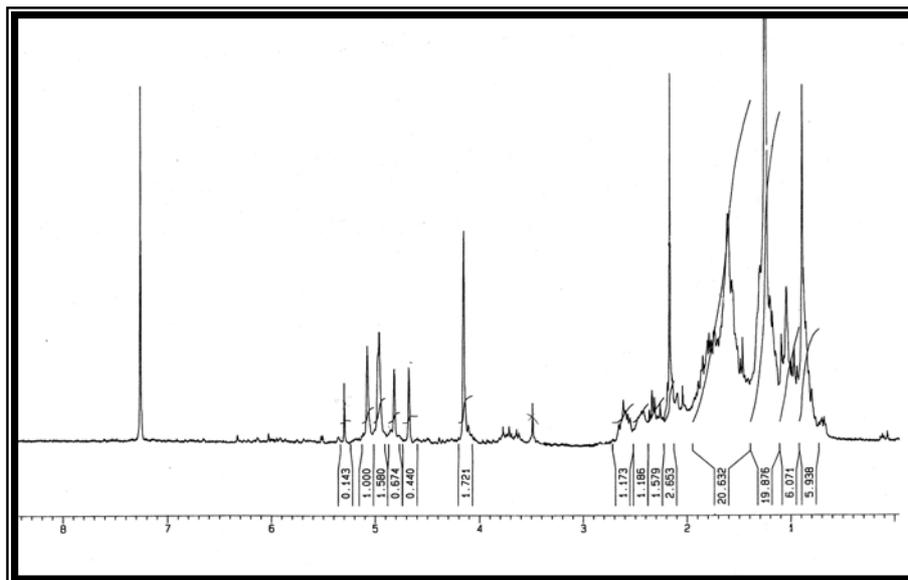
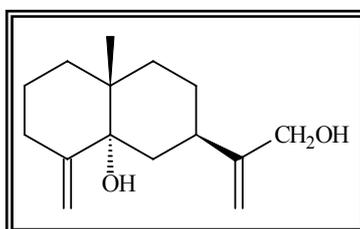


Figura 47. Espectro de ^1H -RMN de la sustancia **32**.

De acuerdo con los datos anteriores proponemos para esta sustancia la estructura **32** (**5- α -hidroxi- β -costol**), no habiéndose encontrado descrita en la bibliografía consultada.



32

Sustancia 34

Fue obtenida de las fracciones 52 a 79 de la cromatografía general como un sólido cristalino de punto de fusión 149-150°C, dando en cromatografía de capa fina una mancha de color marrón después del revelado.

Los datos espectroscópicos revelan la similitud de esta sustancia con la anterior ya que su espectro de masas da la señal del ion molecular también a m/z 236 (concordante con $\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{O}_2$) y en su espectro de IR aparecen las bandas de absorción correspondientes a grupos hidroxilo (3560 cm^{-1}) y dobles enlaces (1630 cm^{-1}).

Además, el espectro de ^1H -RMN (Fig. 48) nos confirma la presencia de un grupo metileno exocíclico con dos singuletes a δ 4,49 y 4,76 y otro metileno aislado con sendos singuletes a δ 4,94 y 5,05. La presencia del metileno angular viene confirmada

con el singulete que aparece a δ 0,70, mientras que los protones geminales del alcohol primario presentes en C-12 dan también un singulete intenso a δ para 4,14. Por último, el doble doblete presente a δ 3,42 ($J=4,5$ y $4,7$ Hz) lo asignamos a un protón geminal a un grupo hidroxilo, cuya posición y constante de acoplamiento nos indica que se encuentra sobre C-1 y que dicho grupo hidroxilo debe tener una orientación β .⁸²

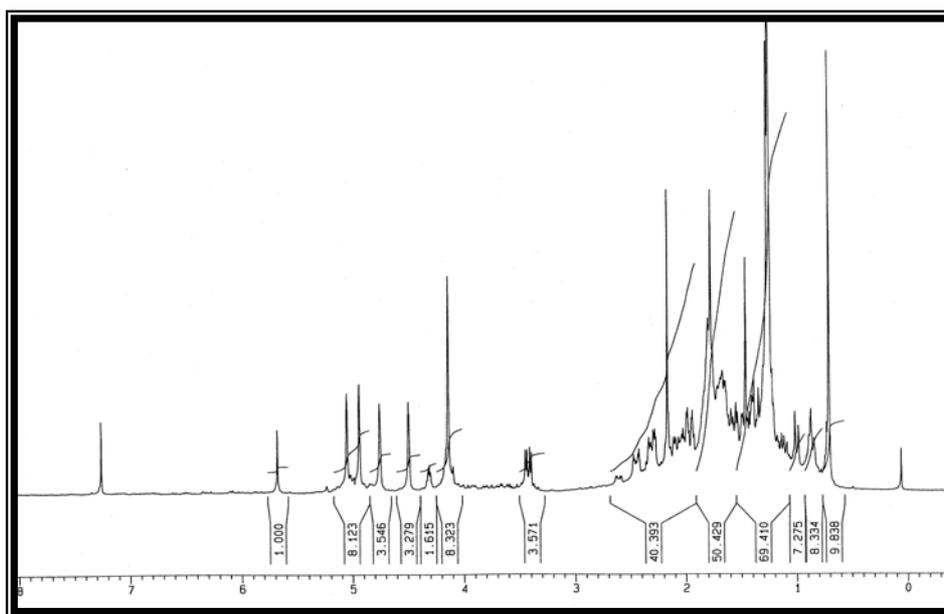
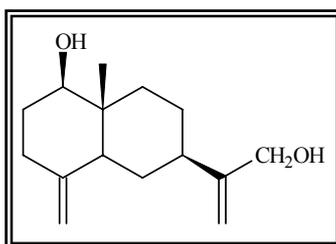


Figura 48. Espectro de ^1H -RMN de la sustancia **34**.

Con los datos físicos y espectroscópicos mencionados se propone para esta sustancia la estructura **34**, que aparece descrita en la bibliografía como **1- β -hidroxi- β -costol**⁵⁹.



34

Sustancia 33

Fue aislada de las fracciones 42 a 51 de la cromatografía general y obtenida como un aceite incoloro para el cual resultaron nulos los intentos de cristalización.

⁸² Bohlmann, F., Jakupovic, J., King, R., Robinson, H. (1981). *Phytochemistry* **20**, 1613-1622.

El espectro de IR muestra bandas de absorción a 3600 cm^{-1} (grupo hidroxilo), 1688 cm^{-1} (grupo aldehído) y 1602 cm^{-1} (dobles enlaces); su espectro de masas da la señal correspondiente al ion molecular a m/z 236, concordante con la fórmula molecular $\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{O}_2$, y algunos fragmentos importantes a m/z 218 $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}]^+$ y 203 $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}-\text{Me}]^+$. Análogamente a la sustancia anterior, estos datos sugieren una estructura de alcohol sesquiterpénico.

Esto se confirma con el espectro de ^1H -RMN (Fig. 49) del que se deduce además que se trata de un sesquiterpeno tipo eudesmano, en el que aparecen las señales correspondientes a un metilo angular a δ 0,96 y un metilo geminal a un grupo hidroxilo a δ 1,02. Además destaca a campo alto un singulete a δ 9,52 típico del protón de un grupo aldehído y dos singuletes a δ 5,97 y 6,27 que corresponden a un metileno conjugado al grupo aldehído.

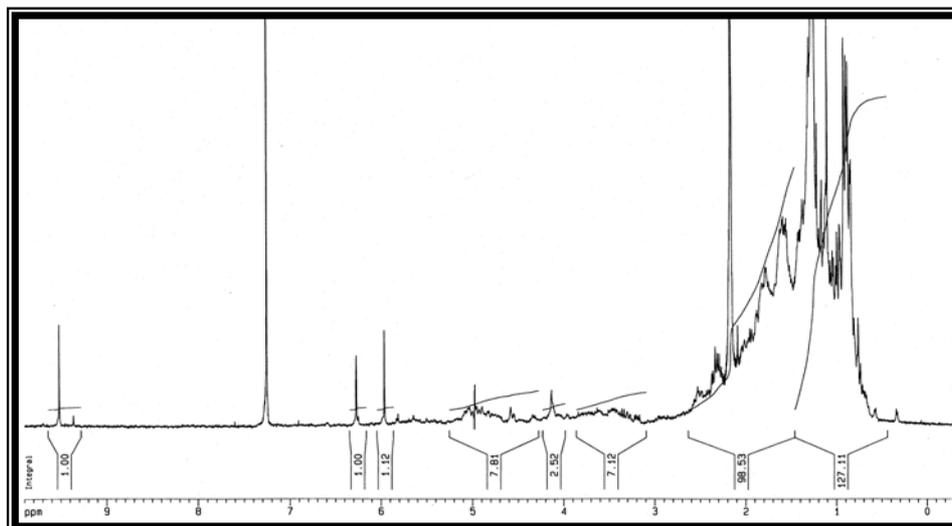
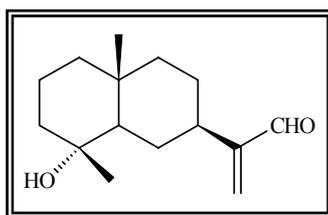


Figura 49. Espectro de ^1H -RMN de la sustancia 33.

De los datos anteriores proponemos para esta sustancia la estructura 33. Consultada la bibliografía la encontramos descrita como **4- α -hidroxieudesm-11-en-12- α l**⁸³ siendo sus datos espectroscópicos coincidentes.



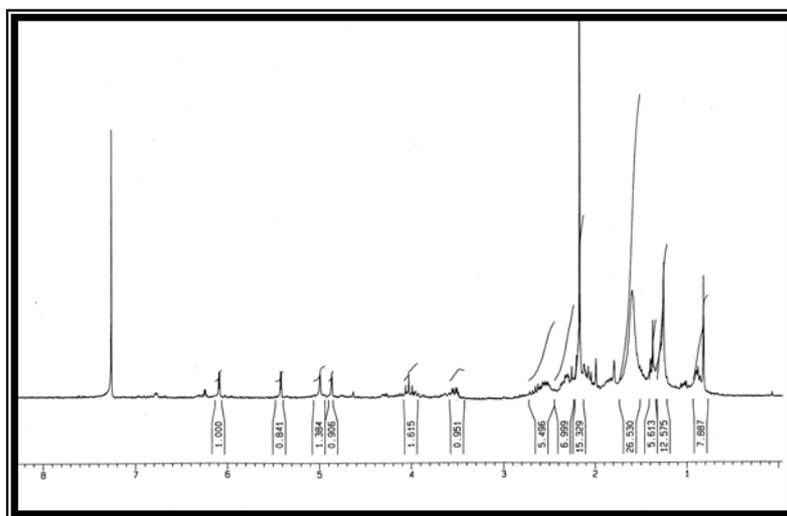
33

⁸³ Bohlmann, F., Ates, N. Jakupovic, J. (1983) *Phytochemistry* 22, 1159.

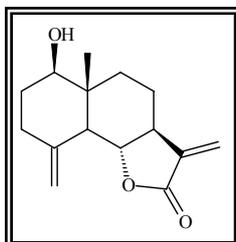
Lactona sesquiterpénica**Sustancia 35**

Se aisló de las fracciones 52 a 79 de la cromatografía general como un sólido amorfo. El estudio de sus espectros sugiere que esta sustancia es una lactona sesquiterpénica ya que el de IR presenta las bandas características de los grupos hidroxilos (3445 cm^{-1}), γ -lactona (1759 cm^{-1}) y dobles enlaces (1651 cm^{-1}), y el espectro de masas, que, aunque no da la señal del ion molecular, presenta una a m/z 230 correspondiente al fragmento $[M-H_2O]^+$ y que concuerda con la fórmula $C_{15}H_{20}O_3$.

En el espectro de ^1H -RMN (Fig. 50) aparecen los dos dobletes típicos del agrupamiento α -metileno- γ -lactona a δ 6,09 ($J=3,1\text{ Hz}$) y 5,41 ($J=3,0\text{ Hz}$). El protón geminal al oxígeno lactónico aparece como un multiplete a δ 4,07 y la señal registrada en la zona de los metilos a δ 0,82 es típica de un metilo angular. Además un doblete a δ 3,53 ($J=6,1\text{ Hz}$ y $4,7\text{ Hz}$) pertenece a un protón geminal a grupo hidroxilo, mientras que la existencia de un grupo metileno exocíclico se asocia a un doblete a δ 4,98 ($J=3,7\text{ Hz}$) y un singulete a δ 4,86. Otras señales son: un multiplete a δ 2,32 que asignamos al protón en β de C-3 y otro multiplete a δ 2,54 para el protón presente en C-7.

Figura 50. Espectro de ^1H -RMN de la sustancia 35.

A partir de estos datos espectroscópicos proponemos para esta sustancia la estructura **35**, datos que son totalmente coincidentes con los que aporta la bibliografía para la **reynosina**⁶⁸.

**35**

Cumarinas

Sustancia 2

Fue aislada como un sólido cristalino cuyas propiedades físicas y espectroscópicas coinciden con las de **escoparona**, descrita en *Lugoa revoluta* (pág. 42).

Sustancia 31

Se obtuvo a partir de las fracciones 33 a 41 de la cromatografía general como un sólido cristalino de punto de fusión 219-221°C, que presenta fluorescencia azulada a la luz ultravioleta típica de compuestos de naturaleza cumarínica.

La espectrometría de masas presenta la señal correspondiente al ion molecular a m/z 220, concordante con la fórmula $C_{11}H_8O_5$. El espectro de IR muestra las bandas de absorción del grupo cumarínico a 1736 y 1628 cm^{-1} .

Su espectro de 1H -RMN (Fig. 51) presenta las señales típicas de los protones α y β cumarínicos como dos dobletes a δ 6,27 ($J=9,6$ Hz) y 7,57 ($J=9,6$ Hz). Además, un singulete a δ 3,93 que corresponde a un metoxilo aromático; un singulete característico de los protones aromáticos ($\delta=6,58$) y otro singulete a δ 6,17 con intensidad relativa a dos protones que asociamos a un grupo metilendioxi.

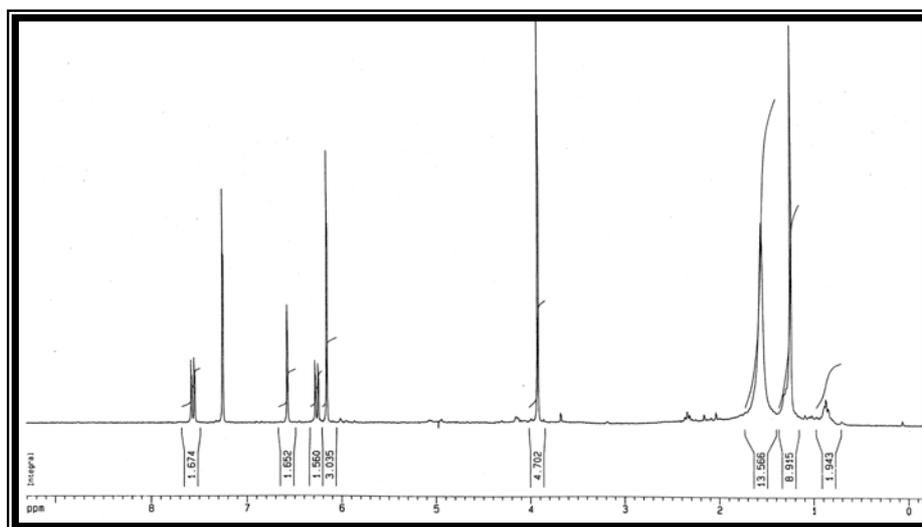


Figura 51. Espectro de ¹H-RMN de la sustancia **31**.

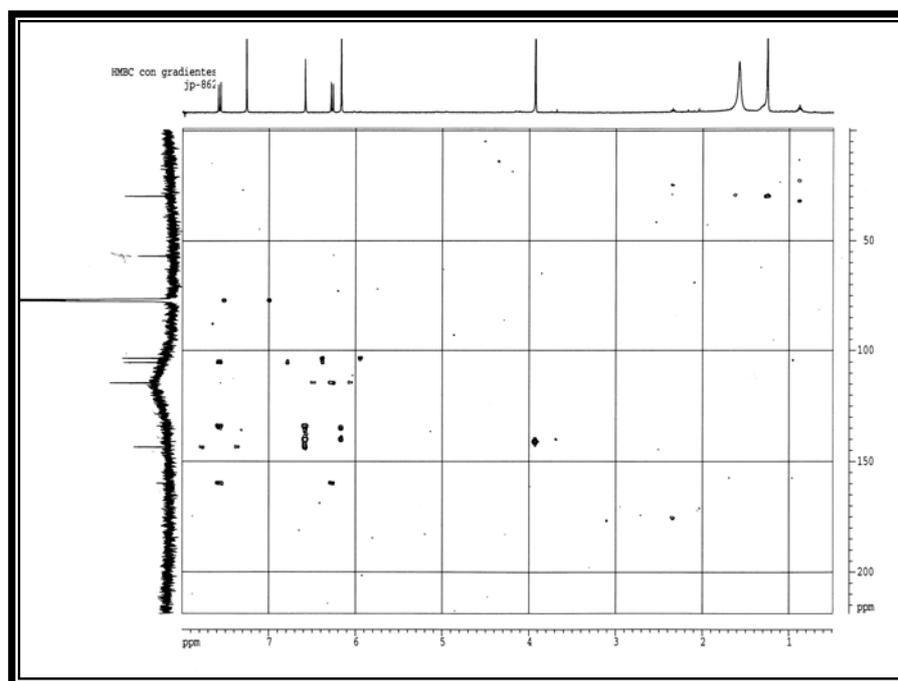
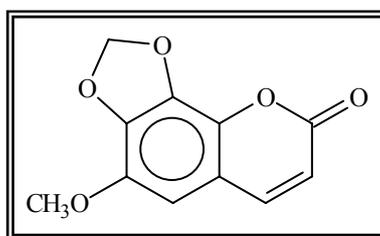


Figura 52. Espectro de HMBC de la sustancia **31**.

Con los datos físicos y espectroscópicos descritos anteriormente proponemos para nuestra sustancia la estructura **31**, correspondiente a **6-metoxi-7,8-metilendioxicumarina**⁸⁴, siendo totalmente coincidentes con los aportados en la bibliografía.



31

⁸⁴ Herz, W., Bhat, S. V., Santhanam, P. S. (1979) *Phytochemistry* **9**, 891-894.

Gonospermum fruticosum (Tenerife-Anaga)

Parte experimental

Gonospermum fruticosum (Anaga, Tenerife)

Parte experimental

Recolección y extracción

La parte aérea de *Gonospermum fruticosum* fue recogida en Taganana (Tenerife) en Mayo de 2003. El material recolectado se dejó secar al aire, siendo posteriormente triturado obteniéndose 1,5 kg. Se extrajo con etanol en un sohxlet hasta agotamiento y se concentró en un rotavapor hasta su transformación en un producto aceitoso de 380 g.

Cromatografía general

Se preparó una columna húmeda de sílica gel cuya cabeza se realizó a partir de la totalidad del extracto anterior disuelto en acetona. El eluyente utilizado fue una mezcla de hexano y acetato de etilo cuya proporción en este último iba aumentando a medida que avanzaba la elución.

Se recogieron 104 fracciones de un litro cada una, que fueron agrupadas según su similitud en una cromatografía de capa fina y que se detallan a continuación:

FRACCIONES	ELUYENTES	SUSTANCIAS
1-17	n-hexano/acetato de etilo (90:10)	
18-24	n-hexano/acetato de etilo (80:20)	
25-32	n-hexano/acetato de etilo (70:30)	21
33-41	n-hexano/acetato de etilo (60:40)	31
42-51	n-hexano/acetato de etilo (50:50)	32,33
52-79	n-hexano/acetato de etilo (40:60)	2, 7, 34, 35, 36
80-101	n-hexano/acetato de etilo (20:80)	
102-104	acetato de etilo	

Fracciones 25-32

Las fracciones 25 a 32 de la cromatografía general se agruparon por la similitud que presentaban sus señales en una cromatografía de capa fina y se concentraron en rotavapor hasta eliminación del disolvente. El residuo resultante, 1,500 g, fue sometido a una cromatografía líquida en columna de sílica gel usando como eluyente una mezcla

de n-hexano y acetato de etilo 90:10. De las fracciones recogidas y agrupadas se recromatografiaron 37 mg de la que contenía el producto mayoritario eluyéndose en una mezcla de benceno/acetato de etilo 95:5. De esta manera se separó 10 mg de la sustancia **21**.

- **Datos físicos de la sustancia 21**

Punto de fusión: 122-123°C (n-Hex/AcOEt).

IR, EM y ¹H-RMN: Totalmente coincidentes con los reportados para **sesamina** (ver pag. 130).

Fracciones 33-41

El análisis de la reunión de estas fracciones (1,500 g) en una cromatografía de capa fina hizo pensar en la existencia de una mezcla de productos, mezcla que fue recromatografiada en una columna de sílica gel con una mezcla de benceno / acetato de etilo 95:5 como eluyente. De las fracciones obtenidas en esta cromatografía logró aislarse 18 mg de **31**.

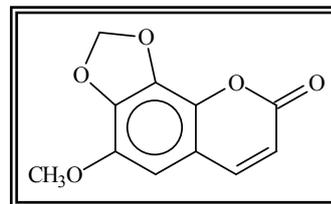
- **Datos físicos de la sustancia 31**
(6-metoxi-7,8-metilendioxicumarina)

Punto de fusión: 219-221°C

IR (CHCl₃) ν_{MAX} : 1736, 1628, 1595, 1460, 655 cm⁻¹.

UV λ_{MAX} : 330, 259, 213 nm.

EM **m/z (%)**: 220 [M]⁺, 192 (62,3), 177 (19,8), 149 (16,4), 91 (10,5), 79 (16,4).



¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃)

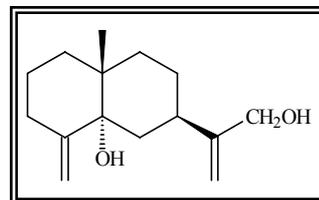
H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)	Integral
H-3	6,27	d	9,6	1
H-4	7,57	d	9,6	1
H-5	6,58	s	--	1
-O-CH ₂ -O-	6,17	s	--	2
-OCH ₃	3,93	s	--	3

Fracciones 42-51

Las fracciones procedentes de la cromatografía general cuya elución tuvo lugar con una mezcla de n-hexano / acetato de etilo 50:50, fueron agrupadas y concentradas en rotavapor hasta eliminación del disolvente quedando un residuo de 1,600 gramos, que fue cromatografiado en una columna de sílica gel utilizando como disolvente una mezcla de n-hexano / acetato de etilo al 80:20. El análisis de las fracciones obtenidas mediante una cromatografía en capa fina permitió realizar su división en dos fracciones:

- 300 mg de las fracciones más polares fueron sometidos, consecutivamente, a dos procesos de cromatografía en columna utilizando como eluyente una mezcla de benceno/acetato de etilo 70:30 en la primera separación y benceno/acetato de etilo 80:20 en la segunda, obteniéndose finalmente 7 mg de la sustancia **32**.
- Las menos polares, una vez concentradas hasta eliminación total del disolvente, dieron un peso de 60 mg. De esta mezcla se separaron 8 mg de la sustancia **33** mediante cromatografía en capa fina preparativa en la que se empleó como eluyente una mezcla de benceno/acetato de etilo 90:10.

- **Datos físicos de la sustancia 32**
(5- α -hidroxi- β -costol)



Aceite incoloro

IR (CHCl₃) ν_{MAX} : 3417, 2925, 1653, 1456, 1375, 1032, 901 cm⁻¹.

EM m/z (%): 236 [M]⁺ (17,0), 218 (29,0), 203 (32,1), 200 (37,4), 187 (29,7), 185 (29,9), 163 (16,4), 161 (29,1), 147 (38,7), 145 (44,2), 133 (49,6), 107 (62,4), 105 (72,9), 95 (100), 93 (89,5), 91 (78,5), 81 (90,7), 79 (78,4), 67 (64,3), 55 (64,0).

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃)

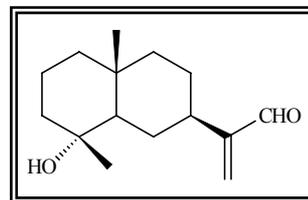
H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)	Integral
H-3 α	2,60	m	--	1
H-3 β	2,15	m	--	1
H-12	4,16	s	--	2
H-13	5,08	s	--	1
H-13'	4,96	d	2,5	1
H-14	0,89	s	--	3
H-15	4,82	d	1,5	1
H-15'	4,68	s	--	1

¹³C-RMN (CDCl₃) δ :

29,7 (C-1), 22,2 (C-2), 34,4 (C-3), 151,8 (C-4), 77,0 (C-5), 35,9 (C-6), 34,9 (C-7), 26,6 (C-8), 33,0 (C-9), 37,9 (C-10), 154,0 (C-11), 65,3 (C-12), 108,2* (C-13), 19,9 (C-14), 107,7* (C-15).

(*) Las señales con asterisco son intercambiables.

- **Datos físicos de la sustancia 33**
(4- α -hidroxieudesm-11-en-12-al)



Aceite incoloro

IR (CHCl₃) ν_{MAX} : 3600, 2927, 2853, 1688, 1602, 1378 y 1090 cm⁻¹.

EM m/z (%): 236[M]⁺ (3); 218 [M-H₂O]⁺ (23); 203 [M-H₂O-Me]⁺ (13); 175 [M-H₂O-Me-CO]⁺ (11); 149 (66); 71 (89); 57 (100) y 51 (74).

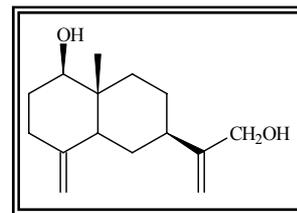
¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃)

H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)	Integral
H-7	2,53	m	-	1
H-12	9,52	s	-	1
H-13'	5,97	s	-	1
H-13	6,27	s	-	1
H-14	0,96	s	-	3
H-15	1,02	s	-	3

Fracciones 52-79

Las fracciones 52 a 79 de la cromatografía general fueron reunidas y concentradas en rotavapor hasta eliminación total del disolvente, quedando un residuo aceitoso de 4,5 gramos. Este producto fue sometido a un proceso de cromatografía líquida en columna de sílica gel empleando como eluyente una mezcla de n-hexano y acetato de etilo en proporción 70:30. Las fracciones separadas fueron recromatografiadas nuevamente empleando como eluyente mezcla de benceno y acetato de etilo 80:20, lográndose aislar 25 mg de **34**, 35 mg de **35** y 82 mg de **36**, y mediante cromatografía en capa preparativa utilizando como eluyente una mezcla de benceno y acetato de etilo 70:30 se obtuvo 12 mg de **7** y 15 mg de **2**.

- **Datos físicos de la sustancia 34**
(1 β -hidroxi- β -costol)



Sólido cristalino

Punto de fusión: 149-150°C (AcOEt/n-Hex).

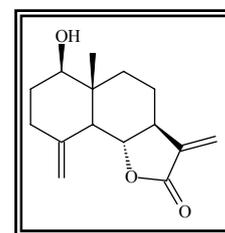
IR (CHCl₃) ν_{MAX} : 3560, 3360, 2900, 1630, 1430, 880 y 850 cm⁻¹

EM m/z (%): 236[M]⁺ (4); 218 [M-H₂O]⁺ (17); 200 [M-2H₂O] (15); 185 [M-2H₂O-Me]⁺ (18); 159 (40); 107 (46); 95 (48); 91 (73) y 55 (100).

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃)

H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)	Integral
H-1	3,42	dd	4,5; 4,7	1
H-5	2,31	dddd	2,5; 12,5	1
H-12	4,14	s	-	2
H-13'	4,94	s	-	1
H-13	5,05	s	-	1
H-14	0,70	s	-	3
H-15'	4,49	s	-	1
H-15	4,76	s	-	1

- **Datos físicos de la sustancia 35**
(Reynosina)



Sólido amorfo

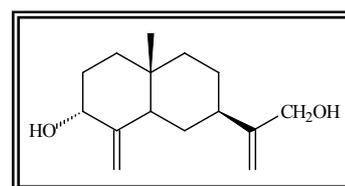
IR (CHCl₃) ν_{MAX} : 3445, 2930, 2851, 1759, 1651, 1461, 1384, 1257, 1134, 941 cm⁻¹.

EM m/z (%): 230 [M-H₂O]⁺ (100), 216 (21,1), 198 (14,5), 185 (9,3), 175 (6,4), 163 (68,7), 145 (16,7), 132 (12,9), 123 (17,1), 107 (27,1), 99 (44,2), 91 (41,2), 79 (35,6), 67 (27,8), 55 (39,2).

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃)

H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)	Integral
H-1	3,53	dd	6,1; 4,7	1
H-3β	2,32	m	--	1
H-6 β	4,07	m	--	1
H-7α	2,54	m	--	1
H-13'	6,09	d	3,1	1
H-13	5,41	d	3,0	1
H-14	0,82	s	--	3
H-15'	4,98	d	3,7	1
H-15	4,86	s	--	1

- **Datos físicos de la sustancia 36**
(3α-hidroxi-β-costol)



Aceite incoloro

IR (CHCl₃) ν_{MAX} : 3560, 3380, 2890, 1630, 1440, 1360, 1130, 1080 y 890 cm⁻¹.

EM m/z (%): 236[M]⁺ (7); 218 [M-H₂O]⁺ (10); 203 [M-H₂O-Me]⁺ (10); 185 (13); 133 (33); 107 (40); 91 (49); 60 (88) y 55 (100).

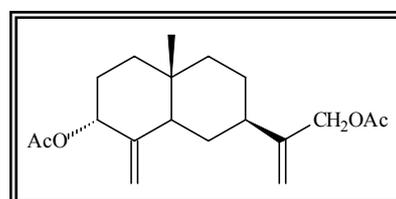
¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃)

H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)	Integral
H-3	4,23	t	2,8	1
H-5	2,37	d	12,5	1
H-12	4,14	s	-	2
H-13'	4,94	s	--	2
H-13	5,05	s	--	1
H-14	0,72	s	-	3
H-15'	4,49	s	--	1
H-15	4,76	s	--	1

- **Acetilación de 36**

Una muestra de 65 mg de **36** fue sometida a un proceso de acetilación con anhídrido acético en medio básico de piridina. El producto de reacción, una vez extraído y lavado de manera usual, se concentró en rotavapor dando 40 mg de mezcla, que fue cromatografiada en columna con benceno/acetato de etilo 95:5 como eluyente obteniéndose 8 mg de **36a**.

- **Datos físicos de la sustancia 36a**
(Diacetato de 3-α-hidroxi-β-costol)



Aceite incoloro

IR (CHCl₃) ν_{MAX}: 2917, 2841, 1720, 1630, 1360, 1240, 1020, 910 y 890 cm⁻¹.

EM m/z (%): 260[M-AcOH]⁺ (7); 200 [M-2AcOH]⁺ (17); 185 [M-2AcOH-Me] (17); 177 (43); 171 (47); 145 (40); 117 (67); 98 (90) y 55 (100).

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃)

H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)	Integral
H-3	5,34	s	--	1
H-5	2,29	m	--	1
H-12	4,58	s	--	2
H-13'	5,01	s	--	1
H-15 y H-13	5,06	s	--	2
H-14	0,73	s	--	3
H-15'	4,68	s	--	1
OAc	2,04	s	--	3
OAc	2,08	s	--	3

- **Datos físicos de la sustancia 7**

Punto de fusión: 229-230°C (AcOEt/n-Hex)

IR, EM y ¹H-RMN: Totalmente coincidentes con los reportados para **5,7,4'-trihidroxí-3,6-dimetoxiflavona** (ver pag. 73).

- **Datos físicos de la sustancia 2**

Punto de fusión: 144-146°C (AcOEt/n-Hex).

IR, EM y ¹H-RMN: Totalmente coincidentes con los reportados para **escoparona** (ver pag. 68).

Gonospermum fruticosum Less (El Hierro)

Parte teórica

Tal y como se describe en la parte experimental, la extracción con etanol de partes aéreas de esta planta dio un líquido de aspecto siruposo que fue sometido a sucesivos procesos de separación mediante cromatografía en columna. El resultado fue la obtención de 9 sustancias cuyo estudio pasamos a describir en función de sus relaciones estructurales y las cuales hemos agrupado de la siguiente forma:

- 1 Esterol
- 2 Cumarinas
- 1 Flavonoide
- 1 Aldehído aromático
- 4 Lactonas sesquiterpénicas:
 - 2 Tipo Germacrano
 - 2 Tipo Eudesmano

Esterol

Sustancia 1

Fue aislada como un sólido cristalino cuyas propiedades físicas y espectroscópicas coinciden con las de **estigmasterol**, descrita en *Lugoa revoluta* (ver pág. 42).

Cumarinas

Sustancia 2

Fue aislada como un sólido cristalino cuyas propiedades físicas y espectroscópicas coinciden con las de **escoparona**, descrita en *Lugoa revoluta* (ver pág. 42).

Sustancia 3

Fue aislada como un sólido cristalino cuyas propiedades físicas y espectroscópicas coinciden con las de **escopoletina**, descrita en *Lugoa revoluta* (ver pág. 43).

Flavonoide

Sustancia 7

Fue aislada como un sólido cristalino cuyas propiedades físicas y espectroscópicas coinciden con las de **5, 7, 4'-trihidroxi-3, 6-dimetoxiflavona**, descrita en *Lugoa revoluta* (ver pág. 46).

Aldehído aromático

Sustancia 37

Se obtuvo de las fracciones 22 a 31 de la cromatografía general como un sólido cristalino de punto de fusión 81-83°C. El espectro de masas muestra el ion molecular a m/z 152 concordante con la fórmula $C_8H_8O_3$, así como otras señales derivadas de fragmentaciones de grupos como m/z 135 $[M-OH]^+$, m/z 123 $[M-CHO]^+$ y m/z 121 $[M-OCH_3]^+$. Las bandas de absorción registradas en el espectro de IR muestran las típicas de grupos hidroxilo (3510 cm^{-1}), aldehído (1700 cm^{-1}) y anillos aromáticos (1590 cm^{-1}).

Su espectro de $^1\text{H-RMN}$ (Fig. 53) presenta dos señales tipo singulete: la primera a δ 3,97 que asignamos a los tres protones de un grupo metoxilo y la segunda a campo más bajo (δ 9,83) correspondiente al hidrógeno del grupo aldehído. Además se observan las señales correspondientes a los protones aromáticos del benzaldehído disustituído en C-3 y C-4 como un doblete a δ 7,05 ($J=9\text{ Hz}$), asignable al protón de C-5 y multiplete en δ 7,42 de los protones en C-2 y C-6.

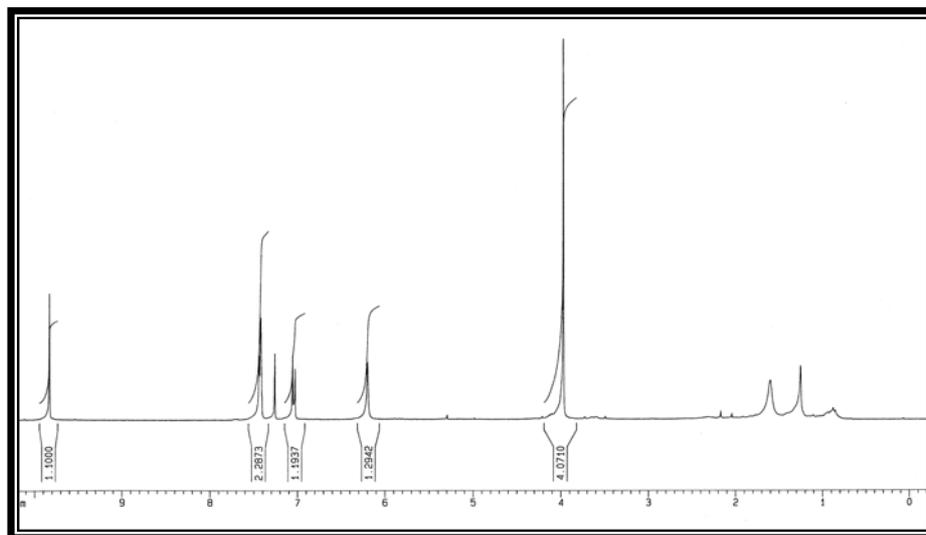
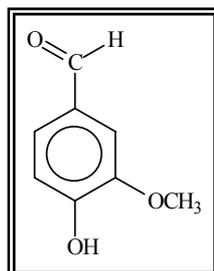


Figura 53. Espectro de $^1\text{H-RMN}$ de la sustancia 37.

Comparando nuestros datos espectroscópicos con los de una muestra auténtica de **vainillina**, observamos que son totalmente coincidentes, por lo que proponemos para esta sustancia la estructura **37**.

**37**

Lactonas sesquiterpénicas

Sustancia 10

Fue aislada como un sólido cristalino cuyas propiedades físicas y espectroscópicas coinciden con las de **tatridina A**, descrita en *Lugoa revoluta* (ver pág. 49).

Sustancia 25

Fue aislada como un aceite incoloro cuyas propiedades espectroscópicas coinciden con las de **desacetil β ciclopiretosina**, descrita en *Gonospermum gomerae* (pág. 110).

Sustancia 30

Fue aislada como un aceite incoloro cuyas propiedades espectroscópicas coinciden con las de **6-tiglato de desacetil-β-ciclopiretosina**, descrita en *Gonospermum fruticosum* (La Gomera) (ver pág. 148).

Sustancia 38

La sustancia **38** fue obtenida de las fracciones 37 a 51 de la cromatografía general en forma de aceite incoloro. Sus datos espectroscópicos apuntan a una estructura de lactona sesquiterpénica ya que el espectro de masas, aunque no da la señal del ion molecular, sí da la de un fragmento a m/z 246 $[M-RCO_2H]^+$ concordante con la fórmula $C_{20}H_{26}O_5$, mientras que el espectro de IR da bandas de absorción a 3400 cm^{-1} (alcohol), 1732 cm^{-1} (éster), y 1651 cm^{-1} (dobles enlaces).

El espectro de $^1\text{H-RMN}$ (Fig. 54) es muy similar al de la sustancia **9**, diferenciándose de éste en la aparición de las señales típicas del grupo tigolato que localizamos en C-6 de acuerdo con los desplazamientos químicos observados. Así, además de las señales del tigolato (multiplete a δ 6,90, singulete a δ 1,87 y singulete a δ 1,83) y el desplazamiento a campo bajo del protón situado en C-6 que se registra ahora a δ 5,30 (multiplete), el resto de las señales son: dos dobletes a δ 6,32 ($J=3,0$ Hz) y 5,84 ($J=2,8$ Hz) característicos de una α -metileno- γ -lactona; dos singuletes a δ 5,17 y 5,13 correspondientes a un metileno exocíclico aislado; multiplete a δ 4,97 de un protón vinílico; otro multiplete a δ 3,87 que asignamos al protón geminal al grupo hidroxilo presente en C-1; y multiplete a δ 4,08 asignable al protón geminal al oxígeno lactónico. Finalmente, en la región de los metilos, el singulete a δ 1,81 lo asignamos al metilo vinílico, que integra a tres protones.

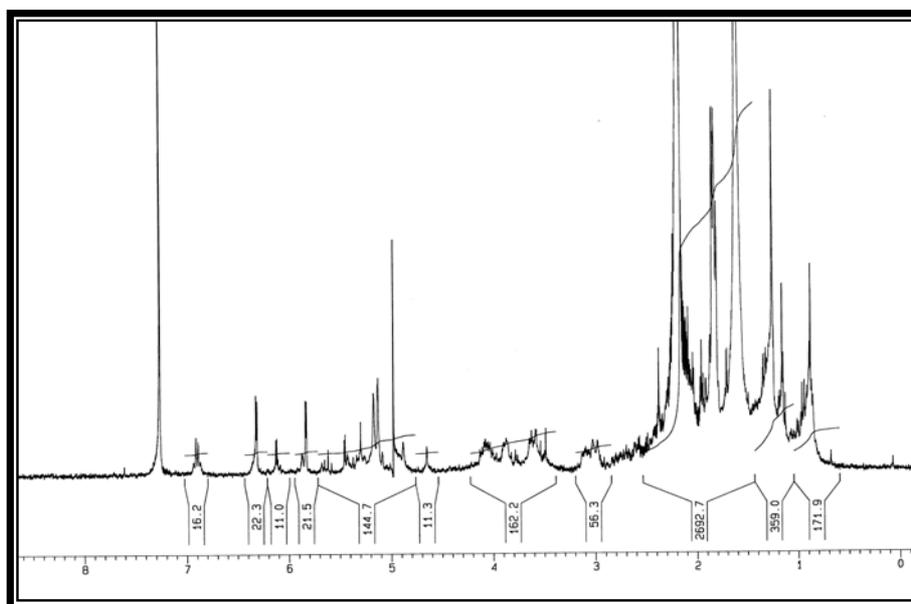
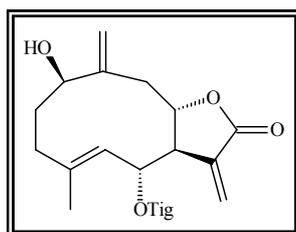


Figura 54. Espectro de $^1\text{H-RMN}$ de la sustancia **38**.

De acuerdo a lo anterior, proponemos para **38** la estructura de **6-tigolato de tatrídina B**, la cual no hemos encontrado descrita en la bibliografía consultada.



38

Gonospermum fruticosum Less (El Hierro)

Parte experimental

Procedimiento de extracción

La parte aérea de *Gonospermum fruticosum* fue recolectada en el Camino del Mocanal en la isla de El Hierro en Mayo de 2003. El material vegetal se sometió a un proceso de secado al aire y posterior trituración. Los 1250 gramos de planta seca y triturada obtenidos fueron extraídos con etanol en un aparato de extracción continua tipo soxhlet, y una vez eliminado el disolvente en rotavapor se obtuvo 287 gramos de residuo aceitoso.

Cromatografía general

El extracto anterior, previamente disuelto en acetona, se mezcló con sílica gel y, tras eliminación del disolvente, se utilizó como cabeza de columna para posterior proceso de cromatografía. El eluyente utilizado fue una mezcla de n-hexano y acetato de etilo que era más rica en este último componente a medida que avanzaba el proceso de separación. Se recogieron de esta manera un total de 75 fracciones de 1 litro.

FRACCIONES	ELUYENTES	SUSTANCIAS
1-14	n-hexano/acetato de etilo (90:10)	
15-17	n-hexano/acetato de etilo (80:20)	
18-21	n-hexano/acetato de etilo (70:30)	1
22-31	n-hexano/acetato de etilo (60:40)	37
32-36	n-hexano/acetato de etilo (50:50)	2
37-51	n-hexano/acetato de etilo (40:60)	3, 7, 38
52-61	n-hexano/acetato de etilo (30:70)	10, 25, 30
62-69	n-hexano/acetato de etilo (20:80)	
69-75	acetato de etilo	

Fracciones 18-21

Las fracciones 18 a 21 de la cromatografía general fueron reunidas y concentradas a rotavapor dando 1,32 g de producto que fue sometido a un proceso de cromatografía en columna de sílica gel utilizando como eluyente una mezcla de n-hexano y acetato de etilo 70:30, separándose así 47 mg de **1**.

- **Datos físicos de la sustancia 1**

Sólido cristalino

Punto de fusión: 166-8°C (AcOEt)

IR, EM y ¹H-RMN: Fueron totalmente superponibles con los de una muestra auténtica de estigmasterol (ver pag. 68).

Fracciones 22-31

Reunidas y concentradas en rotavapor las fracciones 22 a 31 dieron un residuo (4,40 g) que fue cromatografiado en columna de sílica gel con una mezcla de n-hexano y acetato de etilo 80:20 como eluyente. De las fracciones obtenidas, las menos polares fueron recromatografiadas usando como eluyente benceno y acetato de etilo 95:5 y posteriormente purificadas mediante cromatografía en placa fina preparativa eluyendo con benceno y acetato de etilo 85:15. Se obtuvo 35 mg de **37**.

- **Datos físicos de la sustancia 37**

(Vainillina)

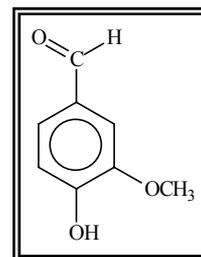
Sólido cristalino

Punto de fusión: 81-83°C.

IR (KBr) ν_{\max} : 3510, 2900, 1700, 1590, 1505, 1460, 1430, 1370, 1260, 1150 cm^{-1} .

EM m/z (%): 152 [M]⁺ (14), 151 (15), 150 (14), 137 (14), 135 (11), 123 (19), 121 (23), 111 (29), 95 (17), 91 (30), 65 (8).

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃)



H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)	Integral
H-2, H-6	7,42	m	--	2
H-5	7,05	d	9	1
-OCH ₃	3,97	s	--	3
-CHO	9,83	s	--	1

Fracciones 32-36

Reunidas estas fracciones y concentradas a rotavapor hasta eliminación total del disolvente, el residuo restante fue pesado dando una masa de 1,8 gramos. Esta cantidad fue depositada en la cabeza de una columna de sílica gel y sometida a un proceso de cromatografía en la que el eluyente fue una mezcla de benceno/acetato de etilo (90:10). Tras análisis de las fracciones recogidas se detectó la presencia de un producto mayoritario que fue purificado mediante cromatografía en placa fina preparativa usando como eluyente benceno y acetato de etilo 80:20, obteniéndose 11mg de **2**.

- **Datos físicos de la sustancia 2**

Sólido cristalino

Punto de fusión: 135-138 °C (AcOEt /n-Hex).

IR, EM y ¹H-RMN: Totalmente coincidentes con los reportados para **escoparona** (ver pag. 68).

Fracciones 37-51

Los 7,70 g del residuo de concentración de estas fracciones fueron sometidos a un proceso de cromatografía líquida en columna de sílica gel, empleándose como fase móvil una mezcla de hexano y acetato de etilo en proporción 85:15. Las fracciones más polares fueron concentradas en rotavapor, pesadas (660 mg) y recromatografiadas en columna de sílica gel con una mezcla de benceno y acetato de etilo 75:25, separándose 8 mg de **3**, 30mg de **38** y 10 mg de **7**.

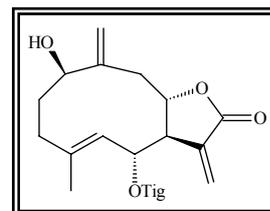
- **Datos físicos de la sustancia 3**

Sólido cristalino

Punto de fusión: 200-201 °C (AcOEt /n-Hex).

IR, EM y ¹H-RMN: Totalmente coincidentes con los reportados para **escopoletina** (ver pag. 69).

- **Datos físicos de la sustancia 38**
(6-tiglato de tatrídina B)



Aceite incoloro

IR (KBr) ν_{\max} : 3400, 2924, 1851, 1732, 1651, 1462, 1377, 1246, 1148, 1028 cm^{-1} .

EM m/z (%): 246 $[\text{M}-\text{RCO}_2\text{H}]^+$ (3,09), 228 $[\text{246}-\text{H}_2\text{O}]^+$ (8,75), 213 $[\text{228}-\text{Me}]$ (2,96), 83 (100), 57 (14,62).

^1H -RMN (300 MHz, CDCl_3)

H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)	Integral
H-1	3,87	m	--	1
H-5	4,97	m	--	1
H-6	5,30	m	--	1
H-7	3,00	m	--	1
H-8	4,08	m	--	1
H-13'	6,32	d	3,0	1
H-13	5,84	d	2,8	1
H-14'	5,13	s	--	1
H-14	5,17	s	--	1
H-15	1,81	s	--	3
OTig	6,90	m	--	1
	1,87	s	--	3
	1,83	s	--	3

- **Datos físicos de la sustancia 7**

Sólido cristalino

Punto de fusión: 229-230 °C (AcOEt/n-Hex).

IR, EM y ^1H -RMN: Totalmente coincidentes con los reportados para 5, 7, 4'-trihidroxi-3,6-dimetiloxiflavona (ver pag. 73).

Fraciones 52-61

Las fracciones 52 a 61 de la cromatografía general fueron agrupadas y concentradas en rotavapor obteniéndose un producto aceitoso (2,6 gramos), el cual fue sometido a un proceso de cromatografía líquida en columna con mezcla de hexano y acetato de etilo 60:40 como eluyente, y posteriormente fue recromatografiado con mezcla de n-hexano y acetato de etilo 70:30 aislándose 12 mg de **10** y 20 mg de **25**. El resto del producto fue recromatografiado en capa preparativa usando como eluyente mezcla de n-hexano y acetato de etilo 60:40 obteniéndose 50 mg de **30**.

- **Datos físicos de la sustancia 10**

Sólido cristalino

Punto de fusión: : 153-155°C (AcOEt/n-Hex).

IR, EM y ¹H-RMN: Totalmente coincidentes con los reportados para **tatridina A** (ver pag. 75).

- **Datos físicos de la sustancia 25**

Aceite incoloro

IR, EM y ¹H-RMN: Totalmente coincidentes con los reportados para **desacetil β-ciclopiretosina** (ver pag. 135).

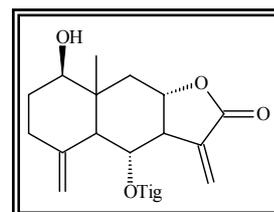
- **Datos físicos de la sustancia 30**

(6-tiglato de desacetil-β-ciclopiretosina)

Aceite incoloro

IR (KBr) ν_{\max} : 3458, 3091, 2923, 2850, 1770, 1703, 1645, 1456, 1392, 1265, 1155, 1124, 1031, 973, 754 cm^{-1} .

EM m/z (%): 346 $[M]^+$ (1,1), 328 (0,8), 289 (0,7), 279 (0,8), 248 (1,0), 247 (4,4), 246 (26,0), 229 (12,1), 228 (70,5), 213 (47,2), 202 (23,6), 183 (11,1), 167 (7,7), 157 (10,2), 143 (7,6), 117 (5,5), 105 (9,5), 91 (11,2), 83 (100), 67 (4,6), 57 (7,3), 55 (43,8).



¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃)

H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)	Integral
H-1	3,59	dd	4,6; 4,6	1
H-5	2,31	m	--	1
H-6	5,58	t	10,5; 10,6	1
H-7	2,79	m	--	1
H-8	4,08	ddd	3,6 ;6,8 ;4,3	1
H-9	2,58	dd	3,5; 3,5	2
H-13'	6,11	d	3,8	1
H-13	5,39	d	3,0	1
H-14	0,87	s	--	3
H-15'	4,86	d	4,5	1
H-15	4,63	d	5,5	1
OTi	6,84	m	--	1
	1,88	s	--	3
	1,81	s	--	3

- **Acetilación de la sustancia 30**

40 mg de la sustancia **30** fueron tratados con 2 mL de anhídrido acético y 1 mL de piridina durante 12 horas. El extracto obtenido de manera usual fue sometido a una cromatografía líquida en columna utilizándose como disolvente mezcla de benceno y acetato de etilo 95:5, obteniéndose 20 mg de la sustancia **30a**.

- **Datos físicos de la sustancia 30a**

Aceite incoloro

IR, EM y ¹H-RMN: Totalmente coincidentes con los reportados para acetato de 6-tiglato de desacetil-β-ciclopiretosina (ver pag. 160).

Gonospermum fruticosum Less (Güimar, Tenerife)

Parte teórica

Tal y como se describe en la parte experimental, la extracción con etanol de partes aéreas de esta planta dio un líquido de aspecto siruposo que fue sometido a sucesivos procesos de separación mediante cromatografía en columna. El resultado fue la obtención de 8 sustancias cuyo estudio pasamos a describir en función de sus relaciones estructurales y las cuales hemos agrupado de la siguiente forma:

- 1 Esterol
- 1 Lignano
- 6 Sesquiterpenos

Esterol

Sustancia 1

Fue aislada como un sólido cristalino cuyas propiedades físicas y espectroscópicas coinciden con las de **estigmasterol**, descrita en *Lugoa revoluta* (ver pág. 42).

Lignano

Sustancia 21

Fue aislada como un sólido cristalino cuyas propiedades físicas y espectroscópicas coinciden con las de **sesamina**, descrita en *Gonospermum gomerae* (ver pág. 95).

Sesquiterpenos

Sustancia 36

Fue aislada como un aceite incoloro cuyas propiedades espectroscópicas coinciden con las de **3 α -hidroxi- β -costol**, descrita en *Gonospermum fruticosum* (Anaga, Tenerife) (ver pág. 165).

Sustancia 32

Fue aislada como un aceite incoloro cuyas propiedades espectroscópicas coinciden con las de **5- α -hidroxi- β -costol**, descrita en *Gonospermum fruticosum* (Anaga, Tenerife) (ver pág. 167).

Sustancia 39

Fue aislada de las fracciones 6 a 53 de la cromatografía general como un sólido cristalino en mezcla de acetato de etilo y n-hexano, y dio un punto de fusión de 129-130°C. En su espectro IR aparecen bandas de absorción a 3575 cm⁻¹ y a 1630 cm⁻¹ que corresponden a grupos hidroxilos y dobles enlaces respectivamente. El espectro I R del derivado acetilado sigue dando señal correspondiente a hidroxilo por lo que se deduce la existencia de un alcohol terciario. El espectro de masas no muestra el ion molecular [M]⁺ observándose en cambio fragmentos importantes a m/z 220 [M-H₂O]⁺ y m/z 202 [M-2H₂O]⁺, y el pico base a 149, lo cual concuerda con la fórmula molecular C₁₅H₂₆O₂.

De su espectro de ¹H-RMN (Fig. 55) se deduce que se trata de un sesquiterpeno tipo eudesmano en el que dos señales tipo singulete a δ 0,90 y 1,12 se asignan a dos metilos, uno angular y otro geminal a grupo hidroxilo respectivamente. Además, dos dobletes a δ 5,04 (J=1,2 Hz) y 4,93 (J=0,9 Hz) se asignan a dos protones de un metileno aislado. El singulete presente a δ 4,15 y de integral correspondiente a dos protones fue asignado a los hidrógenos geminales a un alcohol primario, ya que en el espectro de ¹H-RMN del derivado acetilado de esta sustancia dicho singulete se desplaza a δ 4,59.

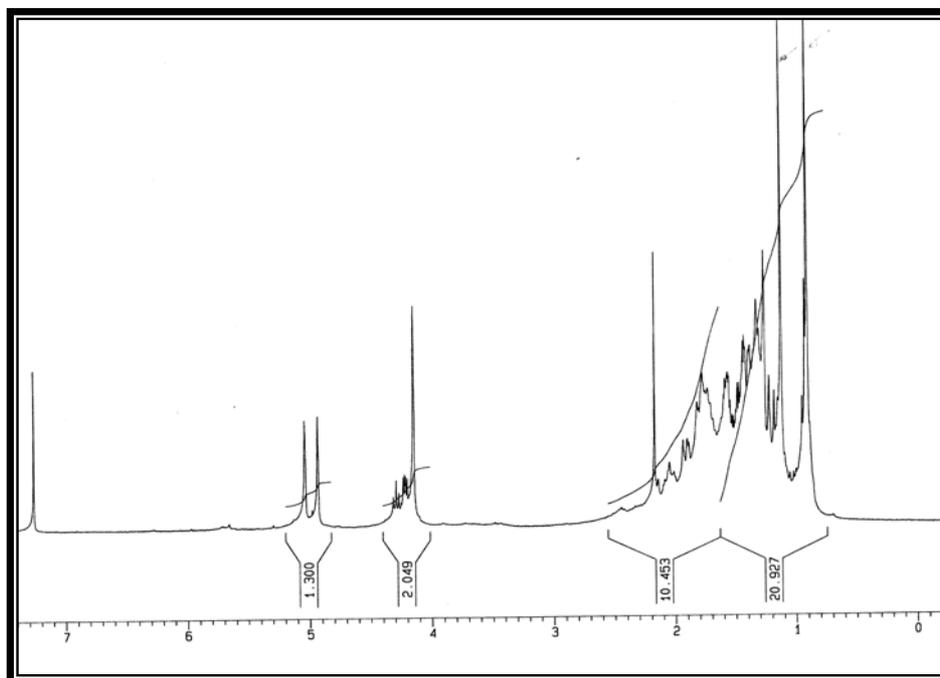


Figura 55. Espectro de ¹H-RMN de la sustancia 39.

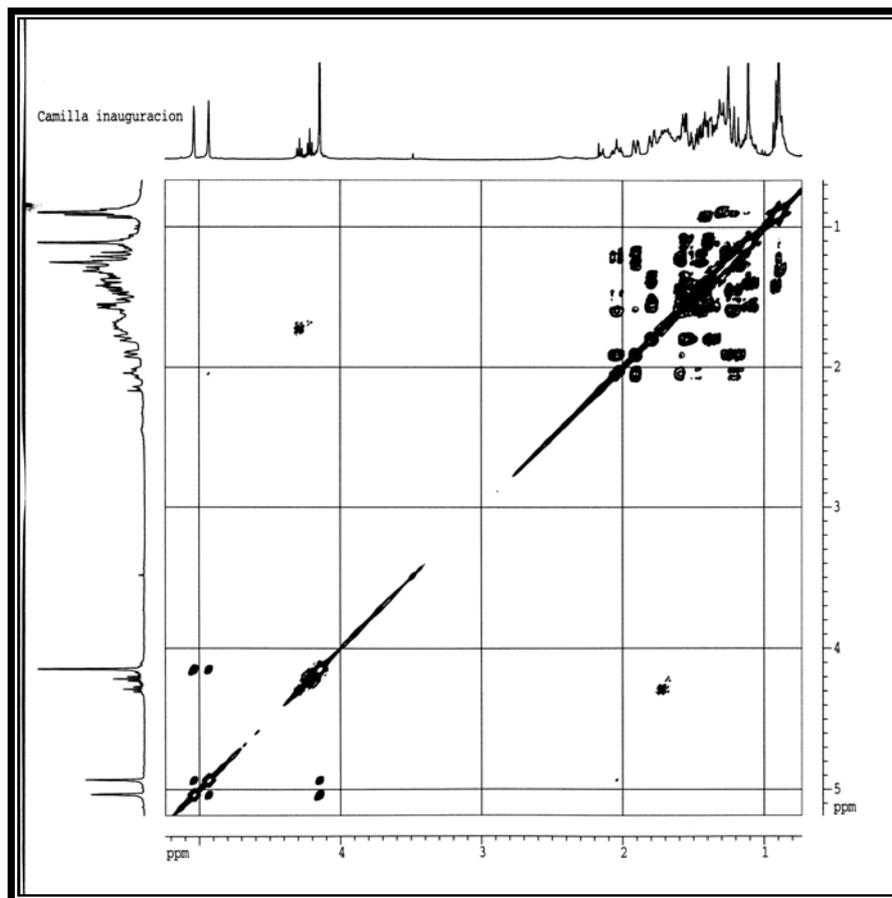


Figura 56. Espectro de COSY de la sustancia 39.

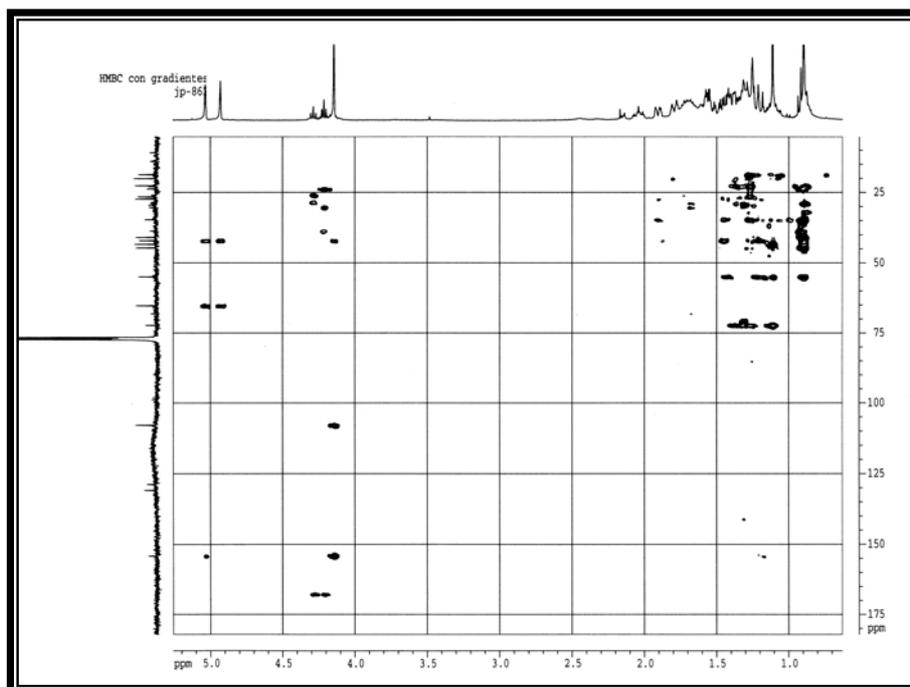
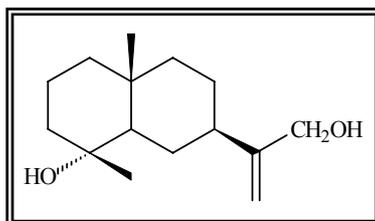


Figura 57. Espectro de HMBC de la sustancia 39.

Según los datos anteriores y consultada la bibliografía se deduce que los datos son perfectamente concordantes con los reportados para **4 α -hidroxi-4 β -metildihidrocostol**⁸⁵, por lo que proponemos para nuestra sustancia la estructura **39**.

**39**

Sustancia 40

Esta sustancia se obtuvo de las fracciones 54 a 110 de la cromatografía general en forma de aceite incoloro que en cromatografía en capa fina se comportaba como una sustancia químicamente pura. Su espectro de IR presenta bandas de absorción características de un grupo aldehído α,β -insaturado a 1698 cm^{-1} . En su espectro de masas aparece la señal del ion molecular a m/z 234 concordante con la fórmula $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{O}_2$ así como la de fragmentos como el registrado a m/z 216 y que corresponde a $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}]^+$.

El espectro de ^1H -RMN (Fig. 58) confirma la presencia del grupo aldehído con el singulete a δ 9,54 característico de su protón. Además se observan dos singuletes propios de un metileno conjugado (con el grupo aldehído) a δ 6,29 y δ 5,99, y otros dos correspondientes a un metileno aislado y exocíclico a δ 4,94 y δ 4,54. Finalmente, en la zona de los metilos, un singulete a δ 0,74 se atribuye al metilo angular C-14. Las señales de este espectro tienen una gran similitud con el del 3 α -hidroxicostol (**31**), con la diferencia de que dicho grupo aldehído a δ 9,54 sustituye al alcohol primario en C-12.

⁸⁵ Guerreiro, E., Kavka, J., Giordano, O., Gros, E. G. (1979) *Phytochemistry* **18**, 1235-1237.

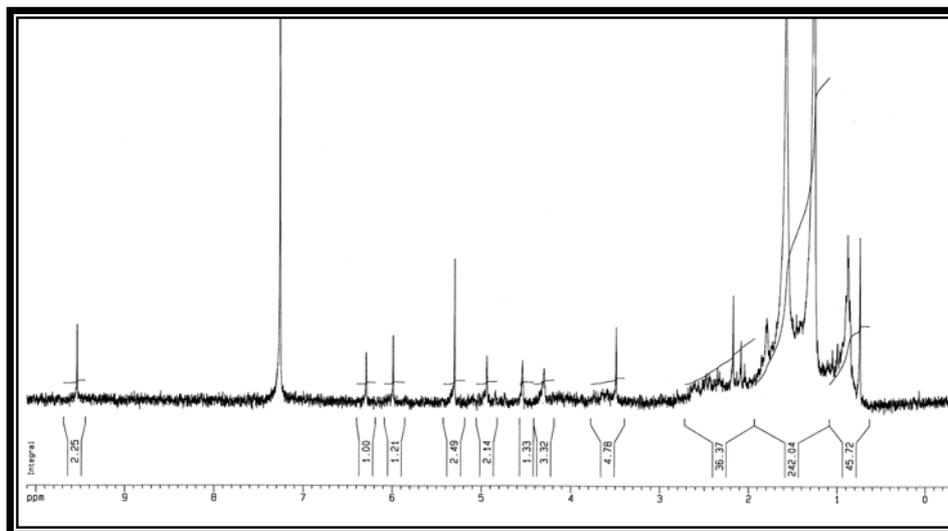
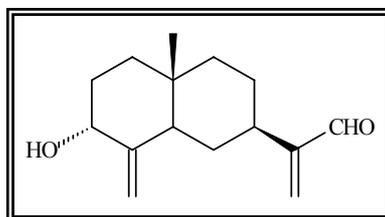


Figura 58. Espectro de ^1H -RMN de la sustancia **40**.

Con estos datos proponemos para nuestra sustancia la estructura **40** (**3 α -hidroxieusdem-4(15), 11(13)-dien-12-al**), que no hemos encontrado descrita en la bibliografía.



40

Sustancia 41

Se obtuvo también como un aceite incoloro a partir de las fracciones 232 a 248 de la cromatografía general. El estudio de sus datos espectroscópicos sugiere que esta sustancia está estrechamente relacionada con la anterior ya que el espectro de IR muestra bandas de funciones hidroxílicas y olefínicas (3444 cm^{-1} y 1645 cm^{-1} , respectivamente) mientras que su fórmula molecular ($\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{O}_3$) fue establecida por HREIMS a m/z 252,1737 $[\text{M}]^+$.

Su espectro de ^1H -RMN (Fig. 59) muestra también las señales correspondientes a dos metilenos aislados, uno para C-13 (singulete a δ 4,93 y doblete a δ 5,06, $J= 1,1$ Hz) y el otro para C-15 (doblete a δ 4,91, $J= 1,0$ Hz, y singulete a δ 5,07). Aparece el

singlete característico de un metilo angular (C-14) a δ 0,86 y un doblete intenso a δ 4,14 ($J= 6,7$ Hz) que atribuimos a los dos protones de un alcohol primario. El triplete a δ 4,37 ($J= 2,8$ Hz) lo asignamos a un protón geminal a grupo hidroxilo que ubicamos, por su multiplicidad y constante de acoplamiento en C-3.

El estudio de los datos espectroscópicos del producto de acetilación de esta sustancia confirma la presencia de un grupo hidroxilo sobre carbono terciario ya que su espectro de IR registra bandas de absorción de grupos hidroxilo. En su espectro de ^1H -RMN aparecen dos singletes para sendos grupos acetilo a δ 2,09 y δ 2,11, con lo que la molécula sin acetilar contenía tres grupos hidroxilo.

Estas señales son similares a las observadas en el espectro del **3- α -hidroxicostol 31** diferenciándose de las de éste por la presencia de un grupo hidroxilo adicional en C-5 con orientación β dado el desplazamiento característico en campo bajo observado para las señales de H-14 y H-15 ⁸⁶.

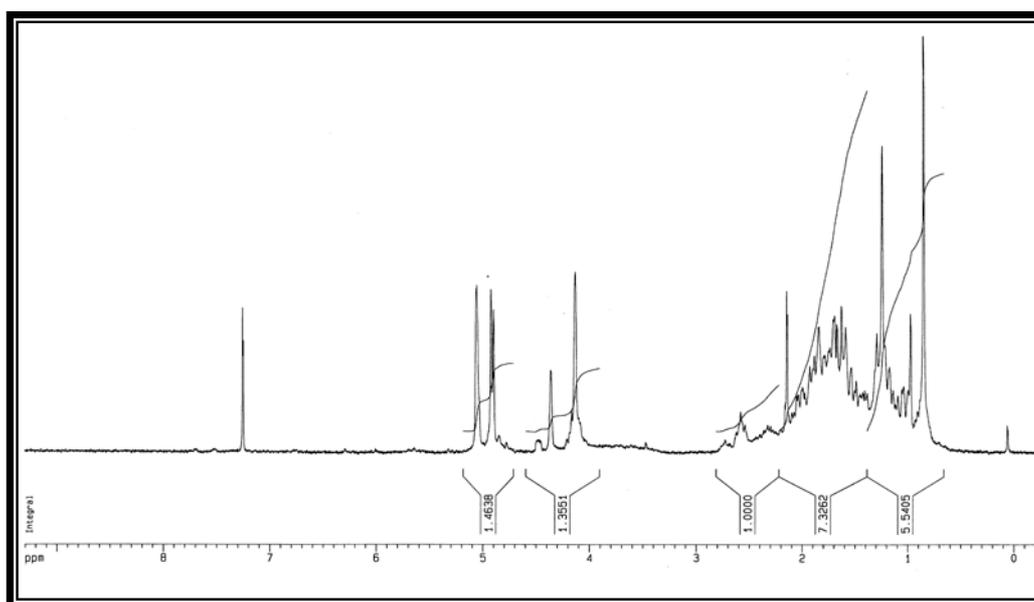


Figura 59. Espectro de ^1H -RMN de la sustancia **41**.

⁸⁶ Zdero, C., Bohlmann, F., King, R.M. (1990). Phytochemistry **29**, 3201-3206.

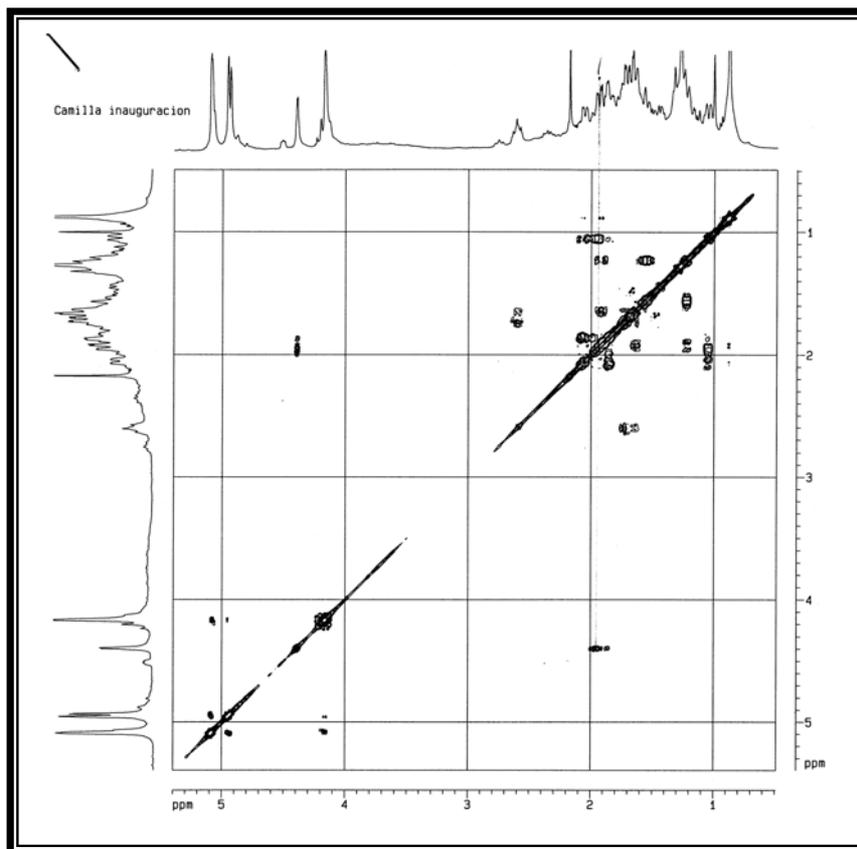


Figura 60. Espectro de COSY de la sustancia 41.

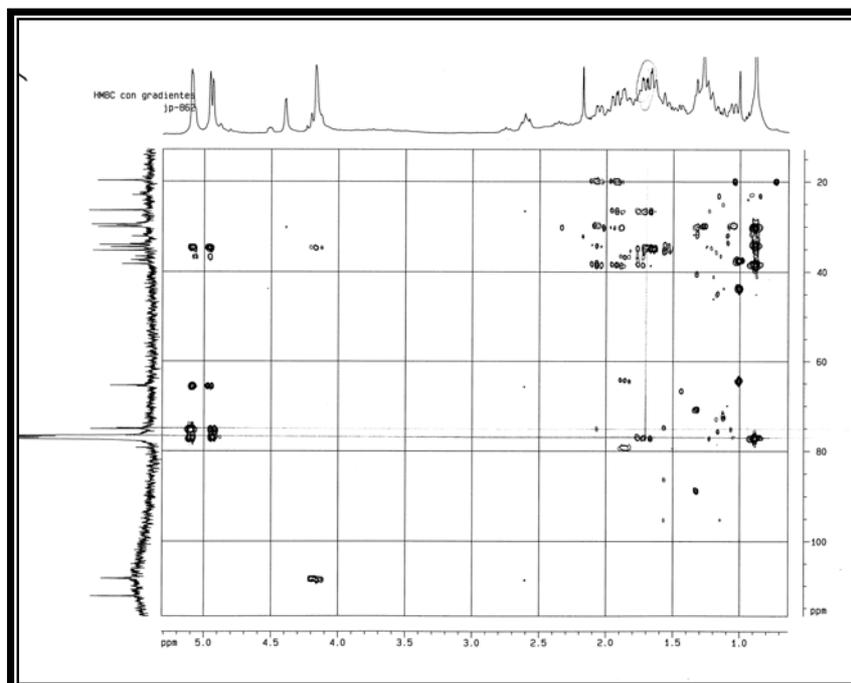
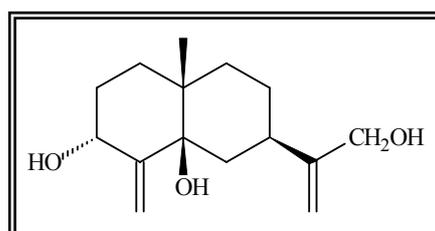


Figura 61. Espectro de HMBC de la sustancia 41.

De acuerdo con los datos anteriores proponemos para nuestra sustancia la estructura **41** (**3 α ,5 β -dihidroxi- β -costol**), la cual no hemos encontrado descrita en la bibliografía.



41

Sustancia 42

La sustancia **42** se obtuvo de las fracciones 249 a 271 de la cromatografía general en forma de aceite incoloro. Sus datos espectroscópicos guardan gran similitud con los de la sustancia anterior ya que en el espectro de IR aparecen también bandas de funciones hidroxílicas y olefinicas (3485 cm^{-1} y 1606 cm^{-1}) mientras que su espectro de masas indica que se trata de un isómero de **41** al detectarse el fragmento a m/z 234 $[M-H_2O]^+$ que concuerda también con la fórmula molecular ($C_{15}H_{24}O_3$).

En el espectro de $^1\text{H-RMN}$ (Fig. 62) se pueden observar las siguientes analogías con el de la sustancia anterior: las señales correspondientes a dos metilenos aislados, uno para C-13 (singulete a δ 4,98 y singulete a δ 5,08 Hz) y el otro para C-15 (singulete a δ 5,23 y singulete a δ 5,44); un singulete característico de un metilo angular (C-14) a δ 1,04 y un multiplete intenso a δ 4,19 que atribuimos a los dos protones de un alcohol primario.

Estos datos espectroscópicos nos sugieren que esta sustancia debe corresponder a un epímero en C-3 de **41** donde la orientación en β del grupo hidroxilo en C-3 se dedujo del desplazamiento y constante de acoplamiento de H-3 (multiplete a δ 4,50), que sufre un desplazamiento a δ 5,62 (dd, $J=5,2; 12,1$) al obtener el derivado acetilado **42a** y de H-15 (δ 5,23 y 5,44).⁸⁷

⁸⁷ Ahmed, A., Jakupovic, J. (1990). Phytochemistry **26**, 3658-3661.

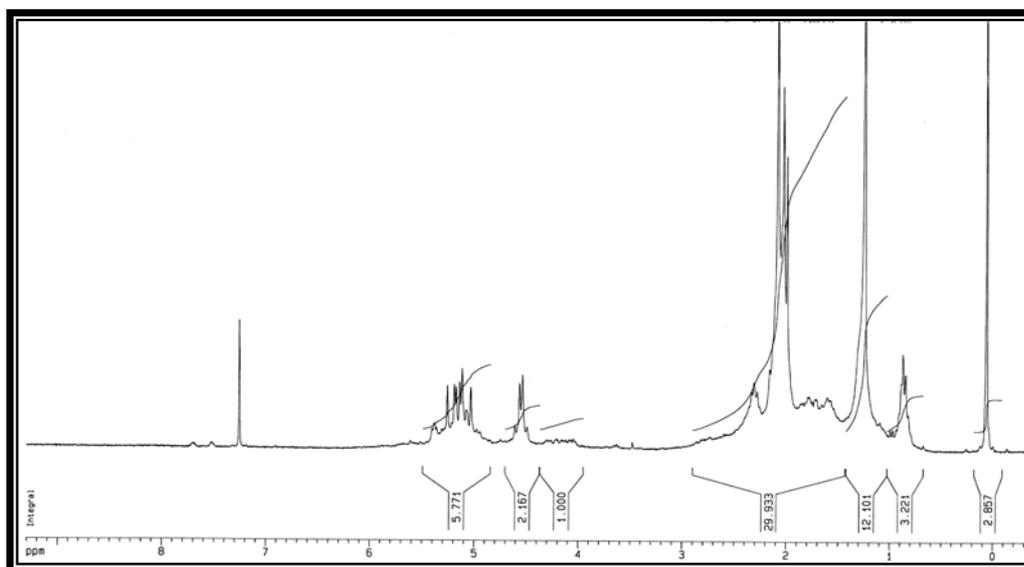
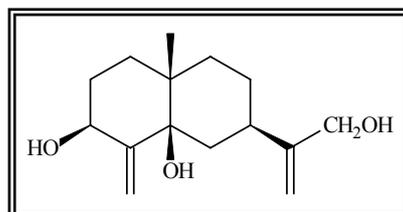


Figura 62. Espectro de ^1H -RMN de la sustancia **42**.

De acuerdo con los datos anteriores proponemos para nuestra sustancia la estructura **41** ($3\beta,5\beta$ -dihidroxi- β -costol), la cual no hemos encontrado descrita en la bibliografía.



42

Gonospermum fruticosum (Tenerife-Güimar)

Parte experimental

Gonospermum fruticosum Less(Güimar, Tenerife)

Parte experimental

Procedimiento de extracción

Las partes aéreas de algunos ejemplares de la especie *Gonospermum fruticosum* fueron recolectadas en el Mirador de S. Martín (Güimar, Tenerife) en Abril de 2003. Tras un periodo de deshidratación de dicha masa vegetal, el material vegetal seco fue triturado y sometido a extracción con etanol mediante sistema de extracción continua soxhlet hasta agotamiento. La mezcla resultante fue concentrada en rotavapor hasta total separación del disolvente quedando un resto con aspecto siruposo de 22,53 gramos de masa.

Cromatografía general

El extracto anterior se sometió a un proceso de separación por cromatografía en columna de sílica gel utilizando como eluyente n-hexano y una mezcla de n-hexano y acetato de etilo en proporción creciente de este último a medida que avanzaba el proceso para terminar con acetato de etilo solamente. Se recogieron un total de 295 fracciones que se agruparon tal y como se resume en la siguiente tabla:

FRACCIONES	ELUYENTES	SUSTANCIAS
1-5	n-hexano	
6-53	n-hexano/acetato de etilo (90:10)	1, 39
54-110	n-hexano/acetato de etilo (80:20)	40
111-149	n-hexano/acetato de etilo (70:30)	36
150-231	n-hexano/acetato de etilo (60:40)	21, 32
232-248	n-hexano/acetato de etilo (50:50)	41
249-271	n-hexano/acetato de etilo (30:70)	42
272-289	n-hexano/acetato de etilo (20:80)	
290- 295	acetato de etilo	

Fracciones 6-53

Las fracciones 6 a 53 de la cromatografía general fueron sometidas a cromatografía líquida en columna de sílica gel utilizando como disolvente una mezcla de n-hexano y acetato de etilo 90:10, lográndose la separación de 29 mg de **1**.

El resto fue recromatografiado utilizando como eluyente la misma mezcla, separándose 33 mg de **39**.

- **Datos físicos de la sustancia 1**

Sólido cristalino

Punto de fusión: 166-8°C (AcOEt/n-Hex).

IR, EM y ¹H-RMN: Totalmente coincidentes con los reportados para **estigmasterol**. (ver pag. 68).

- **Datos físicos de la sustancia 39**

(4 α -hidroxi-4 β -metildihidrocostol)

Sólido cristalino

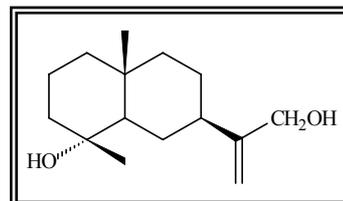
Punto de fusión: 129-130°C (AcOEt/n-Hex).

IR (KBr) ν_{\max} : 3575, 3083, 2927, 1630, 1383, 1286, 1168, 1056, 904 cm^{-1} .

EM m/z (%): 220 $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}]^+$ (21,9), 202 (11,7), 187 (19,6), 167 (24,2), 149 (100), 135 (24,8), 121 (12,1), 107 (20,7), 93 (21,3), 79 (19,1), 67 (13,5).

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃)

H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)	Integral
H-12	4,15	s	--	2
H-13'	5,04	d	1,2	1
H-13	4,93	d	0,9	1
H-14	0,90	s	--	3
H-15	1,12	s	--	3

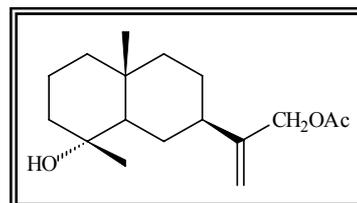


- **Acetilación de 39**

Una muestra de 20 mg de **39** se disolvió en 1 mL de piridina y se hizo reaccionar con 2 mL de anhídrido acético durante 12 horas. El producto obtenido fue extraído con acetato de etilo y sometido a cromatografía en capa preparativa utilizando como eluyente mezcla de n-hexano y acetato de etilo 90:10, obteniéndose 16 mg de **39a**.

- **Datos físicos de la sustancia 39a**

(Acetato de 4 α -hidroxi-4 β -metildihidrocostol)



Aceite incoloro

IR (KBr) ν_{\max} : 3457, 2930, 2865, 1737, 1651, 1453, 1377, 1239, 1172, 1044, 907, 755 cm^{-1} .

EM m/z (%): 280 $[\text{M}]^+$ (4), 262 $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}]^+$ (4), 220 $[\text{M}-\text{AcOH}]^+$ (20), 202 (15), 187 (19), 177 (28), 151 (48), 81 (55), 69 (86) y 55 (100).

^1H -RMN (300 MHz, CDCl_3)

H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)	Integral
H-12	4,59	s	--	2
H-13'	5,03	d	1,1	1
H-13	5,00	d	1,3	1
H-14	0,89	s	--	3
H-15	1,12	s	--	3
OAc	2,08	s	--	3

^{13}C -RMN (CDCl_3) δ :

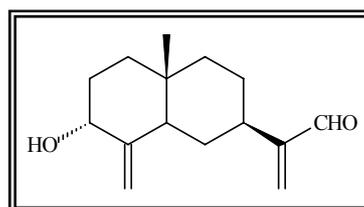
26,7 (C-1), 25,8 (C-2), 22,2 (C-3), 76,8 (C-4), 42,1 (C-5), 29,3 (C-6), 34,1 (C-7), 22,3 (C-8), 34,1 (C-9), 40,5 (C-10), 148,3 (C-11), 65,7 (C-12), 110,3 (C-13), 18,23 (C-14), 19,66 (C-15), 20,58 (CH_3CO), 170,4 (COCH_3)

Fracciones 54-110

45 mg de estas fracciones fueron sometidas a cromatografía en columna de sílica gel usando como eluyente mezcla de hexano y acetato de etilo 90:10, lográndose la separación de 21 mg de **40**.

- **Datos físicos de la sustancia 40**

(3 α -hidroxieusdem-4(15), 11(13)-dien-12-al)

**Aceite incoloro**

IR (NaCl) ν_{\max} : 3628, 2922, 2851, 1698, 1649, 1396, 1104, 1036, 971 cm^{-1} .

EM m/z (%): 234 $[\text{M}]^+$ (15,1), 216 (33,7), 201 (11,0), 177 (14,4), 175 (14,1), 161 (21,5), 147 (16,2), 145 (20,0), 135 (21,6), 133 (25,0), 119 (31,9), 107 (37,3), 105 (35,3), 99 (30,7), 95 (38,4), 93 (41,8), 91 (100), 79 (45,3), 69 (40,7), 57 (41,2), 55 (55,0).

 ^1H -RMN (300 MHz, CDCl_3)

H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)	Integral
H-3	4,30	s	--	1
H-13'	6,29	s	--	1
H-13	5,99	s	--	1
H-14	0,74	s	--	3
H-15'	4,94	s	--	1
H-15	4,54	s	--	1
CHO	9,54	s	--	1

Fracciones 111-149

Concentradas al rotavapor estas fracciones obtenemos 270 mg de un líquido siruposo que es sometido a un proceso de cromatografía en columna utilizando como eluyente una mezcla de hexano y acetato de etilo 80:20. Se logró separar de esta manera 32 mg de **36**.

- **Datos físicos de la sustancia 36**

Aceite incoloro

IR, EM y ¹H-RMN: Totalmente coincidentes con los reportados para **3 α -hidroxi- β -costol** (ver pag. 183).

Fracciones 150-231

Reunidas y concentradas a rotavapor las fracciones 150 a 231 de la cromatografía general se obtuvo 890 mg. Este producto fue sometido a un proceso de cromatografía en columna de sílica gel utilizando como eluyente mezcla de n-hexano y acetato de etilo 70:30. Las fracciones obtenidas fueron separadas en dos grupos en función del orden de elución:

Las primeras fueron recromatografiadas utilizando como el mismo eluyente obteniéndose 44 mg de **32**.

Las últimas fueron asimismo recromatografiadas con el mismo eluyente aislándose 27 mg de **21**.

- **Datos físicos de la sustancia 32**

Aceite incoloro

IR, EM y ¹H-RMN: Totalmente coincidentes con los reportados para **5- α -hidroxi- β -costol** (ver pag. 180).

- **Datos físicos de la sustancia 21**

Sólido cristalino

Punto de fusión: 122-123°C (AcOEt/n-Hex).

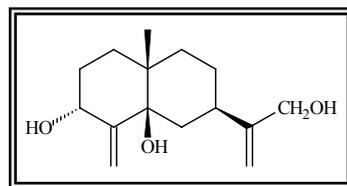
IR, EM y ¹H-RMN: Totalmente coincidentes con los reportados para **sesamina** (ver pag. 130)

Fracciones 232-248

Las fracciones 232 a 248 de la cromatografía general fueron reunidas y concentradas en rotavapor, dando 400 mg de un producto aceitoso. Este producto se sometió a una cromatografía líquida en columna de sílica gel eluyendo con una mezcla de n-hexano y acetato de etilo 50:50. Por posterior recromatografía, utilizando como eluyente mezcla de n-hexano y acetato de etilo 55:45, se obtuvo 50 mg de la sustancia **41**.

- **Datos físicos de la sustancia 41**

(3 α ,5 β -dihidroxi- β -costol)



Aceite incoloro

IR (KBr) ν_{\max} : 3444, 2949, 1645, 1392, 1157, 1056 cm⁻¹.

EM m/z (%): 252 [M]⁺ (0,9), 234 [M-H₂O]⁺ (2,4), 219 (5,8), 216 (17,8), 203 (4,6), 201(10,6), 188 (10,0), 173 (14,9), 161 (5,5), 159 (15,9), 145 (15,4), 133 (21,2), 119 (22,5), 107 (31,2), 95 (100), 93 (40,2), 81 (22,3), 79 (30,2), 67 (18,1), 57 (5,6), 55 (21,8).

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃)

H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)	Integral
H-1 α	1,02	d	13,2	1
H-1 β	2,03	dd	4,4; 13,7	1
H-2 α	1,85	m	--	1
H-2 β	1,92	dd	4,6; 18,7	1
H-3	4,37	t	2,8	1
H-6	1,70-1,80	m	--	2
H-7	2,58	tt	3,6;11,8	1
H-8 α	1,61	m	--	1
H-8 β	1,54	ddd	3,5; 12,0; 16,4	1
H-9 α	1,20	dt	3,7; 6,7	1
H-9 β	1,80	m	--	1
H-12	4,14	d	6,7	2
H-13	4,93	s	--	1
H-13'	5,06	d	1,1	1
H-14	0,86	s	--	3
H-15	4,91	d	1,0	1
H-15'	5,07	s	--	1

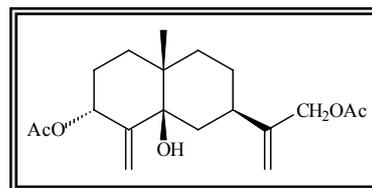
¹³C-RMN (CDCl₃) δ:

30,0 (C-1), 29,5 (C-2), 75,1 (C-3), 149,5 (C-4), 76,7 (C-5), 35,3 (C-6), 34,6 (C-7), 26,4 (C-8), 33,8 (C-9), 38,2 (C-10), 153,8 (C-11), 65,4 (C-12), 108,3 (C-13), 19,8 (C-14), 112,3 (C-15).

- **Acetilación de 41**

Se disuelven 21 mg de la sustancia **41** en 1 mL de piridina y se hacen reaccionar con 2 mL de anhídrido acético durante 12 horas. El producto obtenido se extrae con acetato de etilo y se somete a cromatografía en capa fina preparativa usando como eluyente mezcla de n-hexano y acetato de etilo 80:20, lográndose separar 12 mg de **41a**.

- **Datos físicos de la sustancia 41a**
(acetato de 3 α ,5 β -dihidroxi- β -costol)



Aceite incoloro

IR (KBr) ν_{\max} : 3485, 3086, 2931, 2862, 1737, 1651, 1373, 1238, 1026, 987 cm^{-1} .

EM m/z (%): 276 [M-60] (10,8), 258 [M-60-18] (13,2), 216 [M-60-60] (50,0), 201 (12,3), 188 (18,6), 173 (19,3), 159 (29,6), 145 (31,0), 133 (27,0), 119 (34,3), 105 (44,3), 95 (100), 93 (54,8), 91 (39,4), 79 (35,2), 55 (40,0).

$^1\text{H-RMN}$ (300 MHz, CDCl_3)

H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)	Integral
H-1 α	1,07	d	13,2	1
H-1 β	2,10	m	--	1
H-2 α	1,85	m	--	1
H-2 β	1,98	dd	4,6; 18,7	1
H-3	5,57	s	--	1
H-6	1,60	m	--	2
H-7	2,68	tt	3,6;11,8	1
H-8	1,60	m	--	2
H-9 α	1,24	dt	3,7; 6,7	1
H-9 β	1,60	m	--	1
H-12	4,61	s	--	2
H-13	5,03	s	--	1
H-13'	5,08	d	1,1	1
H-14	0,89	s	--	3
H-15	5,11	s	--	1
H-15'	5,28	s	--	1
OAc	2,09	s	--	3
OAc	2,11	s	--	3

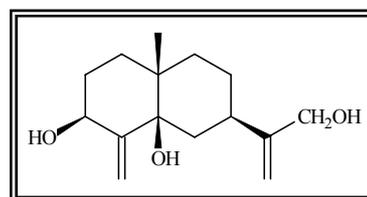
¹³C-RMN (CDCl₃) δ:

30,1 (C-1), 29,4 (C-2), 76,4 (C-3), 145,0 (C-4), 77,0 (C-5), 36,4 (C-6), 34,7 (C-7), 26,6 (C-8), 33,6 (C-9), 37,8 (C-10), 148,5 (C-11), 65,9 (C-12), 110,8 (C-13), 19,4 (C-14), 116,3 (C-15), 21,3 (CH₃CO), 170,0 (COCH₃).

Fracciones 249-271

Agrupadas las fracciones 249 a 271 y concentradas en rotavapor, los 446 mg de producto obtenidos se sometieron a cromatografía en columna de sílica gel utilizando como eluyente mezcla de n-hexano y acetato de etilo 50:50, obteniéndose 25 mg de **42**.

- **Datos físicos de la sustancia 42**
(3β,5β-dihidroxi-β-costol)

**Aceite incoloro**

IR (NaCl) ν_{\max} : 3485, 2926, 2874, 1699, 1606, 1430, 1280, 1180, 1025, 987 y 914 cm^{-1} .

EM m/z (%): 234 [M-H₂O]⁺ (18,6), 219 (9,6), 216 [M-2H₂O]⁺ (36,9), 203 (13,5), 201 (19,8), 185 (10,4), 175 (13,6), 173 (18,6), 160 (20,9), 159 (30,7), 150 (44,1), 133 (41,4), 125 (99,8), 109 (58,0), 107 (76,8), 95 (82,1), 93 (96,9), 91 (78,8), 79 (100), 67 (73,8).

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃)

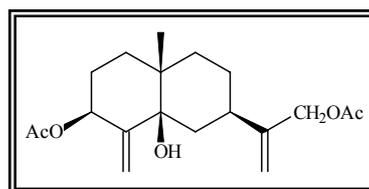
H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)	Integral
H-3	4,50	m	--	1
H-7	2,46	m	--	1
H-12	4,19	s	--	2
H-13'	4,98	s	--	1
H-13	5,08	s	--	1
H-14	1,04	s	--	3
H-15'	5,23	s	--	1
H-15	5,44	s	--	1

- **Acetilación de la sustancia 42**

25mg de la sustancia **42** fueron tratados con ácido acético y piridina durante 12 horas. El producto obtenido fue extraído de manera usual con acetato de etilo y sometido a un proceso de cromatografía en capa fina preparativa utilizando como eluyente una mezcla de hexano y acetato de etilo 80:20, separándose 10 mg de **42a**.

- **Datos físicos de la sustancia 42a**

(acetato de 3 β ,5 β -dihidroxi- β -costol)



Aceite incoloro

IR (KBr) ν_{\max} : 3472, 2938, 1741, 1650, 1447, 1377, 1242, 1032, 968, 914, 878, 756. cm^{-1} .

EM m/z (%): 336 $[\text{M}]^+$ (6,4), 293 (3,3), 276 (24,5), 258 (14,1), 216 (62,6), 201 (26,0), 188 (19,7), 173 (25,9), 159 (29,2), 145 (33,7), 131 (28,9), 122 (38,3), 107 (35,3), 105 (40,2), 95 (100), 93 (49,6), 91 (41,9), 79 (42,5), 67 (25,6), 55 (27,0).

^1H -RMN (500 MHz, CDCl_3)

H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)	Integral
H-3	5,62	dd	5,2; 12,1	1
H-7	2,40	m	--	1
H-12	4,60	s	--	2
H-13'	5,10	s	--	1
H-13	5,05	s	--	1
H-14	1,08	s	--	3
H-15'	5,15	s	--	1
H-15	5,12	s	--	1
OAc	2,14	s	--	3
OAc	2,09	s	--	3

¹³C-RMN (CDCl₃) δ:

29,5 (C-1), 29,4 (C-2), 75,7 (C-3), 147,2* (C-4), 76,3 (C-5), 37,8 (C-6), 33,0 (C-7), 27,5 (C-8), 33,2 (C-9), 38,1 (C-10), 147,1* (C-11), 66,2 (C-12), 111,6 (C-13), 20,8 (C-14) , 21,7 (CH₃CO), 170,4 (COCH₃)

(*) Las señales con asterisco son intercambiables.

Tanacetum oshanahanii (Marrero, Febles y Suárez)

Parte teórica



El *Tanacetum oshanahanii* presenta una única población situada en los riscos de Guayedra, al Oeste de la isla de Gran Canaria, entre los 550 y 600 metros sobre el nivel del mar. Es una planta con hojas glabrescentes, obovadas-oblongas, pinnasectas con pinnas oblongo-lanceoladas, serradas, con los extremos de los dientes agudos mucronulados. Los escapos florales presentan corimbos densos, y las flores son radiales. El pappus es alargado, escarioso, profundamente partido e irregularmente filiforme linear-lanceolado. Florece en Marzo o Abril y fructifica en Julio.

Tal y como se describe en la parte experimental, la extracción con etanol de partes aéreas de esta planta dio un líquido de aspecto siruposo que fue sometido a sucesivos procesos de separación mediante cromatografía en columna. El resultado fue la obtención de 14 sustancias cuyo estudio pasamos a describir en función de sus relaciones estructurales y las cuales hemos agrupado de la siguiente forma:

- 1 Esterol
- 2 Cumarinas
- 1 Flavonoides
- 10 Lactonas sesquiterpénicas:
 - 4 Tipo Germacrano
 - 6 Tipo Eudesmano

Esterol

Sustancia 1

Fue aislada como un sólido cristalino cuyas propiedades físicas y espectroscópicas coinciden con las de **estigmasterol**, descrita en *Lugoa revoluta* (ver pág. 42).

Cumarinas

Sustancia 2

Fue aislada como un sólido cristalino cuyas propiedades físicas y espectroscópicas coinciden con las de **escoparona**, descrita en *Lugoa revoluta* (ver pág. 42).

Sustancia 3

Aislada como un sólido cristalino cuyas propiedades físicas y espectroscópicas coinciden con las de **escopoletina**, descrita en *Lugoa revoluta* (pág. 43).

Flavonoide

Sustancia 7

Fue aislada como un sólido cristalino cuyas propiedades físicas y espectroscópicas coinciden con las de **5, 7, 4'-trihidroxi-3, 6-dimetoxiflavona**, descrita en *Lugoa revoluta* (ver pág. 46).

Lactonas sesquiterpénicas

Sustancia 5

Fue aislada como un aceite incoloro cuyas propiedades espectroscópicas coinciden con las de **6-angelato de tatrídina B**, descrita en *Lugoa revoluta* (pág. 54).

Sustancia 9

Fue aislada como un sólido amorfo cuyas propiedades espectroscópicas coinciden con las de **tatrídina B**, descrita en *Lugoa revoluta* (pág. 53).

Sustancia 10

Fue aislada como un sólido cristalino cuyas propiedades físicas y espectroscópicas coinciden con las de **tatrídina A**, descrita en *Lugoa revoluta* (pág. 49).

Sustancia 11

Fue aislada como un aceite incoloro cuyas propiedades espectroscópicas coinciden con las de **tamirina**, descrita en *Lugoa revoluta* (pág. 59).

Sustancia 12

Fue aislada como un aceite incoloro cuyas propiedades espectroscópicas coinciden con las de **6-angelato de desacetil β ciclopiretrosina**, descrita en *Lugoa revoluta* (ver pág. 63).

Sustancia 14

La sustancia **14** es un sólido amorfo que fue obtenido de las fracciones 132 a 151 de la cromatografía general. Sus datos espectroscópicos guardan relación con los de la sustancia anterior y por tanto se trata de otra lactona sesquiterpénica. Así, su espectro de IR presenta también bandas de absorción correspondientes de grupos hidroxilo a 3477 cm^{-1} , éster a 1758 cm^{-1} y dobles enlaces 1650 cm^{-1} . El espectro de masas da el fragmento a $m/z\ 346\ [M-H_2O]^+$ que concuerda con la fórmula molecular $C_{20}H_{28}O_6$.

Las señales que registra el espectro de $^1\text{H-RMN}$ (Fig. 63) confirman la presencia del agrupamiento α -metileno- γ -lactona ya que aparecen los dos dobletes característicos a $\delta\ 6,11$ ($J= 3,1\text{ Hz}$) y $\delta\ 5,33$ ($J= 2,5\text{ Hz}$). También, como en la sustancia **12**, están las señales típicas del grupo angeloiloxi: multiplete a $\delta\ 6,10$, doblete a $\delta\ 1,93$ ($J= 7,4\text{ Hz}$) y singulete a $\delta\ 1,82$. Otras señales son: doble doblete a $\delta\ 3,47$ ($J= 4,1\text{ Hz}$ y $4,2\text{ Hz}$) para un protón geminal a hidroxilo que asignamos a H-1; dos triplete a $\delta\ 5,80$ ($J=10,0\text{ Hz}$) y $\delta\ 2,82$ ($J= 10,0\text{ Hz}$) que corresponden a un protón geminal a éster en C-6 y vecinal en C-7; dos señales acopladas entre sí a $\delta\ 4,08$ (triple doblete, $J= 3,7\text{Hz}$, $4,0\text{ Hz}$ y $3,7\text{ Hz}$) y $\delta\ 2,55$ (doble doblete, $J= 3,7\text{ Hz}$ y $3,7\text{ Hz}$) que asignamos a un protón en C-8 y a otro en C-9 (en posición alfa). Finalmente, en la zona de los metilos, se registran dos singuletes a $\delta\ 1,06$ y $\delta\ 1,30$, el primero angular en C-10 y el segundo geminal a hidroxilo en C-4.

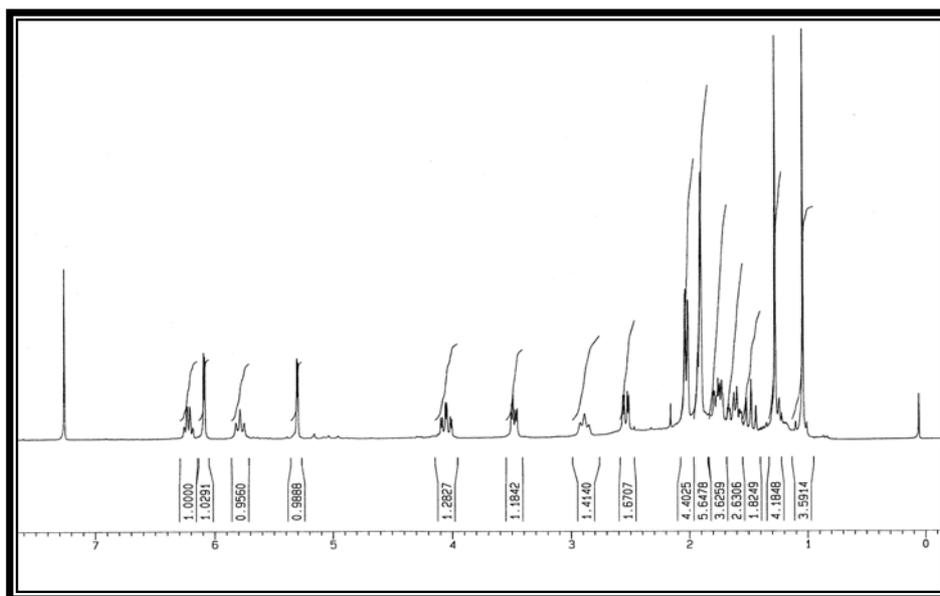
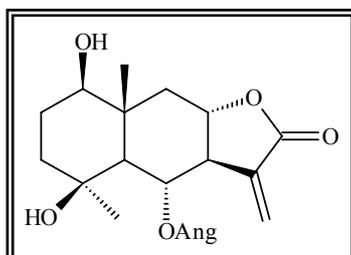


Figura 63. Espectro de $^1\text{H-RMN}$ de la sustancia **14**.

Los datos espectroscópicos obtenidos concuerdan con los encontrados en la bibliografía para la **tanapsina**⁶⁸, por lo que proponemos para nuestra sustancia la estructura **14**.



14

Sustancia 25

Fue aislada como un aceite incoloro cuyas propiedades espectroscópicas coinciden con las de **desacetil- β -ciclopiretosina**, descrita en *Gonospermum gomeræ* (ver pág. 110).

Sustancia 43

La sustancia **43** fue obtenida como un aceite incoloro a partir de las fracciones 69 a 89 de la cromatografía general. Sus datos espectroscópicos sugieren una estructura de lactona sesquiterpénica estrechamente relacionada con la sustancia **6**. Así, su espectro de IR muestra bandas de absorción características de grupos éster (1770 cm^{-1}) y dobles enlaces (1645 cm^{-1}) la espectrometría de masas da la señal del ion molecular a m/z 346 concordante con la fórmula $\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{O}_5$. El espectro de $^1\text{H-RMN}$ (Fig. 64) obtenido en cloroformo deuterado confirma la presencia del agrupamiento α -metileno- γ -lactona mediante los dobletes registrados a δ 6,36 ($J=2,9\text{ Hz}$) y 5,89 ($J=2,8\text{ Hz}$), y del grupo angeloiloxi con sus señales típicas a δ 6,16 (multiplete), 1,99 (doblete, $J=7,0\text{ Hz}$) y 1,93 (singulete). Además, el doblete a δ 5,16 ($J=9,3\text{ Hz}$), típico de un protón vinílico, está acoplado con el triplete registrado a δ 5,50 ($J=10,2\text{ Hz}$) que asignamos a un protón geminal al grupo angeloiloxi con lo que situamos dicho grupo sobre C-6. En la zona de los metilos, dos singuletes a δ 1,26 y 1,90 indican la presencia de dos metilos: el primero corresponde a C-14 geminal al grupo epóxido y el segundo al metilo vinílico en C-4. Otras señales son: un triplete a δ 4,16 ($J=6,6\text{ Hz}$ y $8,7\text{ Hz}$) del protón de cierre de la lactona (H-8) y un doblete a 2,70 para el protón geminal al grupo epóxido (H-1) y cuyo

desplazamiento químico y constante de acoplamiento ($J=13,1$ Hz) sugiere una disposición en α .

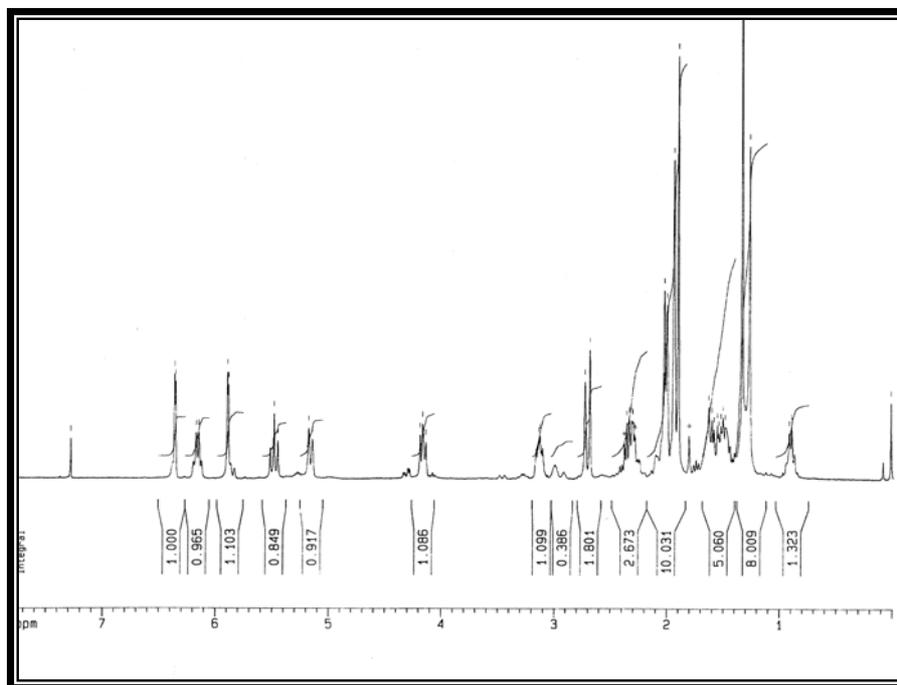
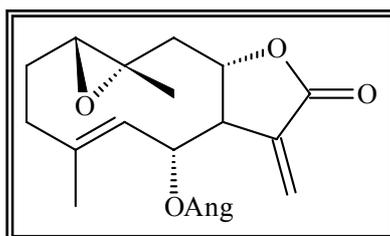


Figura 64. Espectro de ^1H -RMN de la sustancia **43**.

Con los datos espectroscópicos descritos proponemos para esta sustancia la estructura **43**, que hemos encontrado descrita en la bibliografía como **6-angelato de 1 β ,10 α -Epoxidesacitillaurenobiolido**⁸⁸.



43

Sustancia 44

Obtenida a partir de las fracciones 90 a 112 de la cromatografía general, la sustancia **44** se aisló en forma de aceite incoloro. Sus datos espectroscópicos presentan gran similitud con los obtenidos para la sustancia anterior por lo que la estructura corresponde a la de una lactona sesquiterpénica tipo germacrano, y según los datos que

⁸⁸ Yunusov, A.I., Abdullaev, N.D., Kasymov, S.Z., Sidiyaki, G.P. Yagudaev, M.R. (1976) *Khim. Prir. Soedin.* 170

presenta su espectro de IR muestra bandas de absorción típicas de grupo hidroxilo (3465cm^{-1}) y grupo éster (1741cm^{-1}). Su espectro de masas, aunque la señal del ion molecular está ausente, presenta fragmentos importantes a m/z 246 $[\text{M}-\text{HOAng}]^+$ y m/z 228 $[246-\text{H}_2\text{O}]^+$ concordantes igualmente con la fórmula $\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{O}_5$.

El espectro de ^1H -RMN (Fig. 65) presenta coincidencias con el de la sustancia anterior. Así, aparecen también las señales del agrupamiento α -metileno- γ -lactona a δ 6,30 ($J=3,4\text{Hz}$) y 5,77 ($J=3,3\text{Hz}$) y del grupo angeloiloxi a δ 6,16 (multiplete), 1,94 (doblete, $J=7,0\text{Hz}$) y 1,86 (singulete). Los protones vinílico y geminal a grupo angeloiloxi (H-5 y H-6) aparecen ahora a δ 4,92 (doblete, $J=10,6\text{Hz}$) y δ 5,50 (triplete, $J=9,9\text{Hz}$), respectivamente. En la zona de los metilos aparece ahora un pico muy intenso (que integra a seis protones) a δ 1,27 que sugiere que ambos grupos están ubicados en carbonos vinílicos y con un entrono similar por lo que concluimos que se encuentran sobre C-4 y C-10. También, la señal del protón de cierre de la lactona presenta desplazamiento químico y constante de acoplamiento similar a la de la sustancia anterior ya que se registra como un triplete a δ 4,68 ($J=6,9\text{Hz}$). La diferencia más relevante con respecto al espectro de la sustancia **43** es que H-1, ahora geminal a un grupo hidroxilo, aparece como un multiplete a campo más bajo (δ 4,46).

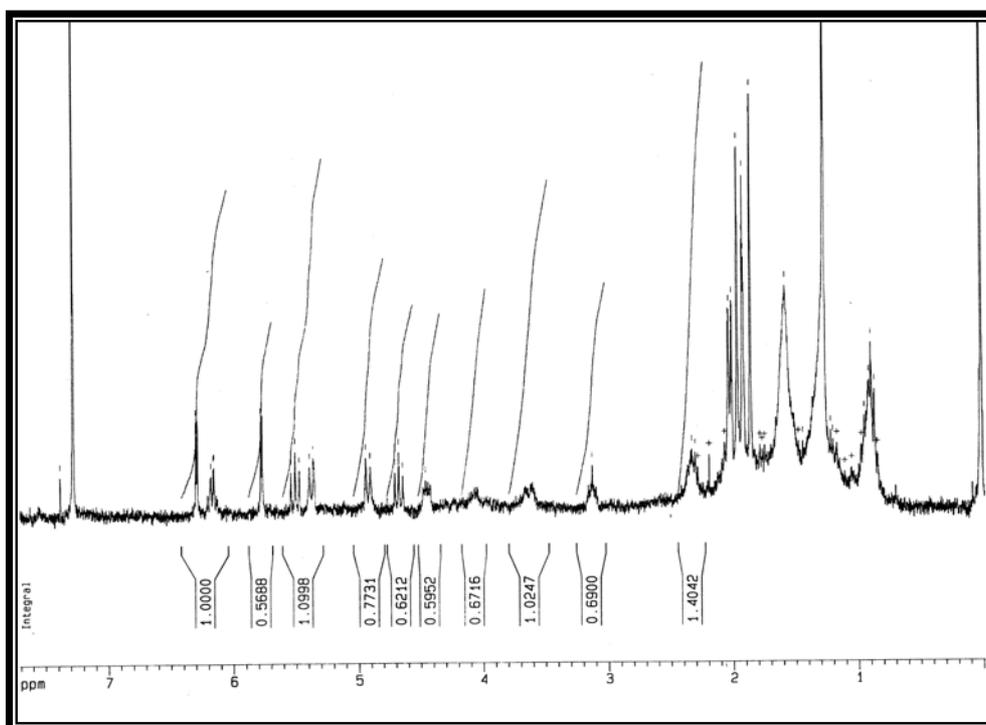
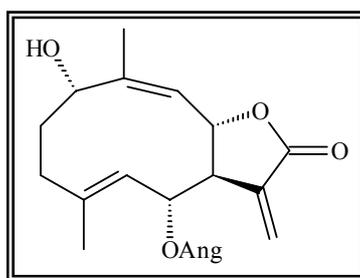


Figura 65. Espectro de ^1H -RMN de la sustancia **44**.

Comparados los datos espectroscópicos con los aportados en la bibliografía comprobamos que concuerdan perfectamente con los de **6-angelato de tatrídina A**⁷¹, por lo que proponemos la siguiente estructura para la sustancia **44**.



44

Sustancia 45

El compuesto **45** fue aislado como un aceite incoloro. Su espectro IR mostró bandas de absorción a 3458 cm^{-1} , 1770 cm^{-1} y 1715 cm^{-1} , debidas a funciones hidroxilo, α -metilén- γ -lactona y éster respectivamente. El espectro de masas no da la señal del ion molecular pero sí la del fragmento $[M-H_2O]$ a m/z 328, concordante con la fórmula moleculara $C_{20}H_{26}O_5$.

El espectro $^1\text{H-RMN}$ (Fig. 66) muestra señales asociadas al agrupamiento metilén-lactónico a δ 6.11 ($J= 3,0\text{ Hz}$) y 5.42 ($J= 2,8\text{ Hz}$); un singulete asociado a un protón vinílico a δ 5.36, y otros dos en la zona de los metilos, uno vinílico a δ 1.66 y otro sobre carbono terciario a δ 0.95. Además, un protón geminal a grupo hidroxílico a δ 3,75 (dd, $J= 10,0\text{ Hz}$ y $7,0\text{ Hz}$) y otro a un grupo éster a δ 5,58 (dd, $J= 10,0\text{ Hz}$ y $10,0\text{ Hz}$), identificándose este éster como angelato por sus señales características a δ 6.23, 2.03 ($J= 7,3\text{ Hz}$) y 1.91, así como en su espectro MS. La ubicación de dicho grupo se da en C-6 dado el desplazamiento y acoplamiento de H-6 en $^1\text{H NMR}$.

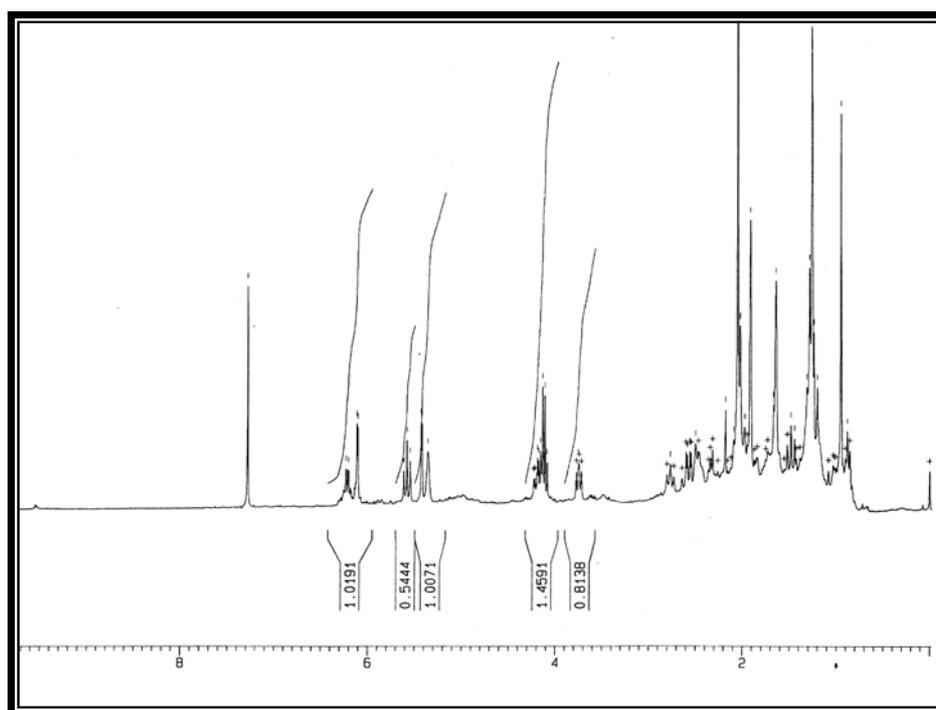


Figura 66. Espectro de ^1H -RMN de la sustancia 45.

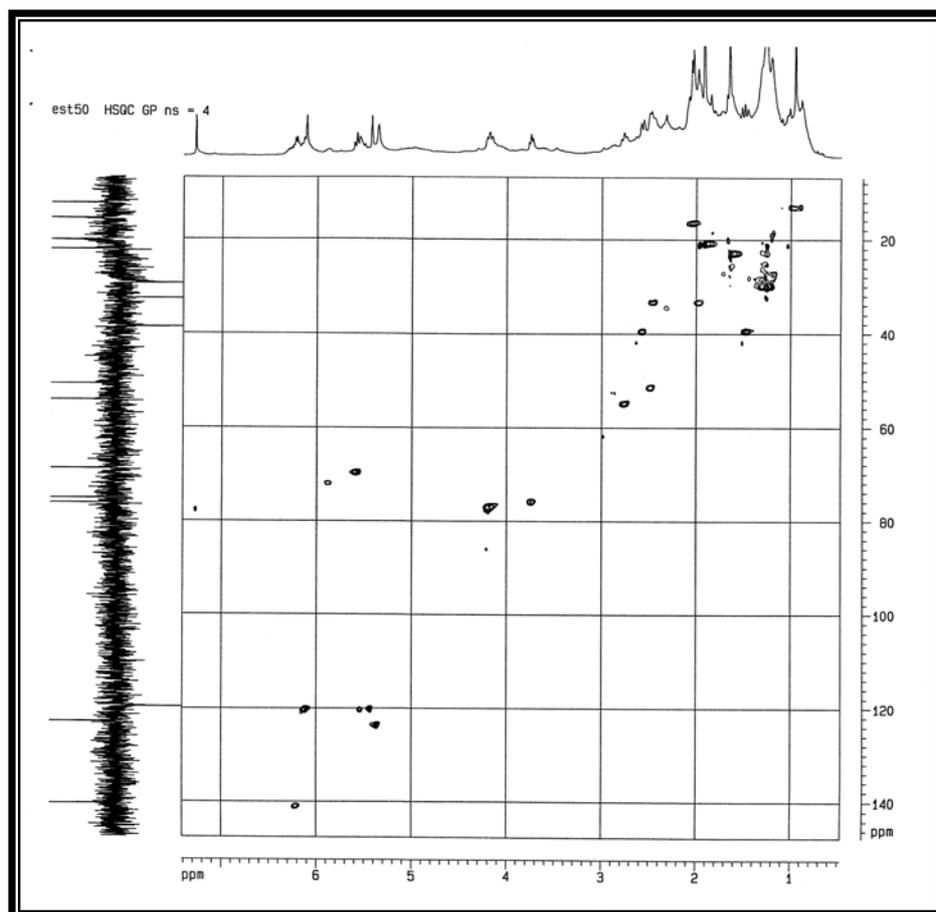
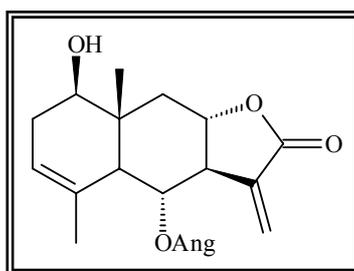


Figura 67. Espectro de HMBC de la sustancia 45.

Los datos espectroscópicos anteriores son muy similares a los que podemos encontrar en la bibliografía para el **sivasinolido**²⁷, por lo que proponemos para esta sustancia la estructura **45 (6-angelato de sivasinolido)**, que no hemos encontrado descrita en la bibliografía.



45

Tanacetum oshanahanii (Marrero, Febles y Suárez) Febles
Parte experimental

Procedimiento de extracción

Las partes aéreas de algunos ejemplares de la especie *Tanacetum oshanahanii* fueron recolectadas en el Jardín Canario Viera y Clavijo de Las Palmas de Gran Canaria en Junio de 2005. Tras un periodo de deshidratación de dicha masa vegetal, el peso de planta seca que se obtuvo fue de 196,45 gramos.

Tras su trituración, la muestra fue sometida a extracción con etanol mediante sistema de destilación continua soxhlet hasta agotamiento. La mezcla resultante fue concentrada a rotavapor hasta total separación del disolvente quedando un resto líquido con aspecto siruposo de 30,81 gramos de masa.

Cromatografía general

El extracto anterior se sometió a un proceso de separación por cromatografía en columna de sílica gel utilizando como eluyente una mezcla de n-hexano y acetato de etilo en proporción creciente de este último a medida que avanzaba el proceso. Se recogieron un total de 155 fracciones que se agruparon tal y como se resume en la siguiente tabla:

FRACCIONES	ELUYENTES	SUSTANCIAS
1-22	n-hexano/acetato de etilo (90:10)	
23-45	n-hexano/acetato de etilo (80:20)	1
46-68	n-hexano/acetato de etilo (70:30)	
69-89	n-hexano/acetato de etilo (60:40)	7, 43
90-112	n-hexano/acetato de etilo (50:50)	5, 12, 44, 45
113-131	n-hexano/acetato de etilo (40:60)	2, 3, 10, 11, 25
132-151	n-hexano/acetato de etilo (20:80)	9, 14
152-155	n-hexano/acetato de etilo (0:100)	

Fracciones 23-45

Reunidas y concentradas a rotavapor las fracciones 23 a 45 de la cromatografía general se obtuvo un producto aceitoso de 78 mg de masa que fueron sometidos a cromatografía en columna de sílica gel utilizando como eluyente mezcla de n-hexano y acetato de etilo 90:10 separándose 25 mg de la sustancia **1**.

- **Datos físicos de la sustancia 1**

Punto de fusión: 166-8°C (AcOEt/n-Hex)

IR, EM y ¹H-RMN: Totalmente coincidentes con los reportados para **estigmasterol** (ver pag. 68).

Fracciones 69-89

Las fracciones 69 a 89 de la cromatografía general fueron reunidas por la similitud de las señales que presentaban en una cromatografía en capa fina, concentradas en rotavapor y pesadas. Los 471 mg de producto fueron sometidos a un proceso de cromatografía en columna de sílica gel utilizando como eluyente una mezcla de n-hexano y acetato de etilo en proporción 80:20, separándose 31 mg de la sustancia **7**. 87 mg de la reunión de las fracciones más polares recogidas en el proceso anterior fueron recromatografiados en columna con el mismo eluyente lográndose la separación de 46 mg de la sustancia **43**.

- **Datos físicos de la sustancia 7**

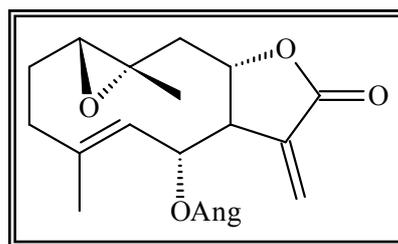
Sólido cristalino

Punto de fusión: 229-230 °C (AcOEt/n-Hex)

IR, EM y ¹H-RMN: Totalmente coincidentes con los reportados para **5, 7, 4'-trihidroxi-3,6-dimetiloxiflavona** (ver pag.73).

- **Datos físicos de la sustancia 43**

(6-angelato de 1β-10α-epoxidesacetillaurenobiolido)



Aceite incoloro

IR (KBr) ν_{\max} : 2927, 2851, 1770, 1738, 1645, 1385, 1257, 1142, 1034, 986 cm^{-1} .

EM m/z (%): 346 (1,14), 263 (1,06), 246 (5,82), 228 (3,99), 213 (4,89), 164 (31,32), 101 (55,64), 83 (100), 55 (84,42).

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃)

H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)	Integral	500 MHz, C ₆ D ₆ (80°C)
H-1	2,70	d	13,1	1	2,21 d (J=12,5 Hz)
H-2 α	1,50	m	--	1	1,70 m
H-2 β	2,33	m	--	1	1,30 m
H-3 α	1,80	m	--	1	2,20 d
H-3 β	1,60	m	--	1	
H-5	5,16	d	9,3	1	4,73 d (J= 9,7 Hz)
H-6	5,50	t	10,2	1	5,28 t (J= 10,1 Hz)
H-7	3,12	m	--	1	2,60 m
H-8	4,16	t	6,6; 8,7	1	3,67 dd (J= 3,5; 8,0 Hz)
H-9 α	1,50	m	--	1	2,50 m
H-9 β	2,70	m	--	1	i
H-13	6,36	d	2,9	1	6,29 d (J= 1,7 Hz)
H-13'	5,89	d	2,8	1	5,72 d (J= 1,3 Hz)
H-14	1,26	s	--	3	0,93
H-15	1,90	s	--	3	1,48
OAng	6,16	m	--	1	
	1,99	d	7,0	3	
	1,93	s	--	3	

Fraciones 90-112

Las fracciones 90 a 112 fueron reunidas y concentradas a rotavapor y sometidas a cromatografía en columna de sílica gel utilizando como eluyente mezcla de n-hexano y acetato de etilo 60:40. Las fracciones obtenidas de este proceso se dividieron en dos partes, en función de las analogías que presentaban sus señales en una cromatografía en capa fina, y se sometieron a sendos procesos de cromatografía en columna de sílica gel con el mismo eluyente. De la parte menos polar logró separarse 12 mg de **5**; de la más polar, 39 mg de **44**, 19 mg de **12**, 31 mg de **45**.

- **Datos físicos de la sustancia 5**

Aceite incoloro

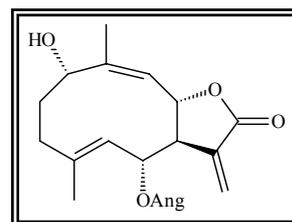
IR, EM y ¹H-RMN: Totalmente coincidentes con los reportados para **6-angelato de tatrídina B** (ver pag. 70).

- **Datos físicos de la sustancia 12**

Aceite incoloro

IR, EM y ¹H-RMN: Totalmente coincidentes con los reportados para **6-angelato de desacetil-β-ciclopiretosina** (ver pag. 83).

- **Datos físicos de la sustancia 44**
(6-angelato de tatrídina A)



Aceite incoloro

IR (KBr) ν_{\max} : 3465, 2854, 1741, 1456, 1379, 1265, 1228, 1153, 1031, 989 cm^{-1} .

EM m/z (%): 246 [M-HOAng] (4,0), 228 [246-H₂O] (3,1), 213 (3,7), 161 (10,5), 147 (5,2), 126 (8,9), 119 (10,3), 99 (26,0), 95 (16,4), 83 (100), 71 (20,7), 57 (26,4), 55 (47,3).

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃)

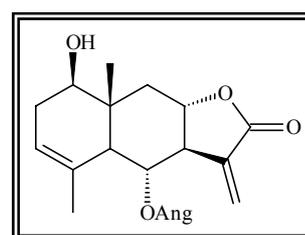
H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)	Integral
H-1	4,46	m	--	1
H-5	4,92	d	10,6	1
H-6	5,50	t	9,9	1
H-7	3,13	m	--	1
H-8	4,68	t	6,9	1
H-9	5,37	d	9,0	1
H-13'	6,30	d	3,4	1
H-13	5,77	d	3,3	1
H-14 y H-15	1,27	s	--	6
OAng	6,16	m	--	1
	1,94	d	7,0	3
	1,86	s	--	3

- **Datos físicos de la sustancia 45**
(6-angelato de sivasinolido)

Aceite incoloro

IR (KBr) ν_{\max} : 3458, 2930, 2872, 1770, 1715, 1645, 1384, 1230, 1126, 1038, 986 cm⁻¹.

EM m/z (%): 328 [M-H₂O] (1,55), 323 (1,94), 281 (1,94), 219 (1,35), 186 (2,49), 149 (3,96), 119 (4,92), 110 (13,87), 83 (13,17), 55 (21,69).



¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃)

H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)	Integral
H-1	3,75	dd	7,0; 10,0	1
H-3	5,36	s	--	1
H-5	2,48	d	9,1	1
H-6	5,58	dd	10,0; 10,0	1
H-7	2,47	m	--	1
H-8	4,10	ddd	11,0; 11,0; 4,5	1
H-9	1,52	dd	11,0; 4,5	1
H-9'	2,57	dd	11,7; 3,7	1
H-13	6,11	d	3,0	1
H-13'	5,42	d	2,8	1
H-14	0,95	s	--	3
H-15	1,66	s	--	3
OAng	6,23	m	--	1
	2,03	d	7,3	3
	1,91	s	--	3

Fracciones 113-131

Las fracciones 113 a 131 de la cromatografía general fueron reunidas y concentradas a rotavapor. El producto obtenido, 1,200 gramos, fue sometido a un proceso de cromatografía en columna de sílica gel utilizando como eluyente mezcla de n-hexano y acetato de etilo 50:50. De este proceso no se logró la separación de ninguna sustancia, y las fracciones obtenidas fueron agrupadas en dos partes atendiendo a su polaridad:

- a) La primera, una vez concentrada a rotavapor, dio un peso de 360 mg y fue recromatografiada con el mismo eluyente separándose 44 mg de **11**, 37 mg de **10** y 28 mg de **25**.

b) La segunda, de 99 mg de peso, fue asimismo recromatografiada utilizando mezcla de n-hexano y acetato de etilo en proporción 40:60, lográndose separar 15 mg de **3** y 42 mg de **2**.

- **Datos físicos de la sustancia 11**

Aceite incoloro

IR, EM y ¹H-RMN: Totalmente coincidentes con los reportados para **tamirina** (ver pag. 81).

- **Datos físicos de la sustancia 10**

Sólido cristalino

Punto de fusión: : 153-155°C (AcOEt/n-Hex).

IR, EM y ¹H-RMN: Totalmente coincidentes con los reportados para **tatridina A** (ver pag. 75).

- **Datos físicos de la sustancia 25**

Aceite incoloro

IR, EM y ¹H-RMN: Totalmente coincidentes con los reportados para **desacetil β-ciclopiretosina** (ver pag. 135).

- **Datos físicos de la sustancia 3**

Sólido cristalino

Punto de fusión: 200-201 °C (AcOEt/n-Hex).

IR, EM y ¹H-RMN: Totalmente coincidentes con los reportados para **escopoletina** (ver pag. 69).

- **Datos físicos de la sustancia 2**

Sólido cristalino

Punto de fusión: 135-138 °C (AcOEt/n-Hex).

IR, EM y ¹H-RMN: Totalmente coincidentes con los reportados para **escoparona** (ver pag. 68).

Fracciones 132-151

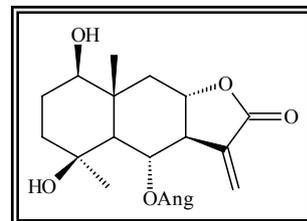
La reunión de estas fracciones condujo a 256 mg de una mezcla de productos según revelaba un análisis cromatográfico en capa fina, y fueron sometidos a una cromatografía en columna de sílica gel utilizándose como eluyente mezcla de n-hexano y acetato de etilo en proporción 50:50. De las fracciones obtenidas logró separarse 28 mg de **14** y 41 mg de **9**.

- **Datos físicos de la sustancia 14**
(**Tanapsina**)

Sólido amorfo

IR (KBr) ν_{\max} : 3477, 2937, 2875, 1758, 1714, 1650, 1454, 1392, 1257, 1141, 1085, 987, 945, 850, 815, 657 cm^{-1} .

EM m/z (%): 346 $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}]^+$ (4,2); 264 (1,5); 248 (1,5); 229 (7,5); 202 (5,1); 188 (6,0); 165 (11,7); 164 (90,8); 146 (14,9); 131 (5,7); 119 (20,4); 101 (100); 91 (15,2); 83 (87,2); 79 (11,0); 69 (8,5); 55 (54,0).



¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃)

H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)	Integral
H-1	3,47	dd	4,1; 4,2	1
H-5	1,93	m	--	1
H-6	5,80	t	10,0	1
H-7	2,82	t	10,0	1
H-8	4,08	ddd	3,7; 4,0; 3,7	1
H-9 α	2,55	dd	3,7; 3,7	1
H-9 β	1,50	m	--	1
H-13'	6,11	d	3,1	1
H-13	5,33	d	2,5	1
H-14	1,06	s	--	3
H-15	1,30	s	--	3
OAng	6,10	m	--	1
	1,93	d	7,4	3
	1,82	s	--	3

- **Datos físicos de la sustancia 9**

Sólido amorfo

IR, EM y ¹H-RMN: Totalmente coincidentes con los reportados para **tatridina B** (ver pag. 79).

Actividad biológica de lactonas sesquiterpénicas

Actividad biológica de lactonas sesquiterpénicas

Actividad citotóxica

Como ya hemos indicado, las lactonas sesquiterpénicas muestran una gran variedad de actividades biológicas incluyendo citotoxicidad a células tumorales, estando descrito como responsable de tal actividad la interferencia en las funciones de las proteínas por la formación de enlaces entre las lactonas y los grupos sulfhidrilos de dichas macromoléculas⁸⁹. No obstante, el mecanismo preciso por el cual actúan las lactonas sesquiterpénicas en la inhibición de crecimiento no está claro, aunque parece ser que los compuestos con grupo carbonilo α,β -insaturados, como ocurre en las α -metilenlactonas, ejercen su efecto actuando como agentes alquilantes a través de una adición tipo Michael⁹⁰. También se ha comprobado que la introducción de residuos más lipofílicos, por ejemplo la formación de ésteres en grupos hidroxílicos, puede ampliar la actividad citotóxica mientras que la presencia de grupos voluminosos cerca del centro de reacción puede reducir la actividad, siendo por tanto importante un balance entre la lipofilidad y el impedimento estérico en las moléculas. También en este tipo de compuesto la flexibilidad conformacional juega un papel destacado puesto que la rigidez molecular puede causar un efecto estérico importante.

En el Grupo de Investigación Química Orgánica I, y en colaboración con el grupo del Dr. Francisco Estévez Rosas del Departamento de Bioquímica de la ULPGC se viene desarrollando el estudio de la actividad citotóxica de varios de los productos aislados de fuente vegetal, en particular el efecto citotóxico inducido en células leucémicas humanas HL-60 y U937.

Estudios previos han demostrado que la apoptosis de células leucémicas humanas puede ser inducida con agentes anticáncer⁹¹. El mecanismo por el cual los compuestos presentan propiedades citostáticas es a través de la inducción de muerte celular programada (apoptosis), la cual puede determinarse por microscopía de fluorescencia y por fragmentación del ADN. Se admite que la muerte celular por apoptosis se caracteriza por la pérdida de la capacidad proliferativa, por el daño en el ADN y por profundas alteraciones de la morfología celular.

⁸⁹ Schmidt, T.J. (1997) *Bioorg. Med. Chem.* **5**, 645-653.

⁹⁰ Lyss, G., Knorre, A., Schmidt, T.J., Pahl, H.L., Merfort, I., (1998) *J. Biol. Chem.* **273**, 33508-33516.

⁹¹ Makin, G., Dive, D. (2003) *Trends Mol. Med.* **9**, 251-255.

En este capítulo presentamos los resultados obtenidos en la evaluación del efecto citotóxico de varias de las lactonas sesquiterpénicas aisladas, al objeto de investigar cómo afecta la variación estructural en orden a determinar la relación estructura-actividad así como el posible mecanismo de acción de estos compuestos en la inhibición del crecimiento y viabilidad celular. Todas las lactonas sesquiterpénicas ensayadas inhiben el crecimiento y viabilidad celular de cultivos celulares de HL-60 y U937 determinado en el ensayo MTT (supervivencia celular basada en la capacidad para metabolizar el bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)2,5-difeniltetrazolio) a cristales de formazano). (Tabla VI)

Lactona sesquiterpénica	IC ₅₀ (μM)	
	HL-60	U937
Tatridina A (10)	9.8±2.4	15.6±2.3
Diacetato de Tatridina A (10a)	0.7±0.1	4.3±0.9
Tamirina (11)	5.1±0.8	12.1±2.1
Reynosina (35)	14.9±4.5	33.4±0.9

Tabla VI. Efecto de lactonas sesquiterpénicas en el crecimiento de cultivo de células HL-60 y U937.

Este ensayo, que consiste en la reducción del colorante MTT, mide la función respiratoria mitocondrial y puede detectar el comienzo de la muerte celular antes que los métodos de exclusión .

El diacetato de tatridina A (**10a**) fue el más potente, mientras que tatridina A (**10**) y reynosina (**35**) fueron los menos, estando el orden de la inhibición de proliferación en células HL-60 de la siguiente forma: diacetato de tatridina A > tamirina (**11**) > tatridina A > reynosina, mientras que en células U937 el orden fue: diacetato de tatridina A > tamirina ~ tatridina A > reynosina. El mismo orden se consiguió midiendo los contenidos de ADN utilizando el ensayo de fluorescencia Hoechst 33258 en el cual los valores IC₅₀ fueron ligeramente superiores.

Para comprender el mecanismo de inhibición del crecimiento de las células HL-60 tratadas con las lactonas sesquiterpénicas se analizan y cuantifican por microscopía de fluorescencia para evaluar los cambios nucleares. Los resultados mostraron que estos compuestos inducen cambios morfológicos característicos de células apoptóticas (Fig 1A y B). Mientras que las células sin tratar mostraban una morfología típica, las células expuestas a concentraciones de 5 μM de lactonas sesquiterpénicas durante 12 horas, mostraban condensación de cromatina y aparición de cuerpos apoptóticos (Fig. 1B bajo). El diacetato de tatrídina A fue la lactona de las ensayadas con mayor poder inductor de apoptosis. Resultados similares a los anteriores se obtuvieron cuando se mide el número de células hipodiploides (células apoptóticas) mediante la “citometría de flujo” en ambas líneas celulares (células HL-60 y U937) durante 12 h de tratamiento con 5 o 30 μM de lactona sesquiterpénica (Fig 1C y D).

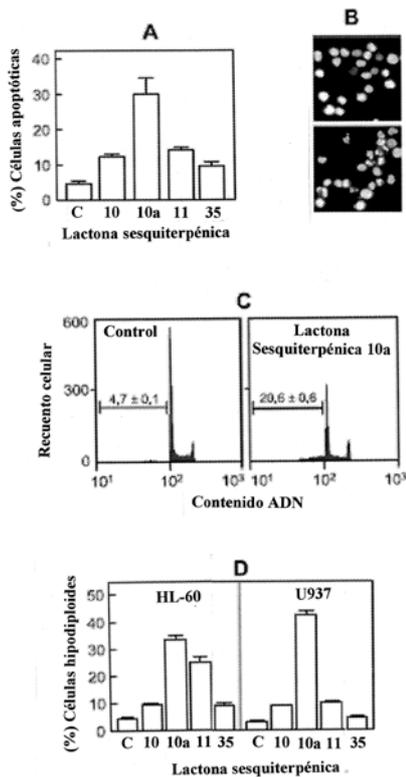


Fig.1. Inducción apoptótica de lactonas sesquiterpénicas sobre células HL-60 y U937.

(A) Análisis sobre células HL-60 en ausencia (C, control) o en presencia de los compuestos indicados durante 12 horas (5 μM). Las células se tiñeron con trihidrocloruro de bisbencimida para cuantificar la inducción de apoptosis por microscopía de fluorescencia.

(B) Fotomicrografías de campos representativos de células tratadas y teñidas (panel superior, células control y panel inferior células tratadas durante 12 horas con 5 μM de **10a**).

(C) Células HL-60 tratadas con 5 μM de **10 a** cultivadas durante 12 horas y sometidas a citometría de flujo de ADN.

(D) Células HL-60 y U937 tratadas con 30 μM de los compuestos indicados, cultivadas durante 12 horas y sometidas a citometría de flujo de ADN.

Además cuando las células se incubaron con 5 μM de lactona sesquiterpénica, el ADN mostró el patrón típico de fragmentación generado por la hidrólisis internucleosomal de la cromatina, confirmando así el efecto inductor de apoptosis (Fig. 2).



Fig 2. Fragmentación del ADN. Células HL-60 fueron incubadas en ausencia (C, control) o presencia de 5 μM de las lactonas sesquiterpénicas indicadas durante 12 horas. El ADN se aisló de las células y se sometió a electroforesis en un gel de agarosa al 2% y por tinción con bromuro de etidio, las bandas se visualizaron bajo luz UV

Uno de los sustratos de la caspasa-3 es la poli (ADP-ribosa) polimerasa-1 (PARP-1). Esta enzima está implicada en la reparación del ADN y en el mecanismo de mantenimiento de la integridad del genoma y es también la enzima que se procesa durante la apoptosis⁹². La ruptura de la poli(ADP-ribosa) polimerasa-1 inactiva a la enzima, provocando, por tanto, que sea imposible la reparación del ADN.

Para determinar si los germacranolidos inducen apoptosis por activación de la caspasa-3, se ensayó la ruptura de procaspasa-3 mediante análisis por transferencia “Western blot” del germacranolido más potente, el diacetato de tatrídina A. Los resultados confirman que la activación de la caspasa-3 se detectó a las 6 horas del tratamiento de las células con dicha sustancia (10 μM), al observarse que la proteína de 116 KDa poli (ADP-ribosa) plimerasa-1 se rompe produciendo la banda característica del fragmento 85 KDa (Fig.3).

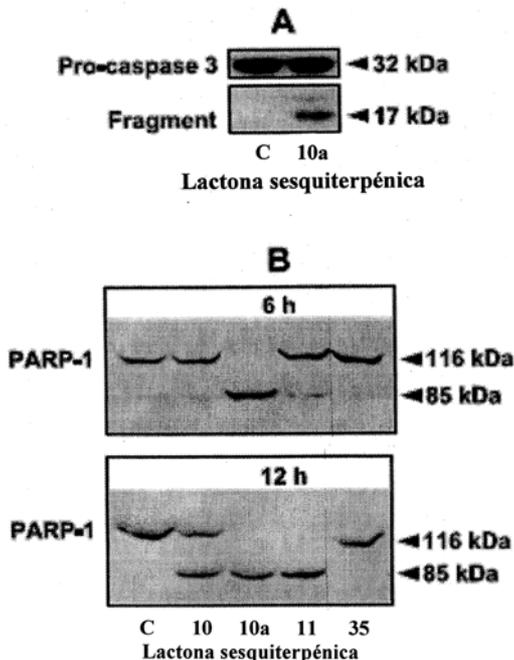


Fig. 3. Analisis de transferencia western del procesamiento de la poli(ADP-ribosa) polimerasa (PARP).

(A) C, control y 10a, células tratadas con 10 μM de 10a. Se indica el peso molecular de cada proteína.

(B) C, control y células tratadas con 10 μM de las lactonas sesquiterpénicas indicadas durante 6 y 12 horas.

⁹² Virág, L., Szabó, C., (2002) *Pharmacol. Ver.* 54, 375-429

Actividad biológica de lactonas sesquiterpénicas

De los resultados obtenidos podemos confirmar que las lactonas sesquiterpénicas generan un fuerte efecto antiproliferativo e inducen apoptosis en células HL-60 y U937. En ambas líneas celulares, de las diferentes lactonas ensayadas, podemos observar que la de mayor citotoxicidad correspondió al diacetato de tatridina A debido probablemente a su mayor lipofilidad si se compara con la obtenida para la tatridina A que, al ser una molécula menos lipofílica, no debe pasar tan fácilmente la membrana celular. La reynosina, al ser una molécula con estructura más rígida, tiene mayor impedimento para su aproximación a una molécula diana, lo cual explicaría su baja actividad.

Parte experimental

Cultivo celular

Las líneas celulares leucémicas promielocítica humana HL-60 y U937 se cultivaron en RPMI 1640 suplementado con 10% (v/v) de suero bovino fetal inactivado por calor, penicilina (100 unidades ml⁻¹) y estreptomycin (10 µg/ml) en una atmósfera húmeda con un 5% de CO₂ y 37°C. Los compuestos se disolvieron en dimetilsulfóxido (DMSO) y las disoluciones stock se almacenaron a -20°C. Posteriores diluciones de las muestras de lactonas sesquiterpénicas se realizaron en medio de cultivo justo antes de su uso. En todos los experimentos, la concentración final de DMSO no excedió el 1% (v/v), concentración que no es tóxica para las células.

Ensayos de citotoxicidad

Los ensayos de citotoxicidad se realizaron usando el ensayo de MTT⁹³. Las células (1x10⁴/pocito) se expusieron a diferentes concentraciones de los compuestos en placas de 96 pocitos durante 72 h. a 37°C. Los compuestos se añadieron disueltos en DMSO y los controles contenían la misma cantidad de DMSO. La supervivencia celular se detectó basándose en la capacidad para metabolizar el bromuro de 3-[4,5-dimetiltiazol-2-il-]2,5-difeniltetrazolio (MTT) a cristales de formazano. La densidad óptica a 570 se utilizó como una medida de la viabilidad celular. El ensayo de reducción del colorante MTT mide la función respiratoria mitocondrial y puede detectar el comienzo de la muerte celular antes que los métodos de exclusión. La supervivencia celular se calculó como la fracción de las células vivas respecto al control de cada punto como supervivencia celular (%)= absorbancia media en pocitos tratados/absorbancia media en pocitos control x 100. Las concentraciones que inducen un 50% de inhibición del crecimiento celular (CI₅₀) se determinaron gráficamente para cada experimento

⁹³ Mosmann, T.(1983) *J. Immunol. Methods* **65**, 55-63.

usando el programa informático Prism 2.0 (GraphPad) y la ecuación derivada por De Lean y colaboradores⁹⁴.

Microscopía de fluorescencia cuantitativa

Las células se fijaron en 3% paraformaldehído durante 10 minutos a temperatura ambiente y después se tiñeron con 10 µg/mL de trihidrocloruro de bisbencimida (Hoechst 33258) durante 30 minutos a 37°C antes del análisis por microscopía de fluorescencia. Las células apoptóticas se identificaron por su cromatina fragmentada.⁹⁵ Los núcleos teñidos con la cromatina condensada o los núcleos fragmentados en cuerpos múltiples y densos se consideraron como apoptóticos. Los núcleos con la cromatina no condensada y dispersa se consideraron como no apoptóticos. Se contaron un mínimo de 500 células de cada muestra, y cada experimento se realizó por triplicado.

Determinación de la fragmentación del ADN

El ADN de bajo peso molecular se extrajo siguiendo el método descrito por Colotta y col.⁹⁶ Las células (~2x10⁶) se lavaron con un tampón fosfato salino y se incubaron en 100 µL de tampón hopotónico con detergente (10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA, 0,2 % Triton X-100, pH 7,5) durante 30 minutos a 4°C. El sobrenadante obtenido después de centrifugación fue secuencialmente incubado con 40 µg RNasa libre de DNasa y 40 µg proteinasa K a 37°C durante 10 minutos. Las muestras se mezclaron con 10 µL de fenol y las fases acuosas, que contienen los fragmentos de ADN, se incubaron con 250 µL de etanol en presencia de 5 µg de t-ARN durante 24 h. a -20°C. Después de la centrifugación, el precipitado de ADN se resuspendió en 20 µL de 10 mM Tris-HCl (pH 7,5) y alícuotas (10µL) se sometieron a electroforesis a 40 V durante 4h. a través de un gel al 2% de agarosa en tampón TAE (40 mM Tris-acetato y 1,0 mM EDTA, pH 8,3). Las bandas de ADN se visualizaron bajo la luz UV después de la tinción con bromuro de etidio (0,5 µL/mL) y las imágenes se capturaron con una cámara digital (Kodak).

⁹⁴ De Lean, A., Munson, P.J., Todbard, D. (1978) *Am. J. Physiol.* **235**, E97-E102.

⁹⁵ Schwartz, G.K., Farsi, K., Maslak, P., Kelsen, D.P., Spriggs, D. (1997). *Clin. Cancer Res.* **3**, 1467-1472.

⁹⁶ Colotta, F., Polentarutti, N., Sironi, M., Mantovani, A. (1992). *J. Biol. Chem.* **267**, 18278-18283.

Análisis de transferencia Western de poli (ADP-ribosa) polimerasa (PARP)

Las células HL-60 ($\sim 1 \times 10^6$) se trataron con las lactonas sesquiterpénicas a la concentración indicada durante diferentes periodos de tiempo a 37°C. Se prepararon los lisados celulares en una disolución tampón que contenía 20 mM Hepes (pH 7,4), 250 mM NaCl, 1 mM EDTA, 1 mM EGTA, 0,1% Nonidet P-40, 1 mM fluoruro de fenilmetilsulfonilo, 1 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ leupeptina, aprotinina y pepstatina A. Los materiales insolubles se eliminaron por centrifugación a 10.000 x g durante 10 min. Las proteínas extraídas (50 $\mu\text{g}/\text{pocillo}$) se separaron por electroforesis en geles de poliacrilamida-dodecil sulfato sódico al 7,5%, y se transfirieron electroforéticamente a membranas de PVDF Immobilon-P de Millipore. La carga y la transferencia de cantidades iguales de proteínas se confirmaron por tinción de la membrana con Ponceau S. Las membranas se bloquearon con 5% de leche desnatada en tampón Tris salino conteniendo 0,1% Tween-20 (TBST) durante 1 h., seguido por incubación con el anticuerpo monoclonal anti-PARP (BD PharMingen; dilución 1:1.000 en TBST suplementado con 3% leche desnatada) durante toda la noche. Después del lavado e incubación con el anticuerpo secundario anti-ratón conjugado a peroxidasa de rábano (HRP) (Amersham Pharmacia Biotech), los complejos antígeno-anticuerpo se visualizaron por quimioluminiscencia (ECL, Amersham Pharmacia Biotech) usando el protocolo del fabricante. La aparición de una banda de 85-kd se usó como medida de la apoptosis.

Actividad biológica de lactonas sesquiterpénicas

Actividad antialimentaria

Los factores nutritivos desempeñan un papel fundamental en las relaciones planta-insecto, cuestión que ha ocupado la atención humana desde antiguo. Los insectos se han revelado como nuestros principales competidores en la búsqueda de alimentos, mostrando una superior capacidad de adaptación al medio ambiente donde se supone que la selección de una determinada planta como sustrato alimenticio depende de diversos factores y estímulos olfatorios, visuales, mecánicos y gustatorios. Entre estos factores es de destacar, por su importancia y por ser donde se ha realizado más investigación en el campo de interacción planta-insecto, la identificación de agentes estimuladores o inhibidores de la alimentación.

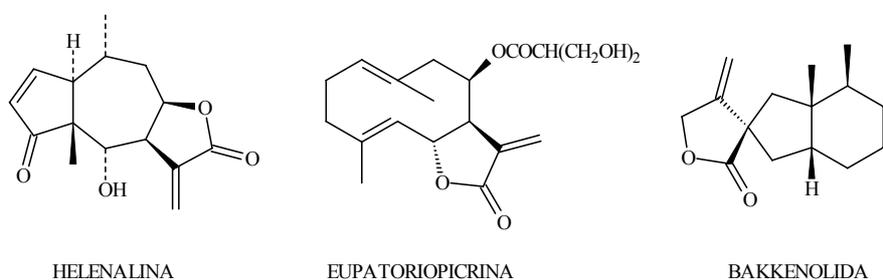
Alguno de los objetivos de las investigaciones relacionadas con este campo corresponde al descubrimiento de compuestos con actividad antialimentaria útiles para el control de plagas y el de incrementar el empleo alternativo de dietas artificiales o plantas cebo para capturar el insecto.

La inhibición de la alimentación se ha definido con los términos antialimentario, deterrente y repelente gustatorio, correspondiendo, en sentido estricto, a la sustancia que, tras provocar en el insecto una respuesta de interrupción del proceso de alimentación, conduce a su muerte por inanición.

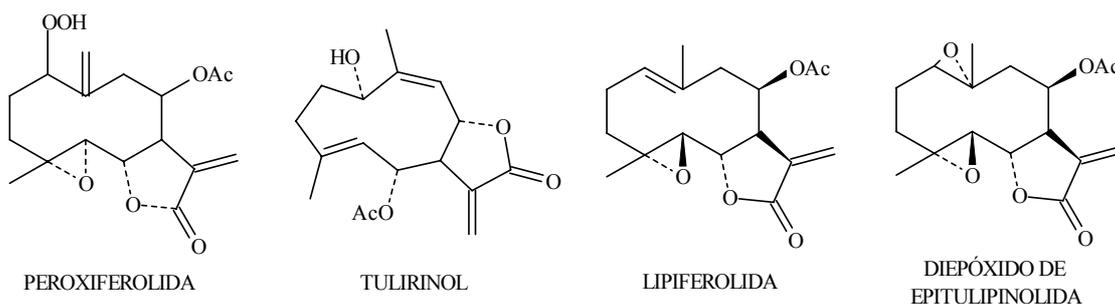
Los compuestos químicos que pueden actuar como inhibidores de la alimentación constituyen un grupo de sustancias que ha despertado un enorme interés en los últimos años como posible alternativa de los insecticidas de acción directa como los organofosfatos, carbamatos u organoclorados. Frente a los antialimentarios sintéticos empleados desde hace ya tiempo en agricultura y que presentan inconvenientes similares a los insecticidas clásicos, los productos naturales aparecen como una alternativa más prometedora a la hora de solventar los problemas de persistencia y toxicidad inespecífica. La naturaleza química de estos productos abarca prácticamente todos los tipos estructurales y funcionales pudiendo ser terpenos,

aromáticos (fenoles, quinonas), heterocíclicos (cumarinas, flavonoides, lignanos), alcaloides, esteroides y otros.

Los compuestos de naturaleza terpénica constituyen uno de los grupos en el que se ha estudiado un mayor número de sustancias y dentro de ellos destacan las lactonas sesquiterpénicas aisladas de plantas de la familia Compositae como Vernonia, Inula, Melampodium, etc. Así, por ejemplo, las lactonas helenalina, eupatoriopirina y bakkenolida han sido descritas como tres de los mejores deterrentes alimentarios frente a los coleópteros *Sitophilus granarius*, *Tribolium confusum* y *Trogoderma granarium*, plagas frecuentes de los productos amiláceos almacenados.⁹⁷



De las hojas del árbol tulipero, *Lirodendron tulipifera* L. (Magnoliaceae), se han obtenido varias lactonas activas frente al lepidóptero *Lymantria dyspar* L. (peroxiferolida, tulirinol, lipiferolida y el diepóxido epi-tulipinolida)⁹⁸.



Puesto que el tulirinol corresponde al derivado monoacetilado de la tatrídina A⁹⁹, sustancia que ha sido obtenida con buen rendimiento y con variaciones funcionales en

⁹⁷ Coll, J. (1988) Inhibidores de la alimentación de los insectos en "Insecticidas Biorracionales". (X. Bellés, Ed) pp 355-377. C.S.I.C. Colección Nuevas Tendencias. Madrid

⁹⁸ Doskotch, R.W., Fairchild, E.H., Huang, C.T., Wilton, J.H. (1980) *Journal of Organic Chemistry* **45**, 1441-1446.

las plantas estudiadas en esta memoria, se procedió a realizar un estudio de evaluación de la actividad antialimentaria contra la larva *Spodoptera littoralis* (Boisd.) (Lepidóptera) mediante la aplicación del método de disco vegetal¹⁰⁰.

La metodología básica para estudiar y evaluar la actividad de los compuestos antialimentarios puede describirse como la medida comparativa de respuestas dadas por el insecto frente al sustrato tratado. El método ha de tener en cuenta toda una serie de parámetros cuya influencia es crítica (luz, temperatura, humedad relativa, edad y estado fisiológico del insecto, duración del ensayo y dimensión del espacio físico de su realización, número de insectos, concentración, estabilidad y forma de presentación del compuesto).

Las lactonas sometidas a evaluación fueron: tatrídina A (**10**), diacetato de tatrídina A (**10a**), diacetato de 4 α ,5 β -epóxido de tatrídina A (**8a**), 4 α ,5 β -epóxido de tatrídina A (**8**), y desacetil β -ciclopiretrosina (**25**). Los resultados obtenidos se muestran en la siguiente tabla, donde se expresan las dosis utilizadas y los índices de FR₅₀ (relación entre el área consumida del disco tratado ADT y el disco control ADC cuando el control es del 50%).

PRODUCTO	DOSIS	Nº RÉPLICAS	FR ₅₀
Tatrídina A (10)	10 μ g	5	0,49 \pm 0,17
Diacetato de Tatrídina A (10a)	10 μ g	3	0,76 \pm 0,08
4,5- Epóxido de Tatrídina A (8)	10 μ g	3	1,24 \pm 0,17
Diacetato de 4,5-Epóxido de Tatrídina A (8a)	10 μ g	5	0,43 \pm 0,15
Desacetil β-Ciclopiretrosina (25)	10 μ g	3	0,51 \pm 0,19

De estos resultados podemos concluir que los índices no han sido satisfactorios a nivel de actividad antialimentaria ya que, tratándose de compuestos puros, para las dosis utilizadas habría que esperar valores por debajo de 0.1 y solamente en dos casos se baja

⁹⁹ Craig, R.E., Campbell, J.A., Carig, A.C., Campana, C.F. Delsey, R.G. (1990) *Journal of Natural Products* **53**, 1585-1586

¹⁰⁰ Bellés, X., and Piulachs, M.D.(1983) *Act. I Congres. Ibérico Entomol. (León)* 1:101-105.

de 0.5 (tatridina A y diacetato de tatridina A), por lo que se aumentaron el número de réplicas.

Estos resultados no implican que los compuestos ensayados puedan presentar actividad contra otros insectos, siendo posible también que alguno de ellos pueda actuar como disuasor de aproximación de insectos, por lo que sería necesario llevar a cabo un estudio de campo que nos permita determinar cual puede ser el efecto que tales compuestos pueden tener como bioactivos.

Parte experimental

Los ensayos se realizaron utilizando discos de hojas de lechuga (*Lactuca sativa*), con un área de 1 cm^2 y un peso medio de $33.65 \pm 0.07 \text{ mg}$ ($N=10$). Se prepararon las disoluciones de las muestras en acetona/cloroformo a concentraciones de 1 mg/mL y se siembran las dosis señaladas, distribuidas en la parte superior del disco de una forma uniforme, con una microjeringa seguida de evaporación del disolvente (disco tratado: DT). El disco control (DC) fue tratado análogamente con el mismo disolvente. En cada bioensayo se dispusieron alternativamente en una cápsula de Petri (8.5 cm de diámetro) cuatro discos tratados y cuatro control en presencia de cinco larvas. Las experiencias se realizaron a $25 \pm 2^\circ\text{C}$, 60-70 de humedad relativa y siempre en la oscuridad.

Procedimiento de evaluación

El área consumida del disco tratado (ADT) y la del disco control (ADC) fueron medidas simultáneamente a tiempos regulares (cada 30 minutos durante 4-5 horas), para calcular la relación $FR=ADT/ADC$. Para propósitos comparativos se utilizó el FR_{50} del área del disco control (ADC_{50}). Estos valores se calcularon fácilmente en cada caso por extrapolación de los valores empíricos más próximos.

Técnicas generales

Técnicas instrumentales

1. Resonancia Magnética Nuclear

Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear se realizaron en disolución utilizando diversos disolventes, según se indica, y como referencia TMS. Los espectros de ^1H y ^{13}C RMN se obtuvieron a partir de espectrofotómetros BRUKER AVANCE 300, AVANCE 400 y AMX 500. Para la realización de experimentos bidimensionales homonucleares y heteronucleares se utilizaron programas convencionales suministrados por la casa BRUKER.

2. Espectroscopía Ultravioleta

Se utilizó un espectrofotómetro Shimadzu, UV-240 en células de cuarzo de 5 mm. Se empleó metanol como disolvente.

3. Espectroscopía Infrarroja

Los espectros de infrarrojo fueron realizados en dos espectrofotómetros: BRUKER IFS 55 y Perkin-Elmer mod. FTIR-8400S, utilizando células de 0,1 mm de cloruro de sodio, usando cloroformo, nujol, pastillas de bromuro potásico y también en film.

4. Espectrometría de masas

Los espectros de masas se determinaron mediante técnicas de ionización por impacto electrónico (EI) o ionización por bombardeo con átomos rápidos (FAB) a 70 eV, en un espectrómetro FISONS VG MICROMASS modelo VG Autospec. En el caso de los FAB (modo positivo) se utilizó como matriz el alcohol 3-nitrobenílico.

5. Puntos de fusión

Los puntos de fusión se determinaron en un equipo Gallenkamp y los valores obtenidos están sin corregir.

6. Técnicas cromatográficas

6.1. Cromatografía en columna

Se usó como fase estacionaria gel de sílice tipo 70-230 mesh, grado 9385 60 A y 60PF₂₅₄ de la casa Merck. Para la preparación de las columnas se procedió a la mezcla de la gel con la fase móvil y posterior compactación. Los disolventes habituales fueron mezclas de n-hexano y acetato de etilo o benceno y acetato de etilo.

6.2. Cromatografía en capa fina

Se usaron placas cromatográficas con fase estacionaria de gel de sílice de la casa MERCK 60F₂₅₄ 0.2 mm en soporte de aluminio. Para el revelado se procedió a exposición a luz ultravioleta de 254 nm y 356 nm y a la pulverización con una disolución de H₂SO₄-H₂O-Ac₂O en proporción (1:4:20) y posterior calentamiento.

6.3. Cromatografía preparativa

Se utilizaron placas de gel de sílice de 1 mm de espesor de la casa Merck (60 PF₂₅₄₊₃₆₆).

7. Otras técnicas

Los derivados acetilados fueron obtenidos por tratamiento con anhídrido acético y piridina a temperatura ambiente (18-25°C), durante 12 horas. La manera usual de extracción fue: vertido del crudo sobre agua helada y extracción con el disolvente orgánico indicado; lavados sucesivos de la fase orgánica con solución acuosa de HCl al 5%, solución saturada de NaHCO₃ y H₂O; secado de la capa orgánica sobre sulfato de sodio anhidro; filtración y eliminación del disolvente a presión reducida.

8. Disolventes

Los disolventes utilizados en los procesos de purificación de las sustancias fueron previamente destilados.

9. Material Vegetal

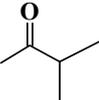
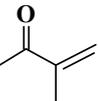
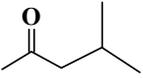
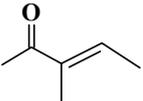
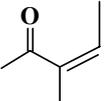
Las especies estudiadas fueron recolectadas en las fechas y lugares que se indican en cada caso, habiendo sido clasificadas por la Dra. Rosa Febles Hernández del Jardín Canario “Viera y Clavijo” de Las Palmas de Gran Canaria, encontrándose en el herbario de dicho Centro muestras de las mismas.

Abreviaturas y acrónimos

ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

Ac₂O	anhídrido acético	IC₅₀	concentración inhibitoria al 50% de individuos analizados
AcOEt	acetato de etilo	IR	espectroscopía infrarroja
AcOH	ácido acético	J	constante de acoplamiento
COSY	experimento RMN (correlación escalar protón-protón)	Liebermann-Burchard	cloroformo, anhídrido acético y ácido sulfúrico
¹³CRMN	resonancia magnética nuclear de carbono	min	minutos
d	doblete	mM	milimoles
dd	doble doblete	MTT	Bromuro de 3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazolio
ddd	doblete doblete doblete	NOESY	experimento RMN correlación espacial protón-protón
DMAP	dimetilaminopiridina	°C	grados centígrados
DMF	dimetilformamida	PARP	poli (ADP-ribosa) polimerasa
DMSO	dimetil sulfóxido	p.f.	punto de fusión
dt	doble triplete	q	cuarteto
DTT	ditiotreitól	ROESY	rotating Overhauser effect spectroscopy (correlación espacial protón-protón)
ECA	carcinoma de Ehrlich	s	singulete
EDC	Hidrocloruro de 1-etil-(e-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida	t	triplete
EDTA	ácido etilendiamino tetraacético	TBST	tampón TBST: Tris Buffer Salino conteniendo Tris 50 mM-6.05 g/l-, NaCl 140 mM-8.20 g/l conteniendo 0,5% Tween 20
EIMS	espectrometría de masas de impacto electrónico	THF	tetrahidrofurano
EM	espectrometría de masas	Tris	2-amino-2-idroximetilpropano-1,3-diol
eV	electrónvoltio	UV	espectroscopía ultravioleta
g	gramos	δ	desplazamiento químico en partes por millón
h	horas	λ_{MAX}	longitud de onda máxima
HEPES	ácido 4-(2-hidroxietil)-1-piperazine etanosulfónico	μg	microgramos
Hex	hexano	μL	microlitros
HMBC	Experimento de RMN de acoplamiento C-H a larga distancia	μM	micromoles
¹HRMN	resonancia magnética nuclear de protón	v	frecuencia
HSQC	Experimento de RMN de acoplamiento C-H a corta distancia (heteronuclear multiple quantum coherente)		

Cadenas laterales comunes en lactonas sesquiterpénicas

<i>Abreviatura</i>	<i>Nombre</i>	<i>Fórmula</i>
Ac	Acetato	
i-But	Isobutirato	
Meacr	Metacrilato	
i-Val	Isovalerato	
Tigl	Tiglato	
Ang	Angelato	

Conclusiones

1. Se realiza una revisión de las diferentes especies del género *Tanacetum* y *Gonospermum* ya estudiados, en función de los tipos de lactonas sesquiterpénicas presentes.
2. Se hace un estudio fitoquímico de la *Lugoa revoluta*, única especie del género *Lugoa* endémico de las Islas Canarias, habiéndose aislado e identificado las siguientes sustancias: **estigmasterol, escoparona, escopoletina, apigenina, 5, 7, 4'-trihidroxi-3, 6-dimetoxiflavona, α ,10 β -Epoxidesacetillaurenobiolido, tatrídina A, 4 α ,5 β -epóxido de tatrídina A, tatrídina B, 6-angelato de Tatrídina B, 6-metacrilato de Tatrídina B, 6-metacrilato de 1-epi-tatrídina B, tamirina, tanapsina y angelato de desacetil- β -ciclopiretosina.**
3. Se hace un estudio fitoquímico de especies del género *Gonospermum*, concretamente del *G. gomerae*, especie endémica de la isla de La Gomera y de poblaciones de la especie *G. fruticosum* recolectadas en la isla de La Gomera y El Hierro, así como de la isla de Tenerife, donde se estudian dos poblaciones, una procedente de la zona de Anaga y la otra recogida en Güimar.
4. Del *Gonospermum gomerae*, recolectado en La Gomera, se aislaron e identificaron las siguientes sustancias: **estigmasterol, escoparona, escopoletina, 5, 7, 4'-trihidroxi-3, 6-dimetoxiflavona, tatrídina A, 4 α ,5 β -epóxido de tatrídina A, tatrídina B, tamirina, 6-angelato de desacetil- β -ciclopiretosina, ácido 5 β -hidroxicóstico, 6-angelato de tamirina, 1 β ,4 α ,6 α -trihidroxiudesm-11-en-8 α ,12-olida, espiciformina, desacetil β ciclopiretosina, β -ciclopiretosina, 8 α -hidroxireynosina, 1 α ,5 β ,8 α -trihroxigermacra-4,9(Z),11(13)-trien-6 α ,12-olida, sesamina, axillarina y crocinervolido.**
5. Del *G. fruticosum* recolectado en la isla de La Gomera se aíslan e identifican las siguientes sustancias: **escoparona, escopoletina, 5, 7, 4'-trihidroxi-3, 6-dimetoxiflavona, tatrídina A, 4 α ,5 β -epóxido de tatrídina A, tatrídina B, tamirina, crocinervolido, desacetil- β -ciclopiretosina, 6-hidroxi-6-metil-3,7-octadien-2-ona, 3,7,11-trimetildodeca-1,5,11-trien-3,7,10-triol, 6-tiglato de tatrídina A y 6-tiglato de desacetil- β -ciclopiretosina.**
6. Del *G. fruticosum* recolectado en la isla de El Hierro se aislaron e identificaron las siguientes sustancias: **estigmasterol, escoparona, escopoletina, 5, 7, 4'-**

- trihidroxi-3, 6-dimetoxiflavona, tatrídina A, desacetil- β -ciclopiretrosina, 6-tiglato de desacetil- β -ciclopiretrosina, vainillina y 6-tiglato de tatrídina B.
7. Del *G. fruticosum* recolectado en el norte de la isla de Tenerife (Zona de Anaga) se aíslan e identifican las siguientes sustancias: **escoparona, 5, 7, 4'-trihidroxi-3, 6-dimetoxiflavona, sesamina, 3 α -hidroxi- β -costol, 5- α -hidroxi- β -costol, 1 β -hidroxi- β -costol, 4 α -hidroxieudesm-11-en-12-al, reynosina y 6-metoxi-7,8-metilendioxicumarina.**
 8. Del *G. fruticosum* recolectado en el sureste de la isla de Tenerife (Zona de Güimar) se aislaron e identificaron las siguientes sustancias: **estigmasterol, sesamina, 3 α -hidroxi- β -costol, 5- α -hidroxi- β -costol, 4 α -hidroxi-4 β -metil dihidrocostol, 3 α -hidroxieudem-4(15), 11(13)-dien-12-al, 3 α ,5 β -dihidroxi- β -costol y 3 β ,5 β -dihidroxi- β -costol.**
 9. Del *T. oshanahanii* recolectado en el Jardín Canario Viera y Clavijo de Las Palmas de Gran Canaria se aislaron e identificaron las siguientes sustancias: **estigmasterol, escoparona, escopoletina, 5, 7, 4'-trihidroxi-3, 6-dimetoxiflavona, tatrídina A, tatrídina B, 6-angelato de tatrídina B, tamirina, tanapsina, 6-angelato de desacetil- β -ciclopiretrosina, desacetil- β -ciclopiretrosina, 6-angelato de 1 β -10 α -epoxidesacetillaurenobiolido, 6-angelato de tatrídina A y 6-angelato de sivasinolido.**
 10. De las sustancias identificadas en los apartados anteriores son nuevas en la bibliografía consultada las siguientes: **6-metacrilato de Tatrídina B, 6-metacrilato de 1-epi-tatrídina B, 6-angelato de tamirina, 1 β ,4 α ,6 α -trihidroxi-eudesm-11-en-8 α ,12-olida, 1 α ,5 β ,8 α -trihidroxigermacra-4,9(Z), 11(13)-trien-6 α ,12-olida,(18), 3,7,11-trimetildodeca-1,5,11-trien-3,7,10-triol, 6-tiglato de tatrídina A, 6-tiglato de desacetil- β -ciclopiretrosina, 5- α -hidroxi- β -costol, 6-tiglato de tatrídina B, 3 α -hidroxieudem-4(15), 11(13)-dien-12-al, 3 α ,5 β -dihidroxi- β -costol, 3 β ,5 β -dihidroxi- β -costol y 6-angelato de sivasinolido.**
 11. De los resultados obtenidos se puede deducir la existencia de una gran similitud fitoquímica en cuanto a las sustancias obtenidas (lactonas sesquiterpénicas, flavonoides y cumarinas) y al tipo de lactonas sesquiterpénicas, lo que permite

proponer una estrecha relación taxonómica entre los dos géneros endémicos y las especies de *Tanacetum* endémicas.

12. Apoyar la propuesta de segregación del género *Inulanthera* del grupo *Gonosperminae* tomando como base el predominio de las lactonas tipo germacrano y eudesmano presentes en la especie de las Islas Canarias, frente al predominio de las lactonas tipo guayanolida presentes en las especies africanas, observándose una mayor relación con los géneros europeo-asiáticos, debido no solo al hecho de la presencia de las mismas lactonas, sino que además en todas las especies, la acumulación de estos metabolitos lleva implícita el mismo patrón de compuestos biogenéticamente similares, argumento indispensable desde un punto de vista quimiotaxonómico. Además, este hecho nos permite considerar que la no obtención de lactonas sesquiterpénicas en el caso de las poblaciones estudiadas en el *G. fruticosum* no es opuesto a la conclusión planteada, puesto que los alcoholes sesquiterpénicos obtenidos pueden ser generados a través de la misma secuencia biogenética que da lugar a las lactonas de las restantes especies, pero sin llegar a lactonizarse. El hecho de que la presencia de lactonas sesquiterpénicas tenga lugar en poblaciones presentes en otras islas podría considerarse como una consecuencia de la adaptación a un nuevo nicho ecológico pudiendo considerarse como un ejemplo de especies vicariantes.
13. Los resultados obtenidos en los estudios químicos llevados a cabo en las distintas especies citadas, presentan una elevada presencia de lactonas sesquiterpénicas del tipo germacranolida, entre las que destacan como características y más abundantes las **Tatridina A** y **B**, así como sus derivados esterificados. La **Tatridina A** presenta una estructura 7,8-lactónica, que no pertenece a ninguno de los subgrupos de las germacranolidas puesto que, aunque podría ser considerada como una melampolida por la presencia de dobles enlaces 4-*trans* y *cis*, éste último no está en la posición biogenéticamente esperada 1(10), al ser 4-*trans*,9-*cis*-germacranolida. Estas lactonas también han sido aisladas en el *Tanacetum densum*, *T. vulgare* y *T. polycephalum*, *T. argyrophyllum*, *T. argenteum*, *T. pseudoachillea*, *T. chilliophyllum* y *T. cadmeum*, lo cual podría ser considerado como un factor de importancia quimiotaxonómica para una delimitación del género *Tanacetum*.

14. La realización de ensayos de actividad citotóxica a varias de las lactonas obtenidas mostró que algunas de ellas tienen una actividad importante. Así, la **reynosina, tamirina, tatrídina A** y su derivado acetilado fueron ensayadas frente a células leucémicas humanas U937 y HL-60, encontrándose que todas ellas inhiben el crecimiento y viabilidad celular mediante una activación de la apoptosis, destacando por su citotoxicidad el **diacetato de tatrídina A**, probablemente por su mayor lipofilicidad.
15. Se estudió la actividad antialimentaria de las siguientes sustancias: **tatrídina A, diacetato de tatrídina A, 4 α ,5 β --epóxido de tatrídina A, diacetato de 4 α ,5 β -epóxido de tatrídina A y desacetil- β -ciclopiretosina.**

Los ensayos se llevaron a cabo sobre larvas de *Spodoptera littoralis* (Boisd.), obteniéndose índices de FR₅₀ no satisfactorios a nivel de actividad antialimentaria.