UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
DEPARTAMENTO DE QUIMICA
ORGANICA

INSTITUTO UNIVERSITARIO
DE QUIMICA ORGANICA
INSTITUTO DE PRODUCTOS
NATURALES ORGANICOS
(C.S.I.C.)

COMPUESTOS POLIHALOGENADOS CHAMIGRANICOS Y RELACIONADOS DE ALGAS ROJAS DEL GENERO LAURENCIA

MEMORIA

presentada para aspirar
al grado de Doctor en
Ciencias Biológicas por

PASCUAL CABALLERO ORTEGA

La Laguna, Junio de 1987

Algae and Coastal Environment of Tropical West Africa, Beih. Nova Hedwigia 70, J. Cramer, p. 455.

113.- W.R. Taylor, (1957), Marine Algae of The Northeastern Coast of Northe America, Ann. Arbor. University of Michigan Press, p. 509.

114.- H.C. Bold, y M.J. Wynne, (1985), Introduction to the Algae, Prentice-Hall, Inc. New Jersey, second edition, p. 720.

115.- R.Haron Tabraue, Comunicación personal.

116.- R.S. Norton, (1977), Tetrahedron, 35, 2577.

JULIO DELGADO MARTIN Y RICARDO PEREZ AFONSO

CERTIFICAN: Que el presente trabajo titulado "Compuestos polihalogenados chamigránicos y relacionados de algas rojas del género Laurencia" ha sido realizado en los laboratorios del Instituto Universitario de Química Orgánica-Instituto de Productos Naturales Orgánicos (C.S.I.C.), constituyendo la Memoria que presenta D. PASCUAL CABALLERO ORTEGA para aspirar al grado de Doctor en Ciencias Biológicas.

La Laguna, Junio de mil novecientos ochenta y siete.

Fdo. Julio Delgado Martín
Catedrático de Química Orgánica

Fdo. Ricardo Pérez Afonso
Profesor Titular de Química Orgánica

Este trabajo ha sido realizado en el Instituto Universitario de Química Orgánica-Instituto de Productos Naturales Orgánicos bajo la dirección del Catedrático Dr. D. Julio Delgado Martín y del Profesor Titular Dr. D. Ricardo Pérez Afonso, a quienes expreso mi más profundo agradecimiento

AGRADECIMIENTOS

La realización de la presente memoria ha sido posible gracias a las numerosas ayudas morales, científicas y materiales de diferentes personas y organismos. Para no cometer numerosas omisiones involuntarias, hago constar mi más profundo agradecimiento a todos ellos.

No obstante, considero necesario destacar de una forma especial a la Universidad Politécnica de Canarias, las facilidades concedidas de desplazamiento y las ayudas económicas para algunos de ellos, sin las cuales no hubiera sido posible la realización de esta memoria. Así mismo, quiero agradecer a los Drs. López Rodríguez, Martín García y Trujillo Vázquez sus colaboraciones en la realización de los rayos X, espectros de RMN y DC, respectivamente.

Agradezco a la Dra. Gil Rodríguez, del Departamento de Biología Vegetal de la Universidad de La Laguna, su colaboración en la determinación del material biológico estudiado.

También quiero agradecer a todos y cada uno de los compañeros del laboratorio de la Unidad de Productos Marinos, especialmente a J. J. Fernández Castro, y a los compañeros del Departamento de Biología de la UPC, los constantes consejos, ayudas y estímulos recibidos durante el transcurso de este

estudio. A D. Manuel de León y D. Juan Antonio Suárez les agradezco la colaboración que en todo momento me prestaron. Finalmente, a D. José Domingo González Caballero le agradezco su ayuda en la elaboración de los dibujos de esta memoria.

A mi madre,

a mi mujer,

a mis hijos.

CUIDE EL LIBRO
NO LO SUBRAYE

INDICE

INTRODUCCION 1

PRODUCTOS NATURALES 4

CONSIDERACIONES TAXONOMICAS 7

TERPENOIDES DE ORIGEN MARINO 13

TEPPENOIDES (SESQUITERPENOS) 13

CHAMIGRANOS 16

RESULTADOS Y DISCUSION 41

AISLAMIENTO Y CARACTERIZACION DE METABOLITOS SESQUITERPENICOS DE ALGAS DEL GENERO LAURENCIA 59

DETERMINACION DE LA ESTRUCTURA DEL EPOXIDO DE OBTUSOL 62

DETERMINACION DE LA ESTRUCTURA POR DIFRACCION DE RAYOS X 68

DETERMINACION DE LA CONFIGURACION ABSOLUTA 72

DETERMINACION DE LA ESTRUCTURA DE LA CETONA ISOMERIZADA DE 2-DEBROMO ISOOBTUSOL 77

DETERMINACION DE LA ESTRUCTURA DE LA CETONA ISOMERIZADA DE 2-DEBROMO OBTUSOL 81

DETERMINACION DE LA ESTRUCTURA DEL CC IPUESTO 96 85

DETERMINACION DE LA ESTRUCTURA DEL

COMPUESTO 97 91

DETERMINACION DE LA ESTRUCTURA DEL COMPUESTO 104 99

DETERMINACION DE LA ESTRUCTURA DEL COMPUESTO 105 105

DETERMINACION DE LA ESTRUCTURA DEL 2-CLORO-3-BROMO-γ-BISABOLENO Y DEL 2-BROMO-3-CLORO-γ-BISABOLENO 109

MATERIAL Y METODOS 121

DESCRIPCION BOTANICA 122

TECNICAS EXPERIMENTALES 124

PARTE EXPERIMENTAL 129

ESTUDIO QUIMICO DEL ALGA LAURENCIA SP. RECOLECTADA EN GALDAR 130

ESTUDIO QUIMICO DE LAURENCIA SP. RECOLECTADA EN ORZOLA 147

ESTUDIO QUIMICO DE LAURENCIA SP. RECOLECTADA EN GUIMAR 151

BIBLIOGRAFIA 158

CONCLUSIONES 124

INTRODUCCION

INTRODUCCION.

En la naturaleza abundan los compuestos orgánicos con una amplísima diversidad de estructuras, el estudio de los cuales constituye un área fascinante y fructífera de investigaciones científicas. En las células de los organismos vivos suceden actividades sintéticas intrincadas y complejas que dan lugar a la formación de un número notable de compuestos orgánicos, muchos de los cuales tienen una gran importancia práctica para la humanidad[1,2].

El proceso sintético primario de la naturaleza es la fotosíntesis, por el cual las plantas utilizan la energía lumínica para la producción de compuestos orgánicos a partir de dióxido de carbono. Los productos iniciales de la fotosíntesis son los hidratos de carbono, a partir de los cuales y por alteraciones metabólicas adicionales conducen a la formación de un conjunto de compuestos orgánicos de bajo peso molecular y estructuras sencillas. Entre estos están los azúcares, ácidos grasos, nucleótidos, aminoácidos, y los polímeros que de éstos derivan. Estas sustancias simples, que tienen una distribución universal, se agrupan como metabolitos primarios y participan activamente en las transformaciones que se describen como procesos metabó-

determinan.

5. Se estudian los componentes terpénicos minoritarios del alga Laurencia sp. de la Isla de Tenerife, con la finalidad de encontrar metabolitos que ayuden a confirmar la ruta biogenética propuesta. De dichos estudios se aislan dos productos derivados del γ-bisaboleno, dándose la configuración absoluta de uno de ellos en base a los datos espectroscópicos y de dicroismo circular.

6. Todos los componentes minoritarios aislados son compuestos hidroxilados con esqueletos halogenados de 15 átomos de carbono.

licos primarios[1]. Ellos forman los materiales sintéticos de partida para reacciones específicas catalizadas por enzimas, y controladas genéticamente, que conducen a los compuestos complejos que caracterizan el metabolismo secundario de los organismos. El Esquema 1 muestra un resumen de las distintas clases de metabolitos secundarios[1,2].

PRODUCTOS NATURALES.

El término "producto natural" se reserva, por lo general, para aquellos compuestos orgánicos de origen natural, que son exclusivos de un solo organismo, o que es común a un número muy pequeño de organismos estrechamente relacionados. En la mayoría de los casos aparentan ser no esenciales a la planta, insecto o microorganismo que los produce, en contraposición con los otros compuestos orgánicos de la naturaleza, como los azúcares, aminoácidos, y polímeros que de ellos derivan, los cuales son tanto esenciales como necesarios[1,3].

No es sólo la complejidad estructural lo que distingue los "productos naturales" del químico orgánico[1a,4], de los compuestos que tradicionalmente han sido estudiados por los bioquímicos, sino el grado de unicidad de los metabolitos secunda-

rios, algunos de los cuales son hallados solamente en una especie única, y muchos de los cuales son característicos de grupos restringidos de organismos (género o familia). Como Bu'lock[5] expone, estos compuestos expresan la individualidad de las especies en términos químicos. Los metabolitos primarios, por otra parte, son universales en su distribución; ellos son los productos de (y participan en) las actividades celulares de todos los organismos vivos, desde las bacterias hasta el hombre. Sin embargo, no existe una línea clara que delimite una clase de compuestos de la otra. Mientras que aminoácidos comunes tales como la prolina, glicina, alanina y triptófano, o poliaminas como espermina, cadaverina y espermidina, no serían ordinariamente catalogados como productos naturales; otros aminoácidos, no encontrados como constituyentes de las proteinas, pero de una gran distribución en el reino vegetal, tales como el ácido pipecólico, β-uracil-alanina, hipoglicina, y muchos otros, han encontrado su camino en la literatura científica a través de los estudios de la química de los productos naturales[1,3,6].

Una característica general de los "productos naturales" es que pocos de ellos tienen una función claramente reconocida en las actividades metabólicas del organismo, en los que han sido encontrados.

Así, los alcaloides, muchos de los compuestos fenólicos, los terpenos, etc., parecen no jugar un papel esencial en la economía celular. No se puede decir que ellos no participan en la actividad metabólica, ya que son degradados, reducidos, acilados, alquilados y oxidados. Pero, en el momento actual de nuestros conocimientos, no es posible decir que sean indispensables para las plantas en que aparecen. Muchas plantas no contienen alcaloides, o flavonas, o ciertas clases de terpenos, y en muchos casos, dos especies estrechamente relacionadas, o dos individuos de la misma especie, pueden contener cantidades completamente diferentes o diferentes representantes de una u otra de estas clases de compuestos[1,5)].

Sin embargo, sería impropio aceptar la conclusión que los productos secundarios de las plantas sean "anomalías funcionales" o, simplemente, productos finales del metabolismo[1a)]. Nuestra falta de habilidad para adscribir una función metabólica a estos compuestos puede significar sólo que, si tienen una función, nosotros no la hemos descubierto aún. Sólo es necesario mencionar, por ejemplo, que el ácido siquímico fue considerado, hasta hace muy pocos años, en las monografías y libros de texto, como un producto que solamente aparecía en la planta asiática <u>Illicium</u> <u>religiosum</u> Sieb. &

Zucc. En la actualidad, sabemos que es de los más universalmente distribuidos, y que es participante fundamental en las actividades metabólicas de las plantas[1a,7]. Es probable, que muchos de los compuestos orgánicos considerados en la actualidad como "productos naturales" sean reconocidos con el tiempo como poseedores de importantes funciones biológicas. Cada dia son más las referencias bibliográficas que informan sobre diversas actividades o funciones biológicas de estos metabolitos[3,6,8-12]. Una de las más provechosas contribuciones al conocimiento, que puede esperarse que hagan los químicos orgánicos, viene de sus estudios continuados de compuestos que aparecen en la naturaleza como entidades biológicas cuyos orígenes, transformaciones y destino en los organismos vivos puedan, con el tiempo, suministrar una guía para el significado y la importancia de su existencia en la naturaleza.

CONSIDERACIONES TAXONOMICAS.

No es el objetivo de esta memoria el entrar en una explicación de los diferentes sistemas de clasificación o de las descripciones morfológicas y quimiotaxonómicas de las especies estudiadas. Este

apartado pretende, únicamente, resaltar la necesidad de colaboración interdisciplinaria entre las distintas áreas del saber científico, que tengan una estrecha relación con el fin propuesto.

La habilidad que el químico orgánico posee para aislar, purificar e identificar, y posteriormente sintetizar, los compuestos orgánicos presentes en la materia viva, generalmente, excede a su capacidad para identificar y clasificar a las especies biológicas de las que proceden las sustancias en estudio. Por ello, la clasificación taxonómica se relaciona con las actividades de los químicos orgánicos en dos vías principales[1a]:

1. Un conocimiento de las relaciones entre los organismos y grupos de organismos puede guiarle en la busca de clases especiales de compuestos orgánicos; ciertos grupos de organismos (familias, géneros) están frecuentemente caracterizados por clases particulares de compuestos, a veces únicos.

2. Sus estudios sobre los constituyentes de un organismo, no sólo agranda el conocimiento de dicho organismo, sino que permite al taxónomo la relación del mismo con otros organismos, suministrando, de esta forma, una información de gran valor para el estudio de su clasificación y evolución.

Si bien el estudio de la química de las plantas, o de otros organismos, seleccionadas al azar o

por otras razones (v.gr. valor medicinal, toxicidad para el hombre y animales, actividad fisiológica de diversas clases, etc.), no están exentas de una gran relevancia, no hay que dudar de la importancia añadida que un conocimiento de sistematización taxonómica puede suministrar al químico, a quién le da con ello, la oportunidad de contribuir al progreso de otras áreas de investigación científica.

El ordenamiento de los organismos vivos, en esquemas sistemáticos de clasificación, es tan viejo como el momento en que el hombre comenzó a utilizar la naturaleza en su provecho. Los descubrimientos de la Sistemática y de la Filogenética constituyen el fundamento para la agrupación de los vegetales que realiza la Taxonomía[13]. Los nombres comunes por los que se conocen a las plantas más familiares, son una forma de clasificación vegetal. El propósito práctico, inmediato, de un esquema taxonómico, es suministrar un medio para identificar a los organismos y para desarrollar una organización racional, entre aquéllos que puedan ser agrupados de acuerdo con las similitudes que existan entre ellos. Los esquemas taxonómicos están basados principalmente en caracteres que pueden reconocerse por examen visual, esto es, caracteres morfológicos. Sin embargo, el fin último de la

taxonomía es la construcción de una organización que vaya más allá de la simple descripción y que refleje las relaciones evolutivas en el reino vegetal y animal. En el progreso hacia la consecución de este logro, los taxónomos utilizan las fuentes de todas las áreas de la ciencia que muestran el crecimiento, desarrollo y evolución de los organismos. La morfología, fisiología, citología y genética, ecología, geología, paleontología y, en años más recientes, la química, contribuyen a las interpretaciones del taxónomo sobre las relaciones existentes entre los organismos por él estudiados. La contribución del químico a este complejo de información es de origen comparativamente reciente, pero promete añadir una dimensión valiosa a la descripción total de las relaciones de los seres vivos con sus ancestros y contémporaneos.

Las funciones de los metabolitos secundarios aislados a partir de especies del género Laurencia Lamoroux, aún no han sido establecidas. Se cree que estos metabolitos proporcionan a las algas, y a los moluscos opistobranquios del género Aplysia que de ellas se alimentan, ventajas selectivas ambientales[14]. Los extractos de A. brasilana, por ejemplo, muestran propiedades disuasoras de alimentación[15]. El elatol (40), metabolito aislado de diferentes especies de Laurencia, inhibe el de-

sarrollo de los huevos del erizo de mar[16]. También se han descrito propiedades antimicrobianas[17] y citotóxicas[17c,18] para diferentes metabolitos secundarios.

El género Laurencia es muy complejo y la determinación de las especies en este género es una tarea muy difícil de realizar[19]. Existen varios ejemplos en los cuales "una especie" de Laurencia ha sido dividida en variedades diferentes en base a sus metabolitos secundarios[20]. La gran variedad de productos naturales encontrados en algunas especies de Laurencia, por ejemplo, L.obtusa (Hudson) Lamoroux, hace pensar que se debe al hecho que varias especies o variedades estén involucradas[21].

Las investigaciones realizadas por el equipo de Fenical, en un intento de aproximación quimiotaxonómica a la clasificación del género Laurencia, ponen de manifiesto que el metabolismo secundario, de poblaciones uniformes de una especie determinada de Laurencia, es independiente del hábitat, cambios estacionales y estado reproductor. Por tanto, las diferencias químicas encontradas significan diferencias genéticas y serán especies diferentes o variedades de organismos[20a]. Estos investigadores dividen[14a] al género Laurencia en dos amplias categorías, las que muestran una química organohalogenada, las formas cilíndricas, y las desprovis-

tas de haluros orgánicos, las formas comprimidas. Young y col., muestran que los cuerpos serosos de las formas cilíndricas son los lugares de síntesis y de almacenaje para los metabolitos organohalogenados del alga[22]. Sin embargo, el aislamiento de compuestos bromoindólicos, a partir del alga L. brongniartii J. Agardh, que posee forma comprimida, muestra la necesidad que existe de que esta clasificación sea modificada en orden a explicar los tipos de haluros orgánicos producidos[17a].

tas de haluros orgánicos, las formas comprimidas. Young y col., muestran que los cuerpos serosos de las formas cilíndricas son los lugares de síntesis y de almacenaje para los metabolitos organohalogenados del alga[22]. Sin embargo, el aislamiento de compuestos bromoindólicos, a partir del alga L. brongniartii J. Agardh, que posee forma comprimida, muestra la necesidad que existe de que esta clasificación sea modificada en orden a explicar los tipos de haluros orgánicos producidos[17a].

TERPENOIDES DE ORIGEN MARINO

Dentro del estudio de productos naturales de origen marino, las algas rojas del género Laurencia Lamoroux constituyen un grupo muy interesante debido a la diversidad de metabolitos polihalogenados que de ellas se aislan[23]. El grupo más numeroso de metabolitos son los terpenos, en su mayoria sesquiterpenos[24,25], aunque también se han encontrado diterpenos[15,19] y triterpenos[27]. Junto a estos metabolitos, coexisten en el alga compuestos de naturaleza no terpénica, acetogeninas C_{15}, caracterizadas por la presencia en la molécula de grupos acetilenos o aleno terminales[28].

TERPENOIDES (SESQUITERPENOS)

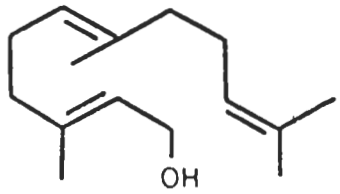
El reino vegetal produce una gran variedad de productos que derivan de unidades de cinco átomos de carbono[29]. Algunos de éstos son considerados metabolitos primarios como, por ejemplo, los esteroides, giberelinas y carotenos. No obstante, la mayoria de los compuestos terpenoides sintetizados por las plantas son metabolitos secundarios, siendo la mayoria de ellos productos típicos de las mismas.

En contraste con lo que sucede en los ambientes terrestres, la distribución de los productos

terpénicos no es muy amplia entre los organismos marinos. Hasta hoy se han encontrado terpenos en los celentéreos, moluscos, esponjas y en las algas pardas y rojas. Esta distribución puede incluso ser más pequeña, si tenemos en cuenta las evidencias existentes que demuestran que son las algas simbióticas las verdaderas fuentes de los terpenos aislados en celentéreos, y que los terpenos encontrados en moluscos son el resultado de la acumulación de productos procedentes de las algas ingeridas. Sin embargo, la gran variedad de estructuras encontradas indican claramente que todos los tipos de sesquiterpenos aislados de plantas terrestres pueden eventualmente encontrarse en los organismos marinos, entre los que además se aislan productos halogenados, muy escasos, por otra parte, entre las plantas terrestres.

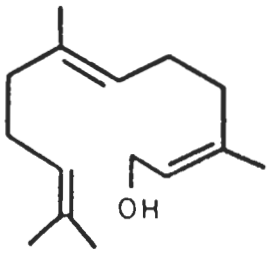
Los compuestos formados por tres unidades de cinco átomos de carbono, o unidades de isopreno, los denominados sesquiterpenos, son los metabolitos que con mayor frecuencia se aislan de las algas rojas del género Laurencia y de los moluscos gasterópodos del género Aplysia[30]. Generalmente estos sesquiterpenos cíclicos derivan del farnesol[29] (1 y 2), pero el hecho importante de que la carbociclación sea inducida por un ión bromonio (Br^+) hace que puedan considerarse como "típicamente"

marinos. Los iones bromuro dispersos en la atmósfera desde las capas superficiales del agua sufren oxidaciones fotoquímicas que los convierten en bromo molecular y su disolución en el agua, crea en las aguas superficiales, zona de máxima actividad fotosintética, donde se desarrollan las algas, concentraciones suficientes de Br^+ que hacen posible tan particular tipo de biogénesis[31].



TRANS,TRANS-FARNESOL

1



TRANS,CIS-FARNESOL

2

Las investigaciones químicas de Laurencia para determinar los metabolitos secundarios comenzaron con una publicación en 1953 de Obota y Fukushi sobre el aceite esencial del alga L. glandulifera Kutzing[32]. Los estudios químicos realizados llevaron a los autores a la conclusión que los componentes mayoritarios del aceite eran sesquiterpenos. En 1978 son conocidos dieciocho tipos de esqueletos, que agrupan a aproximádamente sesenta sesquiterpenos[25]. Hoy dia, son más del centenar de compuestos

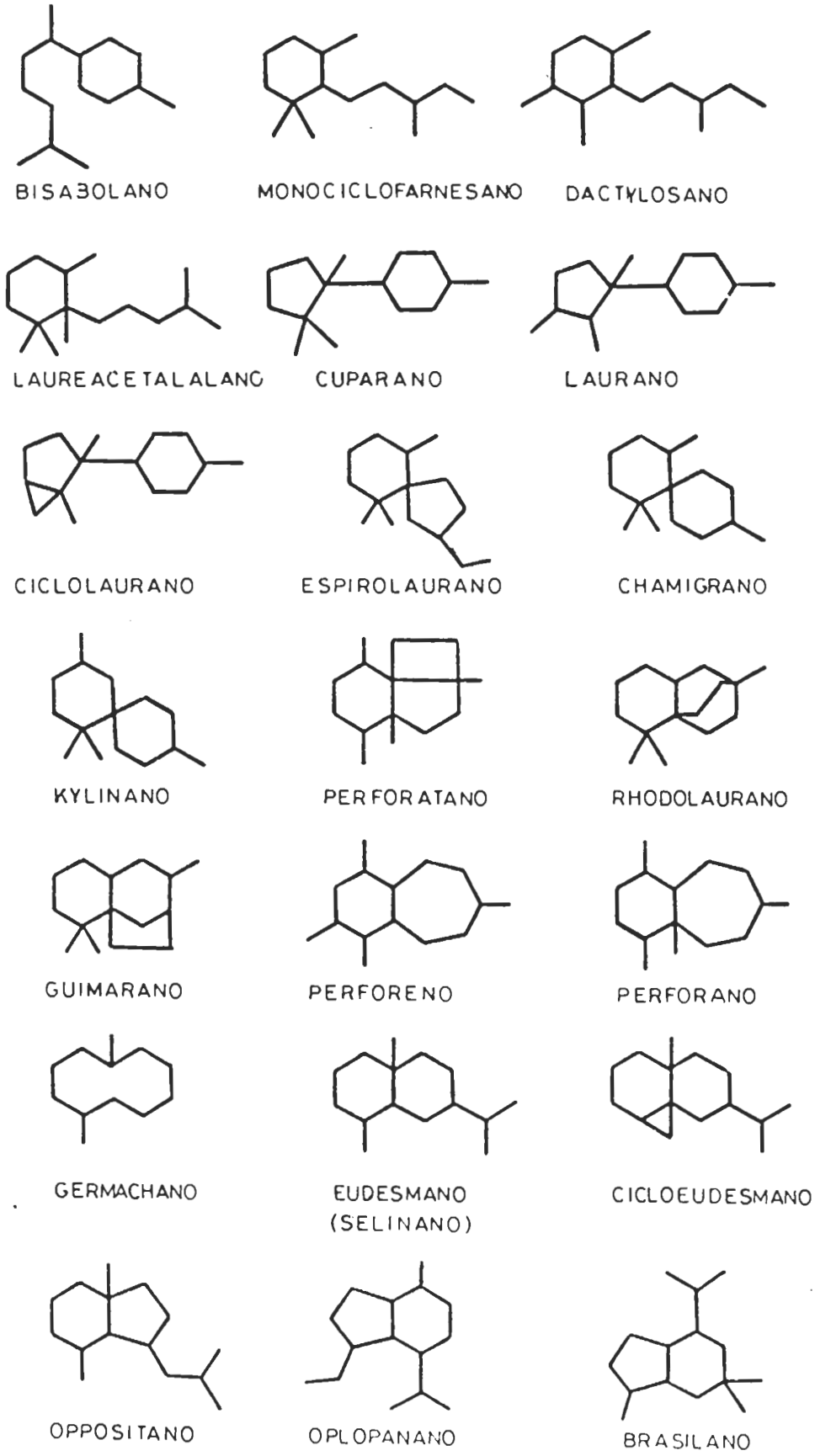
sesquiterpénicos, agrupados en venticuatro esqueletos diferentes, los que se conocen como metabolitos de Laurencia[21,23,25]. En la Tabla 1 se relacionan distintos tipos de esqueletos.

La descripción que a continuación se hace se refiere a los compuestos sesquiterpénicos con esqueleto chamigrano aislados de diferentes algas del género Laurencia, incluyendo los aislados de los moluscos opistobranquios del género Aplysia ya que es conocido que tales animales tienen a las algas rojas del género Laurencia en su dieta alimenticia y, en la mayoria de los casos, se ha podido comprobar que el compuesto es ingerido y almacenado por el animal sin transformación alguna.

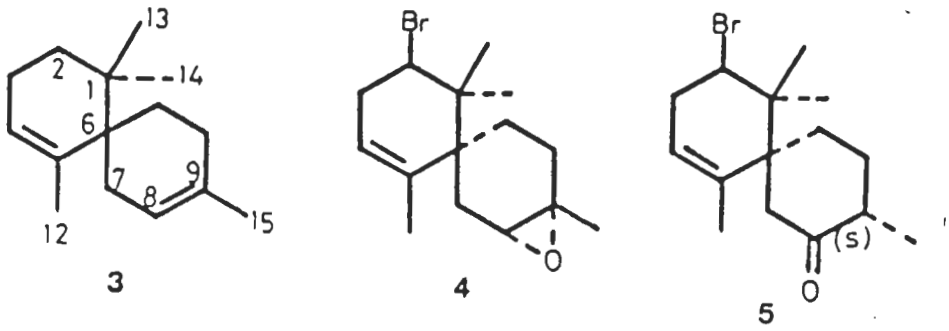
CHAMIGRANOS.

Junto con el sistema laurano, el sistema chamigreno (3) aparece con una asombrosa frecuencia en los extractos de Laurencia. Suzuki y col. aislaron, del alga Laurencia glandulifera, dos bromo-α-chamigrenos, el 2-bromo-8,9-epoxi-α-chamigreno (4) y el 2-bromo-α-chamigreno-8-ona (5), y un bromo-β-chamigreno, el 2-bromo-β-chamigreno-8-ona (6)[34]. La estructura, inicialmente asignada al compuesto (4) por los datos espectroscópicos, fue confirmada

Tabla 1.- Diferentes tipos de sesquiterpenos.



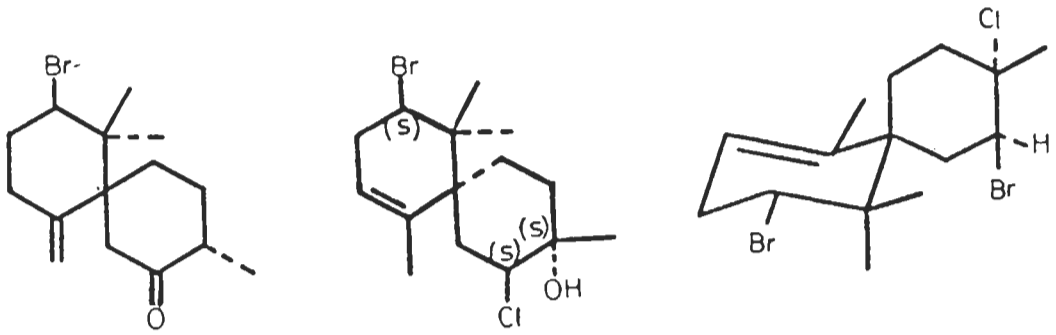
por estudios de difracción de rayos X a la vez que se hicieron las correspondientes asignaciones de RMN-^{13}C[35]. El anillo ciclohexano presenta una conformación de bote torcido algo aplastado, mientras que el anillo ciclohexeno tiene una conformación de semi-silla distorsionada.



La estructura de los compuestos (5) y (6) fueron confirmadas, junto con la del compuesto (4), por correlación química. Al tratar al 2-bromo-8,9-epoxi-α-chamigreno con trifluoruro de boro eterato en benceno a temperatura ambiente se forma un compuesto que, por comparación de los espectros de IR y RMN-^{1}H, de la actividad óptica y del punto de fusión mixto, es idéntico a la cetona natural (5). La estereoquímica del grupo metilo en C-9 asignada en base al mecanismo de reacción es confirmada por el efecto Cotton negativo de la curva de DOR.

El glanduliferol (7) fue aislado[28] de la

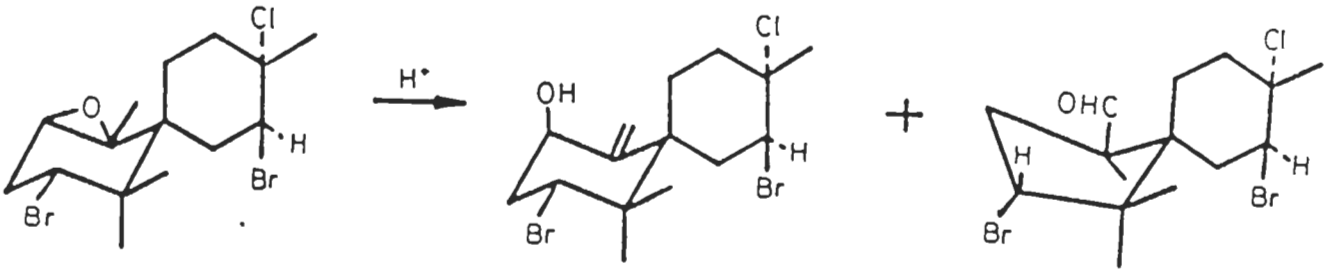
misma L. glandulifera. La estructura de este compuesto dihalogenado, relacionado biogenéticamente con los anteriores, fue confirmada en la misma publicación que en los casos anteriores. El tratamiento químico del glanduliferol con hidróxido potásico en metanol al 5% produce un producto dehidroclorado que presenta una actividad óptica, un punto de fusión mixto, un espectro de IR y un espectro de RMN, coincidente con el compuesto (4). La tendencia del glanduliferol a epóxidarse sugiere que los grupos vecinos OH y Cl deben ser trans y en posición anti uno respecto al otro.



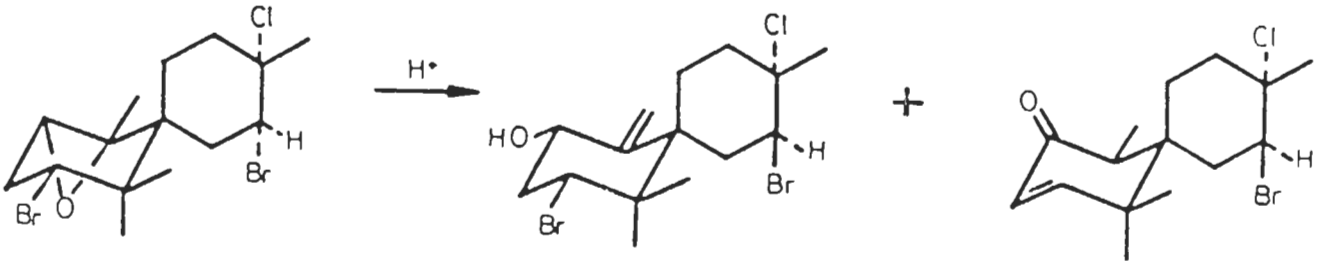
6 7 8

Howard y Fenical, a partir de una Laurencia no especificada[36], aislan dos compuestos: 2,8-dibromo-9-cloro-α-chamigreno (8) y su correspondiente epóxido cristalino, el 2,8-dibromo-9-cloro-4,5-epoxi-α-chamigreno (9). La estructura del metabolito (8) es confirmada por comparación con la es-

tructura del compuesto (4). El compuesto (8) adopta, al igual que el glanduliferol, la conformación de bote torcido en el anillo ciclohexano como se confirma por los estudios de RMN-^{1}H en presencia y ausencia de reactivos cambiadores[35]. La adopción de la forma de bote torcido alivia la interacción entre el metilo vinílico y los hidrógenos axiales en C-8 y C-10. Cuando el doble enlace del anillo A desaparece, el anillo B revierte a la conformación normal de silla.

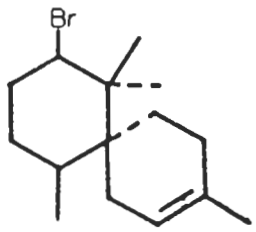


9 11 12



10 13 14

Al tratar el compuesto (8) con ácido m-cloroperbenzoico se obtiene el epóxido geométricamente isómero (10). Las reacciones de apertura de estos epóxidos dan lugar a los alcoholes alílicos, y epímeros, y el espectro de RMN confirma las posiciones del bromo y del epóxido, así como su estereoquímica relativa. De esta forma, al tratar al compuesto (9) con ácido p-toluensulfónico en benceno se obtiene una mezcla del alcohol alílico (11) y el aldehído (12), mientras que la apertura del epóxido (10) conduce a la formación del alcohol epímero (13) y la cetona conjugada (14)[36]. Un estudio cristalográfico realizado por Furusaki y col[37] confirma las asignaciones estructurales previas realizadas[35,36].



15

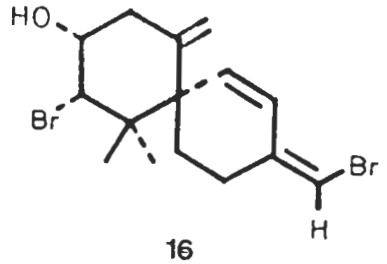
Ojika y col., aislaron el producto (10), a partir de L. okamurai Jamada y L. nipponica Jamada, determinando la estructura en base a los datos

espectroscópicos y por epoxidación del compuesto (8)[38]. El análisis de difracción de rayos X confirmó la estructura y configuración absoluta asignadas[39].

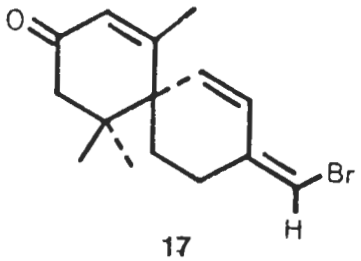
Howard y Fenical, utilizando la técnica de la cromatografía líquida de alta presión, aislaron, a partir de la parte polar de un extracto de L. pacifica Kylin, el α-chamigreno más simple representativo de Laurencia, el 2-bromo-α-chamigreno (15)[40]. Este compuesto también ha sido aislado de otras algas como, por ejemplo, L. nipponica y L. glandulifera[41]. El compuesto (15) ha sido sintetizado por diferentes investigadores mediante ciclación inducida por ión bromonio a partir de polienos acíclicos, si bien el producto de partida es diferente, geranil-acetona y farnesol[42]. La configuración absoluta del 2-bromo-α-chamigreno fue determinada por métodos químicos; partiendo del glanduliferol (7), cuya configuración absoluta era conocida, y por tratamiento con Zn/HOAc se obtienen los comopuestos (3) y (15) permitiendo de esta forma establecer la configuración de ambos compuestos[35].

Del alga L. majuscula (Harvey) Lucas, fueron identificados dos compuestos bromotrienol: el halometileno-α-chamigreno (16) y el halometileno-β-chamigreno (17)[43]. La estructura de (16) fue ca-

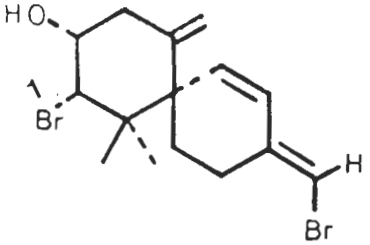
racterizada por datos espectroscópicos y por síntesis a partir del acetato de (17) con hidróxido potásico en metanol, obteniéndose el compuesto (16) y el isómero E de éste, (18). La comparación de los espectros de RMN-^{1}H de ambos isómeros permite la asignación de la geometría del doble enlace[44]. Los estudios espectroscópicos permitieron asignar una configuración axial al grupo hidroxilo en C-3, una ecuatorial al bromo del C-2 y una configuración Z al doble enlace entre C-9 y C-15; pero la configuración del átomo espiránico en C-6 no se pudo llevar a cabo hasta que se realizó un estudio de difracción de rayos X sobre el acetato del producto (17)[45]. Este análisis permitió deducir la configuración absoluta de (17), así como que la configuración de C-6 y C-2 están en concordancia con la del (-)-(2R)-2-bromo-α-chamigreno (15), 2-bromo-8,9-epoxi-α-chamigreno (4) y la de otros compuestos halogenados aislados de L. glandulifera[35]. Como se puede observar en las estructuras representadas en (16) y (17), ambos compuetos se caracterizan por poseer un átomo de bromo sobre un metilo y la presencia de un sistema diénico conjugado, lo que no es común entre los chamigrenos halogenados de Laurencia.



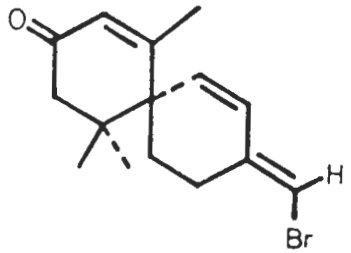
16



17



18

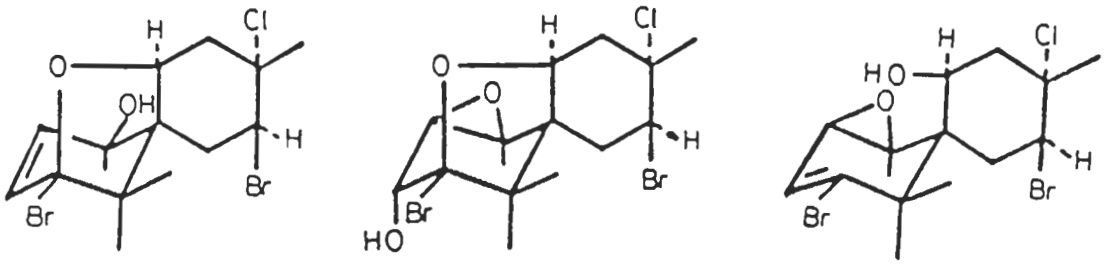


19

Schmitz[46], del molusco A. dactylomela, aisló la bromohidrina (17) junto con su isómero E, (19).

Las investigaciones realizadas por Sims y colaboradores con distintas especies de algas del género Laurencia condujo al descubrimiento de una nueva clase de compuestos que contienen átomos de cloro y de bromo. De L. pacifica, identificaron el pacifenol (20), determinando la estructura y

configuración absoluta por análisis de rayos X[47]. Del alga L. johnstonii Setchell and Gadner, es aislado el johnstonol (21), previa purificación cromatográfica con gel de sílice del extracto metanólico[48]. La estructura de este compuesto, determinada por estudios de rayos X, es relativamente idéntica a la del pacifenol (20). En 1969, Irie y col. aislaron un metabolito dibromado, de L. okamurai Jamada, idéntico al johnstonol[49].



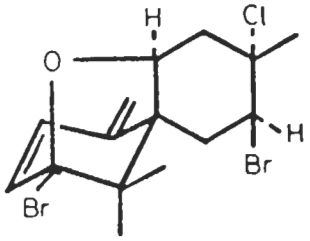
20 21 22

Por extracción del alga L. filiformis (C. Agardh) Montagne con n-hexano y recristalización del residuo cristalino[50], fue aislado el prepacifenol (22). La estereoquímica y configuración absoluta de este metabolito fue determinada por su conversión a pacifenol por tratamiento químico con ácido p-toluensulfónico en benceno. Esta conversión también ocurre durante la cromatografía con alúmina neutra y cuando el prepacifenol .s calentado hasta

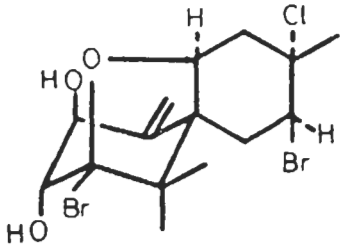
su punto de fusión. Debido a que el aislamiento del pacifenol se realizó con cromatografía de gel de sílice, parece posible que el pacifenol (20) sea un artefacto. Cuando el prepacifenol se cromatografía con gel de sílice se produce su transformación en pacifenol. Sin embargo, el pacifenol es el metabolito mayoritario y existe como producto natural en L. tasmanica Hooker & Harvey ex Harvey[50].

De la liebre de mar, A. californica, se aislaron, junto con el pacifenol (20) y el jonhstonol (21), el pacifidieno (23), el pacifenediol (24) y un compuesto tetrahalogenado (25)[51]. Al tratar al pacifidieno con HCl se obtiene el compuesto (25) permitiéndo de esta forma establecer la correlación química que existe entre ambos metabolitos. El pacifidieno es el único de los tres que ha sido aislado, hasta el momento, de un alga[52], la L. pacifica. No existen evidencias claras que indiquen si los compuetos (24) y (25) son metabolitos de algas o si, por el contrario, son artefactos formados por reacciones catalizadas por ácidos en las glándulas digestivas de estos moluscos.

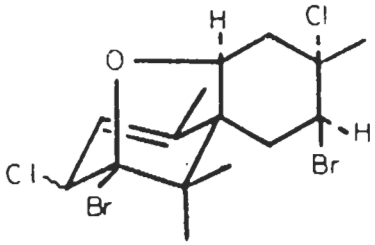
Faulkner y sus colaboradores identificaron el epóxido de prepacifenol (26) como metabolito minoritario de A. californica[53]. La conformación y configuración absoluta de este producto se llevó a cabo por métodos químicos, ya que al tratarlo con



23



24

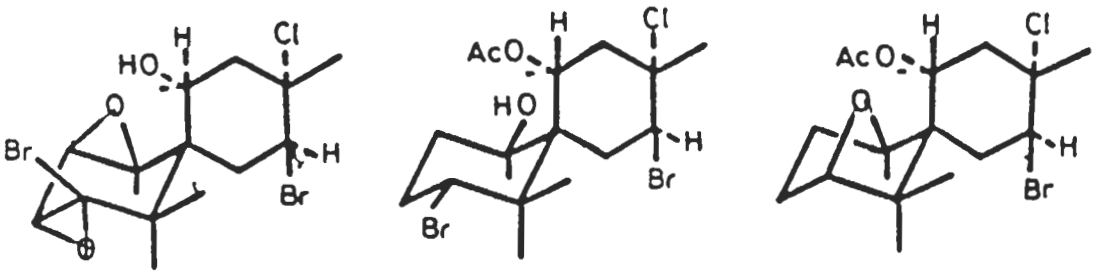


25

ácido oxálico y a reflujo se convierte en johnstonol (21). En condiciones más drásticas el epóxido de prepacifenol se convierte en pacifenediol (24), el cual es idéntico al producto obtenido por Sims y col., al tratar al johnstonol con bromuro de hidrógeno en ácido acético[48]. En 1978, Howard aisla e idéntifica al epóxido de prepacifenol de L. pacifica[54].

Del alga L. intricata Lamoroux se aisla el acetoxiintricatol (27), estableciéndose su estructura por estudios químicos, espectroscópicos y de rayos X, no pudiéndose confirmar la configuración absoluta, seleccionándose la estructura representada en (27) por su comparación con el pacifenol (20)[55]. De la misma alga[56] fue aislado el ciclodebromoacetoxiintricatol (28). Su estructura fue dada en base a los datos espectroscópicos y por

correlación química con el acetoxiintricatol (27), del cual procede por eliminación de bromuro de hidrógeno mediante una ciclación intramolecular.

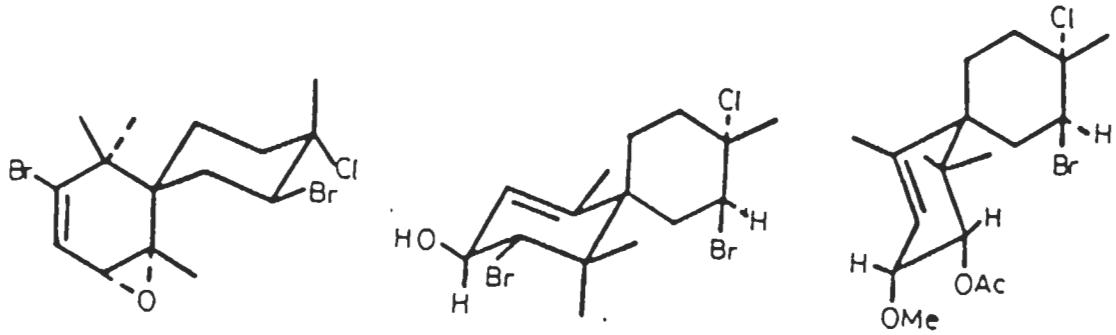


26 27 28

El desoxiprepacifenol (29) fue aislado de A. californica[57]. Su estructura, incluyendo la configuración absoluta, fue establecida por análisis de difracción de rayos X. Sin embargo, el método estadístico empleado por los autores ha sido cuestionado[52]. No obstante, posteriormente, Ojika y colaboradores aislaron, en 1982, este metabolito del alga L. okamurai, confirmando la estructura anteriormente asignada[38].

El alga L. pacifica, recolectada al Sur de Ensenada, México, contiene el chamigreno 2,8-dibromo-3-hidroxi-9-cloro-α-chamigreno (30)[58]. La estructura y estereoquímica se determinó por los datos espectroscópicos y por métodos químicos. Al tratar al metabolito (30) con KOH en metanol y,

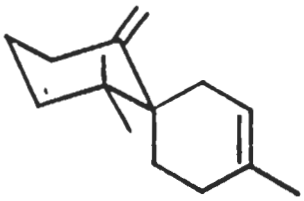
posterior, acetilación con anhidrido acético en piridina, se obtiene en primer lugar un epóxido que incorpora rápidamente metanol para dar, después de la acetilación, el metoxiacetato (31). A la vista del desplazamiento nucleofílico en el epóxido, la estereoquímica de los sustituyentes en C-2 y C-3 en (29) y (30) ha de ser invertida.



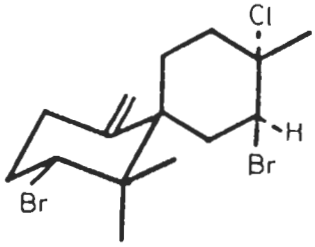
29 30 31

Los derivados β-chamigrenos (32) han sido ensayados, a partir de Laurencia, en el mismo número que los α-chamigrenos. En estos β-chamigrenos, el anillo B totalmente saturado adopta una conformación silla, diferente al sistema α-chamigreno en al que predomina la forma de bote torcido.

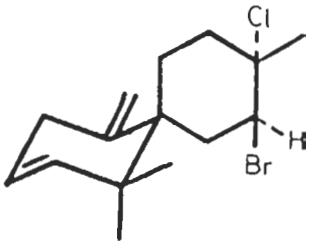
En un estudio exhaustivo del alga L. nidifica J. Agrdh realizado por Waraskiewicz y Erickson, se aislaron los β-chamigrenos nidificeno (33), nidifidieno (34), nidifidienol (35) y nidifoceno (36). La estructura de los dos primeros metabolitos fue



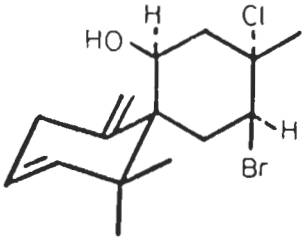
32



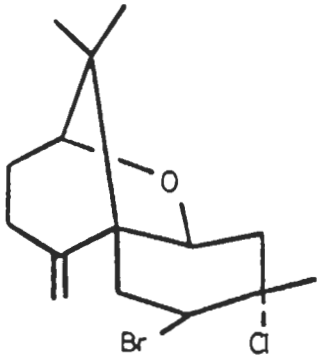
33



34



35

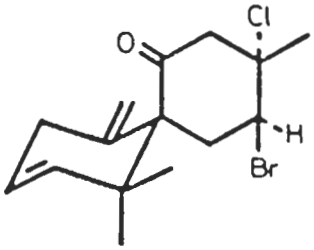


36

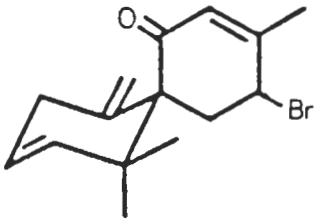
determinada por datos espectroscópicos[17d]. Con el fin de establecer la posición relativa del grupo hidroxilo con respecto a los átomos de cloro y bromo en el nidifidienol, este compuesto fue oxidado a la bromoclorocetona (37) y la dehidrocloración de ésta con trietilamina da lugar a la bromocetona conjugada (38). La reducción de (35) con aluminio hidruro de litio da lugar al alcohol dehalogenado, el cual es posteriormente oxidado a la cetona no

conjugada (39)[59].

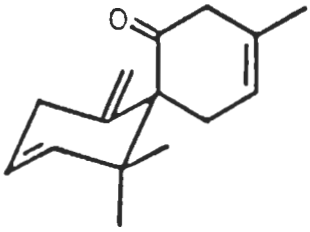
La estructura inicialmente asignada al nidifoceno[60], fue corregida, después de un análisis de difracción de rayos X[61]. Los halógenos vecinos han sido intercambiados con respecto a la asignación original, de tal forma que el cloro está unido a un carbono terciario mientras que el bromo lo está a uno secundario.



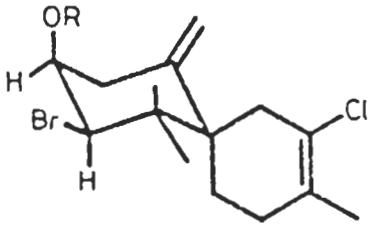
37



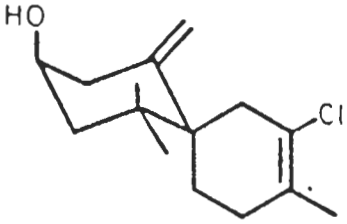
38



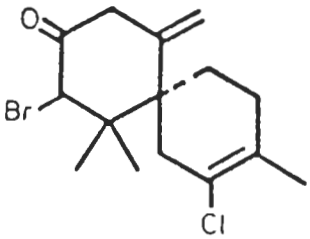
39



40 R=H
41 R=Ac



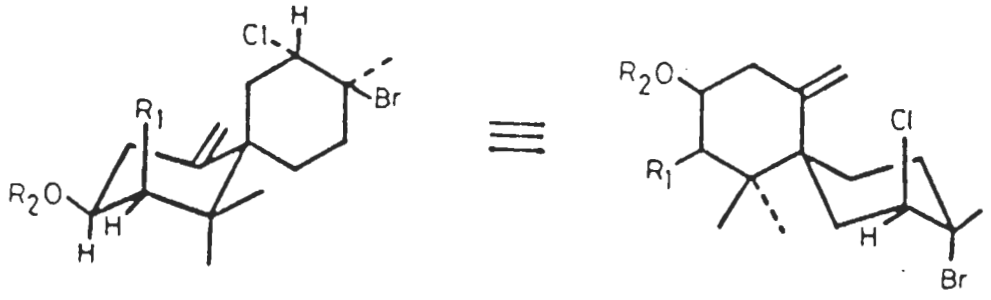
42



43

El elatol (40) fue aislado, inicialmente, del alga roja L. elata (C. Agardh) Hooker and Harvey, por extracción con n-hexano[62]. La estructura y estereoquímica absoluta fue confirmada por estudios de rayos X sobre el acetato (41). Este compuesto, también, ha sido aislado de otros organismos marinos; asi, González y colaboradores lo aislan de L. obtusa (Hudson) Lamoroux[63], mientras que el grupo de Schmitz lo consiguen del molusco A. dactylomela[64] Rang, junto con el acetato de isoobtusol(46). Por su parte, Rinehart, describe el aislamiento del enantiómero del elatol, en una especie de L. obtusa recolectada en el Caribe[17c].

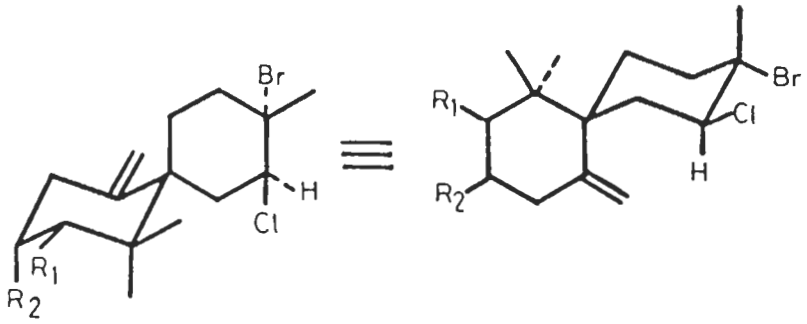
El producto de oxidación del elatol, la cetona (42), elatona, es un ejemplo de producto sesquiterpénico con actividad fisiológica, que es un potente inhibidor de la división celular y del ensamblaje de los microtubulos[65].



44 R_1=Br R_2=H
45 R_1=H R_2=H
46 R_1=Br R_2=Ac

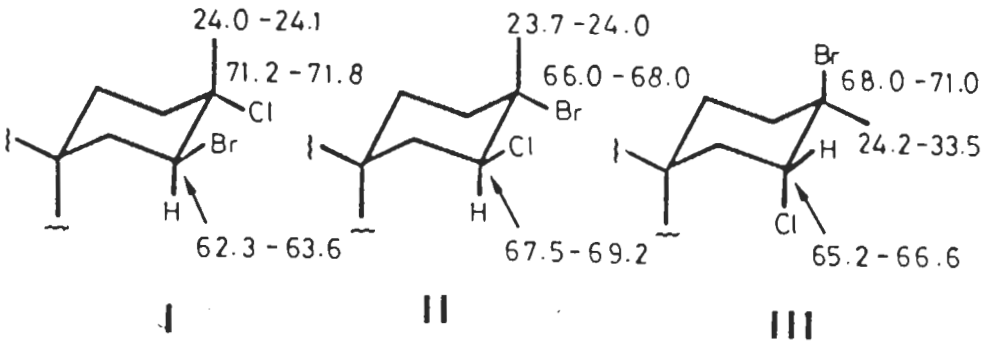
De la especie L. obtusa, fueron aislados, junto con el elatol, cinco β-chamigrenos nuevos: 2-debromoelatol (43), isoobtusol (44), 2-debromoisoobtusol (45), obtusol (47) y 2-debromoobtusol (48)[63].

Las estructuras de los cuatro últimos compuestos fueron corregidas después de un estudio de difracción de rayos X[66]. En estos metabolitos, la posición de los halógenos vecinos en el anillo B, fueron intercambiadas respecto a las posiciones asiganadas originalmente, de tal forma que el átomo de cloro está unido a un carbono secundario y el bromo lo está a un carbono terciario. Estas estructuras revisadas representan excepciones a la regla general formulada por Martín y Darias (1978), esto es, en los grupos bromocloro 8,9-trans-diaxial, el bromo ocupa la posición terciaria, y en los grupos bromocloro 8,9-trans-diecuatorial es el cloro quien ocupa la posición terciaria[25].

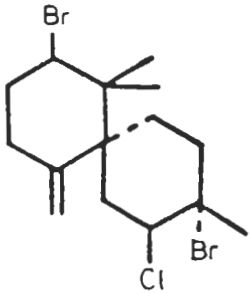


47 $R_1 = Br$ $R_2 = OH$
48 $R_1 = H$ $R_2 = H$
49 $R_1 = Br$ $R_2 = H$

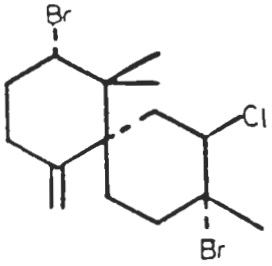
La localización de los grupos bromo y cloro vecinos en los compuestos que los poseen es un problema perenne que ha sido motivo de estudio por González y col. (1979). En este estudio se comparan los espectros de RMN-^{13}C de dieciocho compuestos relacionados con grupos bromoclorociclohexanos, obteniéndose los rangos de desplazamiento de los carbonos implicados[67].



La aplicación de estos valores permitió determinar la estructura y estereoquímica absoluta del



49

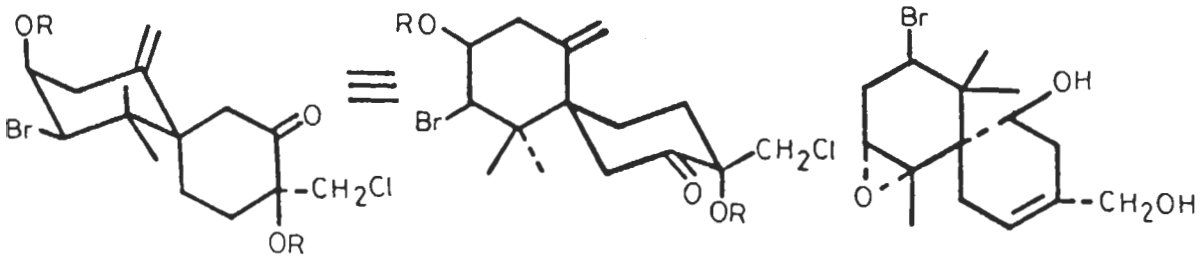


50

UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA
BIBLIOTECA DE CIENCIAS BASICAS

obtusano (49), metabolito minoritario del alga L. obtusa, como se muestra en la figura. Del alga L. nipponica ha sido aislado el enantiómero del obtusano, el (-)-obtusano (50), siendo determinada su estructura por análisis de rayos X[68].

González y col., (1978), aislan, del extracto



51 R=H
52 R=Ac

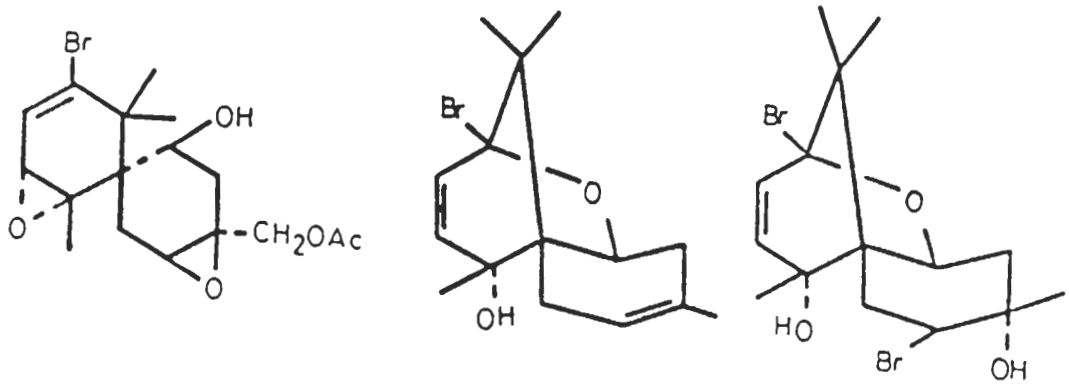
53

acetónico de L. obtusa, la clorohidrina (51). Este metabolito es altamente inestable, incluso cuando la extracción se hace en frio y en atmósfera inerte. Cuando la clorohidrina es transformada en su derivado diacetato (52), mediante acetilación con anhídrido acético en piridina, se obtiene un producto estable y cristalino que permite el estudio por rayos X y establecer, por tanto, la estructura y conformación absoluta de la clorohidrina[69].

La estructura del diol (53), aislado, a partir de L. nipponica, fue determinada por estudios de difracción de rayos X del derivado diepóxi-monoace-

tato (54)[70].

Suzuki aisló de L. nipponica dos compuestos con puentes éter, el bromo-alcohol (55) y el dibromodiol (56) junto con el pacifenol (20)[71]. Estos metabolitos fueron caracterizados espectroscópicamente y por correlación química con el pacifenol.



54 55 56

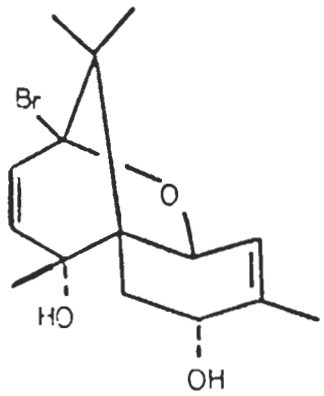
El tratamiento de (56) con Zn/HOAc a 5°C produce el compuesto (55). De igual forma, el tratamiento del pacifenol con el mismo reactivo también produce el bromo-alcohol (55), confirmándose de esta forma la estructura y la estereoquímica absoluta de estos compuestos. La estereoquímica en C-3 y C-4 del dibromodiol (56) fue deducida de las similitudes existentes entre su espectro de RMN-^{1}H con el del pacifenol.

En una publicación posterior, Suzuki y su grupo, informan del aislamiento en el mismo alga de un diol termolábil (57). La estructura y configura-

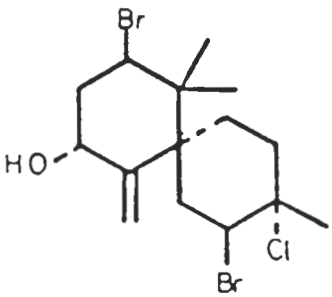
ción absoluta fueron determindas por difracción de rayos X a baja temperatura, -20°C[72].

Suzuki y sus colaboradores[73], aislaron de un especimen de L. nipponica, junto con el nidificeno los alcoholes (58) y (59) y la cetona (60). Bernardinelli y Flack, a partir del molusco A. dactylomela, idéntificaron los compuestos (61) y (62)[74]. La configuración absoluta de (61) y (62) fue determinada por rayos X. El compuesto (61) es enantiómero del (60), ya que presenta un espectro de IR y RMP idénticos a los del producto (60), pero sus actividades ópticas son diferentes, [α]D = +19'6° y -10'7°. La confirmación de esta relación se llevó a cabo por el análisis de rayos X[75].

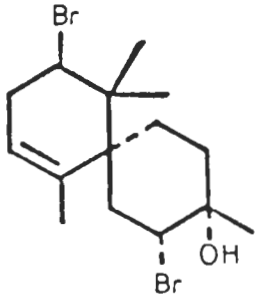
La comparación de los espectros de RMN-^{1}H y RMN-^{13}C muestra que los metabolitos (61) y (62) poseen el mismo tipo de esqueleto. La configuración del grupo acetato se realizó por medio de transfor-



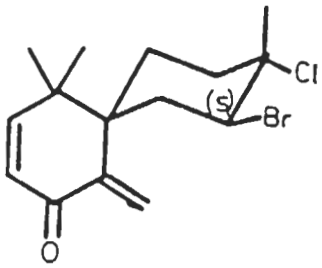
57



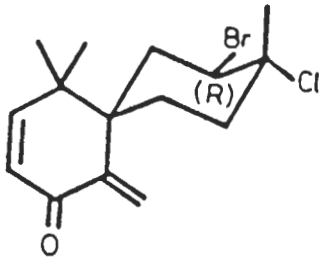
58



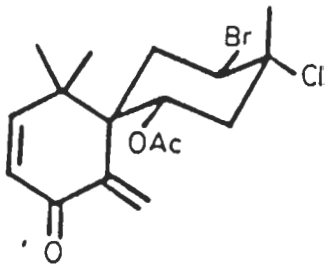
59



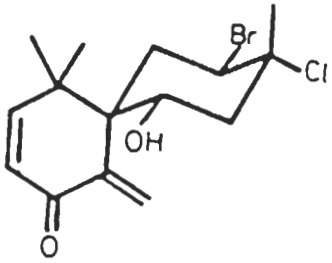
60



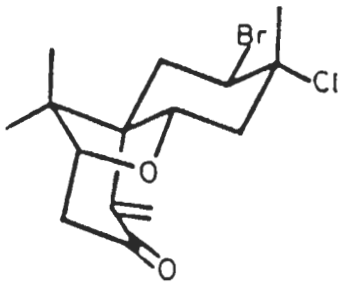
61



62



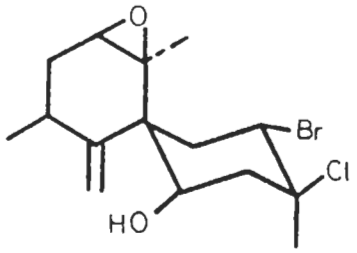
63



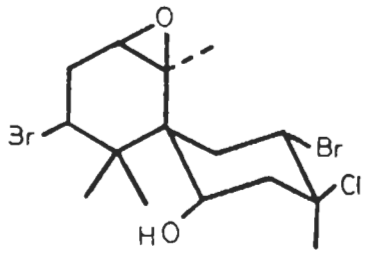
64

maciones químicas y en base a los datos espectroscópicos obtenidos de los productos de estas transformaciones. Al tratar el compuesto (62) con hidróxido potásico al 1% en etanol, se obtiene el alcohol (63) y el éter (64). El tratamiento de (63) con ácido p-toluensulfónico en benceno produce (64). La confirmación de las estructuras asignadas, por estudios espectroscópicos, se realizó por análisis de rayos X del compuesto (64)[75].

Una especie sin describir de Laurencia, recolectada en Florida, contiene un nuevo derivado



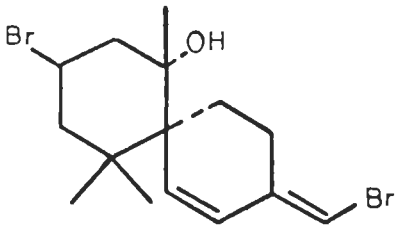
65



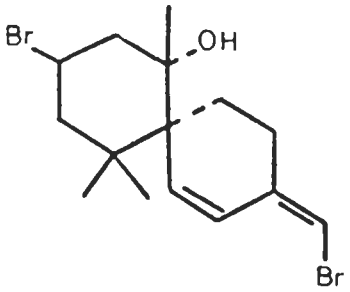
66

chamigreno, el compuesto (65) y su producto reagrupado dehidrobromado (66). La estereoquímica de ambos compuestos fue determinada por un estudio de resonancia n.O.e[76]. Se ha visto que ambos metabolitos son tóxicos para el pez *Pomacentrus coeruleus*, a una concentración de 15 $\mu g.cm^{-3}$.

Los chamigrenos halogenados isómeros (67) y (68), que poseen un grupo vinilbromuro exocíclico, han sido aislados de *L. majuscula*[62,77], así como de *A. dactylomela* recolectada en las Islas Canarias[78]. La presencia del bromo en el C-3 en lugar del C-2 es muy infrecuente.



67



68

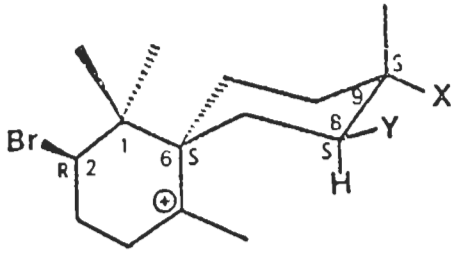
RESULTADOS Y DISCUSION

Entre los productos marinos naturales que presentan enlace carbono-halógeno, el grupo más numeroso y variado lo forman los compuestos espiro-bicarbocíclicos con esqueleto carbonado de chamigrano que se aislan de algas rojas del género Laurencia y de las especies de moluscos invertebrados que de ellas se alimentan[21,23,25,79]. Ha sido también repetidamente postulado, químicamente comprobado a veces o simplemente hipotetizado otras, que la gran variedad de esqueletos carbonados que se aislan de éste particular género de algas rojas, deben su origen a reagrupamientos ocurridos en el esqueleto de chamigrano vía las particulares sustituciones de halógenos que suelen presentar[35,73,80].

La mayoría de los chamigranos halogenados hasta ahora descritos (ver introducción) se corresponden con uno de los dos iones de chamigrano que se representan por las estructuras IV y V. Ambos tipos de precursores tienen en común el poseer una (8S, 9S)-trans-heterosustitución y un átomo de bromo en C-2 de configuración absoluta opuesta a la del centro cuaternario quiral C-6. Cuando C_2-Br es (S), C_6 es (R), y cuando C_2-Br es (R), C_6 es (S).

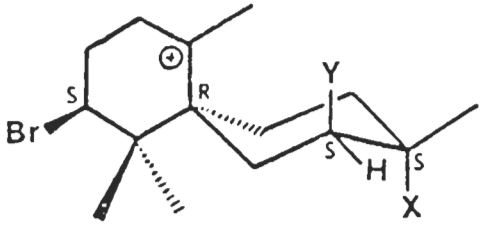
Los sistemas espirocarbocíclicos representan moléculas de interés, tanto en la química de los productos naturales como en química teórica, y la

construcción de un centro cuaternario totalmente carbonado representa tanto un reto sintético como biosintético[81]. Aunque nada se conoce de la biosíntesis de compuestos con esqueleto de chamigra-



IV

X ; Y = Br ; Cl ; OH

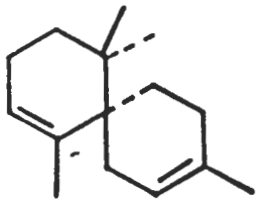


V

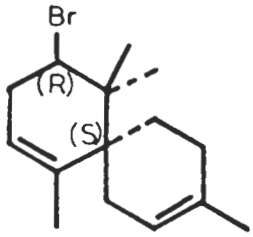
no, varias síntesis han sido realizadas con éxito[82] de los compuestos naturales más simples, como es el sesquiterpeno terrestre (-)α-chamigreno (69)[83], aunque todas den como resultado preparaciones racémicas. El compuesto chamigrénico marino más simple: (2R, 6S)-2-bromo-α-chamigreno[84] (70) ha sido también sintetizado como racemato, pareciendo dudosa también la distinción a nivel diastereomérica de los compuestos preparados[40].

Un programa de síntesis desarrollado en los últimos años por el Laboratorio de Química Marina del I.U.Q.O. de la Universidad de La Laguna, ha dado lugar a la síntesis enantioselectiva y diferenciada de compuestos chamigránicos mono- y tri-

sustituidos, naturales o no, entre los que son de destacar los indicados en el Esquema 2[85].



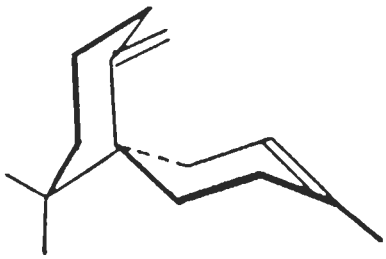
69



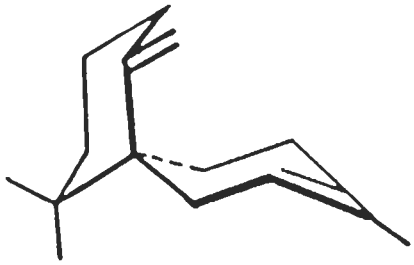
70

Existen dos posibles rutas de biosíntesis que justificarían la formación del bromo-chamigreno más simple aislado del medio natural, el 2-bromo-α-chamigreno (70) (Esquema 3). Una u otra ruta dependería de qué anillo se forme primero en la bicarbociclación del polieno precursor, tomando al farnesil pirofosfato como precursor universal de metabolitos C_{15} de naturaleza terpénica. En la ruta "a" del Esquema 3 se supone que la ciclación ocurre dando en primer lugar el anillo heterosustituido por el halógeno (anillo A), y en la ruta "b" se supone que es el anillo B el primero que se forma, introduciéndose el átomo de bromo en una bromocarbociclación posterior. Tanto en un caso como en otro es necesario encontrar exceso electrónico sobre el carbono-6 que permita, después de

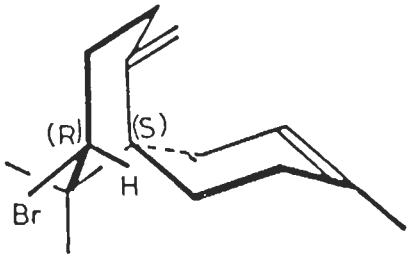
ESQUEMA 2



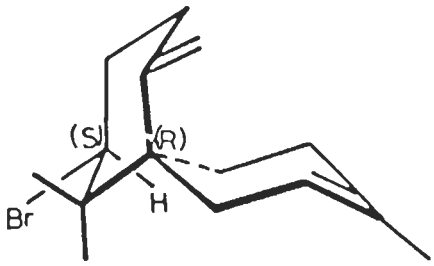
71



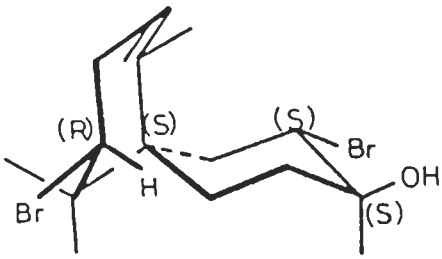
72



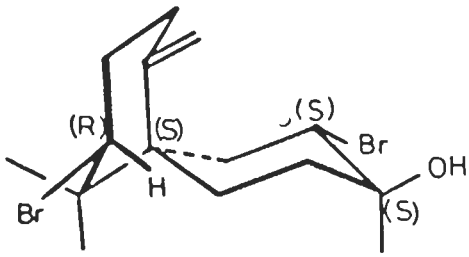
73



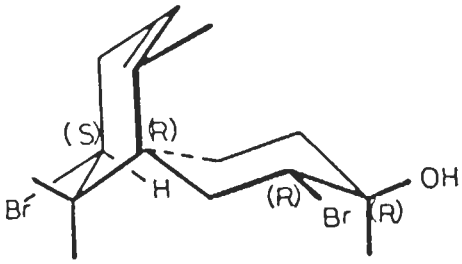
74



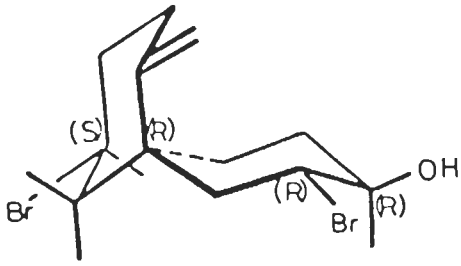
75



76



77

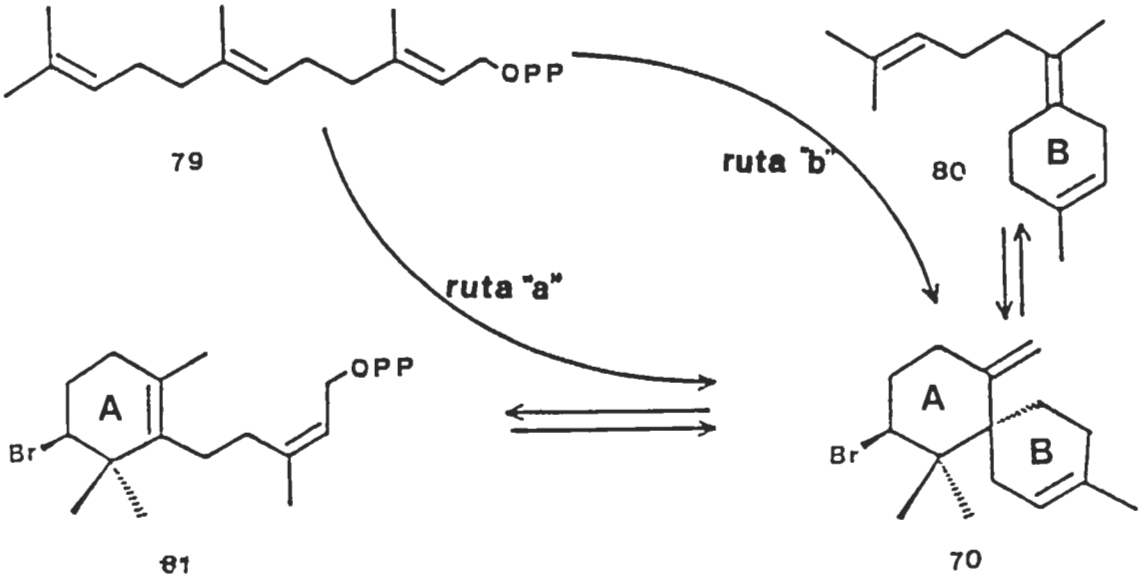


78

haberse producido la primera carbociclación, la actuación nucleofílica desde este carbono para dar lugar a la creación del centro cuaternario espirotetracarbonado del esqueleto chamigrano. Como quiera que tal actuación nucleofílica conlleva deficiencia electrónica sobre el vecino C-7, la mejor forma de representar esta simultaneidad es a través de una especie olefínica Δ(6-7) que actúe como intermedio. Esta conclusión nos lleva a la necesidad de que la transformación de 79 en 70 no puede ocurrir de una manera concertada, sino a través de pasos discretos, siendo al menos necesario la intervención de un intermedio olefínico. Estos intermedios quedan representados en el Esquema 3 por el compuesto 81 (operando la ruta "a") o el 80 (en el supuesto de que sea la ruta "b" la que tenga lugar).

La viabilidad química de las rutas "a" o "b" puede, en principio, comprobarse mediante las transformaciones: 79 ⟶ 81 ⟶ 70 (ruta "a"), ó 79 ⟶ 80 ⟶ 70 (ruta "b"), habiendo sido ambas verificadas químicamente, al haber sido utilizadas de manera independiente en la preparación en el laboratorio de compuestos del tipo de 2-bromochamigreno. Efectivamente, la síntesis de Faulkner y col.[84] del racémico (±) 70, ocurre mediante ciclación de un compuesto de monociclofarnesano (tipo

ESQUEMA 3



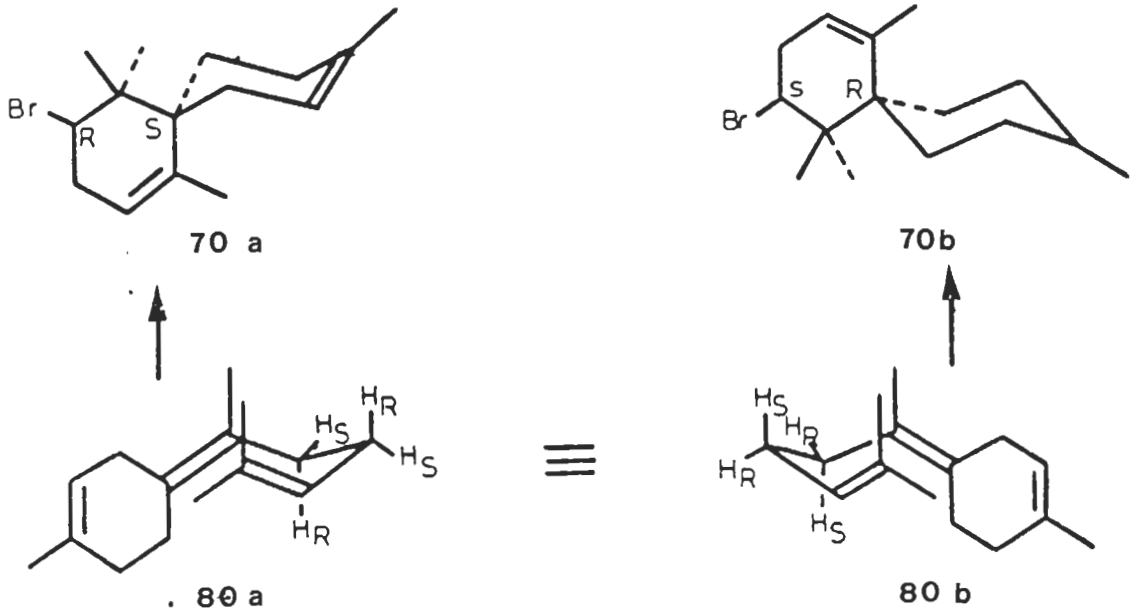
81), mientras que las realizadas en el I.U.Q.O.[85] ocurren por bromociclación de un γ-bisaboleno (tipo 80). Em ambos casos, el átomo de bromo se enlaza al sustrato carbonado mediante adición electrofílica a un doble enlace olefínico, la diferencia entre una u otra ruta sintética es el instante en que la adición electrofílica ocurre.

La aproximación sintética de sistemas policí-

clicos de naturaleza terpénica por catálisis ácida de adecuados sistemas poliénicos, proporciona no sólo ejemplos de modelos de actuación biogenética en medios no enzimáticos, sino procedimientos prácticos de síntesis de sistemas carbocíclicos previamente aislados de manera natural. Los trabajos realizados en Stanford[86,87] y en Harvard[88] sobre ciclaciones de polienos han permitido la síntesis efectiva de esteroides y terpenos. Las así llamadas "síntesis biomiméticas"[89] son alternativas sintéticamente válidas en la preparación de terpenoides y alcaloides de naturaleza carbocíclica.

Una plausible sugerencia biogenética es que los terpenoides bromados que se aislan de las algas marinas ocurren mediante "ciclación brominativa", esto es, mediante ciclación inducida por ión bromonio "Br^+" como agente que cataliza y controla la ciclación del polieno precursor. Métodos basados en ciclaciones inducidas en laboratorio, por ataque de especies Br^+ sobre polienos, demuestran que la carbociclación puede ocurrir al tiempo que el enlace C-Br. Sistemas reactivos que hasta ahora han sido utilizados con éxito son: N-bromosuccinimida[90a-c]; bromo en presencia de ácidos de Lewis tales como $AlBr_3$, $SnBr_4$ o plata (I)[90d,e]; 2,4,4,6-tetrabromociclohexa-2,5- dieno (TBCD) en medio ácido[91]; ciclación ácida de bromhidrinas

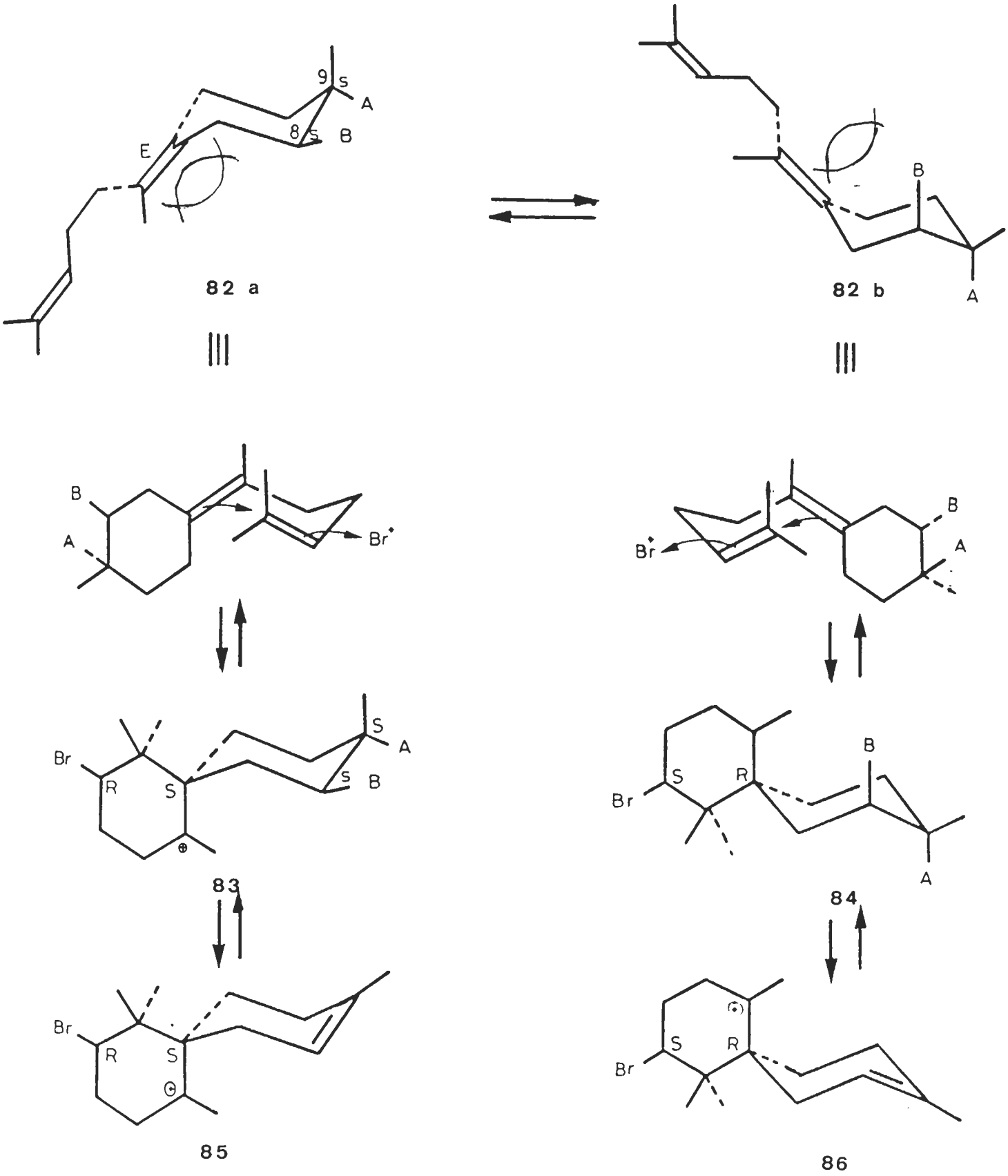
ESQUEMA 4



de la cadena lateral adoptan una conformación no-eclipsada, dando lugar a situaciones de estados de transición de pre-silla.

Para crear enantioselectividad en las transformaciones indicadas en el Esquema 5, es neceasrio selectivamente desestabilizar uno de los dos estados de transición 82a ú 82b, evitandose así que la ciclación ocurra de manera indiscriminada por una u

ESQUEMA 5



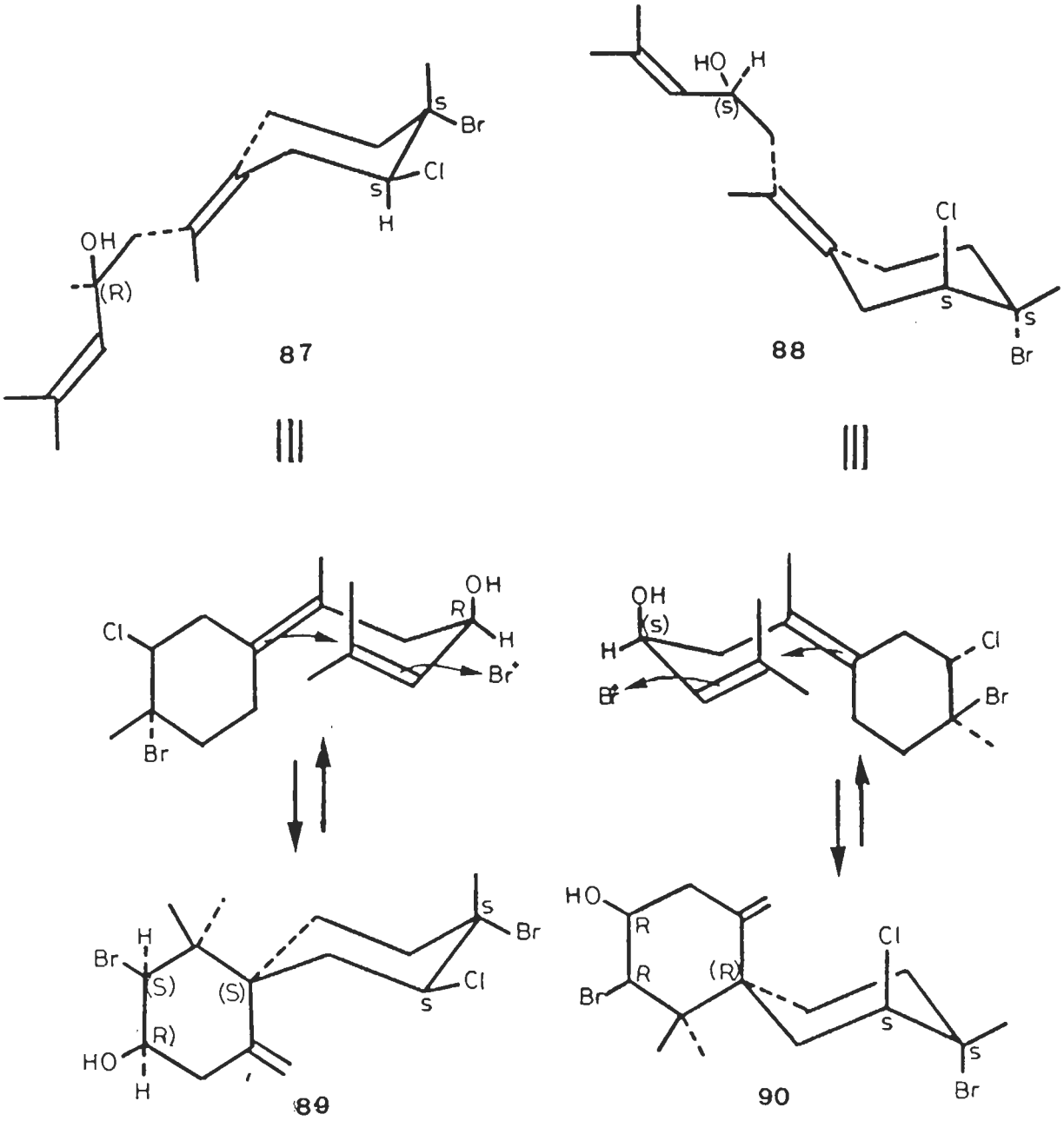
9
s
A
8
s
B
E
82 a
B
A
82 b
B
A
Br
Br
B
A
S
A
Br
R
S
s
B
83
Br
S
R
B
A
84
Br
R
S
85
S
R
Br
86

otra cara. El trabajo sintético realizado demuestra que la ciclación progresa según 82a, para dar 85, y es únicamente cuando se utiliza el enantiómero de 82a cuando los chamigrenos tipo 86 pueden ser preparados[85]. En el medio natural, sin embargo, se conocen compuestos tipo 83 y 84,, lo que indica, que si el esqueleto de chamigreno se origina biogenéticamente según lo expresado en el Esquema 5 los dos estados de transición 82a y 82b han de ser permitidos.

Si fuera posible hacer una distinción estructural a nivel de dieno precursor, esto es, distinguir la especie 82a de la 82b, sería entonces factible conocer cual es precursor biogenético de 83 (o de 85) y de 84 (o de 86). Tal diferenciación puede hacerse según se expresa en el Esquema 4 mediante diferente sustitución en los grupos metilenos de las cadenas dienicas. Apliquemos el razonamiento seguido en el Esquema 5 a los compuestos naturales obtusol (89) e isoobtusol (90) (Esquema 6)

Los compuestos diastereoméricos obtusol (89) e isoobtusol (90) necesitan para su formación, no sólo que la bromocarbociclación ocurra por caras distintas del precursor de γ-bisaboleno, sino que estos precursores han de ser diastereoméricos con diferente sustitución hidroxilada en C_9. El com-

ESQUEMA 6

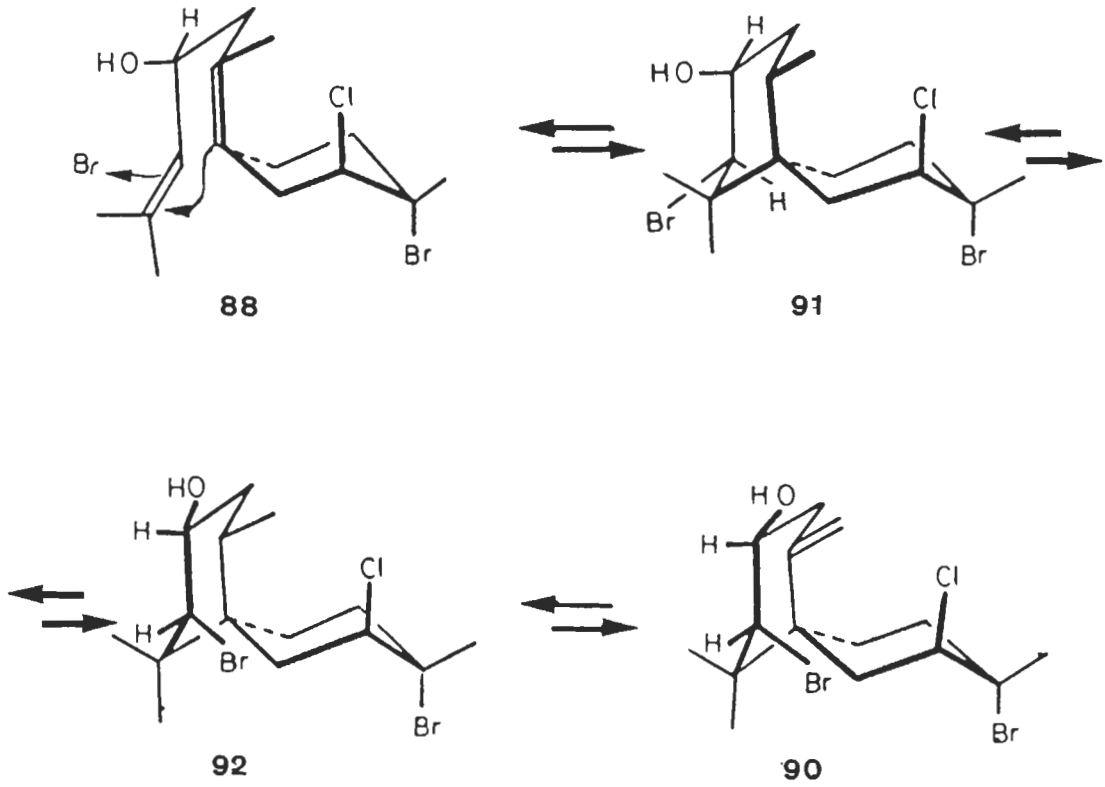


puesto 87 es único precursor de 89 y su diasteoisómero 88 es también único precursor de 90. El aislamiento de un compuesto tal como 88 como producto natural, y en coexistencia en el alga con el isoobtusol (90), permitiría una aproximación a la comprensión del estado de transición que origina el compuesto isoobtusol con independencia del sentido en que la transformación opera, esto es 88 ⟶ 90 o el reverso, y también posible, 90 ⟶ 88 (Esquema 7).

En cualquier caso, la interrelación 88 ⟷ 90 es única; es decir, no existiría situación semejante entre 88 con algún otro compuesto trihalogenado con estructura de chamigreno que se aisle de manera natural o pueda ser preparado por bromocarbociclación inducida químicamente.

Aún cuando en el Esquema 7 se presupone que la oxidación (introducción del OH) es previa a la ciclación, el Esquema 7 sigue siendo válido si la oxidación ocurre en el compuesto bicarbocíclico, lo que pasa, si éste último caso es lo correcto, es que la interrelación entre 90 y 88 opera en el sentido 90 ⟶ 88, pero seguiría siendo una interrelación única entre ambos compuestos.

La interrelación 88 ⟶ 90 la hemos supuesto a través de los intermedios carbocatiónicos 91 y 92. El intermedio 92 dispone de la conformación y con-



ESQUEMA 7: Posible ruta biogenética de formación del isoobtusol (90) a través de un precursor γ-bisaboleno.

figuración absoluta idéntica a la observada en el isoobtusol (90), el intermedio 91 se diferencia en la conformación mostrada en el anillo A, encontrán-

dose el C_9-OH y el C_{10}-Br orientados respectivamente axial y ecuatorial. La propuesta de 91 no sólo es razonable en base a que el ataque electrofílico (Br^+) al sistema diénico debe de ocurrir mediante orientación antiperiplanar de los enlaces que se forman, lo que obligaría al paso a través de 91 en el caso de que la interconversión fuera 88 → 90, sino que sería la única forma de obtener el doble enlace exocíclico (E) en el caso de que operara la interconversión en sentido reverso, esto es 90 ⟶88. Efectivamente, el paso desde 90 → 92 → .. daría lugar, sin la intervención de 91, a un (Z)-γ-bisaboleno.

El aislamiento de un compuesto tal como 88, como metabolito natural, y en concurrencia con el isoobtusol (90), es, a nuestro entender, la mejor aportación que puede hacerse en el conocimiento del proceso biosintético que da lugar a los compuestos chamigrénicos polihalogenados que se aislan de este particular género de algas.

El trabajo de esta Tesis Doctoral, puede resumirse en la búsqueda del compuesto 88 entre las distintas especies de algas del género Laurencia del Archipiélago Canario que tienen al obtusol (89) e isoobtusol (90) como componentes mayoritarios. Este trabajo se ha realizado recolectando muestras de distintas especies recogidas en diferentes is-

las, identificación entre los componentes mayoritarios del isoobtusol, e investigación entre los metabolitos minoritarios compuestos hidroxilados sobre esqueletos dihalogenados de 15 átomos de carbono. El resultado obtenido se expone a continuación.

AISLAMIENTO Y CARACTERIZACION DE METABOLITOS SESQUITERPENOS DE ALGAS DEL GENERO LAURENCIA

Las algas del género Laurencia se encuentran ampliamente distribuidas en el Archipiélago Canario. Algas de este género fueron recogidas en diferentes islas: en Orzola, Isla de Lanzarote, en Gáldar, Isla de Gran Canaria, y en Güimar, Isla de Tenerife.

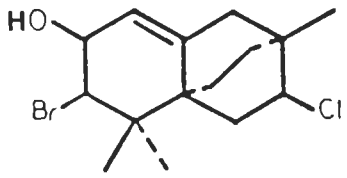
El tratamiento a que fueron sometidas, cada una de ellas, por separado, fue prácticamente el mismo. Este consistió en secado de la planta sin acción directa del Sol, extracción con acetona en aparato Soxhlet hasta agotamiento. Una vez eliminada la acetona a vacio, el extracto resultante se sometió a un fraccionamiento rápido (percolado) en gel de sílice. Posteriormente, se estudiaron todas y cada una de las fracciones por los procedimientos descritos más adelante.

Del alga recogida en Gáldar se aislan como metabolitos mayoritarios: elatol (40), isoobtusol (44), obtusol (47) y obtusano (49), y como minoritarios: 2-debromo elatol (43), 2-debromo isoobtusol (45), 2-debromo obtusol (49), y las debromocetonas de isoobtusol (94) y de obtusol (95), el epóxido de obtusol (93), el producto (96) y el producto (97).

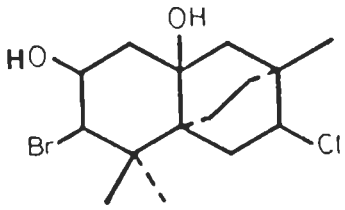
De la recogida en Orzola se aislan los mismos

productos mayoritarios, siendo la composición de los minoritarios bastante diferente ya que los metabolitos aislados fueron: rhodolaureol (98), rhodolaurediol (99) y güimarediol (100), junto a perforenona A (101), isoaplysin (102) y el producto (103), si bien estos últimos productos se aislan de una variedad de Laurencia en la que los productos mayoritarios no son los aquí descritos. Esto nos viene a indicar que nuestra alga era en realidad una mezcla de, al menos, dos especies. Junto a éstos se encontraron como minoritarios los productos (104) y (105).

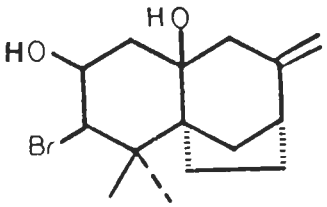
De la variedad recolectada en Güimar se aislaron, al igual que en los otros casos, los mismos mayoritarios con la excepción del obtusano (49), junto a los siguientes productos minoritarios: rhodolaureol (98), rhodolaurediol (99), güimarediol (100), y los derivados del γ-bisaboleno, 2-bromo-3-cloro-9-hidroxi-γ-bisaboleno (106) y 2-cloro-3-bromo-9-hidroxi-γ-bisaboleno (107). El estudio químico de los nuevos sesquiterpenos se detalla a continuación en esta memoria.



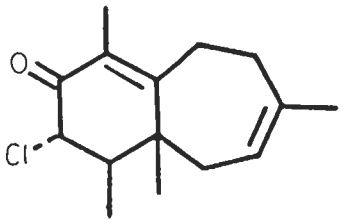
98



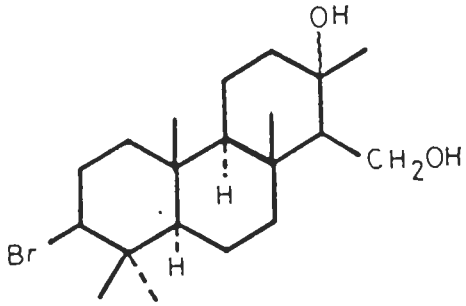
99



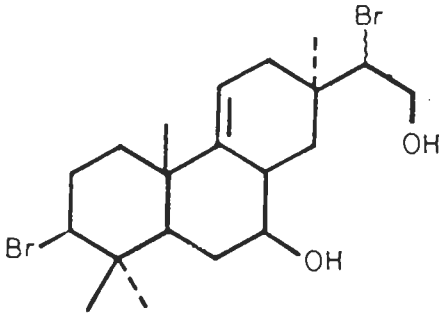
100



101

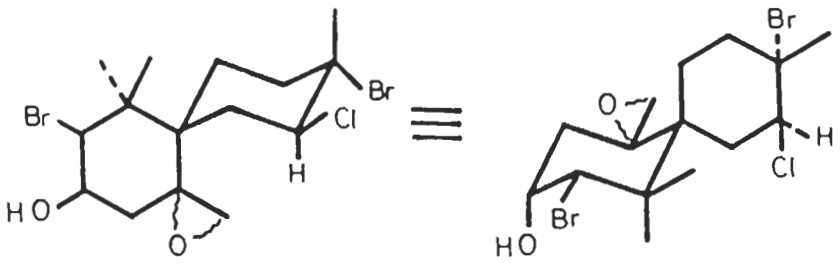


102



103

DETERMINACION DE LA ESTRUCTURA DEL EPOXIDO DE OBTUSOL (93).



93

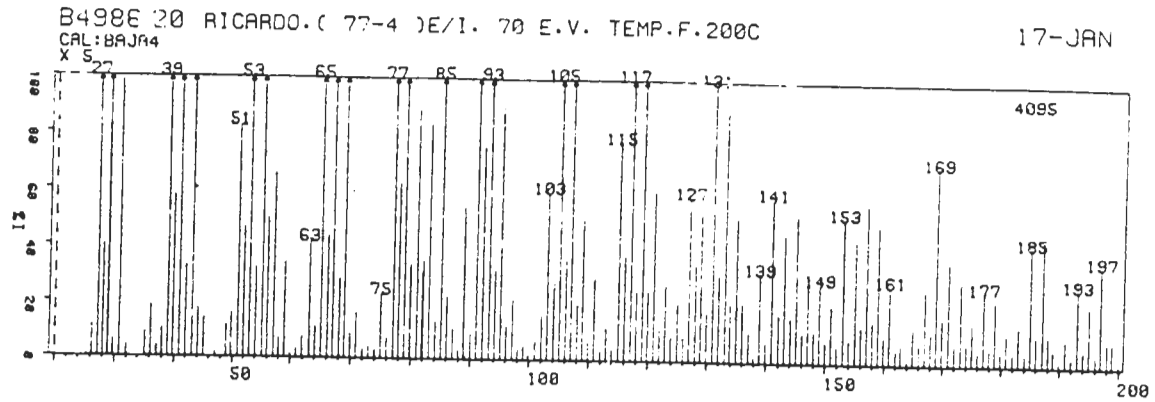
El epóxido de obtusol se obtuvo como un sólido cristalino de p.f. 103-105°C y $[\alpha]_D$ = +5,9° (c, 1'69, $CHCl_3$), de la fracción al 40 % del percolado inicial y posterior cromatografía de filtración por gel en Sephadex LH-20. El espectro de masas (Figura 1a), en el que no se observa el ión molecular muestra las siguientes fragmentaciones: M^+-Br a m/e 349, 351, 353 (calculado para $C_{15}H_{23}{}^{79}Br^{35}Cl^{16}O_2$, 350,0649, observado 350,0603); M^+-(Br + H_2O) a m/e 331, 333, 335 (calculado para $C_{15}H_{23}{}^{79}Br^{35}Cl^{16}O$, 333,0622, observado 333,0527); M^+-(Br + C_5H_9) a m/e 265, 267, 269 (calculado para $C_{10}H_{17}{}^{79}Br^{35}Cl^{16}O$, 267,0152, observado 267,0068); M+-(Br + HBr + H_2O) a m/e 251, 253 (calculado para $C_{15}H_{20}{}^{35}Cl^{16}O$, 251,1201, observado 251,1123). Por tanto, de estos datos se obtiene una fórmula empírica

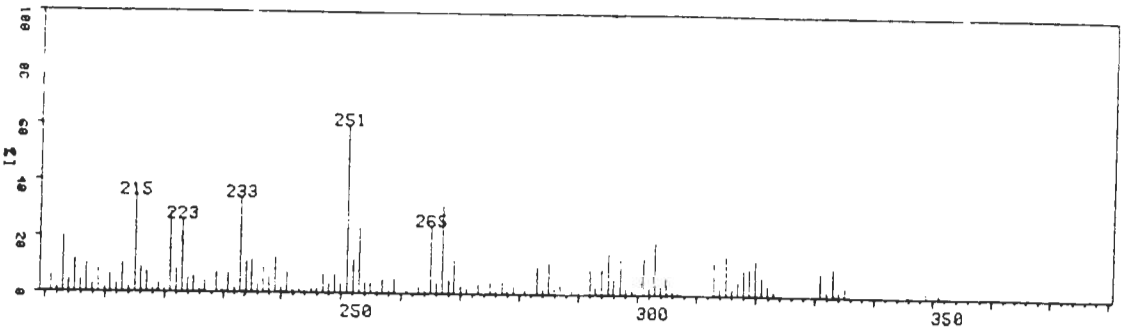
$C_{15}H_{23}Br_2ClO_2$, a la cual le corresponde un ión molecular a m/e 428, 430, 432 y 434 que, como se dijo, no se observa.

El espectro de I.R. (Figura 1b), en disolución de cloroformo, muestra un máximo a 3450 cm^{-1} (de -OH) y a 3050 del metileno de un grupo epoxi. El espectro de RMN-^{1}H (en disolución de $CDCl_3$, valores ∂), Figura 2, muestra las siguientes señales: 1,09 y 1,20 (s, 3H cada uno) correspondientes a un gem-dimetilo; a 1,82 (s, 3H) correspondiente a un metilo geminal a un halógeno; 2,74 (d, 1H, J = 4Hz) y 3,10 (dd, 1H, J = 2 y 4 Hz), asignables a los protones del metileno de un anillo epoxi; 4,23 (d, 1H, J = 3 Hz) de un protón en α a un hidroxilo; 4,42 (d, 1H, J = 3 Hz) de un protón en α a un halógeno y 5,00 (dd, 1H, J = 5 y 12 Hz) de un protón en α a un halógeno y en β a un gem-dimetilo.

El espectro de RMN-^{13}C ($CDCl_3$) muestra la presencia de tres grupos metilos a 20,51 (C-14), 24,97 (C-15) y 24,12 ppm (C-13); seis carbonos enlazados a heteroátomos, 50,00 (C-12), 58,39 (C-5), 67,18 (C-9), 67,73 (C-8), 69,38 (C-2) y 71,93 ppm (C-3); cuatro carbonos metilénicos, 25,18 (C-11), 36,19 (C-4), 37,27 (C-10) y 39,96 (C-7); y dos carbonos tetrasustituidos, 45,02 (C-1) y 46,18 (C-6).

Figuras 1a y 1b





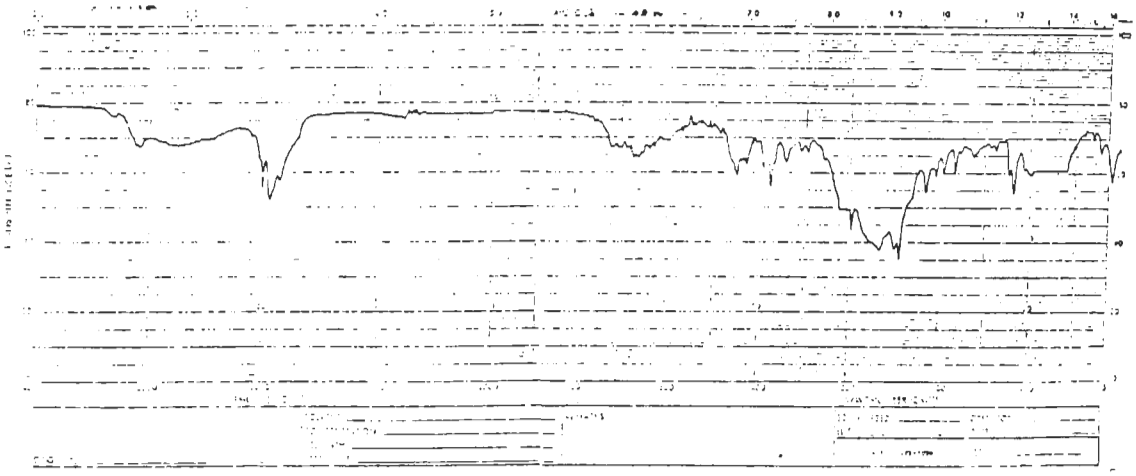
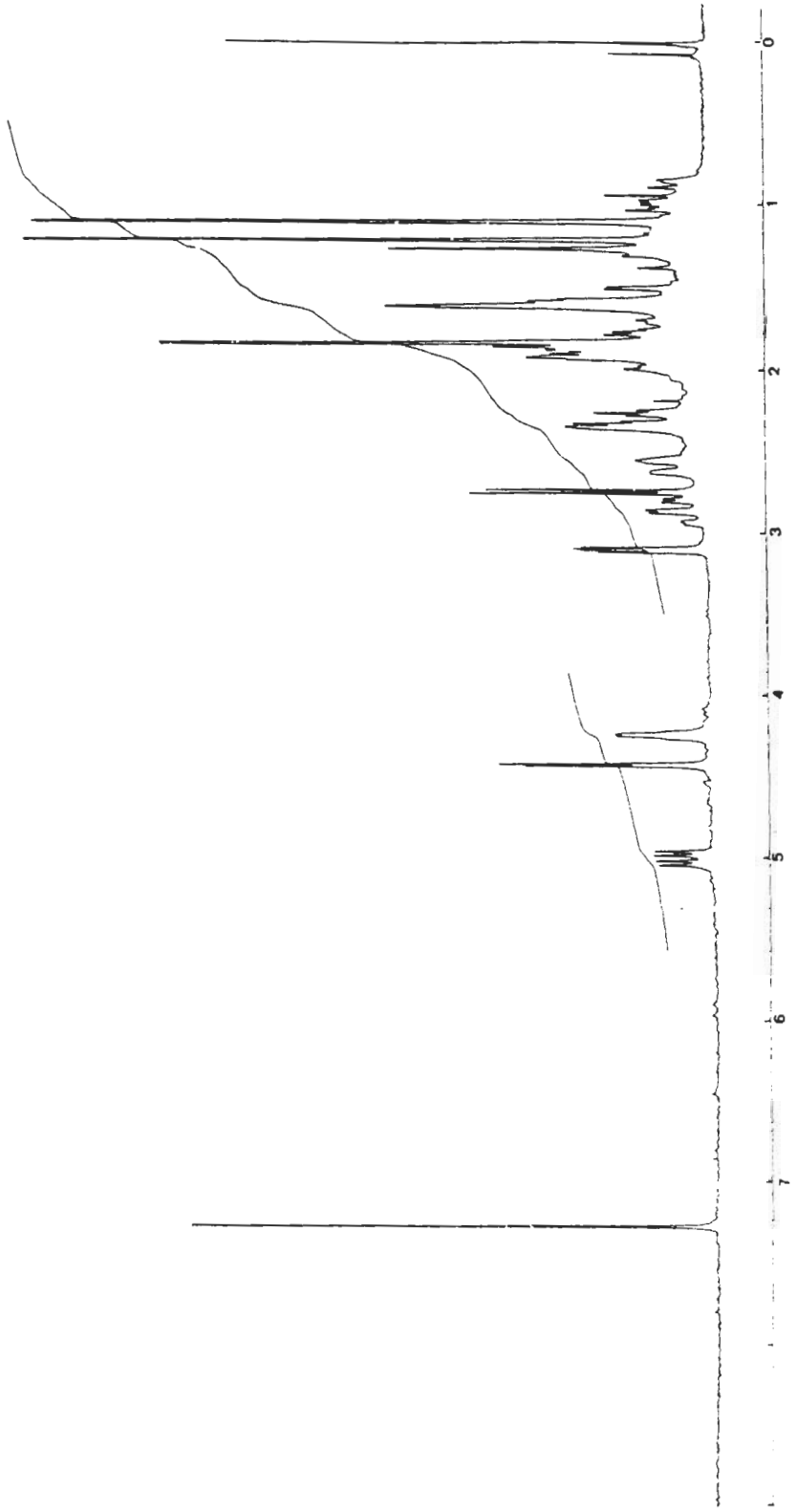
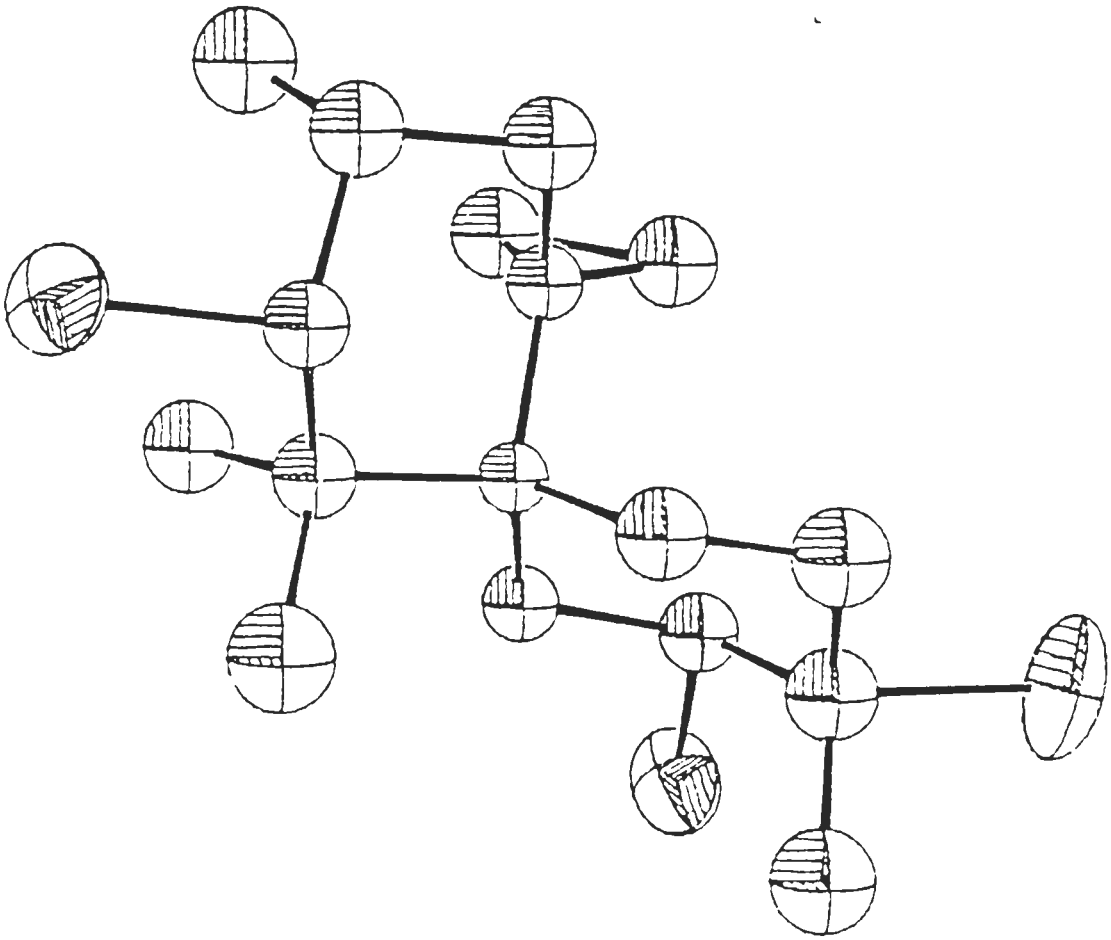


Figura 2



La comparación de los espectros con los del producto obtenido de la epoxidación del obtusol con ácido MCPB en benceno a temperatura ambiente, nos confirma que nuestro producto es el epóxido de obtusol. Con el fin de confirmar dicha estrustura, así como la de determinar la configuración absoluta de los centros quirales, se realizó un estudio de Rayos X cuyo resultado se expone en la figura 3.

Figura 3



DETERMINACION DE LA ESTRUCTURA POR DIFRACCION DE RAYOS X.

La aplicación de las técnicas físicas al estudio de los productos naturales ha permitido variar de forma dramática la rapidez y seguridad con que hoy es posible establecer la estructura, estereoquímica y configuración absoluta de estos compuestos y relacionarlas con sus funciones y propiedades.

Dentro de las técnicas físicas hoy utilizadas destaca, por sus particulares características, la difracción de rayos X sobre muestras monocristalinas. Aunque los fundamentos teóricos de la técnica fueron establecidos a comienzos de siglo y su aplicación práctica se ha efectuado desde entonces hasta nuestros dias, es a comienzo de los años setenta, con la irrupción de los modernos difractómetros automáticos y las computadoras de alta velocidad de cálculo, cuando se produce un desarrollo explosivo de la misma, y la irrupción de los químicos en un campo inicialmente reservado a los físicos.

Un cristal no es más que la repetición de forma ordenada, y siguiendo determinadas reglas, de un "motivo" o unidad asimétrica. Este "motivo" está en el caso de compuestos químicos integrado por

átomos o conjunto de átomos que se repiten en el espacio mediante operaciones de simetría y traslaciones definidas por los ejes de la celdilla cristalina.

El objetivo de un estudio por difracción de rayos X es justamente el de determinar las leyes geométricas que gobiernan la repetición del motivo (estructura cristalina) y la propia estructura del "motivo": número y tipo de átomos que lo componen, como están unidos entre si y como están distribuidos en el espacio (estructura molecular).

Si se hace incidir un haz monocromático de rayos-X sobre un monocristal, la radiación es dispersads por los electrones de los átomos que lo componen. Por tratarse de un medio con estructura periódica existiran interferencias constructivas y destructivas entre las ondas dispersadas, que originarán el espectro de difracción.

La cantidad dispersada por todo el conjunto de átomos en una dirección determinada se expresa mediante el factor de estructura en esa dirección (h, k, l)[95, 96]:

$$\vec{F}_{hkl} = \sum_j f_j \, [2\pi i (hx_j + ky_j + lz_j)]$$

que es una magnitud vectorial que consta de una amplitud (F_{hkl}) y una fase α_{hkl}.

La utilidad del conjunto de factores de estructura (espectro de difracción) radica en que a partir del mismo se puede generar mediante una transformación de Fourier un mapa de densidad electrónica:

$$p(x,y,z) = \frac{1}{V} \sum_h \sum_k \sum_l |\vec{F}_{hkl}| \cos[-2\pi(hx+ky+lz) + \alpha_{hkl}]$$

Los máximos de este mapa corresponden a las posiciones de los átomos en la estructura cristalina y molecular.

La síntesis de Fourier actúa en este contexto como un "microscopio matemático", recombinando los rayos difractados de amplitud (F_{hkl}) y fase α_{hkl}, para dar una imagen del objeto que hoy por hoy no es posible obtener con ninguna lente.

Experimentalmente sólo es posible medir la intensidad de los máximos de difracción, es decir el cuadrado de la amplitud, $I = |\vec{F}|^2$. Por tanto, el verdadero problema (problema de la fase) es encontrar las fases que corresponden a estos valores $(F)^2$ medidos. Sólo cuando estas fases se han determinado de alguna manera, es posible efectuar la transformación de Fourier antes mencionada. Los métodos actuales para la evaluación aproximada del conjunto de fases de los haces de difracción se clasifican en dos grandes grupos: los vectoriales[97)] y los probabilísticos[98-100)].

Utilizando alguno de estos métodos es posible estimar un conjunto de fases que unidas a las amplitudes medidas, nos permiten generar un modelo, que refinado, mediante técnicas matemáticas de mínimos cuadrados, nos proporcionan la solución total de la estructura.

El epóxido del obtusol (93) cristaliza en el sistema ortorrombico, grupo especial $P2_12_12_1$, a = 10.368 (2), b = 11.867 (5), c = 14.049 (3) Å; V = 1728.6 $Å^3$, Z = 4.

En el caso del epóxido de obtusol se midieron un total de 876 reflexiones, más 423 pares de Friedel. De las 876 reflexiones independientes, 858 (98%) fueron consideradas observadas, con el criterio $I > 3\sigma(I)$ y sometidas a correción para factores de Lorentz y polarización. No se realizó correción para absorción.

La localización de los átomos de halógenos se realizó por métodos vectoriales (síntesis de Patterson). La posterior expansión del modelo se hizo mediante sucesivas síntesis de Fourier, utilizando como fases iniciales las generadas por los átomos de halógeno. La medida de dos reflexiones de referencia, cada hora, indica que no existe descomposicion apreciable durante la toma de datos.

La mayoria de los átomos de hidrógenos fueron localizados mediante una síntesis de diferencia de

Fourier y los restantes situados en posiciones calculadas.

El refinamiento de la estructura se realizó por mínimos cuadrados, convergiendo a un residuo cristalográfico estándard de 6,4 %, considerando vibración anisotrópica para los átomos de halógeno, isotópicas para los átomos de carbono y oxígeno y contribución isotrópica fija para los hidrógenos.

En las Tablas 2 y 3 se dan las coordenadas de las posiciones atómicas en fracciones de eje y los factores de temperatura, respectivamente.

DETERMINACION DE LA CONFIGURACION ABSOLUTA.

Es bien conocido que el concepto que Pasteur denominó "disimetría" (ahora denominado quiralidad), puede estudiarse mediante métodos ópticos. Sin embargo, es sorprendente el hecho de que ni con los conocimientos actuales es posible establecer de forma inequívoca una relación entre el signo de rotación óptica y la configuración absoluta molecular[101]. No es necesario insistir sobre el extraordinario interés que tiene en el campo de los productos naturales la determinación de la configuración absoluta de una determinada sustancia, ya que aspectos como su biogénesis o su posible utilidad

TABLA 2.- Parámetros atómicos del epósido de obtusol (93). Coordenadas (x 10^4) y parámetros térmicos como UEQ= $(1/3)\Sigma(U_{ij}.a_i \times .a_j \times .a_i.a_j \cos[.a_i.a_j]) \times 10^3$.

ATOM	X/A	Y/B	Z/C	UEQ
Br1	15618(2)	9567(2)	8739(2)	62(1)
Br2	7996(2)	7042(2)	6406(2)	90(1)
Cl	10719(5)	5612(4)	5660(4)	64(2)
O1	10885(10)	6508(9)	8720(9)	53(3)
O2	14198(12)	7693(11)	9891(9)	66(4)
C1	13712(17)	8264(14)	7702(13)	42(5)
C2	13816(15)	9030(13)	8570(13)	43(5)
C3	13421(18)	8606(16)	9563(14)	53(6)
C4	12002(18)	8099(15)	9456(14)	51(5)
C5	11943(14)	7299(12)	8661(13)	36(4)
C6	12225(15)	7824(13)	7646(11)	30(4)
C7	12078(15)	6953(13)	6859(11)	37(4)
C8	10680(16)	6595(13)	6654(12)	41(4)
C9	9829(16)	7640(14)	6444(15)	53(5)
C10	9906(20)	8433(16)	7283(14)	58(6)
C11	11264(17)	8831(15)	7456(14)	49(5)
C12	12186(17)	6086(14)	8856(14)	53(5)
C13	14613(17)	7256(15)	7760(13)	53(5)
C14	13996(20)	9010(17)	6823(15)	69(6)
C15	9986(21)	8228(18)	5516(15)	66(6)

TABLA 3.-Parámetros atómicos del epóxido de obtusol (93). Parámetros térmicos como $\exp(-2\pi^2 \times \Sigma[u_{ij}.a_i \times .a_j \times .h_i.h_j]) \times 10^3$.

ATOM	U11	U22	U33	U12	U13	U23
Br1	60(1)	58(1)	69(2)	-27(1)	-9(1)	4(1)
Br2	40(1)	96(2)	133(2)	0(1)	-26(2)	-3(2)
C1	54(3)	69(3)	71(4)	-11(3)	0(3)	-23(3)
O1	53(3)					
O2	66(4)					
C1	42(5)					
C2	43(5)					
C3	53(6)					
C4	51(5)					
C5	36(4)					
C6	30(4)					
C7	37(4)					
C8	41(4)					
C9	53(5)					
C10	58(6)					
C11	49(5)					
C12	53(5)					
C13	53(5)					
C14	69(6)					
C15	66(6)					

farmacológica estan íntimamente conectados con la misma. por estas razones, y dada la idoneidad de la difracción de rayos-X, para resolver esta cuestión se ha abordado también la determinación de la configuración absoluta de la molécula aqui estudiada. El fundamento del método empleado radica en el no cumplimiento de la ley de Friedel[104]. Cuando la frecuencia de la radiación incidente difiere marcadamente de la frecuencia de absorción de radiación de los átomos que componen el cristal, los factores de estructura en cualquier dirección (h, k, l) son idénticos a los correspondientes a una dirección centrisimétrica con ella.

$$\vec{F}_{hkl} = \vec{F}_{\bar{h}\bar{k}\bar{l}}$$

(Ley de Friedel)

Esta circunstancia deja de cumplirse cuando el número atómico de alguno de los átomos que componen la molécula es próximo al del elemento químico utilizado para generar la difracción de rayos-X, es decir el elemento químico que constituye el ánodo del tubo de generación de rayos-X. En estas circunstancias

$$\vec{F}_{hkl} \neq \vec{F}_{\bar{h}\bar{k}\bar{l}}$$

y el fenómeno se denomina dispersión anómala. Bajo estas circunstancias las medidas observadas experi-

mentamente de F_{hkl} y $F_{\bar{h}\bar{k}\bar{l}}$ pueden compararse con los valores calculados matamáticamente. Las relaciones:

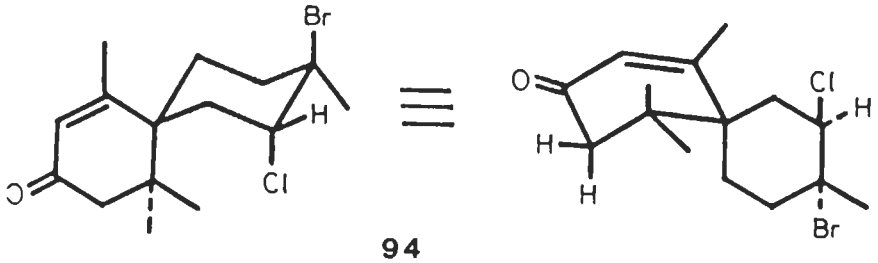
$$\frac{F_{obs}\ (h,k,l)}{F_{obs}\ (\bar{h},\bar{k},\bar{l})} \quad y \quad \frac{F_{cal}\ (h,k,l)}{F_{cal}\ (\bar{h},\bar{k},\bar{l})}$$

deben ser ambas del mismo signo si se está trabajando con el enantiómero correcto o de distinto signo si el modelo elegido es el erróneo. Si los efectos de dispersión anómala son pronunciados es suficiente comparar sólo algunas parejas de $F_{(hkl)}$ y $F_{(\bar{h}\bar{k}\bar{l})}$, denominadas pares de Bijvoet, pero en ocasiones es necesario comparar un número más elevado de observaciones. Utilizándose en estos casos como estimador una diferencia promediada entre pares:

$$R = \frac{\Sigma(|\Delta F_{obs} - \Delta F_{cal}|)}{N}$$

Para nuestro caso se utilizaron los 29 pares de Bijvoet más significativos con $F_0 > 15\sigma(F_0)$, $15. < F_0 < 50.$ y $.2 < \mathrm{sen}\theta/\lambda < 2.$. Las diferencias promedio entre pares de Bijvoet son: 4.096 para el enantiómero erróneo frente a 1.202 para el correcto, que se representa en la figura 3 en dibujo generado por el programa ORTEP.

DETERMINACION DE LA ESTRUCTURA DE LA CETONA DE 2-DEBROMO ISOOBTUSOL (94)



94

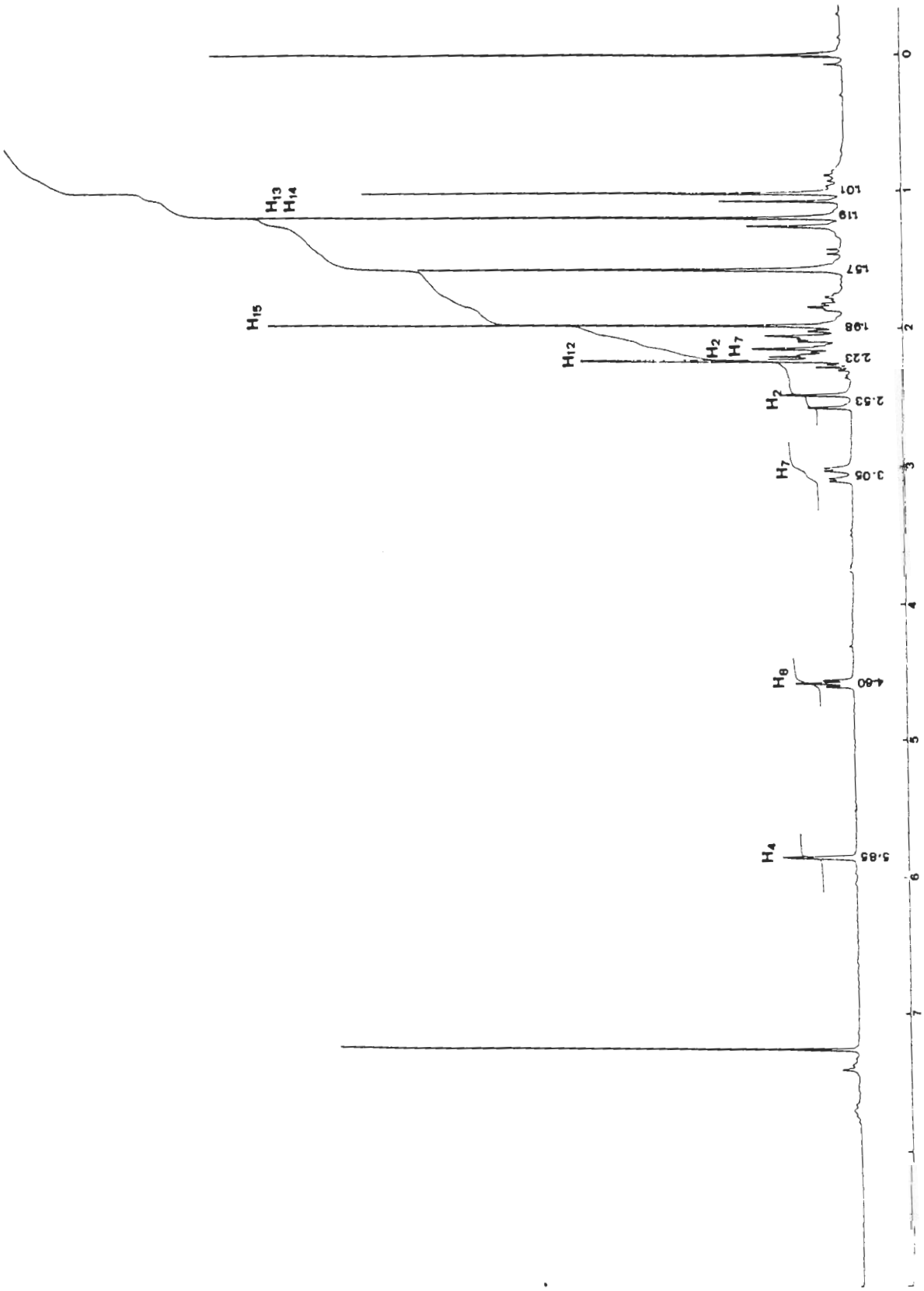
El producto (94) se aisló como un sólido cristalino, p.f. 67-69°C, $[\alpha]_D$= + 65.7° (c. 0.275, $CHCl_3$), después de cromatografiar en Sephadex LH-20 y, posteriormente, en gel de sílice, tipo G, la fracción del 40 % del percolado inicial del extracto acetónico del alga Laurencia sp. recolectada en Gáldar.

La fórmula molecular fue establecida en base a su espectro de masas: M^+ a m/e 332, 334, 336, $C_{15}H_{22}BrClO$; M^+- (CH_2-CO) a m/e 290, 292; M^+-C_4H_8 a m/e 276, 278, 280; M^+-Br a m/e 253; M^+- (Cl + C_4H_8) a m/e 241, 243.

La naturaleza de cetona α,β-insaturada se pone de manifiesto por la absorción en el UV (EtOH) a λ= 242 nm , ε= 11200, y en el IR, 1660 y 1605 cm^{-1}.

El espectro de RMN-^{1}H ($CDCl_3$, figura 4, mues-

Figura 4


H13
H14
H15
H12
H2
H7
H2
H7
H6
H4
1.01
1.19
1.57
1.98
2.23
2.53
3.05
4.60
5.85
0
1
2
3
4
5
6
7

tra las siguientes señales: a ∂ 1.01 y 1.19 (s, 3H cada uno), de un gem-dimetilo; 1.57 (s, 4H); 1.98 (s, 3H) de un metilo en α a un bromo; 2.23 (d, 3H, J= 1 Hz) de un metilo vinílico; 2.53 (d, 1H, J= 18 Hz) y 3.06 (dd, 1H, J= 4 y 15 Hz); 4.6 (t, 1H, J= 4 Hz) correspondiente a un protón geminal a un cloro; 5.85 (d, 1H, J= 1Hz) de un protón vinílico.

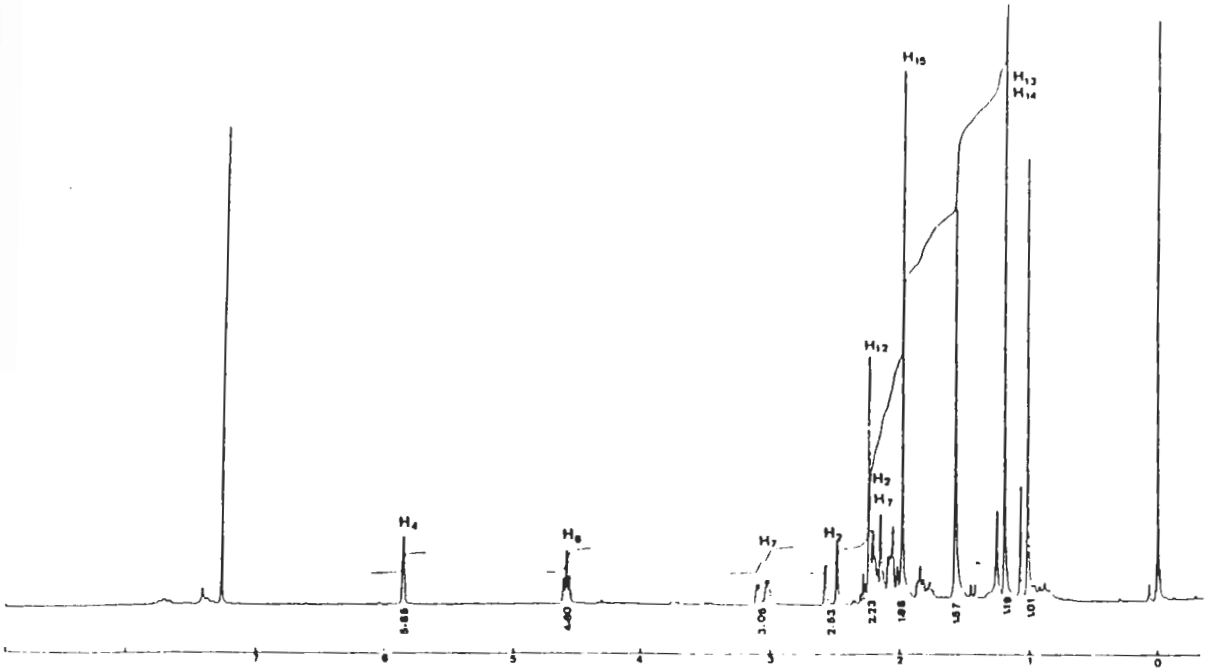
En el espectro bidimensional COSY ^{1}H-^{1}H (figura 5) se puede observar las siguientes correlaciones:

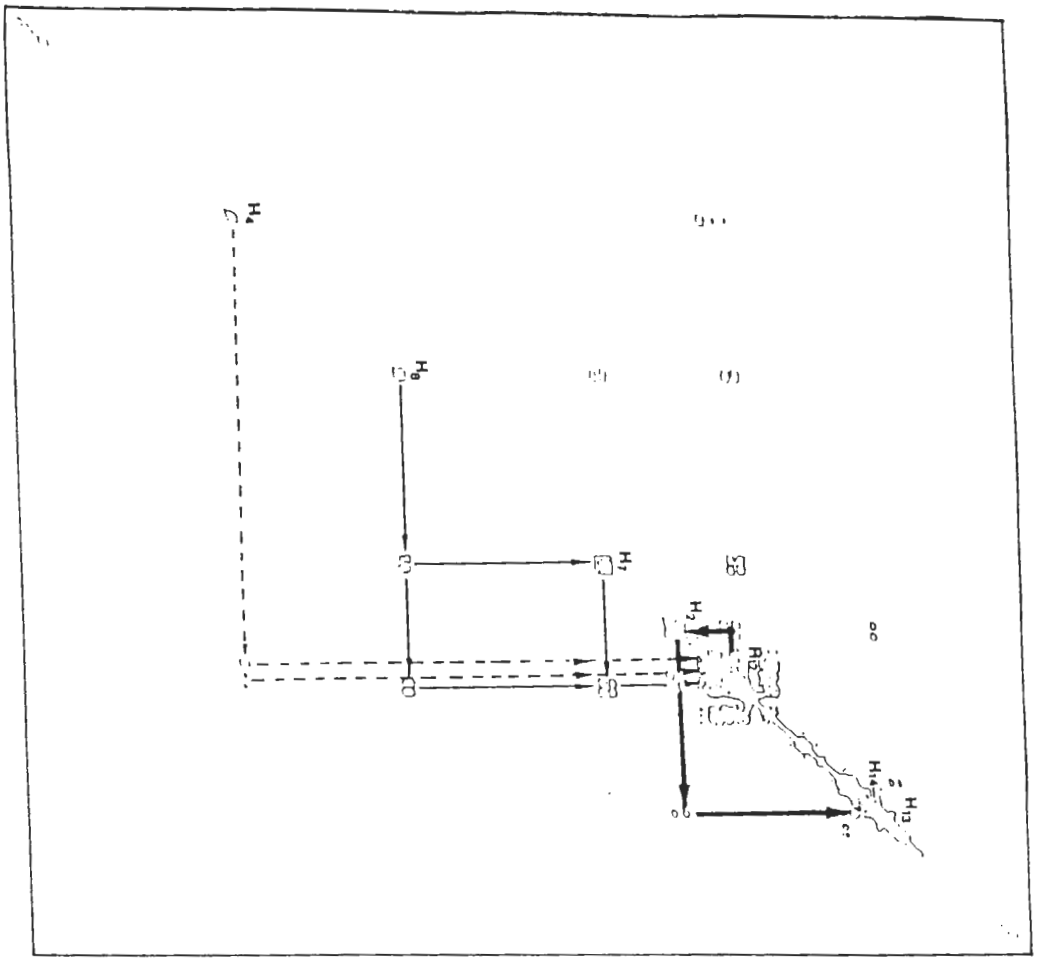
La señal centrada a 5.85 (H_4) se correlaciona con las señales centradas a 2.23 (H_{12}) y 2.18. El triplete a 4.6 se correlaciona con la señal a 3.05, que a su vez se correlaciona con la señal a 2.18, y ésta a su vez con la centrada a 2.53.

El espectro de RMN-^{13}C muestra catorce señales, no siendo observable la correspondiente al carbono carbonílico C-3: cuatro metilos a 24.05 (C-15), 25.08 (C-12) y 31.49 (C-13 y C-14); cuatro metilenos, 49.07 (C-2), 39.62 (C-7), 36.32 (C-10) y 24.24 (C-11); dos metinos, 65.38 (C-9) y 127.43 (C-4); y cuatro carbonos tetrasustituidos, 42.41 (C-1), 43.10 (C-6), 68.3 (C-9) y 170.3 asignable al carbono tetrasustituido, C-5.

La reación del isoobtusol[105] con alúmina en éter sulfúrico conduce a la obtención de un produc-

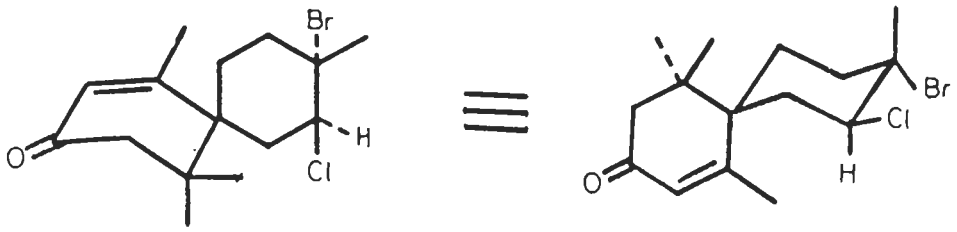
Figura 5


H15
H13
H14
H12
H2
H7
H4
H8
H7
H2
5.88
4.60
3.06
2.53
2.23
1.98
1.57
1.19
1.01
7
6
5
4
3
2
1
0


H4
H8
H7
H2
H14
H13

to que coincide en el punto de fusión, actividad óptica y espectros de RMN-^{1}H y de ^{13}C con el producto 94 aislado de fuente natural.

DETERMINACION DE LA ESTRUCTURA DE LA CETONA ISOMERIZADA DEL 2-DEBROMO OBTUSOL (95)



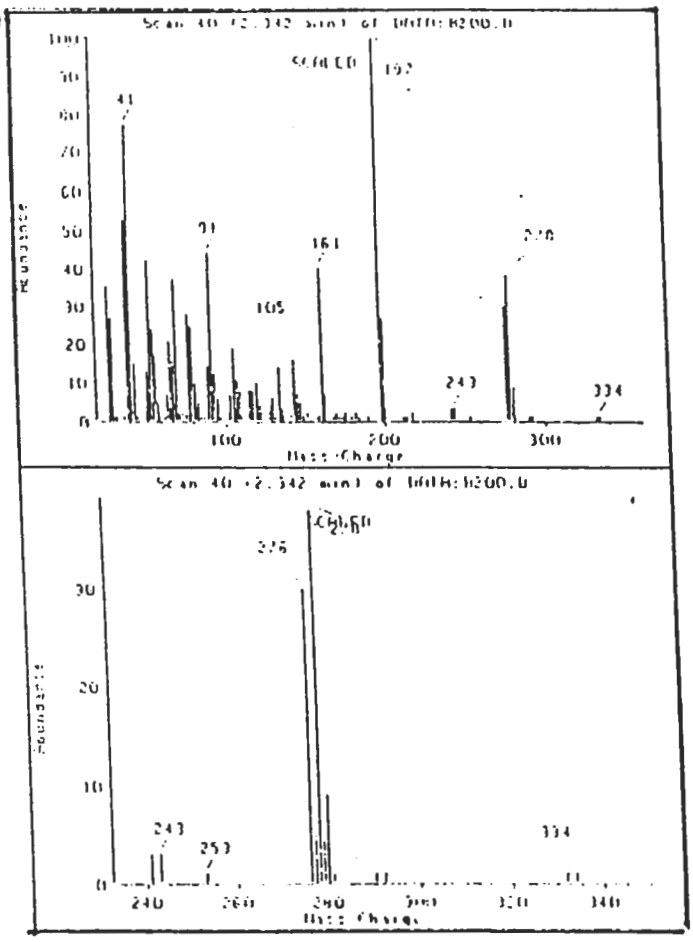
95

Se aisló como un producto blanco cristalino de p.f. 101-103°C, $[\alpha]_D$= +43.6° (c, 0.6, $CHCl_3$), previa acetilación de las fracciones resultantes de la cromatografía en gel de sílice de la fracción del 40 % del percolado del extracto acetónico de la especie recolectada en Gáldar y posteriores cromatografías en placa preparativa.

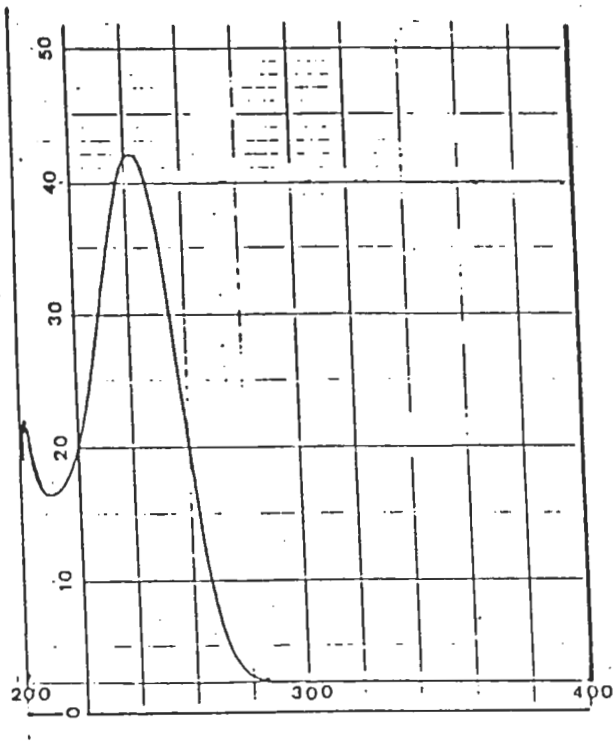
La fórmula molecular se estableció en base a su espectro de masas (figura 6a) que muestra las siguientes señales: M^+ a m/e 332, 334 ($C_{15}H_{22}BrClO$); m/e 290, 292, M^+- C_2H_2O; 276, 278,

Figuras 6a y 6b

a)



b)



280, $M^+ - C_2H_2O_2$; m/e 253 $M^+ - Br$; 241, 243, $M^+ - (C_2H_2O_2 + Cl)$.

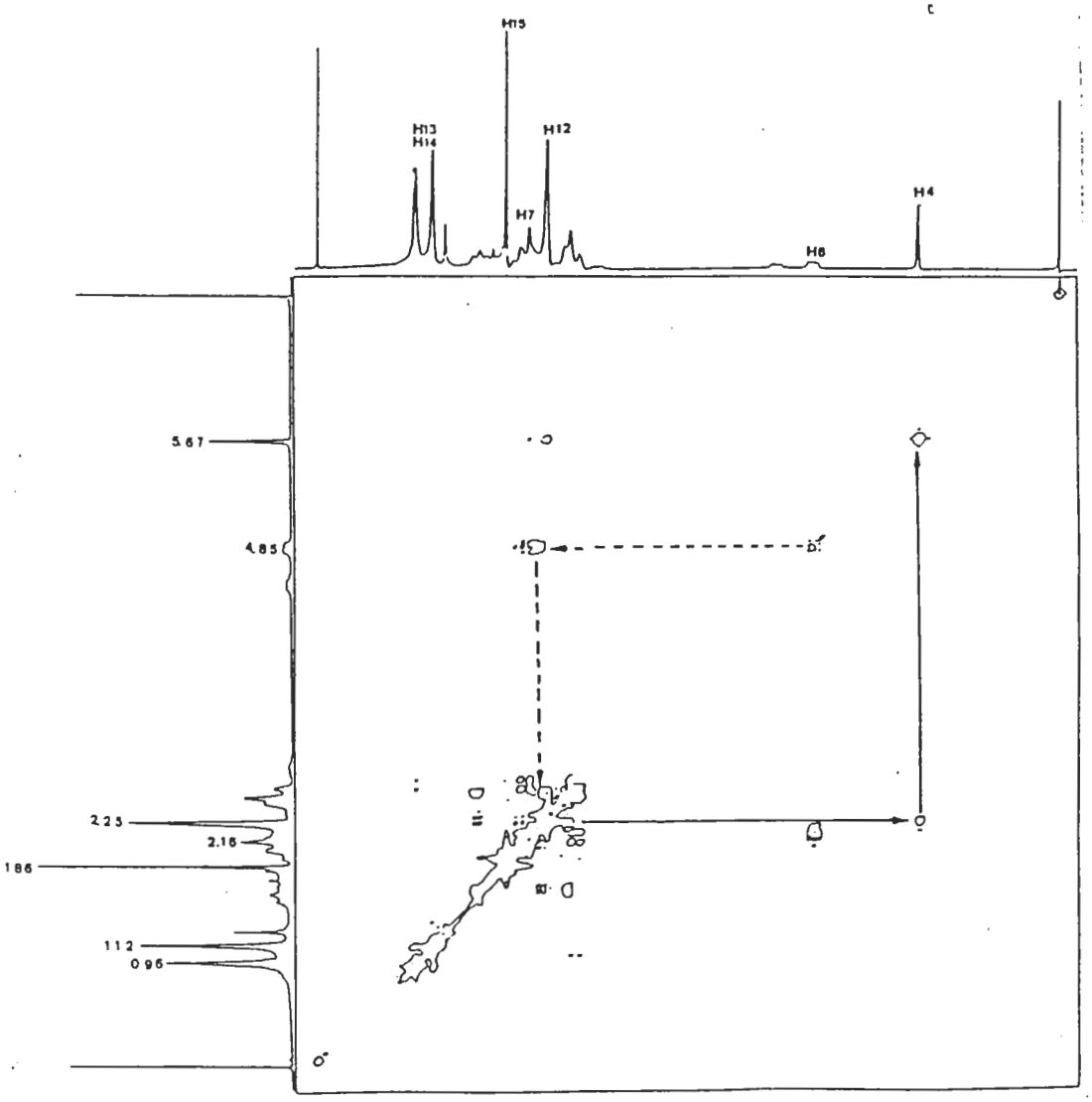
El espectro UV (EtOH), figura 6b, muestra un máximo de absorción a λ= 242 nm (ϵ= 10.500). El espectro de IR ($CHCl_3$) muetra absorción a 1670 cm^{-1}.

El espectro de RMN-^1H (200 MHz, $CDCl_3$, valores ∂) muestra las señales siguientes: 0.96 y 1.12 (s, 3H cada uno) correspondientes a un gem-dimetilo, 1.86 (s, 3H) de un metilo geminal a un halógeno; 2.25 (d, 3H, J= 1Hz) de un metilo vinílico; 4.85 (dd, 1H, J= 6 y 12 Hz) de un protón en α a un halógeno; 5.87 (d, 1H, J= 1Hz) correspondiente a un protón vinílico.

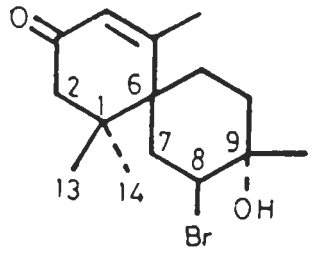
En el espectro bidimensional COSY ^1H-^1H (figura 7) se observa la correlación existente entre la señal a 5.87 y 2.25, así como la señal a 4.85 con la señal centrada a 2.16.

Este producto (95) coincide en su punto de fusión, actividad óptica y espectro de IR y de RMN-^1H con el producto que se obtiene de la reación de obtusol con alúmina de columna en éter etílico[105].

Figura 7



DETERMINACION DE LA ESTRUCTURA DEL COMPUESTO 96

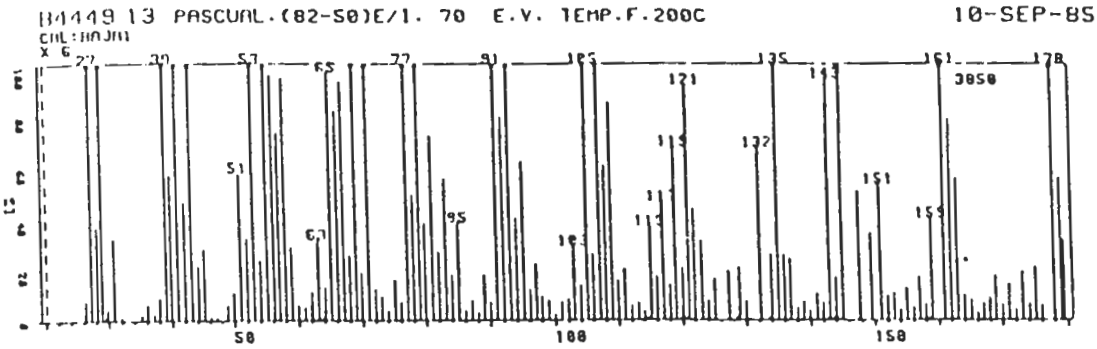


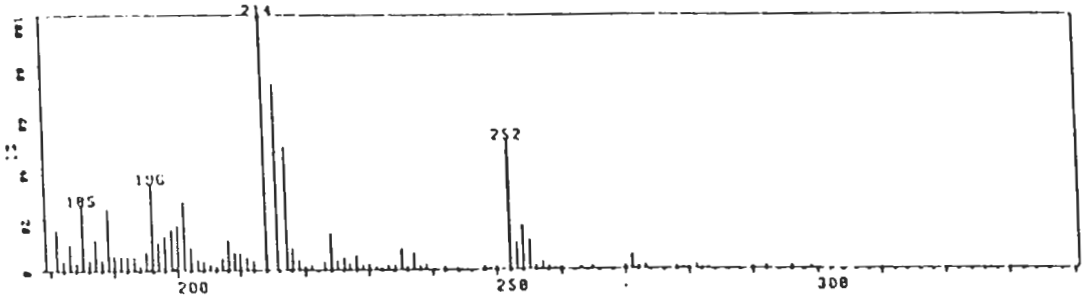
96

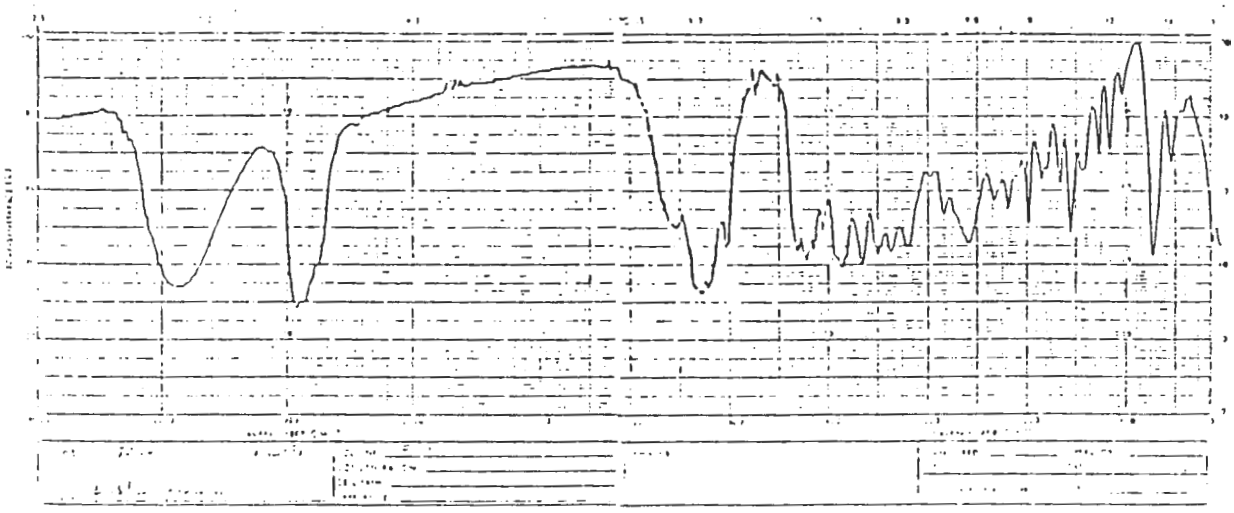
El compuesto 96 se aisló de las fracciones más polares del extracto acetónico, previa metilación de las mismas con CH_2N_2 a 0°C, del alga *Laurencia* sp. recogida en Gáldar (Gran Canaria). El compuesto resultó ser un sólido cristalino incoloro de p.f. 109-110° C, $[\alpha]_D$= -57,3 (c, 0,75, $CHCl_3$). En base a su espectro de masas, figura 8a, se le asignó la fórmula empírica $C_{15}H_{23}BrO_2$ correspondiente a un ión molecular M^+ a m/e 314, 316 (no observado); (M^+- Br), $C_{15}H_{23}O_2$, a m/e 234, 236; (M^+- [CH_3-CO]), m/e 271, 273; (M^+- [CH_3-CO + H_2O + H]), a m/e 252, 254.

El espectro de UV (EtOH) presenta un máximo de absorción a λ= 241 nm (ϵ= 16.900), calculado para la estructura propuesta λ_{max}= 239 nm. El espectro de I.R. ($CHCl_3$), figura 8b, muestra las señales características de una cetona α,β-insaturada (1650

figuras 8a y 8b







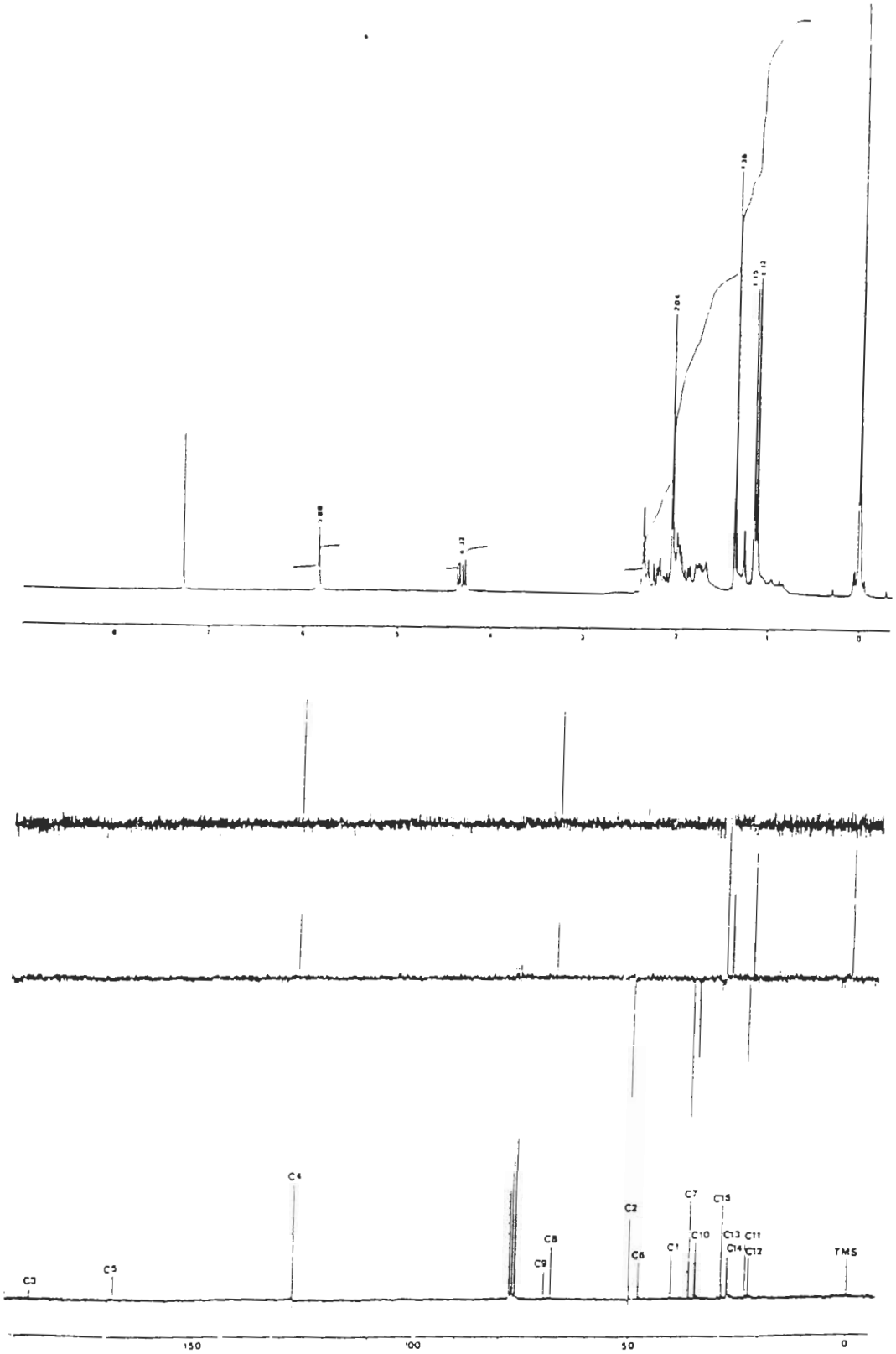
y 1605 cm^{-1}) y de la presencia de un grupo hidroxilo (3450 cm^{-1}). Estos datos, junto con la fórmula molecular, indicativa de la presencia de cuatro lugares de insaturación en la molécula, sugieren que el compuesto 96 es una enona sesquiterpénica bicíclica.

El espectro de RMN^{1}H ($CDCl_3$), figura 9a, presenta las señales correspondientes a un gem-dimetilo (1.12 y 1.15, s, 3H cada uno), de un metilo geminal a un grupo hidroxilo (1.36, s, 3H), de un metilo vinílico (2.04, d, 3H, J= 1Hz), de un protón en α a un átomo de bromo (4.32, dd, 1H, J= 5 y 12 Hz) y de un protón vinílico (5.88, d, 1H, J= 1Hz).

El espectro de RMN-^{13}C, (figura 9b), pone de manifiesto las señales a campo bajo de un grupo carbonílico (187 ppm, singlete) y de un doble enlace trisustituido (157.78, singlete, y 127.30 ppm, doblete), así como el singlete correspondiente al carbono cuaternario portador del grupo hidroxilo (69.95 ppm). La presencia de un doblete a campo bajo (68.32 ppm) es atribuible al halógeno en la molécula.

La asignación de los metilenos de la molécula se hace como sigue: el C-2, que es alfa a un grupo carbonilo y a un carbono cuaternario, debe resonar a campo más bajo que los otros carbonos metilénicos (50.18). El C-7, por su parte, es alfa a un centro

Figuras 9a y 9b



cuaternario y a un halógeno ecuatorial, resonará a campo más bajo que el C-10, por lo que le es asignada la señal a 34.92 ppm. Al C-10 se le asigna la señal a 36.38 ppm. Por defecto, la señal a 23.45 ppm, es asignada al C-11.

El COSY (HETCOR) $^{1}H-^{13}C$ (figura 10), nos permite hacer las asignaciones correspondientes a los metilos de la molécula, así como las correlaciones que se indican a continuación:

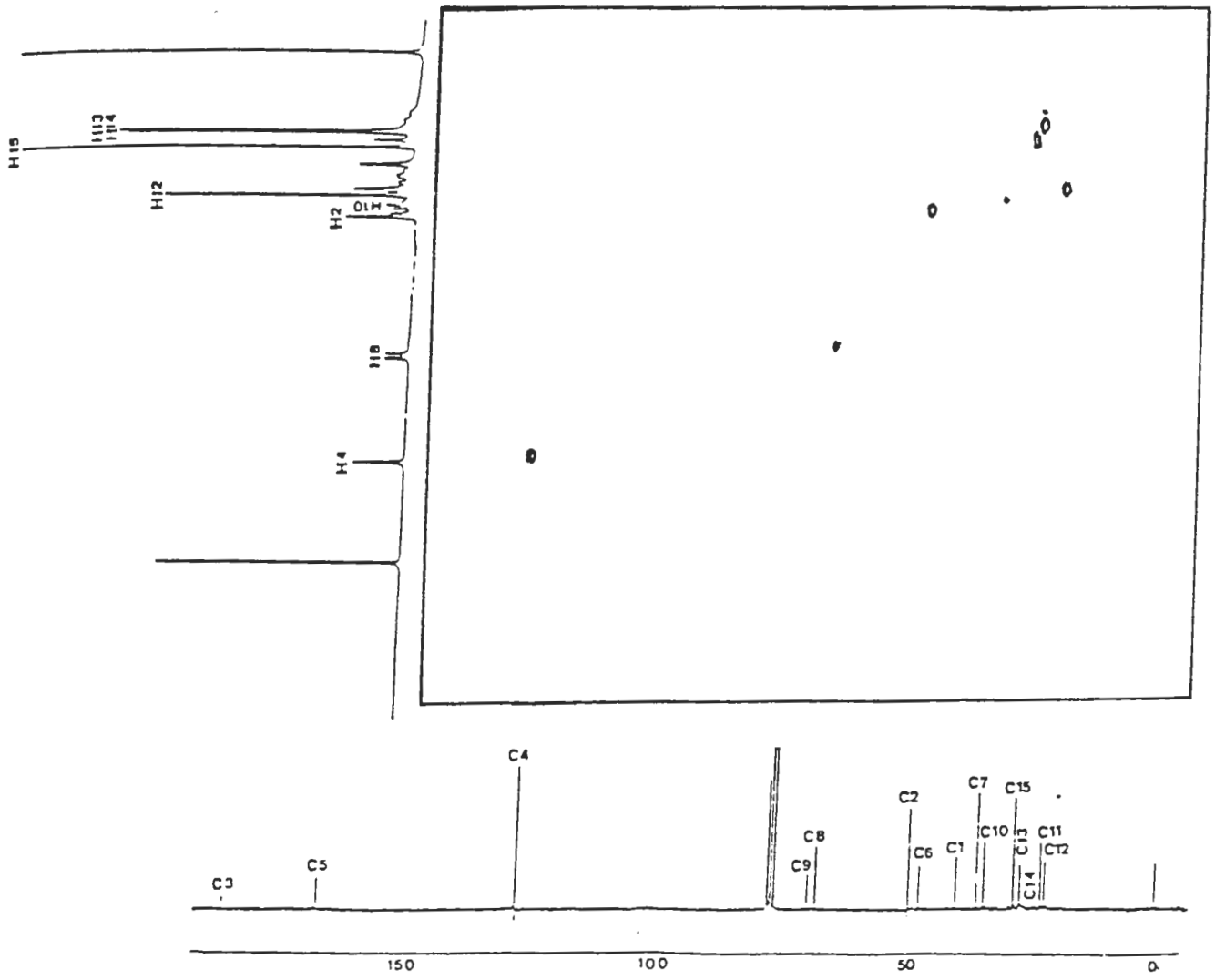
La señal a 2.04 se correlaciona con la señal a 22.64 ppm, cuyo desplazamiento corresponde a un metilo vinílico.

La señal centrada a 1.36 se correlaciona con la señal a 29.00 ppm, cuyo desplazamiento corresponde a un metilo geminal a un grupo hidroxilo.

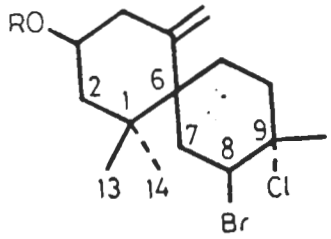
Las señales a 4.32 y 5.88 se correlacionan con las señales a 68.32 y 127.3, respectivamente, que corresponden a los carbonos C-8 y C-4.

Las señales de los dos metilos geminales (C-13 y C-14) no son distinguibles al tener casi el mismo desplazamiento químico (27.53 y 27.69 ppm).

Figura 10


H15
H13
H14
H12
H10
H2
H8
H4
C4
C3
C5
C8
C9
C2
C6
C1
C7
C10
C15
C13
C14
C11
C12
150
100
50
0

DETERMINACION DE LA ESTRUCTURA DEL COMPUESTO 97



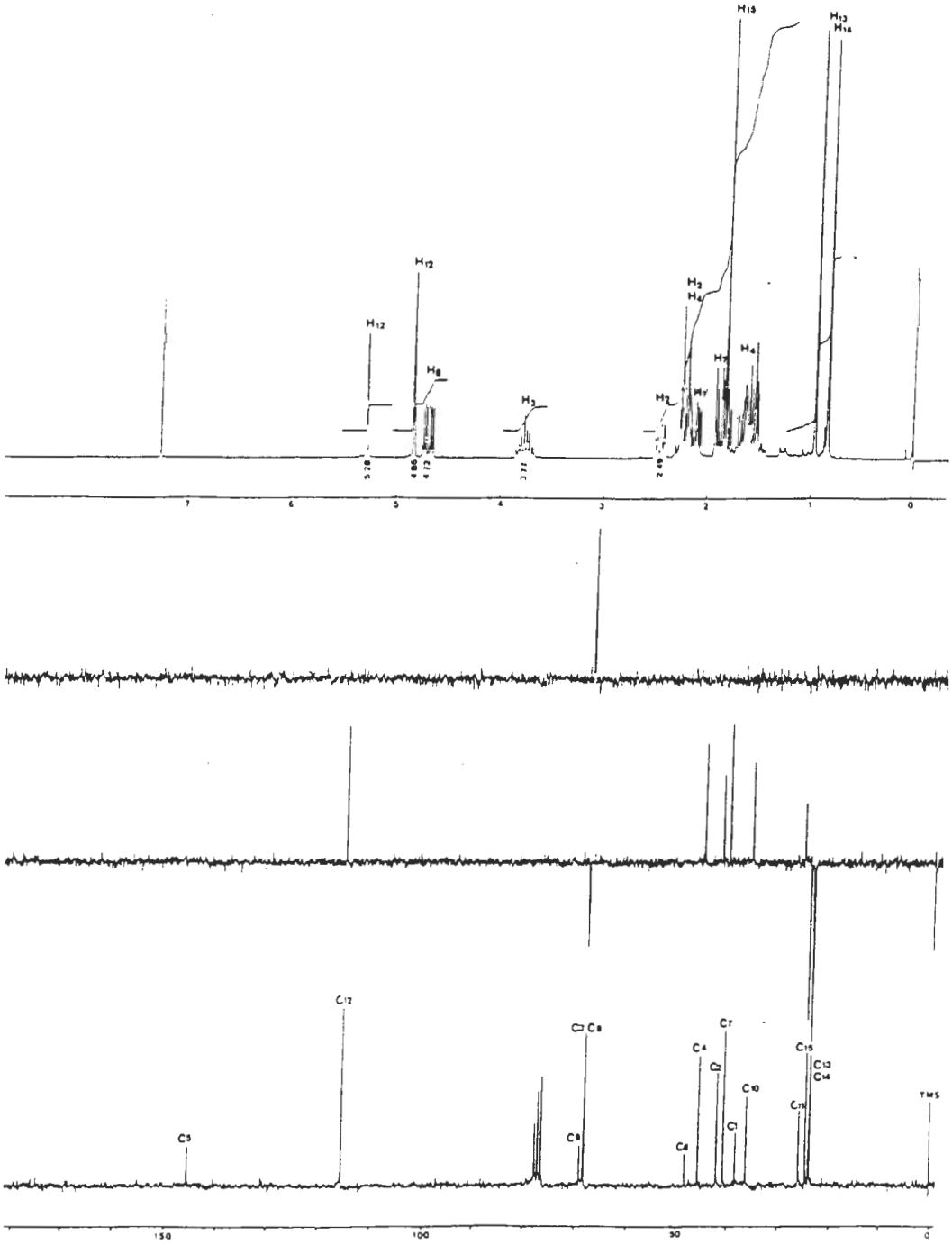
97 R=H
97a R=Ac

El producto 97 se aisló como un sólido cristalino de punto de fusión 97-98°C, $[\alpha]_D$= +30° (c, 0.5, $CHCl_3$), trás sucesivas cromatografías en placa preparativa, después de metilar las fracciones más polares del extracto acetónico del alga recogida en Gáldar, Playa de Dos Roques. La fórmula molecular se determinó como $C_{15}H_{24}BrClO$ en base a su espectro de masas: M^+ a m/e 334, 336, 338; (M^+-H_2O) a m/e 316, 318; (M^+- [CH_3 + H_2O]) a m/e 301, 303, 305; (M^+- [Cl + CH_3]) a m/e 282, 284; (M^+- [Br + H_2O]) a m/e 237, 239. El espectro de IR ($CHCl_3$) muestra señales a 3390 (-OH) y 3080 cm^{-1} (>C=CH_2).

El espectro UV (EtOH) presenta un máximo de absorción a 268 nm.

El espectro de RMN-^{1}H ($CDCl_3$, valores ∂) muestra las siguientes señales: 5.28 y 4.86 (s, 1H cada uno) correspondientes a los protones de un metileno exocíclico; 4.72 (dd, 1H, J= 4 y 12 Hz) de un

Figuras 11a y 11b



protón en posición α a un bromo; 3.77 (m, 1H) de un protón geminal a un grupo hidroxilo; 1.82 (s, 3H) de un metilo an α a un átomo de cloro; 0.96 y 0.84 (s, 3H cada uno) correspondintes a un gem-dimetilo, figura 11a.

El espectro de RMN-^{13}C ($CDCl_3$), figura 11b, muestra la presencia, a campos bajos, de un doble enlace exocíclico (145.47 ppm, singlete, y 115.67 ppm, triplete), así como el singlete correspondiente al carbono cuaternario halogenado, C-9 (69.07). Esta última señal aparece inalterada en el espectro del acetato del compuesto 97.

La presencia de dos dobletes a campos bajos, 68.48 y 68.29 ppm, son atribuibles al halógeno y al grupo hidroxilo de la molécula. La comparación con el espectro del acetato pone de manifiesto que una señal permanece casi constante (68.12 ppm), mientras que la otra se desplaza a campo más bajo (70.76); además, como regla general, un carbono que porte un grupo hidroxilo se desplazará a campos más bajos que uno que tenga halógena. Por tanto, la señal a 68.29 será atribuible al C-8, mientras que al C-3 se le asignará la señal a 68.44 ppm.

Una comparación análoga permite distinguir los metilenos de la molécula. al comparar ambos espectros se observa que tres señales permanecen inalteradas (26.06, 36.28 y 40.83 ppm) respecto al aceta-

to. Estas tres señales corresponderan a los metilenos del anillo B. El C-7 se desplazará a campo más bajo que el C-10, por encontrarse en posición α a un carbono espiránico y a un carbono con halógeno. Por su parte, el C-10 lo hará a campo más bajo que el C-11.

Los otros dos metilenos de la molécula, C-2 y C-4, se desplazaran a campos más altos en el acetato que en el alcohol. Los dos carbonos sufren un desplazamiento de , aproximadamente, 4 ppm a campos más altos, de 45.83 y 42.91 a 41.61 y 38.11 ppm, respectivamente. De una forma general, se puede observar que un carbono próximo a un doble enlace tiende a resonar a campos más altos que en el carbono normal[106]. Es decir, el metileno desplazado a campo más bajo corresponderá al C-2 (45.83), mientras que el C-4 lo hará a 42.19 ppm.

La asignación de los carbonos C-1 y C-6 se hace por comparación con los espectros del obtusol, nidificeno y 2-debromo obtusol. En estos productos, el C-6 resuena a campo más bajo que el C-1. De este modo la señal s 48.49 ppm le será asignada al C-6, y la de 38.37 al C-1.

La asignación de los metilos es hecha como sigue: comparando el espectro del compuesto 97 con la de su acetato, se observa que una señal permanece casi constante tanto en posición (24.09

ppm) como en intensidad de pico. Evidentemente dicho metilo corresponderá al C-15, es decir, al sustituido en el centro cuaternario. Los otros dos metilos, C-13 y C-14, fueron asignados teniendo en cuenta que siempre un metilo axial resuena a campo más alto que un metilo ecuatorial, y además en vista del pequeño desplazamiento a campos altos al cambiar de alcohol a acetato (debido a efecto estéreo) que sufriría el metilo. Al C-14 le es asignada la señal a 24.77 ppm.

El COSY ^1H-^1H, figura 12, nos permite correlacionar las siguientes señales:

Los protones del metileno exocíclico están correlacionados con los protones centrados a 1.53 y a 2.45, protones del C-4.

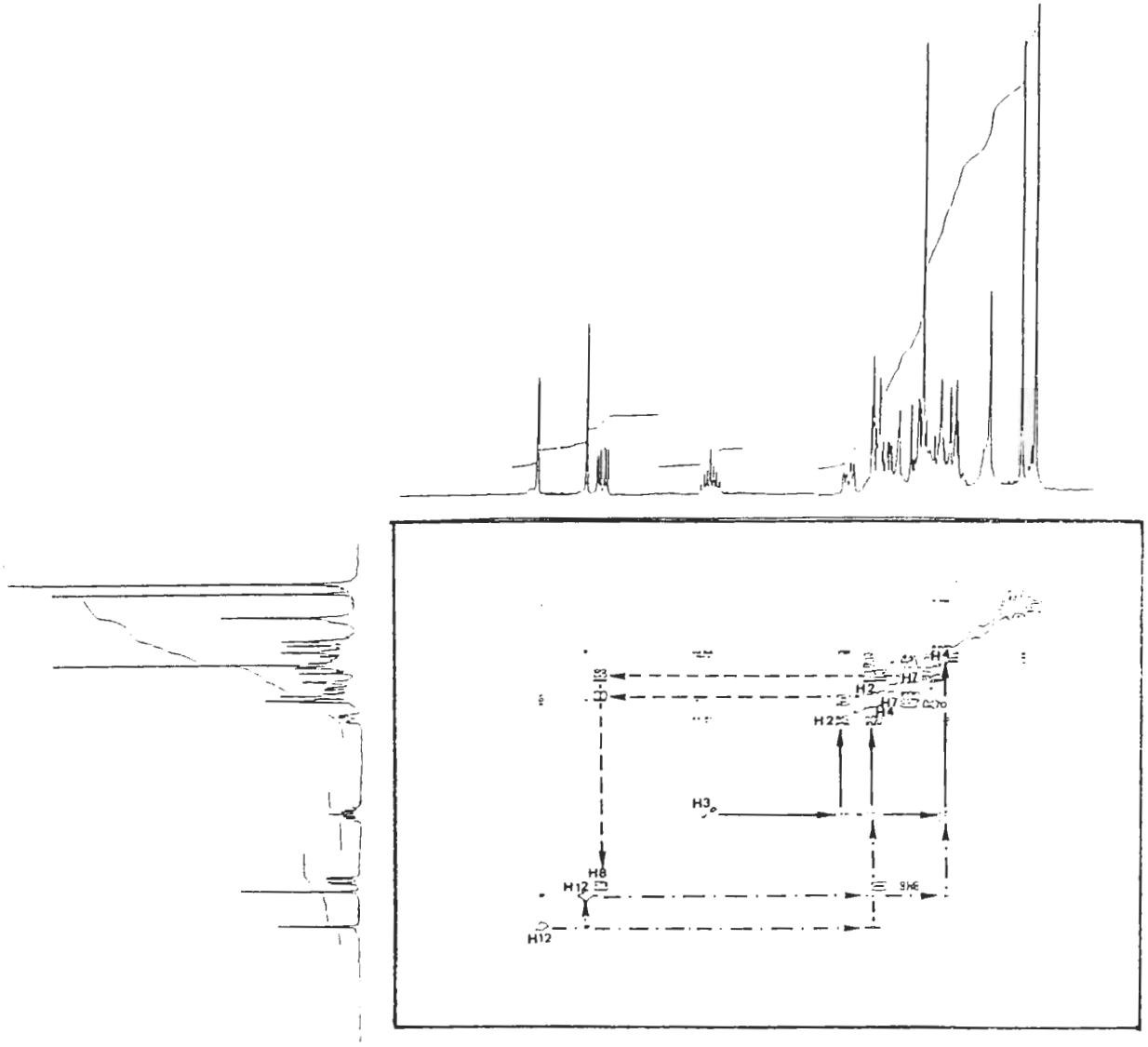
El protón geminal al átomo de bromo (H_8), centrado a 4.72, se correlaciona con los protones del C-7, centradas a 1.58 y 2.45.

El protón en α al grupo hidroxilo (3.77) está correlacionado con los protones centrados a 1.53, 2.45 y 2.49, los cuales, a su vez, lo están entre sí.

El compuesto 97 fue acetilado con anhídrido acético en piridina a temperatura ambiente para dar el acetato 97 a, sólido no cristalino, $[\alpha]_D$= +13.8° (c, 0.6, $CHCl_3$).

La fórmula molecular de este acetato fue

Figura 12



establecida como $C_{17}H_{26}BrClO_2$ mediante el E.M. En éste puede observarse fragmentaciones a m/e 316, 318, ($C_{15}H_{23}BrCl$), debida a la pérdida del acetato; 236, 237 debida a laa pérdidas de acetato y bromo; 200, 201 por pérdidas de acetato, bromo y cloro.

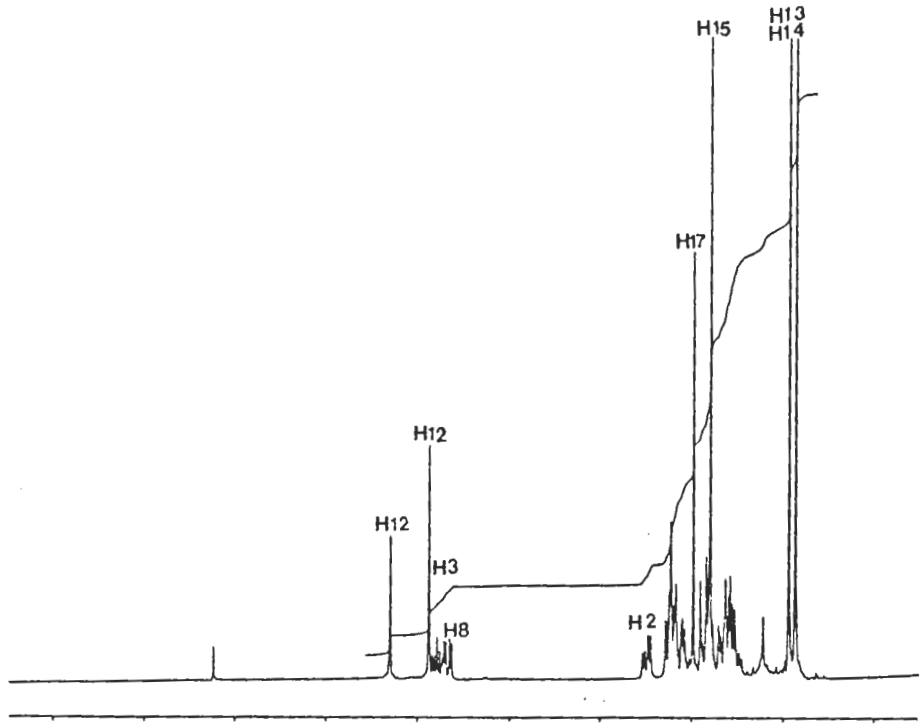
El espectro UV (EtOH) muestra una absorción máxima a 205nm. El espectro IR muestra absorciones a 1720 y 1245 cm^{-1}.

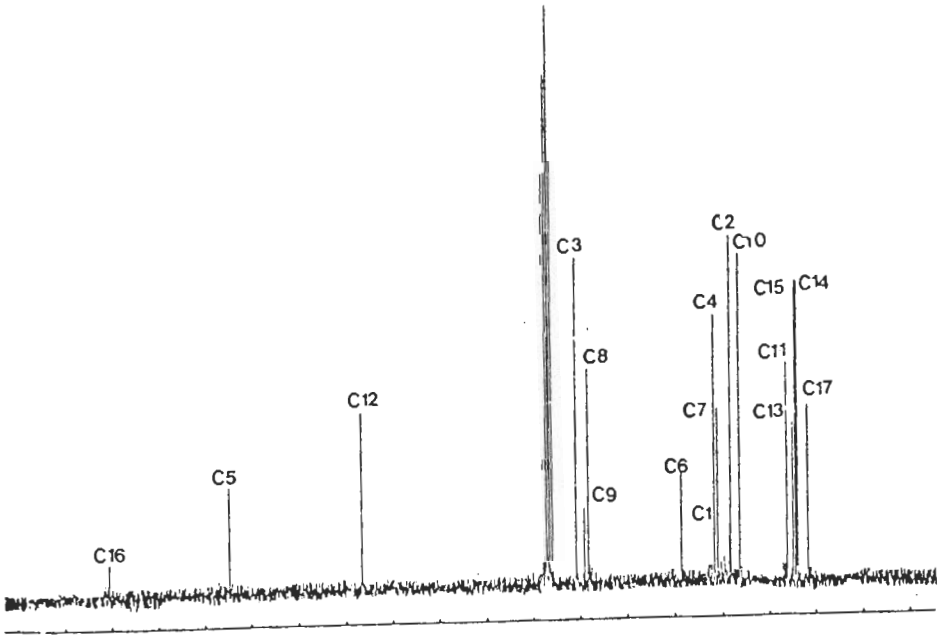
RMN-^{1}H: 5.30 y 4.87 (s, 1H cada uno, C_{12}-H_2), 4.80 (m, 1H, C_3-H), 4.67 (dd, 1H, J= 5 y 12 Hz, C_8-H), 2.56 (dd, 1H, J= 1 y 6Hz), 1.99 (s, 3H, C_{17}-H_3-CO-), 1.79 (s, 3H, C_{15}-H_3), y a 0.93 y 0.86 (s, 3H cada uno, C_{13}-H_3 y C_{14}-H_3), figura 13a

Un experimento de doble irradiación sobre las señales del espectro de RMN-1H, nos confirma las asignaciones y las correlaciones hechas.

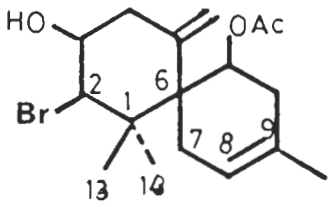
El espectro de RMN-^{13}C ($CDCl_3$), figura 13b, muestra las siguientes señales: 21.47 (c, C-17), 23.68 (c, C-14), 24.07 (c, C-15), 24,65 (c, C-13), 25.96 (t, C-11), 36.20 (t, C-10), 38.11 (t, C-2), 38.45 (s, C-1), 40.83 (t, C-7), 41.61 (t, C-4), 48.45 (s, C-6), 68.12 (d, C-8), 69.04 (s, C-9), 70.76 (d, C-3), 116.59 (t, C-12), 144,65 (s, C-5) y 170,46 (s, C-16).

Figuras 13a y 13b





DETERMINACION DE LA ESTRUCTURA DEL COMPUESTO 104.

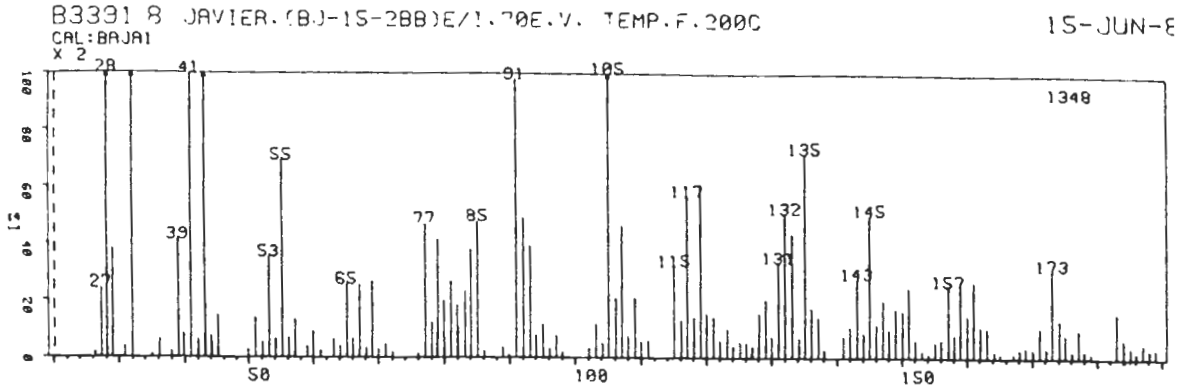


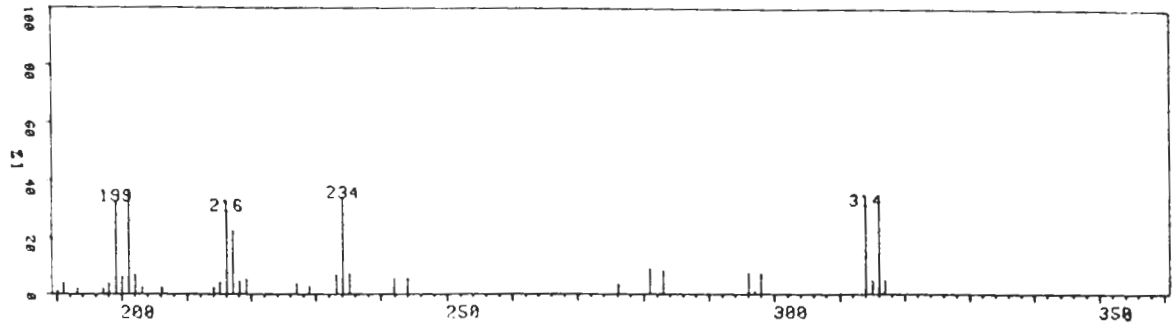
104

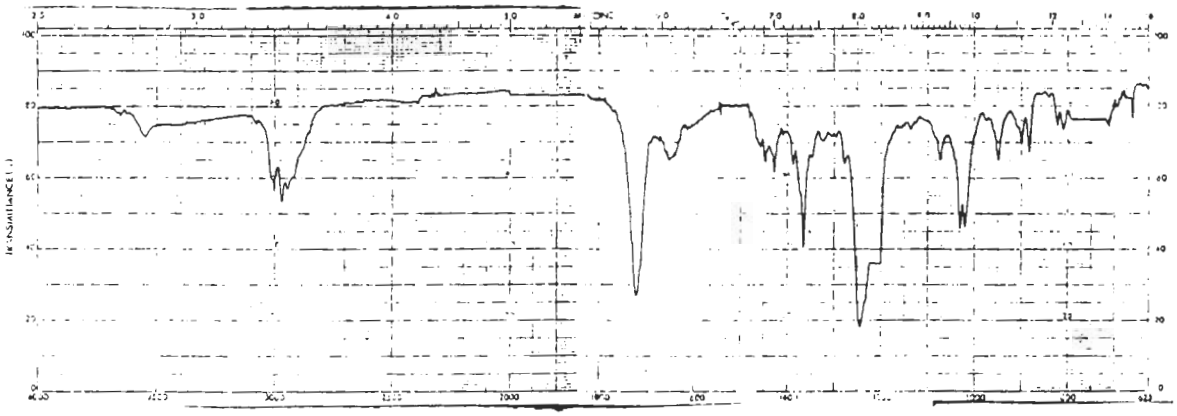
El producto (104) se aisló como aceite incoloro por sucesivas cromatografías en gel de sílice, con una actividad óptica de $[\alpha]_D$= -49,9° (c, 0,13, $CHCl_3$). En el espectro de masas (figura 14a) no se observa el ión molecular. Se observan fragmentaciones a m/e: 314, 316, (M^+-C_2H_2O), masa observada 316,0839 para $C_{15}H_{23}{}^{16}O^{81}Br$, calculada 316,0855; 296, 298, observada 298,0749 para $C_{15}H_{21}{}^{16}O^{81}Br$, calculada 298,075, ($M^+$-AcOH); 281, 283, observada 283,0493 para $C_{14}H_{18}{}^{16}O^{81}Br$, calculada 283,0516, ($M^+$-AcOH-$CH_3$); 276 ($M^+$-HBr); 234, ($M^+$-$C_2H_2O$-HBr), masa observada 234,1591 para $C_{15}H_{22}{}^{16}O_2$, calculada 234,1644; y a 216, 217, (M^+-AcOH-HBr), observada para $C_{15}H_{20}{}^{16}O$, 216,1461, calculada 216,1509. Esto permitió establecer la fórmula molecular como $C_{17}H_{25}O_3Br$.

El espectro UV (etanol) muestra un máximo a λ 206 nm (ε= 16.700). El espectro de IR (figura 14b)

Figuras 14a y 14b







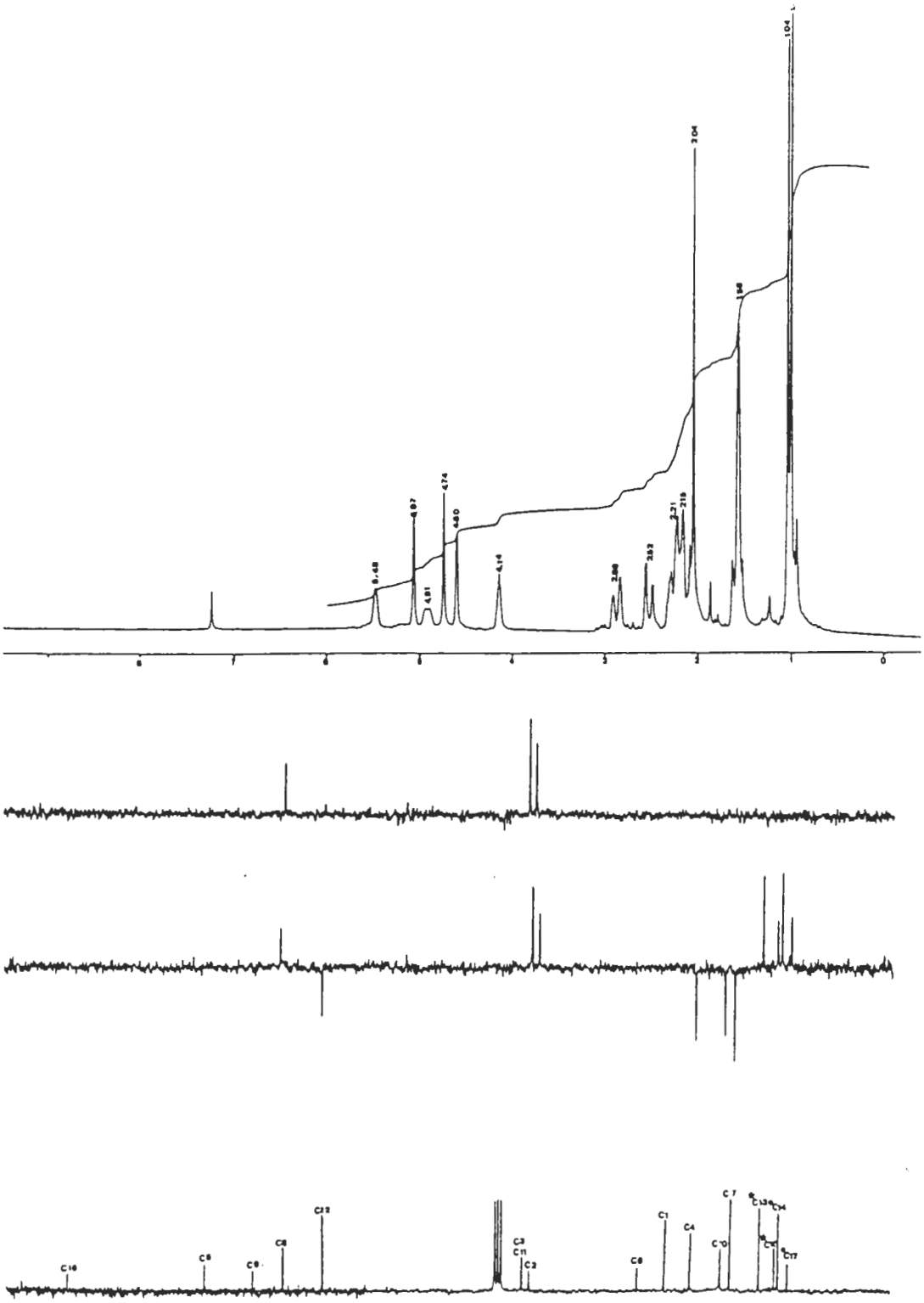
muestra señales a 3520 (-OH), 1720 (>C=O), 1650 (>C=CH_2), 1355 (-CO-CH_3), 1245 (-O-CO-CH_3), 1030 y 1020 (C-O-C) cm^{-1}.

El espectro de RMN-^{1}H, ($CDCl_3$), muestra las siguientes señales: 1.00 y 1.04 (s, 3H cada uno) correspondientes a un gem-dimetilo, 1.59 (dd, 4H, J= 1 y 13 Hz) de un metilo vinílico y de un protón del metileno C-10; 2.04 (s, 3H) asignable a un metilo de un grupo acetato; 2.08-2.31 (m, 3H); 2.52 (dd, 1H, 2 y 15 Hz); 2.88 (dd, 1H, 1 y 15 Hz); 4.14 (m, 1H) de un protón geminal a un grupo hidroxilo; 4.60 (d, 1H, J= 3Hz) de un protón en α a un bromo, 4.91 (d ancho, 1H, J= 10Hz) de un grupo geminal a un grupo acetato; 4.74 y 5.07 (s, 1H cada uno) correspondientes a los protones de un metileno exocíclico; y 5.48 (s, 1H) de un protón vinílico (figura 15a).

En la figura 16 se muestra el COSY ^{1}H-^{1}H del producto (104). A través de él pueden establecerse las siguientes correlaciones:

El protón H_8, (5.48), se correlaciona con las señales centradas a 2.21, (H_7), y 1.58, (H_{15}). Uno de los protones el metileno exocíclico, (5.07), se correlaciona con las señales centradas a 2.52, (H_4), y a 1.58. Un experimento de doble irradiación, sobre las señales a 5.07 y 1.58 (H_{10}), confirma la correlación entre ambas señales. El segundo protón del metileno

Figuras 15a y 15b



exocíclico, (4.74), está correlacionado con la señal de H_3, (4.14), y con las señales centradas a 2.88 y 2.52, que, a su vez, están correlacionadas entre sí, (H_4).

El protón H_{11}, (4.91), se correlaciona con la centrada a 1.58, (H_{10}). Esta última señal está correlacionada con la señal múltiple de 2.08 a 2.31, (centrada a 2.15 en la figura del espectro de RMN-^{1}H).

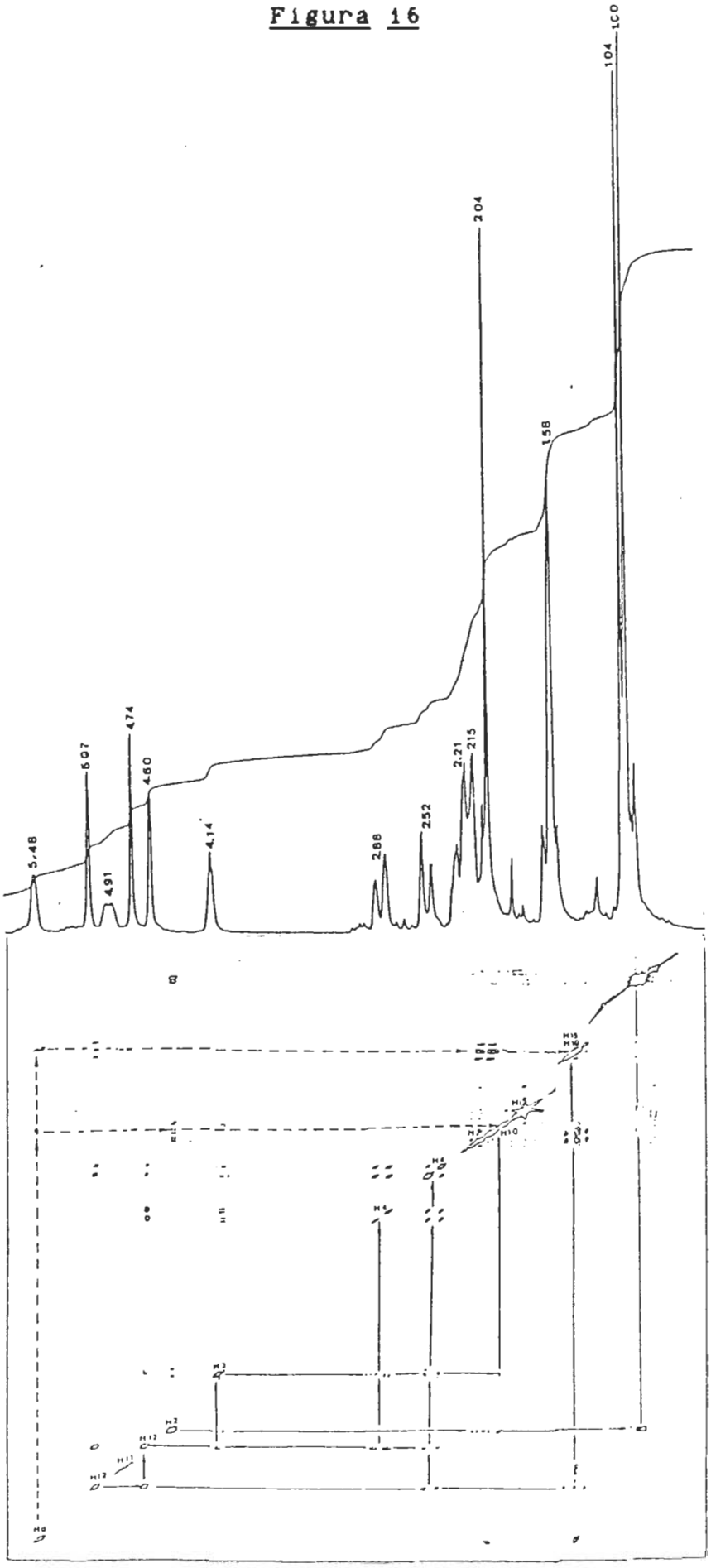
El protón H_2, (4.60), por su parte, está correlacionado con H_3, (4.14), y con las centradas a 2.21 y 2.15, correspondientes a los protones metilénicos de C-7.

Por último, la señal a 4.14, (H_3), se encuentra correlacionada con las señales a 2.88 y 2.52, (H_4), y 2.21, (H_7). Con estos datos y usando doble irradiación sobre las señales del espectro de RMN-^{1}H, se asigna a este compuesto la estructura representada en la fórmula (104).

El espectro de RMN-^{13}C (figura 15b) muestra la presencia de cinco singletes: 171.15 (C-16), 141.10 (C-5), 132.00 (C-9), 48.75 (C-6) y 43.46 ppm (C-1). Los dobletes aparecen a: 72.47 (C-11), 72.47 (C-3), 71.02 (C-2) y 124.33 ppm (C-8). Por su parte, los cuatro tripletes de la molécula aparecen a: 115.95 (C-12), 38.21 (C-4), 32.26 (C-10) y 30.36 ppm (C-7).

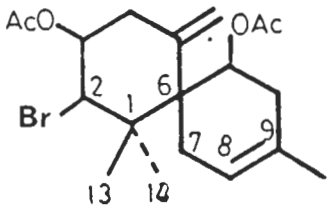
Las señales de los metilos no pueden ser asig-

Figura 16



nadas con toda exactitud, ya que las señales a 24.45 y 21.39 se podrían asignar a C-13 o C-15, y 20.42 y 18.52 a C-14 y C-17, marcados con estrellas y círculos en la figura.

DETERMINACION DE LA ESTRUCTURA DEL COMPUESTO 105

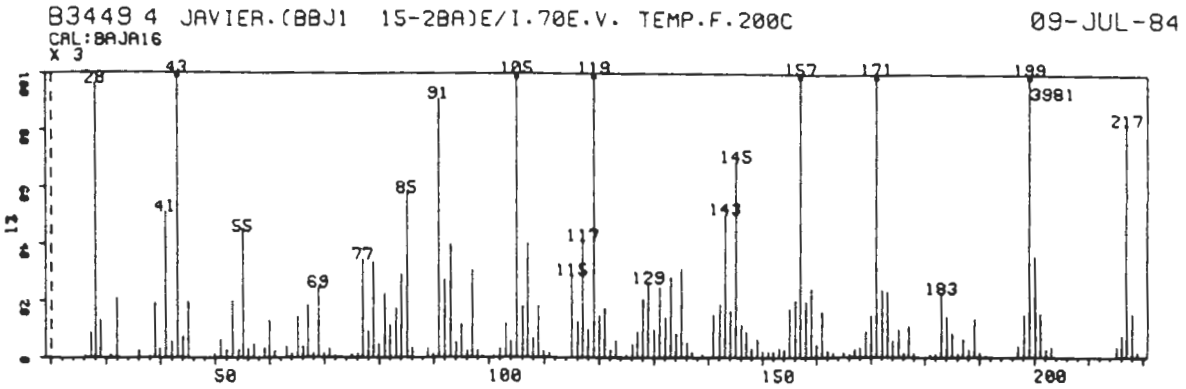


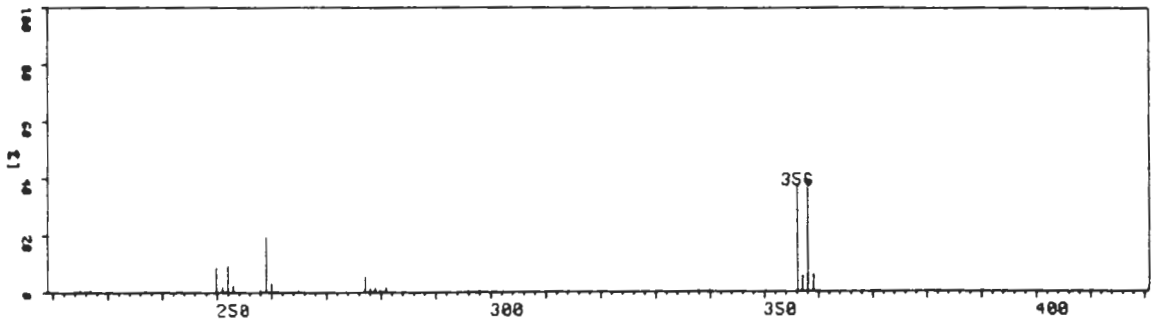
105

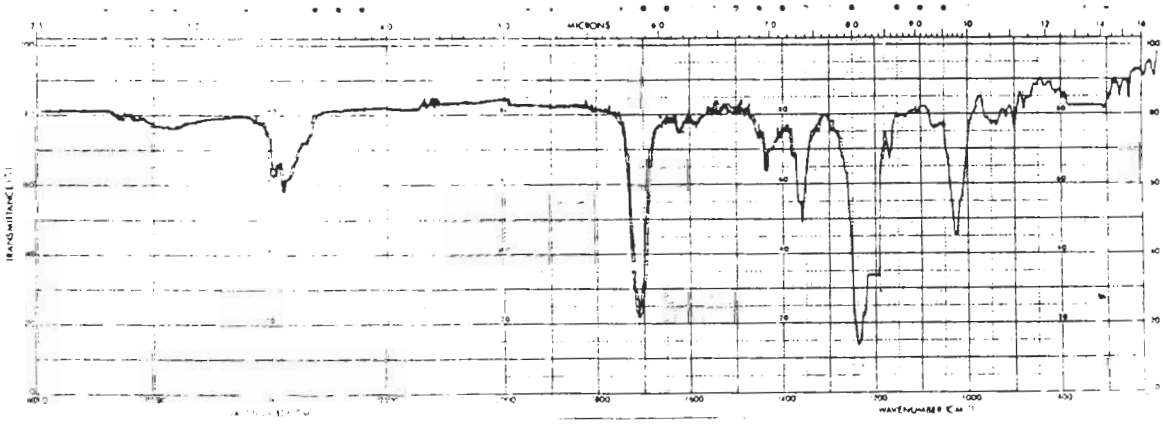
El compuesto 105 se aisló como un aceite, $[\alpha]_D$= +93° (c, 0.36, $CHCl_3$), después de varias cromatografías en gel de sílice a partir de las mismas fracciones que el compuesto anterior, 104, 30-50 % del percolado del extracto acetónico de la especie recolectada en Orzola, Lanzarote.

La formula molecular se asignó en base a su espectro de masas, figura 17a, donde no se observa el ión molecular a m/e 398, 400. Las fragmentaciones mostradas son: a m/e 356, 358, (M^+- C_2H_2O), masa observada 358.0971 para $C_{17}H_{25}{}^{16}O_3{}^{81}Br$, calculada 358.096; a m/e 338, 340, (M^+-AcOH); a m/e 296, 298, (M^+-C_2H_2O-AcOH); a m/e 259, (M^+-AcOH-Br),

Figuras 17a y 17b







masa observada 259.1702 para $C_{17}H_{23}{}^{16}O_2$, calculada 259.1702; a m/e 217, (M^+-C_2H_2O-AcOH-Br), masa observada 217.1609 para $C_{15}H_{21}{}^{16}O$, calculada 217.1587.

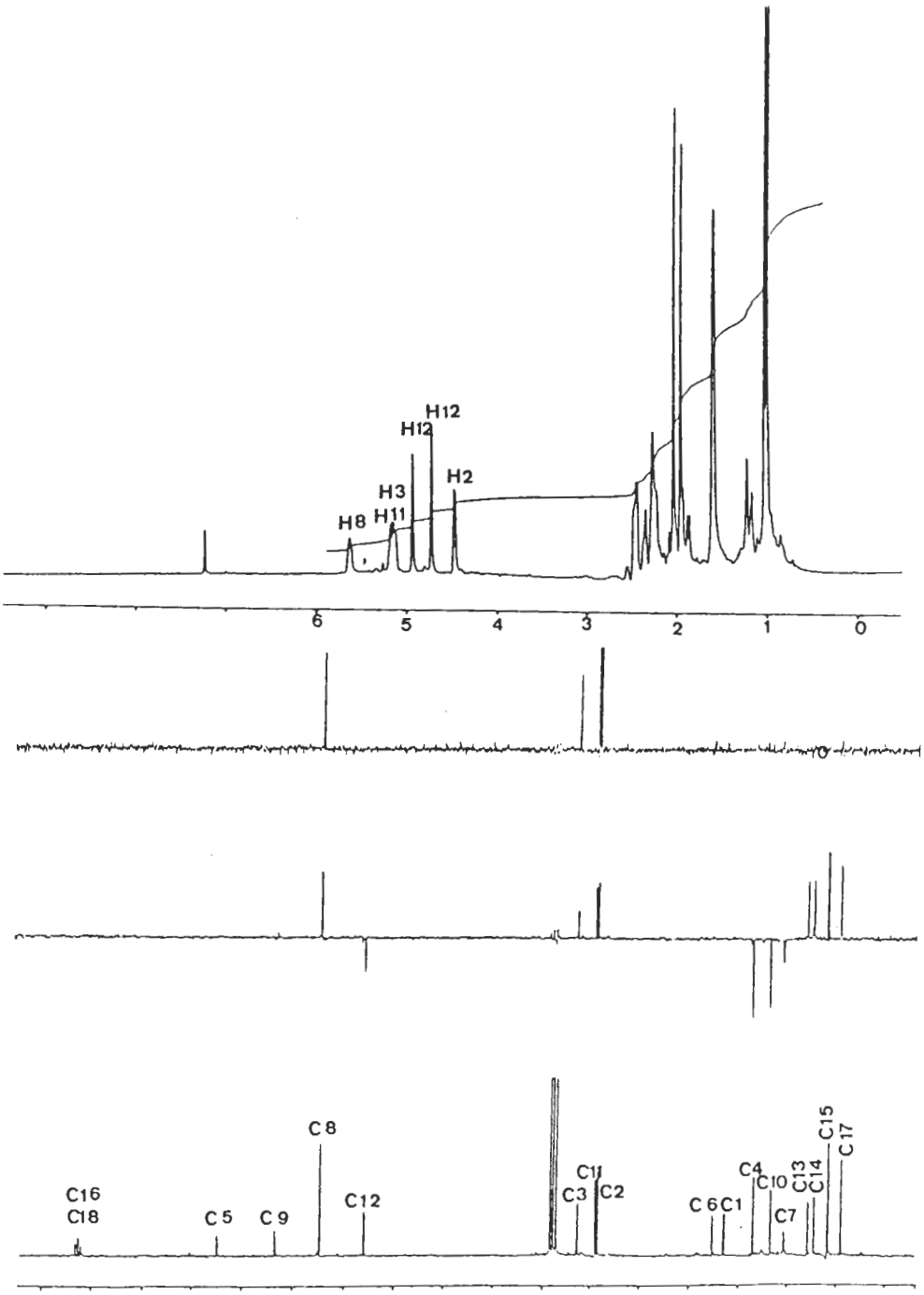
El espectro UV (EtOH) muestra un máximo a 260 nm. El espectro IR (figura 17b) muestra señales a: 1710 (C=O), 1360 (-CO-CH_3), 1240 (O-CO-CH_3) y 1025 (C-O-C) cm^{-1}.

El espectro de RMN-^{1}H, figura 18a, muestra, las señales siguientes: 1.00 y 1.03 (s, 3H cada uno) correspondientes a un gem-dimetilo; 1.59 (s, 3H) de un metilo vinílico; 1.95 y 2.03 (s, 3H cada uno) asignables a los metilos de dos grupos acetatos; 4.47 (d, 1H, J= 3 Hz) correspondiente a un protón geminal a un átomo de bromo; 4.73 y 4.94 (s, 1H cada uno) de los protones de un metileno exocíclico; 5.16 (dd, 2H, J= 3 y 7 Hz), correspondientes a dos protones geminales a dos grupos acetato; y 5.64 (s, 1H) de un protón vinílico.

El RMN-^{13}C, figura 18b, muestra las señales de cinco metilos (18.65, 21.39, 21.46, 24.13 y 25.37), cuatro metilenos (30.29, 32.93, 36.47 y 115.14), cuatro metinos (67.86, 72.03, 73.85 y 123.78) y seis carbonos tetrasustituidos (42.56, 44.87, 132.36, 145.62, 170.90 y 171.44).

Los datos espectrales de este producto sugieren una estrecha relación con el compuesto anterior, por lo que se propone la estructura

Figuras 18a y 18b



representada en la fórmula 105.

DETERMINACION DE LA ESTRUCTURA DEL 2-BROMO-3-CLORO-9-HIDROXI-γ-BISABOLENO (106) Y DEL 2-CLORO-3-BROMO-9-HIDROXI-γ-BISABOLENO (107)

Se aislaron mediante separación cromatográfica de los acetatos correspondientes a partir de las fracciones del 10 % del percolado del alga recolectada en Güimar, Tenerife. La hidrólisis de los acetatos, una vez separados, se realizó con carbonato potásico en metanol, obteniéndose los alcoholes libres 106 y 107 en forma pura.

El compuesto (106) se aisla como un aceite, $[\alpha]_D$= -37° (c, 1.62, $CHCl_3$). El espectro de masas indica una fórmula empírica $C_{15}H_{24}BrClO$, M^+ a m/e: 334, 336, 338; en este espectro se observan fragmentaciones a m/e 250, 252, 254 ($M^+-C_5H_8O$), 170, 172 ($M^+-[C_5H_8O + HBr]$), y a 135 ($M^+-[C_5H_8O + HBr + Cl]$).

El espectro de IR (KBr) muestra las absorciones de un grupo hidroxilo (3400 cm-1) y de un doble enlace trisustituido (1450 y 1390 cm-1). El espectro RMN-^{1}H ($CDCl_3$) muestra las siguientes señales: 1.71 (s, 3H) de un metilo en α a un átomo de cloro, 1.73 (s, 9H) de tres metilos vinílicos,

4.40 (m, 1H) de un protón geminal a bromo, 4.50 (m, 1H) de un protón geminal a un grupo hidroxilo, 5.22 (d-ancho, 1H, J= 9Hz) de un protón vinílico.

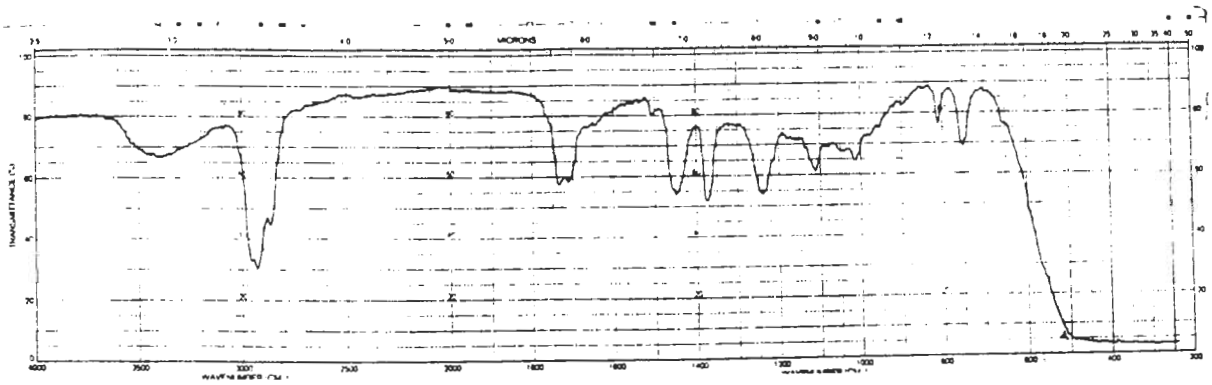
El espectro de RMN-^{13}C ($CDCl_3$) muestra quince señales correspondientes a cuatro metilos (18.3, C-13 y C-14, 25.8, C-15, y 31.8, C-12), cuatro metilenos (25.8, C-5, 35.6, C-11, 37.5, C-4, y 42.5, C-8), tres metinos (62.0, C-2, 66.4, C-9, y 127.3, C-10) y cuatro carbonos tetrasustituidos (72.3, C-2, 126.9, C-7, 129.4, C-6, y 135.1, C-11).

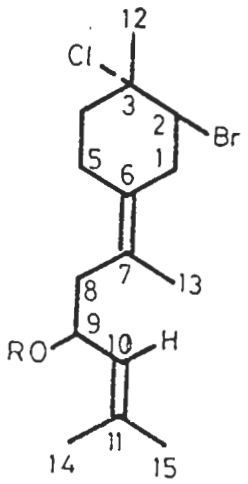
El acetato de 106 se comporta también como aceite; RMN-^{1}H ($CDCl_3$) 1.70 (s-ancho, 12H, C_{12}-H_3, C_{13}-H_3, C_{14}-H_3 y C_{15}-H_3), 2.00 (s, 3H, CH_3-CO-), 4.41 (t, 1H, J= 3 Hz, C_2-H), 5.12 (d-ancho, 1H, J= 9 Hz, C_{10}-H), 5.62 (dt, 1H, J= 7 y 9 Hz, C_9-H).

El compuesto (107) se aisló como un aceite, $[\alpha]$= +66° (c, 0.25, $CHCl_3$). El espectro de masas indica una fórmula molecular de $C_{15}H_{24}BrClO$, M^+ a m/e 334, 336, 338; otras fragmentaciones presentes son: a m/e 250, 252, 254 ($C_{10}H_{15}BrCl$), 214, 216 ($C_{10}H_{15}Br$), 170, 172 ($C_{10}H_{15}Cl$), 135 ($C_{10}H_{15}$).

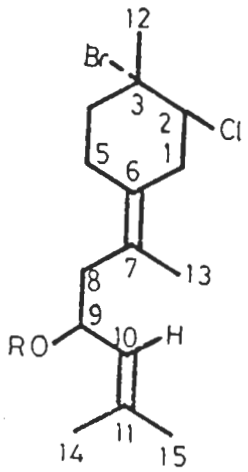
El espectro de IR (KBr), figura 19 , muestra las absorciones principales siguientes: 3450 cm-1 (-OH) y 1455 y 1390 cm-1 (-HC=C<). El espectro de RMN-^{1}H muestra las señales correspondientes a cuatro metilos, 1.67 (s, 3H, C_{13}-H_3), 1.72 (s, 6H, C_{14}-H_3 y C_{15}-H_3) y 1.91 (s, 3H, C_{12}-H_3), y de tres

Figuras 19





106



107

protones de carbonos terciarios, 4.45 (m, 1H, C_2 -H), 4.50 (m, 1H, C_9-H) y 5.20 (d-ancho, 1H, J= 9 Hz, C_{10}-H).

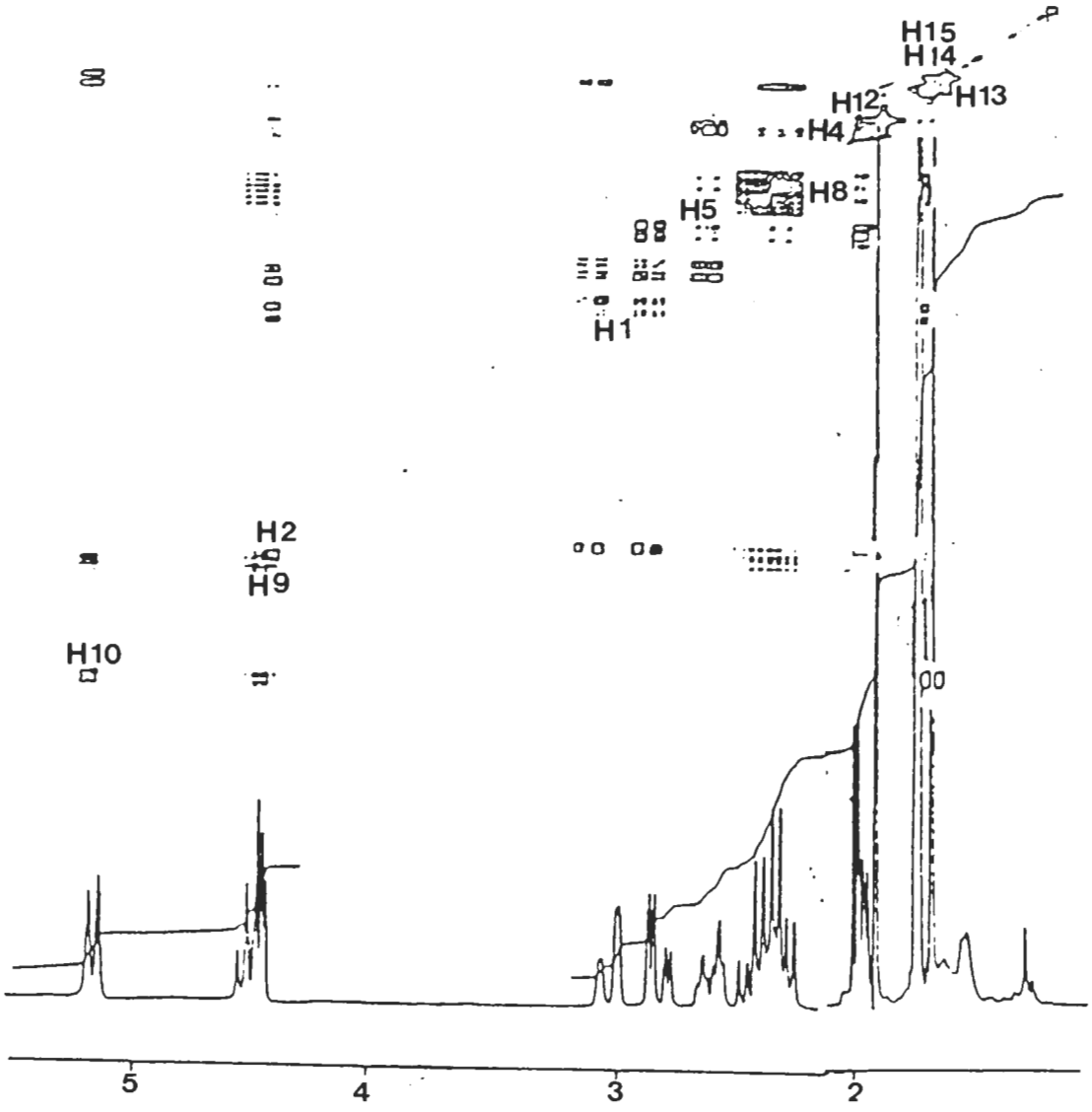
El espectro de RMN-^{13}C presenta quince señales correspondientes a: cuatro metilos (18.3, 19.0, 25.9 y 31.6, asignables a los carbonos C-14, C-13, C-15 y C-12, respectivamente), cuatro metilenos (27.1, C-5, 35.5, C-1, 38.5, C-4 y 42.4, C-8), tres metinos (67.5, C-9, 67.8, C-2 y 127.7, C-10) y cuatro carbonos tetrasustituidos (70.1, C-2, 126.9, C-7, 127.9, C-6 y 135.0, C-11).

El acetato de 107 se comporta como un aceite, RMN-^{1}H ($CDCl_3$): 5.60 (dt, 1H, J= 6 y 9 Hz, C_9-H), 5.12 (d-ancho, 1H, J= 9 Hz, C_{10}-H), 4.45 (t, 1H, J= 3Hz, C_2-H), 2.00 (s, 3H, CH_3-CO-), 1.90 (s, 3H, C_{12}-H_3) y 1.71 (s-ancho, 9H, C_{13}-H_3, C_{14}-H_3 y C_{15}-H_3). RMN-^{13}C ($CDCl_3$): 137.2 (C-11), 127.8 (C-6), 126.1 (C-7), 123.5 (C-10), 70.5 (C-9), 70.3 (C-3), 67.7 (C-2), 39.6 (C-8), 38.4 (C-4), 35.5 (C-1), 31.7 (C-12), 27.1 (C-5), 25.9 (C-15), 19.1 (C-13) y 18.4 (C-14).

En el espectro de RMN bidimensional COSY ^{1}H-^{1}H (figura 20) se pueden correlacionar las señales de los protones como se muestra a continuación:

H_{14}, H_{15} (1.72) --> H_{10} (5.20) --> H_9 (4.50) --> H_8 (2.33) --> H_{13} (1.67) --> H_1 (3.04, 2.82) --> H_2 (4.45) --> H_{12} (1.91) --> H_4

Figura 20



(1.99) --> H_5 (2.58, 2.33).

Todos los intentos de obtención de un derivado cristalino, con el fin de hacer un estudio de difracción de Rayos X y determinar, de esta forma, la configuración absoluta de los centros quirales presentes y el carácter E o Z del doble enlace tetrasustituido, no han dado resultado positivo.

La situación de la función alcohólica en C-9 en los compuestos (106) y (107) se determinó mediante el análisis comparativo de los espectros de RMN-^{1}H de los mismos con sus respectivos acetatos y dehidroderivados. Este análisis muestra claramente, a través de los desplazamientos y acoplamientos del C_9-H, el cambio experimentado por el grupo alcohólico al pasar de una situación alílica a una no alílica. Los compuestos (106) y (107) se muestran muy sensibles a las reacciones de oxidación, con independencia del medio en que se haga y del reactivo utilizado y que siempre dieron lugar a unas mezclas de productos no estudiables.

La localización del sistema cloro-bromo presente en ambos compuestos se realizó a través de un análisis comparativo con situaciones similares presentes en otros sesquiterpenos polihalogenados, para los que, a través de un minucioso estudio se llegó a la conclusión de que los datos de RMN de C-13 se mantenían dentro del orden mostrado por las

estructuras parciales I, II y III mostradas en la página 34[67].

Aunque una rigurosa comparación no es posible ya que en los compuestos (106) y (107) el C-6 es vinílico, los rangos en que se observan los desplazamientos de los carbonos C-2 y C-3 permiten la distribución indicada en las estructuras parciales (106) y (107). Tal disposición está de acuerdo con el hecho de que cuando un carbono cuaternario está unido a un átomo de bromo la intensidad del mismo en el espectro de RMN-^{13}C está disminuida, mientras que cuando el sustituyente es un átomo de cloro el efecto es justo el contrario[116]. El carbono cuaternario halogenado del compuesto (106) tiene una intensidad del 28 % mayor que el resto de los carbonos cuaternarios presentes en la molécula, mientras que, por el contrario, el carbono cuaternario halogenado del compuesto (107) tiene una intensidad menor que algunos centros cuaternarios presentes. Esta conclusión está también de acuerdo con la distribución del sistema cloro-bromo indicada en (106) y (107).

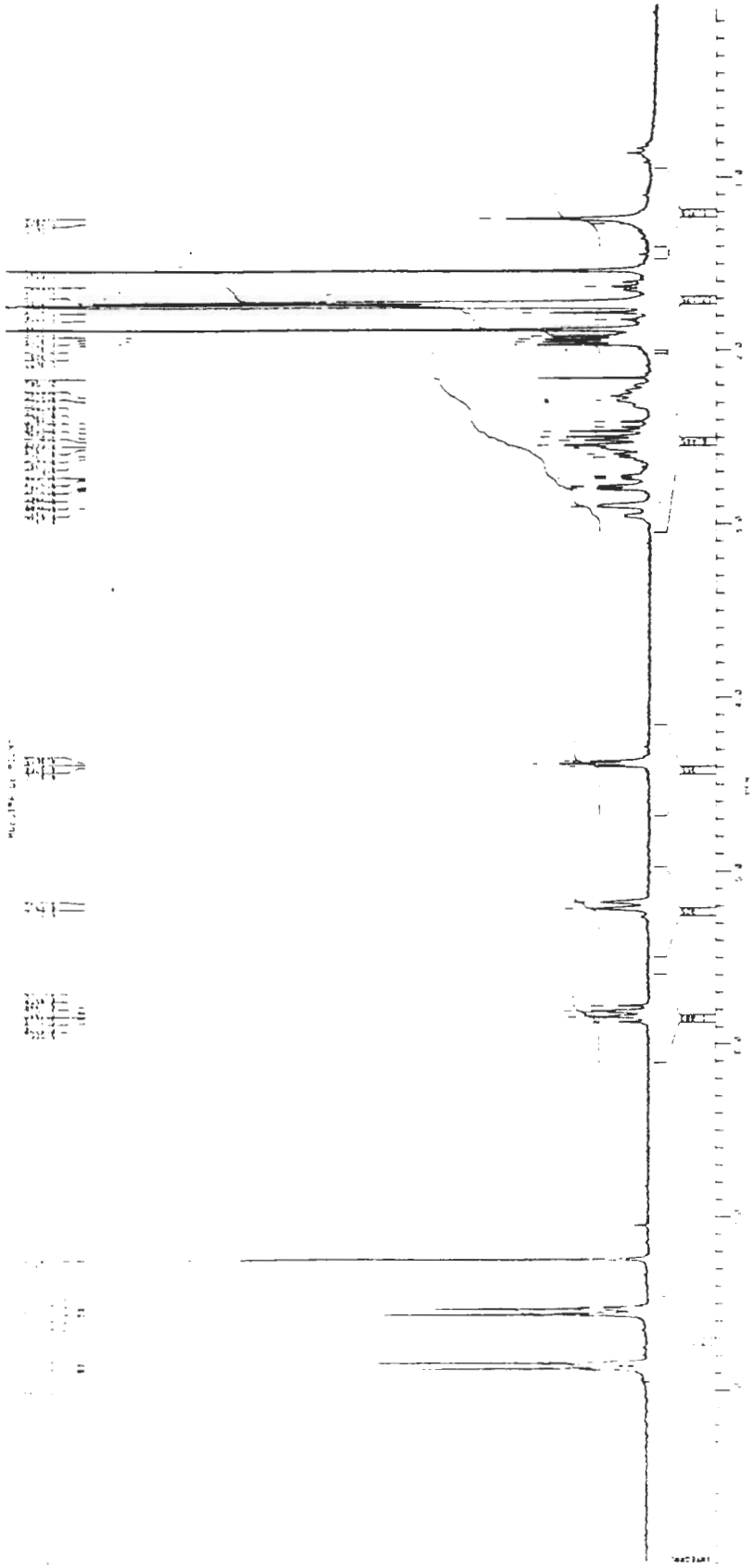
Con el fin de determinar la configuración absoluta del C-9 se hizo un análisis de dicroismo circular del derivado p-bromobenzoato del compuesto 107. Para ello, se hicieron reaccionar seis mg de éste con un equivalente y medio de p-bromocloruro

de benzoilo, utilizando 4-dimetil-amino-piridina como catalizador. Después de purificado el producto derivado del p-bromobenzoato del compuesto 107, se hizo un estudio de dicroismo circular, realizados éstos por el Prof. Nakanishi de la Universidad de Nueva York, U.S.A.

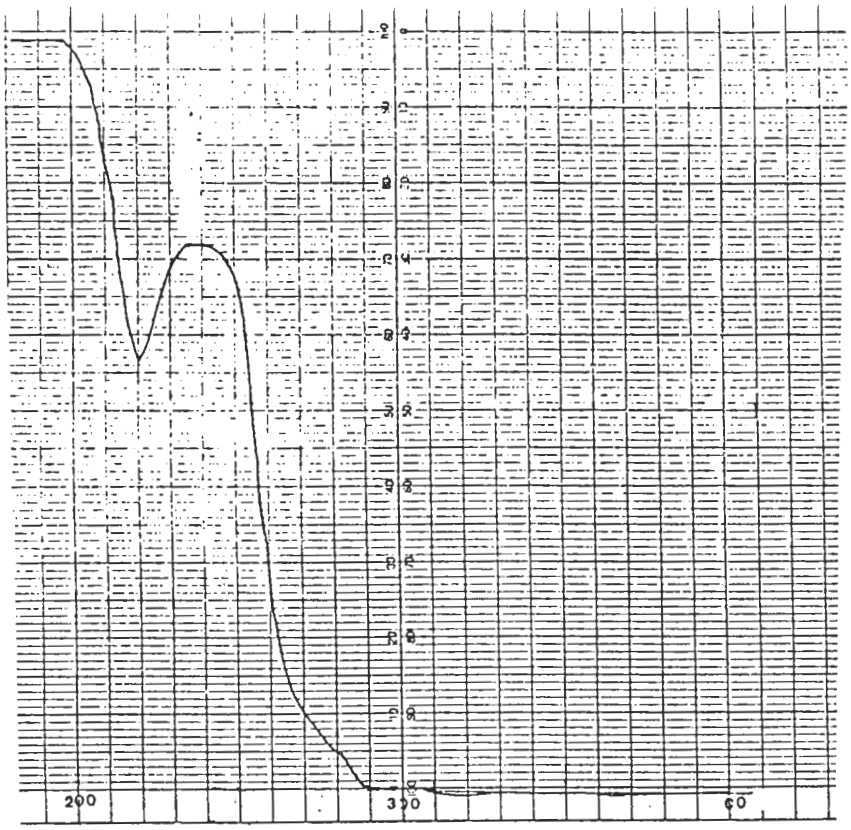
El espectro de RMN-^{1}H (250 MHz, $CDCl_3$), figura 21, muestra las siguientes señales: 1.72 (s, 3H, C_{13}-H_3), 1.74 (s, 6H, C_{14}-H_3 y C_{15}-H_3), 1.87 (s, 3H, C_{12}-H_3), 1.94 (dd, 2H, J= 4 y 8 Hz, C_4-H_2), 2.27 (d, 1H, J=6 Hz, C_5-H'), 2.51 (m, 3H, C_8-H_2 y C_5-H), 2.76 (dt, 1H, J= 3 y 4 Hz, C_1-H'), 2.90 (d-ancho, 1H, C_1-H), 4.38 (t, 1H, J=4 Hz, C_2-H), 5.19 (d, 1H, J= 9 Hz, C_{10}-H), 5.82 (dt, 1H, J= 7 y 9 Hz, C_9-H), y 7.54(dd, 2H, J= 2 y 4 Hz)y 7.86 (dd, 2H, J= 2 y 4 Hz) de los protones del anillo bencénico.

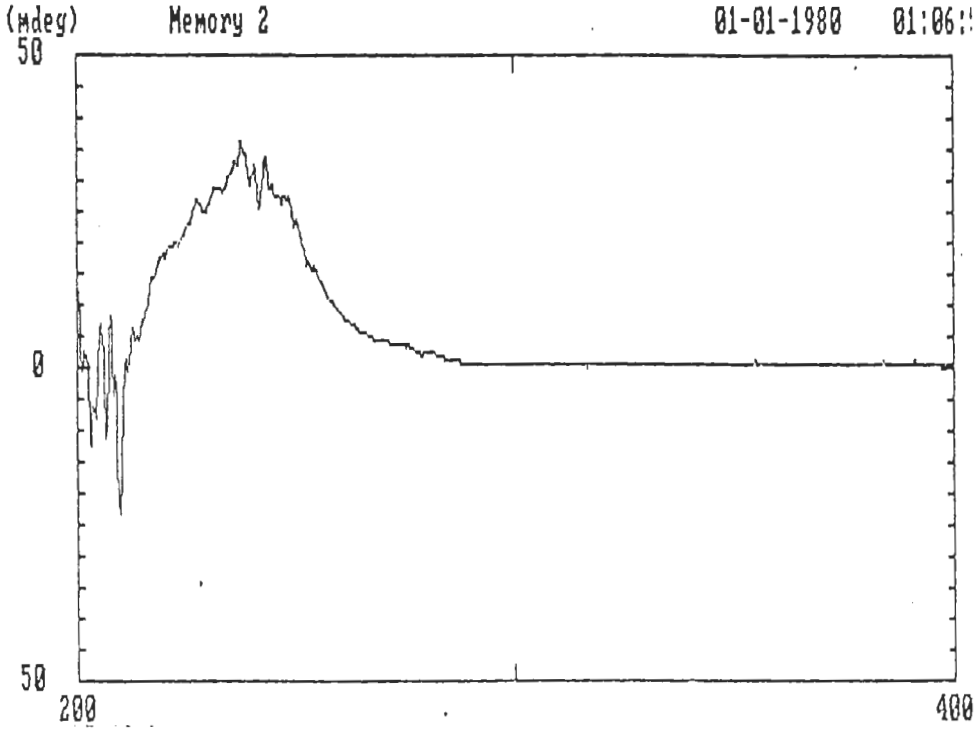
El espectro UV (acetonitrilo), figura 22a, muestra un máximo a 242 nm (ϵ= 21300). El dicroismo circular del p-bromobenzoato, figura 22b, tuvo un efecto Cotton positivo a 238 nm (acetonitrilo) con un $\Delta\epsilon$= +16.1, resultado de la interacción entre la transición $\pi\pi^*$ a 195 nm de los dobles enlaces y la transición ^1L_a del p-bromobenzoato. El signo positivo del efecto Cotton a 238 nm conduce a la configuración absoluta S en el carbono 9, o a la configuración absoluta (mostrada en la figura 23)

Figura 21



Figuras 22a y 22b



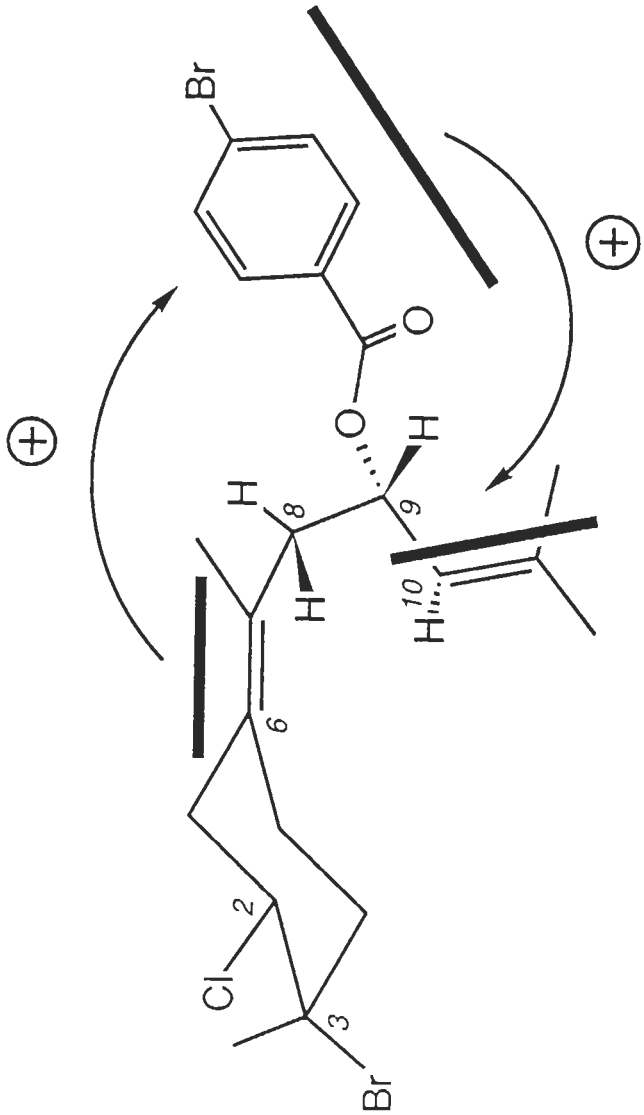


de toda la molécula y a la conformación de la cadena lateral.

El valor de $\Delta\varepsilon$= +16.1 es considerablemente más alto que el de otros p-bromobenzoatos alílicos[108] y no puede asignarse solamente a la interacción entre el doble enlace terminal y el p-bromobenzoato. Este hecho se atribuye a la presencia de dos quiralidades positivas, a la del sistema benzoato/doble enlace homoalílico y a la del sistema benzoato/doble enlace alílico[109], las cuales ejercen sus efectos de una manera aditiva[110,111].

La conformación más estable de la cadena lateral, mostrada en la figura 23, fue determinada en base a los siguientes datos: la constante de acoplamiento en RMN (cloroformo) entre los protones 9 y 10 es de 9.4 Hz, confirmando que el protón en C-9 está eclipsando el doble enlace C-10,-11; al desacoplar el protón en C-10, el protón en C-9 aparece como un triplete, indicando que éste está bisignando los protones en C-8; y a la doble quiralidad positiva en dicroismo circular.

Figura 23



MATERIAL Y METODOS

DESCRIPCION BOTANICA.-

Dentro de la división Rhodophyta, clase Rhodophyceae, subclase Florideae, orden Ceramiales, familia Rhodomelaceae, el género Laurencia está representado en Canarias por las especies L.obtusa, L.perforata, L.caespitosa y L.pinnatifida, entre otras.

Estas algas rojas crecen aproximadamente en la zona intermareal inferior, batidas con cierta intensidad por el oleaje, encontrándose asentadas sobre rocas.

Las características morfológicas y reproductoras, que se pueden destacar, del género Laurencia son: Talo erecto ramificado, ramas cilíndricas o aplanadas, ramificación radial o más raramente dística, célula apical en una depresión en los apices truncados, a menudo acompañados por tricoblastos rudimentarios; ejes polisifonados con una extensa corticación de modo que las células pericentrales sólo son reconocibles cerca de los apices. Tetrasporocistes tetraèdricos embebidos en las últimas ramas, espermatocistes ovales a oblongos, naciendo sobre los tricoblastos cerca de la célula apical, cistocarpos prominentes ovados a esféricos o urceolados[112-114].

Las especies estudiadas fueron recolectadas,

en su dia, como L. obtusa, depositándose un ejemplar de la especie recolectada en Gáldar para su identifición en el Departamento de Biología Vegetal de la Universidad de La Laguna (TFC Phyc. 5589). Trás los estudios realizados en este Departamento, y su envio al Profesor Yuzuru Saito, Faculty of Fisheries, Hokkaido University, Japón, especialista del género Laurencia, se ha llegado a la conclusión, entre ambos centros, que la especie en estudio no corresponde con los caracteres típicos de L. obtusa, siendo, posiblemente una nueva especie para Canarias[115]. Este hecho, unido al haber aislado distintos tipos de esqueletos, dificilmente justificables biogenéticamente, en el alga recolectada en Orzola, es por lo que no se especifican las especies estudiadas en este trabajo.

TECNICAS EXPERIMENTALES.

Resonancia magnética nuclear.

Para la realización de los experimentos de R.M.N., los productos fueron disueltos en $CDCl_3$ o Cl_4C, usando TMS o $CHCl_3$ como referencia interna. Los espectros de R.M.N. protónicos fueron realizados en espectrógrafos PERKIN-ELMER, modelos R-12 (60 MHz) y R-32 (90 MHz), y BRUKER, modelo WP-2000 SY (200 MHz). En éste último se realizaron los experimentos de ^{13}C y doble dimensión, Los programas utilizados (DEPT, COSY, X-H CORR) fueron los suministrados por la casa BRUKER. En los datos de RMN-^{13}C, las asignaciones a utilizar de los parámetros dados son:

(SW): anchura espectral utilizada en la realización de los espectros.

(AT): tiempo de adquisición.

(NT): número de acumulaciones realizadas.

(PW): "pulse width" o ángulo de disparo dependiente del pulso de radiofrecuencias del transmisor.

(PD): retraso del pulso.

(DP): puntos de datos.

En cualquier dato de los expuestos a continua-

ción siempre se citan dos valores, el primero corresponde al espectro de desacoplamiento protónico total y el segundo al de "Off-Resonamce".

Difractómetro

Automático de cuatro circulos, modelo Siemens AED-4 controlado por ordenador Digital PDP 11/03. Tubo con ánodo de Cu y monocromador de gráfito.

Infrarrojo.

Los espectros de I.R. fueron realizados usando el producto neto en film, en pastillas de KBr o en disolución de cloroformo en células de NaCl de 0.1 mm. Se usaron espectrofotómetros PERKIN-ELMER, modelo 257, y PYE-UNICAN, modelo SP-1100.

Masas.

Los espectros de masas fueron realizados en espectrofotómetros HEWLETT-PACKARD, modelo 5930 A y VG-MICROMASS, modelo ZAB-2F. Los espectros de alta resolución se realizaron en este último.

Ultavioleta-visible.

Los espectros de U.V. fueron realizados en un espectrofotómetro PERKIN-ELMER, modelo 402, en disolución de etanol absoluto con células de 1 cm.

Rotación óptica.

La determinación de las actividades ópticas se hicieron en polarímetros PERKIN-ELMER, modelos 141 y 241, a 25°C, usando la línea D del sodio y en disolución de cloroformo con células de 1 dm.

Puntos de fusión.

Los puntos de fusión se determinaron en un KOFLER y están sin corregir.

Cromatografía gas-líquido

Las cromatografías de gases fueron realizadas en un cromatógrafo HEWLETT-PACKARD, modelo 5790 A, usando una columna VCW-98 al 10 %.

Cromatografía en columna.

Para cromatografiar los productos se usaron cuatro tipos de gel de sílice, 60 (0.2-0.5 mm), 60 (0.063-0.2 mm), 60G y 60H. de la casa MERK. Las columnas se prepararon con dos tipos de procedimiento:

A) Aplicando vacío por el extremo inferior de la columna y vertiendo la gel en su interior al tiempo que es sometida a vibración. A continuación se añade el disolvente y se pasa hasta humedecer totalmente la gel y, finalmente, se añade la mezcla de productos bien disuelta en el mismo disolvente, o impregnada sobre gel de sílice 60 (0.2-0.5 mm), si no es soluble. La relación peso de producto: peso de gel fue siempre como mínimo 1:100.

B) Vertiendo la gel suspendida en el disolvente y sometiendo la columna a presión. Para esto se usaron bombas peristálticas de media presión de la casa FLUID METERING INC., modelo RP-SY. En este caso, la relación peso de producto: peso de gel fue siempre como mínimo 1:200. Esta técnica se usó para separaciones de pequeñas cantidades de producto con una mejor resolución.

Cromatografía en capa fina.

La evolución de las reacciones y de las cromatografías se siguió mediante cromatografías en capa fina con placas de la casa SCHLEICHER & SCHULL, tipo F1500/LS254. El revelado de las placas se hizo de distintas formas:

a) calentamiento a 140°C, para productos polihalogenados.

b) pulverización con una disolución de H_2SO_4 : H_2O : AcOH (1:4:20) sobre la placa y posterior calentamiento a 140°C.

c) pulverización de una disolución de ácido fosfomolibdico en etanol (0,1 g/ml) y posterior calentamiento a 140°C.

Cromatografía en capa fina preparativa.

Para la cromatografía en capa fina preparativa se usaron placas de 1 mm de espesor de la casa SCHLEICHER & SCHULL, tipo G 1510/LS 254, sembrando entre 50 y 75 mg de productos en cada una. El revelado de las placas se hizo con luz ultravioleta (254 nm).

Cromatografía de filtración.

Para este tipo de cromatografía se empleo Sephadex LH-20 (marca registrada)de la casa PHARMACIA FINE CHEMICALS. Las columnas se montaron de la siguiente forma: durante al menos una noche se dejó la cantidad de Sephadex deseada, según condiciones recomendadas por la casa suministradora, en suspensión con metanol y se vertió en la columna, dejándola reposar. Cada vez que se cambió el disolvente empleado como eluyente se pasó al menos tres veces una cantidad equivalente al volumen muerto de la columna. El producto se deposita en la parte superior disuelto en una cantidad de disolvente no mayor al 10 % del volumen muerto de la columna.

Procedimientos generales.

En el texto de la memoria la expresión "extracción de la manera usual" significa extracción con éter sulfúrico, lavados de la capa orgánica con ácido clorhídrico diluido, agua destilada, solución saturada de bicarbonato sódico y nuevo lavado con agua destilada. Todos los extractos se secaron sobre sulfato sódico o magnésico anhídro.

PARTE EXPERIMENTAL

ESTUDIO QUIMICO DEL ALGA LAURENCIA SP., RECOLECTADA EN GALDAR.

Recolección y extracción del alga.

Las distintas recolecciones de este alga fueron realizadas siempre en los meses de Marzo y Abril, época en la que alcanza su estado de máximo crecimiento. El lugar de recolección fue la Playa de Dos Roques (Gáldar), Isla de Gran Canaria.

Se recogió a mano, durante la bajamar, y después de ser separada de otras algas contaminantes, se secó al aire, sin acción directa de la luz solar. Tras triturarla, el alga pesó 1,5 Kg y fue extraida en aparato Soxhlet, hasta agotamiento, con acetona.

El peso total del extracto, de aspecto aceitoso y color marrón-verdoso, fue de 38 g (2,53% del peso total del alga seca).

Cromatografía del extracto acetónico.

Los 38 g del extracto fueron cromatografiados en su totalidad en una columna (1 m x 6 cm) con 750 g de gel de sílice (tamaño de particula 0,063-0,2) usando como eluyente mezclas de n-hexano y

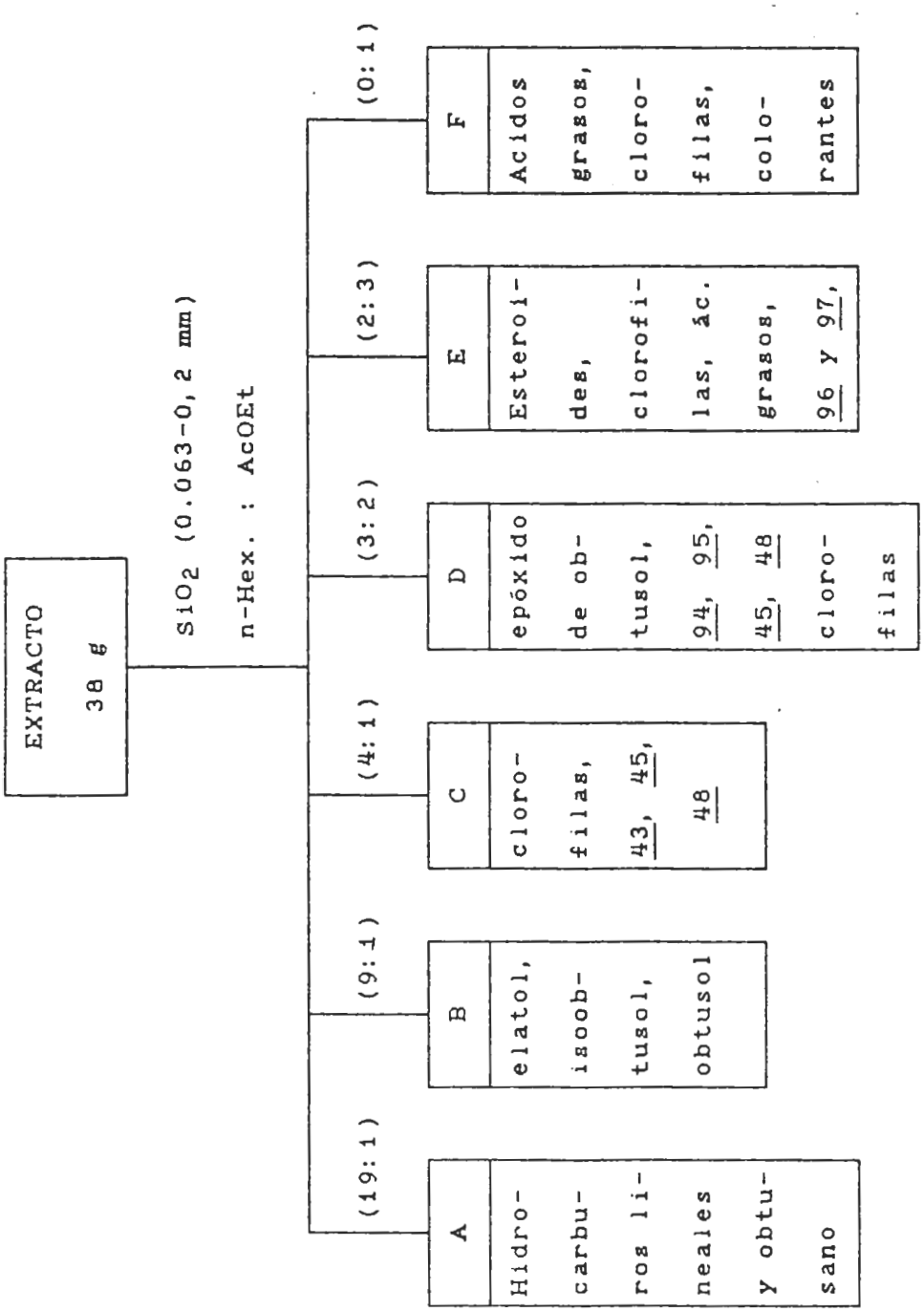
acetato de etilo de polaridad creciente. Se recogieron fracciones de 0,25 l. Las fracciones que contenían los mismos productos, determinados por cromatografía en capa fina, se unieron para ser, posteriormente, cromatografiadas (Esquema 8).

Los productos ya conocidos: obtusano (49), elatol (40), 2-debromo elatol (43), isoobtusol (44), 2-debromo isoobtusol (45), obtusol (47) y 2-debromo obtusol (48), se identificaron por comparación de sus datos espectroscópicos con los datos publicados para dichos compuestos y, en los casos en que fue posible, por comparación con una muestra auténtica por C.C.F. o C.G.L.

La reunión D fue cromatografiada con Sephadex LH-20 en una columna de 60 cm L x 6 cm D.i., siendo eluida con una mezcla de cloroformo : metanol (1:1) para separar las clorofilas. De esta cromatografía se obtuvieron 11 mg (0,029 % del peso del extracto) de epóxido de obtusol (93). El resto de las fracciones se cromatografió en una columna de media presión (35 cm x 5 cm) en 75 gr de gel de sílice, tipo G, usando como eluyente una mezcla de n-hexano:acetato de etilo (17:3), separandose así 26 mg (0,068 % del peso del extracto) de la cetona isomerizada del 2-debromo isoobtusol (94).

La mezcla de productos de las demás fracciones fue imposible de separar cromatográficamente y hubo

Esquema 8

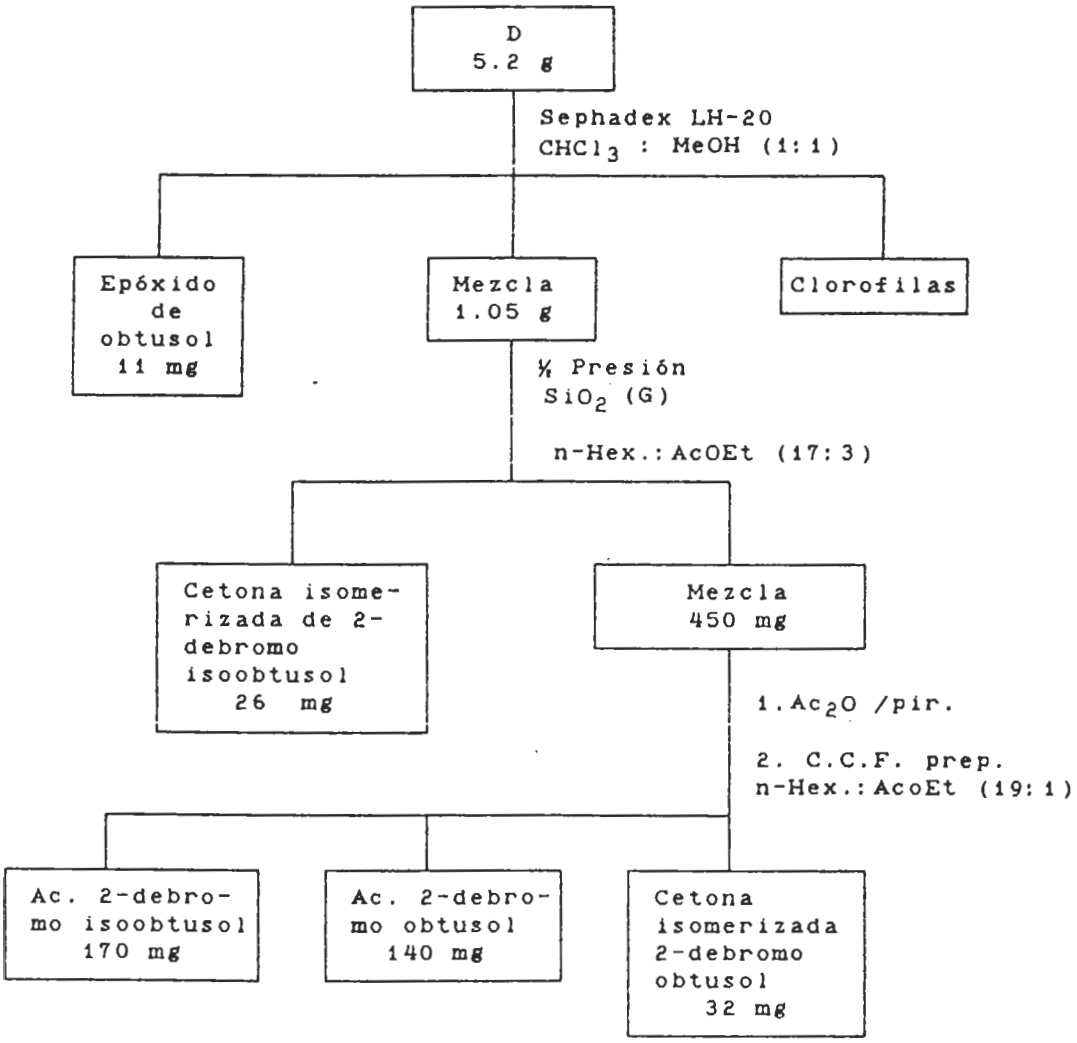

EXTRACTO
38 g
SiO2 (0.063-0,2 mm)
n-Hex. : AcOEt
(19:1)
(9:1)
(4:1)
(3:2)
(2:3)
(0:1)
A
Hidro-carbu-ros li-neales y obtu-sano
B
elatol, isoob-tusol, tusol obtusol
C
cloro-filas, 43, 45, 48
D
epóxido de ob-tusol, 94, 95, 45, 48 cloro-filas
E
Esteroi-des, clorofi-las, ác. grasos, 96 y 97,
F
Acidos grasos, cloro-filas, colo-rantes

que acetilarla. Así, 450 mg de mezcla se disolvieron en 5 ml de piridina y se añadieron 0,5 ml de anhídrido acético. La mezcla se dejó reaccionar durante la noche, tras lo cual se añadió hielo y se extrajo de la manera usual. La mezcla se cromatografió en capa fina preparativa, utilizando como eluyente n-hexano: acetato de etilo (19:1), eluyéndose varias veces. De esta forma, se obtuvieron 32 mg (0,084 % del peso del extracto) de la cetona isomerizada del 2-debromo obtusol (95), Esquema 9.

La reunión E fue cromatografiada con Sephadex LH-20 (60 x 6 cm) usando como eluyente cloroformo: metanol :n-hexano (1:1:2), separandose las clorofilas y obteniéndose una mezcla de productos de 4,7 g (12,37 % del peso del extracto) libre de aquéllas. Esta reunión, que contiene ácidos grasos, fue cromatografiada en 500 gr de gel de sílice de capa fina, en una columna de 75 cm x 8 cm, usando como eluyente n-hexano :acetato de etilo (3:1) y, posteriores, cromatografías de las fracciones resultantes, no permitieron la obtención de productos libres de ácidos grasos.

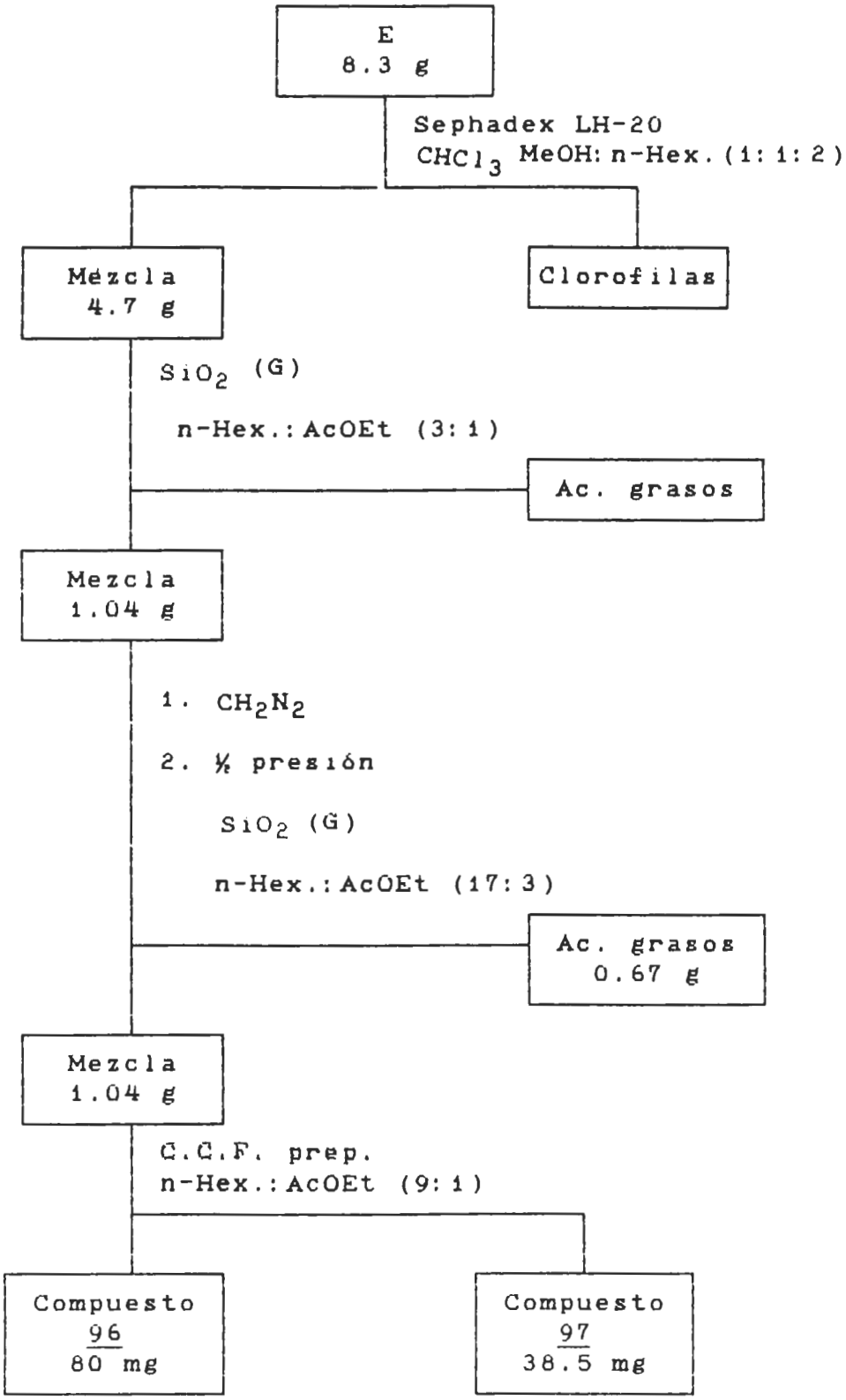
Con el fin de separar los ácidos grasos presentes, la reunión de las fracciones anteriores fue metilada. Para ello, se preparó una disolución de 10 lentejas de NaOH en 250 ml de agua y se añadieron 250 ml de éter etílico. A esta disolución

Esquema 9


D
5.2 g
Sephadex LH-20
CHCl3 : MeOH (1:1)
Epóxido de obtusol 11 mg
Mezcla 1.05 g
Clorofilas
½ Presión
SiO2 (G)
n-Hex.:AcOEt (17:3)
Cetona isomerizada de 2-debromo isoobtusol 26 mg
Mezcla 450 mg
1.Ac2O /pir.
2. C.C.F. prep.
n-Hex.:AcoEt (19:1)
Ac. 2-debromo isoobtusol 170 mg
Ac. 2-debromo obtusol 140 mg
Cetona isomerizada 2-debromo obtusol 32 mg

enfriada en hielo se añadieron, con agitación, 4 g de N-nitroso-N-metil-urea. La disolución amarilla de CH_2N_2 en el éter se decantó y se vertió gota a gota sobre una disolución de 1,04 gr de la mezcla en 250 ml. de éter, enfriada en hielo. Se dejó durante la noche y tras llevar a sequedad se obtuvieron 1.17 g de productos. La reunión metilada se cromatografió en una columna de media presión (45 cm x 6 cm) con 150 gr de gel de sílice de capa fina, empleando n-hexano : acetato de etilo (17:3) como eluyente. Se recogieron fracciones de 5 ml, obteniéndose 0,65 gr de ácidos grasos metilados y 0,3 gr de mezcla de productos. Esta mezcla fue cromatografiada en capa fina preparativa usando como eluyente n.hexano:acetato de etilo (9:1). De esta forma, se obtuvieron 80 mg (0,21 % del peso del extracto) del compuesto 96 y 38,5 mg (0,1 %) del producto 97, Esquema 10.

Esquema 10.


E
8.3 g
Sephadex LH-20
$CHCl_3$ MeOH: n-Hex. (1:1:2)
Mezcla
4.7 g
Clorofilas
SiO_2 (G)
n-Hex.: AcOEt (3:1)
Ac. grasos
Mezcla
1.04 g
1. CH_2N_2
2. ½ presión
SiO_2 (G)
n-Hex.: AcOEt (17:3)
Ac. grasos
0.67 g
Mezcla
1.04 g
C.C.F. prep.
n-Hex.: AcOEt (9:1)
Compuesto
96
80 mg
Compuesto
97
38.5 mg

Datos espectrales del obtusano.

Sólido blanco cristalizable en n-hexano.

P.F.= 174-175°C.

$[\alpha]_D$= +37.5° (c, 0.40, $CHCl_3$).

IR (KBr): 3100, 1645, 920, 875, 775, 640, y 620 cm^{-1}.

E.M.: ($C_{15}H_{23}Be_2Cl$) M^+ a m/e 402, 400, 398, 396

RMN-^{1}H (200 MHz, escala δ, $CDCl_3$): 0.95, 1.13, 1.85, (s, 3H cada uno), 4.45 (dd, 1H, J= 12 y 5 Hz), 4.70 (dd, 1H, J= 12 y 15 Hz), 4.87 y 5.26 (s, 1H cada uno).

RMN-^{13}C: (SW): 4000 Hz; NT): 18.500, 30.000; (AT): 1.023 seg; (P.W): 12-10 μseg; (PD): 0 seg; (DP): 8.192. 17.45 (c), 23.55 (c), 23.88 (c), 25.54 (t), 33.50 (t), 35.85 (t), 37.23 (t), 40.45 (t), 43.90 (s), 50.40 (s), 63.44 (d), 67.85 (d), 68.22 (s), 114.72 (t), 145.76 (s).

Datos espectrales del elatol.

Aceite incoloro.

$[\alpha]_D$= +91° (c, 0.73, $CHCl_3$).

IR ($CHCl_3$): 3100, 1650, 900, 835, 810 cm^{-1}.

E.M.: M^+ a m/e 336, 334, 332 ($C15H_{22}OBrCl$), 319, 299, 297, 281, 279, 257, 235, 201, 200, 199.

RMN-^{1}H (200 MHz, escala δ, $CDCl_3$): 1.10 (s, 6H), 1.71 (s, H), 4.17 (m, 1H), 4.62 (d, 1H, J= 5

Hz), 4.81 y 5.17 (s, 1H cada uno).

RMN-^{13}C: (SW): 4.000 Hz; (NT): 50.000, 75.000; (AT): 1.023 seg; (PW): 12-8 μseg; (PD): 0 seg; (DP): 8.192. 19.42 (c), 20.79 (c), 24.29 (c), 25.70 (t), 29.44 (t), 38.13 (t), 38.72 (t), 43.21 (s), 49.20 (s) 70.89 (d), 72.26 (d), 115.28 (t), 124.30 (s), 128.06 (s), 140.86 (s).

Datos espectrales del isoobtusol.

Producto blanco cristalino en aguja.

P.F.= 118-120°C.

$[\alpha]_D$= +89° (c, 0.9, $CHCl_3$).

IR (KBr): 3300, 3100, 1640, 880 cm^{-1}.

E.M.: M^+ a m/e 416, 414, 412 ($C_{15}H_{23}OBe_2Cl$).

RMN-^{1}H (200 MHz, escala δ, $CDCl_3$): 1.06, 1.35, 1.92 (s, 3H cada uno), 3.65 (m, 1H), 4.42 (m, 2H), 4.92 y 5.19 (s, 1H cada uno).

RMN-^{13}C: (SW): 4.000 Hz; (NT): 5.300, 10.000; (AT): 1.023 seg; (PW): 12-8 μseg; (PD): 0 seg; (DP): 8.192. 24.88 (c), 25.32 (c), 25.65 (c), 33.05 (t), 33.38 (t), 33.98 (t), 39.37 (t), 43.67 (s), 44.01 (s), 65.15 (d), 69.72 (d), 71.07 (s), 76.20 (d), 113.79 (t), 147.48 (s).

Datos espectrales del obtusol.

Sólido cristalino en n-hexano.

P.F.= 145-146°C.

$[\alpha]_D$= +10° (c, 1.84, $CHCl_3$).

IR (KBr): 3600, 3100, 1640, 930, 860 y 645 cm^{-1}

E.M.: M^+ a m/e 416, 414, 412 ($C_{15}H_{23}OBe_2Cl$), 399, 379, 361, 334, 332, 317, 315, 297, 295, 235, 217, 216, 197 y 95.

RMN-^{1}H (90 MHz, escala δ, $CDCl_3$): 1.08, 1.08 1.82 (s, 3H cada uno), 4.12 (m, 1H), 4.50 (d, 1H, J= 4 Hz), 4.70 (dd, 1H, J= 12 y 5 Hz), 5.07 y 5.41 (s, 1H cada uno).

RMN-^{13}C: (SW): 4.000 Hz; (NT): 5.250, 10.000; (A.T): 1.023 seg; (PW): 12-7 μseg; (PD): 0.1 seg, (DP): 8.192. 20.83 (c), 23.91 (c), 24.20 (c), 25.64 (t), 37.19 (t), 38.62 (t), 40.59 (t), 44.25 (s), 58.26 (s), 67.59 (d), 68.04 (s), 70.44 (d), 71.80 (d), 117.65 (t), 141.44 (s).

<u>Datos espectrales del 2-debromo elatol</u>

Aceite incoloro.

$[\alpha]_D$= +98° (c, 0.84, $CHCl_3$).

IR ($CHCl_3$): 3400, 3100, 1650, 900 y 820 cm^{-1}.

E.M.: M^+ a m/e 254, 256 ($C_{15}H_{23}OCl$),

RMN-^{1}H (90 MHz, escala δ, $CDCl_3$): 0.92, 1.05, 1.74 (s, 3H cada uno), 4.06 (m, 1H), 4.81 y 5.11 (s, 1 cada uno).

Datos espectrales del acetato de 2-debromo isoobtusol.

Cristaliza en n-hexano.

P.F.= 102-104°C.

$[\alpha]_D$= +73° (c, 0.70, $CHCl_3$).

IR (KBr): 3080, 1740, 1640, 880, 700 cm^{-1}.

E.M.: M^+ a m/e 376, 378, 380 ($C_{17}H_{26}O_2BrCl$), 334, 336, 338, 316, 318, 320, 237, 239, 241.

RMN-^{1}H (90 MHz, escala δ, $CDCl_3$): 0.88, 1.02, 1.92, 2.00 (s, 3H cada uno), 4.45 (s, 1H), 4.80 (m, 1H), 4.86 y 5.12 (s, 1H cada uno).

Datos espectrales del acetato de 2-debromoobtusol.

Producto blanco cristalino.

P.F.= 81-82°C.

$[\alpha]_D$= +11° (c, 0.53, $CHCl_3$).

IR (film): 3110, 1740, 1650, 880, 750 cm^{-1}.

E.M.: M^+ a m/e 378, 376 ($C_{17}H_{26}O_2BrCl$), 318, 316, 275, 273, 237, 236.

RMN-^{1}H (90 MHz, escala δ, $CDCl_3$): 0.90, 0.98, 1.84, 2.03 (s, 3H cada uno), 4.34 (dd, 1H, J= 12 y 5 Hz), 4.85 (m, 1H), 4.90 y 5.34 (s, 1H cada uno).

RMN-^{13}C: (SW): 4.000 Hz; (NT): 7.712, 18.550; (AT): 1.023 seg; (PW): 12-10 μseg; (PD): 0 seg; (DP): 8.192. 21.34(c), 23.50 (c), 23.88 (c), 24.46 (c), 25.78 (t), 36.03 (t), 37.94 (t), 38.28 (s),

40.07 (t), 41.94 (t), 48.29 (s), 67.92 (d), 68.70 (s), 70.55 (d), 116.33 (t), 144.53 (s), 170,12 (s).

Epoxidación del obtusol

Se disolvieron 500 mg de producto en 10 ml de éter seco y se añadieron 400 mg de ácido m-cloroperbenzoico a la temperatura ambiente. La mezcla se sometió a reflujo durante 48 horas, al término de las cuales la reacción no había sido completa, Por extracción y cromatografía en columna de la manera usual se aislaron dos productos, uno de los cuales (mayoritario) presentaba un marcado aumento de la polaridad y coincidía en sus datos espectrales con el epóxido de obtusol aislado como producto natural.

Datos espectrales del epóxido del obtusol.

Sólido blanco cristalino.

P.F.= 103-105°C.

$[\alpha]_D$= +5.9° (c, 1.69, $CHCl_3$).

IR ($CHCl_3$): 3450, 3060, 2970, 1450, 1370, 1090, 845 cm^{-1}.

E.M.: M^+ a m/e 434, 432, 430 ($C_{15}H_{22}O_2Br_2Cl$), 350, 333, 312, 241, 233, 215, 198.

RMN-^{1}H (200 MHz, escala δ, $CDCl_3$): 1.09, 1.20, 1.82 (s, 3H cada uno), 4.23 (d, 1H, J= 3 Hz), 4.42

(d, 1H, J= 3 Hz), 5.00 (dd, 1H, J= 12 y 5 Hz).

RMN-^{13}C: (SW): 4.000 Hz; (NT): 9.000, 18.000; (AT): 1.023 seg; (PW): 12-10 μseg; (PD): 0 seg; (DP): 8.192. 20.51 (c), 24.12 (c), 24.97 (c), 25.18 (t), 36.19 (t), 37.27 (t), 39.96 (t), 45.02 (s), 46.18 (s), 50.00 (t), 58.39 (s), 67.18 (s), 67.73 (d), 69.38 (d), 71,95 (d).

Reacción del isoobtusol con alúmina.

Se disolvieron 200 mg de isoobtusol en 7 ml de éter sulfúrico seco y se le añadieron 150 mg de alúmina de columna (activada durante 2 horas a 160°C). A temperatura ambiente, la reacción fue completa a las 48 horas, siguiéndose la reacción en capa fina. Al finalizarla reacción, la alúmina se separó por filtración, obteniéndose un producto que se identificó como la cetona (94).

Datos espectrales de la cetona isomerizada del 2-debromoisoobtusol.

Producto blanco cristalino.

P.F.= 67-69°C.

$[\alpha]_D$= +65.7° (c, 0.275, $CHCl_3$).

UV (EtOH): λ_{max}= 242 nm, ϵ= 11200.

IR ($CHCl_3$): 2990, 1660, 1605, 1380, 975 cm^{-1}.

E.M.: M^+ a m/e 334, 332 ($C_{15}H_{22}OBrCl$), 278,

276, 254, 252, 200, 198.

RMN-^{1}H (200 MHz, escala δ, $CDCl_3$): 1.01, 1.19, 1.57 (s, 4H), 1.98 (s, 3H), 2.23 (d, 3H, J= 1 Hz), 3.06 (dd, 1H, J= 15 y 4 Hz), 4.60 (t, 1H, J= 4 Hz), 5.85 (d, 1H J= 1 Hz).

RMN-^{13}C: (SW): 4.000 Hz; (NT): 30.000, 65.000; (AT): 1.023 seg; (PW): 12-10 μseg; (PD): 0 seg; (DP): 8.192. 24.05 (c), 24.24 (t), 25.08 (c), 31.49 (c), 36.32 (t), 39.62 (t), 42.41 (s), 43.10 (s), 49.07 (t), 65.38 (d), 68.30 (s), 127.43 (d), 107.30 (s).

Reacción del obtusol con alúmina

A 300 mg de obtusol, disueltos en 10 ml de éter etílico seco, se le añadieron 100 mg de alúmina de columna (activada durante 2 horas a 160°C). La mezcla se sometió a reflujo durante 24 horas. La reacción fue seguida por cromatografía en capa fina. Cuando reaccionó todo el obtusol se separó la solución mediante filtración, obteniéndose un producto cristalino por simple evaporación del disolvente, que coincide en sus datos espectrales con la cetona (95).

Datos espectrales de la cetona isomerizada del 2-debromoobtusol.

Producto blanco cristalino.

P.F.= 101-103°C.

$[\alpha]_D$= +43.6° (c, 0.6, $CHCl_3$).

UV (EtOH): λ_{max}= 242 nm, ϵ= 10500.

IR ($CHCl_3$): 2990, 1670, 1380, 1090 cm^{-1}.

E.M.: M^+ a m/e 334, 332 ($C_{15}H_{22}OBrCl$), 294, 292, 278, 276, 254, 244, 242, 228, 200, 198.

RMN-^{1}H (200 Mhz, escala δ, $CDCl_3$): 0.96 y 1.12 (s, 3H cada uno), 1.86 (s, 3H), 2.25 (d, 3H, J= 1 Hz), 4.85 (dd, 1H, J= 6 y 12 Hz), 5.87 (d, 1H, J= 1 Hz).

RMN-^{13}C: (SW): 4.000 Hz; (NT): 25.050, 65.000; (AT): 1.023 seg; (PW): 12-10 µseg; (PD): 0 seg; (DP): 8.192. 23.68 (c), 24.12 (c), 24.44 (c), 25.05 (t), 25.22 (c), 26.46 (s), 36.13 (t), 41.40 (t), 42.63 (s), 48.82 (t), 66.82 (s), 68.59 (d), 128.17 (d), 166.99 (s).

<u>Datos espectrales del compuesto 96</u>.

Sólido blanco.

P.F.= 109-110°C.

$[\alpha]_D$= -57.3° (c, 0.75, $CHCl_3$).

UV (EtOH): λ_{max}= 241 nm, ϵ= 16.900.

IR ($CHCl_3$): 3450, 3000, 2960, 1720, 1650, 1605, 1445, 1375, 1330, 1290, 1260, 1235, 1110, 990, 910 cm^{-1}.

E.M.: M^+ a m/e 314, 316 ($C_{15}H_{23}O_2Br$), 311, 313, 299. 302, 296,

RMN-^{1}H (200 MHz, escala δ, $CDCl_3$): 1.12, 1.15, 1.36, 2.04 (s, 3H cada uno), 4.32 (dd, 1H, J=5 y 12 Hz), 5.88 (d, 1H, J= 6 Hz).

RMN-^{13}C (SW): 4.000 Hz; (NT): 25.050, 65.000; (AT): 1.023 seg; (PW): 12-10 μseg; (PD): 0 seg; (DP): 8.192. 22.64 (c), 23.45 (t), 27.53 (c), 27.69 (c), 29.00 (c), 34.92 (t), 36.38 (t), 40.62 (s), 48.12 (s), 50.18 (t), 68.32 (d), 69.95 (s), 127.30 (d), 167.78 (s), 187.00 (s),

<u>Datos espectrales del compuesto 97</u>

Sólido blanco.

P.F.= 97-98°C

[α]D= +30° (c, 0.5, $CHCl_3$).

UV (EtOH): λ_{max}= 268 nm.

IR ($CHCl_3$): 3390, 3080, 2960, 2860, 1700, 1445, 1245, 1030, 800, 740 cm^{-1}.

E.M.: 334, 336, 338 ($C_{15}H_{24}OBrCl$), 316, 318, 301, 303, 279.

RMN-^{1}H (200 MHz, escala δ, $CDCl_3$): 0.84, 0.96, 1.82 (s, 3H cada uno), 3.77 (m, 1H), 4.72 (dd, 1H, J= 4 y 12 Hz), 4.86 y 5.28 (s, 1H cada uno).

RMN-^{13}C (SW): 4.000 Hz; (NT): 9.000, 18.000; (AT): 1.023 seg; (PW): 12-10 μseg; (PD): 0 seg;

(DP): 8.192. 23.93 (c), 24.09 (c), 24.77 (c), 26.06 (t), 36.28 (t), 38.37 (s), 40.83 (t), 42.91 (t), 45.83 (t), 48.49 (s), 68.29 (d), 68.48 (d), 69.07 (s), 115.67 (t), 145.47 (s).

Acetilación del compuesto 97

20 mg del compuesto 97 se disolvieron en 5 ml de piridina y se añadió 1 ml de anhídrido acético. Se dejó reaccionar durante seis horas a temperatura ambiente, al cabo de las cuales se detuvo la reacción, añadiendo hielo y se extrajo de la manera usual. Se obtuvieron 18 mg de acetato del compuesto 97.

Datos espectrales del acetato del compuesto 97a

Sólido blanco.

$[\alpha]D$= +13.8° (c, 0.6, $CHCl_3$).

UV (EtOH): λ_{max}= 205 nm

IR ($CHCl_3$)= 2960, 1720 y 1245 cm^{-1}.

E.M.: M^+ a m/e 376, 378, 380 ($C_{17}H_{26}O_2BrCl$), no obervado, 316, 318, 273, 275, 236, 237, 185, 187.

RMN-^{1}H (200 MHz, escala δ, $CHCl_3$): 0.86, 0.93, 1.79, 1.99 (s, 3H cada uno), 4.67 (dd, 1H, J= 5 y 12 Hz) 4.80 (m, 1H), 4.87 y 5.30 (s, 1H cada uno).

RMN-^{13}C (SW): 4.000 Hz; (NT): 9.000, 18.000; (AT): 1.023 seg; (PW): 12-.0 μseg; (PD): 0 seg;

(DP): 8.192. 21.47 (c), 23.68 (c), 24.07 (c), 24.65 (c), 25.96 (t), 36.20 (t), 38.11 (t), 38.45 (s), 40.83 (t), 41.61 (t), 48.45 (s), 68.12 (d), 69.04 (s), 70.76 (d), 116.59 (t), 144.65 (s), 170.46 (s).

ESTUDIO QUIMICO DE LAURENCIA SP. RECOLECTADA EN ORZOLA

Recolección y estracción del alga

El alga fue recogida en el mes de Junio de 1984 en Orzola, Lanzarote. El alga fue recolectada durante la bajamar, entre 0.5 y 2 m de profundidad, usando equipos de buceo autónomos. Tras secarla al aire, el alga pesó 3.1 Kg. Se trituró y se extrajo en aparato soxhlet con acetona hasta agotamiento.

El peso total del extracto, un aceite denso de color verdoso, fue de 37.6 g (1.21 % del peso del alga seca).

Cromatografía del extracto acetónico

La totalidad del extracto acetónico del alga fue cromatografiada en una columna de media presión (45 cm x 6 cm) con 200 g de gel de sílice de capa

fina (tipo G). Como eluyente se usaron distintas mezclas de n-hexano: acetato de etilo de polaridad creciente. Se recogieron fracciones de 100 ml y se unieron las que contenían los mismos productos para cromatografiarlos de nuevo.

La reunión de las fracciones del 30 al 50 % del percolado inicial, con un peso total de 8,1 g, fueron cromatografiadas en Sephadex LH-20 usando como eluyente n-hexano: cloroformo: metanol (2:1:1), con el objeto de eliminar las clorofilas presentes. Las fracciones resultantes, exentas de clorofilas, se cromatografiaron en una columna de media presión (45 cm x 6 cm), con 150 g de gel de sílice (tipo G), utilizando mezclas crecientes en polaridad, desde 1:0 a 1:1, de n-hexano: acetato de etilo como eluyente, lavando con acetato de etilo. Se recogieron fracciones de 50 ml con un flujo de 5 ml/min.

Las fracciones del 40 % fueron, posteriormente, cromatografiadas en una columna de media presión (60 cm x 2 cm) con gel de sílice (G), usando como eluyente n-hexano: acetato de etilo (17:3), con una velocidad de flujo de 1 ml/min, recogiéndose fracciones de 5 ml. 122 mg de productos, que presenta en placa fina dos manchas de color rojo al revelar con calor a 140°C, fueron cromatografiados en capa fina preparativa eluyéndose varias veces con n-hexano: acetato de etilo (9:1), obteniéndose 17.2 mg

del compuesto 104 y 32.7 mg del producto 105.

Datos espectrales del compuesto 104.

Aceite incoloro.

$[\alpha]_D$= 49.9° (c, 0.13, $CHCl_3$).

UV (EtOH): λ_{max}= 206 nm, ϵ= 16700.

IR ($CHCl_3$): 3520, 3000, 2985, 1720, 1650, 1445, 1430, 1365, 1245, 1200, 1075, 1030, 1020, 950, 900, 885, 805 cm^{-1}.

E.M.: M^+ a m/e 356, 358 ($C_{17}H_{25}O_3Br$), no observado, 314, 316, 296, 298, 281, 283, 276, 234, 216 y 217.

RMN-^{1}H (200 MHz, escala ∂, $CDCl_3$): 1.00, 1.04 (s, 3H cada uno), 1.59 (dd, 4H, J= 1 y 13 Hz), 2.04 (s, 3H), 4.14 (m, 1H), 4.60 (d, 1H, J= 3 Hz), 4.74 (s, 1H), 4.91 (d, 1H, J= 10 Hz), 5.07 (s, 1H), 5.48 (m, 1H).

RMN-^{13}C: 18.52 (s), 20.42 (s), 21.39 (s), 24.45 (s), 30.36 (t), 32.26 (t), 38.21 (t), 43.46 (s), 48.75 (s), 71.02 (d), 72.47 (d), 71.02 (d), 115.95 (t), 124.33 (d), 132.00 (s), 141.10 (s), 171.15 (s).

Datos espectrales del compuesto 105.

Aceite

$[\alpha]_D$= +93° (c, 0.36. $CHCl_3$).

UV (EtOH): λ_{max}= 260nm.

IR ($CHCl_3$): 2990, 1710, 1360, 1240, 1025 cm^{-1}.

E.M.: M^+ a m/e 398, 400 ($C_{19}H_{27}O_4Br$), no observado, 356, 358, 338, 340, 296, 298, 259, 217.

RMN-^{1}H (200 MHz, $CDCl_3$): 1.00 y 1.03 (s, 3H cada uno), 1.59 (s, 3H), 1.95 y 2.03 (s, 3H cada uno), 4.47 (d, 1H, J= 3 Hz), 4.73 y 4.94 (s, 1H cada uno), 5.16 (dd, 2H, J= 3 y 7 Hz), 5.64 (s, 1H).

RMN-^{13}C: 18.25 (c), 21.39 (c), 21.46 (c), 24.13 (c), 25.37 (c), 30.29 (t), 32.93 (t), 36.47 (t), 42.56 (s), 44.87 (s), 67.86 (d), 72.03 (d), 73.85 (d), 115.14 (t), 123.78 (d), 132.36 (s), 145.62 (s), 170.9 (s), 171.33 (s).

ESTUDIO QUIMICO DE LAURENCIA SP. RECOLECTADA EN GÜIMAR

Busqueda de los compuestos 106 y 107.

Con el fin de determinar la configuración absoluta de los compuestos 106 y 107, y habida cuenta de que estos metabolitos no habian sido detectados en las especies del género Laurencia recolectadas en Gran Canaria y Lanzarote, se procedió a la recolección de L. obtusa recolectada en Guimar, Isla de Tenerife, de donde ya habian sido aislados y estudiados anteriormente en nuestro laboratorio[107].

Recolección y cromatografía del alga recolectada en Güimar.

El alga Laurencia sp. fue recogida en Julio de 1986, en el Puerto de Guimar, durante la bajamar, entre 0,5 y 2 m. de profundidad, usando equipos de buceo autónomos. Tras secarla al aire, el alga pesó unos 3 Kg, se trituró y se extrajo en aparato soxhlet con acetona. Se obtuvo un extracto de 24 g (0,8 % del peso total), que se cromatografió en gel de sílice (0,063-0,2 mm). El eluyente usado fue mezclas de éter de petróleo (E.P.) y acetato de etilo (AcOEt). Los resultados obtenidos se muestran en el Esquema 11.

Las fracciones que contenían los compuestos 106 y 107, se reunieron, con un peso total de 4.8 g, se disolvieron en piridina y se les añadió una cantidad equivalente de anhídrido acético. Después de 24 horas se paró la reacción añadiendo hielo y se extrajo de la manera usual. Al producto de reacción se le hizo una nueva cromatografía con gel de sílice 0,063-0,2 mm.. utilizando como único eluyente una mezcla de E.P.: AcOEt, (97:3).

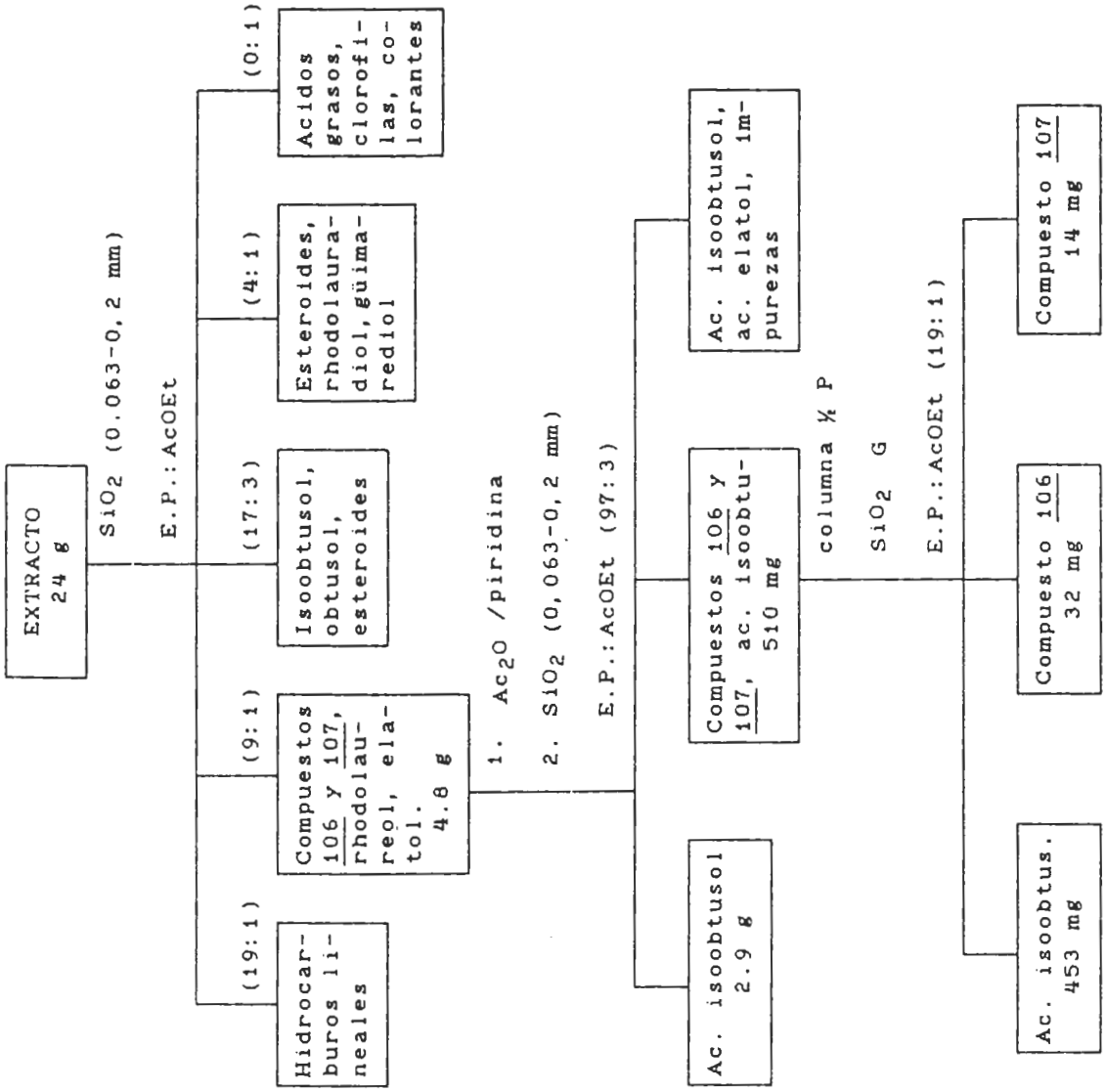
Con las fracciones que contienen los compuestos 106 y 107 se formó un nuevo extracto que fue recromatografiado. Esta vez se usó una columna de media presión con gel de sílice de capa fina (tipo G). El único eluyente utilizado fue una mezcla de E.P. : AcOEt (19:1), recogiéndose fracciones de 10 ml. Se separaron 32 y 14 mg de 106 y 107, respectivamente, y el resto como acetato de isoobtusol (Esquema 11).

Los compuestos 106 y 107 no son separables como alcoholes. Por ello, se procedió a la acetilación de la mezcla y separación cromatográfica de los acetatos. Una vez separados los acetatos de ambos, se hidrolizaron con carbonato potásico en metanol, obteniéndose los compuestos 106 y 107 puros, y aceitosos. Todos los intentos de preperación de derivados cristalinos, a partir de los compuestos 106 y 107 y de sus respectivos dehidro-

derivados, con el fin de hacer estudios de difracción de rayos X, y obtener así la configuración absoluta de los centros quirales presentes y el carácter E o Z del doble enlace tetrasustituido, no han sido posibles.

Seis mg del compuesto 107 se hicieron reaccionar con equivalente y medio de p-bromocloruro de benzoilo, utilizando 4-dimetil-amino-piridina como catalizador, en CH_2Cl_2, en atmósfera inerte, con agitación y a temperatura ambiente. La reacción se paró a las 48 horas con la adición de hielo y se extrajo de la manera usual. La mezcla de productos de la reacción se separó por placa preparativa, utilizando como eluyente n-hexano: acetato de etilo (19:1), obteniéndose 7,5 mgr. del derivado del compuesto 107. Este derivado fue, posteriormente, purificado por cromatografía líquida, columna de sílice, YMC, 5 μ, 30 cm x 2.5 cm, usando n-hexano: acetato de etilo al 3 %, flujo 1 ml/min, utilizando un detector de luz ultravioleta de longitud de onda fija (λ= 254 nm). A este derivado p-bromobenzoato del compuesto 107 se le hizo un estudio de dicroismo circular en la Universidad de Nueva York, cuyos resultados han sido descritos en el apartado de "Resultados y Discusión".

ESQUEMA 11


EXTRACTO
24 g
SiO_2 (0.063-0,2 mm)
E.P.:AcOEt
(19:1)
Hidrocarburos lineales
(9:1)
Compuestos 106 y 107, rhodolaureol, elatol.
4.8 g
(17:3)
Isoobtusol, obtusol, esteroides
(4:1)
Esteroides, rhodolauradiol, güimarediol
(0:1)
Acidos grasos, clorofilas, colorantes
1. Ac_2O /piridina
2. SiO_2 (0,063-0,2 mm)
E.P.:AcOEt (97:3)
Ac. isoobtusol
2.9 g
Compuestos 106 y 107, ac. isoobtu-
510 mg
Ac. isoobtusol, ac. elatol, impurezas
columna ½ P
SiO_2 G
E.P.:AcOEt (19:1)
Ac. isoobtus.
453 mg
Compuesto 106
32 mg
Compuesto 107
14 mg

Datos espectrales del compuesto 106

Aceite

$[\alpha]_D$= -37° (c, 1.62, $CHCl_3$).

IR (film NaCl): 3400, 2940, 1460, 1390, 1240, 1200, 1140 cm^{-1}.

E.M.: M^+ a m/e 334, 336, 338 ($C_{15}H_{24}BrClO$), no se observa, 250, 252, 254, 171, 173, 136, 84.

RMN-^{1}H (60 MHz, valores ∂, $CDCl_3$): 1.71 (s, 3H), 1.73 (s, 9H), 4.40 (m, 1H), 4.50 (m, 1H), 5.22 (d-ancho, 1H, J= 9 Hz).

RMN-^{13}C: (SW): 4000 Hz; (NT): 52574; (AT): 1023 seg; (PW): 12 μseg; (PD): 0 seg; (DP): 8192; 18.2 (t+c), 25.8 (t+c), 31.8 (c), 35.6 (t), 37.5 (t), 42.5 (t), 62.0 (d), 66.4 (d), 72.3 (s), 126.9 (s), 127.3 (d), 129.4 (s), 135.1 (s).

Datos espectrales del acetato del compuesto 106

Aceite

E.M.: M^+ a m/e 376, 378, 380 ($C_{17}H_{26}BrClO_2$), 316, 318, 320, 283, 285, 237, 239,

RMN-^{1}H (60 MHz, valores ∂, $CDCl_3$): 1.70 (s-ancho, 12H), 2.00 (s, 3H), 4.41 (t, 1H, J= 3.5 Hz), 5.12 (d, 1H, J= 9.5 Hz), 5.62 (dt, 1H, J= 7 y 9.5 Hz).

Datos espectrales del compuesto 107

Aceite

$[\alpha]_D$= +66° (c, 0.25, $CHCl_3$).

IR (KBr): 33450, 2940, 1455, 1390, 1240, 1200, 1140 cm^{-1}.

RMN-^{1}H (60 MHz, valores ∂, $CDCl_3$): 1.67 (s, 3H), 1.72 (s, 6H), 1.91 (s, 3H), 4.45 (m, 1H), 4.50 (m, 1H), 5.20 (d-ancho, 1H, J= 9Hz).

RMN-^{13}C: (SW): 4000 Hz; (NT): 66066; (AT): 1023 seg; (PW): 12 μseg; (PD): 0 seg; (DP): 8192; 18.2 (c), 19.0 (c), 25.9 (c), 27.1 (t), 31.6 (c), 35.5 (t), 38.5 (t), 42.4 (t), 67.5 (d), 67.8 (d), 70.1 (s), 126.9 (s), 127.7 (d), 127.9 (s), 135.0 (s).

Datos espectrales del acetato del compuesto 107

Aceite

E.M.: M^+ a m/e 376, 378, 380 ($C_{17}H_{26}O_2BrCl$), 316, 318, 320, 283, 285, 237, 239,

RMN-^{1}H (60 MHz, valores ∂, $CDCl_3$): 1.71 (s, 9H), 1.90 (s, 3H), 2.00 (s, 3H), 4.45 (t, 1H, J= 3 Hz), 5.12 (d-ancho, 1H, J= 9 Hz), 5.60 (dt, 1H, 6 y 9 Hz).

RMN-^{13}C: (SW): 4000 Hz; (NT): 59034; (AT): 1023 seg; (PW): 12 μseg; (PD): 0 seg; (DP): 8192; 18.4 (c), 19.1 (c), 25.9 (c), 27.1 (t), 31.7 (c), 35.5 (t), 38.4 (t), 39.6 (t), 67.7 (d), 70.3 (s), 70.5

(d), 123.5 (d), 126.1 (s), 127.8 (s), 137.2 (s).

Reacción del compuesto 107 con p-bromocloruro de benzoilo.

6 mg del producto 107 se hicieron reaccionar con un equivalente y medio de p-bromocloruro de benzoilo, utilizando 4-dimetil-amino-piridina como catalizador en CH_2Cl_2 seco y en atmósfera inerte, con agitación, a temperatura ambiente. La reacción fue completa a las 24 horas, parándose la reacción con hielo y extrayéndose de la manera usual. El producto de reacción fue purificado, inicialmente, en placa preparativa y, posteriormente, por cromatografía líquida, como se indicó anteriormente.

Datos espectroscópicos del derivado p-bromobenzoato del compuesto 107

Aceite

UV (CD_3CN): λ_{max}= 242 nm.

DC (CD_3CN): λ= 238 nm, $\Delta\epsilon$= +16.1

RMN-^{1}H (250 MHz, valores ∂, $CDCl_3$): 1.72 (s, 3H), 1.74 (s, 6H), 1.87 (s, 3H), 4.38 (t, 1H, J= 4Hz), 5.19 (d, 1H, J= 9 Hz), 5.82 (dt, 1H, J= 7 y 9 Hz), 7.54 (dd, 2H, J= 2 y 4 Hz), 7.86 (dd, 2H, J= 2 y 4 Hz).

BIBLIOGRAFIA

1.- a) T.A. Geissman y D.H. Crourt, (1969), "Organic Chemistry of Secondary Plant Metabolism", Freeman, San Francisco.

b) J.Mann, (1978), "Secondary Metabolism", Clarendon Press, Oxford.

c) R.B. Herbert, (1981), "The Biosynthesis of Secondary metabolites", Chepmen y Hall, London y New York.

d) E. Haslem, (1985), "Metabolites and Metabolism ", Clarendon Press, Oxford.

2.- a) J.B. Harborne, (1977), "Introduction of Ecological Biochemistry", Academic Press, London y New York.

b) M. Barbier, (1979), "Introduction to Chemical Ecology", Longman, London y New York.

3.- E. Haslem, (1986), en "Marine Natural Reports", 217.

4.- E. Haslem, (1979), en "Comprehensive Organic chemistry", vol.5., ed. E. Haslem, Pergamon Press, Oxford.

5.- J.D. Bu'lock, (1965), "Biosynthesis of Natural Products", McGraw-Hill, Mainchehead.

6.- J.J. Plattner y H. Rapoport, (1974), J. Am. Chem. Soc, 93, 1758.

7.- E. Haslem, (1974), "The Shikimete Pathway", Botterworths, London.

8.- E. Holler, (1974), en "Secondery Metabolism

and Co-evolution", ed. M. Luckner, K. Mothes y L. Nover, Deutsche Akademic der Naturforscher Leopoldine, Halle/Saale, 123.

9.- J.D. Bu'lock, (1980), en "The Biosynthesis of Micotoxins", ed. P.S. Steyn, Academic Press, London y New York., 1.

10.- E. Katz y A.L. Demain, (1977), Bacteriol. Rev., 41, 449

11.- E.E. Rice, (1983), "Allelopathy" , Academic Press, London y New York.

12.- H. Muller y C.H. Choo, (1972), en "Phytochemical Ecology", ed. J.B. Harbone, Academic Press, London y New York, 201.

13.- E. Strasburger, F. Noll, H. Scheuck y A.F.W. Schimper, (1986), en "Tratado de Botánica", Ed. Marin S.A.

14.- W. Fenical, (1975), J. Phycol, 11, 245.

15.- a) R.K. Dieter, R. Kinnel, J. Meinwald y T. Eisner, (1982), Tetrahedron lett, 23, 579.

b) R.B. Kinnel, R.K. Dieter, J. Meinwald, D. Van Eigen, J. Clardy, T. Eisner, M.O. Stallard y W. Fenical (1979), Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 76, 3576.

c) M.O. Stallard, W. Fenical y J.J. Kittredge (1978), Tetrahedron, 34, 2077.

16.- S.J. White, R. Tanalski, W. Fenical y R.S. Jacobs, (1978), Pharmacologist, 20, 210.

17.- a) G.T. Carter, K.L. Rinehart, L.H. Li, S.L. Kuentzel y J.L.Connor, (1978), Tetrahedron lett, 4479.

b) K. Ohta y M. Takagi, (1977), Phytochamistry, 16, 1062.

c) K.L. Rinehart, (1980), Third International Symposiom on Marine Natural products.IUPAC. Brussels.

d) S.M.Waraszkiewics y K.L. Erickson, (1974), Tetrahedron lett, 2003.

18.- a) K.H. Hollenbeak, F.J. Schmitz, M.B. Hossain y D. Van der Helmu, (1979), Tetrahedron, 35, 541.

b) G.R. Pettit, C.L. Herald, M.S. Allen, R.B. Von Dreele, L.D. Vanell, J.P.Y.Kao y W.Blake, (1977), J. Am. Chem. Soc., 99, 262.

19.- Y. Saito, (1969), Phycologia, 8, 85.

20.- a) W. Fenical y J.N. Norris, (1975), J. Phycol, 11, 104.

b) B. M. Howard, W. Fenical, J. Finer, K. Hirotso y J.Clerdy, (1977), J. Am.Chem. Soc., 99, 6440.

c) S.M. Waraszkiewics, H.M.Son, K.L.Erickson, J. Finer y J. Clerdy, (1978), J.Org. Chem., 43, 3194.

21.- K.L. Erickson, (1983), en "Marine Natural Products", ed. P.Scheuer, vol. 5. 131, Acade-

mic Press, New York.

22.- D.W. Young, B.M. Howard y W. Fenical, (1980), J. Phycol, 16, 182.

23.- D.J. Faulkner, (1984), en "Natural Products Reports", 1251.

24.- W. Parker, J.S. Roberts y R. Remage, (1969), Q. Rev. Chem. Soc., 21, 331.

25.- J.D. Martin y J. Darias, (1978), en "Marine Natural Products", ed. P. J. Scheuer, Vol. 1, 125, Academic Press, New York.

26.- W. Fenical, (1978), en "Marine Natural Products", ed. P.J. Scheuer, vol. 2, 173.

27.- J.W. Blunt, R.J.Lake, M.H.G.Munro y S.C. York, (1981), Aust. J. Chem., 34, 2393.

28.- a) E. Kurosawa, A. Fukusawa y T. Jrie (1972), Tetrahedron lett., 2121.

b) R.E. Moore, (1978), en "Marine Natural Products", ed. P. J. Scheuer, vol. 1, 43, Academic Press, New York.

29.- a) L. Rusicka, (1963), Pure Appl. Chem., 6, 493.

b) L. rusicka, (1970), Annu. Rev. Biochem., 42, 1.

30.- P.J. Sheuer, (1973), en "Chemistry of Marine Natural Products", Academic. Press, New York.

31.- R.A. Duce, J.W. Winchester y T.W. Van Nahl, (1965), J. Geophys. Res, 70, 1775.

32.- Y. Obota y S. Fukushi, (1953), J. Agr. Chem. Soc. Jpn, 27, 331.

33.- D.J. Faulkner, (1986), en "Natural Products reports", 1.

34.- M. Suzuki, E. Kurosawa y T. Irie, (1974), Tetrahedron lett., 821.

35.- M. Suzuki, A. Furuschki y E. Kurosawa, (1979), Tetrahedron, 35, 823.

36.- B.M. Howard y W. Fenical, (1975), Tetrahedron lett, 1687.

37.- A. Furusaki, C. Katayama, T. Matsumoto, M. Suzuki, T. Suzuki, H. Kikuchi y E. Kurosawa, (1982), Bull. Chem. Soc. Jpn, 55, 3398.

38.- M. Ojika, Y. Shizuri y K. Yamada, (1982), Phytochemistry, 21, 2410.

39.- M. Suzuki, H. Kikuchi y E. Kurosawa, (1982), Bull. Chem. Soc. Jpn., 55, 1561.

40.- B.M. Howard y W. Fenical, (1976), Tetrahedron lett, 2519.

41.- M. Suzuki y E. Kurosawa, (1976), Tetrahedron lett., 4817.

42.- a) L.E. Wohinsky y D.J. Faultoner, (1976), J. Org. Chem., 41, 597.

b) J. Ichinose y T. Kato, (1978), Chemistry lett., 61.

43.- M. Suzuki y E. Kurosawa, (1978), Tetrahedron lett., 2503.

44.- M. Suzuki y E. Kurosawa, (1978), Tetrahedron lett., 4805.

45.- M. Suzuki, A. Furusaki, N. Hashiba y E. Kurosawa, (1979), Tetrahedron lett., 879

46.- F.J. Schmitz, (1980), "Third. Int. Symposium on Marine Natural Products". Brussels.

47.- J.J. Sims, W. Fenical, R.M. Wing y P. Radlick, (1971), J.Am. Chem. Soc, 93, 3774.

48.- J.J. Sims, W. Fenical, R.M. Wing y P. Radlick, (1972), Tetrahedron lett., 195.

49.- T. Irie, M. Suzuki y Y. Hayakama, (1969), Bull. Chem. Soc. Jpn, 42, 843.

50.- J.J. Sims, W. Fenical, R.M. Wing y P. Radhick, (1973), J. Am. Chem. Soc., 95, 972.

51.- D.J. Faulkner y R.J. Anderson, (1974), en "The Sea", ed. E.D. Goldberg, vol. 5, 679, Wiley, New York.

52.- S.J. Selover y P. Crews, (1980), J. Org. Chem., 45, 69.

53.- D.J. Faulkaer, M.O. Stallard y C. Ireland, (1974), Tetrahedron lett., 3571.

54.- B.M. Howard, (1978), Ph.D. Thesis, University of California, San Diego.

55.- J.A. McMillan, I.C. Paul, R.H. White y L.P. Hayer, (1974), Tetrahedron lett., 2039.

56.- R.H. White y L.P. Hager, (1975), en "The Nature of Seawater", Dauleu Kouferensen, ed.

UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA
BIBLIOTECA DE CIENCIAS BASICAS

E.D. Goldberg, 633, Berlin.

57.- C. Ireland, M.O. Stallard, J.D. Faulkner, J. Finer y J. Clardy, (1976), J. Org. Chem., 41, 2461.

58.- W. Fenical, (1976), Phytochemistry, 15, 511.

59.- S.M. Waraszkiewics y K.L. Erickson, (1975), Tetrahedron lett., 281.

60.- S.M. Waraszkiewics y K.L. Erickson, (1976), Tetrahedron lett., 1443.

61.- S.M. Waraszkiewics, K.L. Erickson, J. Finer y J. Clardy, (1977), Tetrahedron lett., 2311.

62.- J.J. Sims, G.H. Lin y R.M. Wing, (1974), Tetrahedron let., 3487.

63.- A.G. González, J. Darias, A. Diaz, J.D. Fourneron, J.D. Martín y C. Pérez, (1976), Tetrahedron lett., 3051.

64.- F.J. Schmitz, Y. Gopichand, D.P. Michaud, R. S. Prasad, S. Remaley, M. B. Hossain, A. Rahman, P.K. Sengupte y D. Van der Helm, (1980), "Third International Symposium on Marine Natural products", IUPAC, Brussels.

65.- S.J.White y R.S. Jacobs, (1981), Mol. Pharm., 20, 614.

66.- A.G. González, J.D. Martín, S. Martín y M. Norte, (1979), Tethahedron lett., 2719.

67.- A.G. González, J.D. Martín, V.S. Martín, M. Martinez-Ripoll y J. Fayos, (1979), Tetrahe-

dron lett., 2717.

68.- A. Furusaki, T. Matsumoto, K. Kurata, T. Suzuki, M. Suzuki y E. Kurosawa, (1983), Bull. Chem. Soc. Jpn., 56, 3501.

69.- A.G. González, J.D. Martín, V.S. Martín, M. Norte, J. Fayos y M. Martínez-Ripoll, (1978), Tetrahedron lett., 2035.

70.- K. Kurata, T. Suzuki, M. Suzuki, E. Kurosawa, A. Furusaki, K. Suehiro, T. Matsumoto y C. Katayama, (1983), Chem. lett., 561.

71.- T. Suzuki, (1980), Chem. lett., 541.

72.- K. Kurata, A. Furusaki, C. Katayama, H. Kidushi y T. Suzuki, (1981), Chem. lett. 773.

73.- M. Suzuki, M. Segawa, T. Suzuki y E. Kurosawa, (1983), Bull, Chem. Soc. Jpn., 56, 3824.

74.- G. Bernardinelli y H.D. Flack, (1985), Acta Crystallogr. Sect. A., 41, 500.

75.- R. Sakai, T. Higa, Ch. W. Jefford y G. Bernardinelli, (1986), Helv. Chim. Acta, 69, 91.

76.- M.L. Bitner, M. Silva, U.J. Paul y W. Fenical, (1985), Phytochemistry, 24, 987.

77.- M. Suzuki, A. Furusaki, N. Hashiba y E. Kurosawa, (1979), Tetrahedron lett., 879.

78.- D.G. González, J.D. Martín, M. Norte, R. Pérez, V. Weyler, A. Perales y J. Fayos, (1983), Tetrahedron lett., 24, 847.

79.- a) D.J. Faulkner, (1977), Tetrahedron, 33,

1421.

b) W. Fenical, (1979), Topics Biochemistry of Natural Products, ed. G.R. Waller, vol. 13, 219, Plenum Press, New York.

80.- A.G. González, J.D. Martín, V.S. Martín, M. Norte y R. Pérez, (1982), Tetrahedron lett. 2395.

81.- a) P.A. Krapcho, (1978), Synthesis, 77.

b) E.R. Koft y A.B. Smith III, (1984), J. Org. Chem., 49, 832.

c) L.A. Paquette, T.-H. Yan y G.J. Wells, (1984), J. Org. Chem., 49, 3610.

d) J. Shimada, K. Hashimoto, B.H. Kim, E. Nakamura y I.Kuwajima, (1984), J. Am. Chem. Soc., 106, 1759.

82.- a) A. Tanaka, M. Uda y A. Yoshikoshi, (1967), J. Chem. Soc. Chem. Comm., 188.

b) T. Kato, S. Kanno y Y. Kitahara, (1970), Tetrahedron, 26, 4287.

c) J. White, S. Torii y J. Nagomi, (1974), Tetrahedron lett., 2879.

d) G. Frater, (1977), Helv. Chim. Acta, 60, 515.

e) C. Iwata, M. Yamada y Y. Shinoo, (1979), Chem Pharm. Bull., 27, 274.

f) J.D. White, J.F. Ruppert, M.A. Avery, S. Torii y J. Nokami, (1981), J. Am. Chem.Soc.

103, 1813.

g) C. Iwata, K. Miyashita, Y. Koga, Y. Shinoo, M. Yamada y T. Tanaka, (1983), Chem. Pharm. Bull., 31, 2308.

83.- Y. hta y Y.Hirose, (1968), Tetrahedron lett., 2483.

84.- a) D.J. Faulkner, (1976), Pure and Appl. Chem. 48, 25.

b) I. Ichinose y T. Kato, (1979), Chemistry lett., 61.

85.- a) R.R. Izac, (1978), PhD dissertation, Univ. California, Riverside.

b) J.J. Sims, A.F. Rose y R.R. Izac, (1978), Marine Natural Products, ed.P.J.Scheuer, vol. 2, 340, Academic Press. New York.

86.- E.E. van Tamelen, (1975), Acc. Chem. Res. 8, 152.

87.- a) W.S. Johnson, (1976), Angew. Chem. Int. Ed. Engl., 15, 9.; Bioorg. Chem., 5, 51.

88.- a) E.J. Corey y K. Achiwa, (1970), Tetrahedron lett., 2245; (1969), Ibid, 3257.

b) E.J. Corey, K. Achiwa y J.A. Katzenellenbogen, (1969), J. Am. Chem. Soc. 91, 4318.

c) E.J. Corey, W.E. Russey y P.R. Ortiz de Montellano, (1966), Ibid 88, 4750.

89.- a) J.K. Sutherland, (1979), en "Stereoselective Synthesis of Natural Products", ed.W.

Bartmann y E. Winterfeldt, p. 142, Excerpta Media, Amsterdam-Oxford.

b) M. Matsuki, M. Kodama y S. Ito, (1979), Tetrahedron lett., 2901.

c) Y. Yamada, S. Nakamura, K. Iguchi y K. Hosaka, (1981), Tetrahedron lett., 1355.

d) T. Kametani, (1981), Tetrahedron lett., 3633.

e) E.E.van Tamelen, (1982), J. Am. Chem.Soc., 104, 6480.

f) A. Saito, H. Matsushita y H. Kaneko, (1983), Chemistry lett., 729.

g) M. Nishizawa, H. Takenaka, H. Nishide y Y. Hayashi, (1983), Tetrahedron lett., 2581.

h) M.J.S. Dewar y C.H. Reynolds, (1984), J. Am. Chem. Soc., 106, 1744.

i) M.D. Erion y J.E. McMurry, (1985), Tetrahedron lett., 559.

90.- a) E.E. van Tamelen y E.J. Hessler, (1966), J. Chem. Soc. Chem. Comm., 411.

b) J.M. Greenwood, M.D. Salomon, J.K. Sutherland y A. Torre, (1968), J. Chem. Soc, 3004.

c) A.G. Gonzalez, J.D. Martin, C. Pérez y M.A. Ramirez, (1976), Tetrahedron lett., 137.

d) L.E. Wolinsky y D.J. Faulkner, (1976), J. Org. Chem., 41, 597.

e) T.R. Hoy y M.A. Kurth, (1978), J. Org.

Chem., 43, 3693.

91.- a) T. Kato, I. Ichinose, S. Kumazawa y Y. Kitahara, (1975), Bioorg. Chem. 4, 188.

b) T. Kato, I. Ichinose, A. Kamoshida y Y. Kitahara, (1976), J. Chem. Soc. Chem. Comm., 518.

c) I. Ichinose y T. Kato, (1978), Chemistry lett., 61.

d) H.M. Shieh y G. Prestwich, (1982), Tetrahedron lett., 4643.

e) Y. Yamaguchi, T. Uyehara y T. Kato, (1985), Tetrahedron lett., 343.

92.- a) A. Murai, A. Abiko, K. Kato y T. Masamune, (1981), Chemistry lett., 1125.

b) A. Murai, K. Kato y T. Masamune, (1982), Tetrahedron lett., 2887.

c) A. Murai, A. Abiko y T. Masamune, (1984), Tetrahedron lett., 4955.

93.- a) T.R. Hoye y M.J. Kurth, (1979), J. Org. Chem. 44, 3461.

b) T.R. Hoye y M.J. Kurth, (1979), J. Am. Chem. Soc., 101, 5065.

c) J.D. White, T. Nishiguchi y R.W. Skeen, (1982), J. Am. Chem. Soc., 104, 3923.

d) T.R. Hoye, A.J. Caruso, J.F. Dellaria, Jr, y M.J. Kurth, (1982), J. Am. Chem. Soc., 104, 6704.

e) M. Nishizawa, H. Takenaka, H. Hirotsu y Y. Hayashi, (1984), J. Am. Chem. Soc. 106, 4290.

f) M. Nishizawa, H. Takenaka y Y. Hayashi, (1985), J. Am. Chem. Soc., 107, 522.

94.- a) R.E. Ireland, M.I. Dawson, J. Bordner y R.E. Dickerson, (1970), J. Am. Chem.Soc., 92, 2568.

b) R.E. Ireland, M.I. Dawson, C.J. Kowalski, C.A. Lipinski, D.R. Marshall, J.W. Tilley, J. Bordner y B.L. Trus, (1975), J. Org. Chem., 40, 973.

c) R.E. Ireland, P. Bey, K.-F. Cheng, R.J. Czarny, J.F.Moser y R.I.Trust, (1975), Ibid., 40, 1000.

95.- G.H. Stont y L.H. Jensen, (1968), "X-ray Structure determination. A practical guide", Mcmillan, London.

96.- J.P. Glusker y K.N. Trulblood, (1972), "Crystal Structure Analysis: A primer", Oxford University Press, New York.

97.- M.J. Buerzer, (1959), "Vector space", John Wiley & Sons, New York.

98.- D. Sayre, (1952), Acta Cryst., 5, 60.

99.- W.H. Zachariasen, (1952), Acta Cryst., 5, 68.

100.- Cohran, (1952), Acta Cryst., 5, 65.

101.- G. Beurskens-Karssen, J. Kron, H.I. Endeman, J. van Laar y J.M. Bijvolt, (1963), "Crysta-

llography and Crystal Perfectun", Academic Press, London.

102.- Martinez-Ripoll y J.Fayos, (1980), Z Krist., 152.

103.- J.M. Stewart, F.A. Kendell y J.C. Baldwin, (1976), X-Ray, Univ. of Maryland, College Park, Maryland.

104.- C.K. Johason, ORTEP, Oak Rilge, TN, ORNI-3794.

105.- V.S. Martín García, (1978), Tesis Doctoral, Universidad de La Laguna.

106.- G.C. Levy y G.L. Nelson, (1976), en "Resonancia Magnética Nuclear de ^{13}C", Ed. Bellaterra.

107.- R. Pérez Afonso, (1981), Tesis Doctoral, Universidad de La Laguna.

108.- N.C. Gonnella, K. Nakanishi, V.S. Martín y K.B. Sharpless, (1982), J. Am. Chem. Soc, 104, 3775.

109.- Y. Naya, K. Yoshikara, T. Iwashita, H. Komura, N. Nakanishi y Y. Hata, (1981), J. Am. Chem. Soc., 103, 7009.

110.- W.T. Wiesler, J.T. Vázquez y K. Nakanishi, (1986), J. Am. Chem. Soc., 108, 6811.

111.- R. Takeda, A. Zask, K. Nakanishi y M.H. Park., (1987), J. Am. Chem. Soc., 109, 914.

112.- G.W. Lawson y D.M. John, (1982), The Marine

CONCLUSIONES

Manteniendo el orden seguido en la descripción de esta Memoria, las conclusiones más sobresalientes a las que hemos llegado pueden resumirse en:

1. Se expone una recopilacion bibliográfica de los sesquiterpenos con esqueleto chamigrano aislados del género Laurencia hasta Abril de 1987.

2 Se propone una posible ruta biogenética de formación del isoobtusol, componente mayoritario de las algas estudiadas.

3 Del estudio del alga Laurencia sp., recolectada en la Isla de Gran Canaria, se aislan cinco productos nuevos en la bibliografía, así como el resto de los productos anteriormente reseñados como presentes en la especie L.obtusa.

De estos cinco metabolitos se da la configuracion absoluta de uno de ellos basada en estudios espectroscópicos y de Rayos X. La estructura de los otros cuatro metabolitos son propuestas en base a los estudios químicos y espectroscópicos, puesto que todos los intentos para conseguir cristales que permitan hacer un estudio de rayos X han sido infructuosos.

4. Del estudio de los componentes minoritarios del alga Laurencia sp., recolectada en Orzola, se aislan dos nuevos productos cuyas estructuras se

determinan.

5. Se estudian los componentes terpénicos minoritarios del alga Laurencia sp. de la Isla de Tenerife, con la finalidad de encontrar metabolitos que ayuden a confirmar la ruta biogenética propuesta. De dichos estudios se aislan dos productos derivados del γ-bisaboleno, dándose la configuración absoluta de uno de ellos en base a los datos espectroscópicos y de dicroismo circular.

6. Todos los componentes minoritarios aislados son compuestos hidroxilados con esqueletos halogenados de 15 átomos de carbono.