



UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA
Departamento de Química

**ESTUDIO DE METABOLITOS SECUNDARIOS
DE ESPECIES CANARIAS DE LOS GÉNEROS
TANACETUM Y ASTERISCUS.
APLICACIONES**

MEMORIA

Presentada para obtener el grado de

Doctor en Ciencias Químicas por

MANUEL A. MORALES BONILLA

Las Palmas de Gran Canaria 2012

**D^a ZORAIDA SOSA FERRERA SECRETARIA DEL DEPARTAMENTO
DE QUÍMICA DE LA UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN
CANARIA,**

CERTIFICA:

Que el Consejo de Departamento en su sesión de fecha 5 de Julio de 2012, tomó el acuerdo de dar el consentimiento para su tramitación a la Tesis Doctoral titulada "ESTUDIO DE LOS METABOLITOS SECUNDARIOS DE ESPECIES CANARIAS DE LOS GÉNEROS TANACETUM Y ASTERISCUS.APLICACIONES", presentada por el doctorando D. Manuel A. Morales Bonilla y dirigida por Dr. D. José Luis Eiroa Martínez y Dr. D. Jorge Triana Méndez.

Y para que así conste, a los efectos oportunos, sello y firmo el presente en Las Palmas de Gran Canaria, a 6 de julio de dos mil doce.



Zoraida Sosa Ferrera



UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA
Departamento de Química



**Programa de Doctorado.- Medioambiente. Recursos Naturales y Contaminación:
Aspectos Químicos
Bienio: 2002-2004**

**Título de la Tesis Doctoral “ESTUDIO DE METABOLITOS
SECUNDARIOS DE ESPECIES CANARIAS DE LOS GÉNEROS *TANACETUM*
Y *ASTERISCUS*. APLICACIONES.**

Memoria presentada por D. Manuel Morales Bonilla para optar al grado de Doctor por la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria y dirigida por el Dr. José Luis Eiroa Martínez, Profesor Titular de Universidad del área de Química Orgánica y por el Dr. D. Jorge Triana Méndez, Catedrático de Universidad del área de Química Orgánica.

Los Directores

El Doctorando

Las Palmas de Gran Canaria a 2 de Julio de 2012

**D. MIGUEL ÁNGEL SUÁREZ DE TANGIL NAVARRO, DIRECTOR DEL
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA DE LA UNIVERSIDAD DE LAS
PALMAS DE GRAN CANARIA**

HACE CONSTAR:

Que la presente Memoria titulada "ESTUDIO DE LOS METABOLITOS SECUNDARIOS DE ESPECIES CANARIAS DE LOS GÉNEROS TANACETUM Y ASTERISCUS. APLICACIONES", que presenta el doctorando D. Manuel A. Morales Bonilla para optar al grado de Doctor por esta Universidad, ha sido realizada en los laboratorios del Departamento de Química de la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Tras su registro y trámite autorizados por el Departamento, autorizo con esta fecha su presentación.

Y para que así conste, a los efectos oportunos, sello y firmo el presente en Las Palmas de Gran Canaria, a 6 de julio de dos mil doce.



Miguel Suárez de Tangil Navarro

A SOFÍA, ALBERTO Y CAYETANO

AGRADECIMIENTOS

A todos los miembros del Grupo Química Orgánica I del Departamento de Química de la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, en especial a los directores de esta Tesis.

Al Dr. D. Jorge Triana Méndez por haberme dado la confianza para enfrentarme a este trabajo sin cuya experiencia, ayuda y consejos no habría sido posible esta Memoria.

Al Dr. D. Jose Luis Eiroa Martínez por su dedicación, entusiasmo en el trabajo diario y por su constante apoyo en la realización de esta Tesis.

Asimismo, a los miembros del Departamento de Química que, de algún modo, me han ayudado y apoyado en la culminación de este trabajo.

Al Grupo de Fitoquímica Aplicada del IPNA(CSIC), y en particular al Dres. D. Jaime Bermejo y D. Francisco León Oyola, por su ayuda en la obtención de datos espectroscópicos, así como a los técnicos encargados de dichos equipos.

Al Dr. D. Francisco Estévez Rosas del Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Fisiología, Genética e Inmunología, de la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, por la realización de las pruebas de actividad citotóxica.

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

Quiero agradecer todo el apoyo, cariño y aliento a Sofía, que ha soportado el peso diario de la familia; a Alberto y Cayetano por comprender mis ausencias; sin ellos esta Tesis nunca hubiera sido una realidad.

No podría concluir los agradecimientos sin dedicar este trabajo a mi familia, especialmente a mi padre que incesantemente me han dado muestras de su apoyo, aún desde la distancia.

INDICE

1.-Introducción	9
2.- Objetivos	15
3.- Introducción Familia <i>Asteraceae</i>	19
3.1 Descripción botánica de la Familia <i>Asteraceae</i>	21
3.2 Metabolitos aislados de la tribu <i>Anthemideae</i>	21
4.- Género <i>Tanacetum</i>	29
4.1.-Descripción Botánica del género <i>Tanacetum</i>	31
4.2.- Etnofarmacología	35
4.3.- Revisión bibliográfica de lactonas sesquiterpénicas del género <i>Tanacetum</i>	37
4.4.- Revisión lactonas sesquiterpénicas de <i>Tanacetum</i>	78
<i>Canarios</i>	
5.- Estudio <i>Tanacetum ptarmiciflorum</i>	83
5.1.- Descripción botánica de la especie	85
5.2.- Clasificación taxonómica	85
5.3.- Estudio químico. Parte teórica	86
5.4.- Estudio químico. Parte experimental	139
6.- Estudio <i>Tanacetum ferulaceum var. latipinnum</i>	181
6.1.- Descripción botánica de la especie	183
6.2.- Clasificación taxonómica	183
6.3.- Estudio químico. Parte teórica	184
6.4.- Estudio químico. Parte experimental	197
7.- Consideraciones quimiotaxonómicas del género <i>Tanacetum</i>	209
8.- Género <i>Asteriscus</i>	215
8.1.- Descripción botánica del género <i>Asteriscus</i>	217
8.2.-Etnofarmacología	224
8.3.- Revisión lactonas sesquiterpénicas del género <i>Asteriscus</i>	228
9.- Estudio <i>Asteriscus graveolens ssp. stenophyllus</i>	233
9.1.- Descripción botánica de la especie	235
9.2.- Clasificación taxonómica	235
9.3- Estudio químico. Parte teórica	236
9.4.- Estudio químico. Parte experimental	257
10.- Consideraciones taxonómicas del género <i>Asteriscus</i>	273
11.- Actividades biológicas de algunos productos aislados de los géneros <i>Tanacetum</i> y <i>Asteriscus</i>	281
12.- Técnicas Instrumentales	299
13.- Abreviaturas y acrónimos	307
14.- Conclusiones	313

1. INTRODUCCIÓN

La región fitogeográfica conocida como Macaronesia está constituida por cinco archipiélagos volcánicos, que son las Islas Azores, Madeira, las Islas Salvajes, las Islas Canarias y las Islas de Cabo Verde, así como un *enclave de la Macaronesia* en el continente africano que comprende el sur de Marruecos y parte del Sahara Occidental. Estos archipiélagos se encuentran situados a 1600 km del continente europeo y a unos 95 km del continente africano en sus puntos más cercanos. Desde un punto de vista geológico las edades de las islas de forma individual oscilan entre los 0,8 millones de años de El Hierro y los 21 millones de años de Fuerteventura, ambas pertenecientes al archipiélago canario. La combinación de unos vientos del noreste cargados de humedad con unas altitudes que en algunos casos sobrepasan los 3.700 metros determina la existencia de una notable diversidad de hábitats ecológicos a lo largo de las diferentes islas.

La flora Macaronésica presenta una serie de características típicas de las islas oceánicas, como son el alto grado de endemismos (20% del total de plantas con flores, en el caso de las Islas Canarias se eleva a un 40%) y el predominio de hábitats que determinan un crecimiento leñoso entre las plantas endémicas. Así, el 70% de los endemismos de las Islas Canarias son de carácter leñoso. Una característica que diferencia esta región en general, y las Islas Canarias en especial, con respecto a otros territorios similares como son las Islas Hawaii, las Islas Galápagos y las Islas de Juan Fernández en el Pacífico, es el hecho de que las Islas Canarias están muy próximas a las potenciales áreas originales continentales (en las Islas Canarias Orientales, la isla de Fuerteventura se encuentra a menos de 100 km de la costa occidental de Marruecos) y presentan una relativamente antigua y amplia variedad de edades geológicas. Estos dos aspectos pueden ser los responsables de varios patrones inusuales de colonización y diversificación, así como de unos niveles relativamente altos de variación genética si los comparamos con otros archipiélagos oceánicos.

Este elevado índice de plantas endémicas ha determinado que las Islas de la Macaronesia sean consideradas un área excepcional para los estudios de evolución y especiación, que han convertido a las plantas de estas islas en el centro de una investigación intensiva en los últimos años. El resultado de los

análisis de filogenia molecular de grupos de plantas de este enclave ha permitido obtener una amplia información sobre las posibles relaciones entre los diferentes endemismos de la región. Estos estudios han permitido establecer varios patrones emergentes generales sobre la colonización y dispersión, entre los cuales tenemos:

- 1) Una colonización a partir de un único ancestro común seguida de una rápida radiación.
- 2) Múltiples colonizaciones independientes.
- 3) Retrocolonización al continente desde la Macaronesia.
- 4) Un área original Macaronesia-Mediterráneo Occidental predominante para los linajes endémicos.

Se piensa que los más cercanos antepasados continentales de la flora canaria debieron provenir desde el Mediterráneo Occidental, incluyendo la Península Ibérica y Marruecos, y que ese periodo de colonización es coincidente con los grandes cambios climáticos y geológicos de estas zonas.

Un primer proceso de colonización debió tener lugar durante la crisis Béticas (entre 14-16 millones de años) caracterizada por importantes fluctuaciones de la temperatura y cambios glacioeustáticos de acuerdo con el nivel global del mar. En estas condiciones se produjo una primera colonización de las islas orientales, seguida de una dispersión a las posteriormente formadas islas occidentales (Gran Canaria, Tenerife y La Gomera). Una segunda colonización coincide en el tiempo con la aparición de condiciones desérticas recurrentes en el Sáhara y que tuvieron lugar antes de la desecación del Mar Mediterráneo cuando se produjeron grandes contrastes estacionales en el régimen de temperatura. Un tercer periodo de colonización coincidiría con la apertura del estrecho de Gibraltar y la aparición de los primeros ciclos de glaciación.

Como consecuencia de estos periodos de tiempo discretos de cambios climáticos y geológicos profundos en el norte de África y el Mediterráneo y del vulcanismo activo de las Islas Canarias facilitarán el establecimiento y posterior diversificación de los diferentes endemismos.

La flora canaria comprende alrededor de 156 familias y 758 géneros, la mayoría de los cuales se encuentran también presentes en la región mediterránea, géneros endémicos macaronésicos, etc. La flora registrada comprende 1978 taxa de los cuales cerca de 400 pueden considerarse especies introducidas. La flora potencial nativa de Canarias estaría en torno a unas 102 familias y 712 géneros. La flora endémica representa alrededor de un 40% de la flora potencial (570 especies relativas a una flora potencial de 1300 especies). Si le añadimos los endemismos macaronésicos y los canario-africanos, podría alcanzarse en torno a un 50% de la flora potencial estimada.

Estas características determinan que Canarias sea considerada una de las zonas insulares oceánicas con mayor concentración de endemismos del mundo, y el archipiélago más rico de la Macaronesia. Las causas de esta concentración de especies puede ser tanto de índole natural como de índole antropogénica (introducciones). Dentro de las causas de índole natural podemos distinguir dos tipos: factores intrínsecos, por la propia competencia dentro de las comunidades, que ha propiciado una radiación adaptativa y factores extrínsecos pueden ser la propia condición archipelágica, que propicia la diferenciación entre islas por simple deriva genética, así como la historia geológica, geomorfológica y climática de cada isla.

Procesos de especiación al que contribuyen la actividad volcánica, que ha llevado consigo extinciones masivas o por haber puesto en contacto protoislas separadas inicialmente, cambios geomorfológicos, procesos de fragmentación, y la variabilidad del clima a lo largo de la historia, han originado que algunos grupos taxonómicos, han experimentado diferente distribución a nivel de subespecies; la introducción de especies ha llevado consigo un aumento de la diversidad taxonómica y la radiación adaptativa.

El estudio de la flora de Canarias, se ha llevado a cabo mediante técnicas bioquímicas y moleculares. Las primeras analizan la variación isoenzimática y las segundas incluyen el análisis de nucleótidos a nivel de ADN.

En el estudio de la diversidad biológica debemos tener en cuenta, especialmente en islas oceánicas, distintas manifestaciones:

- A través de la forma: exotismo, evolución paralela (tendencia al gigantismo, leñosidad-arborescencia, predominancia del color blanco o pálido de las flores, pérdida de capacidad de dispersión, cambios en la biología reproductiva, bajos niveles de diversidad genética y radiación evolutiva)
- A través del espacio que define los territorios insulares, nunca unidos al continente y de la historia geológica
- A través del tiempo en el que las islas más antiguas se convierten en núcleos de colonización, a procesos de avalanchas de deslizamientos muy importantes

Los metabolitos secundarios (productos naturales), constituyen una serie de compuestos químicos que reflejan la gran diversidad de las especies vivientes, a diferencia de los metabolitos primarios, que son comunes a todas las especies, de tal forma que algunos de ellos se encuentran restringidos a determinados organismos como es el caso de las lactonas sesquiterpénicas que prácticamente se circunscriben a la familia de las Compuestas. Por todo ello, se pueden utilizar como una medida de la adecuación de un organismo para su supervivencia en un ecosistema determinado, tanto que, pueden producir patrones completamente diferentes de metabolitos dependiendo de la situación ecológica. Dentro de una colección de productos naturales relacionados, las variaciones estructurales reconocen distintos tipos de receptores a los que van dirigidos.

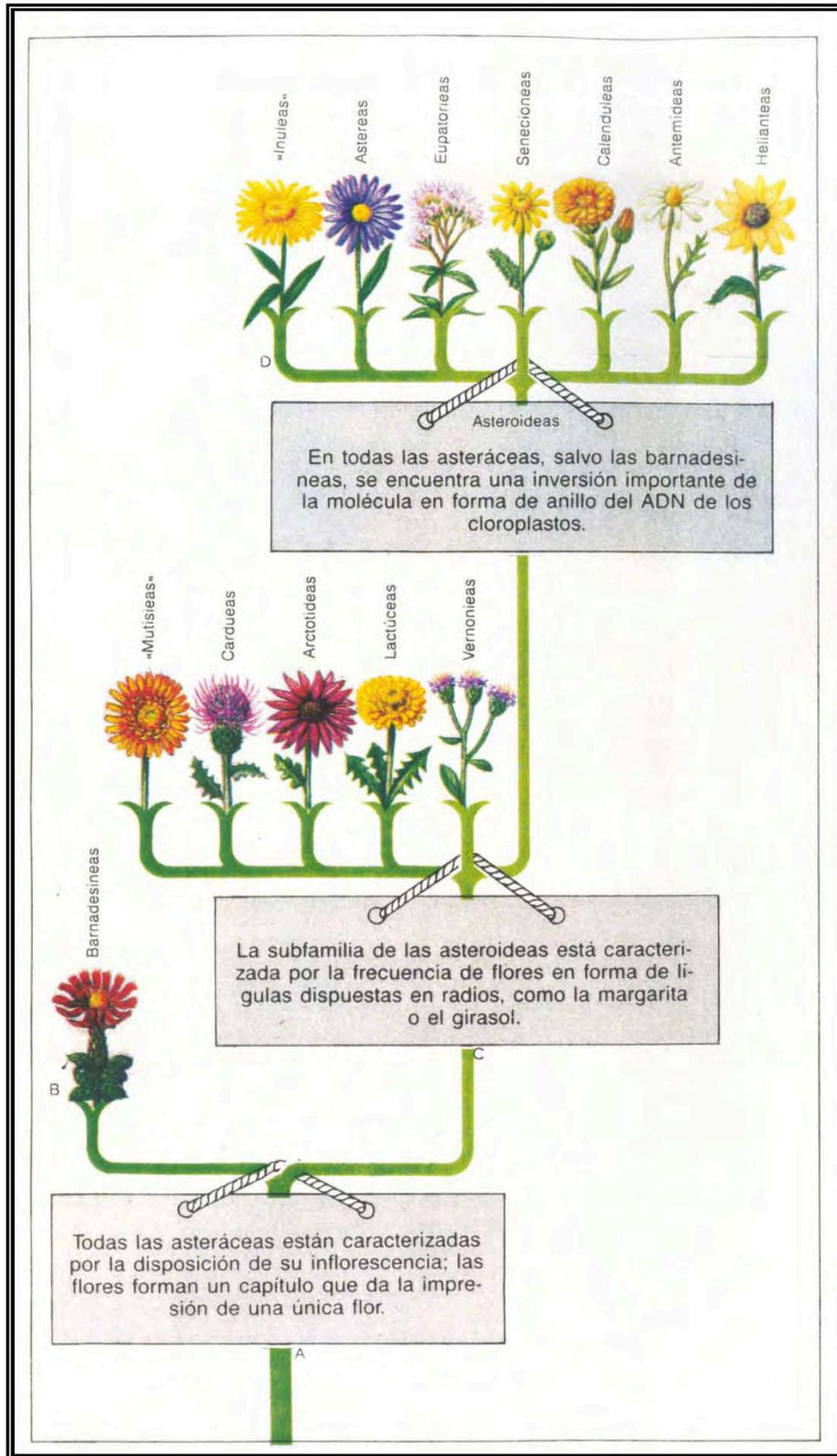
2. OBJETIVOS

El Grupo de investigación de Productos Naturales Química Orgánica I ha venido desarrollando en los laboratorios del Departamento de Química de la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, un programa del estudio de los componentes químicos de la flora canaria, en especial la correspondiente a la familia **Compositae (Asteraceae)**.

Esta familia es una de las más grandes de las Angiospermas y comprende 1300 géneros y 25000 especies, distribuidas aproximadamente en 3 subfamilias y 17 tribus, biosintetizando poliacetilenos, flavonoides y terpenoides.

Los objetivos que se pretenden alcanzar en este trabajo son:

- Completar el estudio químico del género **Tanacetum** (*T. ptarmiciflorum* y *T. ferulaceum* var. *latipinum*) y del género **Asteriscus** (*A. graveolens* ssp. *stenophyllus*) mediante el aislamiento e identificación de los metabolitos secundarios presentes en dichas especies.
- Obtener resultados que ayuden a clarificar la posición taxonómica de dichas especies.
- Realizar ensayos de actividad biológica con los productos obtenidos en los estudios químicos de ambos géneros que pudieran ser de interés para su aplicación desde el punto de vista farmacológico.



3. INTRODUCCIÓN FAMILIA *ASTERACEAE*

3.1.- DESCRIPCIÓN BOTÁNICA DE LA FAMILIA

La familia **Asteraceae (Compositae)** presenta flores (flósculos) pequeñas, agregadas en capítulos simulando una sola flor más grande, rodeada por un involucre con una a varias hileras de brácteas, calidiforme. Receptáculo del capítulo expandido, plano, cóncavo, convexo o cónico con o sin escamas receptaculares protegiendo a los flósculos. Flósculos todos similares o los extremos. Corola tubular, flósculos discoides o con una lígula como una lengua (flósculos radiales). Ovario ínfero con un solo óvulo. Estilo bífido. Fruto un aquenio duro (cipsela) coronado por el vilano, a veces con un “pico” delgado entre vilano y semilla.

Es una de las más largas familias de las Angiospermas comprendiendo 1300 géneros aproximadamente y 25000 especies, divide en tres subfamilias y 17 tribus: **Anthemidae, Arctotideae, Astereae, Calenduleae, Cardueae, Cichorieae, Eupatoriaeae, Gnaphalieae, Helenieae, Heliantheae, Inuleae, Mutisieae, Plucheeae, Senecioneae y Vernonieae** entre otras.

3.2.- METABOLITOS AISLADOS DE ESPECIES DE LA TRIBU ANTHEMIDEAE

El aislamiento y elucidación estructural de compuestos de origen natural de las plantas endémicas de Canarias, tiene como finalidad la evaluación de la situación taxonómica de las especies estudiadas y la actividad biológica de los productos aislados.

Destacan como principales metabolitos de interés en esta familia: los flavonoides y las lactonas sesquiterpénicas.

Los flavonoides. Son sustancias bautizadas con este término porque las primeras que se lograron aislar eran de color amarillo, aunque las hay incoloras o con color rojo, violeta y azul.

Son un grupo de sustancias a las que se les denominó como “vitamina P” por el Dr. Albert Szent-Gyorgi. Comprenden varias clases de sustancias naturales, entre las cuales están muchas que les confieren colores a flores, hojas y frutos.

Presentan una estructura química muy definida. Son moléculas que tienen dos anillos bencénicos unidos a través de una cadena de tres átomos de carbono, puesto que cada anillo bencénico tiene 6 átomos de carbono, denominados $C_6C_3C_6$. (Fig. 1)

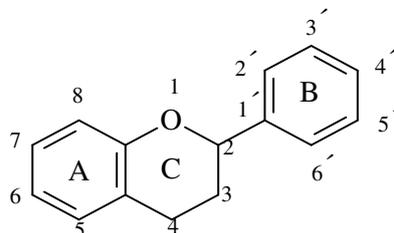


Fig.1.- Estructura básica de flavonoides

Para su estudio sistemático los más de 4000 flavonoides se han clasificado en varias clases de acuerdo con las variantes estructurales que presenta la cadena central C_3 (Fig.2)

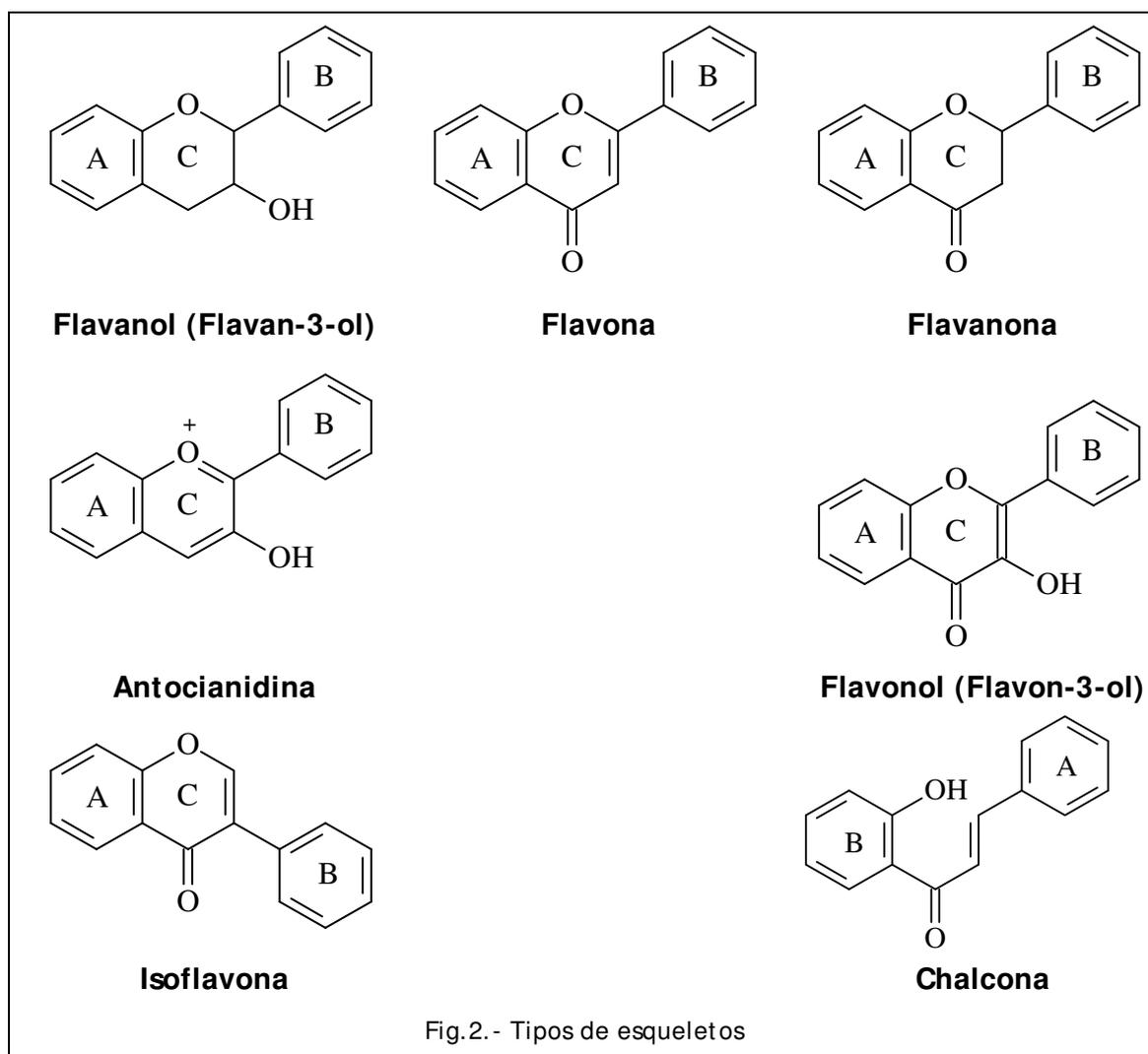


Fig.2.- Tipos de esqueletos

Se encuentran ampliamente distribuidos en las plantas verdes, encontrándose en diferentes partes de la planta, especialmente en partes aéreas, en forma libre o como glicósidos.

Desde el punto de vista de su biogénesis, el anillo A proviene de la ruta de la malonilcoenzima A y el anillo B y la cadena C₃ proviene de la ruta del ácido sikímico. Un tricétido se cicla y se condensa con una molécula de ácido p-cumárico; este proceso de biosíntesis sustenta el hecho de que en la mayoría de los flavonoides el anillo A sea meta-oxigenado, típico de anillos originados por la vía de la malonilCoA y el anillo B proviene de la ruta del ácido sikímico, generalmente orto-oxigenado.

Lactonas sesquiterpénicas. Los estudios químicos de esta tribu han permitido realizar una revisión de sus diferentes tipos, las cuales constituyen un grupo importante de compuestos caracterizados por diferentes tipos de estructuras (fig.3), altamente sustituidas, modificadas estructuralmente, que

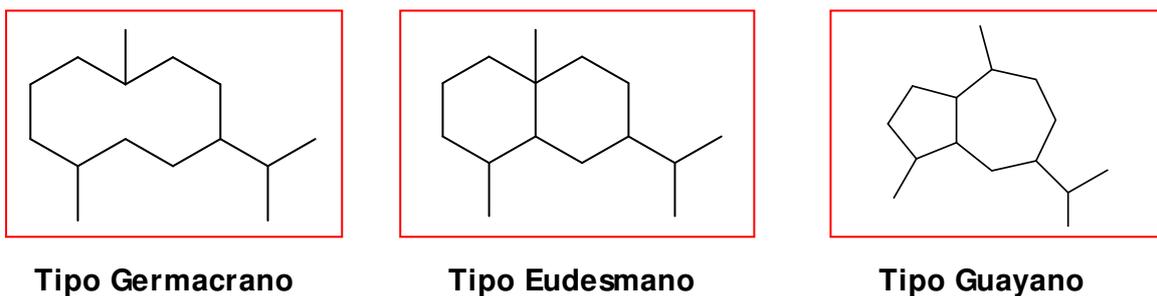


Fig.3.- Tipos de estructuras de lactonas sesquiterpénicas

en el caso de las de tipo germacrano, se pueden distinguir cuatro isómeros, lo que nos permite reclasificarlas a su vez en cuatro subrupos (Fig. 4).

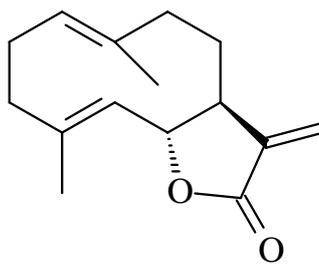
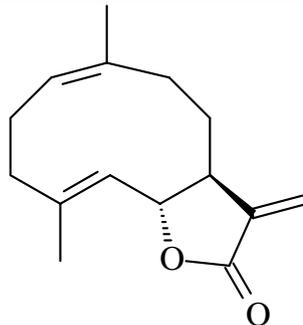
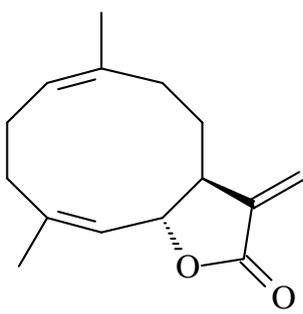
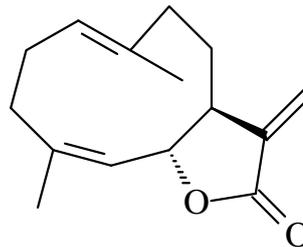
	
GERMACRANOLIDA	MELAMPOLIDA
	
CIS, CIS-GERMACRANOLIDA	HELIANGOLIDA

Fig 4.- Tipos de configuraciones de germacranolidas

Importante característica es la presencia de un anillo γ -lactónico y de un grupo α -metileno (fig.5), que nos permiten utilizarlas como caracteres químicos desde el punto de vista taxonómico para averiguar tribu, género y especie, así como información biogenética, llegando a desarrollar ligeros cambios metabólicos.

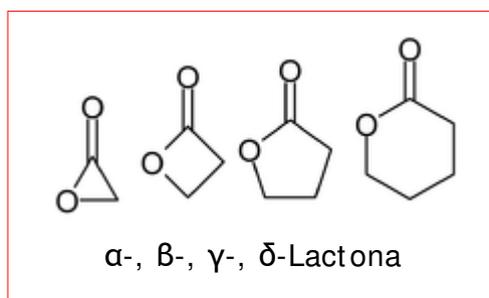


Fig 5.- Tipos de lactonas

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

Desde el punto de vista de la actividad biológica, son compuestos activos de gran número de plantas en la medicina tradicional, especialmente de esta familia y que presentan actividad como antimicrobiano e hipoglucemiante así como actividades fitotóxicas y citotóxicas. Esta última, debido a la reacción de la estructura α,β -insaturado en la lactona sesquiterpénica con tioles y cisteína. Por tanto, esta actividad se debe a una alquilación selectiva que regula el crecimiento de ciertas macromoléculas como enzimas, quienes controlan la división celular y por ende, variedad de funciones celulares, las cuales conducen a la célula a la apoptosis.

De cualquier manera, estos compuestos se acumulan en pocas de estas tribus. Aunque algunos esqueletos especiales son únicos de ciertas tribus y subtribus, otros son más extendidos y tienen especial tendencia a acumularse. Comparando las diferentes estructuras de sesquiterpenlactonas pueden diferenciarse diferentes taxones produciendo resultados interesantes concernientes a su sistemática, permitiéndonos evaluar la relación filogenética y clasificación taxonómica, constituyendo un recurso de gran utilidad para averiguar tribus, subtribus, géneros y especies, limitando la familia, como también relaciones biogenéticas y sus relaciones evolutivas.

La utilidad del estudio de las sesquiterpenlactonas es que diferentes taxones pueden desarrollar ligeras diferencias del metabolismo. Las rutas metabólicas en algunas tribus no son lo suficientemente distintas para llegar a tener lactonas sesquiterpénicas con distintos tipos de esqueleto.

En cambio, los mismos esqueletos pueden estar presentes en diferentes tribus, y en algunos casos, las mismas lactonas sesquiterpénicas son encontradas en diferentes tribus. La observación de los distintos tipos de

lactonas no puede usarse para su clasificación en una tribu. Un método para distinguir una tribu del resto es comparando a través de sets de determinados esqueletos o diversos sustituyentes de determinados esqueletos. El mismo criterio puede ser aplicado a nivel de subtribu, cuando una tribu necesita ser diferenciada de otra.

La diferencia significativa en su contenido en lactonas, por su presencia o ausencia nos permite mantener o modificar su clasificación especialmente a nivel de tribus, basada en la suposición de que, en los metabolitos secundarios, la relación biológica se refleja en la relación química, siendo éste el objeto de estudio de la Quimiotaxonomía¹.

Un esquema de una posible ruta biogénica(fig. 6 y 7) que da lugar a los tres tipos de lactonas más característicos es partiendo todos de un precursor, el pirofosfato de farnesilo, donde la oxidación del grupo isopropilo y cierre en las posiciones C₆ ó C₈ da lugar a un sesquiterpeno del tipo germacrano. La formación de lactonas que dan lugar al grupo representativo más sencillo, germacranolidas, tiene lugar a partir de la oxidación y ciclación de la cadena lateral de tres carbonos de los germacranos.

¹ Gil Ruiz, P. (2002). Productos Naturales. Ed. Universidad Pública de Navarra

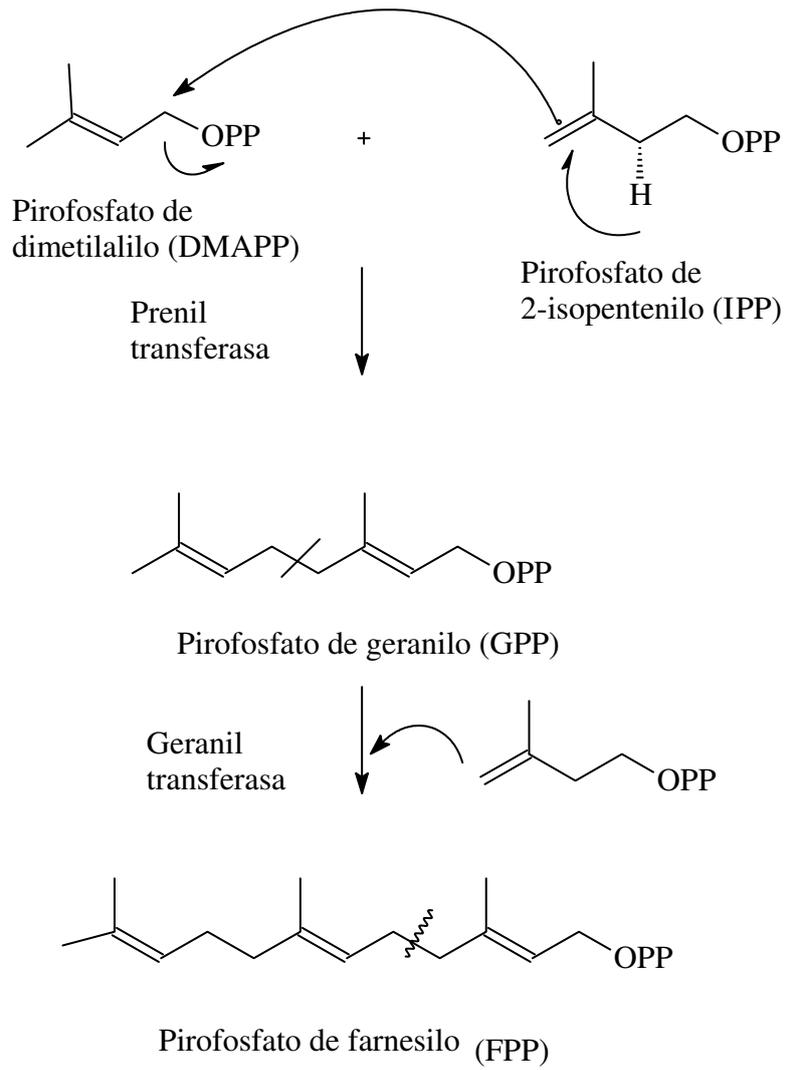


Fig. 6. - Esquema de formación del Pirofosfato de farnesilo.

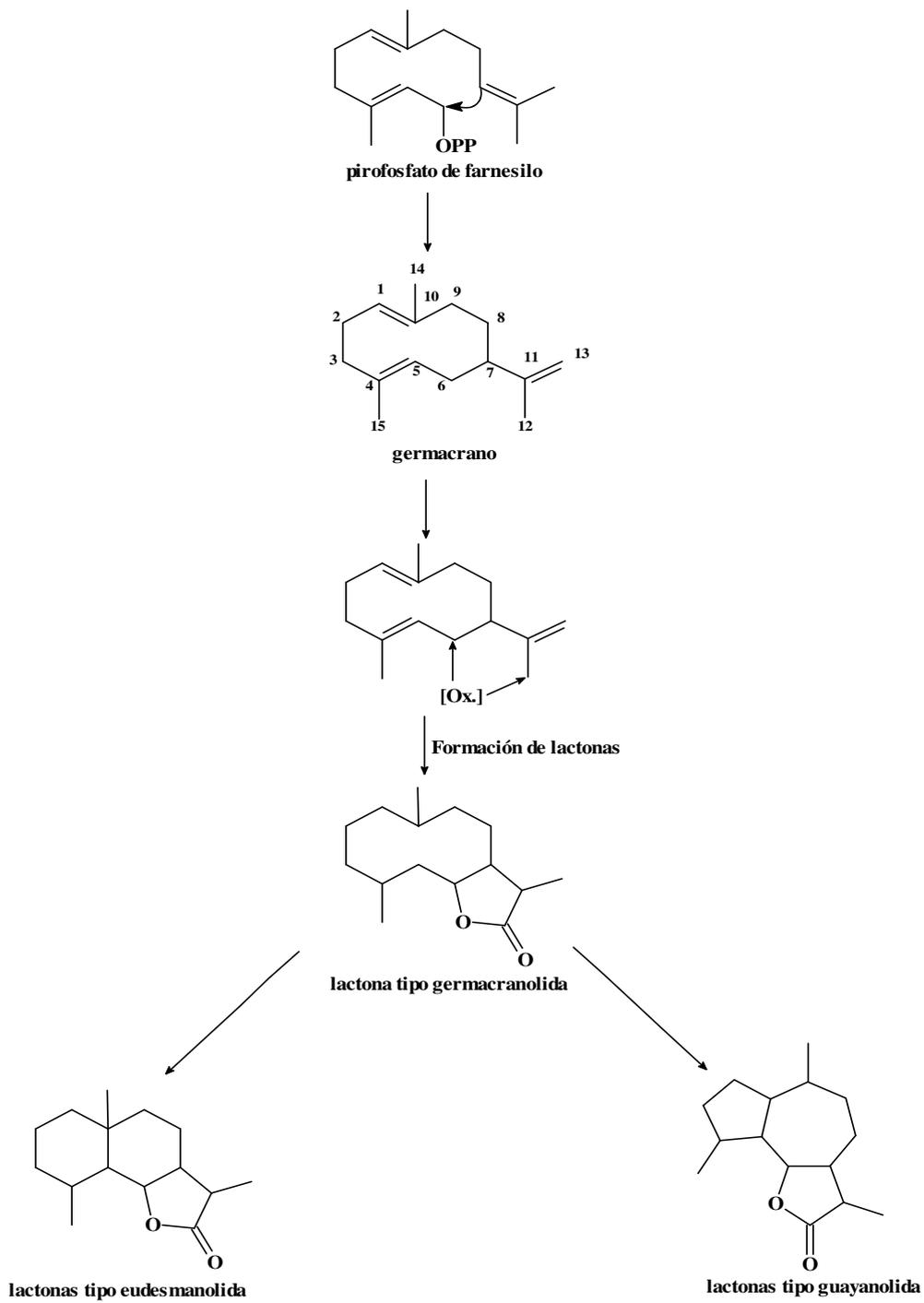


Fig. 7.- Esquema de formación de esqueletos de lactonas



4. GÉNERO *TANACETUM* L.

4.1.- DESCRIPCIÓN BOTÁNICA DEL GÉNERO *TANACETUM*

Es el tercer género más grande perteneciente a la tribu *Anthemideae*, con alrededor de 150 especies ampliamente distribuidas por Europa, Asia y América (Fig. 8)

Son arbustos, con hojas pinnatipartidas a pinnatosectas. Capítulos en densos corimbos, flores radiales ausentes, flores de disco amarillas. Receptáculo con una escama en la base de cada flósculo. Cipselas todas iguales, cilindrico-subturbinadas, con 5 nervios.

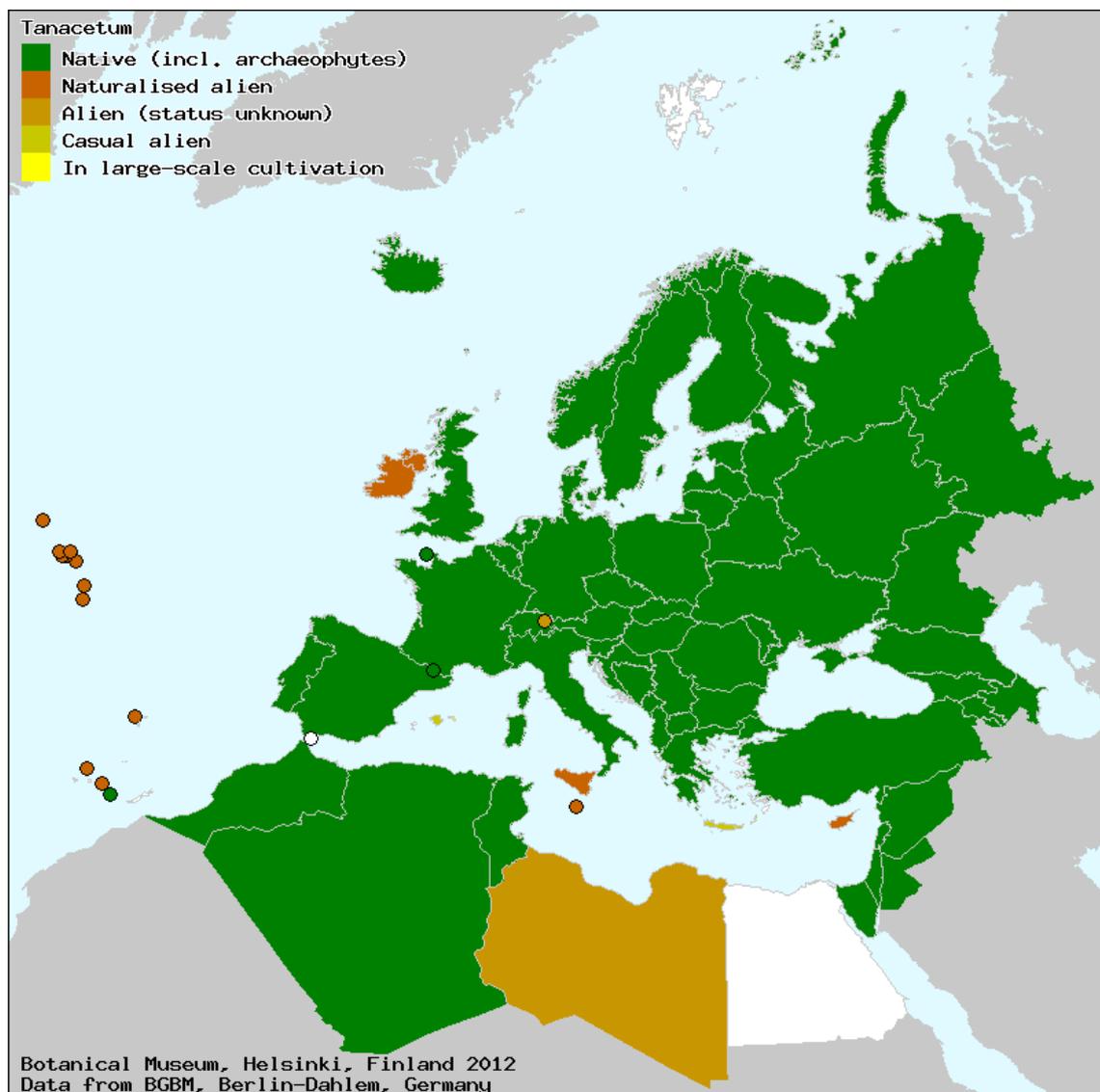


Fig 8.- Distribución género *TANACETUM*

En Canarias se encuentra representado por tres especies endémicas², todas ellas localizadas en la isla de Gran Canaria.(fig. 9)

Tanacetum oshanahanii (Marrero, Febles y Suárez)³, rarísima, con una población en riscos húmedos y sombríos del Oeste de Gran Canaria.

Tanacetum ptarmiciflorum (Webb & Berth.) Sch. Bip., que ocupa las cotas más altas de las isla de Gran Canaria, siendo muy rara.

Tanacetum ferulaceum (Webb & Berth.) Sch. Bip., variedad **ferulaceum** se encuentra en la región centro-sur entre 300 y 900 m, la variedad **latipinum** en la región Oeste de la isla entre 200 y 600 m.

La posición taxonómica de las especies del género **Tanacetum** L. en las Islas Canarias ha sido muy controvertida, al igual que ha ocurrido con otros géneros como **Gonospermum** Less. y **Lugoa** (DC.) Sch. Bip. Así, Febles⁴ incluye a las especies endémicas del género **Tanacetum** L. en el género **Gonospermum**.

Se han empleado estudios moleculares basados en marcadores nucleares (nrDNAITS) y usados para resolver la delimitación del género así como en varios taxones de la tribu **Anthemideae**.

² Arechavaleta, M., Rodríguez, S., Zurita N, y García, A.(Coord.) (2010). Lista de especies silvestres de Canarias. Hongos, Plantas y Animales Terrestres. Gobierno de Canarias, 579 pp.

³ Marrero, A. (1989). *Bot. Macaronesica*. **17**, 3-13

⁴ Febles, R. *Bot. Macaronesica* (2008) **27**: 101-105



Tanacetum o'shanahanii
(*Magarza de Guayedra*)



Tanacetum ptarmiciflorum
(*Magarza plateada*)



Tanacetum ferulaceum
var. *ferulaceum*



Tanacetum ferulaceum
var. *latipinum*

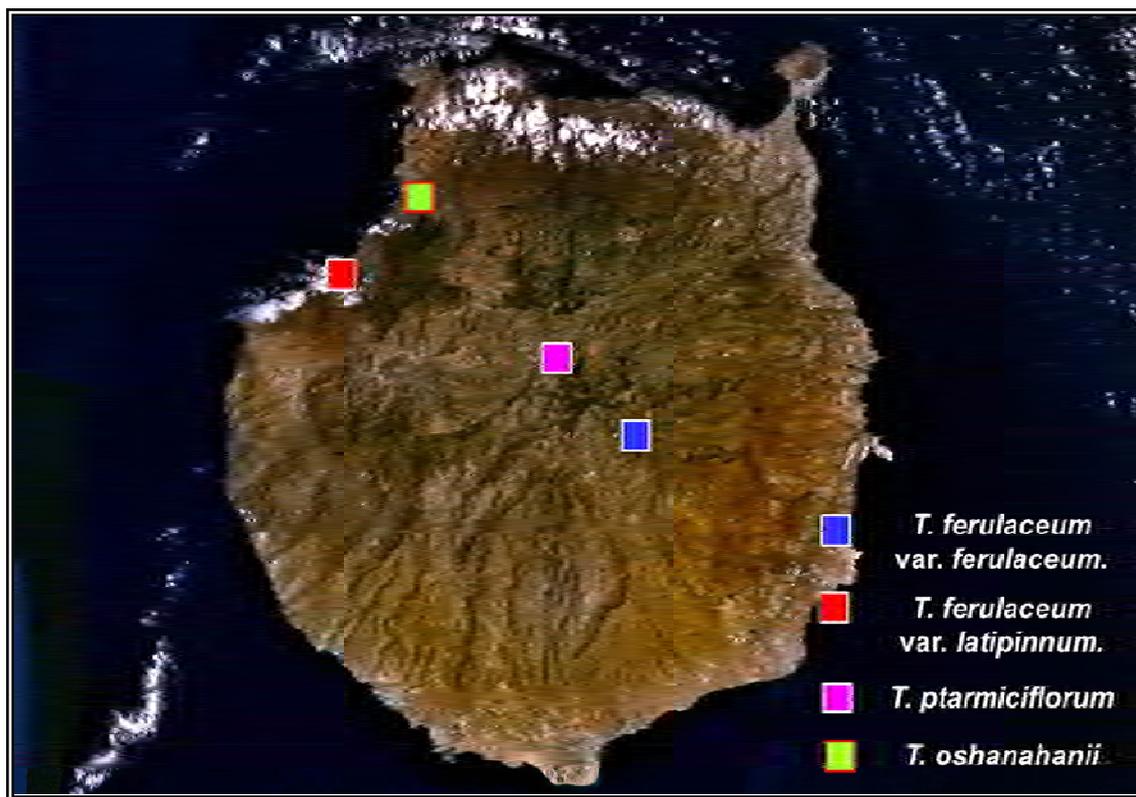


Fig 9.- Distribución género *TANACETUM*

4.2.- ETNOFARMACOLOGÍA

sido empleado como planta medicinal, como antimigrañosa, antifibrinolítica, anticoagulante, antihelmíntica, antiinflamatoria, antiulcerosa, actividad antitumoral, antimicrobiana y con actividad antialimentaria en los insectos. Presenta una elevada actividad alérgica.

Además algunas especies de este género, como *T. vulgare* se emplean en agricultura biológica para repelente de hormigas, moscas, escarabajos, polillas y chinches y piojos en dosis de 300 gramos por 10 litros de agua, dejándolo reposar durante diez minutos, para posteriormente filtrar y pulverizar.

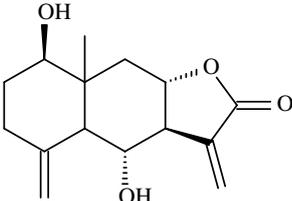
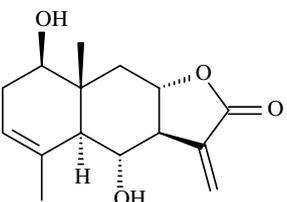
Se emplea también como repelentes de ratones, atrayente de abejas, y atrayente de fauna auxiliar.

El ***T. parthenium*** se utiliza como repelente de moscas, mosquitos y fungicida preventivo. Especialmente utilizado en cefaleas migrañosas.

La utilización de los pelitres para luchar contra los insectos se remonta a la antigüedad contra los piojos, el ***T. cinerariaefolium*** se utiliza por contacto, polvo o en líquido de forma directa o mezclando una parte de la planta con 2-3 partes de azufre.

4.3.- REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA DE LACTONAS SESQUITERPÉNICAS DEL GÉNERO *TANACETUM L.*

Hemos realizado la revisión de los tipos de lactonas presentes en este género, al tratarse de metabolitos secundarios de gran interés biológico y taxonómico. La revisión bibliográfica, se ha realizado agrupando los productos según los distintos tipos de esqueleto.

LACTONAS TIPO EUDESMANOLIDA			
NOMBRE	ESTRUCTURA	ESPECIE	REF.
Desacetil-β-ciclopiretosina (Desangeloilchrisanina)		<i>T. argenteum ssp. argenteum</i>	5
		<i>T. argenteum ssp. flabellifolium</i>	6,7
		<i>T. densum ssp. Eginense</i>	8
		<i>T. densum ssp. sivasicum</i>	9
Sivasinólido		<i>T. argenteum ssp. flabellifolium</i>	6,7
		<i>T. argenteum ssp. canum var. canum</i>	10
		<i>T. densum ssp. sivasicum</i>	11
		<i>T. densum ssp. amani</i>	12

⁵ Gören, N. and Jakupovic, J. (1990) *Phytochemistry* **20**, 3032.

⁶ Metwally, M.A., El-Dahmy, S., Jakupovic, J., Bohlmann, F., Dawidar, A.M. and Metwally, S.A. (1986) *Phytochemistry* **25**, 255-257.

⁷ Gören, N., Tahtakasal, E., Krawiec, M. and Watson, W.H. (1996) *Phytochemistry* **42**, 757-760.

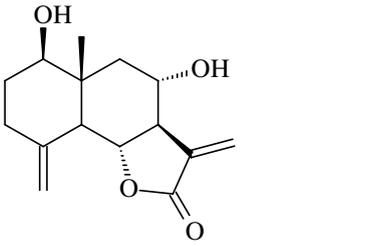
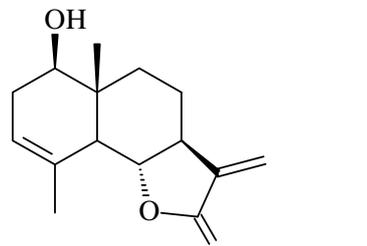
⁸ Gören, N. and Tahtakasal, E. (1994) *Phytochemistry* **36**, 1281-1282.

⁹ Gören, N. and Tahtakasal, E. (1993) *Phytochemistry* **34**, 1071-1073.

¹⁰ Gören, N., Tahtakasal, E., Arda, N. (1994) *Turkish Journal of Chemistry* **18** (4), 296-300.

¹¹ Gören, N., Bozok-Johansson, C., Jakupovic, J., Lin, L., Shieh, H., Cordell, G. and Çelik, N. (1992) *Phytochemistry* **31**, 101-104.

¹² Gören, N., Ulubelen, A., Bozok-Johansson, C. and Tahtakasal, E. (1993) *Phytochemistry* **33**, 1157-1159.

Dentatina A (8 α -hidroxireinosina)		<i>T. argenteum ssp. flabellifolium</i> <i>T. densum ssp. sivasicum</i> <i>T. densum ssp. amani</i> <i>T. vulgare</i> <i>T. argyrophyllum var. argyrophyllum</i> <i>T. chiliophyllum var. heimerlei</i>	6,7 11 12 14,15 22 23
Santamarina		<i>T. argenteum ssp. canum var. canum.</i> <i>T. parthenium</i> <i>T. vulgare</i> <i>T. santolina</i> <i>T. praeteritum ssp. praeteritum</i>	10 16,31 14,21,22 24 25

¹³ Yunusov, A.I., Abduazimov, B. Kh. and Sıdyakin, G.P. (1980) *Khim. Prir. Soedin.*, **4**, 573.

¹⁴ Ognyanov, O. and Todorova, M. (1983). *Planta Médica* **48**, 181-183.

¹⁵ Chandra, A., Misra, L.N. and Thackur, R. (1987) *Phytochemistry* **26**(5), 1463-1465.

¹⁶ Milbrodt, M., Schröder, F. and König, W.A. (1997) *Phytochemistry* **44**, 471-474.

¹⁷ Bohlmann, F. and Zdero, C. (1982) *Phytochemistry* **21**, 2543-2549.

¹⁸ Begley, M.J., Hewlett, M.M. and Knight, D.W. (1989) *Phytochemistry* **28**, 940-942.

¹⁹ Samek, Z., Holub, M., Grabarczyk, H., Drozd, B. and Herout, V. (1973) *Collection Czechoslov. Chem. Commun.* **38**, 1971-1975.

²⁰ Appendino, G., Gariboldi, P. and Nano, G.M. (1982) *Phytochemistry* **21**, 1099-1102.

²¹ Appendino, G., Gariboldi, P. and Nano, G.M. (1983) *Phytochemistry* **22**, 509-512.

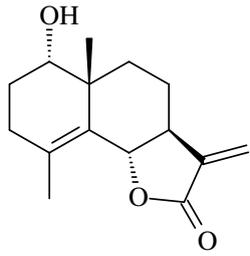
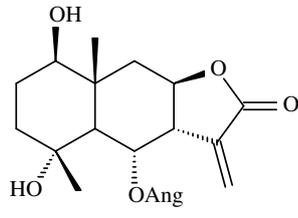
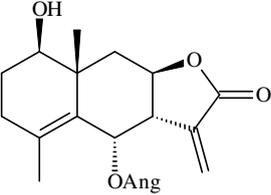
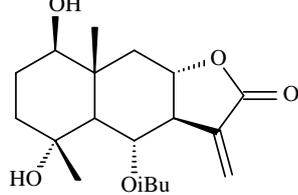
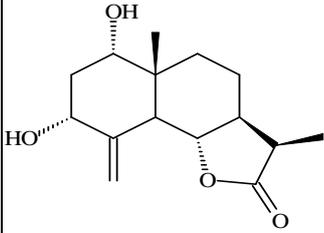
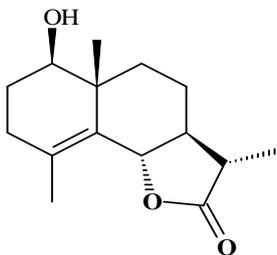
²² Gören, N., Jakupovic, J. and Topal, S. (1990) *Phytochemistry* **29**, 1467-1469.

^{22a} Gören, N. Cai, P. Scott, L., Tanosova-Ramomonjy, M and Snyder, J.K. (1995). *Tetrahedron* **51**, 4627-4634.

²³ Gören, N., Jakupovic, J. and Topal, S. (1990) *Phytochemistry* **29**, 1467-1469.

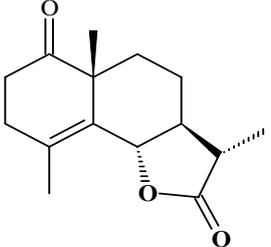
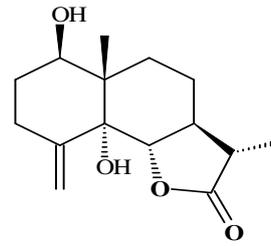
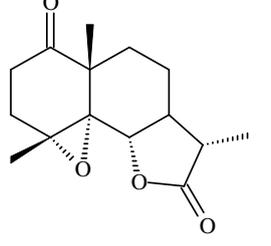
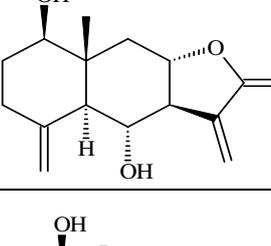
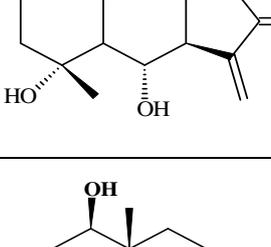
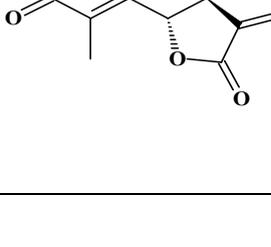
²⁴ Abduazimov, B. Kh., Yunusov, A.I. and Sıdyakin, G.P. (1980) *Khimiya Prirodnikh Soedinenii* **6**, 844.

²⁵ Gören, N. (1995) *Phytochemistry* **38**(5), 1261-1264.

Douglanina		<i>T. argenteum ssp. canum var. canum</i> <i>T. praeteritum ssp. praeteritum</i> <i>T. larvatum</i>	10 25 27
1 β ,4 α -dihidroxi-6 α -Angeloiloxieudesm-11(13)-en-8,12-olida		<i>T. argenteum ssp. canum var. canum</i>	10
1 β -hidroxi-6 α -angeloiloxieudesm-4(5),11(13)-dien-8,12-olida		<i>T. argenteum ssp. canum var. canum</i>	10
1 β ,4 α -dihidroxi-6 α -isobutiloxieudesm-11(13)-en-8,12-olida		<i>T. argeteum ssp. canum var. canum</i>	10
Erivanina		<i>T. balsamita</i> <i>T. santolinoides</i>	19 28
Artesina		<i>T. cadmeum ssp. cadmeum</i>	29,30

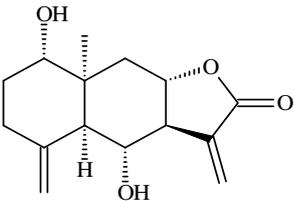
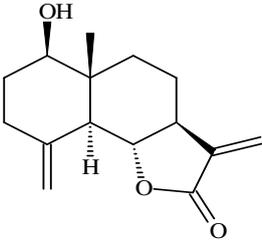
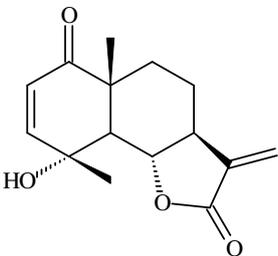
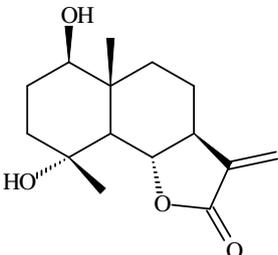
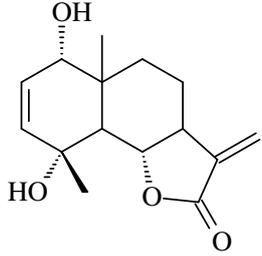
²⁶ Gören, N. (1996) *Phytochemistry* **42(3)**, 747-749.

²⁷ Aljabčič, I. Vajs, V., Bulatović, V., Menković, N. and Milosavjević, S. (2001). *Biochemical Syst. And Ecol.* **29**, 655-665

Taurina		<i>T. cadmeum</i> ssp. <i>cadmeum</i>	29,30
Artemina		<i>T. cadmeum</i> ssp. <i>cadmeum</i>	29,30
Maritimina		<i>T. cadmeum</i> ssp. <i>cadmeum</i>	29
Desangeloilchrysanina		<i>T. densum</i> ssp. <i>sivasicum</i>	9
1 α ,4 α ,6 α -trihidroxi- 11(13)-eudesm-8,12- olida		<i>T. densum</i> ssp. <i>Amani</i> <i>T. corymbosum</i>	12 31
Armexifolina (1- <i>epiludovicina</i> C) (Jaceidina)		<i>T. densum</i> ssp. <i>eginense</i> <i>T. praeteritum</i> ssp. <i>praeteritum</i> <i>T. vulgare</i>	8 25 14,33

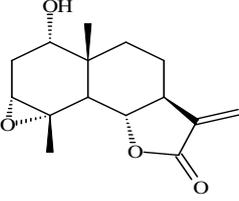
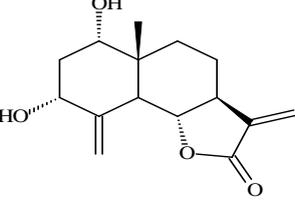
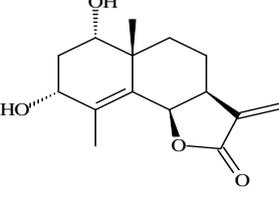
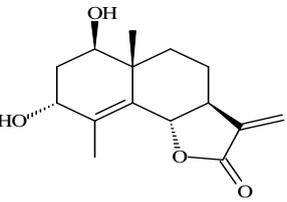
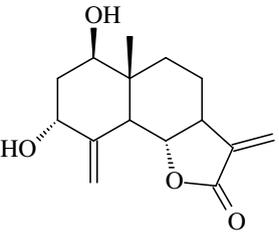
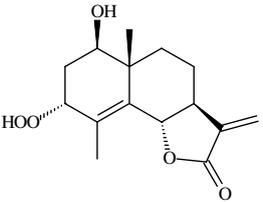
²⁸ El Sebahky, N.N. and El Ghazouly, M.G. (1986) *Pharmazie* **41** (4), 298.

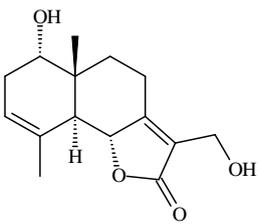
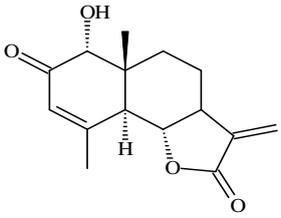
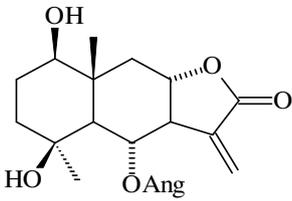
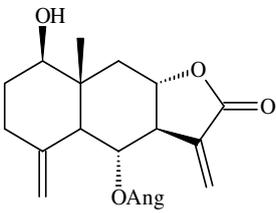
²⁹ Caliskan, Z., Gören, N., Watson, W.H. (2004) *Journal of Chemical Crystallography* **34**, 307-310.

Eginense		<i>T. densum ssp. eginense</i>	8
Reynosina		<i>T. parthenium</i> <i>T. praeteritum ssp. praeteritum</i> <i>T. vulgare</i>	16,17,31 25 19,31,33
Arglanina		<i>T. praeteritum ssp. praeteritum</i>	25
1β-hidroxiarbusculina A		<i>T. parthenium</i> <i>T. vulgare</i>	31 19,31,33
1α-hidroxi-1-desoxo arglanina		<i>T. praeteritum ssp. praeteritum</i>	25

³⁰ Sırsurluk, H., Cahskan, Z., Gürkan, O., Kirmizigül, S. and Gören, N. (2007) *Industrial Crops and Products* **26**, 220-228.

³¹ Todorova, M.N. and Evstatieva, L.N. (2001) *Z. Naturforsch.* **56c**, 506-512.

Ludovicina A (Epoxisantamarina)		<i>T. praeteritum</i> <i>ssp. praeteritum</i>	25,26
Ludovicina B		<i>T. praeteritum</i> <i>ssp. praeteritum</i>	25
Armexino		<i>T. praeteritum</i> <i>ssp. praeteritum</i>	25
Armefolina		<i>T. praeteritum</i> <i>ssp. praeteritum</i> <i>T. vulgare</i> <i>T. parthenium</i>	25 31,33 31
3 α -hidroxireynosina		<i>T. praeteritum</i> <i>ssp.</i> <i>praeteritum</i> <i>T. vulgare</i>	25 31
3 α -peroxiarmeolina		<i>T. praeteritum</i> <i>ssp.</i> <i>praeteritum</i>	25

Praeteritenolido		<i>T. praeteritum</i> ssp. <i>praeteritum</i>	25
Tanapraetenolido		<i>T. praeteritum</i> ssp. <i>praeteritum</i>	26
Tanapsina		<i>T. pseudoachillea</i>	32
Taxilina		<i>T. pseudoachillea</i>	34

³² Yunusov, A.I., Kasymov, S.Z. and Sdyakin, G.P. (1973) *Khim. Prir. Soedin.* **2**, 261-262.

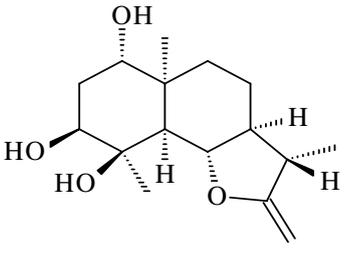
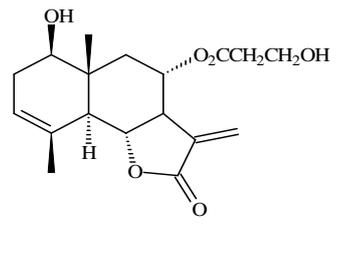
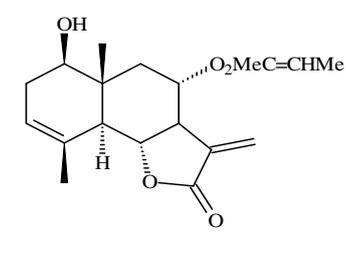
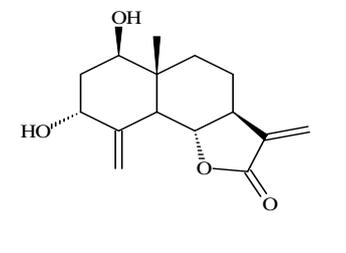
³³ Sanz, J.K. and Marco, A. (1991) *J Nat. Prod.* **54**(2), 591-596.

³⁴ Yunusov, A.I. Kasymov, S.Z. and Sdyakin, G.P. (1973) *Khim. Prir. Soedin* **2**, 276-277.

³⁵ Abdel-Mogib, M., Jakupovic, J., Dawidar, E.M., Metwally, M.E. and Abou-Elzahab, M. *Phytochemistry* **28**, 268-271.

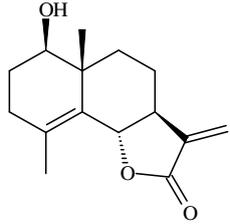
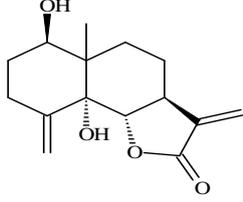
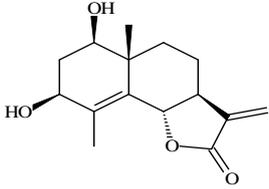
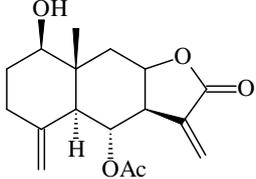
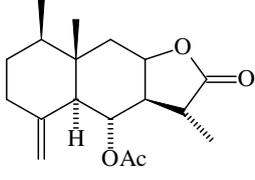
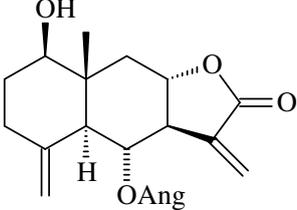
³⁶ Stefanovic, M., Mladenovic, S., Djermanovic, M. and Ristic, N. (1882) *Glas Hem. Drus* **47**, 13-18.

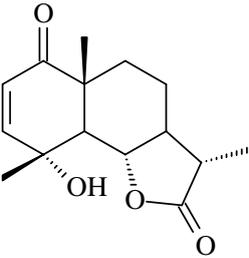
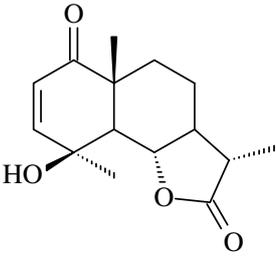
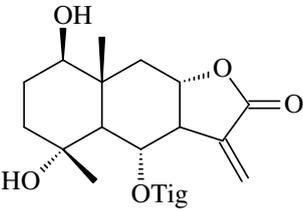
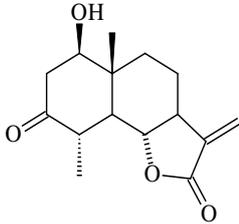
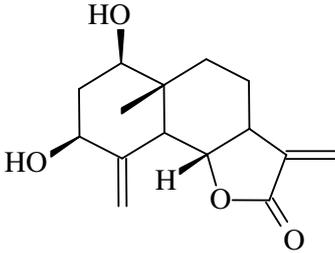
³⁷ Doskoch, R. W., El Feraly, F. and Hufford, C.D. (1979) *Canadian Journal of Chemistry* **41**, 2103-2111.

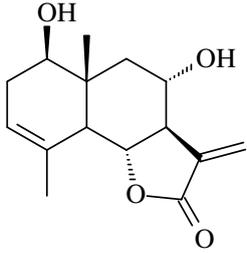
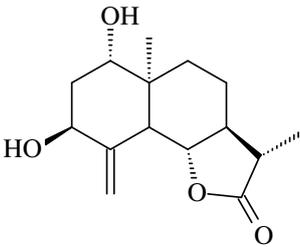
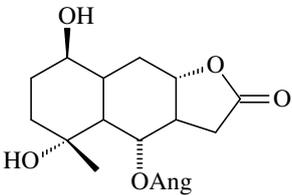
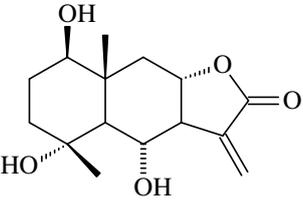
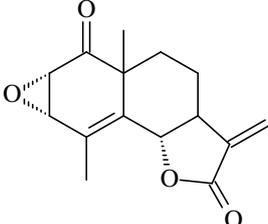
<p>1α,3β,4β-trihidroxi- (5α,7α,11βH,10α- metil)-eudesman- 12,6α-olida</p>		<p><i>T. santolinoides</i> <i>T. sinaicum</i></p>	<p>35 35</p>
<p>Beogradolido A</p>		<p><i>T. serotinum</i></p>	<p>36</p>
<p>Beogradolido B</p>		<p><i>T. serotinum</i></p>	<p>36</p>
<p>1-epi-ludovicina B</p>		<p><i>T. vulgare</i></p>	<p>31</p>

³⁸ Shasida, Y., Nakata, H., Shimomura, H. and Kagaya, M.(1983) *Phytochemistry* **22**(5), 1219-1222.

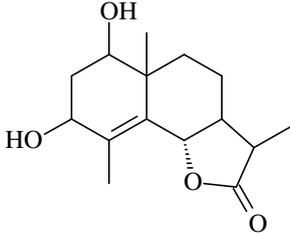
³⁹ Youssef, D.T.A., Ramadan, M.A. Ibrahim, S.R.M. and Badr, J.M. (2007) *Natural Products Communications* **2**(8), 795-798.

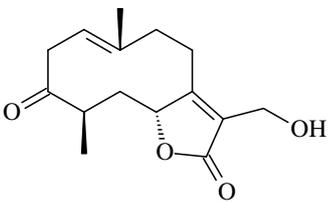
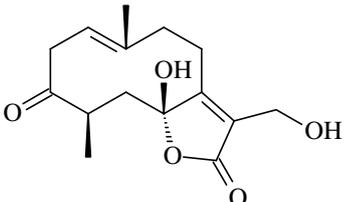
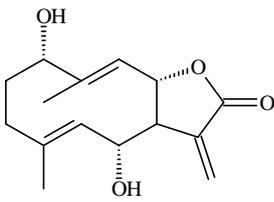
Magnolialido		<i>T. vulgare</i>	31
Tanacetina		<i>T. vulgare</i>	19,31
3-epi-armefolina		<i>T. vulgare</i>	31
β-ciclopiretosina		<i>T. cinerariaefolium</i>	37
Dihidro-β-ciclopiretosina		<i>T. cinerariaefolium</i>	37,38
Chrisanina		<i>T. cinerariaefolium</i>	37

Vulgarina		<i>T. achilleifolium</i> <i>T. millefolium</i>	31 31
4-epi-vulgarina		<i>T. achilleifolium</i> <i>T. millefolium</i>	31 31
1β,4α-dihidroxi-6α-tigloxy-11(13)-eudesmen-8,12-olida		<i>T. corymbosum</i>	31
Artecalin		<i>T. macrophyllum</i> <i>T. santolina</i>	31 38
Ridentina B		<i>T. santolina</i>	38

8 α -hidroxisantamarina		<i>T. chiliophyllum</i>	23
1-epierivanina		<i>T. santolinoides</i>	39
1 β ,4 α -dihidroxi-6 α -angeoiloxyeudesm-11(13)-en-8,12-olida		<i>T. argenteums ssp. canum var. canum</i>	10
1 β ,4 α ,6 α -trihidroxi-11-en-8 α ,12-olida		<i>T. densum ssp. amani</i>	12
Tanamanin		<i>T. densum ssp. amani</i>	10

⁴⁰ Gören, N. Ulebelen, A., Snyder, J.K., Bozok, C. and Tahtasakal, E. (1992) *Planta Médica* 50: Supl.

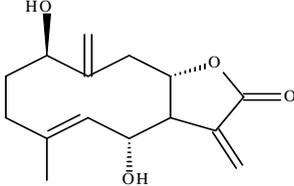
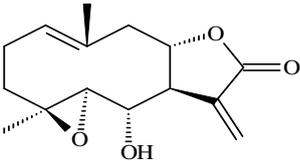
Tanamarin		<i>T. densum</i> <i>ssp. amani</i> <i>T. sinaicum</i>	40 35
-----------	---	---	--------------

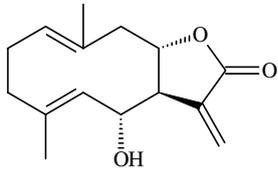
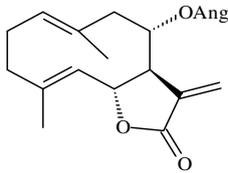
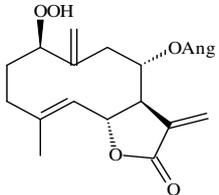
LACTONAS TIPO GERMACRANOLIDAS			
NOMBRE	ESTRUCTURA	ESPECIE	REF
Tanalbina A		<i>T. albipannosum</i>	41
Tanalbina B		<i>T. albipannosum</i>	41
Tatridina A (Tavulina=Tabulina)		<i>T. argenteum</i> <i>ssp. argenteum</i> <i>T. argenteum</i> <i>ssp. flabellifolium</i> <i>T. argyrophyllum</i> <i>var. argyrophyllum</i> <i>T. cadmeun</i> <i>ssp. cadmeun</i> <i>T. chiliophyllum</i> <i>var. heimerlei</i> <i>T. densum</i> <i>ssp. sivasicum</i>	5 6,7 13 26,27 23 11

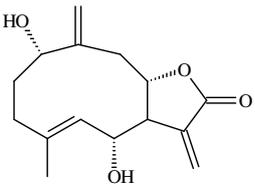
⁴¹ Gören, N., and Jakupovic, J. (1990) *Phytochemistry* **29**, 3031-3032.

⁴² Rustaiyan, A., Zare, K., Habibi, Z., and Hashemi, M. (1990) *Phytochemistry* **29**(9), 3022-3023.

⁴³ Lee, K.H. and Geissman, T.A. (1970) *Phytochemistry* **9**, 403-410.

		<i>T. densum</i> <i>ssp. eginense</i> <i>T. polycephalum</i> <i>T. praeteritum</i> <i>ssp. praeteritum</i> <i>T. pseudoachillea</i> <i>T. vulgare</i> <i>T. cinerariaefolium</i> <i>T. santolina</i> <i>T. argyrophyllum</i> <i>var. argyrophyllum</i>	8 43 43 45 14,20,31 38 42 13
Tatridina B		<i>T. argenteum</i> <i>ssp. argenteum</i> <i>T. polycephalum</i> <i>T. vulgare</i> <i>T. cinerariaefolium</i>	5 42 14,20, 31,33 38
Espiciformina		<i>T. argenteum</i> <i>ssp. argenteum</i> <i>T. argenteum</i> <i>ssp. flabellifolium</i> <i>T. chiliophyllum</i> <i>var. heimerlei</i> <i>T. densum</i> <i>ssp. sivasicum</i> <i>T. densum</i> <i>ssp. amani</i> <i>T. densum</i> <i>ssp. eginense</i>	5 6,7 14 11,12 12 8

		<i>T. chiliophyllum</i> <i>var. heimerlei</i>	23
Desacetillaurenobio lido		<i>T. argenteum</i> <i>ssp. argenteum</i> <i>T. argenteum</i> <i>ssp. flabellifolium</i> <i>T. chiliophyllum</i> <i>var. heimerlei</i> <i>T. densum</i> <i>ssp. sivasicum</i> <i>T. densum</i> <i>ssp. eginense</i> <i>T. polycephalum</i> <i>T. pseudoachillea</i>	5 6,7 14 11,12 8 4 45
8 α - angeloiloxicostuno lido		<i>T. argenteum</i> <i>ssp. argenteum</i>	5
8 α -angeloiloxi-1 β - peroxicostunolido		<i>T. argenteum</i> <i>ssp. argenteum</i>	5

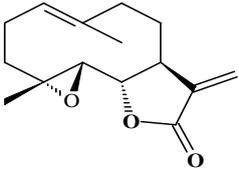
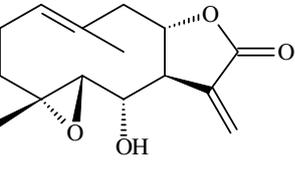
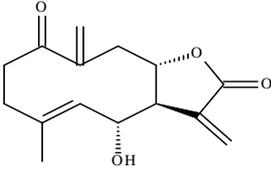
<p>1-epi-Tatridina B 1α-hidroxi-1- desoxotamirina (Tanachina)</p>		<p><i>T. argenteum</i> <i>ssp. flabellifolium</i> <i>T. argenteum</i> <i>ssp. canum var. canum</i> <i>T. argyrophyllum</i> <i>var. argyrophyllum</i> <i>T. cadmeum</i> <i>ssp. cadmeum</i> <i>T. chiliophyllum</i> <i>var. heimerlei</i> <i>T. densum</i> <i>ssp. sivasicum</i> <i>T. densum</i> <i>ssp. amani</i> <i>T. densum</i> <i>ssp. eginense</i> <i>T. polycephalum</i> <i>T. praeteritum</i> <i>ssp. praeteritum</i> <i>T. pseudoachillea</i> <i>T. vulgare</i></p>	<p>6,7 10 13 21,22 23 11 12 8 42 25 44 33</p>
---	---	--	---

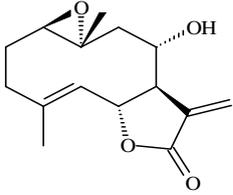
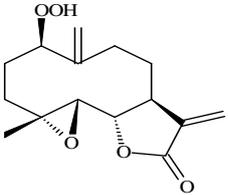
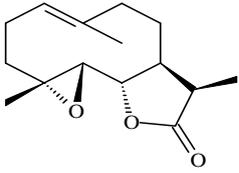
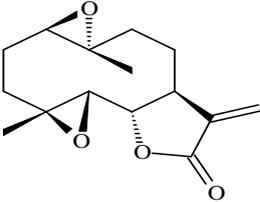
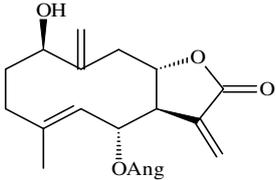
⁴⁴ Yunusov, A.I., Abdullaev, N.D., Kasymov, S.Z. and Sıdyakin, G.P. (1976) *Khim. Prir. Soedin.* **2**, 263.

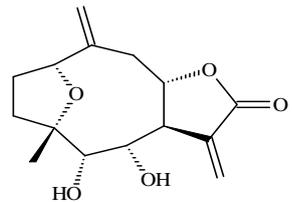
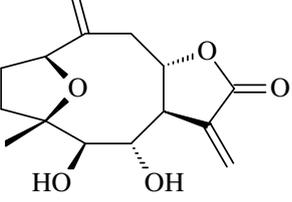
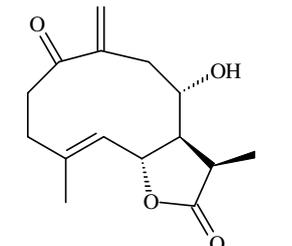
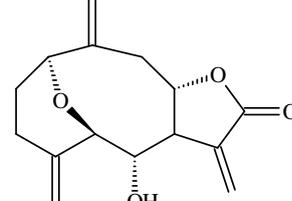
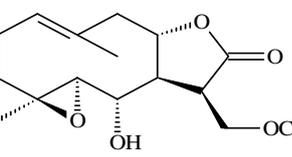
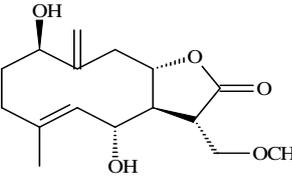
⁴⁵ Yunusov, A.I. and Sıdyakin, G.P. (1979) *Khim. Prir. Soedin.* **15**, 411

⁴⁶ Potoglu, K., Karakoc, O.C., Gökce, N. and Gören, N. (2011) *Phytochemistry Letters* **4**, 432-435.

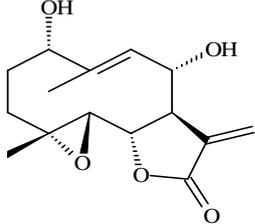
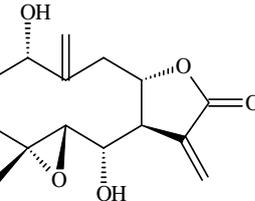
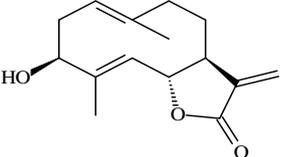
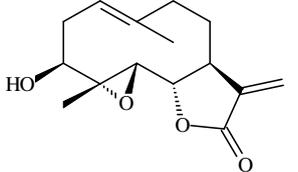
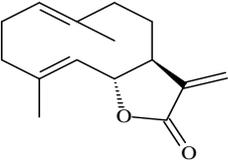
⁴⁷ Mnatsakanyan, V.A. and Revazova, L.V. (1974) *Khim. Prir. Soedin* **3**, 396-397.

Partenolido		<i>T. argenteum</i> <i>ssp. flabellifolium</i> <i>T. argenteum</i> <i>ssp. canum var. canum</i> <i>T. densum</i> <i>ssp. amani</i> <i>T. larvatum</i> <i>T. parthenium</i> <i>T. vulgare</i>	6,7 10 12 18 17 20,31,33
Isospiciformina		<i>T. argenteum</i> <i>ssp. flabellifolium</i> <i>T. argyrophyllum</i> <i>var. argyrophyllum</i> <i>T. densum</i> <i>ssp. sivasicum</i>	6,7 22 11
Tamirina (Desacetilchrisanolido)		<i>T. argenteum</i> <i>ssp. flabellifolium</i> <i>T. cadmeum</i> <i>ssp. cadmeum</i> <i>T. chiliophyllum</i> <i>var. heimerlei</i> <i>T. polycephalum</i> <i>T. densum</i> <i>ssp. eginense</i> <i>T. praeteritum</i> <i>ssp. praeteritum</i> <i>T. santolina</i> <i>T. polycephalum</i> <i>T. vulgare</i> <i>T. chilliophyllum</i>	6,7 21,22 23 42 8 43 47 42 14,33 47

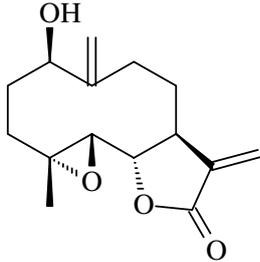
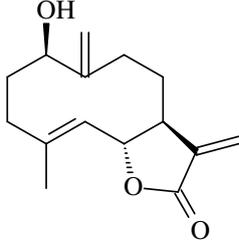
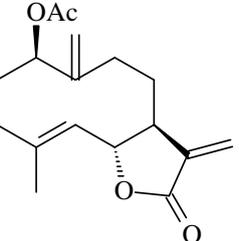
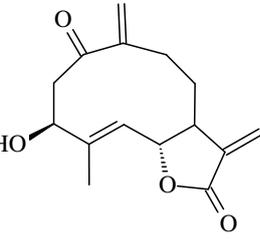
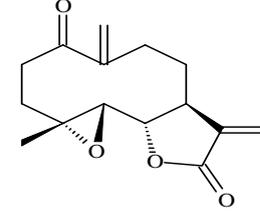
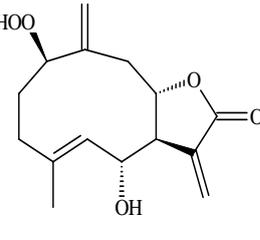
<p>1β,10α- epóxidesacetiltuli pinolido</p>		<p><i>T. argenteum</i> <i>ssp. argenteum</i> <i>T. densum</i> <i>Ssp. sivasicum</i> <i>T. densum</i> <i>ssp. sivasicum</i> <i>T. densum</i> <i>ssp. eginense</i></p>	<p>5 11 12 8</p>
<p>Peroxiartenolido</p>		<p><i>T. argenteum</i> <i>ssp. canum var. canum</i> <i>T. densum</i> <i>ssp. amani</i></p>	<p>10 12</p>
<p>Dihidropartenolido</p>		<p><i>T. argenteum</i> <i>ssp. canum var. canum</i></p>	<p>10</p>
<p>Michelenolido</p>		<p><i>T. argenteum</i> <i>ssp. canum var. canum</i></p>	<p>10</p>
<p>1β-hidroxi-6α- angeloiloxigermacr a-4(5),10(14), 11(13)-trien-8,12- olida(Angelato Tatridina B)</p>		<p><i>T. argenteum</i> <i>ssp. canum var. canum</i></p>	<p>10</p>

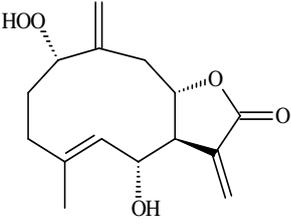
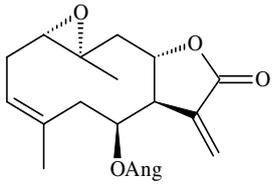
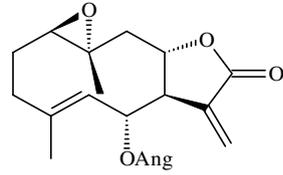
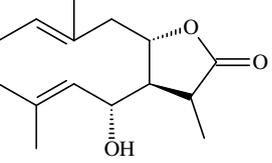
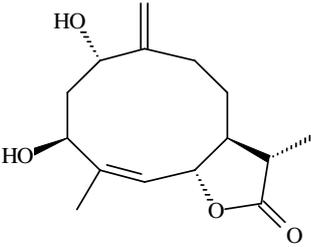
Tanargirolido		<i>T. argyrophyllum</i> <i>var. argyrophyllum</i>	22
6,9-epoxiciclodeca[b]furan-2(3H)-ona, decahidro-4,5-didhidro-6-metil-3,10-bis(metilen)-[3aS-(3aR*,4R*,5S*,6R*,9S*,11aR*)]		<i>T. densum</i> <i>ssp. sivasicum</i>	22a
8α-hidroxianhidroverlotorina		<i>T. argyrophyllum</i> <i>var. argyrophyllum</i> <i>T. densum</i> <i>ssp. sivasicum</i> <i>T. sensum</i> <i>ssp. amani</i>	22 11 12
Germacrano 1,5-epóxido		<i>T. argyrophyllum</i> <i>var. argyrophyllum</i>	22
Heimerleina		<i>T. chiliophyllum</i> <i>var. heimerlei</i>	23
Chiliophyllina		<i>T. chiliophyllum</i> <i>var. heimerlei</i>	23

1-epi-Chiliophyllina		<i>T. chiliophyllum</i> <i>var. monocephalum</i>	46
1 α -Hidroperoxi-1-desoxodesacetil chrysanolido		<i>T. chiliophyllum</i> <i>var. heimerlei</i> <i>T. densum</i> <i>ssp. sivasicum</i> <i>T. densum</i> <i>ssp. eginense</i>	23 11 8 42
1 β -hidroperoxi-1-desoxodesacetil chrisanolido		<i>T. polycephalum</i>	42
1 β ,10 α -epoxi-1,10H-desacetil Laurenobolido (Desacetilpiretro sina)		<i>T. densum</i> <i>ssp. sivasicum</i>	9
Chrysanolido		<i>T. densum</i> <i>ssp. sivasicum</i> <i>T. cinerariaefolium</i>	9 48
Tulirinol		<i>T. densum</i> <i>ssp. sivasicum</i>	23

<p>4α,5β-epóxido del 1α-hidroxi desacetilirinol (Tatridina A 4α,5β- epóxido)</p>		<p><i>T. densum</i> <i>ssp. sivasicum</i></p> <p><i>T. polycephalum</i></p>	<p>9</p> <p>42</p>
<p>4α,5β-epóxido del 1α-hidroxi-1- desoxotamirina (Epóxido Tatridina B)</p>		<p><i>T. densum</i> <i>ssp. sivasicum</i></p> <p><i>T. polycephalum</i></p>	<p>9</p> <p>42</p>
<p>Hanfilina (3β- hidroxicostunilido)</p>		<p><i>T. macrophyllum</i> <i>T. parthenium</i></p>	<p>31</p> <p>17</p>
<p>3β- hidroxipartenolido</p>		<p><i>T. parthenium</i></p>	<p>17</p>
<p>Costunolido</p>		<p><i>T. parthenium</i> <i>T. vulgare</i></p>	<p>17</p> <p>33</p>

⁴⁸ Belyaev, N.F., Zapol'skaya-Dovnar, G.M. and Adekenov, S.M. (1986) *Khim. Prir. Soedin* **6**, 875-878.

<p>1B-hidroxi-10,14-dehidro-1,10H-partenolido (Epóxido de Artemorina)</p>		<p><i>T. parthenium</i></p>	<p>17,18</p>
<p>Artemorina</p>		<p><i>T. parthenium</i> <i>T. vulgare</i></p>	<p>17 20,33</p>
<p>Acetato de Artemorina</p>		<p><i>T. santolina</i></p>	<p>48</p>
<p>3B-hidroxianhidroverlotorina</p>		<p><i>T. parthenium</i></p>	<p>48</p>
<p>4α,5β epóxido de anhidroverlotorina</p>		<p><i>T. parthenium</i> <i>T. vulgare</i></p>	<p>17 33</p>
<p>1-peroxitatrídina B 1B-hidroperoxi-1-desoxodesacil crisanolido</p>		<p><i>T. polycephalum</i></p>	<p>42</p>

<p>1-peroxi-epitatridina B 1α-hidroperoxi-1- desoxodesacetilcrisa nolido</p>		<p><i>T. polycephalum</i></p>	<p>42</p>
<p>Tanadina</p>		<p><i>T. pseudoachillea</i></p>	<p>45</p>
<p>Tanacina</p>		<p><i>T. pseudoachillea</i></p>	<p>42</p>
<p>Dihydrodesacetil laurenobiolido</p>		<p><i>T. pseudoachillea</i></p>	<p>45</p>
<p>1α,3β-dihidroxi- 7α,11βH-germacra- 4Z-10(14)-dien- 12,6α-olida (4Z-1- epihidroridentina)</p>		<p><i>T. santolido</i> <i>T. sanolinoides</i> <i>T. sinaicum</i></p>	<p>35 35,39,52 34</p>

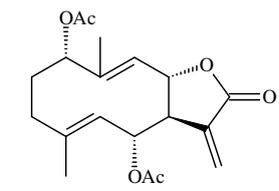
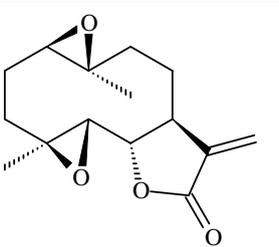
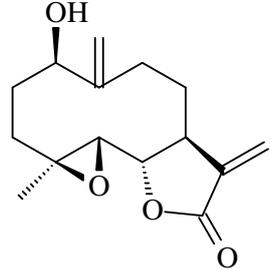
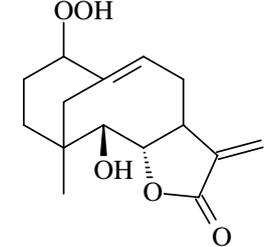
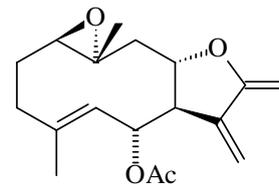
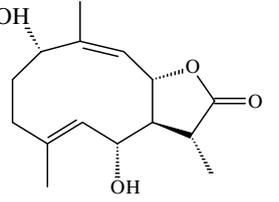
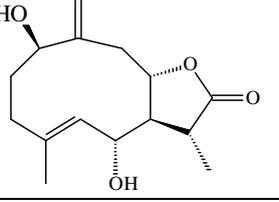
⁴⁹ MHMOUŞ, a.m. Al-Omair, M.A. and Hnuma, M. (2007) *Natural Product Research* **21**(2), 156-160.

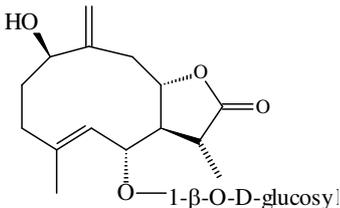
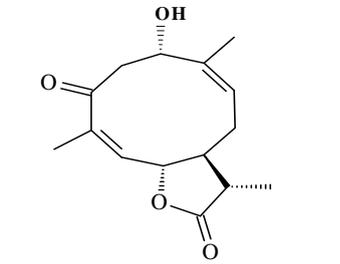
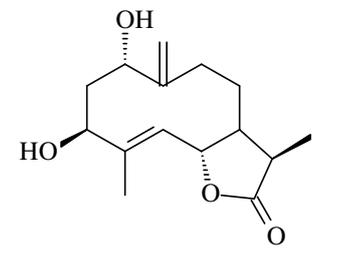
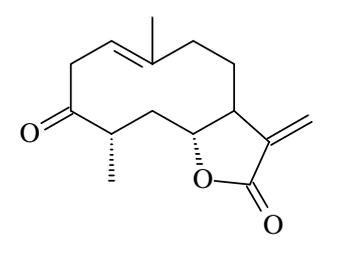
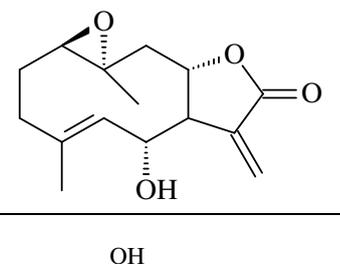
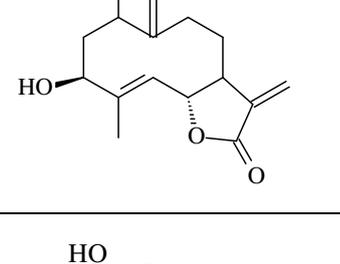
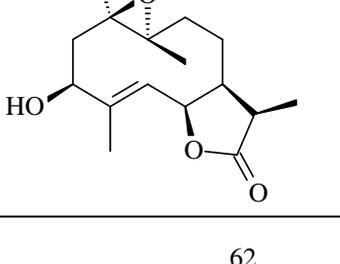
⁵⁰ Yunusov, A.I., Abduazimov, B.Kh. and Sıdyakin, G.P. (1981) *Int. Conf. Chem. Biotechnol. Biol. Act. Nat. Prod. (Proc)* **3**, 11-14.

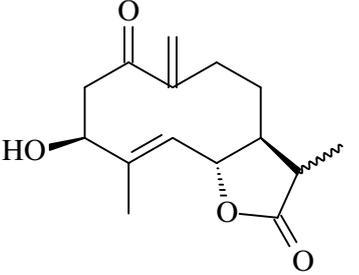
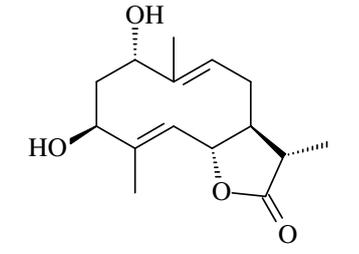
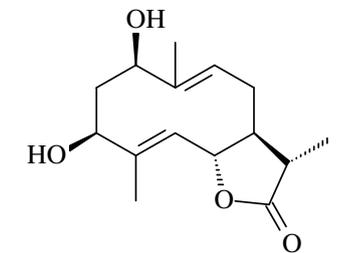
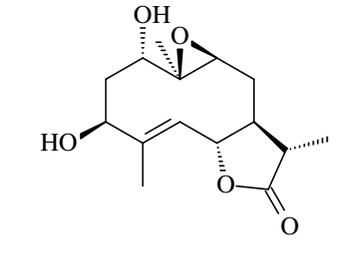
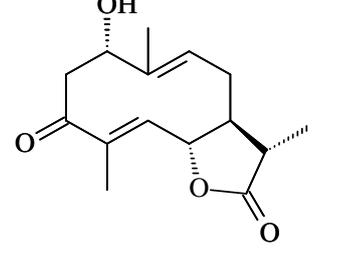
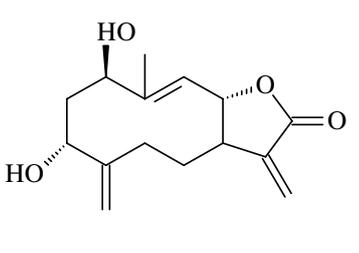
1β,3β-dihidroxi- 7α,11β-germacra- 4Z-10(14)-dien- 12,6α-olida		<i>T. santolido</i>	35,39
1α,3β-dihidroxi- 9β,10β-epoxi- 7α,11βH-germacra- 4Z-en-12,6α-olida		<i>T. santolinoides</i>	35,39
1α,3β-dihidroxi- 7α,10β-epoxi- 7α,11βH-germacra- 4Z-9Z-dien-12,6α- olida		<i>T. santolido</i>	35,39
Dihidroridentina (4E-1- epidihidriden tina)		<i>T. santolinoides</i>	28, 52
Diacetato de 1-epi- Tatridina B		<i>T. vulgare</i>	33

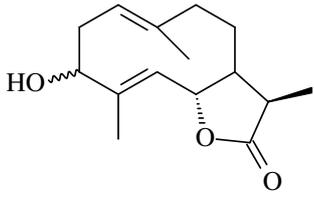
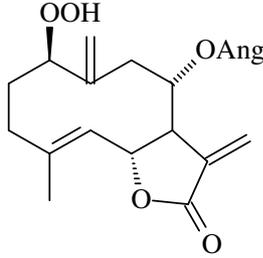
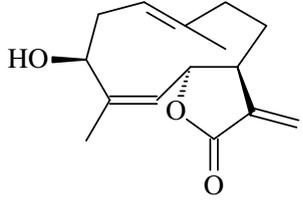
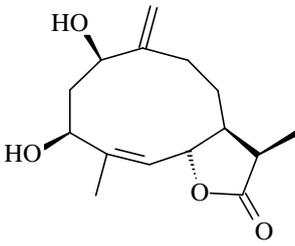
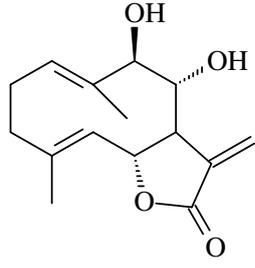
⁵¹ Mahmoud, A.A., Ahmed, A., Iinuma, M. and Tanaka, T. (1994) *Phytochemistry* **36**(2),393-398.

⁵² El Sebaky, N.A., El-Ghazouly, M.G. El Din, A.A.S. and Zdero, C. (1986) *Pharmazie* **41**(7),525-526.

Diacetato de Tatrídina A		<i>T. vulgare</i>	33
Diepóxido costunólido		<i>T. vulgare</i>	33
4 α ,5 β -epóxido de Artemorina		<i>T. vulgare</i>	33
Crispiólido		<i>T. vulgare</i> <i>T. santolina</i>	20 50
Piretosina		<i>T. cinerariaefolium</i> <i>T. vulgare</i>	48 14
(11R)-11,13-dihidrotatrídina A		<i>T. cinerariaefolium</i>	38
(11R)-11,13-dihidrotatrídina B		<i>T. cinerariaefolium</i>	38

(11R)-6-O-β-D-glucosyl-11,13-dihidotatridina B		<i>T. cinerariaefolium</i>	38
1α-hidroxi-3-oxo-7α,11βH-germacra-4Z,9Z-dien-12,6α-olida		<i>T. santolinoides</i>	49
1α,3β-dihidroxy-7α,11βH-germacra-4Z,10(14)-dien-12,6α-olida		<i>T. santolinoides</i>	35,39
Tansanina		<i>T. santolina</i>	50
1β,10α-epoxydesacetil laurenobiolido		<i>T. santolina</i>	50
Ridentina		<i>T. santolina</i>	24
1β,10α-epoxy-3β-hidroxi-7α,11αH-germacra-4Z-en-12,6β-olida		<i>T. santolinoides</i> <i>T. sinaicum</i>	51 6

<p>3β-hidroxi-1-oxo- 7α,11βH-germacra- 4Z,10(14)-dien- 12,6α-olida</p>		<p><i>T. santolinoides</i> <i>T. sinaicum</i> <i>T. parthenium</i></p>	<p>51 6 17</p>
<p>1α,3β-dihidroxi- 7α,11βH-germacra- 4Z,9Z-dien-12,6α- olida</p>		<p><i>T. santolinoides</i> <i>T. sinaicum</i></p>	<p>39,51 6</p>
<p>1β,3β-dihidroxi- 7α,11β-germacra- 4Z,9Z-dien-12,6α- olida</p>		<p><i>T. santolinoides</i> <i>T. sinaicum</i></p>	<p>51 6</p>
<p>1α,3β-dihidroxi- 9β,10β-epoxi- 7α,11β-germacra- 4Z-en-12,6α-olida</p>		<p><i>T. santolinoides</i> <i>T. sinaicum</i></p>	<p>51 6</p>
<p>1α-hidroxi-3-oxo- 7α,11β-germacra- 4Z,9Z-dien-12,6α- olida</p>		<p><i>T. santolinoides</i></p>	<p>50</p>
<p>Isoridentina</p>		<p><i>T. santolinoides</i></p>	<p>50</p>

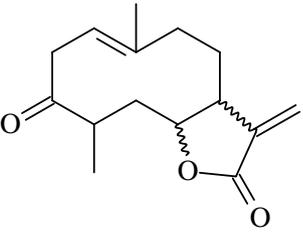
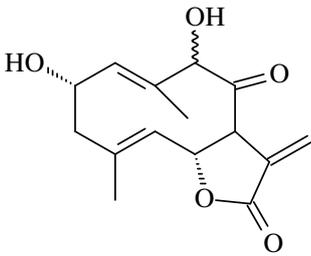
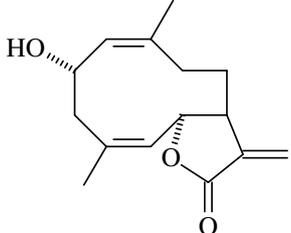
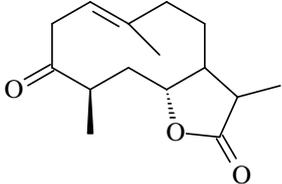
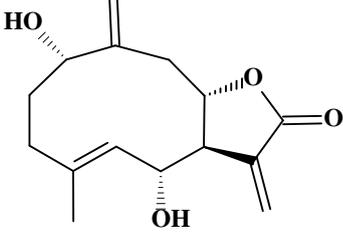
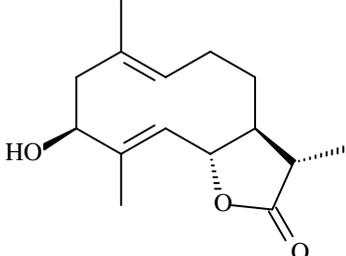
Artabina		<i>T. sinaicum</i>	53
8 α -angeloiloxi-1 β -peroxicostunolido		<i>T. argenteum</i> <i>ssp. argenteum</i>	5
4,5-cis-3 β -hidroxigermacranolido		<i>T. tanacetoides</i>	55
1 β ,3 β -dihidroxi-7 α ,11 α H-germacra-4Z,10(14)-dien-12,6 α -olida		<i>T. sinaicum</i>	35,39
8 α ,9 β ,dihidroxi-trans,trans-germacra-1(10),4(5)-dien-trans-6,12-olida		<i>T. vulgare</i>	15

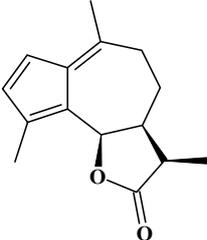
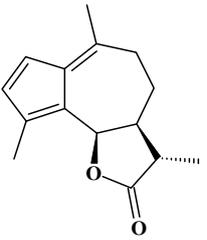
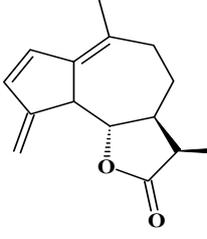
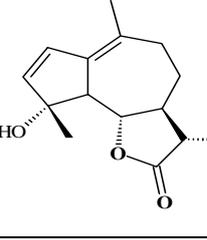
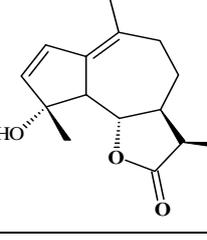
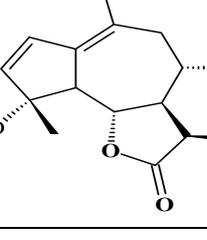
⁵³ Jakupovic, J., Eid, F., Bohlmann and El-Dahmy, S. (1987) *Phytochemistry* **26**(5), 1536-1538.

⁵⁴ Bohlmann, F. and Ehlers, D. (1977) *Phytochemistry* **16**(1), 137-138.

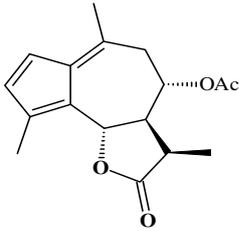
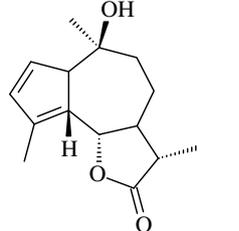
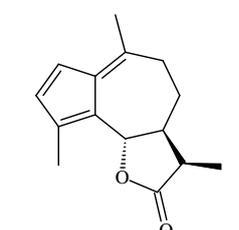
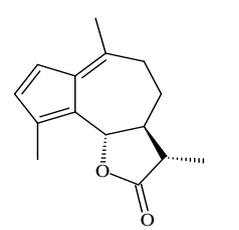
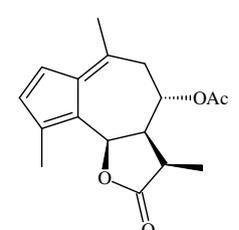
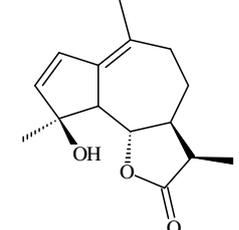
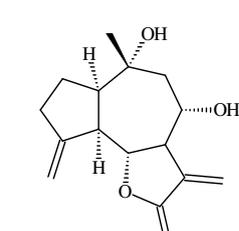
⁵⁵ Bohlmann, F., Suwita, A., Natu, A.A., Czerson, H. and Suwita, A. (1997). *Chemische Berichte* **110**(11), 3572-3581.

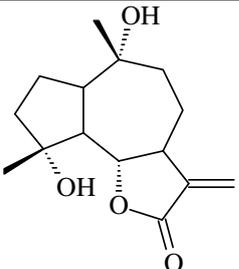
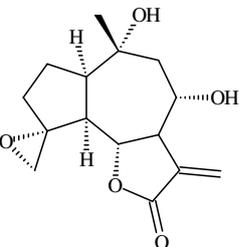
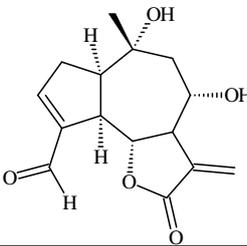
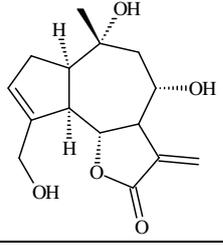
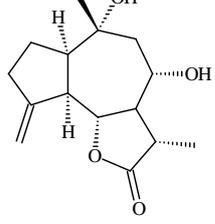
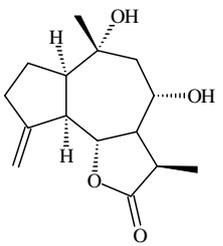
⁵⁶ Barrero, A.F., Sánchez, J.F. and Ramírez, A. (1992) *Phytochemistry* **31**(1), 332-333.

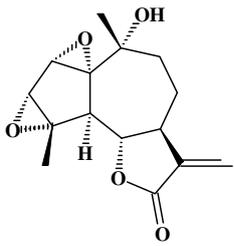
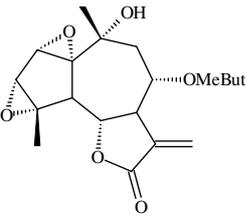
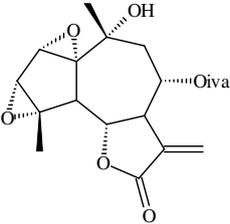
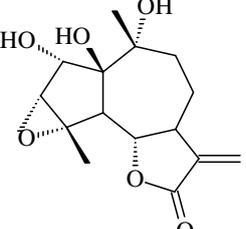
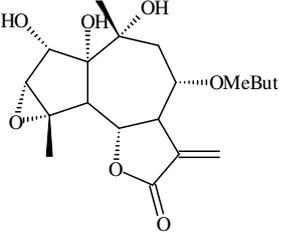
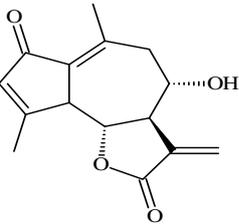
<p>3-ceto-4α-H-germacran-1(10),11(13)-dien-6,12-olida</p>		<p><i>T. vulgare</i></p>	<p>15</p>
<p>8-oxo-2α,9-dihidroxy-trans,trans-germacra-1(10),4(5)-dien-trans-6,12-olida</p>		<p><i>T. vulgare</i></p>	<p>15</p>
<p>Cis,cis-2α-hidroxicostunolido</p>		<p><i>T. poterifolium</i></p>	<p>54</p>
<p>Cetopelenolido</p>		<p><i>T. sinaicum</i></p>	<p>51</p>
<p>1α-hidroxi-1-desoxotamirina (1-epitatridina B)</p>		<p><i>T. polycephalum</i></p>	<p>42</p>
<p>3β-hidroxi-7α,11βH-germacran-1(10),4-dien-6α,12-olida</p>		<p><i>T. annum</i></p>	<p>56</p>

LACTONAS TIPO GUAYANOLIDAS			
NOMBRE	ESTRUCTURA	ESPECIE	REF
Tannunolido A		<i>T. annum</i>	57
Tannunolido B		<i>T. annum</i>	57
Tannunolido C		<i>T. annum</i>	57
Tannunolido D		<i>T. annum</i>	57
Tannunolido E		<i>T. annum</i>	57
8 α -acetoxi-Tannunolido E		<i>T. annum</i>	57

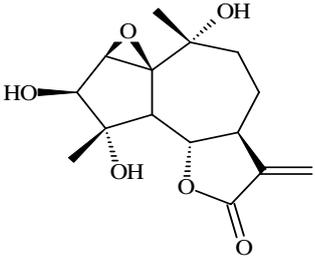
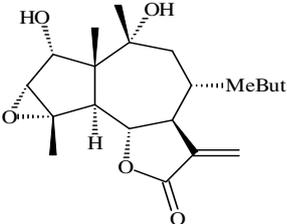
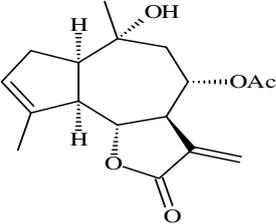
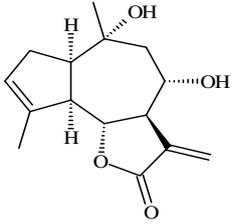
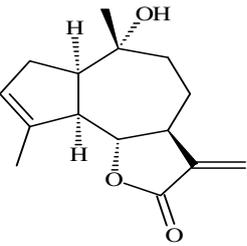
⁵⁷ Barrero, A.F., Sánchez, J.F., Molina, J., Barrón, A. and Salas, M. (1990) *Phytochemistry* **29**, 3575-3580.

8 α -acetoxi-6-epi-Tannunolido A		<i>T. annum</i>	57
Artabsina		<i>T. annum</i>	57
6-epi-tannunolido A		<i>T. annum</i>	57
6-epi-tannunolido B		<i>T. annum</i>	57
8 α -acetoxi-tannunolida A		<i>T. annum</i>	57
Desacetoximatricina		<i>T. annum</i>	57
Flabellina		<i>T. argenteum</i> <i>ssp. flabellifolium</i> <i>T. argenteum</i> <i>Ssp. canum var. canum</i>	7 10

Magnograndiolido		<i>T. argenteum</i> <i>ssp. canum var. canum</i>	10
Epoxiflabellina		<i>T. argenteum</i> <i>ssp. canum var. canum</i>	10
$\Delta^{3(4)}$ -15-oxoflabellina		<i>T. argenteum</i> <i>ssp. canum var. canum</i>	10
$\Delta^{3(4)}$ -15-hidroxi dihidro flabellina		<i>T. argenteum</i> <i>ssp. canum var. canum</i>	10
11 α -Dihidroflabellina		<i>T. argenteum</i> <i>ssp. canum var. canum</i>	10
11 β -Dihidroflabellina		<i>T. argenteum</i> <i>ssp. canum var. canum</i>	10

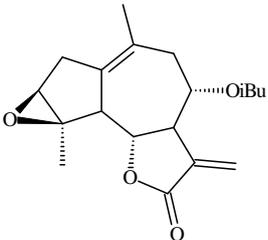
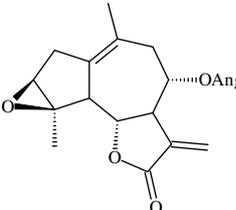
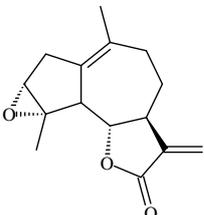
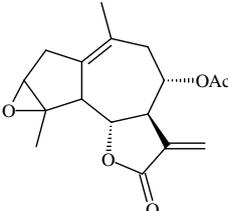
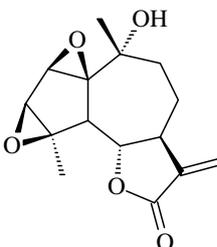
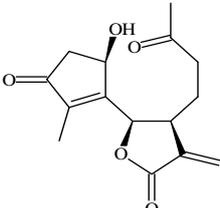
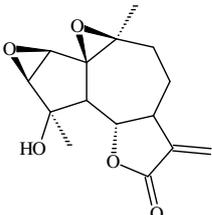
<p>Canina (Chrisartemina A)</p>		<p><i>T. cilicium</i> <i>T. macrophyllum</i> <i>T. parthenium</i></p>	<p>58 31 17,18,31</p>
<p>8α- metilbutiriloxicanina</p>		<p><i>T. cilicium</i></p>	<p>58</p>
<p>8α- isovaleriloxicanina</p>		<p><i>T. cilicium</i></p>	<p>58</p>
<p>Tanciloide</p>		<p><i>T. cilicium</i></p>	<p>58</p>
<p>Isotanciloide</p>		<p><i>T. cilicium</i></p>	<p>58</p>
<p>11,13- dehidrodesacetil matricarina</p>		<p><i>T. cilicium</i> <i>T. vulgare</i></p>	<p>58 14</p>

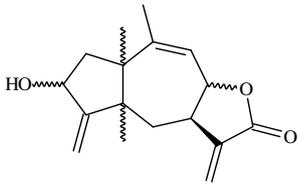
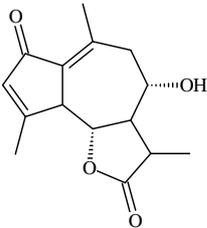
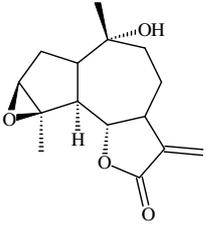
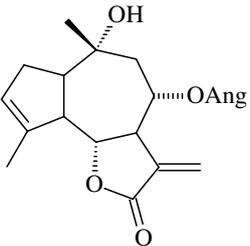
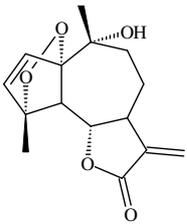
⁵⁸ Öksüz, S. (1990) *Phytochemistry* **29**, 887-890.

1 α ,2 β -epoxi- 3 β ,4 α ,10 α - trihidroxiqualan- 6 α ,12-olida		<i>T. cilicium</i>	58
8 α -metilburiloxi tanciloide		<i>T. cilicium</i>	58
Cumambrina A		<i>T. densum</i> <i>ssp. sivasicum</i> <i>T. santolina</i>	11 60
Cumambrina B		<i>T. densum</i> <i>ssp. sivasicum</i> <i>T. santolina</i>	11 60
8-deoxicumambrina B		<i>T. densum</i> <i>ssp. amani</i> <i>T. parthenium</i>	12 31

⁵⁹ Yue-Feng, Bi. L.J., She-Po Shi, X-L, S., Yuan-Yuan, C. and Yang-Bing, Z. (2010). *Helvetica Chimica Acta* **93**, 1953-1959.

⁶⁰ Yunusov, A.I., Didyakin, G.P. and Kurvanov, D. (1978) *Khim. Prir. Soedin.* **5**, 656.

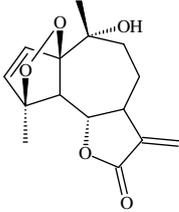
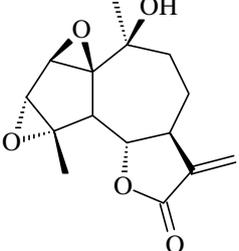
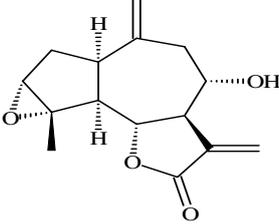
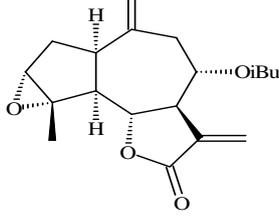
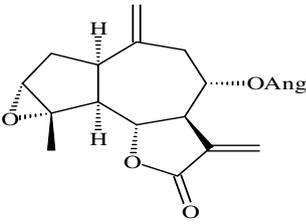
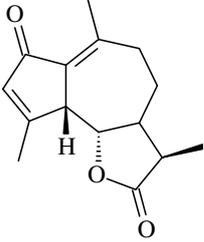
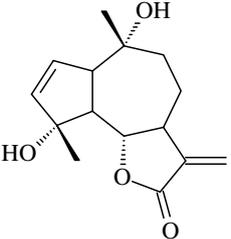
Carlaolido A		<i>T. fruticosum</i>	61
Carlaolido B		<i>T. fruticosum</i>	61,62
Ludartina		<i>T. longifolium</i>	63
Arteglasina A		<i>T. longifolium</i> <i>T. indicum</i>	63 64
Artecanina (Chrisartemina B)		<i>T. macrophyllum</i> <i>T. parthenium</i> <i>T. parthenifolium</i>	31 18,31 65
Tanafilina		<i>T. macrophyllum</i>	31
Chrisantemina A		<i>T. vulgare</i>	52

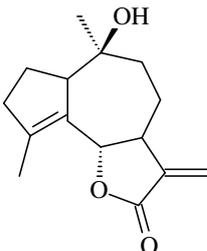
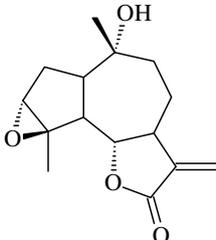
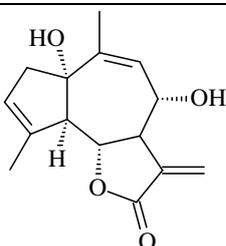
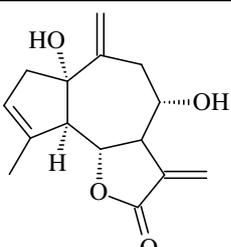
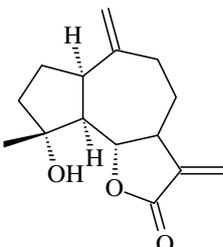
Macrotanacina		<i>T. macrophyllum</i>	31
8 α -Hidroxiachillina		<i>T. microphyllum</i> <i>T. macrophyllum</i>	31 31
3 β ,4 β -epoxi-8-deoxicumambrina B		<i>T. parthenium</i>	16,31
Angeloilcumambrina B		<i>T. indicum</i>	64
α -peróxido de Tanapartina		<i>T. parthenium</i>	18

⁶⁴ Mladenova, K., Tsankova, E. and Stoianova-Evanova, B. (1985) *Planta Medica* **51**, 284.

⁶⁵ Yunusov, A.I. and Sidyakin, G.P. (1983) *Khim. Prir. Soedin.* **19**(4), 532-533.

⁶⁶ Hussain, J., Ahmad, V.H., Hassan, Z., Khan, A. and Farroq, H. (2005) *Polish Journal of Chemistry* **79**(6), 967-971.

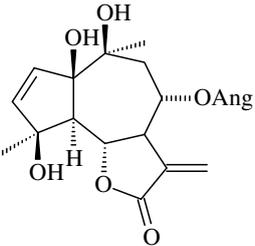
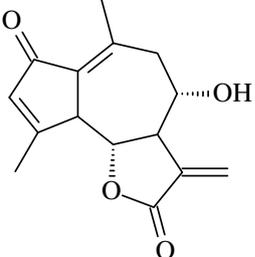
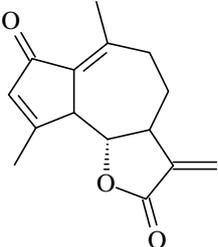
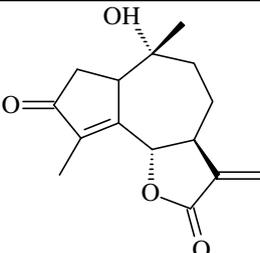
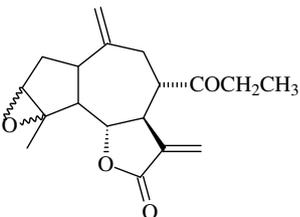
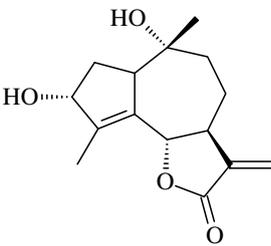
<p>β-peróxido de Tanapartina</p>		<p><i>T. parthenium</i></p>	<p>18,31</p>
<p>10-epi-canina</p>		<p><i>T. parthenium</i></p>	<p>17</p>
<p>8α-hidroxiestafiatina</p>		<p><i>T. parthenium</i></p>	<p>16,17</p>
<p>8α-isobutiriloxiestafiatina</p>		<p><i>T. parthenium</i></p>	<p>16,17</p>
<p>8α-angeloiloxiestafiatina</p>		<p><i>T. parthenium</i></p>	<p>17</p>
<p>Achillina</p>		<p><i>T. parthenium</i> <i>T. artemisioides</i></p>	<p>31 66</p>
<p>4α, 10α-dihidroxi-1,5H-guaia-2,11(13)-dien-12,6α-olida</p>		<p><i>T. parthenium</i></p>	<p>31</p>

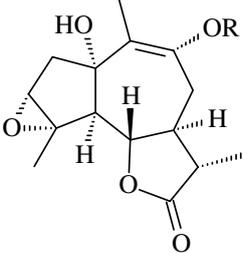
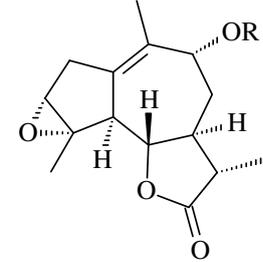
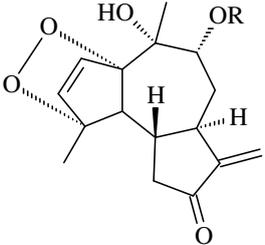
10β-hidroxicicho pumelida		<i>T. parthenium</i>	31
Piretina		<i>T. santolina</i> <i>T. parthenifolium</i>	50 65
Rupicolina A		<i>T. santolina</i>	67
Rupicolina B		<i>T. santolina</i>	67
11,13- Dehydrocompres sanolido		<i>T. parthenium</i>	36

⁶⁷ Abduazimov, B. Kh., Yunusov, A.I. and Sdyakin, G.P. (1980) *Khim. Prir. Soedin.* **5**, 633-636.

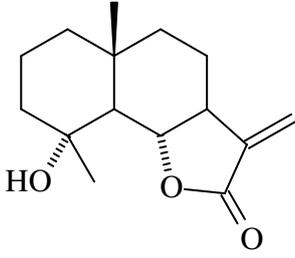
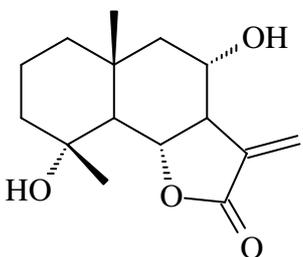
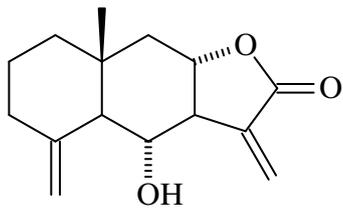
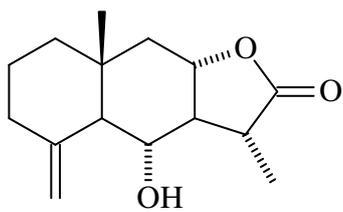
⁶⁸ Mladenova, K., Tsankova, E. and Van Hung, D. (1988) *Planta Medica* **54**(6), 553-555.

⁶⁹ Ulebelen, A., Gören, N., Jiang, T. Y., Scott, L., Tianosoa-Ramomjy, M. and Snyder, J.K. (1995). *Magnetic Resonance Chemistry* **33**, 900.

Tunefulin		<i>T. indicum var. tunefol</i>	68
2-ceto-8 α -hidroxi-5 α ,6 α -7BH-guaiian-1(10),3(4),11(13)-trien-olida		<i>T. vulgare</i>	14
Dehidroleukodin		<i>T. cilicium</i>	58
Parishin A		<i>T. densum ssp. amani</i>	69
Piretrin		<i>T. parthenifolium</i>	65
Pirethroidinina		<i>T. densum ssp. amani</i>	69

<p>Chysant heguaia nolido A</p>		<p><i>T. indicum</i></p>	<p>59</p>
<p>R=Ang Chrysant heguaia nolido B (Angeloylajadin) R=Tig 3α,6α,8α-8-tiglayl- 3,4-epoxy-guai- 1(10)-en-12,6-olida</p>		<p><i>T. indicum</i></p>	<p>59</p>
<p>R= Ac Apressina R=Ang At hanadreageolido</p>		<p><i>T. indicum</i></p>	<p>59</p>

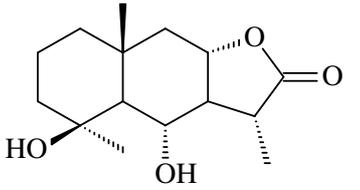
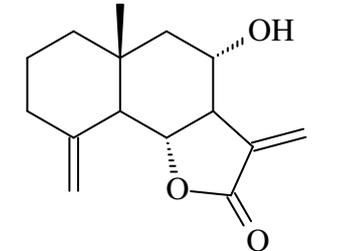
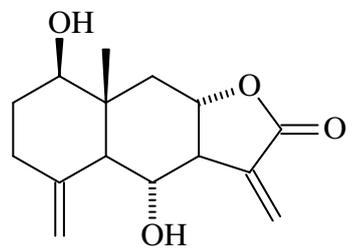
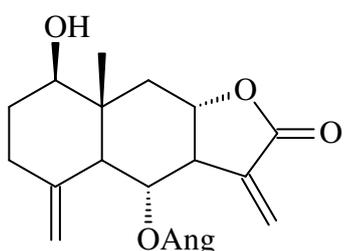
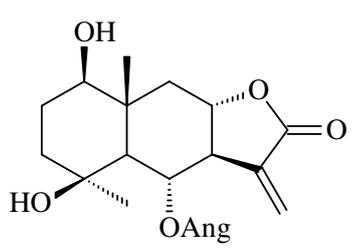
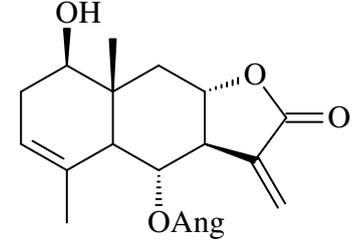
4.4. -LACTONAS SESQUITERPÉNICAS AISLADAS DE *TANACETUM* CANARIOS

LACTONA TIPO EUDESMANOLIDAS			
NOMBRE	ESTRUCTURA	ESPECIE	REF
Arbusculina A		<i>T. feralaceum</i> <i>var. ferulaceum</i>	70,71
8- α -hidroxyarbusculina A		<i>T. feralaceum</i> <i>var. ferulaceum</i>	70,72
6- α -hidroxy-5,7 α H,8 β H-eudesm-4(15)-en-8,12-olida		<i>T. feralaceum</i> <i>var. ferulaceum</i>	70,71
6- α -hidroxy-11,13-dihidro-5,7 α H,8,11 β H-eudesm-4(15)-en-8,12-olida		<i>T. feralaceum</i> <i>var. ferulaceum</i>	71

⁷⁰ González, A.G., Barrera, J.B., Méndez, J.T., Sánchez, M.L. (1990). *Phytochemistry* **29**(7), 2339-2341.

⁷¹ Triana, J., Eiroa J.L., Ortega, J.J., León, F., Brouard, I., Hernández, J.C., Estévez, F., Bermejo, J. (2010). *Phytochemistry* **71**, 627-634.

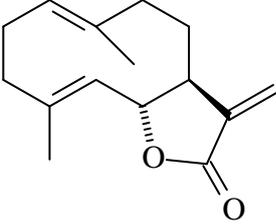
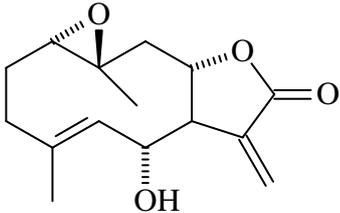
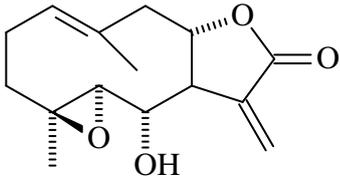
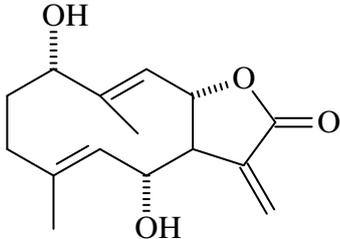
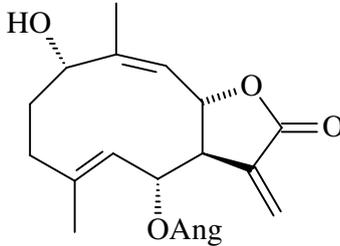
⁷² González, A.G., Bermejo, J., Triana, J., López, M., Eiroa, J.L. (1992). *Phytochemistry* **31**(5), 1821-1822.

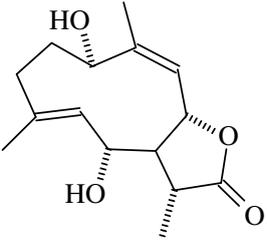
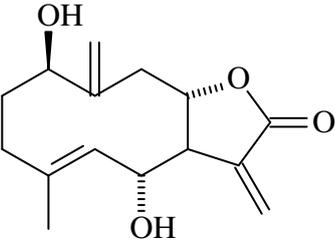
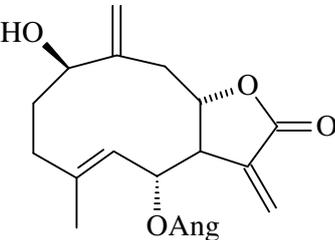
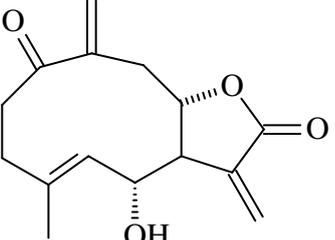
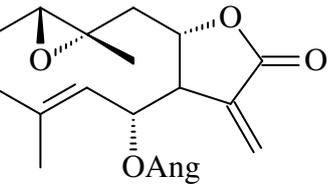
<p>4β,6α-dihidroxi- 5,7αH,8,11 eudesman-8,12-olida</p> <p style="text-align: right;">BH-</p>		<p><i>T. ferulaceum</i> <i>var. ferulaceum</i></p>	<p>70,71</p>
<p>Desacetil-β- ciclotulipinolido</p>		<p><i>T. ferulaceum</i> <i>var. ferulaceum</i></p>	<p>71,72</p>
<p>Desacetil-β- ciclopiretosina</p>		<p><i>T. ferulaceum</i> <i>var. ferulaceum</i> <i>T. oshanahanii</i></p>	<p>70,71 73</p>
<p>6-angelato desacetil-β- ciclopiretosina</p> <p style="text-align: right;">de</p>		<p><i>T. oshanahanii</i></p>	<p>73</p>
<p>Tanapsina</p>		<p><i>T. oshanahanii</i></p>	<p>73</p>
<p>6-angelato sivasinolido</p> <p style="text-align: right;">de</p>		<p><i>T. oshanahanii</i></p>	<p>73</p>

⁷³ Estudio químico de especies de Lugoa, Gonospermum y Tanacetum endémicas de Canarias.

Juan José Ortega Rodríguez. 2006. Tesis Doctoral. ISBN: 9788469096277.

<http://hdl.handle.net/10553/2284>.

LACTONA TIPO GERMACRANOLIDA			
NOMBRE	ESTRUCTURA	ESPECIE	REF
Costunolido		<i>T. ferulaceum</i> <i>var. ferulaceum</i>	70,71
1 α ,10 β -epoxydesacetyl-laurenobiolido		<i>T. ferulaceum</i> <i>var. ferulaceum</i>	70
Espiciformina		<i>T. ferulaceum</i> <i>var. ferulaceum</i> <i>T. ptarmiciflorum</i>	70,71 71,73
Tatridina A		<i>T. ferulaceum</i> <i>var. ferulaceum</i> <i>T. ptarmiciflorum</i> <i>T. oshanahanii</i>	70,71 71,73 73
6-angelato Tatridina A	de 	<i>T. oshanahanii</i>	73

(11R)-11,13-dihidro tatridina A		<i>T. ferulaceum</i> <i>var. ferulaceum</i>	70,71
Tatridina B		<i>T. ferulaceum</i> <i>var. ferulaceum</i> <i>T. ptarmiciflorum</i> <i>T. oshanahanii</i>	70,73 71,73 73
6-angelato de Tatridina B		<i>T. oshanahanii</i>	73
Tamirina		<i>T. oshanahanii</i>	73
6-angelato de 1β,10α- epoxidesacetil laurenobiolido		<i>T. oshanahanii</i>	73



5. ESTUDIO TANACETUM PTARMICIFLORUM (Webb)

Sch. Bip.

5.1.- DESCRIPCIÓN BOTÁNICA DE LA ESPECIE

Arbusto ramificado de porte pequeño, de 1-1,5 m de alto. Hojas de contorno oval-lanceolado, muy divididas, blanco-plateadas, vistosas. Inflorescencias ramificadas, atractivas, con capítulos pequeños, abundantes y flores liguladas blancas, los flósculos amarillos.

Constituye el género más problemático en términos de complejidad taxonómica, especialmente en lo concerniente a la delimitación del género, dado su gran polimorfismo, caracterizado por su considerable variación en lo concerniente a flores, morfología de inflorescencias y aquenios.

5.2.- CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

La posición taxonómica es la siguiente:

Reino: Plantas

División: Magnoliophyta

Clase: Magnolipsida

Subclase: Asteridae

Orden: Asterales Lindl., 1833

Familia: Asteraceae Dumort 1822 - Compositae (Cass)

Tribu: Anthemideae Cass.

Género: Tanacetum L.

Especie: Tanacetum ptarmiciflorum (Webb) Sch. Bip.

5.3. ESTUDIO QUÍMICO DE *TANACETUM PTARMICIFLORUM*

PARTE TEÓRICA.

Tal y como se describe en la parte experimental, la extracción de esta planta se realizó con etanol hasta agotamiento y posterior tratamiento del extracto del que obtuvimos un líquido de aspecto siruposo que por posterior cromatografía en columna dio como resultado la siguiente relación de sustancias cuyo estudio pasamos a describir, en función de sus relaciones estructurales.

FLAVONOIDES:

(Tpt-1),(Tpt-2)

CUMARINAS:

(Tpt-3),(Tpt-4)

SESQUITERPENOS:

(Tpt-17),(Tpt-19),(Tpt-26),(Tpt-27),(Tpt-28)

LACTONAS SESQUITERPÉNICAS:

(Tpt-5),(Tpt-6),(Tpt-7),(Tpt-8),(Tpt-9),(Tpt-10),(Tpt-11),(Tpt-12)

(Tpt-13),(Tpt-22),(Tpt-23),(Tpt-25),(Tpt-24)

ESTEROL:

(Tpt-16)

OTROS COMPUESTOS:

(Tpt-14),(Tpt-15) (Tpt-21)

FLAVONOIDES

Sustancia Tpt-1:

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

En su espectro de masas se registra el ion molecular a m/z 270, valor que coincide con la fórmula $C_{15}H_{10}O_5$. Su espectro U.V. presenta dos bandas de absorción a 335 y 267 nm lo que sugiere la naturaleza flavonoide de esta sustancia. La presencia de hidroxilos fenólicos en diferentes posiciones de la molécula puede establecerse estudiando el comportamiento del espectro UV metanólico al añadirle los denominados reactivos de desplazamiento.

El NaOMe es una base fuerte que ioniza los hidroxilos fenólicos presentes en la molécula y nos permite reconocer la existencia de grupos hidroxilo en 3 y 4'.

Las flavonas 4'-hidroxiladas y los flavonoles 3-O-sustituídos presentan desplazamiento batocrómico de 45-65 nm para la banda I al añadir MeONa, y la intensidad de la banda no decrece. Los flavonoles sin hidroxilo en 4', también presentan el mismo desplazamiento batocrómico de 45-65 nm, pero la intensidad de la banda se ve disminuida.

En los flavonoles 3,4'-dihidroxiados, orto-dihidroxiados y diorto-trihidroxiados, el espectro se descompone en pocos minutos después de añadir MeONa. La aparición de una banda alrededor de 330 nm (banda III) es característica de flavonas 7-hidroxiadas. (Tabla 1)

El NaOAc ioniza sólo los hidroxilados fenólicos más ácidos: 3,4' y 7. La ionización del hidroxilo en 7 afecta a la banda II y por lo tanto es un reactivo útil para determinar la presencia de dicho hidroxilo. Si al añadirlo se observa un desplazamiento batocrómico de 5-20 nm en la banda II se trata de una flavona o flavonol 7-hidroxiado. Las flavanonas 5-hidroxiadas presentan un desplazamiento batocrómico de 35 nm. Los flavonoles (sin 5-OH) presentan un desplazamiento batocrómico de 60 nm.

En caso de flavonoides (flavonas y flavonoles) orto-dihidroxiados en el anillo B (sin 3-OH ni 5-OH) al añadir el cloruro de aluminio se obtiene un

desplazamiento batocrómico de la banda I de 30-40 nm, el cual se pierde al añadir el HCl. Los orto-dihidroxisados en A (sin 3-OH ni 5-OH) muestran un desplazamiento de la misma banda de 20-25 nm, el cual se pierde también al añadir el HCl ^{74,75} .

Los resultados se presentan en la tabla siguiente:

Ensayo	Banda I	Banda II	Conclusiones
MeOH	335	267	Flavona
MeOH/ MeONa	392, 322 i	275	4' -OH
MeOH/ NaOAc	392, 330 i	275	7 -OH
MeOH/ AlCl ₃	342, 380 i	277, 300i	5- OH
MeOH/ AlCl ₃ / HCl	342, 380 i	277, 300 i	No -OH en orto

Tabla 1.- Espectro ultravioleta de la sustancia 1.

Las señales registradas en el espectro de ¹H-RMN (Fig.10) se asocian a los protones de la molécula de la manera siguiente: el singulete a δ 6,79 corresponde al protón aromático H-3; dos dobletes a δ 6,49 y 6,59 con sendas constantes de acoplamiento de 2,0 Hz pertenecen a los protones aromáticos H-6 y H-8 respectivamente; y dos dobletes, que integran a dos protones cada uno y con constantes de acoplamiento de 8,5 Hz, se asignan a los protones H-3' y H-5' ($\delta=7,92$) y H-2' y H-6' ($\delta=6,92$). Finalmente y a campo muy bajo δ 11,02 aparece el singulete correspondiente a un protón de un grupo hidroxilo.

⁷⁴ Bartolomé, E.R. (1987). *Rev. Latinoamer. Quim.* 18(1), 6-8.

⁷⁵ Heinz, K. et al. (1987). *Journal Natural Products.* 48(5), 837-840.

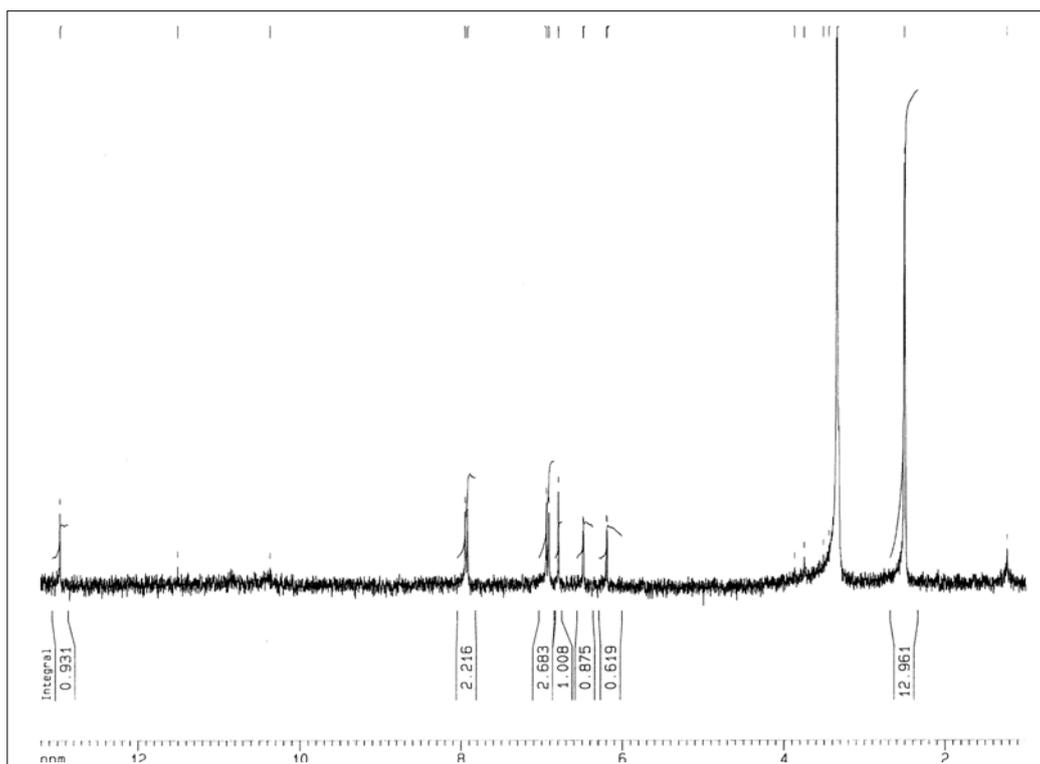
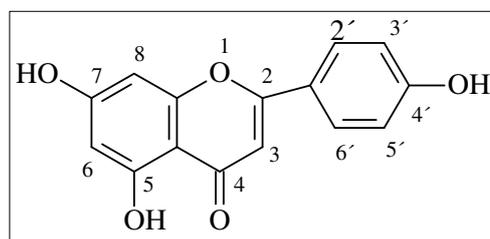


Fig. 10.- Espectro de ^1H -RMN de la sustancia **1**

De los datos anteriores deducimos que nuestra sustancia se corresponde con la estructura **5,7,4'-trihidroxiflavona**, datos que son totalmente coincidentes con los reportados por la bibliografía para la **Apigenina**⁷⁶.



1

⁷⁶ Sashida, Y., Nakata, H., Shimomura, H., Kagaya, M. (1983). *Phytochemistry*, **22**, 1219.

Sustancia Tpt-2:

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

La naturaleza flavonoide de esta sustancia se justifica por: a) los datos recogidos de la espectrometría de masas que muestran la existencia de un ion molecular a m/z 330, que corresponde a la fórmula molecular C₁₇H₁₄O₇, así como un fragmento intenso a m/z 315 [M-Me]⁺; b) el espectro de U.V presenta dos bandas de absorción a 342,5 nm (banda I) y 271.0 nm (banda II) y c) su coloración amarilla y su intensificación con NaOH. La posición de los hidroxilos fue determinada como anteriormente, recogiendo los resultados del análisis por espectroscopia de UV en la tabla siguiente:

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

Tabla 2. - Espectro ultravioleta de la sustancia 2.

El análisis del espectro de ¹H-RMN (Fig. 11) confirma la presencia de cuatro protones en un anillo aromático como dos dobletes a δ 6,92 (J=9,0) y 7.90 (J=9,0), además de un quinto como singulete a δ 6,49 situado en C-8. Los tres

singuletes restantes se asignan a dos grupos metoxilos a δ 3,73 y 3,76 y al hidroxilo en C-5 (δ 12,74).

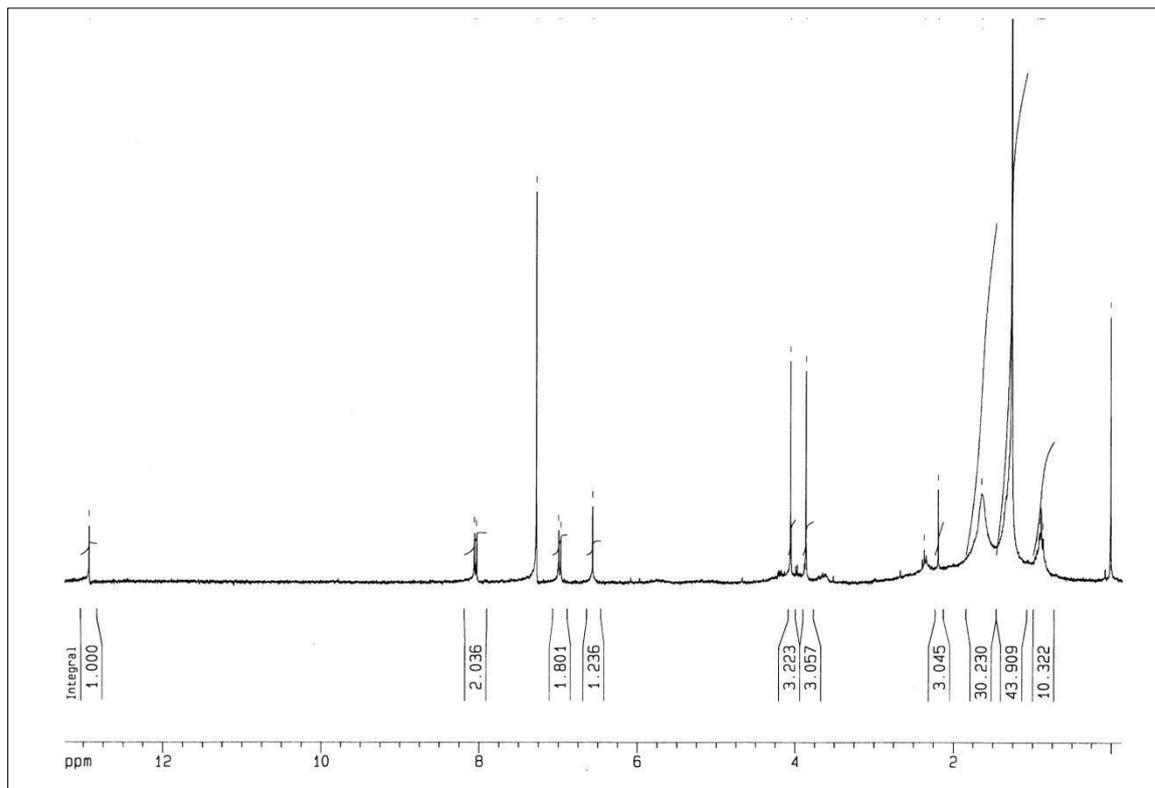
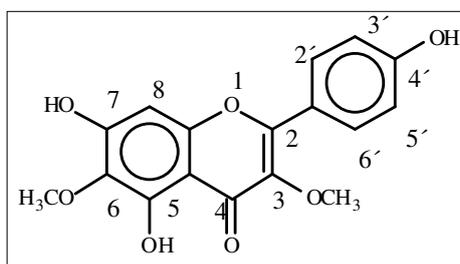


Fig. 11.- Espectro de ^1H -RMN de la sustancia **Tpt-2**

La estructura propuesta para esta sustancia es la **2** cuyos datos físicos y espectroscópicos coinciden con los descritos en la bibliografía para la sustancia **5,7,4'-trihidroxi-3,6-dimetoxiflavona**⁷⁷.



2

⁷⁷ Rosler, H., Star, A. E., Mabry, T. J. (1971). *Phytochemistry*, **10**, 450

CUMARINAS

Sustancia Tpt-3:

Sólido cristalino de punto de fusión 203-204°C separado en la fracción V de la cromatografía general y que presenta en cromatografía en capa fina una fluorescencia azul a la luz ultravioleta, lo que nos propone para esta estructura su naturaleza cumarínica.

El ion molecular que presenta la espectrometría de masas a m/z 192 corresponde con la fórmula molecular $C_{10}H_8O_4$; también se detecta un fragmento intenso a m/z 177 $[M-Me]^+$. El espectro IR presenta las bandas de absorción de grupos hidroxilos (3507 cm^{-1}) y del grupo cumarínico (1705 y 1620 cm^{-1}).

El espectro de $^1\text{H-RMN}$ (Fig. 12) presenta las siguientes señales: a δ 3,95 un singlete correspondiente a un metoxilo aromático; dos dobletes a δ 6,27 y 7,59 con una constante de acoplamiento para ambos de 9,5 típicos de los protones α y β cumarínicos y dos singletes correspondientes a sendos protones aromáticos H-5 y H-8 a δ 6,92 y 6,85 respectivamente.

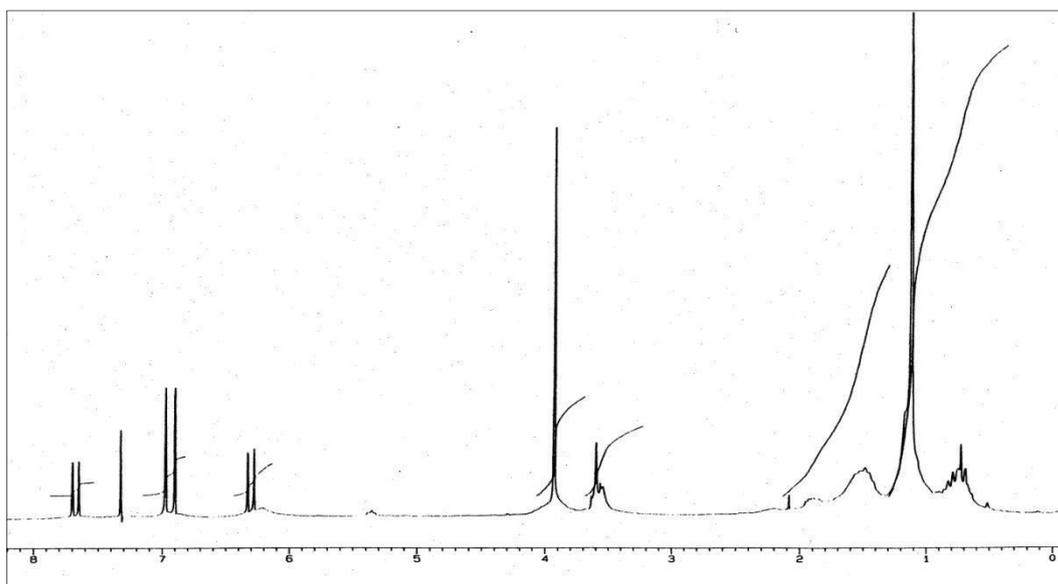
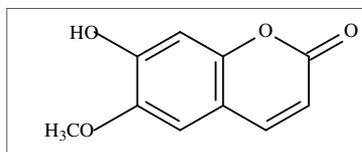


Fig. 12 .- Espectro de $^1\text{H-RMN}$ de la sustancia **Tpt-3**.

Analizados los datos físicos y espectroscópicos de la sustancia **3** proponemos para la misma la estructura **3**. Sus datos son totalmente coincidentes con los encontrados en la bibliografía para la **Escopoletina**⁷⁸.



3

Sustancia Tpt-4:

Esta sustancia se obtuvo de la fracción V de la cromatografía general como un sólido cristalino de punto de fusión 144-146 °C. Presenta una fluorescencia azul cuando es expuesta a la luz ultravioleta lo que sugiere que puede tener naturaleza cumarínica. Analizando su espectro de masas se observa el ión molecular $[M^+]$ a m/z 206 que concuerda con la fórmula molecular $C_{11}H_{10}O_4$ y el espectro IR muestra bandas de absorción típicas del grupo cumarínico (1725 y 1620 cm^{-1}). Esto se confirma mediante el espectro de 1H -RMN (Fig. 13) que da las señales siguientes: dos singuletes a δ 3,92 y 3,95 correspondientes a dos grupos metoxilos; un singulete a δ 6,85 que asignamos a los protones H-5 y H-8; un doblete a δ 6,29 ($J=9,4$) perteneciente a H-3 y otro doblete a δ 7,62 ($J=9,4$) de H-4.

⁷⁸ Murray, R.H.D., Méndez, J., Brown, S.S.(1982). The Natural Coumarins. John Wiley, Chichester, UK.

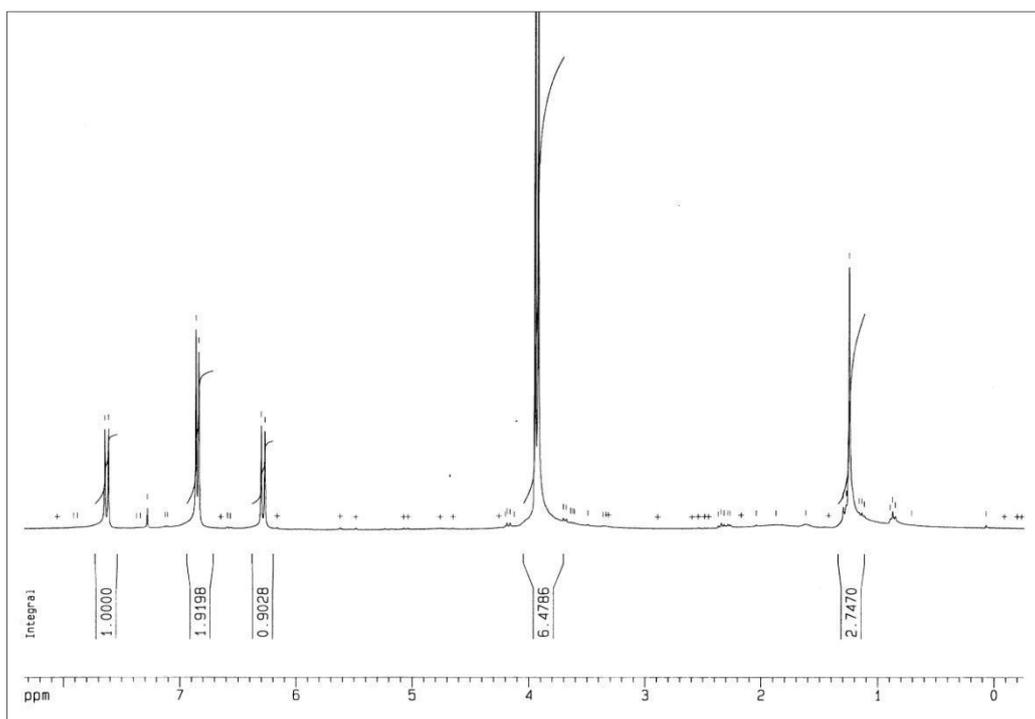
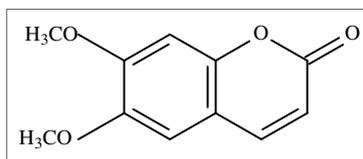


Fig. 13.- Espectro de ¹H-RMN de la sustancia **Tpt-4**.

Los datos físicos y espectroscópicos así como la comparación directa con una muestra auténtica en cromatografía en capa fina nos indicó que nuestra sustancia se corresponde con la **Escoparona**⁷⁸.



4

SESQUITERPENOS

Sustancia Tpt-17:

Se obtuvo a partir de la fracción V de la cromatografía general como un aceite. En su espectro de IR se aprecia una banda de absorción a 3391 cm^{-1} característica de grupo hidroxilo. De la misma manera, en el espectro de masas destaca un pico de ión molecular a m/z 254 que se corresponde con una fórmula $C_{15}H_{24}O_3$ y otro pico relativamente menos intenso a m/z 218, muy indicativo de la pérdida de dos molécula de agua, de lo que deducimos su naturaleza sesquiterpénica.

En su espectro de $^1\text{H-RMN}$ (fig. 14), se observan las señales características típicas de un sesquiterpeno lineal tipo nerolidol. Las señales a δ 5,37 y 5,17 ambas como un doble doblete con ($J=17,4$ y $1,0$) y ($J= 10,6$ y $1,0$) integradas por un protón cada una de ellas y que corresponden a hidrógenos vinílicos que genera un sistema ABX donde el protón A es una señal a δ 5.93, mientras que B ($H-1,1'$) aparecen como dos señales a δ 5,17 y 5,37, indicando la multiplicidad de H-2 que dicho grupo está enlazado a un carbono tetrasustituido con la posición 1 y 1; en posición 2 aparece en el espectro como doble doblete con $J= 17,2$ y $10,6$, integrado por un protón vinílico. A δ 1,75 y 1,57 ambos integrados por un protón cada uno, se observan dos multipletes que corresponden con los hidrógenos en posición 4. En C-5 y a δ 4,67 y en C-9 a δ 4,47 dos multipletes integrado por un protón geminal al grupo hidroxilo; en el C-6 como doblete a δ 5,21 con $J=14.4$, y en el C-10 a δ 5,32 integrado ambos por un protón vinílico. En C-8, dos señales a δ 2,15 y 1,85, ambos como multipletes integrados por un protón cada uno en α a un grupo metileno. Los dos metilos sobre el C-11, aparece una señal a δ 1,69 y como singulete que corresponde a 6 protones y a δ 1,28 otras señal como singulete que corresponde al metilo en posición 3.

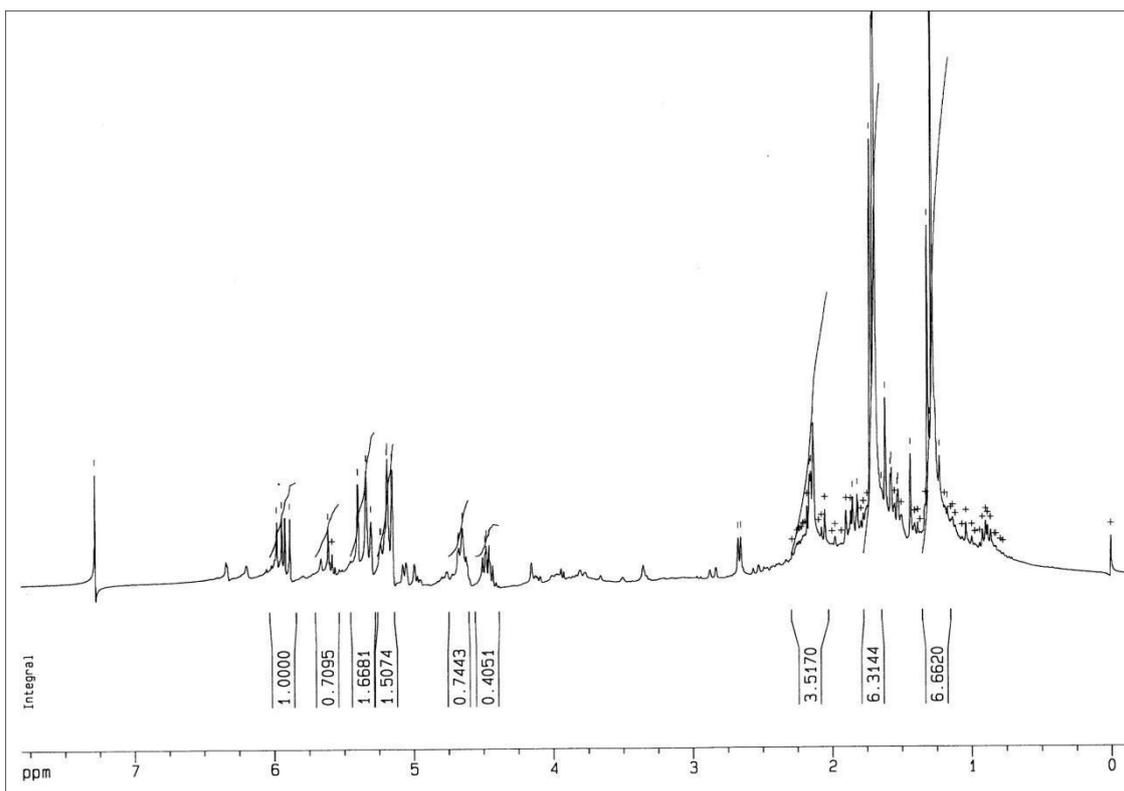
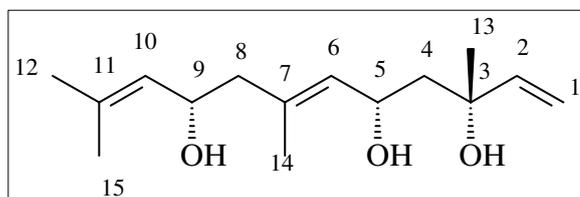


Fig. 14.- Espectro de ^1H -RMN de la sustancia **Tpt-17**

Proponemos para nuestra sustancia la correspondiente a **17**, cuyos datos físicos y espectroscópicos coinciden con los que la bibliografía aporta para **(6E),5,9-dihidroxinerolidol**⁷⁹.



17

⁷⁹ De Pascual Teresa, J., Bellido, I.S., González, M.S. and Vicente, S. (1986). *Phytochemistry*, **25**(1),185-190.

Sustancia Tpt-19:

Esta sustancia fue aislada de la fracción V de la cromatografía general como un aceite incoloro. Sus datos espectroscópicos nos sugieren la estructura sesquiterpénica con masa molecular de 254,1781 proponiendo una fórmula molecular de $C_{15}H_{26}O_3$.

Su espectro IR muestra bandas de absorción de grupos hidroxilo (3400 cm^{-1}) y dobles enlaces (1450 cm^{-1}).

En su espectro de $^1\text{H-RMN}$ (fig. 15) muestra señales más importantes en δ 5,31 en el C-1 un doblete doblete integrado por un hidrógeno ($J= 1,5$ y $17,2$); en δ 5,11 un doblete doblete con ($J=1,5$ y $10,7$) integrado por un protón en el C-1. En δ 5,87 presenta un doblete doblete ($J=10,7$ y $17,2$) señal integrada por un protón en posición 2. Señales a δ 1,49 ($J= 2,1$ y $14,6$) y δ 1,77 ($J= 3,8$ y $10,7$) dos dobles dobletes integrada cada señal por un protón cada una de ellas correspondientes al C-4. A δ 4,57 presenta un multiplete integrado por un protón que corresponde al C-5 sobre grupo hidroxilo. En δ 5,15 un doblete doblete con ($J= 1,2$ y $8,5$), señal integrada por un protón correspondiente al hidrógeno en C-6 insaturado. A δ 2,60 presenta un doblete ($J= 6,3$) integrado por dos protones. A δ 5,53 presenta un doblete doblete ($J= 6,2$ y $15,5$) integrado por un protón en carbono insaturado C-9, al igual que el correspondiente al C-10 a δ 5,57 ($J=15,5$) como un doblete integrado por un protón. A δ 1,24 un singlete, a δ 1,21 un singlete, a δ 1,55 un doblete ($J=1,2$) y a δ 1,24 un singlete todos ellos integrados por tres protones cada uno de ellos, que corresponden a metilos situados en los C-12, 13, 14 y 15.

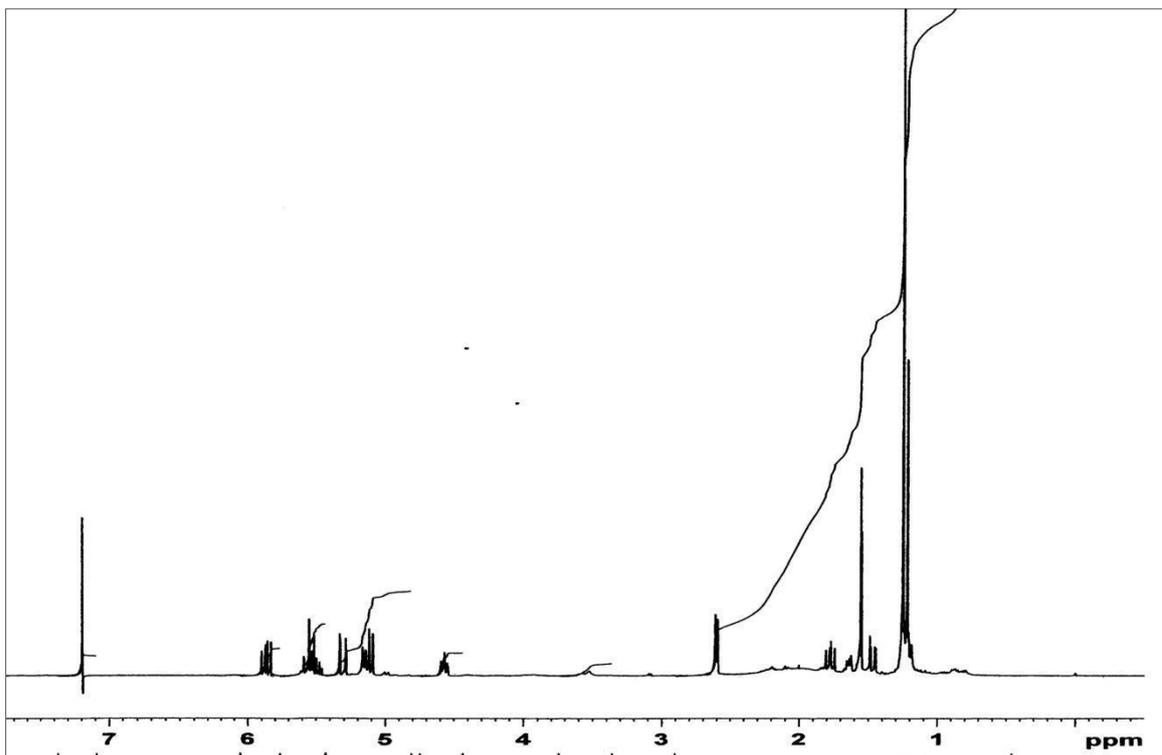
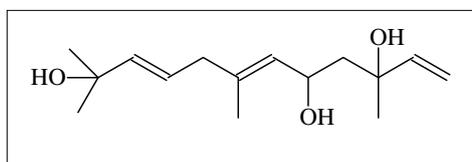


Fig. 15.- Espectro de ^1H -RMN de la sustancia **Tpt-19**

De los datos anteriores concluimos que la sustancia **19** corresponde con **(E,E)-3,7,11-trimetil-1,6,9-dodecatrien-3,5,11-triol**⁸⁰, siendo totalmente coincidentes con los descritos en la bibliografía, por lo que proponemos como estructura para la sustancia **19** la siguiente:



19

⁸⁰ Appendino, G., Gariboldi, P., Menichini, F. (1985). *Phytochemistry*, **24**(8), 1729-1733.

Sustancia Tpt-26:

Se obtuvo de la fracción IV de la columna general. Su espectro de masas muestra un ion molecular de m/z 254 que coincide con la fórmula molecular de $C_{15}H_{26}O_3$. Su espectro de IR nos muestra señales más destacadas a 3384 cm^{-1} típicas de un grupo hidroxilo así como señales a 1658 cm^{-1} correspondientes a dobles enlaces.

En su espectro de $^1\text{H-RMN}$ (fig 16), se observan las señales de un sistema ABX correspondientes a un grupo vinilocon un doble doblete a δ 5.91 ($J= 10.6$ y 17.2) y dos dobletes a δ 5.20 ($J=17.3$) y 5.05 ($J=10.7$), así como dos señales que integran cada protón a δ 5.63 y 5.60 que se asignan a protones sobre un grupo hidroxilo. Los datos del $^{13}\text{C-RMN}$ y del HMBC nos revelan la presencia de un grupo hidroxilo sobre el carbono C-11. Los cuatro grupos metilo se observan con singuletes a δ 1,31, 1,30, 1,29 y 1,29 ppm.

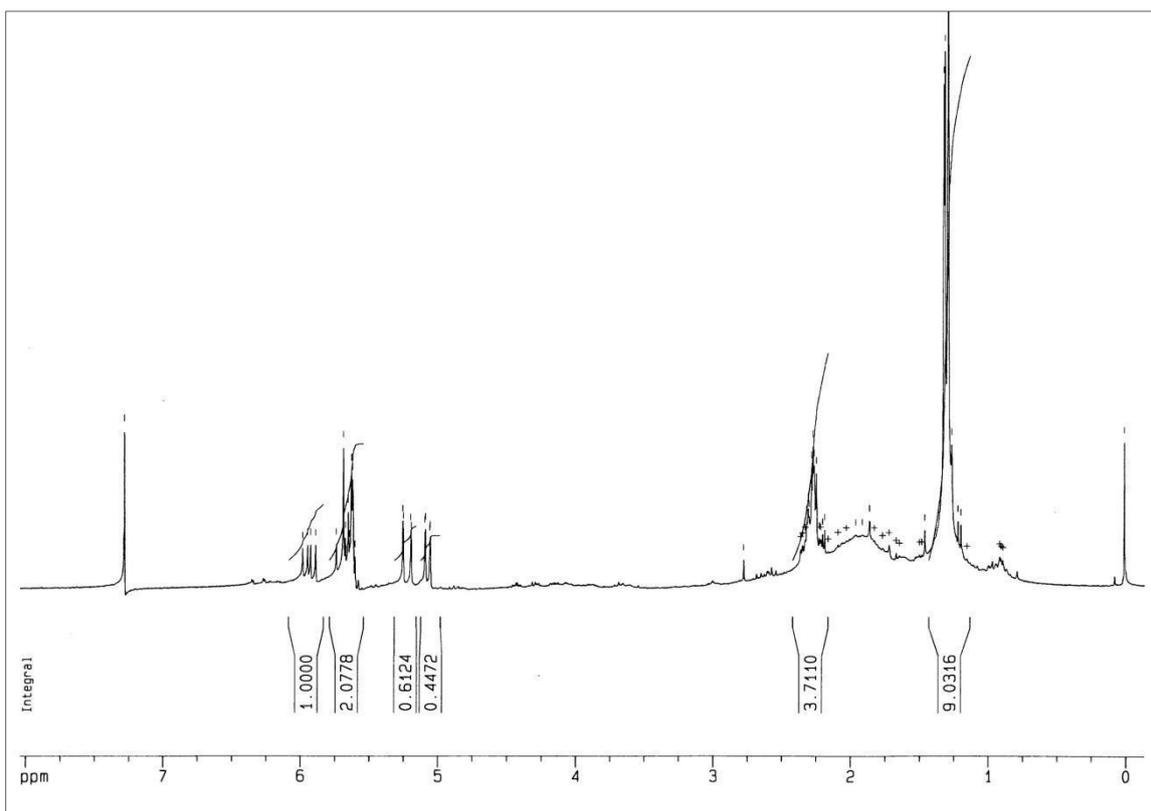
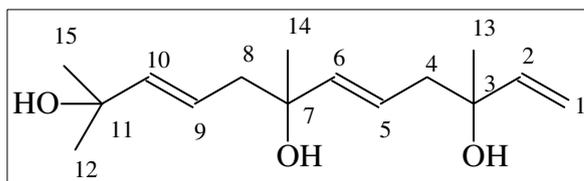


Fig. 16.- Espectro de $^1\text{H-RMN}$ de la sustancia **Tpt-26**

Con los datos espectroscópicos analizados proponemos la estructura **26**, **3,7,11-trimetil-1,5,9-dodecatrien-3,7,11-triol**. Realizada la revisión correspondiente, no la hemos encontrado descrita en la bibliografía consultada.



26

Sustancia Tpt-27:

Se obtuvo a partir de la fracción IV de la cromatografía general como un aceite incoloro. Los resultados de la espectrometría de masas indican una masa molecular de 282, que coincide con una fórmula de $C_{17}H_{30}O_3$. En el espectro de IR destacan las señales de grupo hidroxilo a (3427 cm^{-1}) y dobles enlaces (1660 cm^{-1}). El espectro de $^1\text{H-RMN}$ (fig. 17) con señales similares a las indicadas en el **Tpt-26** (fig.16), diferenciándose en el doble enlace entre los C-5 y C-6 le asignamos la señal a 5,52 como singlete ancho y un doblete a 5,52, al igual que la señal sobre los carbonos C-9 y C-10; podemos asignar las señales a δ 1,27, 1,22, 1,29, 1,27 que aparecen como singletes integrados por tres hidrógenos cada señal a tres grupos metilos; el grupo etoxi observamos un cuadruplete integrado por dos protones a δ 3,34 ($J=6,9$) y un triple a δ 1,15 ($J=6,9$) correspondiente a un metilo terminal.

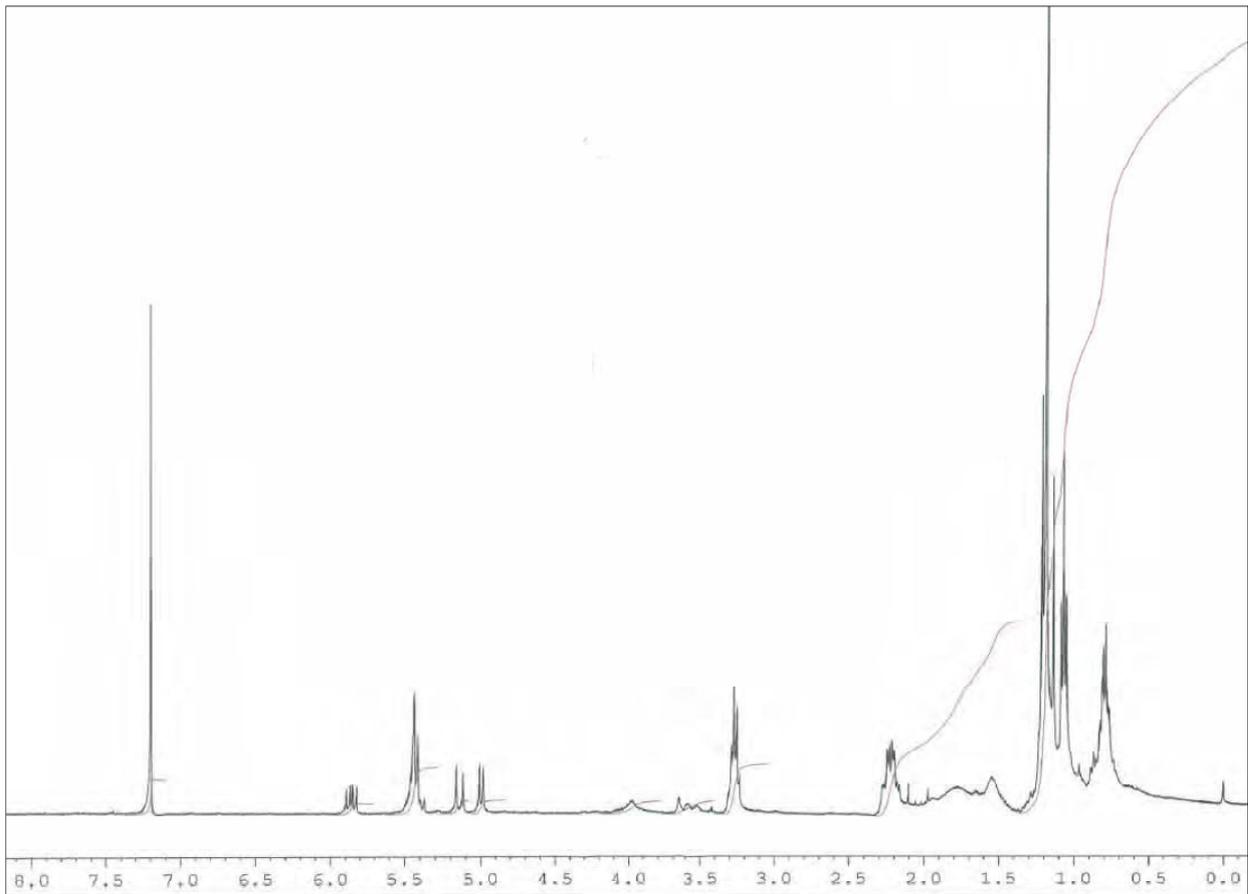
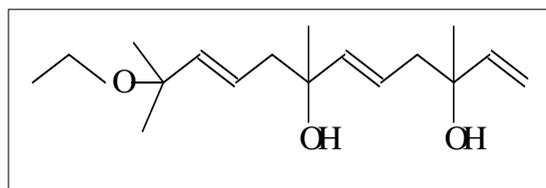


Fig. 17.- Espectro de ^1H -RMN de la sustancia **Tpt-27**

A partir de los datos espectroscópicos proponemos la siguiente estructura de la sustancia **27**, que nombramos como **11-etoxi-3,7,11-trimetil-1,5,9-dodecatrien-3,7-diol**, la cual no hemos encontrado descrita en la bibliografía consultada.



27

Sustancia Tpt-28:

Se obtuvo a partir de la fracción IV de la cromatografía general. Su espectro de masas nos indica un pico 281. En el espectro IR se observan señales destacadas a 3381 cm^{-1} de grupos hidroxilo y las propias de dobles enlaces a 1676 cm^{-1} .

En el espectro de $^1\text{H-RMN}$ (fig. 18) se observan señales a δ 5,39 ($J= 17,2$ y $1,5$) y $5,18$ ($J= 10,6$ y $1,5$) como doblete doblete integrada cada señal por un protón y que corresponden a hidrógenos situados en el C-1 y C-1' sobre un doble enlace; en el carbono C-2 podemos asignar una señal a δ 5,95 ($J=17,2$ y $10,6$) como doblete doblete integrado por un protón y que correspondería al hidrógeno situado en el C-2 sobre doble enlace; sobre el C-4 asignaríamos dos señales doble doblete a δ 1,54 ($J= 14,6$ y $2,1$) y $1,82$ ($J=10,7$ y $3,8$) integrado por dos protones; a δ 4,65 un ddd ($J= 10,6$ $4,2$ y $2,0$) correspondientes a un protón en el C-5; a δ 5,24 ($J= 8,4$ y $1,2$) aparece como doble doblete, integrado por un protón y que correspondería al citado en el C-6; el doblete a δ 2,70 que aparece como un doblete integrado por dos protones lo asignamos al C-8; a δ 3,34 un cuadruplete ($J=7,0$) integrado por dos protones junto con la señal a δ 1,16 como triplete integrado por tres protones lo asignamos al grupo etoxi sobre el C-11.

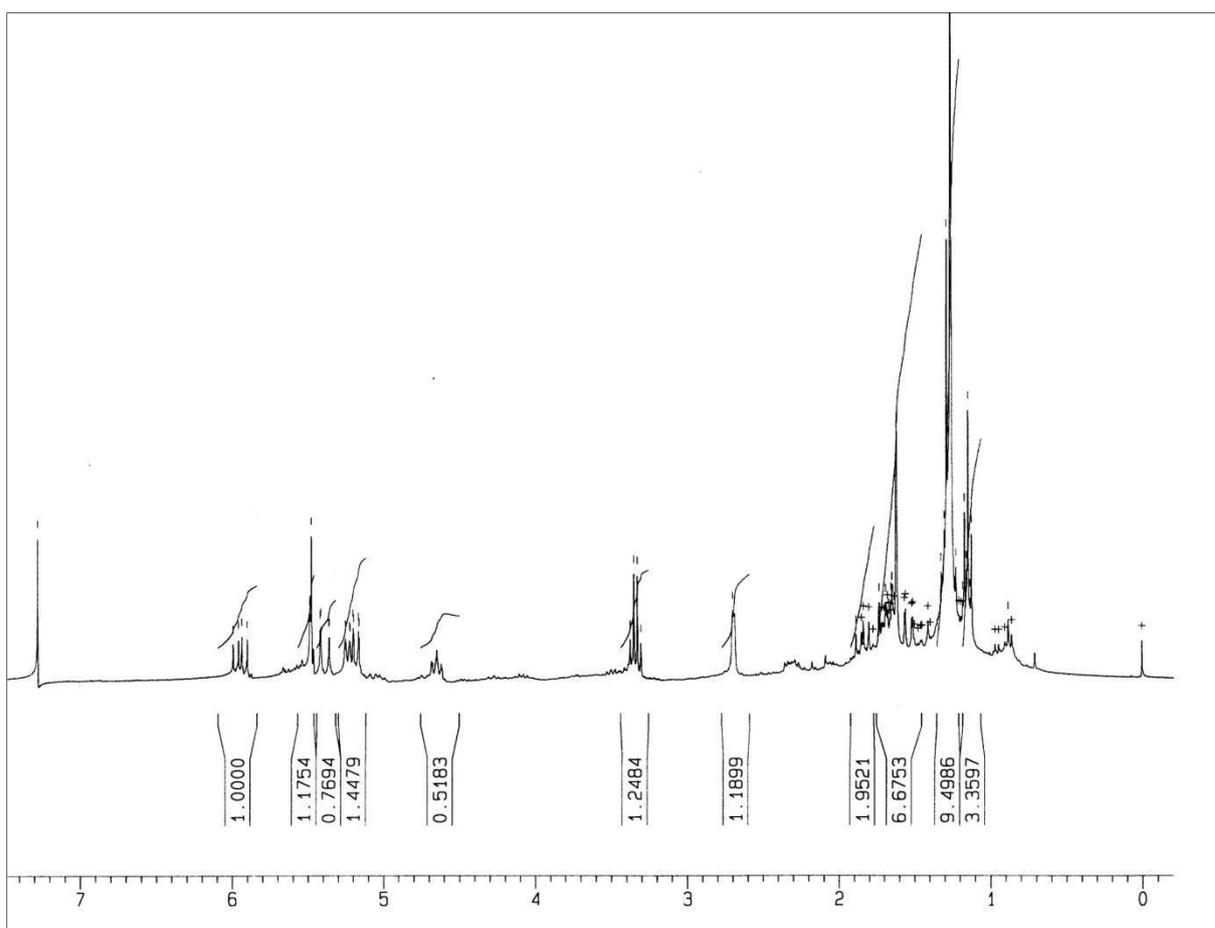


Fig. 18.- Espectro de ^1H -RMN de la sustancia **Tpt-28**

Se realizó la acetilación de este producto, obteniendo el derivado acetilado **28a**, mostrando el espectro ^1H -RMN (Fig. 19) el desplazamiento más característico del protón en C-5 a δ 5,65 como un multiplete, integrado por un protón.

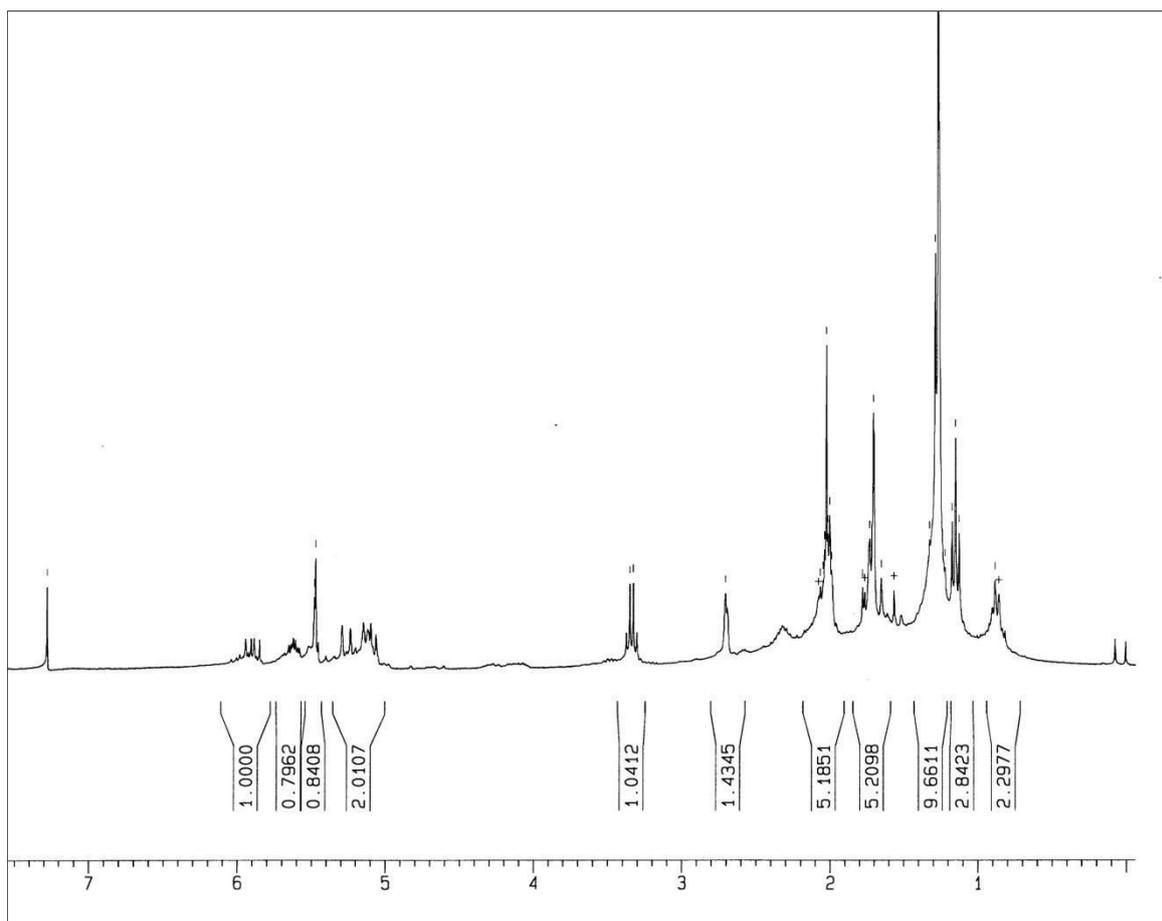
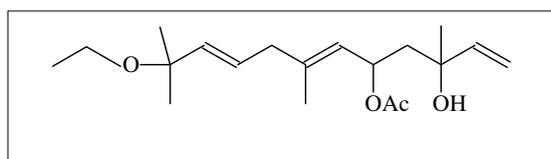


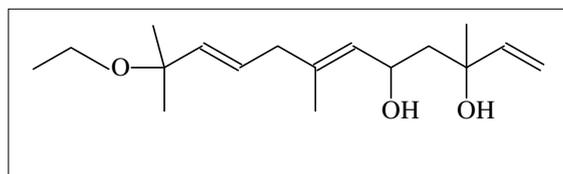
Fig. 19.- Espectro de ^1H -RMN de la sustancia **Tpt-28a**

Por todo lo cual proponemos como estructura la siguiente.



28a

De acuerdo a lo anterior, proponemos para la sustancia **28** la estructura **11-etoxi-3,7,11-trimetil-1,6,9-dodecatrien-3,5-diol**, la cual no hemos encontrado descrita en la bibliografía consultada.



28

Aun cuando los compuestos (6E),5,9-dihydroxinerolidol y (E,E)-3,7,11-trimetil-1,6,9-dodecatrien-3,5,11-triol pueden interconvertirse, bien en la planta o durante su aislamiento, si podemos considerar a **28** como un artefacto generado presumiblemente a partir de (6E),5,9-dihydroxinerolidol a través de un reagrupamiento alílico en la extracción de la planta con etanol, como ya se ha planteado en derivados del nerolidol similares^{81,82}.

⁸¹ Stoessl, A., Stothers, J.B., Ward, E.W.B., (1975). *Can. J. Chem*, 53, 3351-3358.

⁸² Grande, M., Bellido, I.S., (1992). *Journal of Natural Products*, **55**,1074-1079

LACTONAS SESQUITERPÉNICAS

Sustancia Tpt-5:

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

El espectro de $^1\text{H-RMN}$ (Fig. 20) muestra las siguientes señales: dos típicos dobletes del agrupamiento α -metileno- γ -lactona a δ 6,29 ($J=3,0$ Hz) y 6,19 ($J=3,0$ Hz); dos protones vinílicos como dobletes a δ 5,31 ($J=10,2$ Hz), asignado al protón en C-9, y δ 4,98 ($J=10,5$ Hz) para el situado en C-5; un doblete a δ 4,38 ($J= 5.0$ Hz y 4,9 Hz) y un doblete a δ 4,50 ($J=10,5$ Hz) correspondientes a dos protones geminales a grupos hidroxílicos en C-1 y C-6 respectivamente, y dos metilos vinílicos representados por dos singuletes a δ 1,77 y 1,81.

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

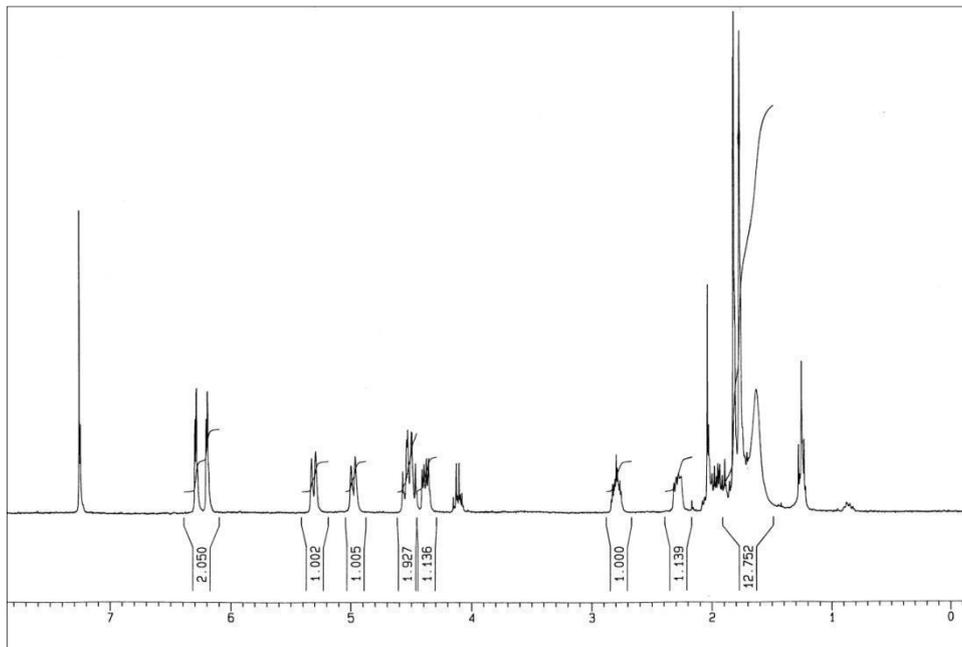
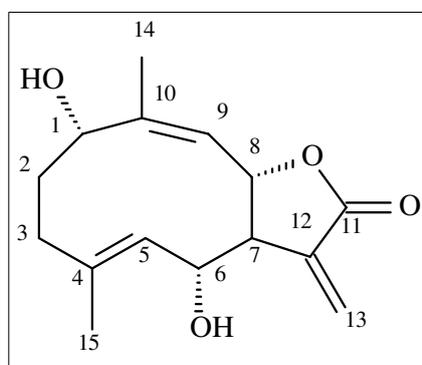


Fig. 20.- Espectro de ^1H -RMN de la sustancia **Tpt-5**.

Una vez analizados los datos físicos y espectroscópicos vemos que coinciden con los que la bibliografía da para la **Tatridina A**⁸³.



5

⁸³ Ognyanov, I. Todorova, M. (1983). *Planta Médica*, **48**, 181.

Sustancia Tpt-6:

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

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

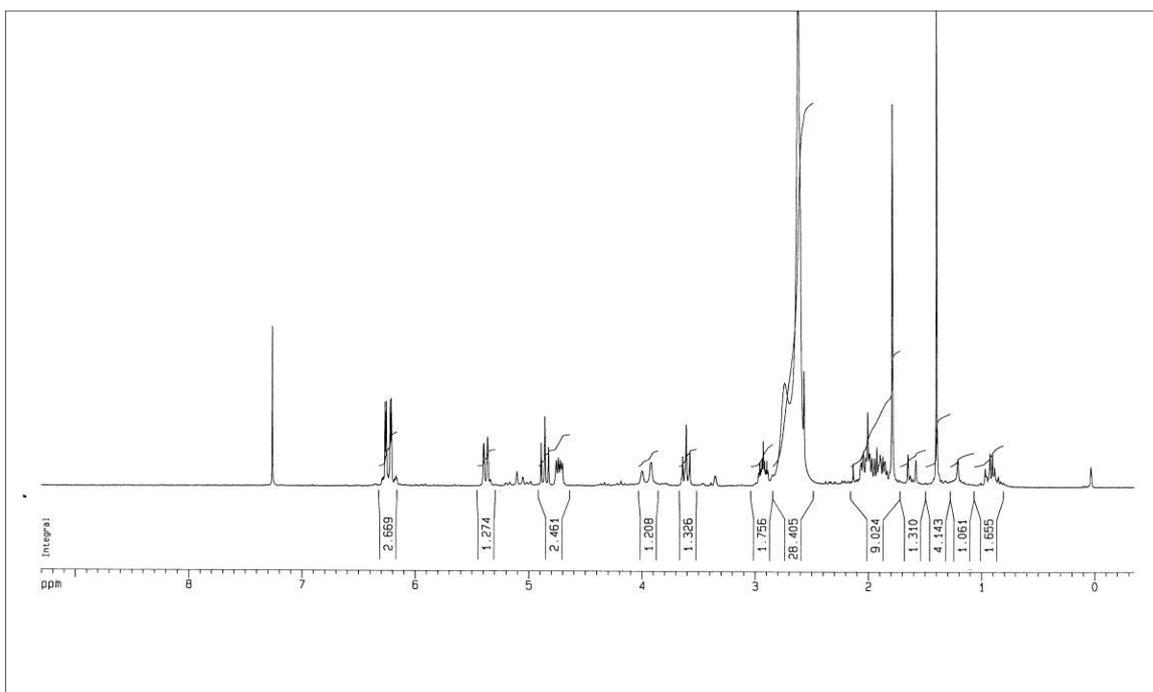


Fig. 21.- Espectro de ^1H -RMN de la sustancia **Tpt-6**

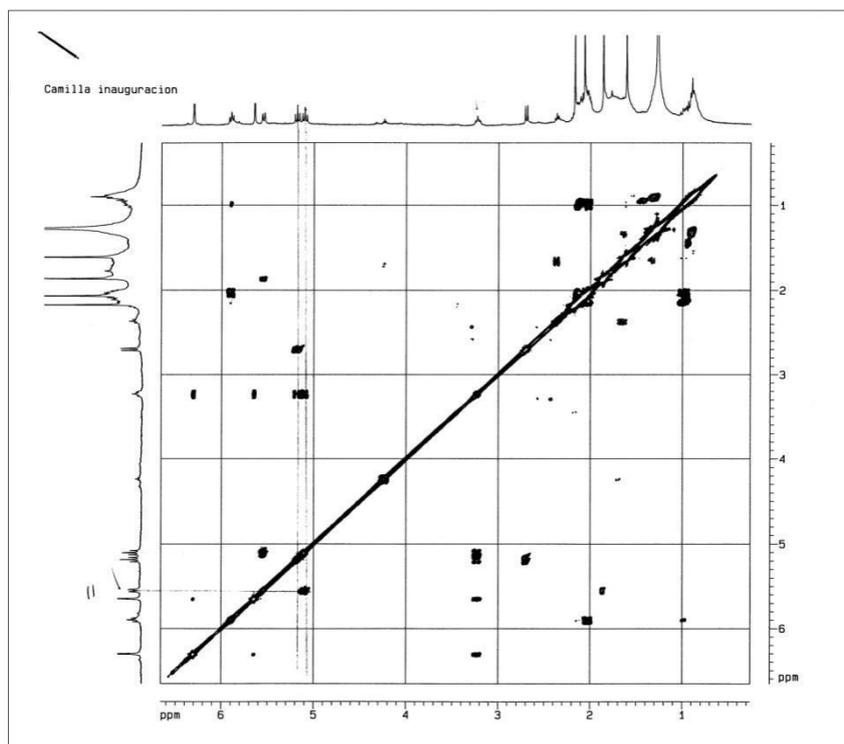
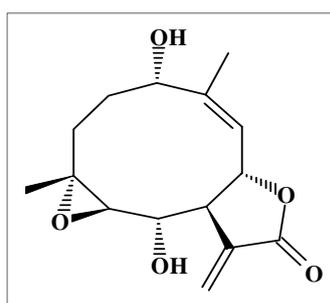


Fig. 22.- Espectro de COSY de la sustancia **Tpt-6**

Comparados los datos físicos y espectroscópicos con los reportados por la bibliografía para **4 α ,5 β -Epóxido de tatrídina A**⁸⁴ vemos que son totalmente coincidentes, por lo que proponemos para esta sustancia la estructura **6**.



6

⁸⁴ Rustaiyan, A., Zare, K., Habibi, Z., Hashemi, M. (1990) *Phytochemistry*, **29**, 3022-3023.

Sustancia Tpt-7:

Se obtuvo como un sólido amorfo a partir de la fracción IV, no consiguiéndose su cristalización en ninguno de los disolventes ensayados.

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

El espectro de $^1\text{H-RMN}$ (Fig.23) para esta sustancia da las siguientes señales: dos dobletes a δ 6,20 ($J=2,4\text{ Hz}$) y 6,35 ($J=2,7\text{ Hz}$) característicos de una α -metileno- γ -lactona; dos singuletes a δ 5,11 y 5,13 correspondientes a un metileno exocíclico aislado; doblete a δ 5,03 ($J=10,0\text{ Hz}$) típico de un protón vinílico; otro doblete a δ 4,27 ($J=10,0\text{ Hz}$) que asociamos al protón geminal al grupo hidroxilo presente en C-6; doblete a δ 3,84 ($J=4,5; 10,1\text{ Hz}$) del protón presente en C-1 (geminal a otro hidroxilo) y multiplete a δ 3,97 asignable al protón geminal al oxígeno lactónico. Finalmente, en la región de los metilos, un singulete a δ 1,70 (que integra para tres protones), lo asignamos a un metilo vinílico.

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

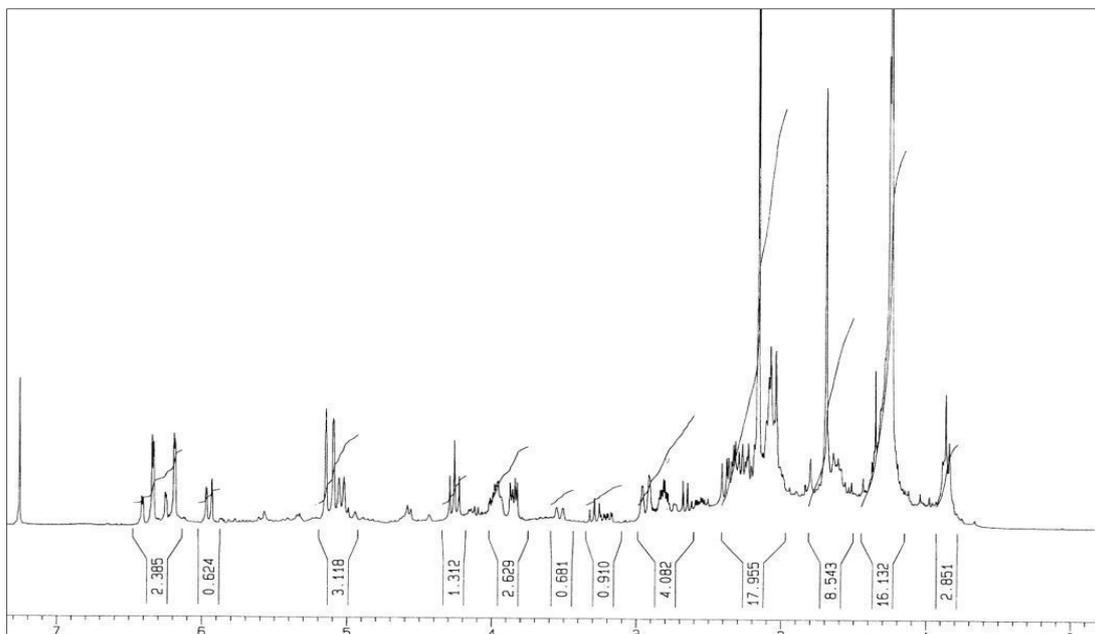
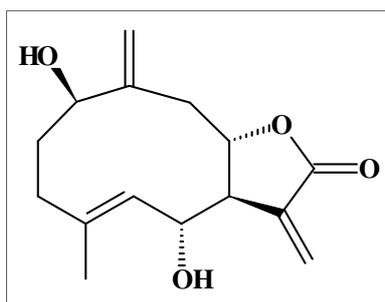


Fig. 23.- Espectro de ^1H -RMN de la sustancia **Tpt-7**.

Comparados los datos físicos y espectroscópicos con los aportados en la bibliografía comprobamos que concuerdan perfectamente con los de la **Tatridina B**⁸³, por lo que proponemos la siguiente estructura para la sustancia **7**.



7

Sustancia Tpt-8:

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

El espectro de $^1\text{H-RMN}$ (Fig. 24) muestra las señales correspondientes a los protones de un agrupamiento α -metileno- γ -lactona como dos dobletes a δ 6,17 ($J=2,9\text{ Hz}$) y 5,97 ($J=2,4\text{ Hz}$); dos singuletes anchos en δ 4,19 y 5,08 típicos de un metileno exocíclico aislado; un triplete a δ 4,12 ($J=10,0\text{ Hz}$) y un doble doblete a δ 3,57 ($J=4,7\text{ Hz}$ y $11,4\text{ Hz}$) asignados a dos protones geminales a grupos hidroxilo y un triple doblete a δ 3,99 ($J=3,5\text{ Hz}$, $11,5\text{ Hz}$ y 12 Hz) correspondiente al protón de cierre de la lactona. En la región de los metilos aparece un singulete a δ 0,82. La posición y constante de acoplamiento de las señales de los protones de cierre de la lactona y geminales a grupo hidroxilo nos llevan a proponer una estructura de γ -lactona cerrada en C-8 y los grupos hidroxilos en posición β en C-1 y α en C-6.

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

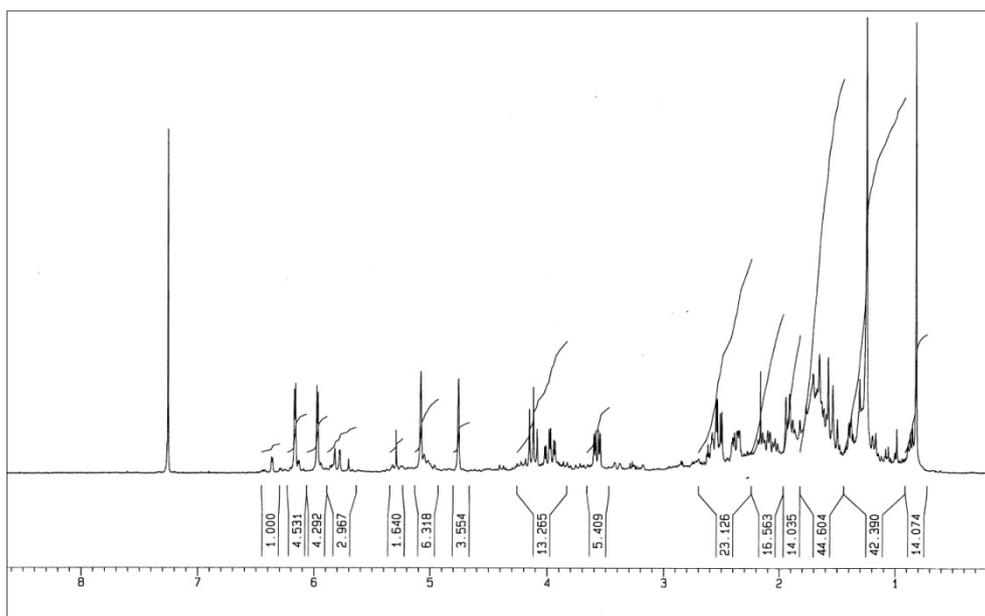
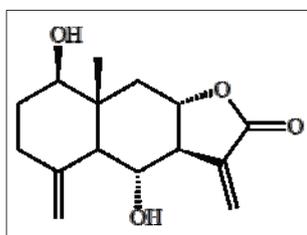


Fig. 24.- Espectro de ^1H -RMN de la sustancia **Tpt-8**.

Con todos estos datos se propone la estructura **8** para esta sustancia, que ha sido descrita en la bibliografía con el nombre de **Desacetil β -ciclopiretosina**⁸⁴, con la que concuerdan los datos espectroscópicos.



8

Sustancia Tpt-9:

Esta sustancia fue obtenida de la fracción IV de la cromatografía general. El espectro IR presenta bandas de absorción características de dobles enlaces (1650 cm^{-1}), γ -lactona (1755 cm^{-1}), hidroxilo (3450 cm^{-1}); el de masas, aunque no da el ion molecular, da cuenta de un fragmento a m/z 264 $[\text{M}-\text{CH}_2\text{CO}]^+$ que concuerda con la fórmula $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{O}_4$.

⁸⁴ Bohlmann, F., Adler, A, Jakupovic, J., King, R., Robinson, H. (1982). *Phytochemistry* **21**, 1349

En el espectro ^1H -RMN (Fig. 25) las señales correspondiente al agrupamiento α -metilen- γ -lactona se observan como dos dobletes a δ 6,46 ($J = 2,3$ Hz) y 6,18 ($J = 2,8$), así como un doblete a δ 2,87 ($J = 3,5$ Hz) que se asigna al protón en C-5. Las demás señales son un triplete a δ 5,37 ($J = 9,5$ Hz) que se asigna a protón vinílico en C-1; un multiplete a δ 4,47 correspondiente al protón de cierre de la lactona en C-8; un doblete centrado a $\delta = 4,12$ ($J = 10,8$ y 3,2 Hz) que se asigna al protón geminal al grupo hidroxilo en C-6. La señal a $\delta = 1,52$ se asigna a un grupo metilo en C-4 y la señal a $\delta 1,78$ se asigna a un metilo sobre un doble enlace, que correspondería al grupo metilo en C-10. La estructura de dicho compuesto se confirmó con la obtención de su derivado acetilado **9a** en el cual la ausencia de grupos hidroxilo sugiere la presencia de un grupo epóxido entre los carbonos 4 y 5.

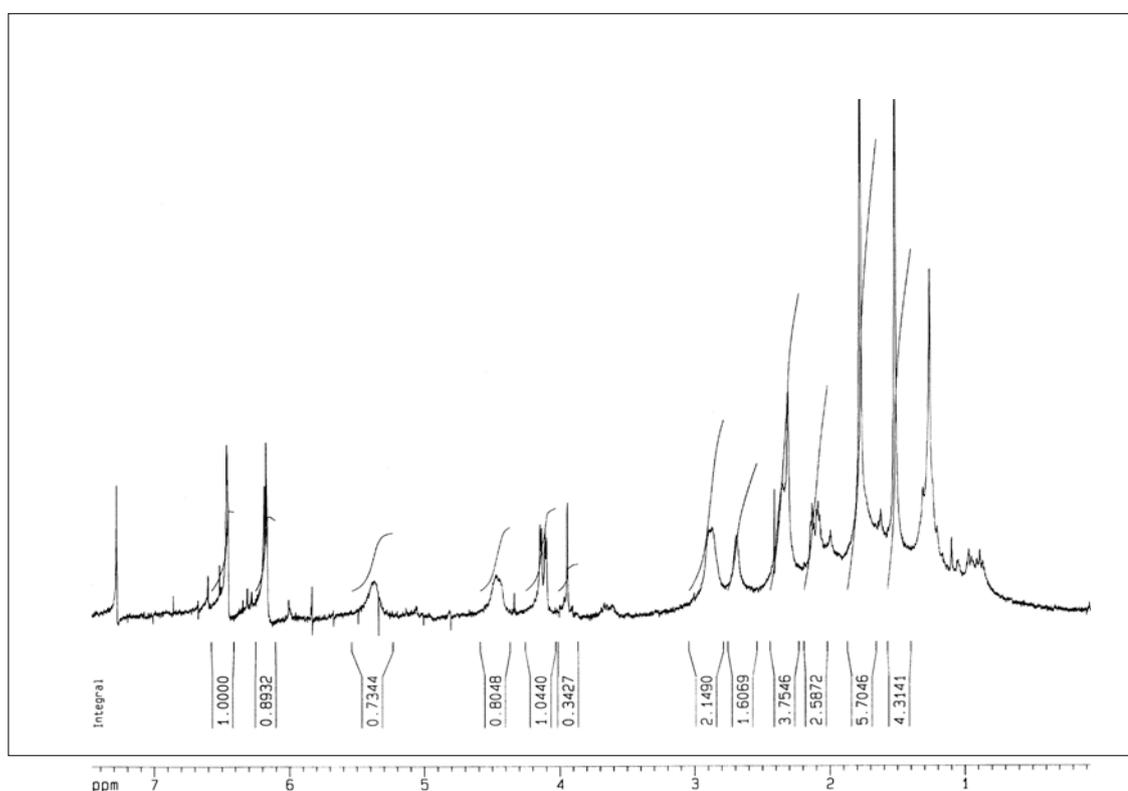


Fig. 25.- Espectro de ^1H -RMN de la sustancia **Tpt-9**.

El espectro IR del derivado acetilado presenta bandas de absorción características de dobles enlaces (1650 cm^{-1}) y γ -lactona (1755 cm^{-1}), en el cual la ausencia de grupos hidroxilo sugiere la presencia de un grupo epóxido entre los carbonos 4 y 5.

El estudio del espectro de $^1\text{H-RMN}$ del derivado acetilado de esta sustancia (Fig. 26), un sólido de punto de fusión $155\text{-}156^\circ\text{C}$, revela la formación de un monoacetato (singulete a $\delta\ 2,06$) y la presencia del α -hidroxilo adyacente a la lactona al detectarse el desplazamiento a campo alto de uno de los dos dobletes correspondientes al grupo metileno exocíclico que aparecen ahora a $\delta\ 6,38$ ($J=2,4\text{ Hz}$) y $5,82$ ($J=2\text{ Hz}$). Además aparece: un triplete a $\delta\ 5,34$ ($J=9,0\text{ Hz}$) característico del protón vinílico en C-1; un singulete a $\delta\ 1,75$ asignado a un metilo vinílico en C-10; un doble doblete a $\delta\ 5,26$ ($J= 11,5\text{ Hz}$ y $3,5\text{ Hz}$) que asignamos al protón geminal al grupo acetilo en C-6 por considerar que un multiplete a $\delta\ 4,55$ corresponde al protón situado en el carbono de cierre de la lactona. Por último, la presencia de un único protón en C-5 (doblete a $\delta\ 2,68$, $J=3,5\text{ Hz}$) y la ausencia de grupos hidroxilos que revelaba el espectro IR sugirió la presencia de un grupo epóxido en C-4 y C-5, confirmado por una señal tipo singulete a $\delta\ 1,41$ atribuida a un grupo metilo en C-4.

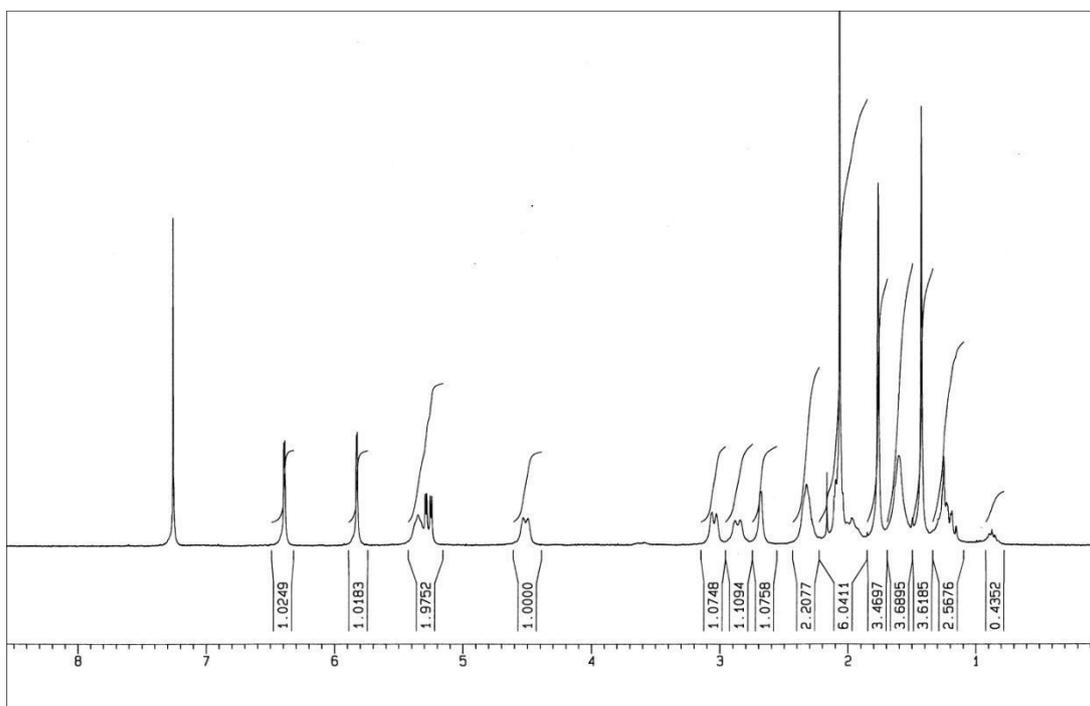
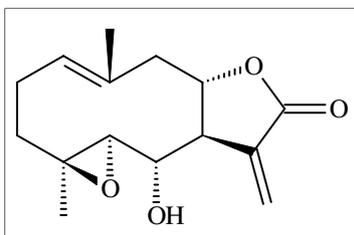


Fig. 26 Espectro de $^1\text{H-RMN}$ de la sustancia **Tpt-9a**.

Estos datos espectroscópicos coinciden con los reportados por la bibliografía para la **Espiciformina**⁸⁵, por lo cual se propone para la sustancia **Tpt-9**, la siguiente estructura.



9

Sustancia Tpt-10:

Este compuesto se aisló de la fracción IV de la cromatografía general como un aceite incoloro comprobándose su pureza por cromatografía en capa fina donde se observaba una única señal de color pardo. Sus datos espectroscópicos indican que se trata de una estructura tipo lactona sesquiterpénica como se deduce de su espectro de IR donde se observan las bandas a 3420 y 1762 cm^{-1} típicas de los grupos hidroxilo y agrupamiento γ -lactona respectivamente. Su espectro de masas presenta una señal a m/z 262 que corresponde al ión molecular $[M]^+$, que es concordante con la fórmula $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{O}_4$.

El espectro de ^1H -RMN (Fig.27) pone de manifiesto que se trata de una lactona sesquiterpénica al observarse los dobletes característicos del agrupamiento α -metilén- γ -lactona a δ 6.38 ($J = 2.1$ Hz) y 6.18 ($J = 1,5$ Hz). Además se observan dos singuletes a δ 5.84 y 5.80 que se asignan a un grupo metileno exocíclico cuyo desplazamiento indica que se encuentra conjugado a un grupo carbonilo y otro más intenso a δ 1.67 que se asigna a un metilo situado sobre un carbono vinílico. También están presentes dos señales,

⁸⁵ Shafizadeh, F., Bhadane, N.R. (1973). *Phytochemistry* **12**, 857.

un doblete a δ 5.09 ($J = 9,9$ Hz) y un triplete a δ 4.17 ($J = 9,7$ Hz) que corresponderían a un protón vinílico y a otro protón geminal a un grupo hidroxilo, así como un multiplete a δ 3.95 que se asigna al protón de cierre de la lactona. Se confirmó esta estructura mediante la preparación de su derivado acetilado (**10a**) (Fig. 28) que permite determinar la posición del grupo hidroxilo sobre el C-6 al observarse que el protón situado sobre este carbono sufre un desplazamiento a campo más bajo observándose ahora a δ 5.09 como un doblete ($J = 12,7$ Hz y 10 Hz) mientras que las señales del agrupamiento α -metilén- γ -lactona experimentan un mayor distanciamiento entre ellas presentándose a δ 6.35 ($J = 2,4$ Hz) y 5.91 ($J = 2,1$ Hz).

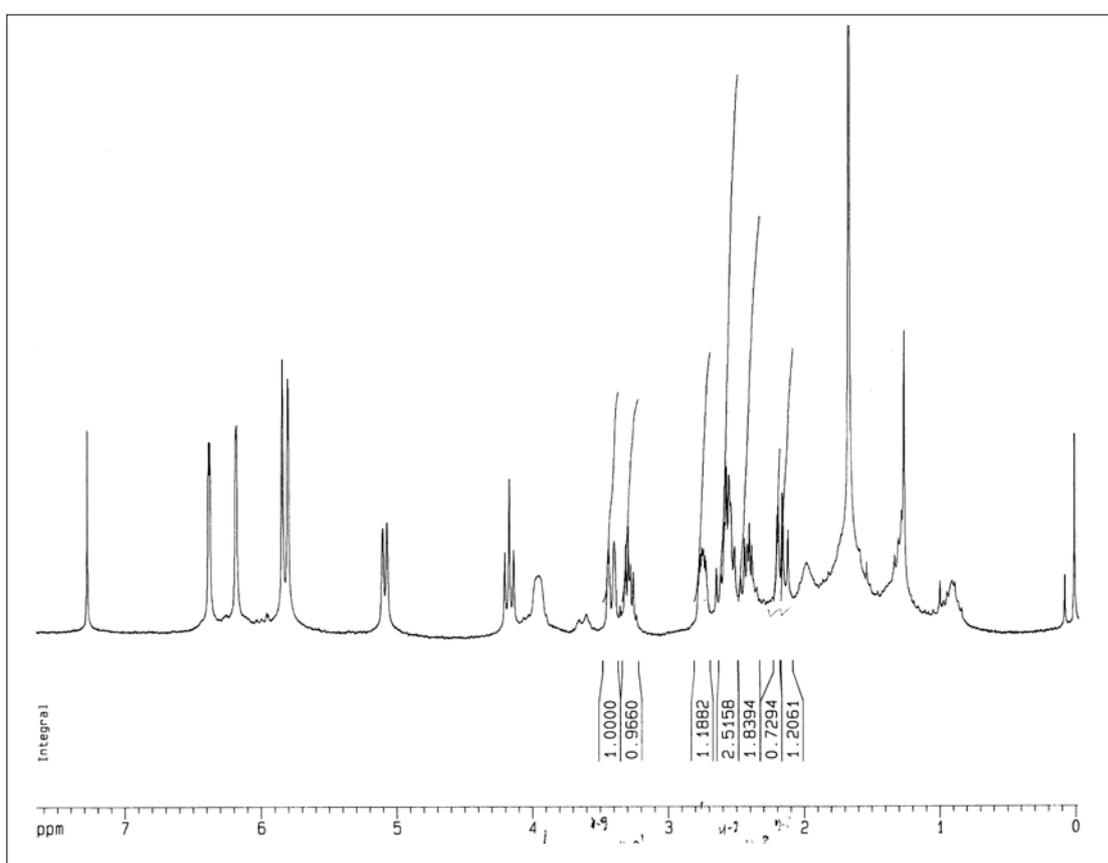


Fig. 27.- Espectro de ^1H -RMN de la sustancia **Tpt-10**.

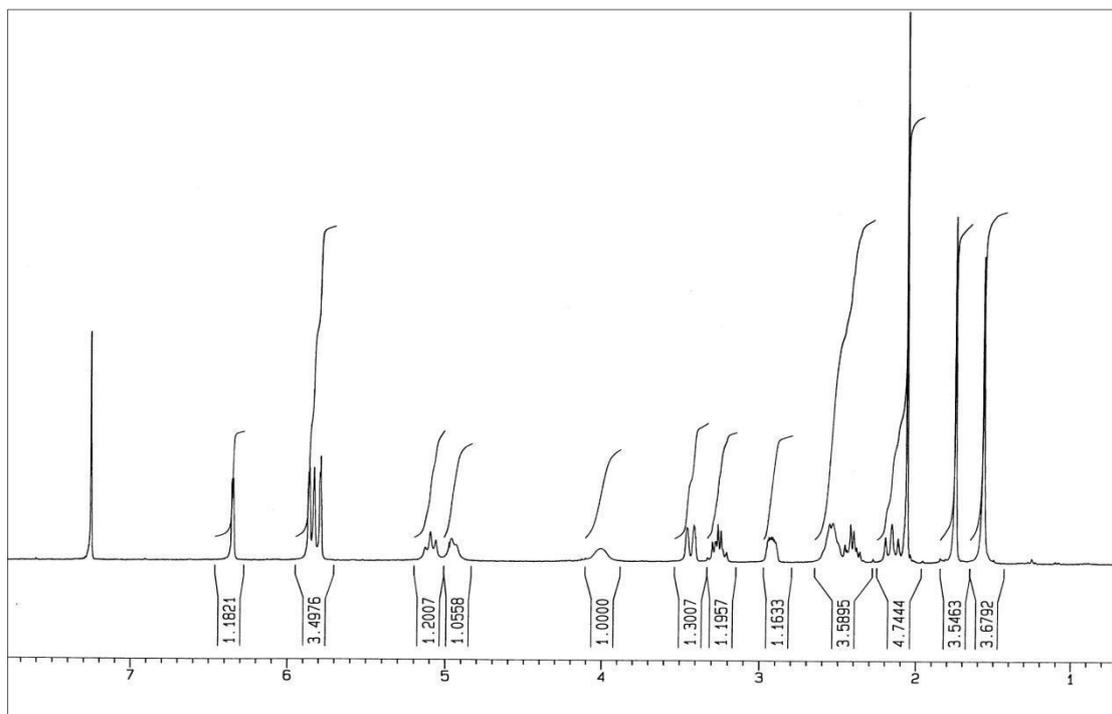
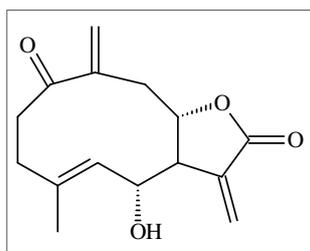


Fig. 28.- Espectro de ^1H -RMN de la sustancia **Tpt-10a**.

Comparados estos datos con los que aporta la bibliografía para la **Tamirina**⁸⁶, vemos que son totalmente coincidentes, por lo que proponemos para nuestra sustancia la estructura **10**.



10

Sustancia Tpt-11:

Este compuesto se obtuvo a partir de la fracción VII de la cromatografía general en forma de una sustancia aceitosa que presentaba en capa fina una mancha de color marrón.

⁸⁶ Sanz, J.F., Marco, J.A., (1991). *Journal of Natural Products*, **54**, 591-596.

Los datos espectroscópicos de este compuesto indicaban que se podrían corresponder a una lactona sesquiterpénica tipo eudesmanolida. Su espectro IR presentaba las absorciones características del grupo hidroxilo (3413 cm^{-1}), grupo γ -lactona (1767 cm^{-1}) y dobles enlaces (1673 cm^{-1}), y la espectrometría de masas presentaba dos fragmentos importantes a $m/z\ 264\ [M]^+$ y $m/z\ 246\ [M - H_2O]^+$, los cuales se mostraron coincidentes con la fórmula $C_{19}H_{20}O_4$, lo cual se comprobó con la realización del espectro de masas de alta resolución.

Su espectro de $^1\text{H-RMN}$ (Fig. 29) presenta los dos dobletes correspondientes a los protones del agrupamiento α -metilén- γ -lactona a $\delta\ 6.09$ (doblete, $J = 3,9\text{ Hz}$) y 5.95 (doblete, $J = 3,6\text{ Hz}$); dos singuletes anchos típicos de un metileno exocíclico aislado a valores de $\delta\ 4.92$ y 4.77 . En la zona de los metilos se observa un singulete $\delta\ 0.75$ que se asignan a los tres protones de un grupo metilo en C - 14, confirmando la naturaleza eudesmanolida.

El cierre de la lactona se encuentra sobre C-6 y no en C-8, se dedujo de las multiplicidades de las señales que se registran a $\delta\ 3,95$ (doble triplete, $J = 4,4\text{ Hz}, 4,4\text{ Hz y }4,2\text{ Hz}$) y a $\delta\ 4.00$ (triplete, $J = 11, 1\text{ Hz}$), correspondientes a los protones en C-6 y C-8 respectivamente.

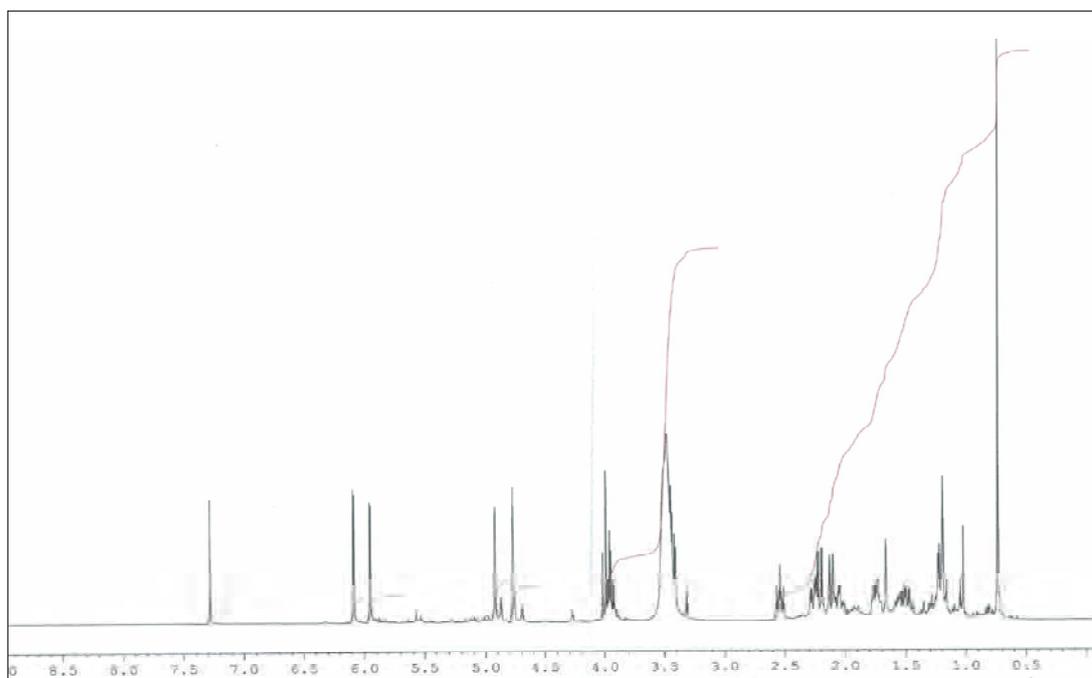


Fig. 29.- Espectro de $^1\text{H-RMN}$ de la sustancia **Tpt-11**.

Para comprobar el cierre de la lactona en C – 6 se procedió a preparar su derivado acetilado (**11a**) que genera una sustancia aceitosa que presentaba en capa fina una mancha de color marrón. Los datos espectroscópicos de este derivado (Fig. 30) son similares con la sustancia anterior, observándose un desplazamiento del triplete a δ 4.00 a valores de δ 5.08.

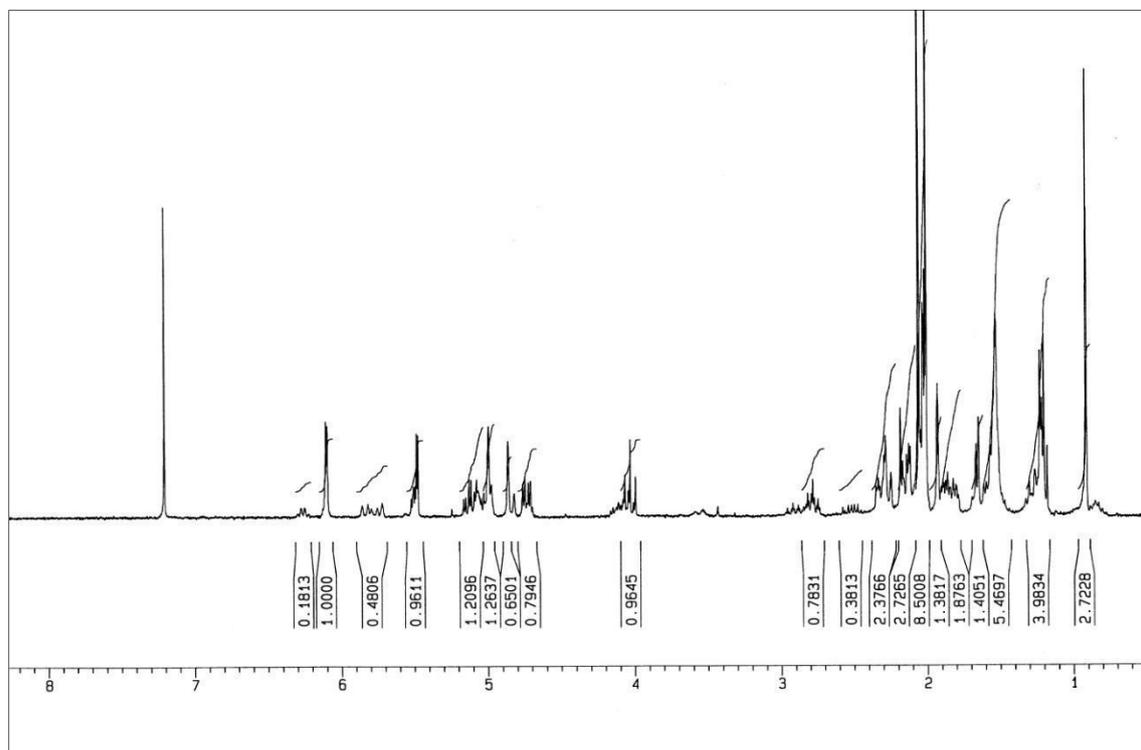
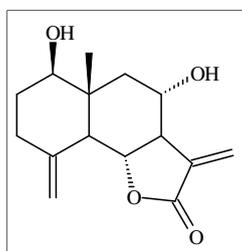


Fig. 30.- Espectro de ^1H -RMN de la sustancia **Tpt-11a**

Los datos espectroscópicos de este compuesto así como los de su derivado acetilado son similares a los encontrados en la bibliografía para la **8 α -hidroxireynosina**, que también aparece descrita en la bibliografía como **Dentatina A**⁸⁷.



11

⁸⁷ Fischer, N.H., Oliver, E.J., Fischer, H.D. (1979). Ed. Springer-Verlag/ Wien. Vol 38

Sustancia Tpt-12:

Se obtuvo de las fracciones VII de la cromatografía general y se identificó a partir de la obtención de su derivado acetilado que condujo a una mezcla de dos compuestos, **12a** y **12b**.

Los datos espectroscópicos de esta sustancia nos indican que se trata de una lactona sesquiterpénica, como se infiere de su espectro IR que presenta las bandas de absorción características de los grupos hidroxilo (3421 cm^{-1}), γ -lactona (1743 cm^{-1}) y doble enlace (1648 cm^{-1}), mientras que el espectro de masas presenta un fragmento a m/z 267 [$M - \text{CH}_3$] que es concordante con una fórmula $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{O}_5$.

El espectro de ^1H -RMN de dicho compuesto (Fig.31) nos confirma la presencia de agrupamiento α -metilén- γ -lactona al observarse los dos dobletes características a δ 5.95 ($H = 3,1\text{Hz}$) y 5.88 ($J = 3,1\text{ Hz}$), así como la existencia de un alcohol terciario, el cual se deduce por la presencia de un singulete intenso a δ 1.26 que es propio de un metilo geminal al grupo hidroxilo. A δ 0,87 se observa un singulete propio de un metilo angular. El protón geminal al grupo hidroxilo (H –6) aparece como un triplete a δ 4.20 ($J = 10\text{ Hz}$), mientras que el doble doblete del protón H – 1 se presenta a δ 3.35 ($J = 5,1\text{ Hz}$ y $J = 9,5\text{ Hz}$). Las otras señales importantes observadas son, un triple doblete a δ 3.88 ($J = 3,7\text{ Hz}$, $8,5\text{ Hz}$ y 12 Hz) que se asignan al protón de cierre de la lactona, un doble doblete a δ 2.27 ($J = 3,7\text{ Hz}$ y $11,3\text{ Hz}$) que se asigna al protón H – 5 y un doble doblete a δ 1.47 ($J = 2,4\text{ Hz}$ y $11,5\text{ Hz}$) así como un triplete a δ 1.38 ($J = 11,8\text{ Hz}$) correspondientes a los dos protones de H –9.

Los datos indicados se confirman mediante la obtención de su derivado acetilado que dio lugar al derivado monoacetilado (**12a**) (Fig. 31) donde se observa que la señal del protón en C -1 aparece desplazado a campo más bajo, δ 4.27 ($J = 5,1\text{ Hz}$ y $9,4\text{ Hz}$) producida por la presencia del grupo acetilo. Asimismo se obtuvo el derivado diacetilado (**12b**) (Fig. 32) observándose la presencia del segundo grupo acetilo sobre el C –6, debido a que la señal del protón situado en dicho carbono se desplaza a campo bajo apareciendo como un triplete a δ 5.65 ($J = 10,2\text{ Hz}$).

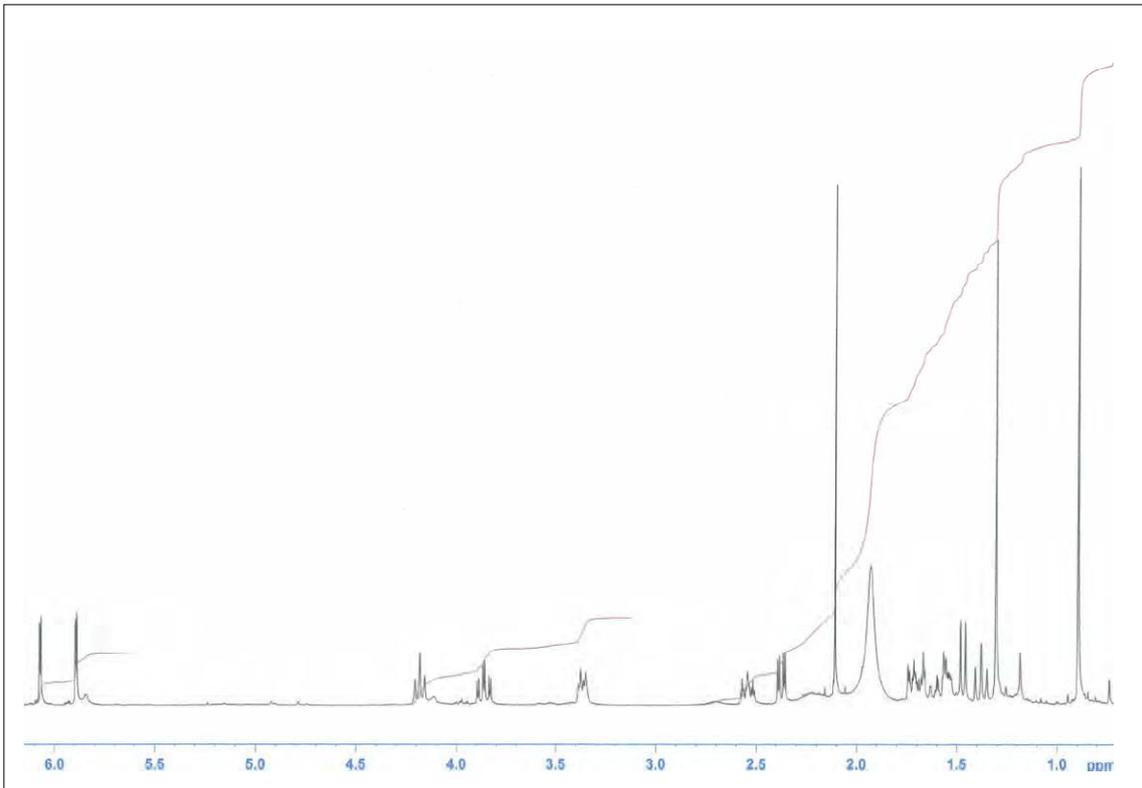


Fig. 31.- Espectro de ^1H -RMN de la sustancia **Tpt-12a**.

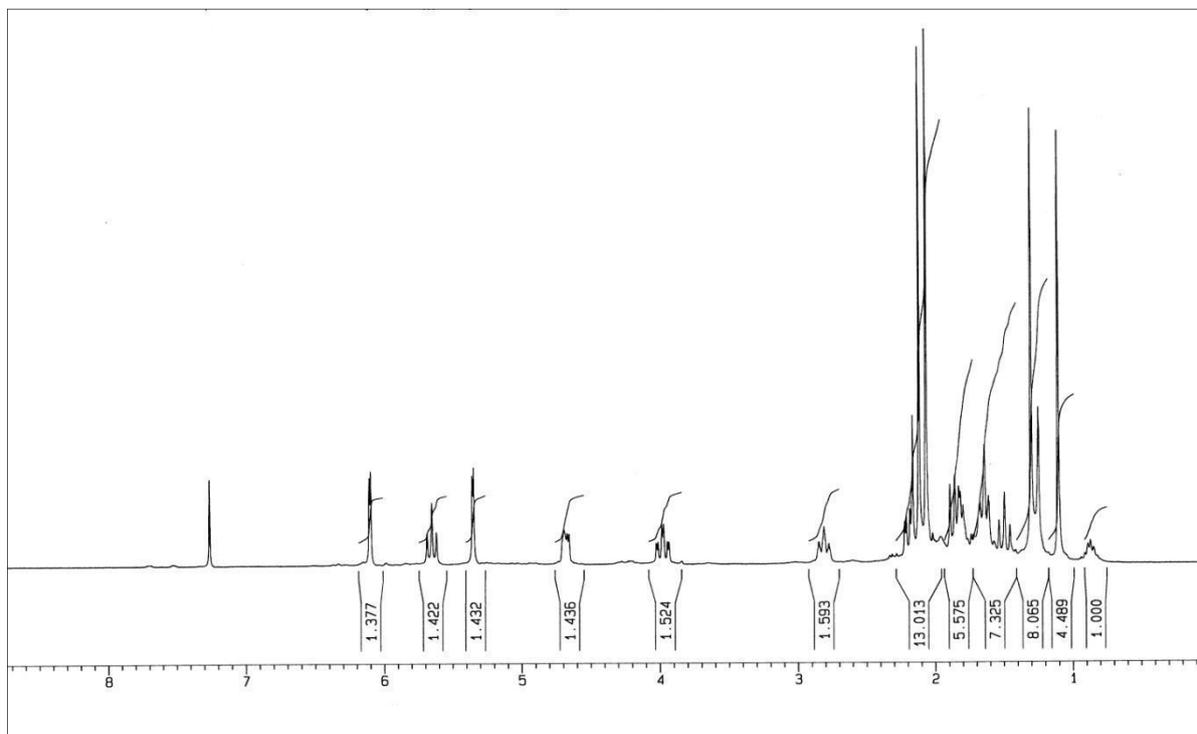
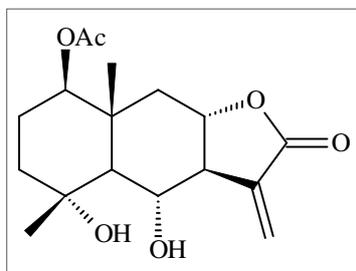
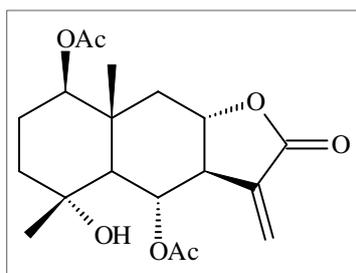


Fig. 32.- Espectro de ^1H -RMN de la sustancia **Tpt-12b**.

Con los datos espectroscópicos descritos, proponemos para **Tpt-12a** la estructura **1 β -acetoxi-4 α ,6 α -dihidroxi-eudesm-11-en-8 α ,12-olida** y para la sustancia **Tpt-12b** la estructura **1 β ,6 α -diacetoxi-4 α -hidroxi-eudesm-11-en-8 α ,12-olida**, que aparece descrita en la bibliografía.

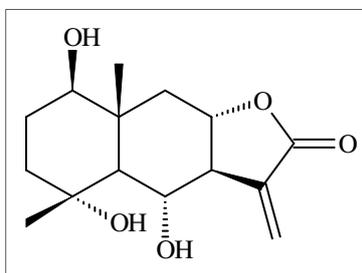


12a



12b

De acuerdo a lo anterior, la sustancia **Tpt-12** corresponde por tanto a **1 β ,4 α ,6 α -trihidroxi-eudesm-11-en-8 α ,12-olida**⁸⁸.



12

⁸⁸ Goren, N., Ulubelen, A., Bozok-Johansson, C., Tahtasakal, E. (1993). *Phytochemistry*. **33**, 1157-1159.

Sustancia Tpt-13:

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

Las señales presentes en el espectro de ^1H -RMN (Fig.33) muestran la existencia de un agrupamiento α -metileno- γ -lactona como dos dobletes a δ 6,32 y 6,24, cuyas constantes de acoplamiento son 3,2 y 3 Hz, respectivamente. El doblete a δ 5,44, de constante de acoplamiento de 10,3 Hz, se asocia al protón vinílico presente en C-5. Los multipletes registrados a δ 4,11 y δ 4,23 corresponden a los protones de cierre de la lactona y geminal al grupo hidroxílico respectivamente. Las posiciones de los señales correspondientes al protón situado en C-1 ($\delta=2,68$) y al grupo metilo en C-10 ($\delta=1,45$) determinan la existencia de un grupo epóxido entre ambos carbonos. Finalmente el singulete a 1,84 se asocia al metilo vinílico presente en C-4.

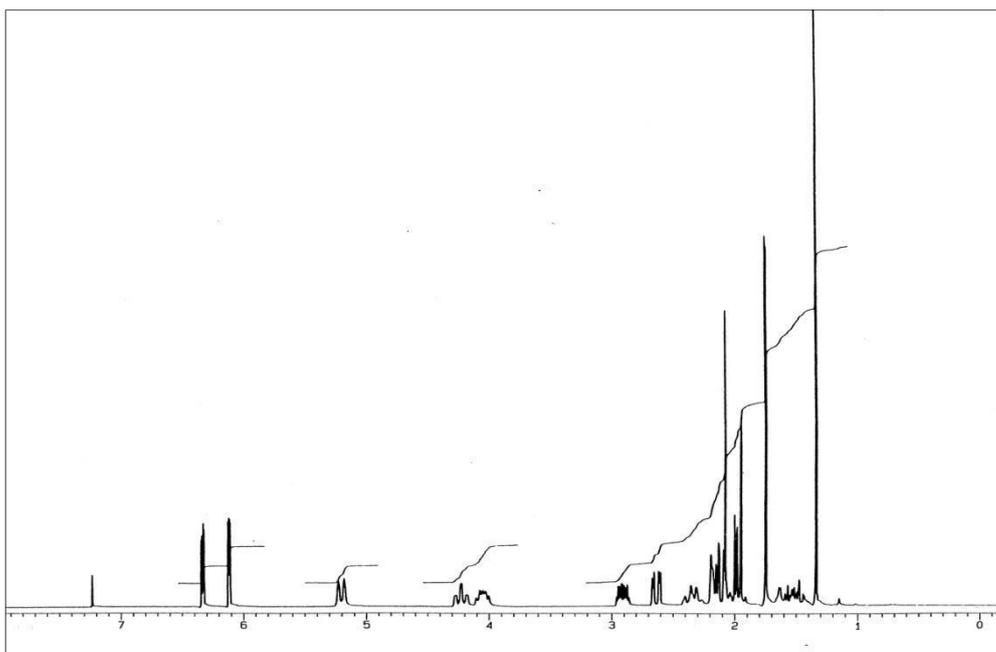
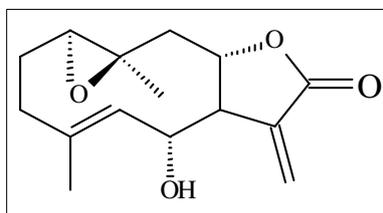


Fig. 33.- Espectro de ^1H -RMN de la sustancia **Tpt-13**.

Proponemos como estructura para nuestra sustancia la correspondiente a **13**, cuyos datos físicos y espectroscópicos coinciden con los que la bibliografía aporta para **1 α ,10 β -Epoxidesacetillaurenobiolido**⁸⁹.



13

Sustancia Tpt-22:

Esta sustancia fue aislada de la fracción V de la cromatografía general como un aceite incoloro. Sus datos espectroscópicos nos sugieren la estructura de una lactona sesquiterpénica, al presentar en su espectro IR absorciones propias de grupos hidroxilo (3417 cm^{-1}), dobles enlaces (1648 cm^{-1}) y γ -lactona (1751 cm^{-1}) y su espectro de masas presenta m/z de 264,12 concordante con la fórmula $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{O}_4$.

Su espectro de $^1\text{H-RMN}$ (fig. 34) presenta como señales más representativas las correspondientes al de un protón unido a un grupo hidroxilo a δ 3,94; a δ 5,46 la correspondiente a un metileno integrado por un protón mostrándose como un singlete ancho; un doblete a δ 1,91 con una constante de acoplamiento de 9,5 Hz correspondiente al del C-5; un singlete ancho a δ 3,94 correspondiente al hidrógeno en C-6; a δ 2,67 un triplete triplete con $J= 3,0, 6,0, 11,0, 14,0$ integrado por un protón que corresponde al cierre del anillo lactónico; un ddd a δ 4,09 con $J= 3,5, 11,4, 15$ integrado por un protón que corresponde a un hidrógeno geminal al grupo $-\text{OH}$ situado en el C-8; a δ 6,19 y δ 5,98 constan dos dobletes con $J= 3,1$, integrados cada señal por un protón cada una que corresponden a un metileno exocíclico.

⁸⁹ Bohlmann, F., Jakupovic, J., Maniruddin, A., Schuster, A. (1983). *Phytochemistry*, **22**, 1623-1636

Hemos podido confirmar la presencia de la orientación α en el C-1 y C-8, que fueron deducidos a partir de experimentos NOESY (Fig. 34a) llevados a cabo y por los desplazamientos observados en las señales correspondientes a los protones H-1 (δ 3,86, dd, J=6,7; 6,9 Hz). H-8 (δ 4,09, dd, J=3,8; 12,2 Hz) y del grupo metilo en C-10 (δ 0,99 Hz)

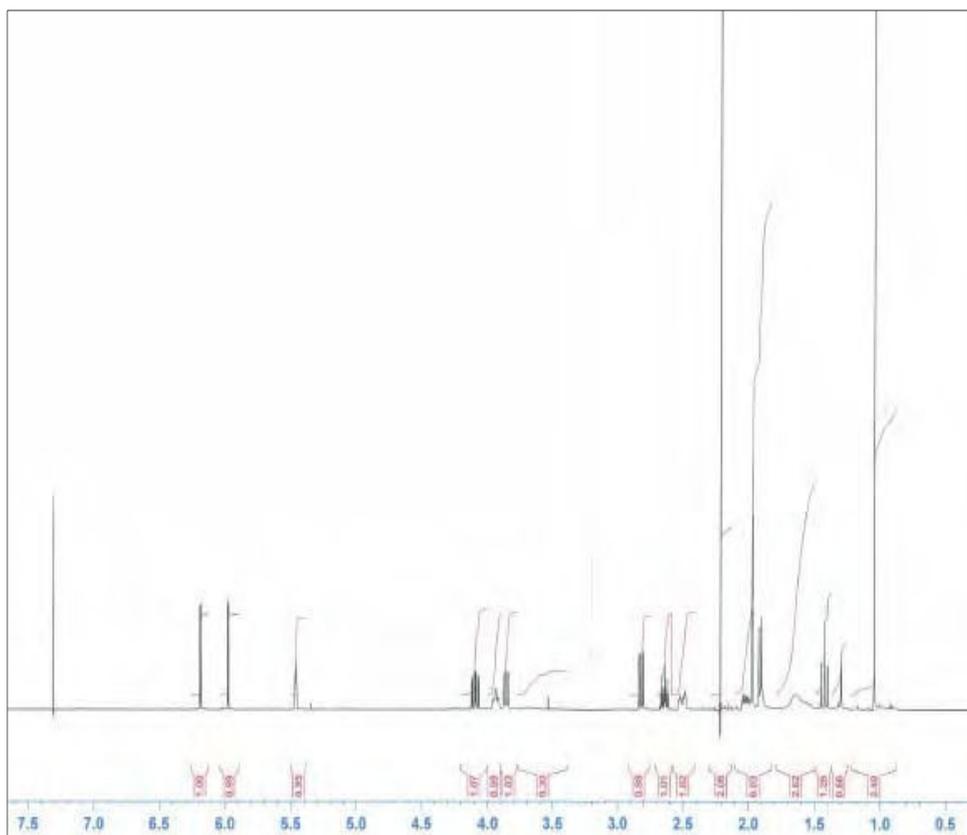
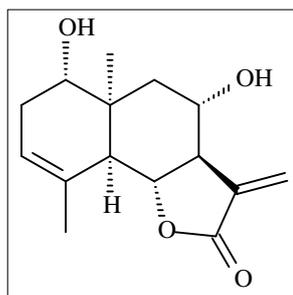


Fig. 34.- Espectro de ^1H -RMN de la sustancia **Tpt-22**

De los datos anteriores concluimos que la sustancia **22** corresponde con **1 α ,8 α -dihidroxi-5 α H,10 α -eudesm-3,11(13)-dien-6 α ,12-olida**, no estando descrita anteriormente.



22

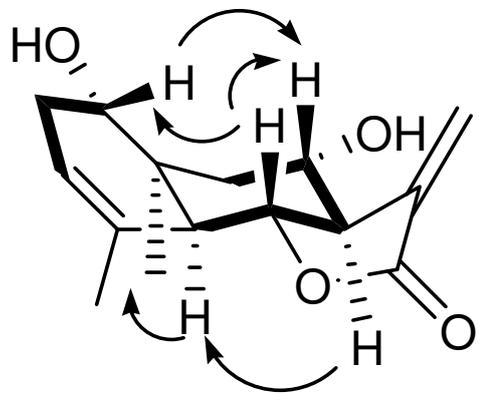


Fig. 34a. Las doble fechas indican los acoplamientos NOESY del Tpt-22

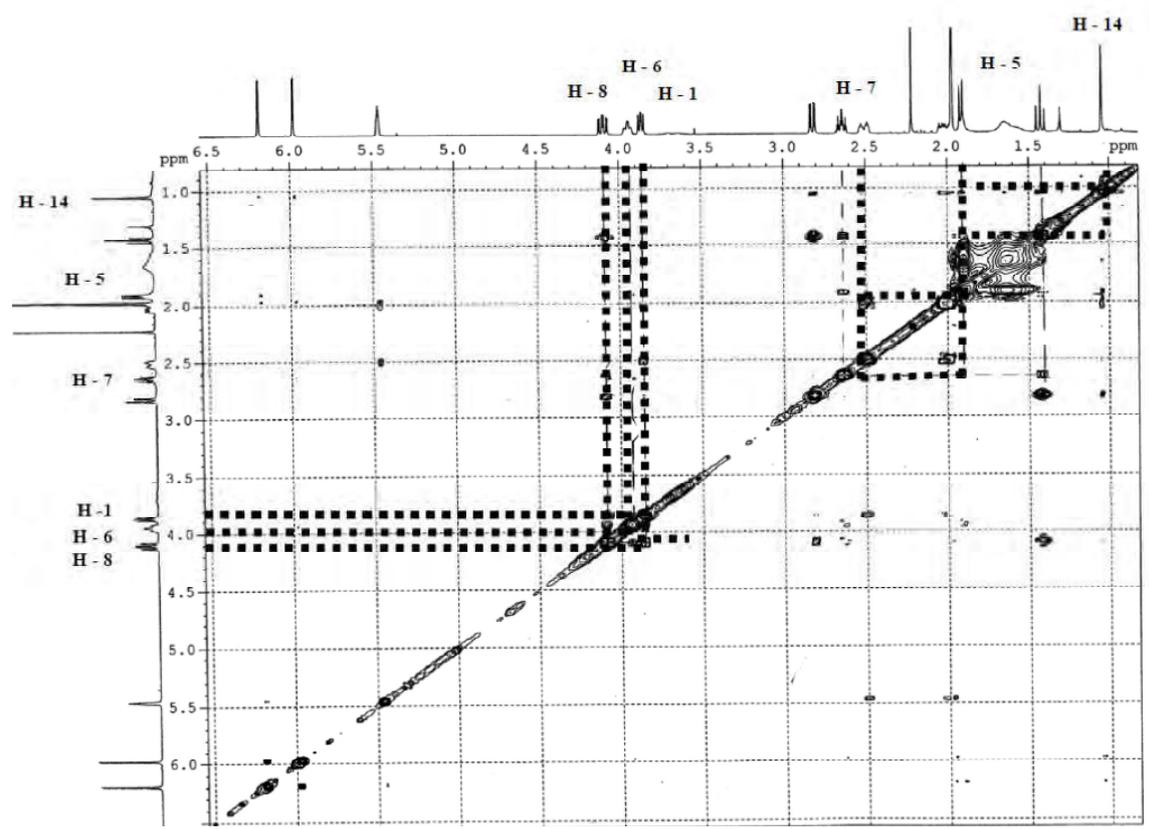


Fig. 34 b. Espectro NOESY producto Tpt-22

Sustancia Tpt-24:

Se obtuvo a partir de la fracción V de la cromatografía general, aislada como un aceite aislado. En su espectro de masas, determinamos una masa molecular 280, con una fórmula molecular $C_{15}H_{20}O_5$.

En el espectro de IR destacamos como señales más significativas la del grupo hidroxilo (3424 cm^{-1}) y grupo lactónico (1764 y 1638 cm^{-1}).

En su espectro $^1\text{H-RMN}$ (Fig. 35) observamos una señal a δ 3,52 (J=11,4 y 4,8) como dd que corresponden al de un protón geminal a un grupo hidroxilo, a δ 3,37 un triplete que corresponde a otro hidrógeno unido a un grupo hidroxilo en el C-6; a δ 3,88 un ddd (J= 3,8;12;15,4) integrado por un protón y que correspondería al cierre del anillo lactónico, a δ 6,15 d (J= 3,0) y a δ 5,96 d (J= 2,8) corresponderían a dos protones insaturados exocíclicos, y a δ 2,78 d (J= 3,5) y a δ 3,12 dd (J= 2,0 y 3,4) integrados por un protón cada uno de ellos que se corresponden con los situados en el C-15 en el que se encuentra el epóxido propuesto.

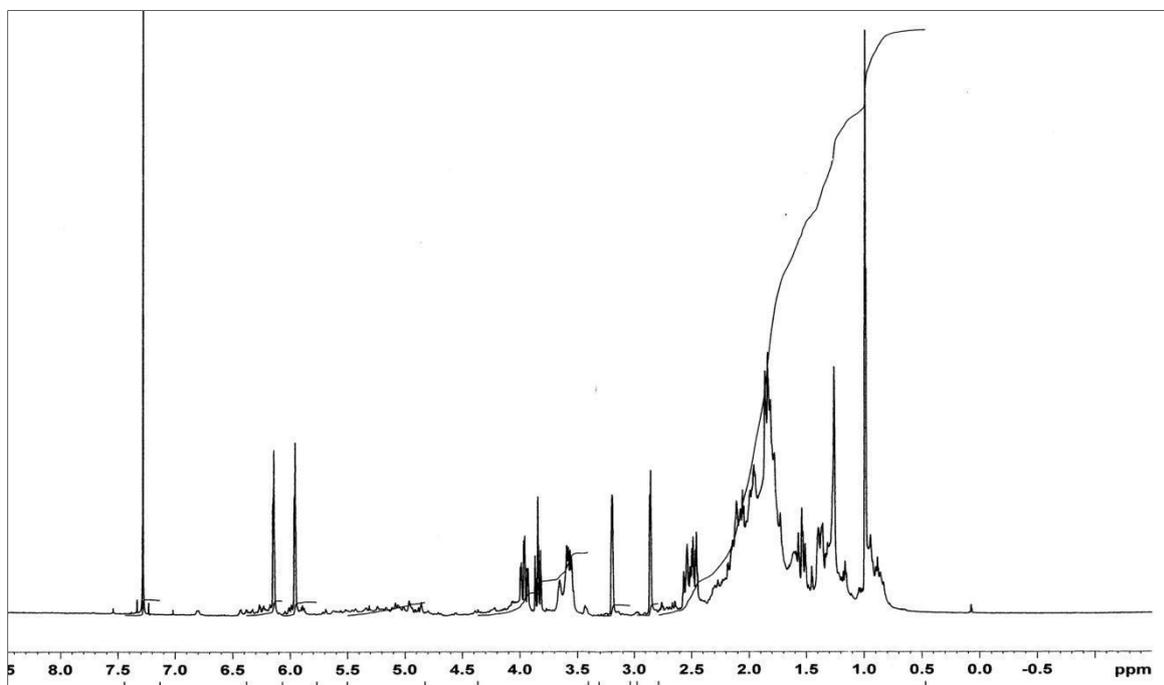
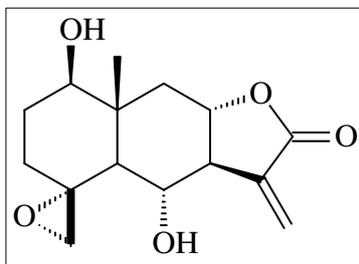


Fig. 35.- Espectro de $^1\text{H-RMN}$ de la sustancia **Tpt-24**

De los datos anteriores concluimos, que la sustancia **24**, se corresponde con los descritos en la bibliografía para **(1R,4S,5S,6R,7S,8S,10R)-1,6-dihidroxi-4(15)epoxieudesm-11(13)-en-8,12.olida**⁹⁰, y cuya estructura propuesta es la siguiente:



24

Sustancia Tpt-23 y Tpt-25:

Se obtuvo como una mezcla de dos productos a partir de la fracción IV de la cromatografía general, aislados como un aceite, no observándose diferencias en cromatografía en capa fina. En su espectro de masas determinamos una masa molecular de m/z 247, con una fórmula molecular $C_{15}H_{22}O_5$, que nos indica la posibilidad de un sesquiterpeno.

En su espectro IR de la mezcla observamos como señales más características a 1763 cm^{-1} correspondiente al grupo lactona y a grupos hidroxilos a 2963 cm^{-1} .

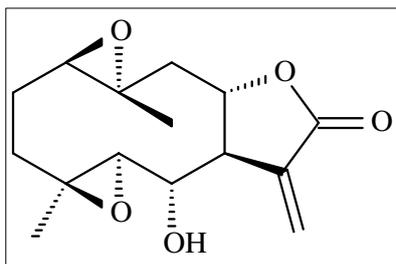
En el espectro de $^1\text{H-RMN}$ (Fig. 36) de dicha mezcla las señales de dos metilos (δ 1,40 y 1,70) integrado cada uno de ellos por 3 protones correspondientes a los hidrógenos en C-14 y 15, a δ 6,14 y 6,44 presenta dos dd integrados cada uno de ellos por un protón correspondientes a los situados en C-13 y 13' de carbonos olefínicos; en el C-9 asignamos las señales de dos protones a δ 1,41 ($J=12,6$ y $12,8$) y $2,68$ ($J=1,7$, $11,8$); en C-8 le asignamos la señal ddd ($J=1,9$; $4,1$; $12,3$) integrado por un protón correspondiente al cierre lactónico, la señal a δ 2,90 que aparece como un multiplete integrado por un protón al hidrógeno situado en C-7, a δ 4,19 dd ($J=11$; $2,5$) un hidrógeno situado en

⁹⁰ Rosselli, S., Maggio, A., Raccuglia, R.A., Bruno, M. (2010). *Eur. J. Org. Chem.* 3093-3101.

C-6 sobre el que se encuentra un grupo hidroxilo, a δ 2,74 que aparece como d ($J= 2,8$) un hidrógeno situado en el C-5, a δ 2,35 y 1,18 la señal de un multiplete y a δ 2,16 y 1,38 otra señal de un multiplete integrado ambos por dos protones asignados a los situados en C-3 y 2 respectivamente y finalmente a δ 3,05 el dd ($J= 9,5$ y $9,6$) la de un protón situado en C-1.

Con la finalidad de obtener una mejor resolución del espectro se procedió a la realización de la acetilación de la mezcla, obteniéndose su derivado acetilado **TPT-23a** en cuyo espectro de $^1\text{H-RMN}$ podemos observar el desplazamiento a δ 5,35 como dd ($J=11; 7,3$) del protón situado en el C-6, así como la señal propio del grupo acetilo a δ 2,03 como singlete integrado por tres protones.

Todo lo anterior confirmó que la estructura de **Tpt-23** corresponde a **1 β ,10 α epoxiespiciformina** que no se encuentra en la bibliografía como producto natural, pero sí como producto de síntesis.⁹¹



23

En el espectro de $^1\text{H-RMN}$ (Fig.36) de la mezcla podemos destacar además las señales del espectro a las siguientes : a δ 2,92 como d ($J=11$) correspondiente a la señal de un hidrógeno en el C-1, a δ 2,25 como un dd ($J=5,5; 14,2$) y 2,01 también como dd ($J= 11,7; 11,8$) e integrado por un protón cada uno de ellos a los hidrógenos situados en C-9, siendo el resto de las señales similares a las anteriormente descritas para **Tpt-23**.

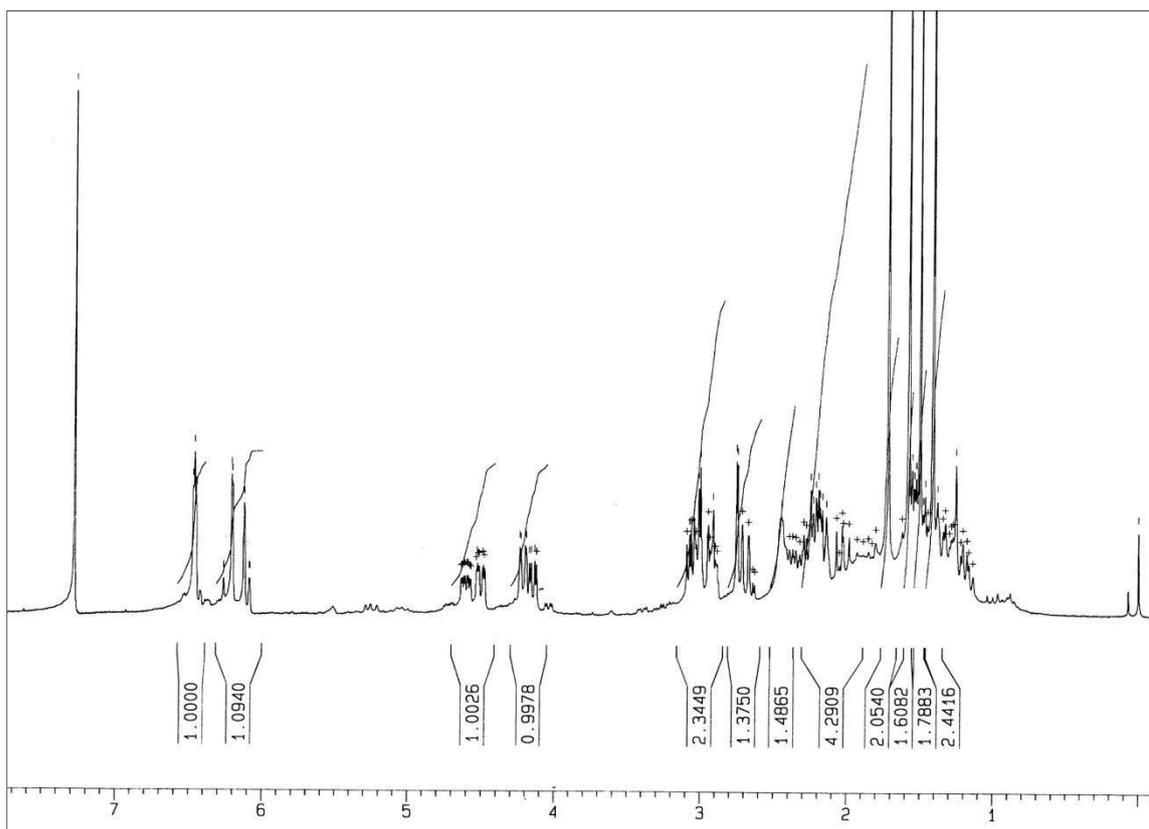
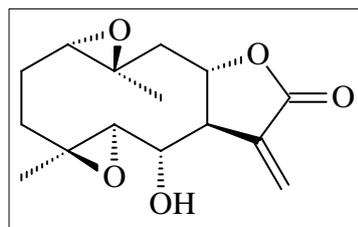


Fig. 36.- Espectro de ^1H -RMN de la sustancia **Tpt-23 y 25**

En el ^1H -RMN del derivado acetilado, además de las ya citadas, destacamos un desplazamiento a δ 5,19 apareciendo como dd ($J=4,0;11,5$) a la señal del hidrógeno situado en el C-6 y la propia señal del grupo acetilo a δ 2,01 que aparece como singlete e integrado por tres protones.

Con los datos espectroscópicos analizados proponemos para esta mezcla de productos la estructura **Tpt-25** correspondiendo a **1 α ,10 β epoxiespiciformina** y que no se encuentra en la bibliografía como producto natural, pero sí como producto de síntesis.⁹¹

⁹¹ Bohlmann F, Jakupovic J, Ahmed M, Schuster A. (1983). *Phytochemistry*.**22**(7), 1623-1636.



25

LIGNANO

Sustancia Tpt-14:

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

En el espectro de 1H -RMN (Fig. 37), la presencia de cuatro señales distintas correspondientes a los ocho protones alifáticos indica la existencia de cuatro entornos químicos distintos para dichos protones asignándose para H-7 y H-7' el doblete a δ 4,72 ($J=4,4$ Hz), para H-8 y H-8' el multiplete a δ 3,05, y distinguiéndose en dos señales tipo doble-doblete los protones presentes en C-9 y C-9' de manera que los H-9, H-9' (exo) sufren un desplazamiento a campos más bajos ($\delta =4,24$) como consecuencia del efecto de desapantallamiento que ejercen los grupos arilos en posición ecuatorial. Además, el doblete intenso a δ 5,96 ($J=1,8$ Hz) corresponde a los cuatro protones de los dos grupos metilendioxi y los protones aromáticos presentan dos señales: un singulete a 6,78 para los protones H-2 y H-2' y un doblete a δ 6,82 ($J=10,3$ Hz) para los cuatro restante.

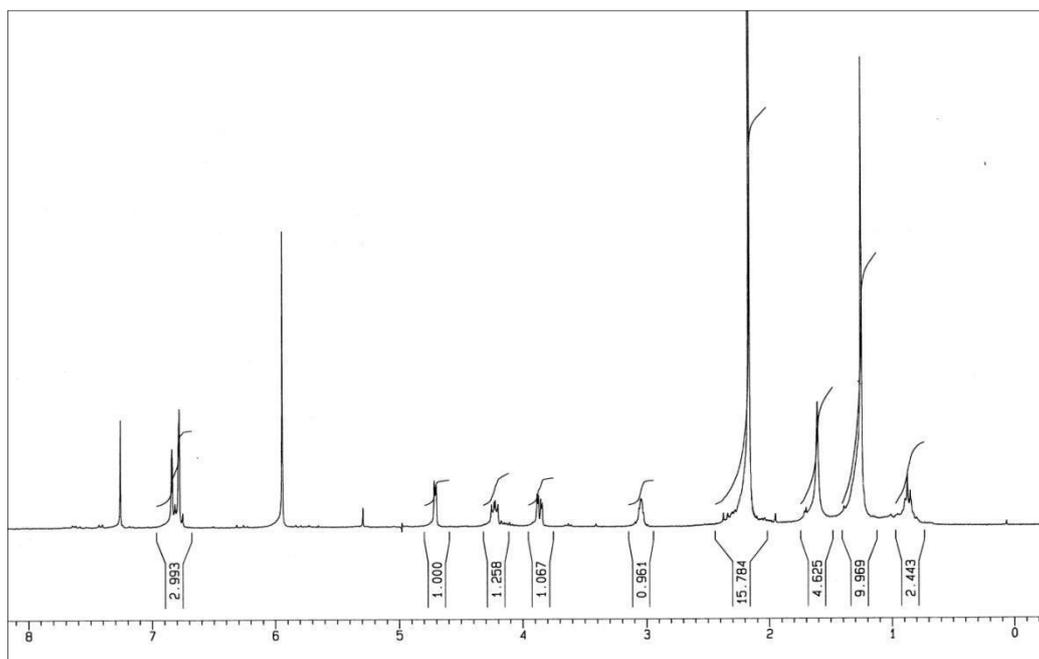
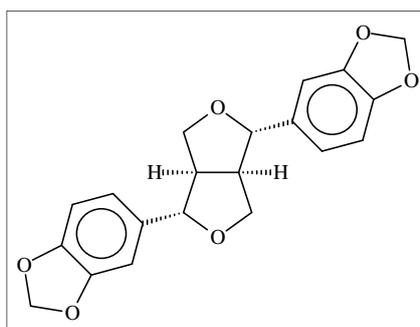


Fig. 37.- Espectro de ^1H -RMN de la sustancia **Tpt-14**.

Comparando los resultados anteriores con los reportados en la bibliografía para el lignano **sesamina**⁹² se puede comprobar que son totalmente coincidentes, por lo que se propone como estructura para la sustancia **14** la siguiente:



14

⁹² Pelter, A., Ward, R. S., Rao, E. V., Sastry, K. V. (1976) *Tetrahedron* **32**, 2783

COMPUESTOS AROMÁTICOS

Sustancia Tpt-15: Vainillina

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

Su espectro de $^1\text{H-RMN}$ (Fig. 38) presenta dos señales tipo singulete: la primera a δ 3,97 que asignamos a los tres protones de un grupo metoxilo y la segunda a campo más bajo (δ 9,83) correspondiente al hidrógeno del grupo aldehído. Además se observan las señales correspondientes a los protones aromáticos del benzaldehído disustituído en C-3 y C-4 como un doblete a δ 7,05 ($J=9\text{ Hz}$), asignable al protón de C-5 y multiplete en δ 7,42 de los protones en C-2 y C-6.

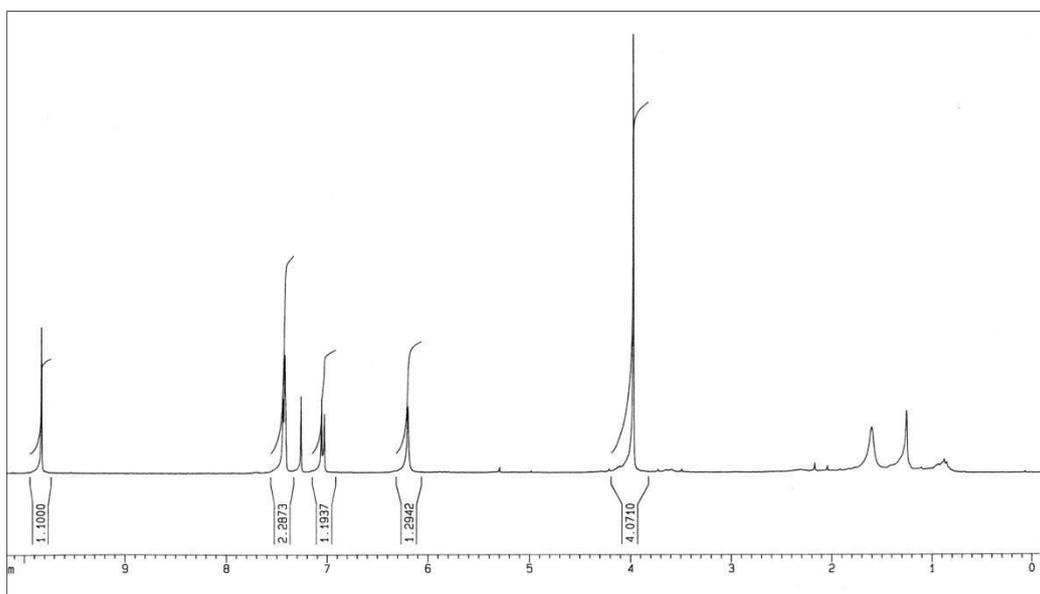
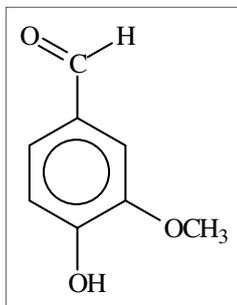


Fig. 38. - Espectro de $^1\text{H-RMN}$ de la sustancia **Tpt-15**.

Comparando nuestros datos espectroscópicos con los de una muestra auténtica de **vainillina**, observamos que son totalmente coincidentes, por lo que proponemos para esta sustancia la estructura **15**.



15

Sustancia Tpt-21:

Esta sustancia se obtuvo a partir de la fracción IV de la columna general como un aceite incoloro que se comporta en capa fina como una especie química pura. Del análisis espectroscópico se deduce que se trata de un compuesto aromático al observarse en el IR las bandas características de dicho anillo a 1604 y 1516 cm^{-1} , así como las de un grupo hidroxilo (3357 cm^{-1}) y un grupo carbonilo (1683 cm^{-1}). En su espectro de masas se observa el ión molecular a m/z 122 que es concordante con la fórmula $C_7H_6O_2$.

En su espectro de $^1\text{H-RMN}$ (Fig. 39) se puede observar la presencia de dos dobletes a δ 7.74 ($J = 8,6\text{ Hz}$) y 6.88 ($J = 8,6\text{ Hz}$) característicos de los protones de un anillo aromático 1,4 disustituido. También se observa a campo más bajo un singulete a δ 9,80 que se asigna al hidrógeno de un grupo aldehído.

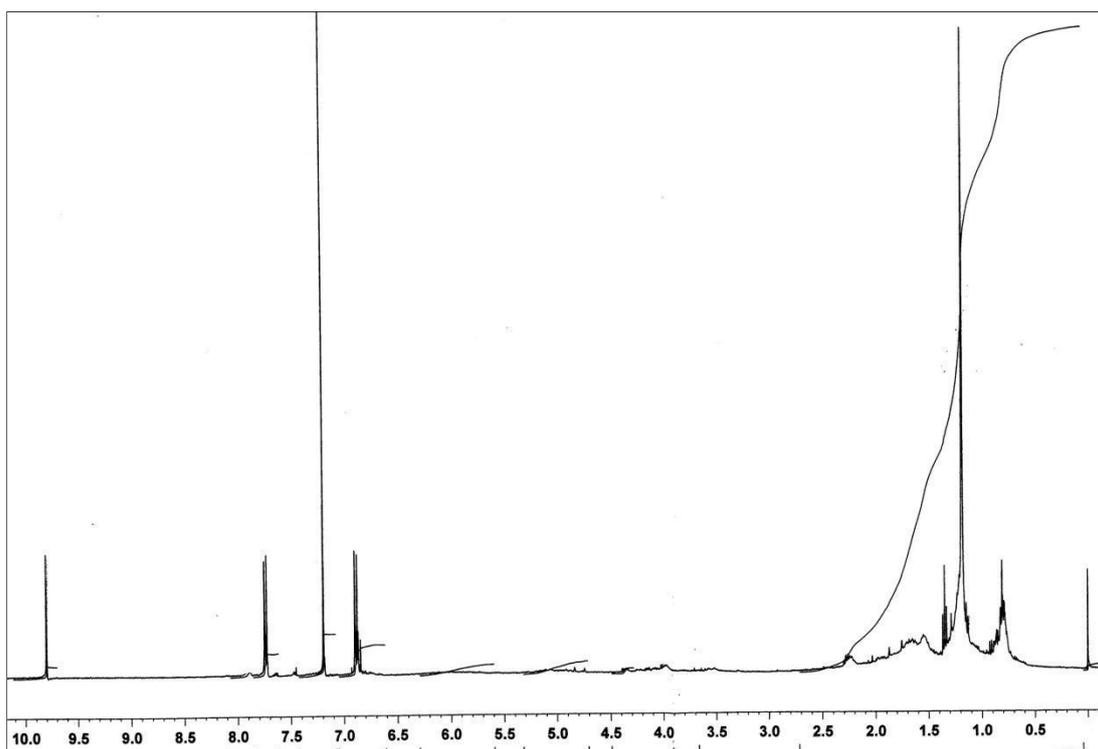
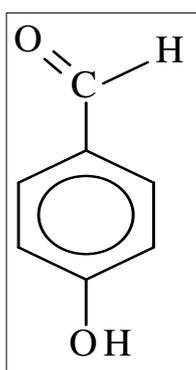


Fig. 39.- Espectro de ^1H -RMN de la sustancia **Tpt-21**

De todo lo anterior, se propone para esta sustancia **Tpt-21**, la estructura del **4-hidroxibenzaldehído** al ser comparado con una muestra auténtica de la misma.



21

ESTEROL

Sustancia Tpt-16:

Se obtuvo a partir de la fracción III de la cromatografía general como un sólido cristalino de punto de fusión 149-151°C. El análisis en cromatografía en capa fina hizo pensar que se trataba de un esteroide por el cambio de color que presenta con el tiempo. En su espectro de IR se aprecia una banda de absorción a 3500 cm⁻¹ característica de grupo hidroxilo. De la misma manera, en el espectro de masas destaca un pico de ión molecular a m/z 412 y otro pico relativamente menos intenso a m/z 394, muy indicativo de la pérdida de una molécula de agua.

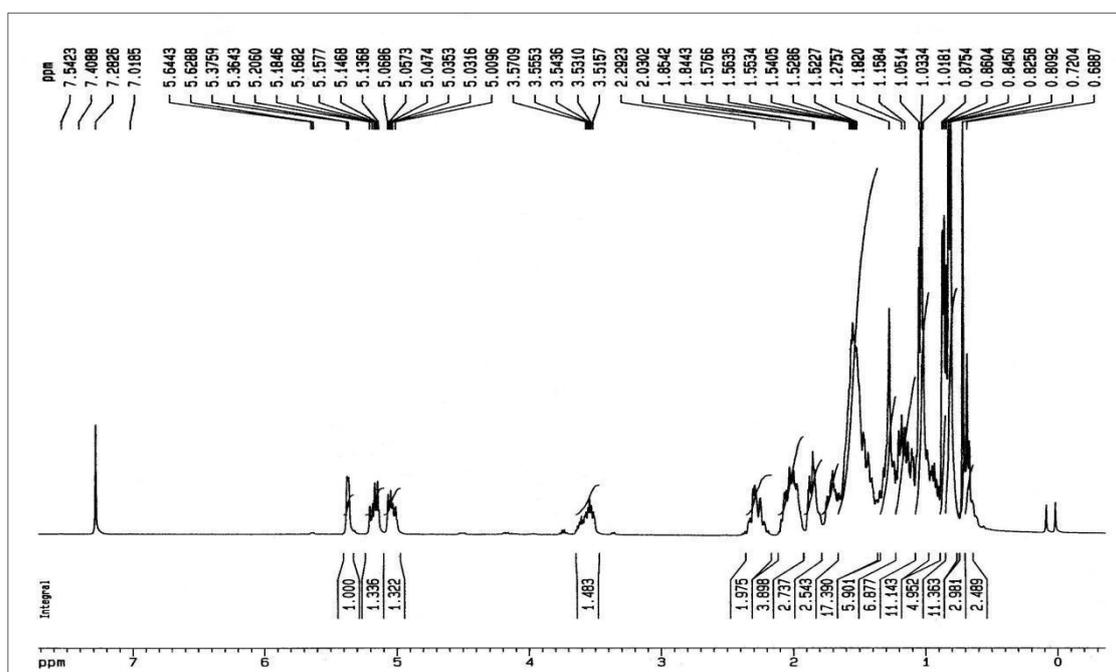
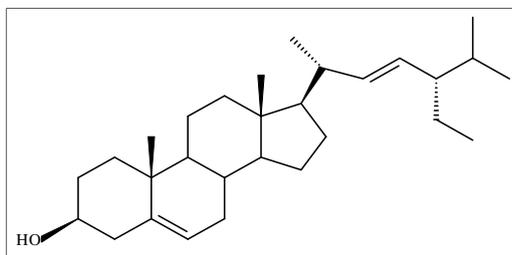


Fig. 40.- Espectro de ¹H-RMN de la sustancia **Tpt-16**

Su espectro de ¹H-RMN (Fig. 40) destacan tres señales de protones olefínicos: un doblete a δ 5.37 (J=4.6 Hz), y dos dobles dobletes a δ 5.04 (J=8.6 Hz; 15.0 Hz) y 5.18 (J=8.5 Hz; 15.1 Hz) y una señal para un protón geminal a grupo hidroxilo a δ 3.54 (m). Respecto a los grupos metilos, hayamos seis señales: dos singuletes a δ 0.83 y 1.05; dos dobletes a δ 0.82 (J=6.6 Hz, integrando para 6H) y 1.04 (J=7.2 Hz); y un triplete a δ 0.86 (J=6.0 Hz; 6.1 Hz).

Da positivo en el ensayo de Liebermann-Burchard, siendo sus datos espectroscópicos totalmente superponibles a los de una muestra auténtica de **estigmasterol**⁹³.



16

⁹³ Shoppee, Ch.W., (1964). In Chemistry of the Sterols. Butterworths, London, pp. 62-63.

5.4. TANACETUM PTARMICIFLORUM (Webb) Sch. Bip.

PARTE EXPERIMENTAL

Se recogieron las partes aéreas de *Tanacetum ptarmiciflorum* el 4 de Junio de 2005, en los riscos de Chapín (Los Moriscos), municipio de Tejeda en las isla de Gran Canaria. El material fue sometido a un proceso de secado a temperatura ambiente y en entorno oscuro, obteniéndose un peso de material seco de 2,155 g. Posteriormente se trituró y se extrajo con etanol en caliente en un aparato Soxhlet hasta su total agotamiento. Dicho extracto se concentró por eliminación del disolvente a presión reducida, obteniéndose un residuo viscoso con un peso de 308,15 g.

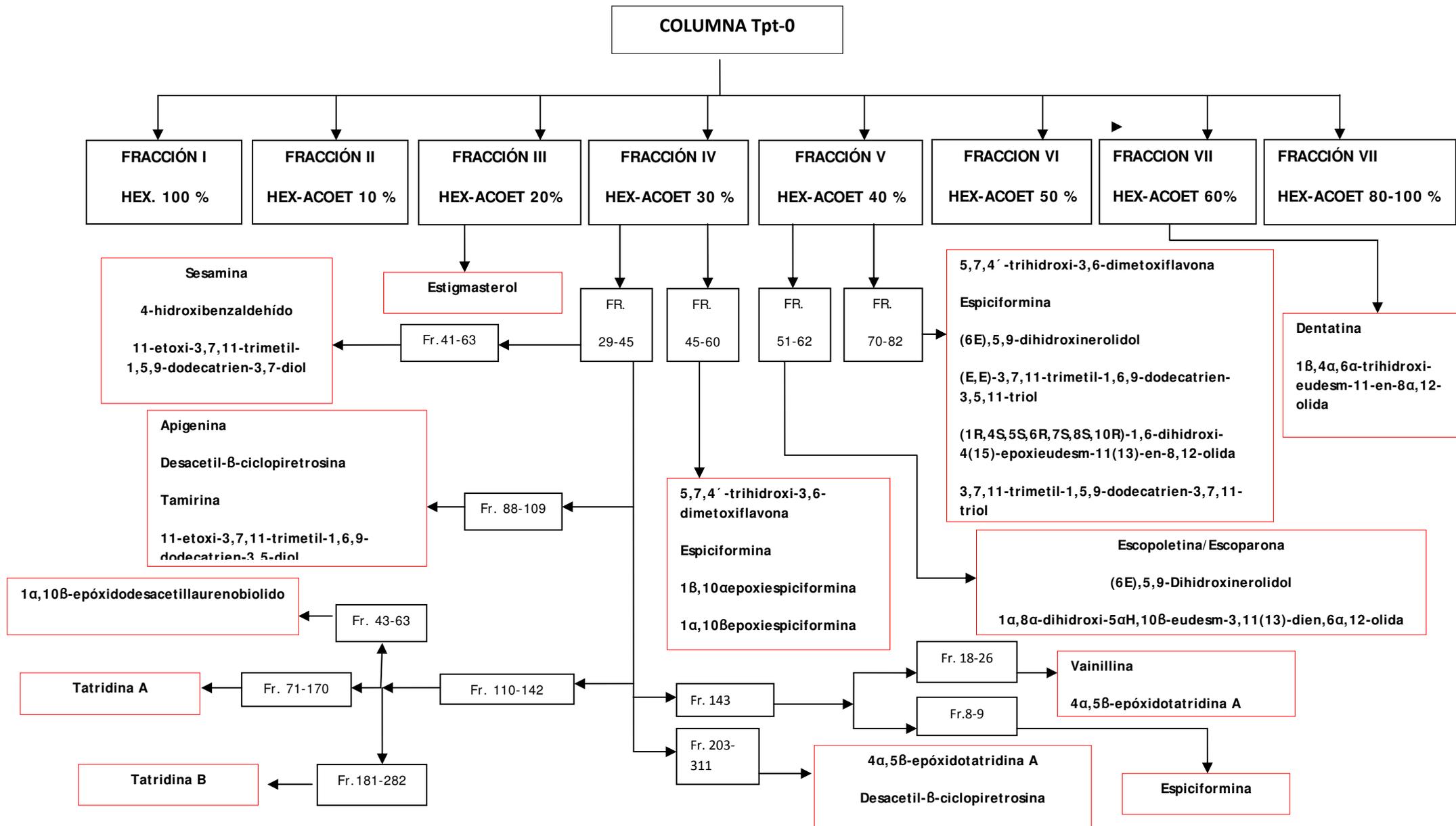
El extracto etanólico se disolvió en acetona, reabsorbiéndolo en gel de sílice (0,02-0,5 mm), obteniendo así una mezcla que se empleó como cabeza de la columna húmeda de gel de sílice con el mismo grosor de grano, con finalidad de realizar una percolación. Se utilizaron como eluyentes de la columna distintas mezclas de hexano y acetato de etilo, aumentando la concentración de acetato de etilo, a medida que avanzaba la cromatografía hasta finalizar con acetato de etilo al 100% y finalmente con metanol.

Según se indica en el organigrama de fracciones se recogieron las distintas fracciones, de aproximadamente un litro cada una, que se fueron agrupándolas de acuerdo a su similitud en cromatografía en capa fina, resultando nueve fracciones generales. Éstas fueron sometidas a diversas cromatografías posteriores de las que solamente se indica los productos obtenidos, utilizando el disolvente indicado en cada apartado.

TANACETUM PTARMICIFLORUM

(Parte aérea)

ORGANIGRAMA DE FRACCIONES



ORGANIGRAMA DE FRACCIONES

FRACCIONES	ELUYENTES	SUSTANCIAS
FRACCIÓN I: 1	HEXANO 100 %	
FRACCIÓN II: 2-16	HEXANO-ACETATO DE ETILO 10 %	
FRACCIÓN III: 17-28	HEXANO - ACETATO DE ETILO 20 %	Tpt-16,
FRACCIÓN IV: 29-50	HEXANO - ACETATO DE ETILO 30 %	Tpt-5, Tpt-6, Tpt-7, Tpt-8, Tpt-10, Tpt-13, Tpt-14, Tpt-15, Tpt-18, Tpt-21
FRACCIÓN V: 51-82	HEXANO - ACETATO DE ETILO 40 %	Tpt-1, Tpt-2, Tpt-3, Tpt-4, Tpt-9, Tpt-17
FRACCIÓN VI: 83-109	HEXANO - ACETATO DE ETILO 50 %	
FRACCIÓN VII: 110-131	HEXANO - ACETATO DE ETILO 60 %	Tpt-11, Tpt-12
FRACCIÓN VIII: 132-155	HEXANO - ACETATO DE ETILO 80 %	
FRACCIÓN IX: 156 Y SIGUIENTES	ACETATO DE ETILO 100 %	

FRACCIÓN III

Esta fracción (6,36 mg) fue cromatografiada utilizando como disolvente Hex-AcOEt (4:1), aislándose **Tpt-16** (33 mg)

FRACCIÓN IV

Las fracciones 29-50 de la columna general (15,696 g) fue cromatografiada empleando Hex-AcOEt (4:1), de las que se estudiaron:

- De las fracciones 41-63 (0,705 g) empleando como eluyente Hex-AcOEt (4:1) y recromatografiando, se aísla **Tpt-14** (13 mg), **Tpt-21**(5,6 mg).
- De las fracciones 88-109 (2,526 g) empleando como eluyente Hex-AcOEt (4:1) separándose por cromatografía preparativa **Tpt-1** (48 mg),**Tpt-8** (21 mg),**Tpt-10** (13 mg)
- De las fracciones 110-142 (1,225 g) y con eluyente Hex-AcOEt (4:1) recromatografiando se aísla: **Tpt-5** (37 mg),**Tpt-7** (26 mg),**Tpt-13** (10,1 mg), **Tpt-15**(8 mg) y **Tpt-28** (14,1 mg).
- De la fracción 143 (3,218 g) empleando Hex-AcOEt (7,5:2,5), estudiando: las fracciones 8 y 9 (546 mg), empleando como eluyente Hex-AcOEt (4:1), aislando **Tpt-9** (26 mg); de las fracciones 203-311 (0,212 g) y como eluyente Hex-AcOEt (1:1) se aislaron **Tpt-2** (53 mg), **Tpt-6** (37 mg), **Tpt-15** (11 mg),**Tpt-22** (5,8 mg) además una mezcla de productos difícil de separación que se cromatografiaron por preparativa como eluyente Be-AcOEt (1:1), aislando la mezcla de las sustancias **Tpt-23 y Tpt-25** (11,5 mg de la mezcla), la cual se acetiló obteniendo 9,3 mg.

FRACCION V:

De la columna general, en las fracciones 63-69 de la columna general se aisló **Tpt-1** (13 mg).

Las fracciones 51-62 (7,990 g) de la columna general con Hex-AcOEt (3:2), se volvió a cromatografiar aislado **Tpt-3** (12 mg),**Tpt-4** (21 mg) y **Tpt-17** (23,5 mg).

Del estudio de las fracciones 70-82 (9,689 g) de la columna general y como eluyente Hex-AcOEt (3:2), aislándose por cromatografía preparativa la **Tpt-19 (18 mg)**.

FRACCIÓN VII:

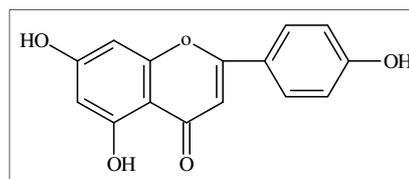
Las fracciones 110-133 (6,74 g) eluyendo con Hex-AcOEt (1:1) y estudiando: la fracción A cromatografiando con He-AcOEt (1:1) y posteriormente por TLC preparativa empleando como eluyente Be-AcOEt (2:3) aislando **Tpt-24** (10,3 mg). La fracción B empleando como eluyente Hex-AcOEt (2:3) recromatografiando se aísla: **Tpt-11** (20,7 mg) y **Tpt-12** (19 mg).

Los datos físicos y espectroscópicos de todas estas sustancias, así como las reacciones de formación de derivados y los datos de éstos, los exponemos a continuación.

FLAVONOIDES

- Datos físicos de la sustancia Tpt-1

(Apigenina)



Sólido cristalino

Punto de fusión: 338-340°C (MeOH)

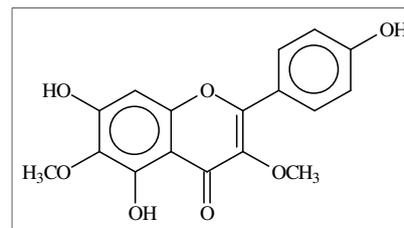
UV (MeOH) λ_{\max} : 335 y 267 nm.

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

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃)

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

- **Datos físicos de la sustancia Tpt-2**
(5, 7, 4'-trihidroxi-3,6-dimetoxiflavona)



Sólido cristalino

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

UV (MeOH) λ_{\max} : 342,5 y 271,0 nm.

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

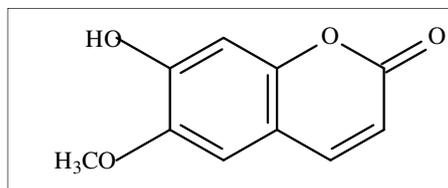
¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃)

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

CUMARINAS

- **Datos físicos de la sustancia Tpt-3**

(Escopoletina)



Sólido cristalino

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

IR (CHCl₃) ν_{\max} : 3507, 2950, 1705, 1620, 1565, 1295, 1240, 1130 y 870 cm⁻¹.

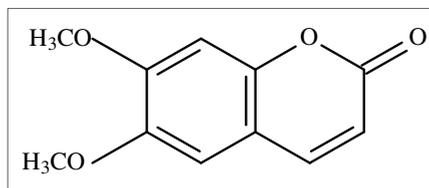
EM m/z (%): 192 [M]⁺ (100) ; 177 [M-Me]⁺ (71) ; 164 [M-CO]⁺ (38) ; 149 (76) ; 121 (45) ; 79 (38) y 69 (82).

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃)

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

- **Datos físicos de la sustancia Tpt-4**

(Escoparona)



Sólido cristalino

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

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

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

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃)

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

LACTONAS SESQUITERPÉNICAS

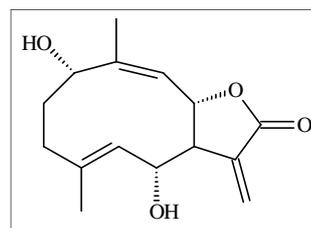
- **Datos físicos de la sustancia Tpt-5**
(Tatridina A)

Sólido cristalino

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

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

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



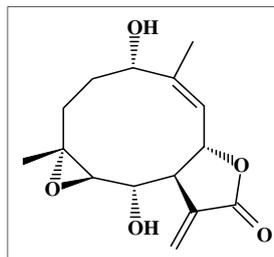
¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃)

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

Acetilación de 5

Se trataron 12,3 mg de **5** disuelto en piridina con anhídrido acético como se indica en la parte experimental y purificado por cromatografía en capa fina preparativa, con una mezcla de n-Hex-AcOEt (3:1), aislando **5a**(9,8 mg).

- **Datos físicos de la sustancia Tpt-6**
(4 α ,5 β -epóxido de tatrídina A)



Aceite incoloro

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

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

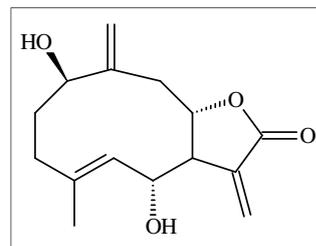
^1H -RMN (300 MHz, CDCl_3)

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

Acetilación de 6

Se trataron 18,3 mg de la sustancia **6** obteniéndose 13,5 mg del producto **6a**.

- Datos físicos de la sustancia Tpt-7
(Tatridina B)



Sólido amorfo

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

EM m/z (%): 264 [M^+] (3); 246 [$M-H_2O$]⁺ (3); 228 [$M-2H_2O$]⁺ (5); 221 (9); 163 (18); 149 (32); 109 (48); 97 (50); 95 (60); 71 (64) y 55 (100).

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃)

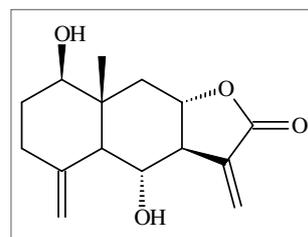
H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)	Integral
H - 1	3,84	dd	4,5; 10	1
H - 3	2-2,30	m	---	1
H - 3'	2-2,30	m	---	1
H - 5	5,03	d	10,0	1
H - 6	4,27	d	10,0	1
H - 7	2,81	m	---	1
H - 8	3,97	m	---	1
H - 9	2,95	dd	1,7; 14	1
H - 9'	2,38	dd	10; 14	1
H - 13'	6,20	d	2,4	1
H - 13	6,35	d	2,7	1
H - 14	5,11	s	---	1
H - 14'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

Acetilación de 7

Se tratan 15,1 mg de **7** lográndose separar 12,8 mg de **7a**.

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

(Desacetil β-ciclopiretosina)



Aceite incoloro

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

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

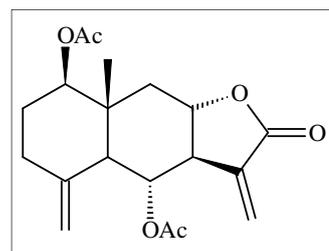
$^1\text{H-RMN}$ (300 MHz, CDCl_3)

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

Acetilación de la sustancia 8

Se hacen reaccionar 10,2 mg de **8** separándose finalmente 7,8 mg de la sustancia **8a**.

- **Datos físicos de la sustancia Tpt-8a**
(Diacetato de desacetil β -ciclopiretosina)



Sólido amorfo

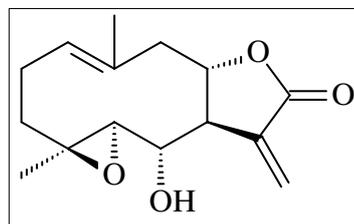
IR (CHCl_3) ν_{max} : 2950, 2930, 1760, 1720, 1645, 1355, 1230, 1120, 1090, 1070, 1020, 960, 970 y 905 cm^{-1} .

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

^1H -RMN (300 MHz, CDCl_3)

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

- **Datos físicos de la sustancia Tpt-9**
(Epiciformina)



Sólido cristalino

Punto de fusión:

IR (film) $\nu_{\text{máx}}$: 3450, 2920, 2860, 1755, 1650, 1270, 1010, 890 y 815 cm^{-1}

EM m/z (%): 246 $[\text{M} - \text{H}_2\text{O}]^+$ (71), 228 (17), 213 (15), 202 (6), 149 (6), 125 (10), 97 (25), 83 (53), 69 (65), 55 (100).

^1H -RMN (300 MHz, CDCl_3)

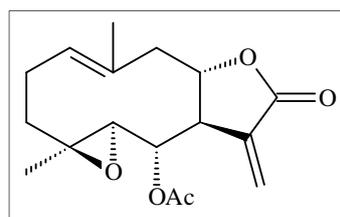
H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)	Integral
H-1	5,37	t	9,5	1
H-5	2,87	d	3,5	1
H-6	4,12	dd	3,2 y 10,8	1
H-7	3,02	m	--	1
H-8	4,47	m	--	1
H-13'	6,46	d	2,3	1
H-13	6,18	d	2,8	1
H-14	1,75	s	--	3
H-15	1,41	s	--	3

Acetilación de 9

Se realizó la acetilación de **9** (14,7 mg), obteniéndose del derivado acetilado **9a** (11,8 mg).

- **Datos físicos de la sustancia Tpt-9a**

(Acetato de espiciformina)



Sólido cristalino

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

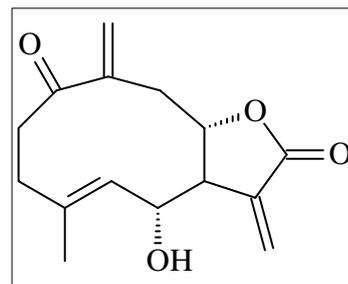
IR (nujol) ν_{\max} : 2920, 2860, 1750, 1655, 1220, 1140, 1075, 1005, 935 y 815 cm^{-1} .

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

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

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

- **Datos físicos de la sustancia Tpt-10**
(Tamirina)



Aceite incoloro

IR (KBr) $\nu_{\text{máx}}$: 3420, 2932, 1762, 1455, 1384, 1270, 1138, 1009, 817 cm^{-1} .

EM m/z (%): 262 $[\text{M}]^+$ (43,8), 244 $[\text{M} - \text{H}_2\text{O}]^+$ (17,3), 228 (36,7), 179 (18,8), 105 (17,9), 91 (26,2), 83 (100), 80 (66,6), 55 (31,0).

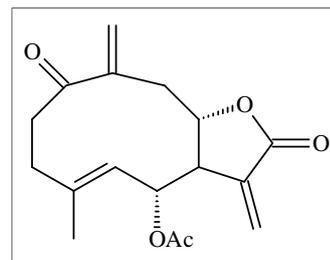
^1H -RMN (300 MHz, CDCl_3)

H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)	Integral
H-2	2,39	m	--	1
H-2'	3,28	m	--	1
H-3	2,54	m	--	2
H-5	5,09	d	9,9	1
H-6	4,17	t	9,7	1
H-7	2,73	m	--	1
H-8	3,95	m	--	1
H-9	3,41	d	13,0	1
H-13	6,38	d	2,1	1
H-13'	6,18	d	1,5	1
H-14	5,84	s	--	1
H-14'	5,80	s	--	1
H-15	1,67	s	--	3

Acetilación de 10

Se trataron 13 mg de la sustancia **10**, obteniendo del derivado acetilado **10a**. (9,2 mg)

- **Datos físicos de la sustancia Tpt-10a**
(Acetato de Tamirina)



Aceite incoloro

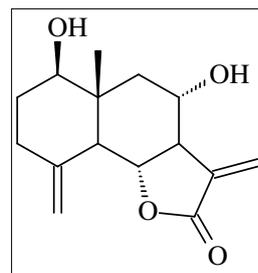
IR (KBr) $\nu_{\text{máx}}$: 2950, 1756, 1730, 1667, 1233, 1152, 1034 cm^{-1} .

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

^1H -RMN (300 MHz, CDCl_3)

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

- **Datos físicos de la sustancia Tpt-11**
(8 α -hidroxireynosina-Dentatina A)



Aceite incoloro

IR (KBr) $\nu_{\text{máx}}$: 3413, 2963, 2855, 1767, 1665, 1242, 1124, 1035, 980, 910 cm^{-1} .

EM m/z (%): 264 [M]⁺ (9,5), 246 [$M - H_2O$]⁺ (32,7), 228 (22,1), 213 (19,9), 199 (16,3), 185 (17,0), 157 (34,8), 131 (25,8), 109 (14,2), 91 (79,8), 83 (27,5), 55 (60,2).

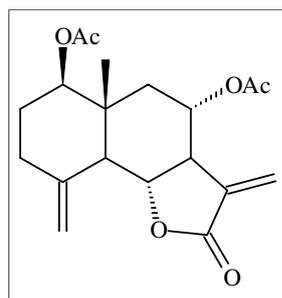
¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃)

H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)	Integral
H-1	4,73	dd	4,6; 4,6	1
H-2 α	1,84	m	--	1
H-2 β	1,55	d	11,1	1
H-3 α	2,11	m	--	1
H-3 β	2,29	m	--	1
H-5	2,18	d	4,3	1
H-6 β	3,95	dt	4,4;4,4,4,2	1
H-7	2,82	m	--	1
H-8 β	4,00	t	11,1	1
H-9 α	2,50	m	--	1
H-13	6,09	d	3,9	1
H-13'	5,95	d	3,6	1
H-14	0,75	s	--	3
H-15	4,92	s	--	1
H-15'	4,77	s	--	1

Acetilación de 11

Se realizó la acetilación de **11** (15,6 mg), obteniendo del derivado acetilado **11a** (9,8 mg).

- **Datos físicos de la sustancia Tpt-11a**
(Diacetato de 8 α -hidroxireynosina)



Aceite incoloro

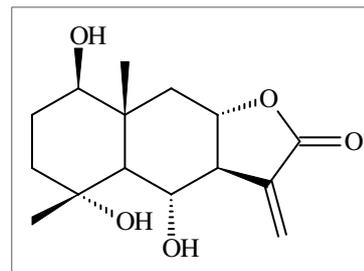
IR (KBr) ν_{\max} : 3087, 2950, 2850, 1770, 1731, 1673, 1242, 1124, 1033, 970, 902, 754, cm^{-1} .

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

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃)

H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)	Integral
H-1	4,73	dd	4,6; 4,6	1
H-2 α	1,84	m	--	1
H-2 β	1,55	d	11,1	1
H-3 α	2,11	m	--	1
H-3 β	2,29	m	--	1
H-5	2,18	d	4,3	1
H-6 β	3,95	t	11,1	1
H-7	2,82	m	--	1
H-8 β	5,11	ddd	4,2; 4,4; 4,4	1
H-9 α	2,50	m	--	1
H-13	6,10	d	3,1	1
H-13'	5,48	d	3,1	1
H-14	0,91	s	--	3
H-15	5,03	s	--	1
H-15'	4,86	s	--	1
OAc	2,01	s	--	3
OAc	2,06	s	--	3

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



Aceite incoloro.

IR (KBr) ν_{\max} : 3421, 2963, 1743, 1648, 1462, 1374, 1374, 1244, 1142, 1080, 1034, 976 cm^{-1} .

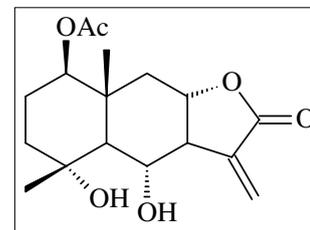
EM m/z (%): 267 [$M - \text{CH}_3$]⁺ (14.0), 246 (14.0), 202 (13,4), 188 (17,4), 175 (10,3), 164 (73,1), 146 (22,7), 135 (18,8), 119 (37,8), 109 (26,3), 107 (40,4), 105 (34,3), 101 (100,0), 91 (97,3), 83 (70,5), 69 (66,3), 55 (81,8).

^1H -RMN (500 MHz, CDCl_3) y ^{13}C -RMN

H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)	Integral	δ (C)
H - 1	3,36	m	---	1	77.7
H - 2,2'	1,70	m	--	2	23.5
H - 3,3'	1,55	m	---	2	40.5
H - 4	---	---	---	---	69,8
H - 5	1,47	d	10	1	43.3
H - 6	4,18	dd	10	1	57.0
H - 7	2,54	dd	3,5; 11,5	1	56.2
H - 8	3,86	ddd	3,5; 12,0		77.0
H - 9	2,37	dd	3,6; 11,4		41.3
H - 9'	1,38	dd	12,0; 12,0		---
H - 10	---	----	---	---	49.9
H - 11	---	---	---	---	137.7
H - 12	---	---	---	---	170.8
H - 13	6,07	d	3,1	1	119.9
H - 13'	5,89	d	3,0	1	---
H - 14	0,89	s	--	3	16.4
H - 15	1,31	s	--	3	30.9

Acetilación : La acetilación de la mezcla (12,3 mg), condujo a dos derivados acetilados **12a** (6,8 mg) y **12b** (5,2 mg), separados por preparativa.

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



Aceite incoloro.

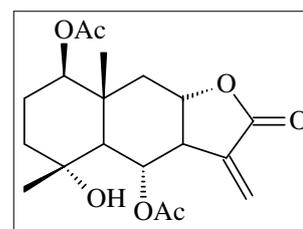
IR (KBr) ν_{\max} : 3418, 1738, 1645, 1462, 1374, 1374, 1244, 1142, 1080, 1034, 976 cm^{-1} .

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

¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃)

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

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



Aceite incoloro

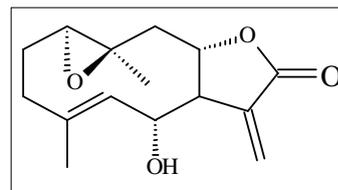
IR (KBr) ν_{\max} : 3497, 2957, 1739, 1673, 1371, 1242, 1146, 1075, 1028, 979 cm^{-1} .

EM m/z (%): 351 [M – CH₃]⁺ (0,7), 306[M – HOAc]⁺(0,6), 246[M – 2HOAc]⁺ (11,0), 228 (11,5), 213 (4,8), 188 (66,1), 164 (65,8), 146 (26,0), 118 (23,0), 101 (64,1), 91 (20,2), 83 (100), 55 (13,8).

¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃)

H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)	Integral
H-1	4,67	m	--	1
H-2, H-2'	1,82	m	--	2
H-3, H-3'	1,64	dd	9,0; 9,7	2
H-5	1,90	d	10,4	1
H-6	5,67	dd	10,2; 10,3	1
H-7	2,81	dd	10,0; 10,7	1
H-8	4,01	ddd	4,0; 12,0; 12,0	1
H-9	2,22	dd	3,7; 11,6	1
H-9'	1,50	dd	12,0; 12,0	1
H-13	6,12	d	3,1	1
H-13'	5,37	d	3,0	1
H-14	1,12	s	--	3
H-15	1,32	s	--	3
OAc	2,08	s	--	3
OAc	2,13	s	--	3

- **Datos físicos Sustancia Tpt-13**
1 α ,10 β -epoxidesacetillaurenobiolido



Sólido cristalino

Punto de fusión: 156-157°C (n-Hex).

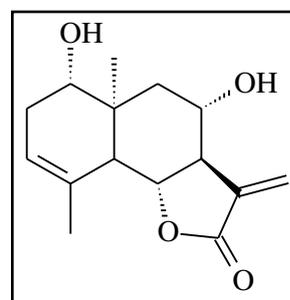
I R (KBr) ν_{\max} : 3470, 2920, 1765, 1650, 1280, 1145, 1030 y 810 cm^{-1} .

EM m/z (%): 246 $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}]^+$ (1); 231 (1); 217 (1); 203 (1); 167 (5); 149 (12); 111 (22); 97 (70); 83 (75); 81 (63); 55 (100).

^1H -RMN (300 MHz, CDCl_3)

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

- **Datos físicos de la sustancia 22**
(1 α ,8 α -dihidroxi-5 α H,10 α -eudesm-3,11(13)-dien-6 α ,12-olida)



Aceite incoloro. $[\alpha]_D^{20} = -8,91^\circ$ (c 0.21, CHCl_3)

IR (KBr) ν_{\max} : 3417, 2927, 1751, 1648, 1399, 1263, 1233, 1140, 1086, 1059, 1037, 969 cm^{-1} .

EM (Alta resolución, HRESIMS) m/z: 264.1259 (calc. para C₁₅H₂₀O₄ 264.136159).

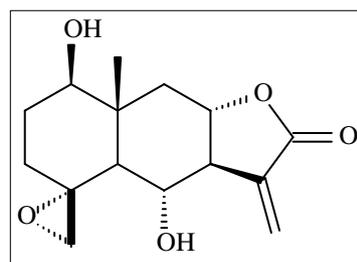
¹H-RMN (500 MHz, CDCl₃) y ¹³C-RMN

H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)	Integral	δ (C)
H - 1	3,86	dd	6,7; 6,9	1	75.11
H - 2	2,50	m	--	1	33.34
H - 2'	2,05	m	---	1	---
H - 3	5,46	br s	---	1	121.58
H - 4	---	---	---	---	137.55
H - 5	1,91	d	9.5	1	58.57
H - 6	3.94	br t	3,1; 9,4	1	75.11
H - 7	2,64	tt	3,0;6,0;11,0;14,0	1	54.89
H - 8	4,09	ddd	3,5; 11,4; 15	1	75.93
H - 9	2,82	dd	3,8; 12,4	1	36.95
H - 9'	1,43	t	12,4	1	---
H - 10	---	----	---	---	36.95
H - 11	---	---	---	---	134.08
H - 12	---	---	---	---	170.59
H - 13	6,19	d	3,1	1	120.13
H - 13'	5,98	d	3,1	1	---
H - 14	1,04	s	--	3	20.25
H - 15	1,96	s	--	3	26.20

• Datos físicos de la sustancia Tpt-24

(1R,4S,5S,6R,7S,8S,10R)-1,6-dihidroxy-4(15)-epoxyeudesma-11(13)-en-8,12-olida

Aceite incoloro. $[\alpha]_D^{20} = -88,04^\circ$ (c 0.15, CHCl₃)



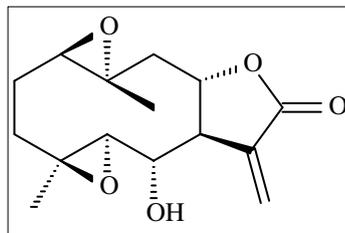
IR (KBr) ν_{\max} : 3424, 2939, 2875, 1764, 1638, 1400, 1265, 1228, 1136, 1113, 1034, 979 cm^{-1} .

EM (Alta resolución, TOF MS ES+) m/z: 344 (100) $[\text{M} + \text{CH}_3\text{CN}]^+$, 303 (14.28) $[\text{M} + \text{Na}]^+$, $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{O}_5$, 280.1219 (calc. Para $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{O}_5$ 280.131074).

^1H -RMN (500 MHz, CDCl_3) y ^{13}C -RMN

H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)	Integral	δ (C)
H - 1	3.52	dd	4.8; 11.4	1	77.29
H - 2	1.91	m	--	1	29.08
H - 2'	1.75	m	---	1	---
H - 3	2.05	m	---	1	32.82
H - 3'	1.32	m	---	1	---
H - 4	---	---	---	---	60.88
H - 5	1.80	brd	9.3	1	51.53
H - 6	3.77	t	9.8	1	67.88
H - 7	3.88	ddd	---	1	54.37
H - 8	4,09	ddd	3,8; 12; 15.4	1	76.07
H - 9	2.41	dd	3,7; 11,8	1	40.88
H - 9'	1.47	t	12	1	---
H - 10	---	----	---	---	43.05
H - 11	---	---	---	---	136.95
H - 12	---	---	---	---	170.21
H - 13	6,15	d	3.0	1	120.65
H - 13'	5,96	d	2.8	1	---
H - 14	0.98	s	--	3	164.37
H - 15	2.78	d	3.5	1	51.89
H - 15'	3.12	dd	2.0; 3.4	1	---

- **Datos físicos de la sustancia Tpt-23**
(1 β ,10 α -epoxiespiciformina)



Aceite incoloro

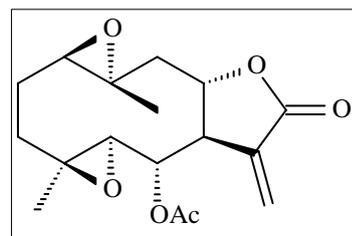
IR (KBr) ν_{\max} : 3458,2963, 2932,2392, 1763, 1277, 1250, 1147, 1131, 1066, 1007, 975, 952 cm^{-1} .

EM m/z : 247[M-Me-H₂O] (2.80), 215 (12.73), 202 (9.12), 199 (6.68), 140(9.70), 138 (12.54), 122 (9,17), 119 (15.25), 105 (37.98), 91 (100.00), 95 (11.86), 83 (8.26), 81 (20.93), 77 (5.15), 69 (17.03), 57 (21.10), 55 (25.72).

¹H-RMN (500 MHz, CDCl₃)

H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)	Integral	δ (C)
1	3,05	dd	9,5;9,6	1	60,67
2	1,38	m	--	1	23,89
2'	2,16	m	--	1	--
3	1,18	m	--	1	35,04
3'	2,35	m	--	1	--
4	--	--	--	--	59,50
5	2,74	d	2,8	1	56,12
6	4,19	dd	11;2,5	1	67,44
7	2,90	m	--	1	57,15
8	4,48	ddd	1,9;4,1;12,3	1	75,27
9	2,68	dd	1,7;11,8	1	36,69
9'	1,41	dd	12,6;12,8	1	--
10	--	--	--	--	64,66
11	--	--	--	--	134,07
12	--	--	--	--	169,18
13	6,44	dd	1;2,7	1	128,44
13'	6,14	dd	1;3	1	--
14	1,40	s	--	3	16,99
15	1,70	s	--	3	22,43

- **Datos físicos de la sustancia Tpt-23a**
(Acetato de 1β,10α-epoxiespiciformina)



Aceite incoloro.

IR (KBr) ν_{\max} : 3458,2964, 2932, 1763, 1658, 1420, 1277, 1218, 1147, 1131, 1087, 1016, 952 cm^{-1}

EM m/z : 279[M-Ac] (0.51), 215 (4.42), 201 (12.23), 177 (20.18), 154 (17.06), 137 (18.33), 131 (17.06), 127 (52.90), 121 (12.99), 119 (10.57), 105 (16.23), 95 (32.92), 91 (18.80), 83 (30.12), 81 (100.00), 77 (11.03), 69 (32.85), 57 (14.35), 55 (39.53).

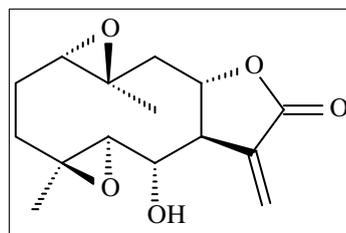
EM (ESI⁺): m/z (%) 345.1308 [M+ Na⁺] (100.0), C₁₇H₂₂O₆Na, calc C₁₇H₂₂O₆ (322.141639);

¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃) y ¹³C-RMN

H	δ	Multiplicidad	J (Hz)	Integral	δ (C)
1	3,0	dd	9,5;5,7	1	59,60
2	1,25	m	--	1	23,20
2'	2,30	m	--	1	
3	1,10	m	--	1	35,30
3'	2,30	m	--	1	
4	--	--	--	--	55,80
5	2,73	d	3,2	1	58,40
6	5,35	dd	11,7;3	1	67,50
7	3,0	m	--	1	45,00
8	4,52	ddd	1,8;3,6;12,2	1	74,40
9	2,63	dd	1,5;13,5	1	45,70
9'	1,33	dd	12,5;13	1	
10	--	--	--	--	57,80
11	--	--	--	--	132,60
12	--	--	--	--	169,80
13	6,34	d	2,5	1	126,70
13'	5,77	d	2,0	1	

14	1,35	s	--	3	16,00
15	1,62	s	--	3	16,00
OAc	2,03	s	--	3	169,80 19,60

- **Datos físicos de la sustancia Tpt-25**
(1 α , 10 β -epoxiespiciformina)



Aceite incoloro.

IR (KBr) ν_{\max} : 3458, 2932, 2870, 1765, 1666, 1454, 1392, 1277, 1138, 1090, 1022, 916 cm^{-1} .

EM m/z : 247[M-Me-H₂O] (2.80), 215 (12.73), 202 (9.12), 199 (6.68), 140 (9.70), 138 (12.54), 122 (9,17), 119 (15.25), 105 (37.98), 91 (100.00), 83 (8.26), 81 (20.93), 77 (5.15), 69 (17.03), 57 (21.10), 55 (25.72)

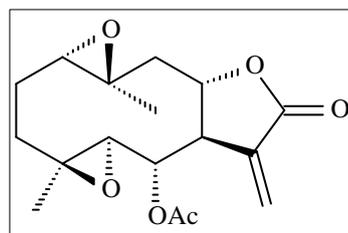
¹H-RMN (500 MHz, CDCl₃)

H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)	Integral	δ (C)
1	2,92	d	11	1	60,63
2	1,38	m	--	1	24,46
2'	2,16	m	--	1	--
3	1,18	m	--	1	35,04
3'	2,35	m	--	1	--
4	--	--	--	--	59,95
5	2,98	d	3,6	1	56,12
6	4,13	dd	3,6;10,8	1	68,88
7	3,02	m	--	1	57,15
8	4,58	ddd	2,5;5,4;11,7	1	75,52
9	2,25	dd	5,5;14,2	1	36,69
9'	2,01	dd	11,7;11,8	1	--
10	--	--	--	--	63,92

11	--	--	--	--	134,14
12	--	--	--	--	169,22
13	6,45	d	2	1	128,68
13'	6,10	d	1	1	--
14	1,48	s	--	3	16,76
15	1,56	s	--	3	15,88

Acetilación: Se realizó la acetilación de la mezcla (10,8 mg), obteniendo los derivados acetilados **23a** (5,6 mg) y **25a** (3,9 mg).

- **Datos físicos sutancia Tpt-25a**
(Acetato del 1 α ,10 β -epoxiespiciformia)



Aceite incoloro.

IR (KBr) ν_{\max} : 3458, 2964, 2932, 1763, 1658, 1420, 1277, 1218, 1147, 1131, 1087, 1016, 952 cm^{-1}

EM m/z: EM m/z: 279[M-Ac] (0.51), 215 (4.42), 201 (12.23), 177 (20.18), 154 (17.06), 137 (18.33), 131 (17,06), 127 (52.90), 121 (12.99), 119 (10.57), 105 (16.23), 95 (32.92), 91 (18.80), 83 (30.12), 81 (100.00), 77 (11.03), 69 (32.85), 57 (14.35), 55 (39.53).

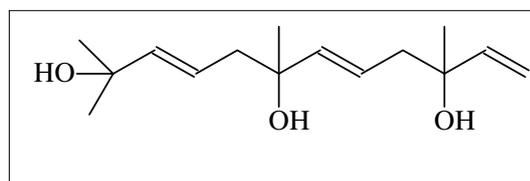
EM (ESI⁺): m/z(%) 345.1308 [M+ Na⁺] (100.0), C₁₇H₂₂O₆Na, calc C₁₇H₂₂O₆ (322.141639);

¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃) y ¹³C-RMN

H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)	Integral	δ (C)
1	2,85	d	10,3	1	60,5
2	1,25	m	--	1	23,2
2'	2,30	m	--	1	
3	1,10	m	--	1	35,3

3'	2,30	m	--	1	
4	--	--	--	--	54,9
5	2,96	d	4,0	1	61,2
6	5,19	dd	4,011,5	1	66,8
7	3,12	dd	1,6;11,5	1	42,9
8	4,59	ddd	2;5,5;11,8	1	74,7
9	2,23	dd	5,5;14,5	1	41,6
9'	1,93	dd	11,5;12	1	
10	--	--	--	--	57,8
11	--	--	--	--	132,6
12	--	--	--	--	169,8
13	6,35	d	1,8	1	126,7
13'	5,80	d	1,4	1	
14	1,45	s	--	3	15,5
15	1,45	s	--	3	15,5
OAc	2,01	s	--	3	169,8 19,4

• **Datos físicos de la sustancia Tpt-26**
(3,7,11-trimetil-1,5,9-dodecatrien-3,7,11-triol)



Aceite incoloro. $[\alpha]_D^{20} = + 4,28^\circ$ (c 0.28, CHCl_3)

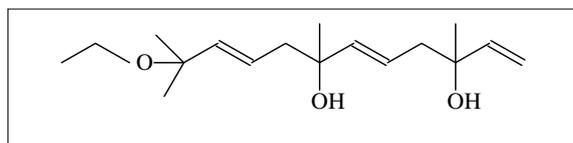
IR liquid film ν_{max} : 3384, 2972, 2929, 1658, 1371, 1151, 975, 919, 756 cm^{-1}

EM m/z: 254 $[\text{M}]^+$ (3,3), 239 $[\text{M}-15]$ (11,7), 236 $[\text{M}-18]$ (6,1), 221 $[\text{M}-15-18]$ (11,6), 200 (4,6), 207 (18,8), 189 (32,0), 179 (25,6), 135 (41,6), 109 (49,8), 95 (72,9), 55 (100).

¹H-RMN (500 MHz, CDCl₃) y ¹³C-RMN

H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)	Integral	δ(C)
1	5,05	d	10,7	1	112,0
1'	5,20	d	17,3	1	
2	5,91	dd	10,6; 17,2	1	144,7
3	--	--	--	--	72,6
4	2,25	dd	6; 11,0	1	45,3
4'	2,27	dd	7,0;11,0	1	
5	5,60	brs	--	1	122,1
6	5,63	d	15,5	1	140,1
7	--	--	--	--	72,4
8	2,25	dd	6;11,0	1	45,0
8'	2,27	dd	7,0;11,0	1	
9	5,65	dd	5,6;15,3	1	123,0
10	5,63	d	15,5	1	142,0
11	--	--	--	--	70,4
12	1,29	s	--	3	29,6
13	1,30	s	--	3	29,4
14	1,31	s	--	3	27,2
15	1,29	s	--	3	27,5

- Datos físicos de la sustancia Tpt-27
3,7,11-trimetil-1,5,9-dodecatrien-3,7-diol



Aceite incoloro. $[\alpha]_D^{20} = -10,50^\circ$ (c 0.07, CHCl₃)

IR liquid film ν_{\max} : 3427, 2974, 2927, 1660, 1454, 1371, 1240, 1159, 1070, 979, 667 cm⁻¹

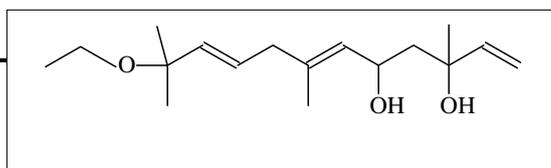
EM (Alta Resolución, HRESIMS) m/z: PM= 282; C₁₇H₃₀O₃Na: 305, 169.

¹H-RMN (500 MHz, CDCl₃) y ¹³C-RMN

H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)	Integral	δ (C)
1	5,08	d	10,8	1	112,2
1'	5,23	d	17,2	1	
2	5,94	dd	10,6; 17,3	1	144,8
3	--	--	--	--	77,0
4	2,31	dd	6,4; 14,1	1	45,6
4'	2,33	dd	6,4; 14,7	1	
5	5,52	brs	--	1	125,2
6	5,52	d	14,4	1	139,0
7	--	--	--	--	75,0
8	2,31	dd	7,6; 14,1	1	45,6
8'	2,33	dd	6,4; 14,7	1	
9	5,52	brs	--	1	126,0
10	5,52	d	14,4	1	139,0
11	--	--	--	--	73,0
12	1,29	s	--	3	24,8
13	1,27	s	--	3	22,7
14	1,27	s		3	27,5
15	1,22	s	--	3	23,0
16	3,34	q	6,9	2	14,1
17	1,15	t	6,9	3	58,5

• **Datos físicos de la sustancia Tpt-28**

(11-etoxi-3,7,11-trimetil-1,6,9-dodecatrien-3,5-diol)



Aceite incoloro. $[\alpha]_D^{20} = +7,50^{\circ}$ (c 0.04, CHCl₃)

IR liquid film ν_{\max} : 3381, 3088, 2974, 2930, 2874, 1676, 1445, 1384, 1256, 1140, 1385, 1068, 756, 922 cm⁻¹.

EM (Alta Resolución, HRESIMS) m/z:281.2130[M-H] C₁₇H₂₉O₃ (calc. 281.2117).
 EIEM m/ z(%): 282 [M]⁺ (0.90), 281 (6.60), 256(4.56), 149 (16.33), 123(6.17),
 109(11.15), 93(7.36), 85(15.10), 71(20.88), 59(100.00)

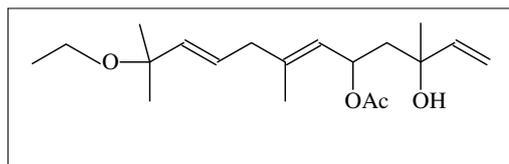
¹H-RMN (500 MHz, CDCl₃) y ¹³C-RMN

H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)	Integral	δ(C)
1	5,39	dd	1,5;17,2	1	112,09
1'	5,18	dd	1,5;10,6	1	--
2	5,95	dd	10,6;17,2	1	144,24
3	--	--	--	--	72,50
4	1,54	dd	2,1;14,6	1	42,34
4'	1,82	dd	3,8;10,7	1	--
5	4,65	ddd	10,6;4,2;2,0	1	69,53
6	5,24	dd	8,4;1,2	1	124,62
7	--	--	--	--	138,45
8	2,70	d	4,0	2	46,88
8'					--
9	5,52	d	15,5	1	126,41
10	5,48	dd	14,5;4,3	1	138,91
11	--	--	--	--	76,56
12	1,27	s	--	3	29,71
13	1,29	s	--	3	28,61
14	1,62	s	--	3	16,91
15	1,27	s	--	3	29,71
-OEt	3,34	q	7,0	2	46,87
	1,16	t	7,0	3	14,10

Acetilación de 28: se obtuvo el derivado acetilado de **28** (11,7 mg),
 obteniendo 9,2 mg de **28a**

- **Datos físicos de la sustancia Tpt-28a**

11-etoxi-3,7,11-trimetil-1,6,9-dodecatrien-3,5-diol



Aceite incoloro.

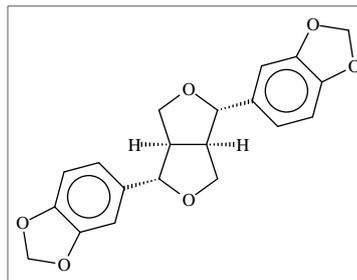
IR liquid film ν_{\max} : 3475, 3086, 2974, 2928, 2856, 1738, 1676, 1442, 1371, 1385, 1242, 1070, 946 cm^{-1} .

EM m/z: 324[M]⁺ (0,1), 309 [M-CH₃]⁺ (2,23), 281 [M-Ac]⁺ (0,21), 279 [M-OCH₂CH₃] (0,35), 249 (3,18), 201 (2,14), 196 (9,09), 179 (20,05), 169 (31,29), 113 (51,79), 87 (47,60), 71 (100).

¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃) y ¹³C-RMN

H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)	Integral	δ (C)
1	5,27	dd	17,2; 1,3	1	112,09
1'	5,07	dd	10,7;1,3	1	--
2	5,91	dd	17,2;10,7	1	144,24
3	--	--	--	--	72,50
4	1,49	dd	10,4	1	42,34
4'	1,74	dd	10,7;4,3	1	--
5	5,65	m	--	1	69,53
6	5,11	d	8,5	1	124,62
7	--	--	--	--	138,45
8	2,69	s	--	2	46,88
9	5,46	d	15,0	1	126,41
10	5,47	dd	14,5;4,3	1	138,91
11	--	--	--	--	76,56
12	1,29	s	--	3	29,71
13	1,31	s	--	3	28,61
14	1,69	s	--	3	16,91
15	1,29	s	--	3	29,71
-OEt	3,33	q	7,0	2	46,87
	1,14	t	7,0	3	14,10

- **Datos físicos de la sustancia Tpt-14**
(Sesamina)



Sólido cristalino

Punto de fusión: 122-123°C (AcOEt).

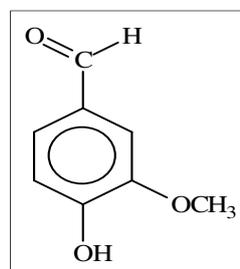
IR (KBr) ν_{\max} : 3069, 2918, 2851, 1607, 1504, 1443, 1246, 1040, 933, 810 cm^{-1} .

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

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃)

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

- **Datos físicos de la sustancia Tpt-15**
(Vainillina)



Sólido cristalino

Punto de fusión: 81-83°C.

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

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

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃)

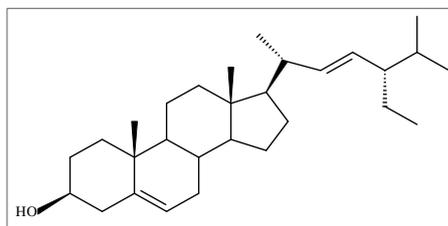
H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)	Integral
H-2, H-6	7,42	m	--	2
H-5	7,05	d	9	1
-OCH ₃	3,97	s	--	3
-CHO	9,83	s	--	1

- **Datos físicos de Tpt-16**
(Estigmasterol)

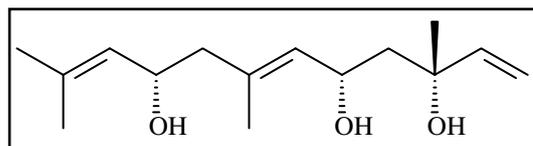
Sólido cristalino

Punto de fusión: 166-8°C.

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



- **Datos físicos de la sustancia Tpt-17**
(6E)-5,9-Dihidroxinerolidol



Aceite incoloro

IR (film): 3391, 3087, 2932, 2930, 1668, 1444, 1377, 1272, 1155, 1049, 921.

EIMS m/z (%): 254 [M⁺] (1,04), 236 [M - H₂O] (3,06), 218 [M - 2 H₂O] (3,74), 165 (9.54), 149 (15,86), 85 (79.17), 71 (100.00).

HREIMS m/z 254.1882 (calculado para C₁₅H₂₄O₃, 254,1780).

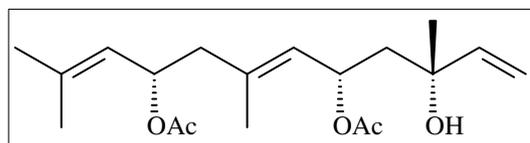
¹H RMN (CDCl₃):

H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)	Integral
1	5,37	dd	17.4; 1.0	1
1'	5,17	dd	10.6; 1.0	1
2	5.93	dd	17.2; 10.6	1
4	1.75	m	---	1
4'	1,57	m	---	1
5	4.67	m	---	1
6	5.21	d	14.4	1
8	2.15	m	---	1
8'	1.85	m	---	1
9	4.47	m	---	1
10	5.32	d	10.2	1
C ₁₂ - CH ₃ C ₁₃ - CH ₃	1.69	s	---	6
C ₁₄ - CH ₃	1.73	s	---	3
C ₁₅ - CH ₃	1.28	s	---	3

Acetilación: se realizó la acetilación de **17** (18,3 mg), obteniendo de derivado acetilado **17a** (15,4 mg).

- **Datos físicos de la sustancia Tpt-17a**

(6E)-5,9-Diacetoxinerolidol



IR (film): 3485, 3086, 2972, 2932, 1682, 1446, 1371, 1242, 1020, 947.

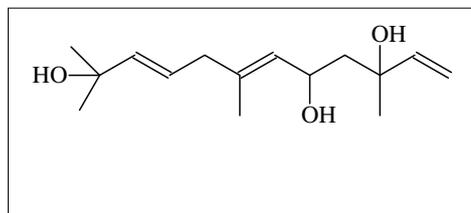
EIMS m/z (%): 295 [M- OAc] (1,00), 175 (13.48), 169 (17.34), 165 (8,61), 149 (16.32), 85 (98.96), 71 (100.00).

HREIMS m/z 338.1991 (calculado para C₁₉H₃₀O₅, 338,2093).

¹H-RMN (CDCl₃):

H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)	Integral
1	5,36	dd	17.0; 1.5	1
1'	5,16	dd	10.8; 1.5	1
2	5.90	dd	17.2; 10.7	1
4	1.75	dd	15.0; 11.5	1
4'	1,54	dd	15.0; 4.0	1
5	4.63	ddd	11.5; 9.0; 2.7	1
6	5.14	dc	145.0; 4.0	1
8	2.14	d	13.5; 9.0	1
8'	1.82	dd	13.5; 5.5	1
9	4.47	ddd	11.5; 9.0; 4.0	1
10	5.27	dc	15.0; 1.2	1
C ₁₂ - CH ₃ C ₁₃ - CH ₃	1.69	d	1.2	6
C ₁₄ - CH ₃	1.78	s	--	3
C ₁₅ -CH ₃	1.27	s	---	3
- OAc	2.01	s	---	3
- OAc	2.00	s	---	3

- **Datos físicos de la sustancia Tpt-19**
(E,E)-3,7,11-trimetil-1,6,9-
dodecatrien-3,5,11-triol



Aceite incoloro.

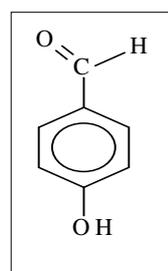
IR liquid film ν_{\max} : 3400, 3090, 1450, 1380, 1250, 950 cm⁻¹

EM (Alta Resolución, HRESIMS) m/z: 254,1781 (calc. Para C₁₅H₂₆O₃)

¹H-RMN (500 MHz, CDCl₃)

H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)	Integral
1	5,31	dd	1,5;17,2	1
1'	5,11	dd	1,5;10,7	1
2	5,87	dd	10,7;17,2	1
4	1,49	dd	2,1;14,6	1
4'	1,77	dd	3,8;10,7	1
5	4,57	m	--	1
6	5,15	dd	1,2;8,5	1
8	2,60	d	6,3	2
9	5,53	dd	6,2;15,5	1
10	5,57	d	15,5	1
12	1,24	s	--	3
13	1,21	s	--	3
14	1,55	d	1,2	3
15	1,24	s	--	3

- Datos físicos de la sustancia Tpt-21
(4-hidroxibenzaldehído)



Aceite incoloro.

IR (film) $\nu_{\text{máx}}$: 3357, 2925, 2852, 1683, 1604, 1586, 1516, 1456, 1379, 1287, 1158, 838 cm^{-1} .

EM m/z (%): 122 [M]⁺ (28.5), 121 [M - H]⁺ (100.0), 107 (7.7), 97 (8.6), 93 (22.4), 81 (14.9), 71 (10.2), 69 (15.9), 65 (25.1), 57 (21,9), 55 (20,7).

¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃)

H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)	Integral
H - 2, H - 6	7.74	d	8,6	2
H - 3, H - 5	6,88	d	8,6	2
-CHO	9,80	S	---	1



6. *TANACETUM FERULACEUM* var. *latipinnum*

(Webb) Sch. Bip.

6.1.- DESCRIPCIÓN BOTÁNICA DE LA ESPECIE

Tanacetum ferulaceum es un endemismo grancanario. Arbusto hasta 50 cm que se diferencia del resto de especies del género por sus hojas verdes uni o bipinnatisectas, glabrescentes con segmentos lineares y por los capítulos con unas 7-8 lígulas, blancas, dispuestas en densos corimbos. Brácteas del involucreo con muy pocos pelos. Flores del disco amarillas, numerosas de 70-90. La **variedad *latipinum*** presenta los lóbulos de las hojas muy anchos y corimbos muy compactos. Se conoce como "**magarza pegajosa**" (***ferulaceum***: epíteto que alude a la semejanza foliar con especies del género *Ferula*.)

6.2.- CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

Seguendo a Cronquist (2003), la posición taxonómica es la siguiente:

Reino: Plantas

División: magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Asteridae

Orden: Asterales Lindl., 1833

Familia: Asteraceae Dumort 1822 - Compositae (Cass)

Tribu: Anthemideae Cass.

Género: *Tanacetum* L.

Especie: *Tanacetum ferulaceum* var. *latipinum* (Webb & Berth.)
Sch. Bip.

6.3 ESTUDIO QUÍMICO *TANACETUM FERULACEUM* var. *latipinum*

PARTE TEÓRICA

Tal y como se describe en la parte experimental, la extracción se realizó con etanol hasta agotamiento y posterior tratamiento del extracto del que obtuvimos un líquido siruposo que por posterior cromatografía en columna dio como resultado la siguiente relación de sustancias cuyo estudio pasamos a describir, en función de sus relaciones estructurales.

FLAVONOIDES:

(TAv-1),(TAv-2)

CUMARINAS:

(TAv-3),(TAv-4)

SESQUITERPENOS:

(TAv-19),(TAv-26)

LACTONAS SESQUITERPÉNICAS:

(TAv-5),(TAv-7),(TAv-8),(TAv-6),(TAv-9),(TAv-20),(TAv-12),(TAv-13)

(TAv-18),(TAv-22),(TAv-23),(TAv-25)

ESTEROL:

(TAv-16)

Sustancia TAv-1:

Esta sustancia fue aislada de la fracción VII de la cromatografía general. Los datos espectroscópicos y físicos de esta sustancia coinciden con los de la **Apigenina (1)** descrita anteriormente en el estudio de ***T. ptarmiciflorum*** (pag. 89).

Sustancia TAv-2:

Esta sustancia fue aislada de la fracción V de la cromatografía general. Los datos espectroscópicos y físicos de esta sustancia coinciden con los de **5,7,4'-trihidroxi-3,6-dihydroxiflavona (2)** mencionada anteriormente en el estudio de de ***T. ptarmiciflorum*** (pag. 91).

Sustancia TAv-3:

Esta sustancia fue aislada de la fracción V de la cromatografía general. Los datos espectroscópicos y físicos de esta sustancia coinciden con los de **Escopoletina (3)** señala anteriormente en el estudio de de ***T. ptarmiciflorum*** (pag. 93).

Sustancia TAv-4:

Esta sustancia fue aislada de la fracción VI de la cromatografía general. Los datos espectroscópicos y físicos de esta sustancia coinciden con los de **Escoparona (4)** mencionada anteriormente en el estudio de de ***T. ptarmiciflorum*** (pag. 94).

Sustancia TAv-5:

Esta sustancia fue aislada de la fracción V de la cromatografía general. Los datos espectroscópicos y físicos de esta sustancia coinciden con los de **Tatridina A** (5) mencionada anteriormente en el estudio de de *T. ptarmiciflorum* (pag. 107).

Sustancia TAv-6:

Esta sustancia fue aislada de la fracción III de la cromatografía general. Los datos espectroscópicos y físicos de esta sustancia coinciden con los de **4 α ,5 β .epóxido Tatridina A** (6) mencionada anteriormente en el estudio de de *T. ptarmiciflorum* (pag. 109).

Sustancia TAv-7:

Esta sustancia fue aislada de la fracción V de la cromatografía general. Los datos espectroscópicos y físicos de esta sustancia coinciden con los de **Tatridina B** (7) mencionada anteriormente en el estudio de de *T. ptarmiciflorum* (pag. 111).

Sustancia TAv-8:

Esta sustancia fue aislada de la fracción VI de la cromatografía general. Los datos espectroscópicos y físicos de esta sustancia coinciden con los de **Desacetil- β -ciclopiretosina** (8) mencionada anteriormente en el estudio de de *T. ptarmiciflorum* (pag. 113).

Sustancia TAv-9:

Esta sustancia fue aislada de la fracción IV de la cromatografía general. Los datos espectroscópicos y físicos de esta sustancia coinciden con los de

Epiciformina (9) mencionada anteriormente en el estudio de de **T. ptarmiciflorum** (pag. 116).

Sustancia TAv-12:

Esta sustancia fue aislada de la fracción VII de la cromatografía general. Los datos espectroscópicos y físicos de esta sustancia coinciden con los de **1 β ,4 α ,6 α -trihidroxi-eudesm-11-en-8 α ,12-olida (12)** mencionada anteriormente en el estudio de de **T. ptarmiciflorum** (pag. 123).

Sustancia TAv-16:

Esta sustancia fue aislada de la fracción II de la cromatografía general. Los datos espectroscópicos y físicos de esta sustancia coinciden con los de **Estigmasterol (16)** mencionada anteriormente en el estudio de de **T. ptarmiciflorum** (pag. 138).

Sustancia TAv-18:

Esta sustancia fue aislada de la fracción IV de la cromatografía general, aislándose como un aceite incoloro.

De su espectro de masas podemos deducir una masa molecular de 322, de acuerdo con la fórmula molecular $C_{18}H_{26}O_5$.

En su espectro de IR podemos destacar señales correspondientes a grupos hidroxilos (3425 cm^{-1}) y al grupo lactónico (1751 cm^{-1}), lo que unido a su fórmula molecular nos permite predecir la posible naturaleza de lactona sesquiterpénica de esta sustancia.

En su espectro de ^1H -RMN (Fig. 41) podemos destacar las señales a δ 6,05 y 5,72, cada una aparece como un doblete integrada por un protón que corresponden al metileno lactónico en C-13; a δ 0,88 y 1,40 muestra dos singuletes correspondientes a dos metilos en C-4 y C-10, indicando su naturaleza eudesmanolida; a δ 1,45 t ($J=12$) y δ 2,36 ddd, integradas cada una de ellas por un protón, se asignan al metileno en C-9; a δ 3,89 ddd, integrado por un protón, corresponde a un protón geminal al grupo hidroxilo en C-8; a δ 2,53 m integrado por un protón al situado en el C-7; a δ 4,09 dd(t) ($J=10$), al protón de cierre de lactona en C-6 y el multiplete δ 1,57 proponemos asignarlo al protón situado en el C-5. A δ 1,67 y δ 1,73 aparecen dos multipletes, integrados cada una de ellos por dos protones asignables a los metilenos situados en C-2 y C-3 respectivamente y finalmente aparecen dos metilos, a δ 1,32 y 1,48 correspondientes a C-16 y C-18 de un grupo acetal.

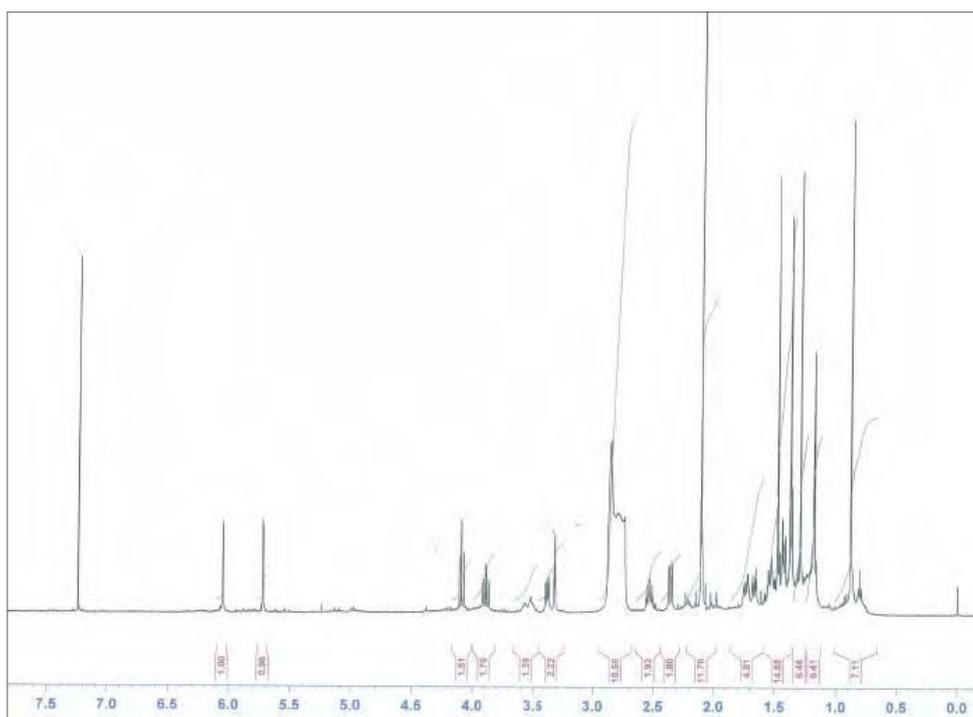
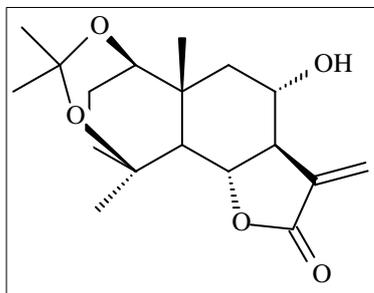


Fig. 41.- Espectro de ^1H -RMN de la sustancia **18**

De lo anterior proponemos para nuestra sustancia la estructura **18**, **1,4-(propil-2,2-dioxi)-8 α -hidroxi-10 β -eudesm-12,6 α -olida**.



18

Realizada la revisión bibliográfica, no hemos encontrado dato alguno sobre ella.

La confirmación de dicha estructura se lleva a cabo mediante la realización de los experimentos de NOESY, COSY, así como de los correspondientes HMBC y HSQC.

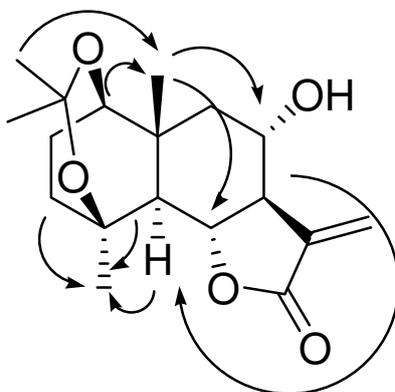


Fig. 18a. Correlaciones NOESY de la sustancia TAv-18

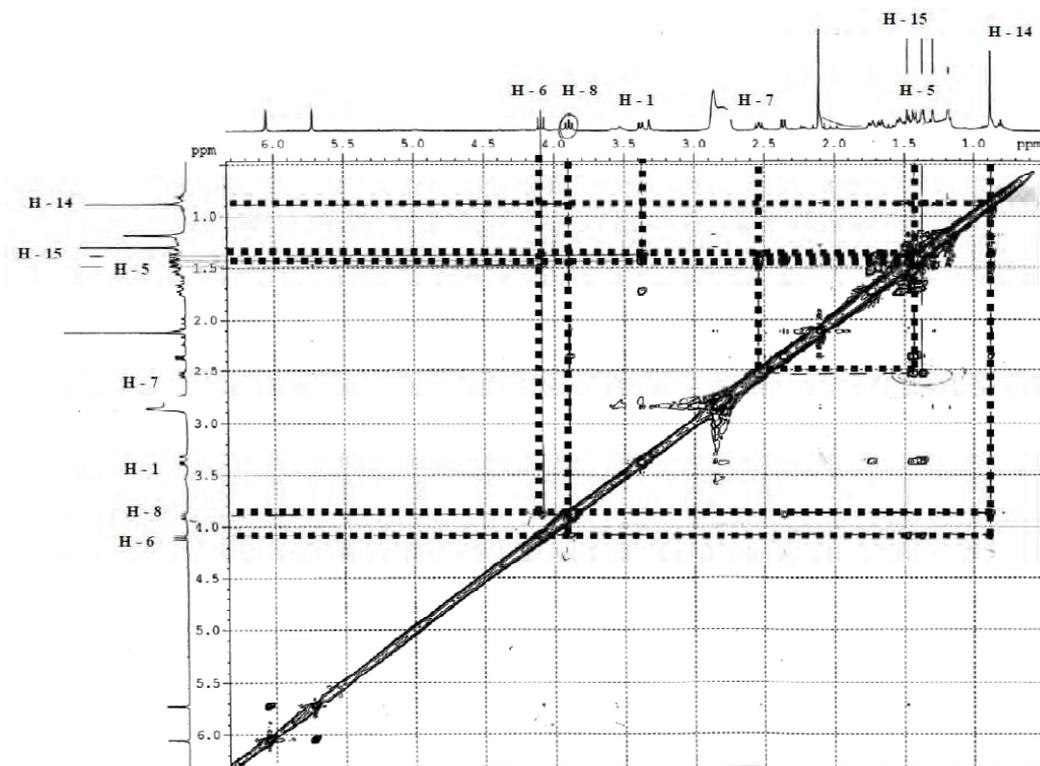


Fig 18b. Espectro de NOESY de la sustancia TAv-18

Sustancia TAv-19:

Esta sustancia fue aislada de la fracción VI de la cromatografía general. Los datos espectroscópicos y físicos de esta sustancia coinciden con los estudiados anteriormente para **(E,E)-3,7,11-trimetil-1,6,9-dodecatrien-3,5,11-triol (19)** obtenida del *T. ptarmiciflorum* (pag. 98).

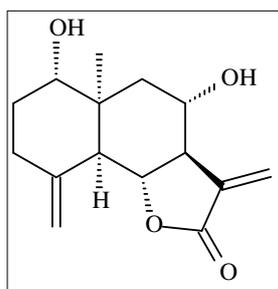
Sustancia TAv-20:

Esta sustancia fue aislada de la fracción V de la cromatografía general, aislándose como un aceite incoloro.

En su espectro de masas podemos deducir una masa molecular de 264, de acuerdo con la fórmula molecular $C_{15}H_{20}O_4$.

De todo lo anterior proponemos para esta sustancia la estructura **20**, correspondiendo a **1 α ,8 α -dihidroxi,5 α H,10 α -eudesm-4,11(13)-dien-12,6 α -olida**.

Realizada la revisión bibliográfica, no hemos encontrado datos algunos sobre ella.



20

Las orientaciones α de los grupos hidroxilo se confirmaron mediante experimentos de NOESY y COSY, HMBC y HSQC respectivamente.

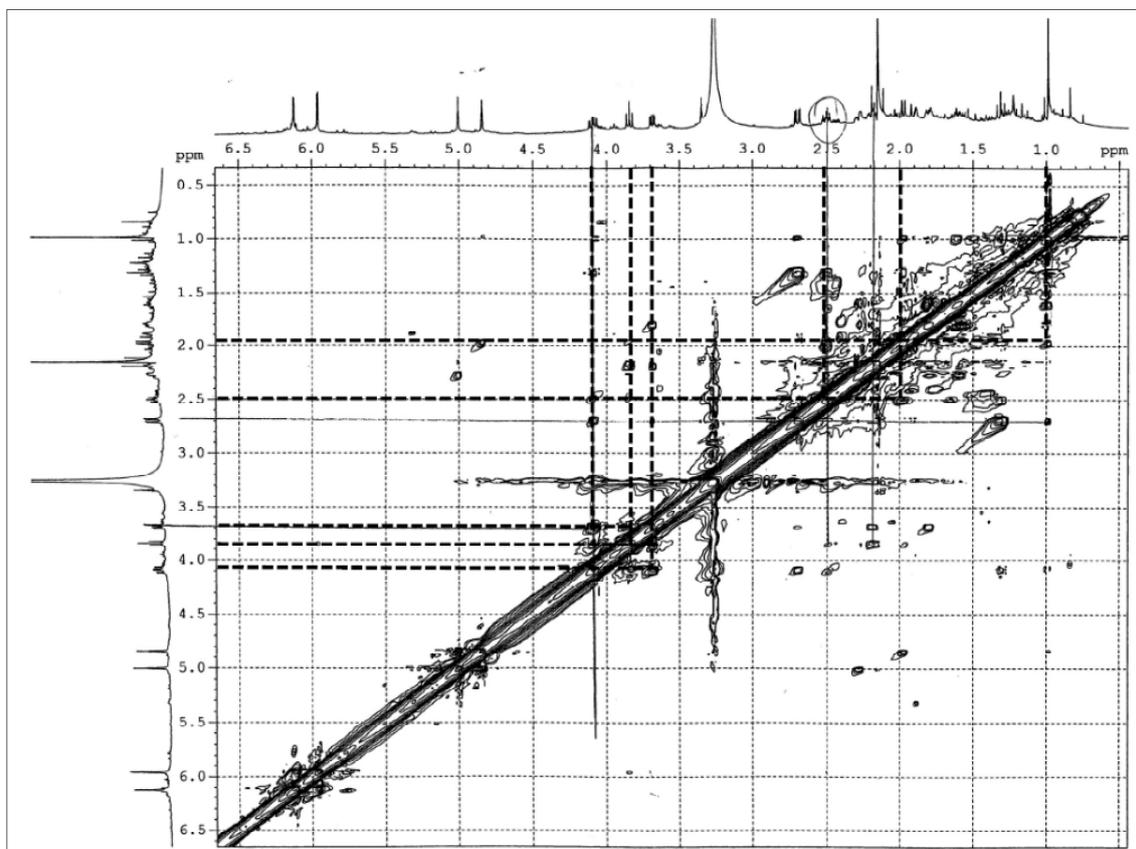


Fig. 20a. Espectro NOESY del compuesto TAv-20

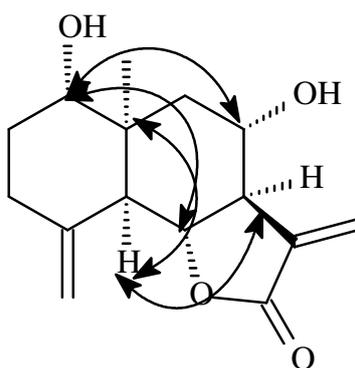


Fig. 20b. Esquema de correlaciones NOESY del compuesto TAv-20

Sustancia TAv-22:

Este producto fue aislado de la fracción V de la cromatografía general. Los datos espectroscópicos y físicos coinciden con los de **1 α ,8 α -dihidroxi,5 α H,10 β -eudesm-3,11(13)-dien,6 α ,12-olida (22)** descrita anteriormente en el estudio *T. ptarmiciflorum* (pag. 126).

Sustancia TAv-23 y 25:

Se aislaron como una mezcla de la fracción IV de la cromatografía general. Los datos espectroscópicos y físicos de esta sustancia coinciden con los de **1 β ,10 α -epoxiespiciformina y 1 α ,10 β -epoxiespiciformina (23) y (25)** respectivamente, aislados en el estudios del *T. ptarmiciflorum* (pag. 130).

Sustancia TAv-26:

Se aisló de la fracción VII de la cromatografía general. Los datos espectroscópicos y físicos de esta sustancia coinciden con los de **3,7,11-**

trimetil-1,5,9-dodecatrien-3,7,11-triol (26), aislados en el estudios del *T.ptarmiciflorum* (pag. 100).

Sustancia TAv-29: Ác. p-hidroxibenzoico

Este producto fue aislado de la fracción VI de la cromatografía general. Los datos espectroscópicos de esta sustancia nos indican que se trata de un ácido carboxílico, como se infiere de su espectro IR que presenta las bandas de absorción características de los grupos hidroxilo (3359 cm^{-1}), así como las bandas anchas del OH del grupo carboxilo centrada a 2918 cm^{-1} y la del grupo carbonilo a 1663 cm^{-1} y doble enlace aromático (1595 cm^{-1}), mientras que el espectro de masas presenta un fragmento del ión molecular a m/z 138, así como las pérdidas del grupo OH (m/z 121) y grupo carbonilo (93) características de la pérdida del grupo carboxílico, que es concordante con una fórmula $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_3$.

El espectro de ^1H -RMN de dicho compuesto (Fig.43) confirma que se trata de un compuesto aromático para disustituido al observarse los dos dobletes característicos a δ 7.89 ($J = 11\text{ Hz}$) y 6.83 ($J = 11\text{ Hz}$).

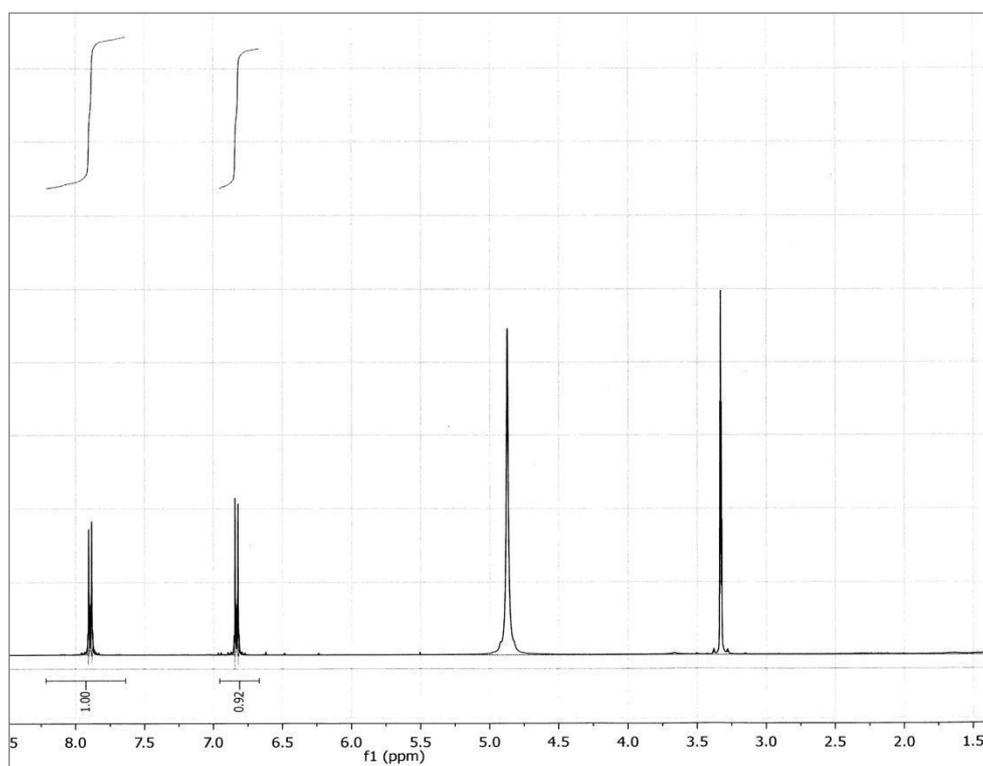
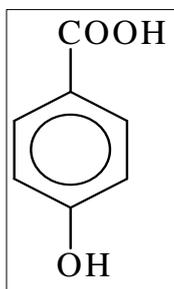


Fig. 43.- Espectro de ^1H -RMN de la sustancia **TAv-29**

Los datos físicos y espectroscópicos fueron coincidentes con los de una muestra auténtica de **ácido p-hidróxidobenzoico**.



29

6.4.- ESTUDIO QUÍMICO *TANACETUM FERULACEUM* var. *latipinum*

PARTE EXPERIMENTAL

Se recogieron las partes aéreas de *Tanacetum ferulaceum* var. *latipinum* el 6 de Marzo de 2009, en el Andén Verde, municipio de Artenara, en las isla de Gran Canaria, recolectando 3,300 kg. La planta fue sometida a un proceso de secado a temperatura ambiente y en entorno oscuro, obteniéndose un peso de material seco de 923 g. Posteriormente se trituró y se extrajo con etanol en caliente en un aparato Soxhlet hasta su total agotamiento. Dicho extracto se concentró por eliminación del disolvente a presión reducida, obteniéndose un residuo viscoso con un peso de 287 g.

El extracto etanólico se disolvió en acetona, reabsorbiéndolo en gel de sílice (0,02-0,5 mm), obteniendo así una mezcla que se empleó como cabeza de la columna húmeda de gel de sílice con el mismo grosor de grano, con finalidad de realizar una percolación. Se utilizaron como eluyentes de la columna distintas mezclas de hexano y acetato de etilo, aumentando la concentración de acetato de etilo, a medida que avanzaba la cromatografía hasta finalizar con acetato de etilo al 100% y finalmente con metanol.

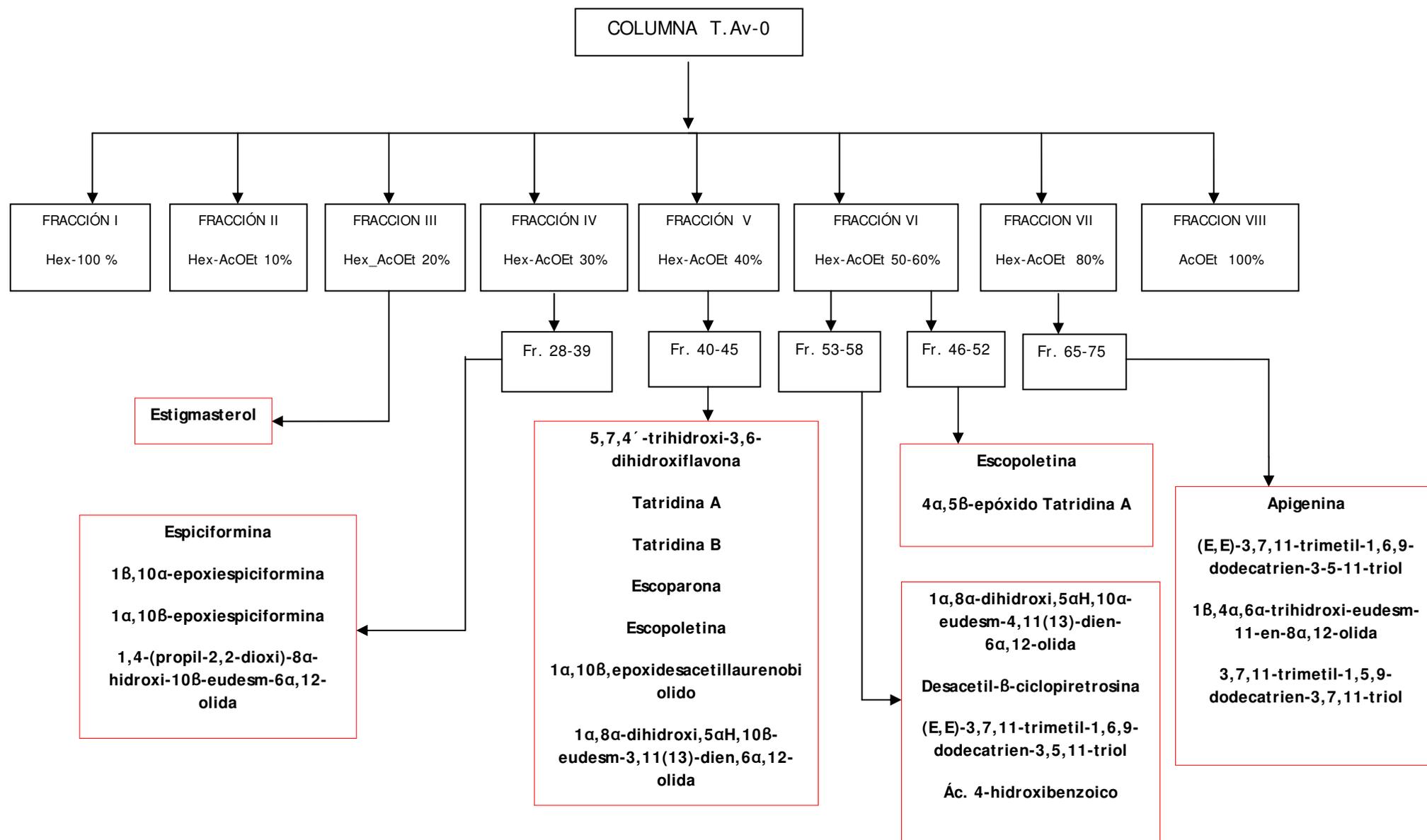
Se recogieron fracciones de aproximadamente un litro cada una, que se fueron agrupando de acuerdo a su similitud en cromatografía en capa fina.

Se indican a continuación el organigrama de las distintas fracciones.

TANACETUM FERULACEUM VAR. LATIPINNUM

(Parte aérea)

ORGANIGRAMA DE FRACCIONES



ORGANIGRAMA DE FRACCIONES

FRACCIONES	ELUYENTES	SUSTANCIAS
FRACCIÓN I: 1	HEXANO 100 %	
FRACCIÓN II:2-15	HEXANO - ACETATO DE ETILO 10 %	
FRACCIÓN III:16-26	HEXANO – ACETATO DE ETILO 20 %	TAv-16
FRACCIÓN IV:27-37	HEXANO – ACETATO DE ETILO 30 %	TAv-9, TAv-18, TAv-23, TAv-25, TAv-29
FRACCIÓN V:38-46	HEXANO – ACETATO DE ETILO 40 %	TAv-2, TAv-3, TAv-4, TAv-5, TAv-7, TAv-13, TAv-22
FRACCIÓN VI:47-57	HEXANO – ACETATO DE ETILO 50 %	TAv-6, TAv-8, TAv-19, TAV-20
FRACCIÓN VII:58-66	HEXANO – ACETATO DE ETILO 60 %	TAv-4, TAv-8, TAV- 19, TAV-20
FRACCIÓN VIII:66-83	HEXANO - ACETATO DE ETILO 80 %	TAv-1, TAV-12, TAv- 19, TAv-26
FRACCION IX:84-90	ACETATO DE ETILO 100 %	

FRACCIÓN III:

En la fracción 9-17 (1,467 g), de la columna general y como eluyente Hex-AcOEt (8:2), se aisló una sustancia por recromatografía y cristalizándola en metanol, y que comparándola con una muestra resultó ser la **sustancia TAv-16**(27 mg).

FRACCIÓN IV:

Esta fracción 27-37 por elución con Hexano-Acetato de etilo (7:3) se obtuvieron a su vez dos fracciones: la primera utilizando como eluyente Hex-AcOEt (7:3) y por sucesivas recromatografías se aislaron: **TA_v-9** (15 mg), **TA_v-18** (9,1 mg), **TA_v-23** (3,2 mg), **TA_v-25** (5,4 mg).

De las fracciones 22-30 y 31-35 (246 mg) recromatografiándose con Be-AcOEt (7:3) mediante varias eluciones se aisló **TA_v-29** (10,3 mg).

FRACCIÓN V:

De la fracción 40-45 (1,20 mg) de la columna general como eluyente Hex-AcOEt (4:1), y por sucesivas cromatografías se aisló **TA_v-2** (34 mg), **TA_v-3** (15,3 mg), **TA_v-44** (10 mg), **TA_v-5** (29 mg), **TA_v-7** (25 mg), **TA_v-13** (8,7 mg) y **TA_v-22** (3,3 mg)

FRACCIÓN VI:

De la fracción 53-58 (1,195 mg) con Hex-AcOEt (3:2), se aislaron **TA_v-6** (11,5mg), **TA_v-8** (11,5 mg), **TA_v-20** (4,2 mg).

De la fracción 34-46 (148 mg) con Be-AcOEt al (7:3), se aisló **TA_v-19** (7,3mg).

FRACCIÓN VII:

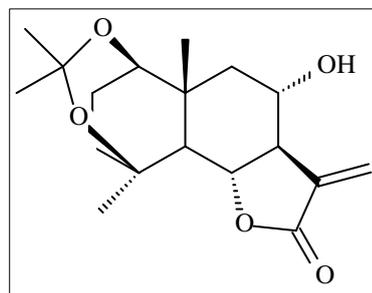
De la fracción 65-75(1,9 g) de la columna general Hex-AcOEt (3:2), aislándose **TA_v-12** (11,2 mg), **TA_v-20** (6,1 mg).

FRACCIÓN VIII:

De la fracción 65-75 (1,9 mg), con Hex-AcOEt (3:2) aislándose **26** (6,1 mg)

Los datos físicos y espectroscópicos de todas estas sustancias, así como las reacciones de formación de derivados y los datos de éstos, los exponemos a continuación.

• **Datos físicos de la sustancia TAv-18**
1,4-(propil-2,2-dioxi)-8 α -hidroxi-10 β -eudesm-12,6 α -olida



Aceite incoloro. $[\alpha]_D^{20} = -127,50^{\circ}$ (c 0.13, CHCl₃)

IR (KBr) ν_{max} : 3425, 2936, 2875, 1751, 1387, 1252, 1195, 1140, 1135, 1035, 980cm⁻¹.

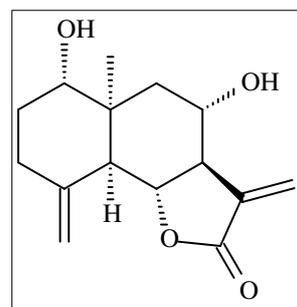
EM (Alta Resolución, HRESIMS) mz : 322.1943 (calc. para C₁₈H₂₆O₅ 322.178024).

¹H-RMN (500 MHz, CDCl₃) y ¹³C-RMN

H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)	Integral	δ (C)
H-1	3,38	dd	4,5; 11,2	1	77.4
H-2,2'	1,73	m	---	2	25.4
H-3,3'	1,67	m	---	2	29.4
H-4	---	---	---		79.1
H-5	1.57	m	---	1	38.7
H-6	4,09	dd (t)	10	1	85.0
H-7	2.53	m	---	1	58.7
H-8	3.89	ddd	3,3; 12,2;15.1	1	66.4
H-9	2,36	dd	3,3; 11.4	1	46.7
H-9'	1.45	t	12	---	---
H-10	---	---	---	---	50.6
H-11	---	---	---	---	168.5
H-12	---	----	---	---	134.2
H-13	6,05	d	3,1	1	120.8
H-13'	5,72	d	2.9	1	---
H-14	0,88	s	--	3	16.3
H-15	1,40	s	---	3	28.0

H - 16	1,32	s	--	3	25,7
H - 17	--	--	--	--	98,6
H - 18	1,48	s	--	3	32,0

- **Datos físicos de la sustancia TAv-20**
(1 α ,8 α -dihidroxi,5 α H,10 α -eudesm-4,11(13)-dien,12,6 α -olida)



Aceite incoloro. $[\alpha]_D^{20} = -195,00^\circ$ (c 0.007, CHCl₃)

IR (KBr) ν_{\max} : 3421, 2939, 2876, 1761, 1395, 1263, 1234, 1169, 1135, 1041, 980, 894cm⁻¹.

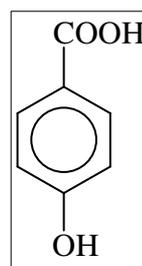
EM (Alta Resolución, HRESIMS) m/z: 264.1525 (calc. para C₁₅H₂₀O₄ 264.136159).

¹H-RMN (500 MHz, CDCl₃) y ¹³C-RMN

H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)	Integral	δ (C)
H - 1	3,69	dd	4,7; 11,5	1	68.5
H - 2	2,30	m	---	1	29.9
H - 2'	1,80	m	---	1	---
H - 3	2,27	m	---	1	32.7
H - 3'	1,61	m	---	1	---
H - 4	---	---	---		143.1
H - 5	1,98	d	10.0	1	62.5
H - 6	3,85	dd	10.1; 10	1	67.3
H - 7	2,51	m	---	1	53.7
H - 8	4,09	dd	3,8; 12,2	1	75.4
H - 9	2,70	dd	3,7; 12,4	1	37.4
H - 9'	1,31	t	12.4	---	---
H - 10	---	---	---	---	41.9
H - 11	---	---	---	---	171.1
H - 12	---	----	---	---	137.5
H - 13	6,12	d	3,1	1	122.5

H - 13'	5,96	d	3.1	1	---
H - 14	0,99	s	--	3	20.6
H - 15	5,01	s	---	1	115.3
H - 15'	4,85	s	---	1	---

- **Datos físicos de la sustancia TAv-29**
(ácido p-hidroxibenzoico)



Sólido amorfo.

IR liquid film ν_{\max} : 3359, 2918, 2891, 2847, 1663, 1595, 1423, 1314, 1287, 1244, 1168 y 932 cm^{-1} .

EM m/z: 138 $[\text{M}]^+$ (64.5), 121 $[\text{M} - \text{OH}]^+$ (100.0), 93 $[\text{M} - \text{COOH}]^+$ (27.7).

EM (Alta Resolución, HRESIMS) m/z: 138.0323, $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_3$ calcd. 138.0317

^1H -RMN (500 MHz, CDCl_3) y ^{13}C -RMN

H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)	Integral	C	δ
-	-	-	-	-	1	123.5
H - 2	6,83	d	11	1	2	133.2
H - 3	7,89	d	11	1	3	116.1
-	-	-	-	-	4	164.1
H - 5	7,89	d	11	1	5	116.1
H - 6	6,83	d	11	1	6	133.2
-	-	-	-	-	C = O	169.9

7. CONSIDERACIONES QUIMIOTAXONÓMICAS

GÉNERO *TANACETUM*

La Quimiotaxonomía se basa en la suposición de que, en los metabolitos secundarios, la relación biológica se refleja en la relación química; aunque algunos tipos de esqueletos son únicos en ciertas tribus, otros están ampliamente distribuidos, con tendencia a ser acumulados.

El aislamiento y elucidación estructural de compuestos químicos de origen natural de plantas endémicas de Canarias, tiene como finalidad la evaluación de la situación taxonómica de las especies estudiadas y la actividad biológicas de los productos aislados.

Una de las principales dudas que plantean los taxonomistas a la hora de considerar los datos químicos que puedan influir en la interpretación sistemática radica en que la investigación fitoquímica con frecuencia se orienta hacia una determinada clase de compuestos con la exclusión de otra clase de metabolitos. Así, como es el caso de nuestro estudio, cuando solo se informa de las lactonas sesquiterpénicas de una especie o un género, esto no significa necesariamente que otro tipo de compuestos como flavonoides, sesquiterpenos o diterpenos están necesariamente ausentes. El hecho de que a menudo no se informe sobre la presencia de otros componentes, es debido en la mayoría de los casos, a las técnicas utilizadas para la preparación de extractos de planta, la sensibilidad de los procedimientos analíticos, la cantidad de material disponible, las partes de plantas examinadas, o simplemente la paciencia y la habilidad del investigador. Normalmente, las investigaciones posteriores de las especies de un mismo género llevan a reevaluación de su potencial biosintético.

No se puede negar que a veces los datos químicos pueden presentar algunos problemas, pero también hay que reconocer que pueden proporcionar algunas ventajas únicas para los fines de la sistemática. Cuando se identifica un determinado compuesto químico en una especie, este representa una característica inequívoca de la misma. Pero además, a menudo es posible dentro de una determinada clase de compuestos químicos relacionar unos con otros en términos biosintéticos. En el caso de la **Asteraceae** se dispone de buenas hipótesis que permiten explicar la biogénesis de los productos naturales elaborados por este grupo de plantas. A partir de estos datos se pueden interrelacionar más directamente aquellas características fitoquímicas

de una forma interpretable más directa que para otro tipos de datos taxonómicos. De esta manera y sobre la base de la biosíntesis sería posible interpretar el hecho de que compuestos que a priori parecería que no están relacionados, sin embargo, la transformación de uno en otro se hace evidente.

Los caracteres químicos han proporcionado valiosos datos que han ayudado a una mejor clasificación de los taxones dentro de la familia **Asteraceae**, a diferentes niveles jerárquicos. Por ejemplo, en una revisión de lactonas sesquiterpénicas dentro de la familia, Seaman⁹⁴ describe una serie de ejemplos dentro de **Heliantheae**, **Senecioneae**, y otras tribus donde este tipo de compuestos corroboran realinamientos taxonómicos o disposiciones basadas en otras pruebas a niveles tanto genericos (**Ambrosia** y **Franseria**), como de subtribu (**Stegesbeckia** dentro de **Melanpodiinae**), e incluso de tribus (**Arnica** y **Neurolaena** dentro de **Senecioneae**). De estos y otros ejemplos se pone de manifiesto que los datos químicos pueden ser de utilidad para delimitar grupos naturales, así como nuevos caracteres que podrían hacerlo allí donde la información es ambigua. Esto no significa que los datos químicos deban probar necesariamente que los caracteres sean fiables en todos los casos.

Recientes estudios basados en análisis de variación de la secuencia de ITS y de *ndhF* permiten a Oberpreiler⁹⁵ proponer una nueva clasificación de las subtribus de **Compositae-Anthemideae**. La discusión de los análisis de filogenética molecular en combinación con evidencias morfológicas, anatómicas, citológicas, embriológicas y fitoquímicas da como resultado el reconocimiento de 14 subtribus, aunque algunos géneros presentan problemas de clasificación o presentan evidencias moleculares ambiguas.

La subtribu **Anthemidinae** es la segunda más grande dentro de **Anthemideae** conteniendo a los géneros ricos en especies como **Anthemis** (175 especies) y **Tanacetum** (154 especies). Mientras que la circunscripción de la subtribu como monofilética está bastante clara basado en las conclusiones embriológicas, las delimitaciones genericas y las relaciones filogenéticas dentro de la subtribu permanecen sin resolver.

⁹⁴ Seaman FC. (1982). *The Botanical Review*. **48**(2). 123-595.

⁹⁵ Oberpreiler C et al. (2007). *Willdenovia*. **37**, 89-114.

A pesar de la evaluación de Bremer y Humphries⁹⁶ de que "hay varios géneros segregados y grupos de géneros, posiblemente incluso subtribus enteras, que están relacionadas con partes de *Tanacetum* convirtiéndolo en un género altamente parafilético", estudios de filogenética molecular, incluyendo los realizados hasta ahora basados en la variación de secuencia ITS con un cierto número de especies incluido *Tanacetum*⁹⁷, han puesto de manifiesto que los representantes del Mediterráneo y suroeste asiático del género están estrechamente relacionados entre sí.

Todos estos estudios han puesto de manifiesto que algunas especies han de ser separadas y transferidas a otros géneros para constituir un género *Tanacetum* monofilético tomando como referencia *T. vulgare*. Estudios realizados tomando a este como referencia, tanto en plantas silvestres como cultivadas y con una variada distribución geográfica, han puesto de manifiesto el predominio de lactonas sesquiterpénicas con esqueleto germacrano entre los cuales se encuentran al menos tres germacranolidos: Tatridina A, Tatridina B y/o Tamirina y Espiciformina. Estos tipos de germacranolidas así como sus moléculas isoméricas han sido encontrados en otras especies recolectadas en diferentes lugares en las cuales se han detectado también la presencia de lactonas con esqueleto tipo eudesmanolida. Este es el caso de diferentes especies como *T. argenteum*, *T. argyrophyllum*, *T. cadmeun*, *T. densum*, *T. polycephalum*, *T. praeteritum*, *T. pseudoachillea* y *T. vulgare*.

Otro grupo de especies de este género presentan por el contrario un predominio de estructuras tipo guayanolida, las cuales se consideran derivadas de guayanolidas del grupo matricarina, como son *T. annuum*, *T. cilicium*, *T. macrophyllum*, *T. santolina*, *T. fruticosum*, *T. longifolium*.

Las germacranolidas y particularmente las guayanolidas son predominantes en la familia *Asteraceae*, pero las eudesmanolidas se han reportado también en otros géneros, entre los que destacan los *Tanacetum*.

⁹⁶ Bremer y Humphries (1993). *Bulletin of the Natural History Museum of London (Botany)*. **23**, 71-177.

⁹⁷ Oberpreiler C, et al.(2005). *Taxon*. **54**, 951-966.

Desde un punto de vista biogénico (Fig. 44), un proceso evolutivo de adaptación a los diferentes nichos ecológicos determina la elaboración de los

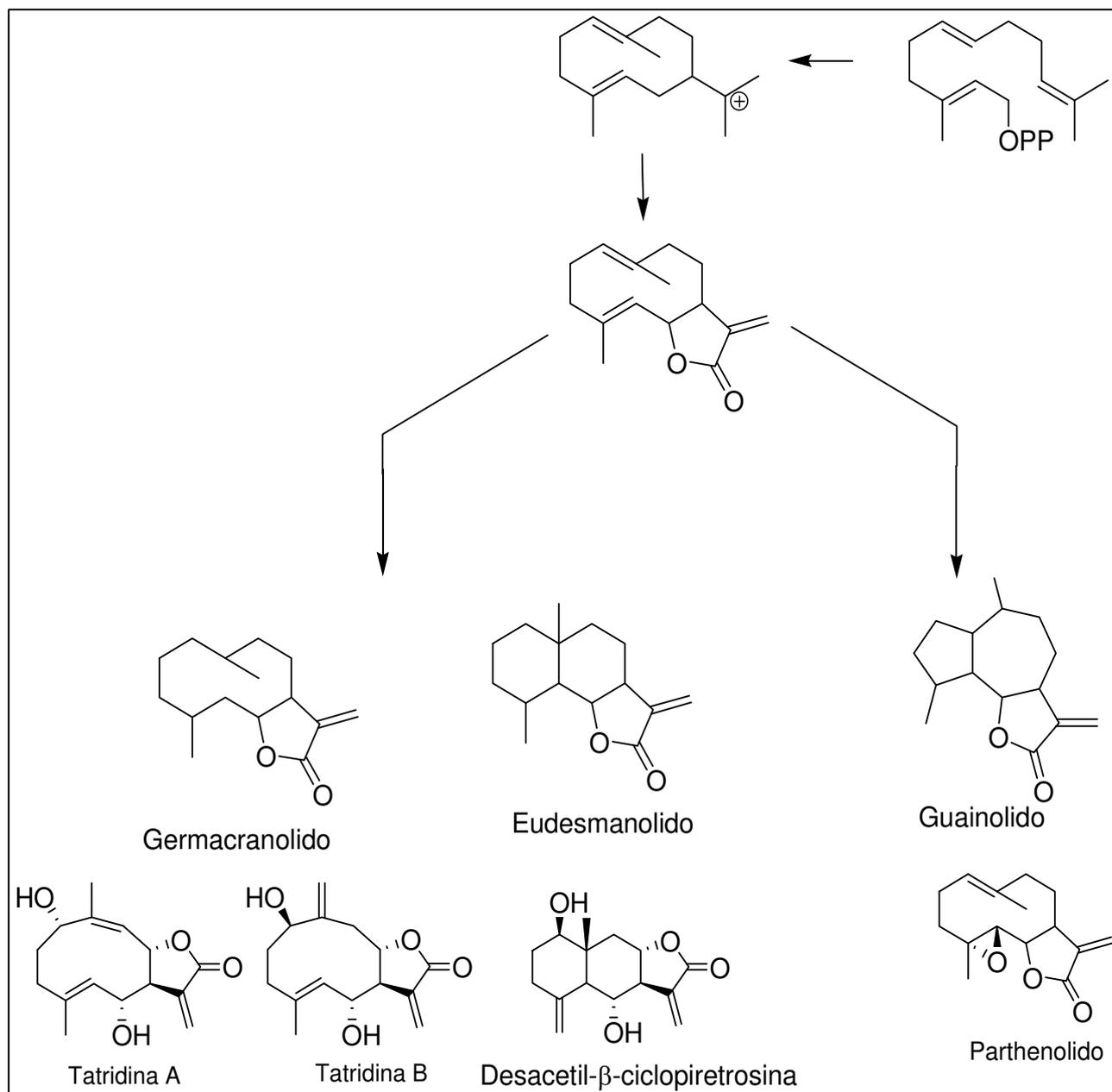


Fig.44.- Posible ruta biosintética de Lactonas Sesquiterpénicas.

diferentes tipos de lactonas partiendo de un sesquiterpeno germacrano, considerándose de hecho que la ocupación de hábitats más secos lleva aparejado un incremento en la complejidad de la síntesis de lactonas

sesquiterpénicas. Todo este proceso de establecimiento de relaciones entre especies está condicionado por las divergencias relativamente rápidas que se producen en los caracteres y taxones durante el proceso de adaptación, y a los diversos tipos de convergencia que pueden aparecer durante la evolución del taxón. En estos casos, los caracteres químicos y en particular las lactonas sesquiterpénicas pueden ser de gran ayuda.

Dentro de las lactonas sesquiterpénicas, las germacranolidas se consideran que son las precursoras de los otros tipos de esqueletos como eudesmanolidas y guayanolidas. Estudios de ciclación ácida inducida de germacranolidas o de los correspondientes monoepóxidos son generalmente aceptados como procesos biomiméticos representativos de la biosíntesis de lactonas sesquiterpénicas tipo eudesmano y guayano. Estudios biosintéticos llevados a cabo sobre 4,5-epoxi y 1,10-epoxigermacra-8,12-olidas han puesto de manifiesto que a partir de los germacrano con un grupo epóxido en posición 4,5 es posible obtener lactonas sesquiterpénicas de tipo guayanolido. Mientras que a partir del epóxido en posición 1,10 y dependiendo de la estereoquímica del anillo epóxido sobre los C-1/C-10, permitía obtener lactonas sesquiterpénicas tipo eudesmanolido⁹⁸.

De la revisión realizada del estudio químico de las diferentes especies de **Tanacetum** podemos observar que en aquellas especies en las cuales están presentes las Tatrindinas A y B y sus derivados isoméricos existe un claro predominio de los esqueletos tipo germacranolida y eudesmanolida, mientras que, en aquellas especies en las que el germacrano predominante es el Parthenolido, se encuentra presente y en algunos casos es predominante el esqueleto tipo guayanolida.

⁹⁸ Roselli S, Maggio A, Raccuglia RA, Bruno M.(2010). *European Journal of Organic Chemistry*. 3093-3101.

Además nos encontramos con otro grupo de especies que no podemos asociar a los grupos antes mencionados, por lo cual se requiere un estudio más exhaustivo de los metabolitos secundarios presentes.

La similitud en cuanto al contenido de lactonas sesquiterpénicas presentes en las especies estudiadas en esta memoria de Tesis y su relación con otras especies dentro del género *Tanacetum* están relacionadas con *T. vulgare*, caracterizadas por la presencia de lactonas sesquiterpénicas de tipos germacrano y eudesmano, podría servir de gran ayuda a la hora de delimitar las relaciones dentro del género, sino también con los géneros endémicos canarios *Gonospermum* y *Lugoa*^{72,99-103}, puesto que no solamente es el hecho de considerar la presencia de las mismas lactonas, sino que en todas las especies la acumulación de estos metabolitos lleva implícito el mismo patrón de compuestos biogenéticamente similares, lo cual constituye un argumento indispensable desde el punto de vista quimiotaxonómico. Por todo ello, la aportación de los datos químicos de las distintas especies podría servir como una herramienta más a la hora de delimitar la clasificación taxonómica de las especies canarias.

⁹⁹ Francisco Ortega J, Barber JC, Santos-Guerra A, Febles Hernández R, Jansen RK .(2001), *An J, Bot.* **88**, 161-169.

¹⁰⁰ Triana J, López M, Eiroa JL, González A, Bermejo J. (2000). *Biochem. Syst. Ecol.***28**. **95-96**.

¹⁰¹ Triana J, Eiroa JL, López M, Ortega JJ, González A, Bermejo J. (2001). *Biochem Syst. Ecol.***29**. 869-871.

¹⁰² Triana J, López M, Rico M, González J, Quintana J, Estévez F, León F, Bermejo J.(2003). *J. Nat. Prod.***66**. 943-948.

¹⁰³ Triana J, Eiroa JL, Ortega JJ, León F, Brouard I, Torres F, Quintana J, Estévez F, Bermejo J. (2008). *J. Nat. Prod.***71**. 2015-2020.



Asteriscus intermedius



Asteriscus schultzei



Asteriscus sericeus



Asteriscus graveolens var. stenophyllus

8. GÉNERO *ASTERISCUS*

8.1.-DESCRIPCIÓN DEL GÉNERO

Dentro de la familia *Asteraceae*, la tribu *Inuleae* comprende alrededor de unos 200 géneros y unas 2000 especies, estando ampliamente representada en la flora europea (Fig. 45). Este grupo comprende un total de 33 géneros distintos, y de ellos están presentes en Canarias con cierto grado de endemismo seis: *Allagopappus*, *Asteriscus* (*Nauplius*), *Phagnalon*, *Pulicaria*, *Schizogyne* y *Vieraea*.

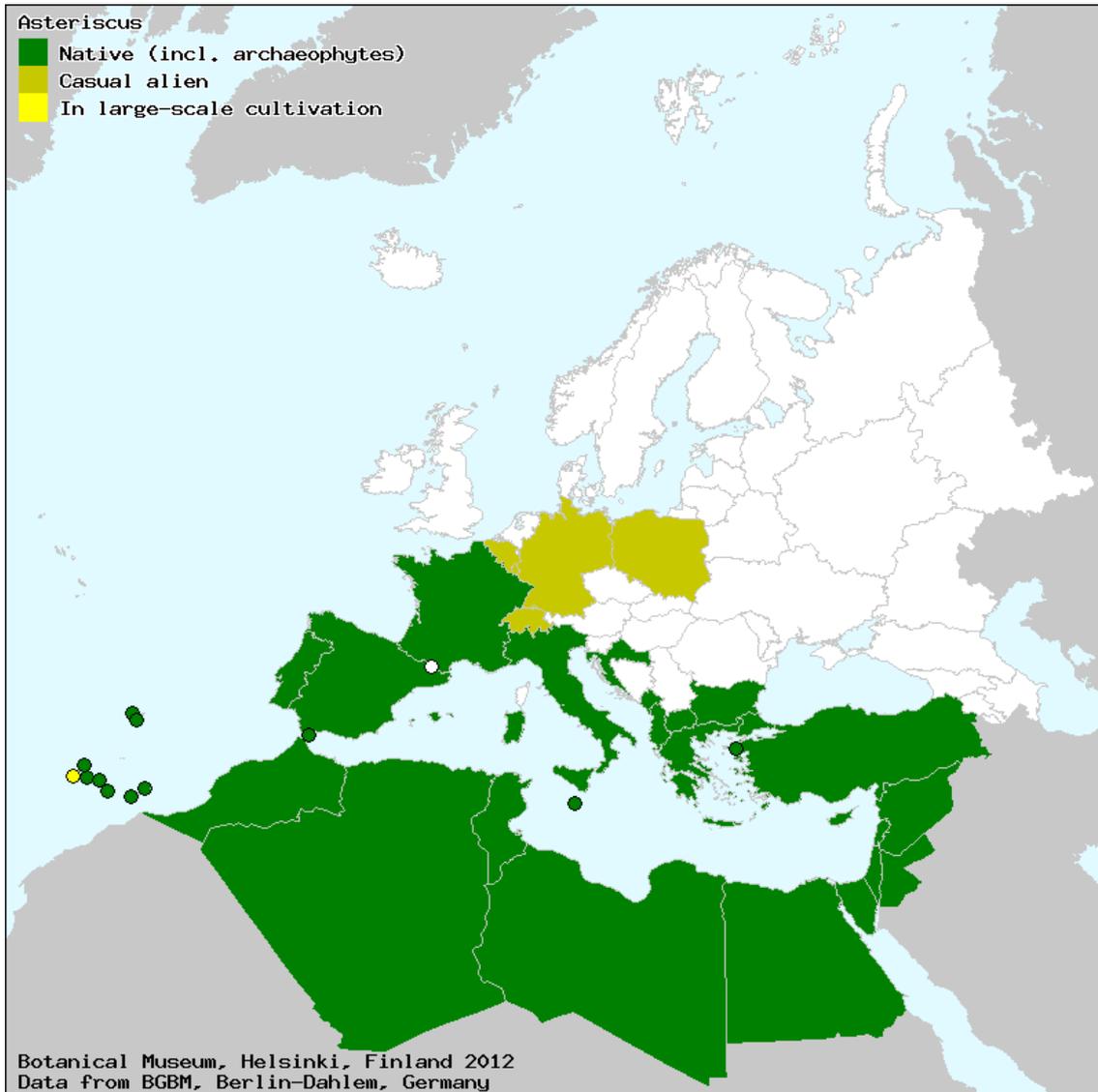


Fig. 45.- DISTRIBUCIÓN GÉNERO *ASTERISCUS*

DESCRIPCIÓN BOTÁNICA DEL GÉNERO.

Se diferencian dentro de la familia **Asteraceae** por ser plantas arbustivas, en las que los capítulos poseen flósculos y lígulas de color amarillo o blanquecino. Las brácteas involucrales externas son foliares y el receptáculo poseen escamas. Todas las cipselas son iguales, con un vilano con escamas muy pequeñas y apenas visibles.

Nuestro trabajo se centra en la tribu **Inuleae** y concretamente en el género **Asteriscus (Nauplius Cass)**, principalmente de distribución Macaronésica, Mediterránea y Norte de África. Este género ha sido muy controvertido, recogiendo a continuación las distintas propuestas taxonómicas.

Inicialmente se le denominó **Bubonium** y **Odontospermum**. La denominación **Odontospermum** es muy dudosa y poco clara.

Se estableció la distinción de dos géneros, **Asteriscus** y **Nauplius**¹⁰⁴ en el que se proponía en el género **Asteriscus** tres especies:

- **Asteriscus maritimus** (L.) Less.
- **Asteriscus hierochunticus** (Michon) Wikl.
- **Asteriscus spinosus** (L.) Sch. Bip.

Aunque inicialmente el género **Asteriscus** y **Pallensis** se consideraron diferentes, posteriormente se estableció la sinonimia entre ambos, quedando como **Asteriscus**.

¹⁰⁴ Wiklund, A. (1985). *Nordic. J. Bot.* 5(4).

El género *Nauplius*¹⁰⁶ (Cass) se estableció principalmente con una distribución Norte Africana y Macaronésica. Son reconocidas ocho especies :

- ***Nauplius aquaticus*** (Cass.) Cass.
- ***Nauplius daltonii*** (Webb) Wikl.
- ***Nauplius graveolens*** (Forssk.) Wikl.
- ***Nauplius imbricatus*** (Cav.) Wikl.
- ***Nauplius intermedius*** (Webb)
- ***Nauplius schultzi*** (Bolle) Wikl.
- ***Nauplius sericeus*** L.f.) Cass.
- ***Nauplius smithii*** (Webb) Wikl.

Anderberg¹⁰⁷ establece la separación entre los géneros ***Asteriscus*** y ***Nauplius***, basándose en características morfológicas (***Nauplius*** con cipselas con cavidades secretoras marginales y ***Asteriscus*** sin estas cavidades). Los estudios moleculares han sido valiosos para justificar a nivel taxonómico las diferencias entre estos dos géneros.

En Canarias, solamente se proponen tres especies incluidos en el género ***Asteriscus***, mientras ocho especies lo fueron en el género ***Nauplius***.

- ***Asteriscus aquaticus*** (L.) Less, especie de carácter mediterráneo, probablemente nativo en Canarias.
- ***Asteriscus maritimus*** (L.) Less, citada para Lanzarote.
- ***Asteriscus hierochunticus*** Coss & Durr. Para Fuerteventura y se referirá a una introducción casual.

¹⁰⁶ Wiklund, A. (1987). *Nord. J. Bot.* **7**(1), 1-23.

¹⁰⁷ Anderberg AA. (1991). *Plant Syst. Evol.* **176**(1-2), 75-123.

El género **Nauplius**, que se denomina comúnmente “Jorjado”, “Jorja”, “Tojía”, “Jorada”, “Joriada” “Jorao”, etc. incluye las siguientes especies según Bramwell¹⁰⁸:

- **Nauplius sericeus** (L. fil.) Cass. Alcanza los 75 cm de altura, hojas blandas, verde-grisáceas y vellosas, espatuladas y cabezas floríferas de color amarillo intenso. Común localmente en zonas rocosas y montañosas de Fuerteventura: Jandía, Betancuria, región de la costa Norte, del nivel del mar a los 700 m. Endémico. Apreciada en jardinería.
- **Nauplius intermedius** Webb. Subarbusto leñoso con hojas oblanceoladas blancas, velludas, de color verde grisáceo; flores amarillas. En Lanzarote frecuente localmente en la región norte del macizo de Famara y hacia la costa de Jameos del Agua, 100-700 m. Endémico.
- **Nauplius stenophyllus** (Link). Suarbusto compacto hasta 50 cm de altura, con hojas linear-oblanceoladas, flores de amarillo dorado.

Común localmente en regiones del Sur de Gran Canaria en laderas rocosas secas, de Tirajana a Mogán, Veneguera, Tasartico, 50-500 m. Endémico. Se le conoce como la “Botonera”, y se ha descrito una variedad con hojas muy estrechas del Bco de Arguineguín, *var. filifolium* **Kunkel**.

- **Nauplius odorus** Sch. Bip. Subarbusto con ramificación abierta y hojas angostas. Común en la isla de Gran Canaria particularmente en las laderas secas del Este y Noreste de 50-600 m. Parece ser un elemento de distribución canario-marroquí. Endémica de Marruecos.

¹⁰⁸ Bramwell, D., Bramwell, Z. (2001) Flores Silvestres de las Islas Canarias. Ed. Rueda.

- ***Nauplius schultzii*** (Bolle) Wikl. En la costa norte de Fuerteventura entre Toscón y Corralejo y en Lanzarote en rocas costeras de la Playa de Famara, Riscos de Famara desde el nivel del mar hasta los 100 m. Guatiza, Teguisse, muy local. Se ha citado en lugares costeros de Marruecos.
- ***Nauplius daltonii ssp. vogelii*** y ***Nauplius smithii*** en el archipiélago de Cabo Verde.

Además se cita ***Nauplius imbricatus*** (Cav.) Wikl. endémico del litoral marroquí.

Del estudio de relaciones filogenéticas basados en estudios morfológicos y número de cromosomas, se establecen las siguientes especies^{2,109,110}:

- ***Asteriscus sericeus*** – Islas Canarias
- ***Asteriscus intermedius*** – Islas Canarias
- ***Asteriscus graveolens ssp. stenophyllus*** – Islas Canarias
- ***Asteriscus schultzii*** – Islas Canarias y Marruecos
- ***Asteriscus smithii*** – Islas de Cabo Verde
- ***Asteriscus daltonii ssp. vogelii*** – Islas de Cabo Verde
- ***Asteriscus graveolens ssp. graveolens*** – Norte Africano

¹⁰⁹ Ortega, J.F., et al. (1999). *Systematic Botany*. **24**(2), 249-266.

¹¹⁰ Göertzen, L. et al (2002) . *Combined Nuclear and Chloroplast Data. Systematic Botany*. **27**(4), 815-823.

- ***Asteriscus graveolens ssp. odorus*** – Marruecos
- ***Asteriscus imbricatus*** – Marruecos
- ***Asteriscus aquaticus*** – Mediterráneo
- ***Pallenis spinosa*** – Mediterráneo
- ***Pallenis marítima*** – Mediterráneo Oeste
- ***Pallenis hierochuntica*** – Norte Africano y Medio Este

Más recientemente, se ha propuesto por Anderberg¹¹¹ dentro la tribu *Inuleae*, el género *Asteriscus* (*A. imbricatus*, *A. schultzii*, *A. aquaticus*, *A. daltonii*, *A. graveolens*, *A. intermedius*, *A. sericeus* y *A. smithii*) y *Pallenis* (*P. spinosa*, *P. hierochuntica* y *P. marítima*).

El género *Nauplius* es considerado sinónimo de *Asteriscus*^{2,112} (Fig. 46) de tal manera que incluye en este género las siguientes especies:

- ***Asteriscus sericeus*** – Islas Canarias
- ***Asteriscus intermedius*** – Islas Canarias
- ***Asteriscus schultzii*** – Islas Canarias y Marruecos
- ***Asteriscus smithii*** – Islas de Cabo Verde
- ***Asteriscus daltonii ssp. vogelii*** – Islas de Cabo Verde
- ***Asteriscus graveolens ssp. graveolens*** – Norte Africano
- ***Asteriscus graveolens ssp. odorus*** – Marruecos
- ***Asteriscus graveolens ssp. stenophyllus*** – Islas Canarias
- ***Asteriscus imbricatus*** – Marruecos
- ***Asteriscus aquaticus*** – Mediterráneo

¹¹¹ Anderberg, A. *Inuleae* en V.A. Funk, A. Sunnana, T.F. Systematic, Evolution and Biogeography of Compositae. 1ª Ed. Stuessy and R.J. Bayer(eds.)

¹¹² Botanischer Garten und Botanisches Museum Berlin-Dahlem, Freie Universität Berlin Euro+Med (2006): Euro+Med PlantBase. En: <http://ww2.bgbm.org/EuroPlusMed>. [Junio 2012].

También indica para el género *Pallenis*:

- *Pallenis spinosa* – Mediterráneo
- *Pallenis marítima* – Mediterráneo Oeste
- *Pallenis hierochuntica* – Norte Africano y Medio Este

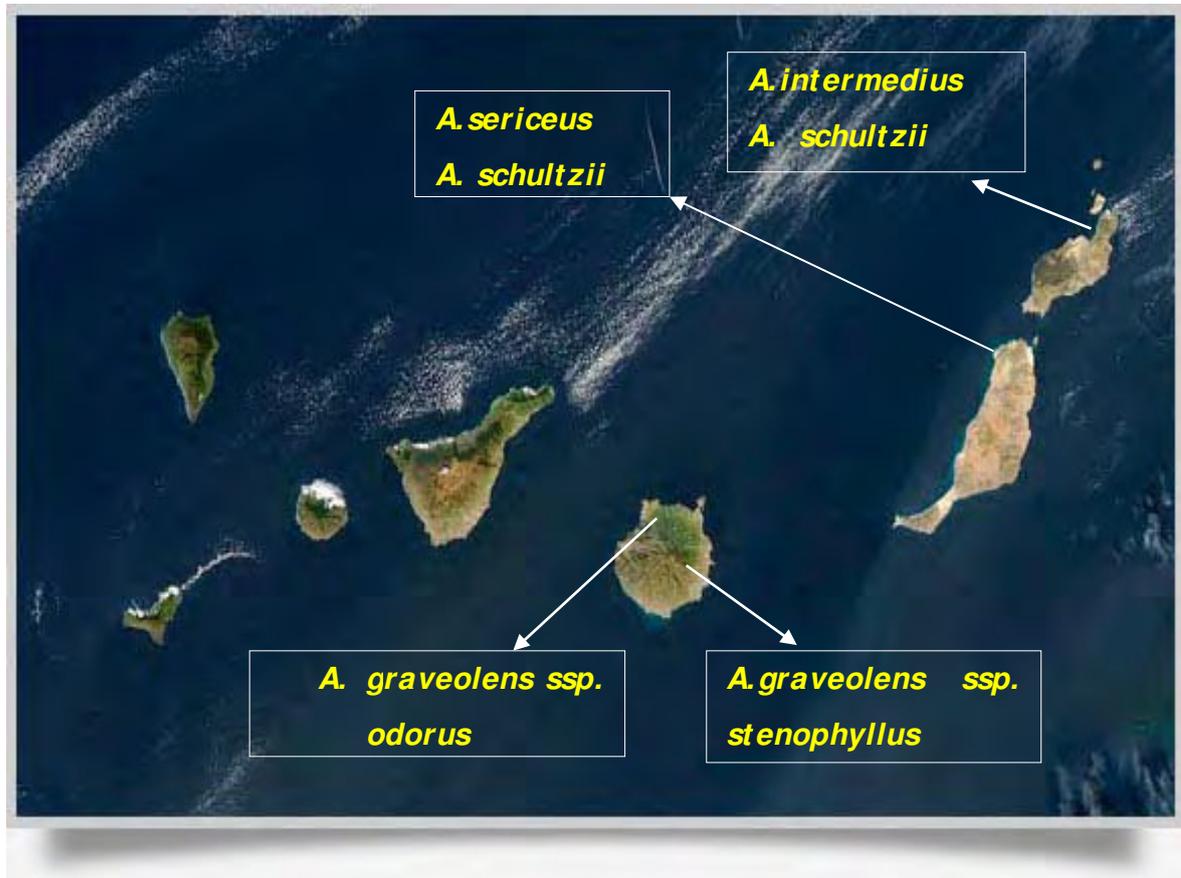


Fig. 46. Distribución del Género *Asteriscus* en las Islas Canarias

Podemos deducir de las últimas propuestas, la desaparición del género *Nauplius* siendo sinónimo del género *Asteriscus* y diferenciándose del género *Pallenis*, incluido inicialmente en el género *Asteriscus*.

Además, de la revisión bibliográfica de los metabolitos secundarios de ambos géneros, observamos que las especies del género *Asteriscus* reportan la presencia de lactonas sesquiterpénicas tipo humulano (Asteriscunolidos A-D) y sus correspondientes hidroxiácidos, que indican la importancia de las

lactonas desde el punto de vista quimiotaxonómico, así como aquatólido, flavonoides, hidroperóxidos de bisabolano, y derivados del farnesol y timol. Sin embargo, la química del género ***Pallenis*** continen otros tipos de constituyentes: sesquiterpenos tipo germacranos y derivados, oplopanonas, etc.

8.2.- ETNOFARMACOLOGÍA

Las lactonas sesquiterpénicas constituyen un grupo de sustancias denominadas como “*principios amargos*” de las farmacopeas tradicionales , debido a su naturaleza de terpeno y lactona. La terapéutica actual no suele utilizar las drogas con lactonas sesquiterpénicas, y aunque las medicinas populares recurren a ciertas especies amargas, son escasas aquellas en la s cuales se ha podido demostrar su actividad real. Esto no es óbice para despreciar el interés potencial de las lactonas sesquiterpénicas, especialmente como citotóxicos y antitumorales.

Los terpenos se agrupan según en número de átomos de carbono del esqueleto carbonado, siempre múltiplo de cinco. Fue Ruzicka en 1953, proporcionó la regla del isopreno biogenético, lo que supone que cada subgrupo de terpenos deriva de un único compuesto padre o precursor. A partir del ácido mevalónico, podemos interpretar la biosíntesis de los terpenos.

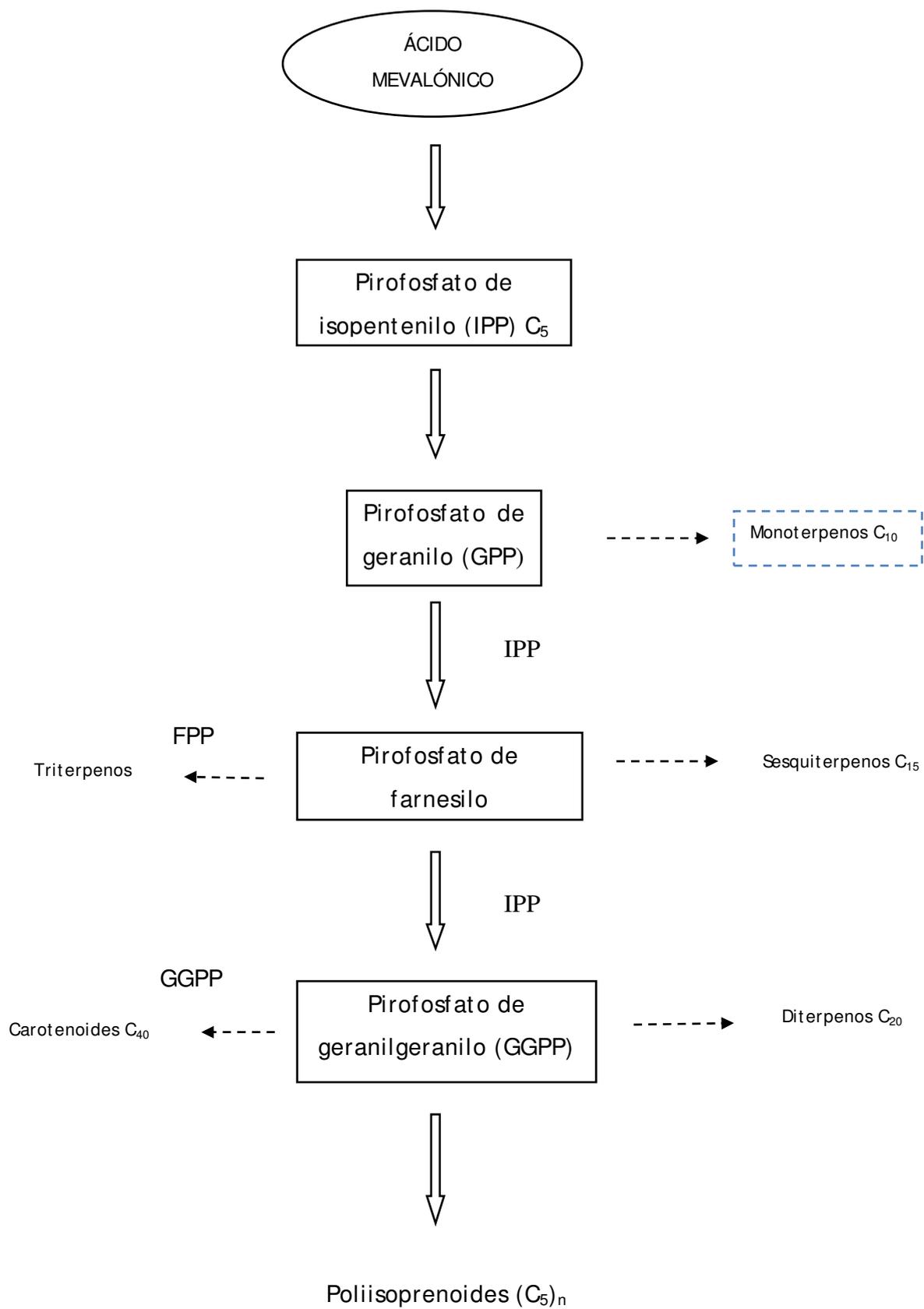


Fig. 47.- Esquema de formación de terpenos

Vamos a considerar cómo se forman algunos de los tipos estructurales que encontramos en los sesquiterpenos:

El doble enlace cercano al grupo pirofosfato puede adoptar una configuración *E* (*trans*) o *Z* (*cis*), de tal manera que 2E,6E-farnesilo (2E,6E-FPP) se interconvierte con facilidad con el pirofosfato de 6E-nerolidilo (Cación Z,E-farnesilo o nerolidilo). Estos dos últimos explican la formación de numerosos sesquiterpenos cíclicos cuya biogénesis, por motivos estéricos, no sería posible a partir del 2E,6E-FPP y los carbocationes correspondientes pueden dar lugar a diferentes plegamientos de la cadena y por tanto a los diferentes esqueletos encontrados. Así, con una configuración *E,Z* en el catión farnesilo se puede originar, entre otros, el catión bisabolilo. El catión *E,E*-farnesilo conduce a un ciclo de once miembros, el catión humulilo, o bien a una estructura tipo germacrano (Fig. 47 y 48).

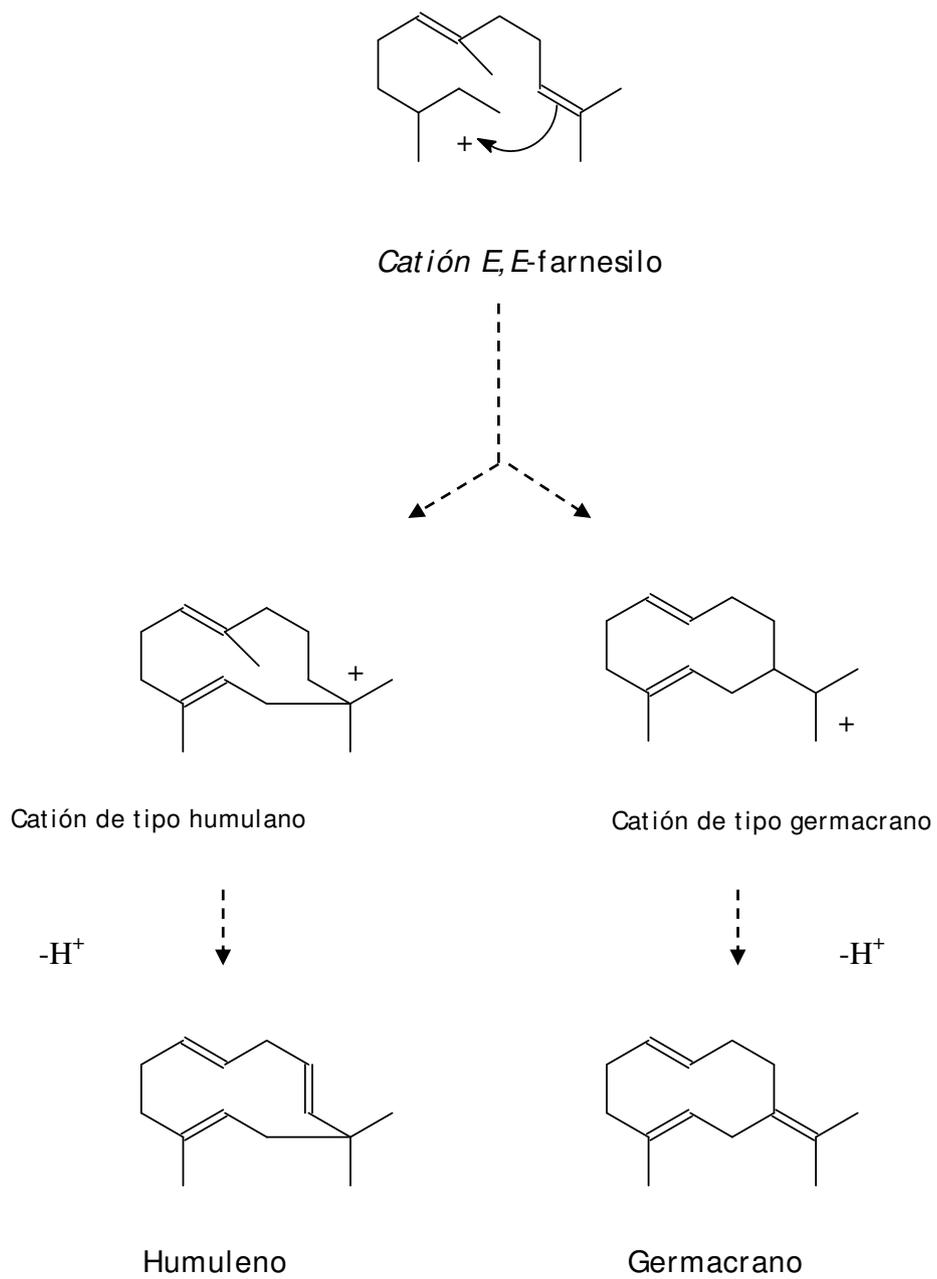
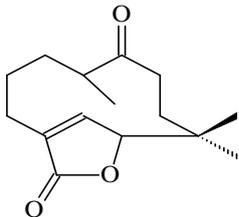
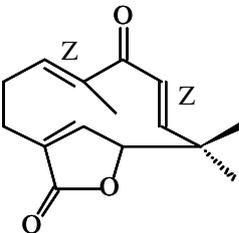
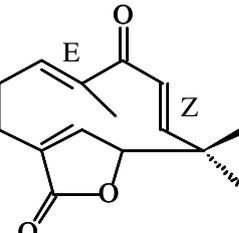


Fig. 48.- . Esquema de formación de esqueletos de Sesquiterpenos.

8.3.- REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA DE LACTONAS SESQUITERPÉNICAS DEL GÉNERO *ASTERISCUS*

TIPO HUMULANOLIDO			
NOMBRE	ESTRUCTURA	ESPECIE	REF
8-oxo-6,7,9,10,- tetrahydrohumulen -1,12-olido		<i>Asteriscus vogelii</i> <i>Asteriscus schimperi</i>	113 119
Asteriscunolido A		<i>Asteriscus vogelii</i> <i>Asteriscus aquaticus</i> <i>Asteriscus graveolens</i> <i>Asteriscus sericeus</i> <i>Nauplius graveolens</i> <i>subsp. odoratus</i> <i>Nauplius intermedius</i>	113 113,114 113,117 117 120 115
Asteriscunolido B		<i>Asteriscus aquaticus</i> <i>Nauplius graveolens</i> <i>subsp. odoratus</i> <i>Nauplius intermedius</i> <i>Asteriscus sericeus</i>	114 120 116 117

¹¹³ Rauter, A. P., Branco, I., Bermejo, J., González, A.G., García-Grávalos, M., San Feliciano, A. (2001). *Phytochemistry*, **56**, 167-171.

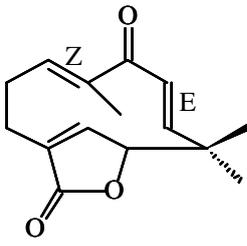
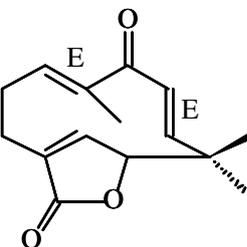
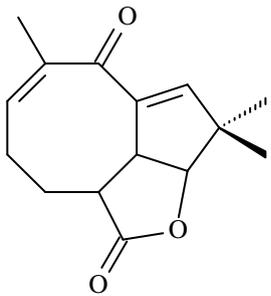
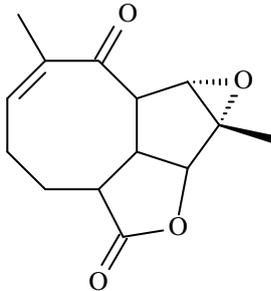
¹¹⁴ San Feliciano, A., Barrero, A.F., Medarde, M., Miguel del Corral, J.M. (1984). *Tetrahedron*, **40**(5), 873-878.

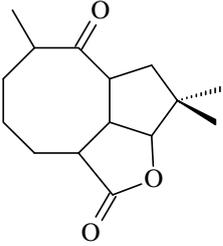
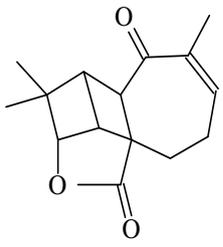
¹¹⁵ Chaari, A., Jannet, H.B. Mighri, Z., Robinot, C., Kunesch, N. (2001). *Natural Products Letters*. **15**(6), 419-423

¹¹⁶ Bohlman, F., Pauls, A. (1992). *Phytochemistry*. **31**(5), 1663-1665.

¹¹⁷ Jakupovic, J., Lehman, L., Bohlman, F., Arroyo Hogdson, A. (1987). *Phytochemistry*. **26**(10), 2854-2855.

¹¹⁸ San Feliciano, A., Barrero, A.F., Medarde, M., Miguel del Corral, J.M., Aramburu, A. (1985). *Tetrahedron Letters*. **26** (19). 2369-2

Asteriscunolido C		<i>Asteriscus vogelii</i> <i>Asteriscus aquaticus</i> <i>Asteriscus graveolens</i> <i>Asteriscus sericeus</i> <i>Nauplius graveolens</i> <i>subsp. odorus</i> <i>Nauplius intermedius</i> <i>Asteriscus schimperi</i>	113 114 113,118 117 121 116 120
Asteriscunolido D		<i>Asteriscus vogelii</i> <i>Asteriscus aquaticus</i> <i>Asteriscus graveolens</i> <i>Asteriscus sericeus</i> <i>Nauplius graveolens</i> <i>subsp. odorus</i> <i>Asteriscus schimperi</i> <i>Asteriscus sericeus</i>	113 114,115 113,118 117 121 120 117
6,7,9,10-tetra dehydroasteris canolide		<i>Nauplius graveolens</i> <i>subsp. odorus</i> <i>Nauplius aquaticus</i> <i>Asteriscus schimperi</i>	 121 115 120
Naupliolide 14,15-dimetil7,13- dioxotriciclic(6.4.0 .0)dodeca-12,13- olide		<i>Nauplius graveolens</i> <i>subsp. odorus</i>	121

Asteriscanolido		<i>Asteriscus aquaticus</i>	119
Aquatolido		<i>Asteriscus aquaticus</i>	115

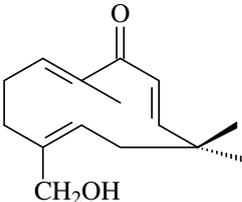
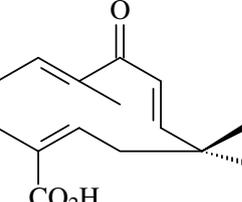
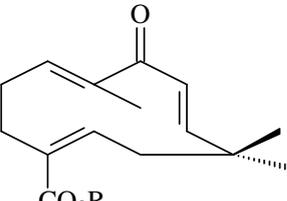
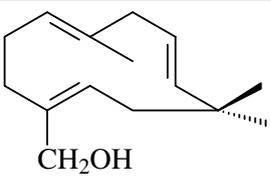
¹¹⁹ El Dahmy, S., Jakupovic, J., Bohlmann, F., Sarg, T.M. (1985) *Tetrahedron*. **41**(2), 309-316.

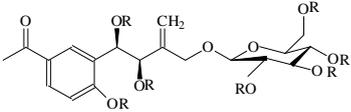
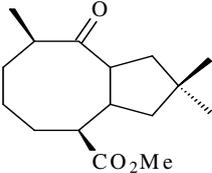
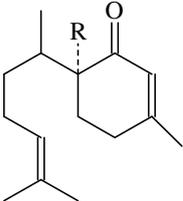
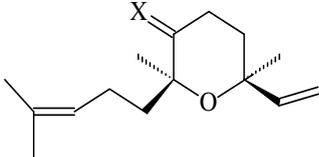
¹²⁰ Dawidar, A.M., Ayyad, S.N., Abdel-Mogib, M., Alarif, W.M. (2005). *J. Saudi Chem Soc.* **9**(1), 137-142.

¹²¹ Akssira, M., Mellouki, F., Salhi, A., Alilou, H., Saouf, A., El Hanbali, F., Arteaga, J.F., Barrero, F. (2006). *Tetrahedron Letters*. **47**, 6719-6721.

¹²² Chaari, A., Ben Jannet, H., Salmona, G., Mighri, Z. (2005). *Natural Product Research*. **19**(5), 523-528.

¹²³ Bohlmann, F., Pauls, A. (1992). *Phytochemistry*. **31**(5), 1663-1665.

OTRAS ESTRUCTURAS			
NOMBRE	ESTRUCTURA	ESPECIE	REF
<p>15-Hydroxy humula-1(10)E,4Z, 7Z-trien-9-ona.</p> <p>15-Hydroxyhumula- 1(10)E,4Z,7E-trien-9- ona.</p> <p>15-Hydroxyhumula- 1(10)Z,4Z,7Z-trien-9- ona.</p> <p>15-Hydroxyhumula- 1(10)Z,4Z,7E-trien-9- ona.</p>		<i>Nauplius intermedius</i>	116
<p>Ácido 8-oxo-α- humula-6Z,9Z-dien- 12-oico</p> <p>R= H 6Z,9E R= H 6E,9Z R= H 6E,9E</p>		<p><i>Asteriscus vogelii</i> <i>Nauplius intermedius</i></p>	113 116
<p>Métil ester del Ácido 8-oxo-α- humula-6Z,9Z-dien- oico</p> <p>R= Me 6Z,9E R= Me 6E,9Z R= Me 6E,9E</p>		<p><i>Asteriscus vogelii</i> <i>Nauplius intermedius</i></p>	113 116
<p>15-hydroxyhumula- 1(10)E,4Z,7E-trieno</p>		<i>Nauplius intermedius</i>	116

<p>R= CH₃CO- (3R,4R)-3,4- dihydroxy-4-(2-hydroxy- 5-acetylphenyl)-2-((β-O- glucopyranosyl) methyl)-but-1ene NAUPLATHIZINE</p>		<p><i>Nauplius aquaticus</i></p>	<p>122</p>
<p>Methyl- 3α,5α,8α,10αH- asteriscan-15-oate</p>		<p><i>Asteriscus graveolens</i></p>	<p>118</p>
<p>R=OH 6-Hydroxy bisabol-2-en-1-one</p>		<p><i>Asteriscus graveolens</i> <i>Asteriscus schumperi</i></p>	<p>118 120</p>
<p>X=O 6-oxo- cyclonerolidol X=αOH, H 6-α- Hydroxycyclonerolid ol</p>		<p><i>Nauplius intermedius</i></p>	<p>116</p>



9. ***ASTERISCUS GRAVEOLENS* ssp. *stenophyllus***

(Link) Greuter

9.1. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA

Arbusto pequeño, densamente ramificado de 15-40 cm. Tallos grisáceos. Hojas cubriendo densamente el tallo, lineares, densamente vellosos-grises. Capítulos de uno a 2 cm de diámetro. Lígulas amarillas o doradas.

9.2. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

La posición taxonómica es la siguiente:

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Asteridae

Orden: Asterales Lindl., 1833

Familia: Asteraceae Dumort 1822 - Compositae (Cass)

Tribu: Inuleae (Cass.) Cass

Género: *Asteriscus*

Especie: *Asteriscus graveolens ssp. stenophyllus* (Link)

Greuter

9.3. ESTUDIO QUÍMICO *ASTERISCUS GRAVEOLENS SSP. STENOPHYLLUS* (Link) Greuter. PARTE TEÓRICA

Seguido el proceso que se describe en las Técnicas Generales, tras el proceso de secado y trituración, se realizó la extracción con etanol hasta agotamiento. De 4,567 Kg de planta seca de ***Asteriscus graveolens ssp. stenophyllus*** que se recolectó en Marzo del 2002 en Temisas (Agüimes-Gran Canaria), obtuvimos de extracto seco 419.75 g, mediante el procedimiento indicado anteriormente.

Se utilizaron como eluyentes de la columna diferentes mezclas de hexano y acetato de etilo, incrementándose la concentración de acetato de etilo conforme avanzaba la cromatografía, tal y como se recoge en el organigrama de la fracciones de la tabla.

El estudio del extracto en cromatografía en columna, nos condujo a la obtención de las sustancias señalas a continuación, para cuya descripción nos basaremos en función de sus relaciones estructurales. Según este criterio, se pueden agrupar de la siguiente forma:

FLAVONOIDES:

(Ns-31)

LACTONAS SESQUITERPÉNICAS:

(Ns-32), (Ns-33), (Ns-35), (Ns-34), (Ns-38), (Ns-39), (Ns-40).

ESTEROL:

(Ns-37)

COMPUESTOS AROMÁTICOS:

(Ns-36)

FLAVONOIDES

Sustancia Ns-31:

Se obtuvo de la fracciones V de la cromatografía general como un sólido cristalino de punto de fusión 257-259°C. El espectro de masas da el ion molecular a m/z 330 que concuerda con la fórmula molecular $C_{17}H_{14}O_7$. Las bandas de absorción registradas más características en el espectro de IR muestran señales de hidroxilos fenólicos a 3300-3140 cm^{-1} y grupos carbonilo a 1660-1650 cm^{-1} .

Su naturaleza flavonoide se observa por un cambio de color de la mancha en capa fina, intensificándose con vapores de amoníaco.

Confirmamos que se trata de un flavonoide mostrando las siguientes señales en el espectro de 1H -RMN (Fig.49) donde observamos un singulete a δ 7.00 que podemos asignar a un protón vinílico próximo a un grupo carbonilo y que asignamos al hidrógeno H - 3. En la zona de los protones aromáticos observamos dos dobletes a δ 6.77 ($J = 2$ Hz) y 6.88 ($J = 2$ Hz) ppm que podemos asignar a los protones H -6 y H - 8 respectivamente, así como un singulete a δ 7.43 ppm que integra a dos protones que se asignan a los hidrógenos H -2' y H -3'. A δ 3.87 se observa un singulete ancho que integra a seis protones que corresponde a dos grupos metoxilo. Finalmente a δ 13.77 se observa un singulete ancho que podríamos asignar a un grupo fenólico en C -5.

La posición de los diferentes grupos observados en el espectro de 1H -RMN se pudo llevar a cabo mediante el espectro de ^{13}C -RMN y la realización de los experimentos de HMBC y HSQC así como del COSY.

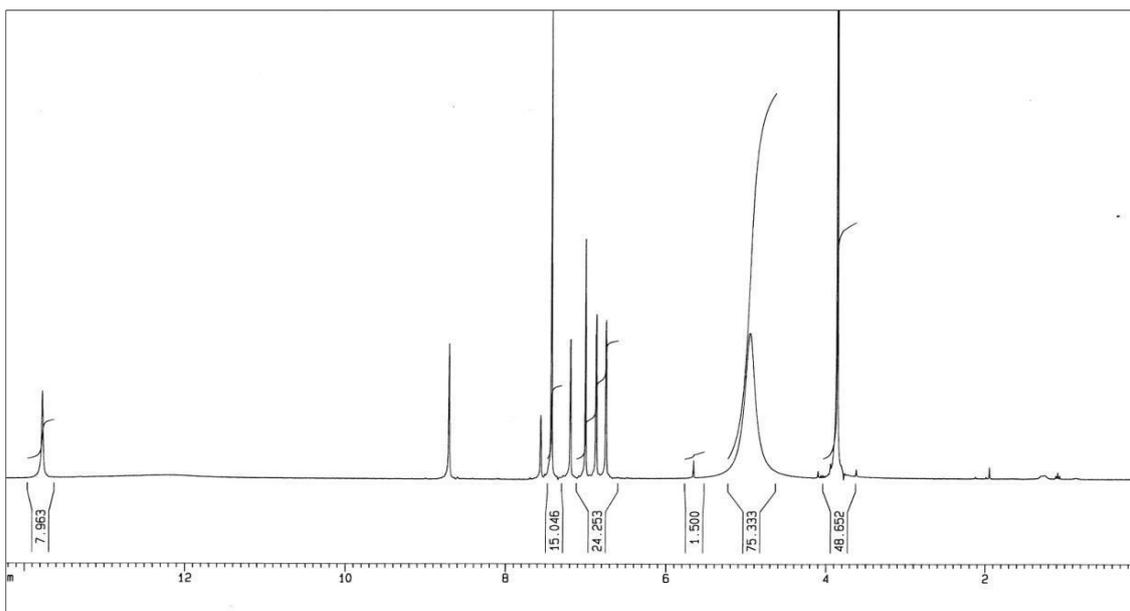
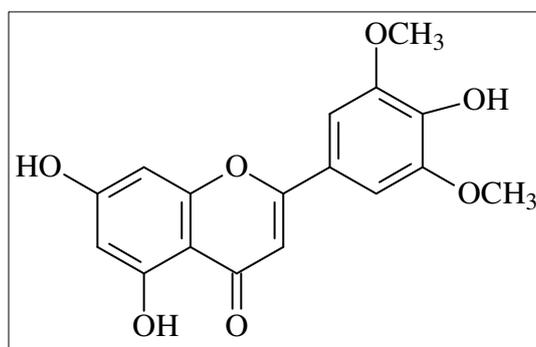


Fig. 49.- Espectro ^1H -RMN de la sustancia **31**

Los datos señalados coinciden con los encontrados en la bibliografía referidos a la **Tricina**^{124,125}



31

¹²⁴ Awaad, A., Nawal H. Mohamed, Maitland D.J., and Soliman G. A. (2008). *Rec Nat. Prod.* 2:3 76-82.

¹²⁵ Stochmal, A. Simonet, A, Macías, F., Loeszek, W. (2001) *J. Agric. Food Chem.*, 49, 5310-5314.

Los datos indicados se confirman mediante la obtención de su derivado acetilado (**31a**) cuyo espectro $^1\text{H-RMN}$ (Fig.50) presenta un doblete a δ 2.37 (J = 4.4 Hz) que integran a seis protones y que asignamos a dos grupos acetilo sobre los carbonos 5 y 7, y un singulete a δ 2.45 ppm que integra a tres protones que corresponderían al tercer grupo acetilo sobre el carbono 4'.

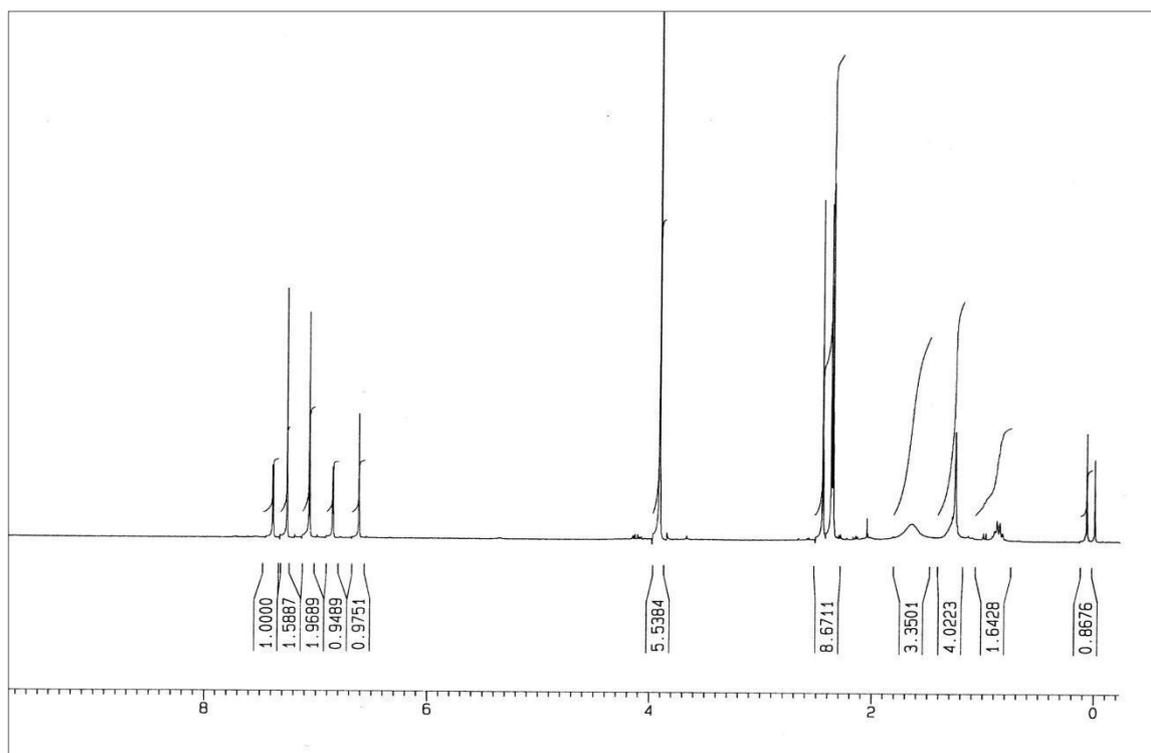
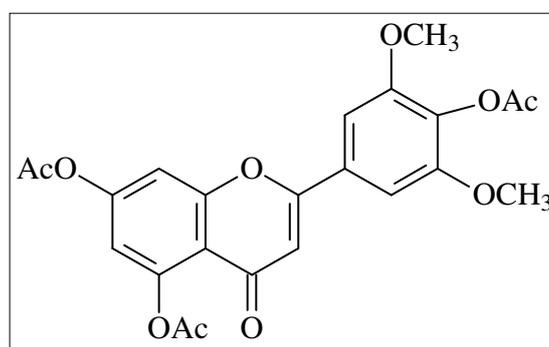


Fig. 50.- Espectro $^1\text{H-RMN}$ de la sustancia **31a**



31a

LACTONAS SESQUITERPÉNICAS

Sustancia Ns-32:

Este compuesto se aisló como un sólido incoloro procedente de la fracción II, cuyo punto de fusión fue de 156-158 °C. Su espectro IR que presenta las bandas características de una γ -lactona (1743 cm^{-1}) y un grupo carbonilo (1672 cm^{-1}), así como la presencia de dobles enlaces (3024 , 3005 y 1632 cm^{-1}), mientras que el espectro de masas presenta un fragmento a m/z 246 $[M]^+$ que es concordante con una fórmula $C_{15}H_{18}O_3$.

Su espectro de $^1\text{H-RMN}$ (Fig. 51) presenta unas características similares al de compuestos aislados de otras especies del género ***Asteriscus(Nauplius)***, deduciéndose que se trata de una lactona sesquiterpénica tipo humulano, como son las señales que se observan en la zona de los protones vinílicos a δ 6.16 y 5.28 como dobletes ($J = 13.9$) que integran un protón y que se asignan a los hidrógenos sobre los carbonos del doble enlace $C_7 - C_8$. La señal como singulete ancho a campo más alto, δ 6.96, que se asignaría a un protón sobre el carbono (C-5) del doble enlace en el anillo lactónico y otro singulete ancho a δ 4.70 también asignado a un protón vinílico sobre el carbono C-6. El protón vinílico sobre el C-1 se observa a δ 6.02 como un doble doblete ancho.

Los tres singuletes que integran a tres protones se asignan a un grupo isopropil a δ 1,20 ppm y 1.41 ppm que corresponden a los grupos C-12 y C-13, mientras que el tercero por su valor a δ 1.95 ppm se asignaría a un grupo metilo sobre el carbono de un doble enlace (C-14).

El resto de las señales que se observan en este espectro son un doble doblete y un doble triplete a δ 2.16 y 2.33 respectivamente que corresponden a los hidrógenos del metileno en C-2 y un doble doblete ancho a δ 2.67 ppm que se asignan al otro grupo metileno en C-3.

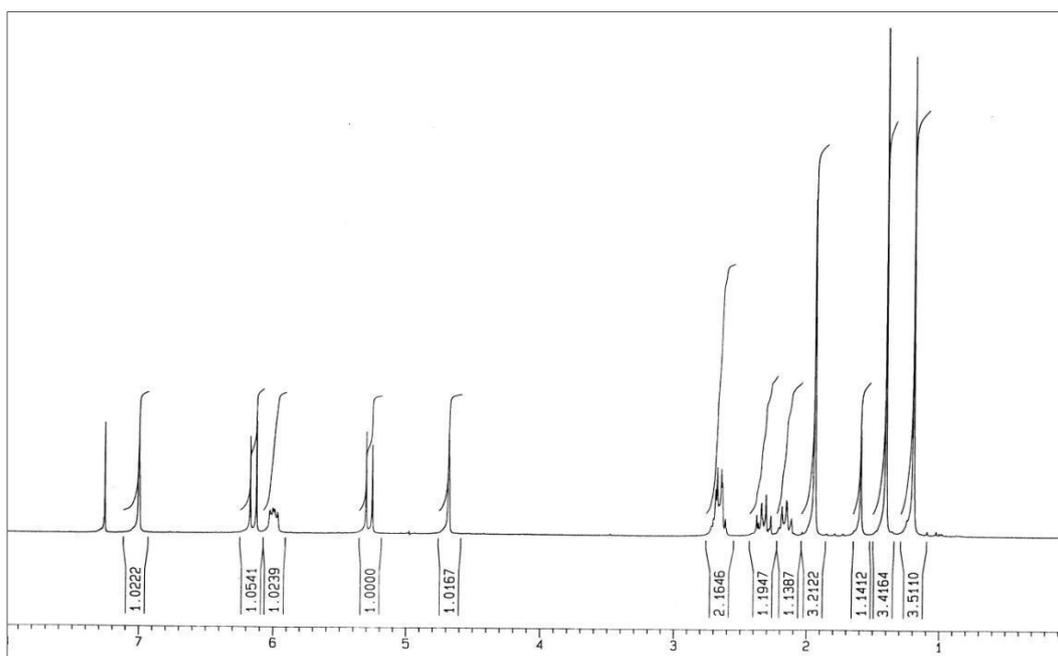
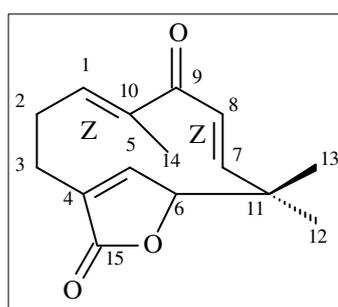


Fig. 51.- Espectro ^1H -RMN de la Sustancia **32**

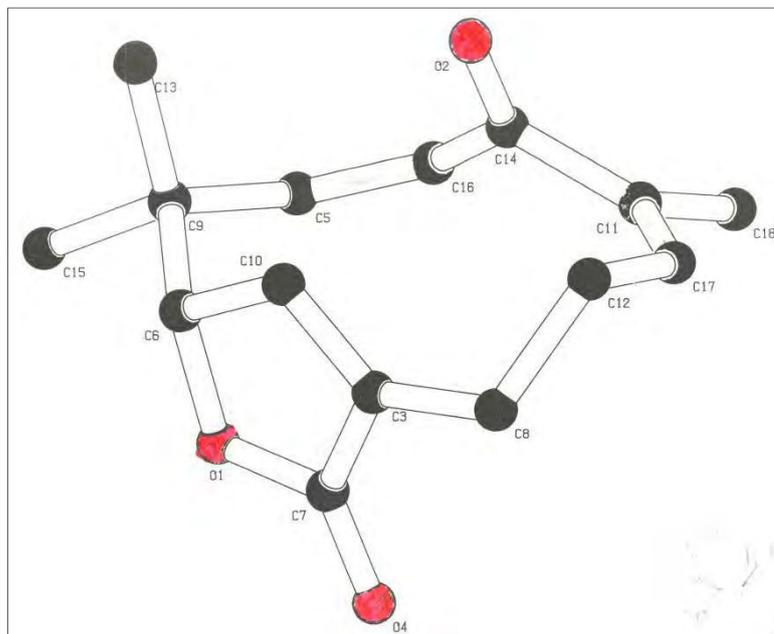
De los datos anteriores se deduce para esta sustancia la estructura **32**, cuyos datos espectroscópicos son totalmente coincidentes con los descritos en la bibliografía para el **Asteriscunolido A**¹¹⁴ (aislado del ***Asteriscus aquaticus***) (***Nauplius aquaticus***)¹²⁶.



32

¹²⁶ San Feliciano A, Barrero AF, Medarde M, Del Corral JM, Ledesma E. (1982). *Tetrahedron Letters*, **23**(30), 3097-3100.

Su estructura se confirmó mediante el establecimiento de la configuración absoluta por análisis de rayos X.



Sustancia Ns-35:

Se aisló como un sólido procedente de la fracción II cuyo punto de fusión es de 176-179°C. Su espectro IR presenta las bandas características de una γ -lactona (1759 cm^{-1}) y un grupo carbonilo (1651 cm^{-1}), así como la presencia de dobles enlaces ($3080, 3018\text{ cm}^{-1}$), mientras que el espectro de masas presenta un fragmento a $m/z\ 246\ [M]^+$ que es concordante con una fórmula $C_{15}H_{18}O_3$.

Su espectro de $^1\text{H-RMN}$ (fig.52) presenta unas características similares a las del compuesto anterior que nos indica que se trataría de una lactona sesquiterpénica tipo humulano. En la zona de los protones vinílicos a $\delta\ 6.28$ y 5.92 como dobletes ($J=16.2$ y 16.9 Hz) que integran un protón y que se asignan a los hidrógenos sobre los carbonos del doble enlace C-7 y C-8. Se observa un desplazamiento de la señal correspondiente al protón H-7, así como la del protón vinílico sobre el C-1 que aparece como un doblete ancho a 5.49 ppm , lo cual nos indica que la configuración del doble enlace C-1 y C-10

sería E en lugar de Z como se observó en el **Asteriscunolido A**. El otro singulete ancho a δ 4.73 también asignado a un protón vinílico sobre el carbono C-6. La señal como singulete ancho a campo más alto, δ 6.98, se asignarán a un protón sobre el carbono C-5 del doble enlace en el anillo lactónico.

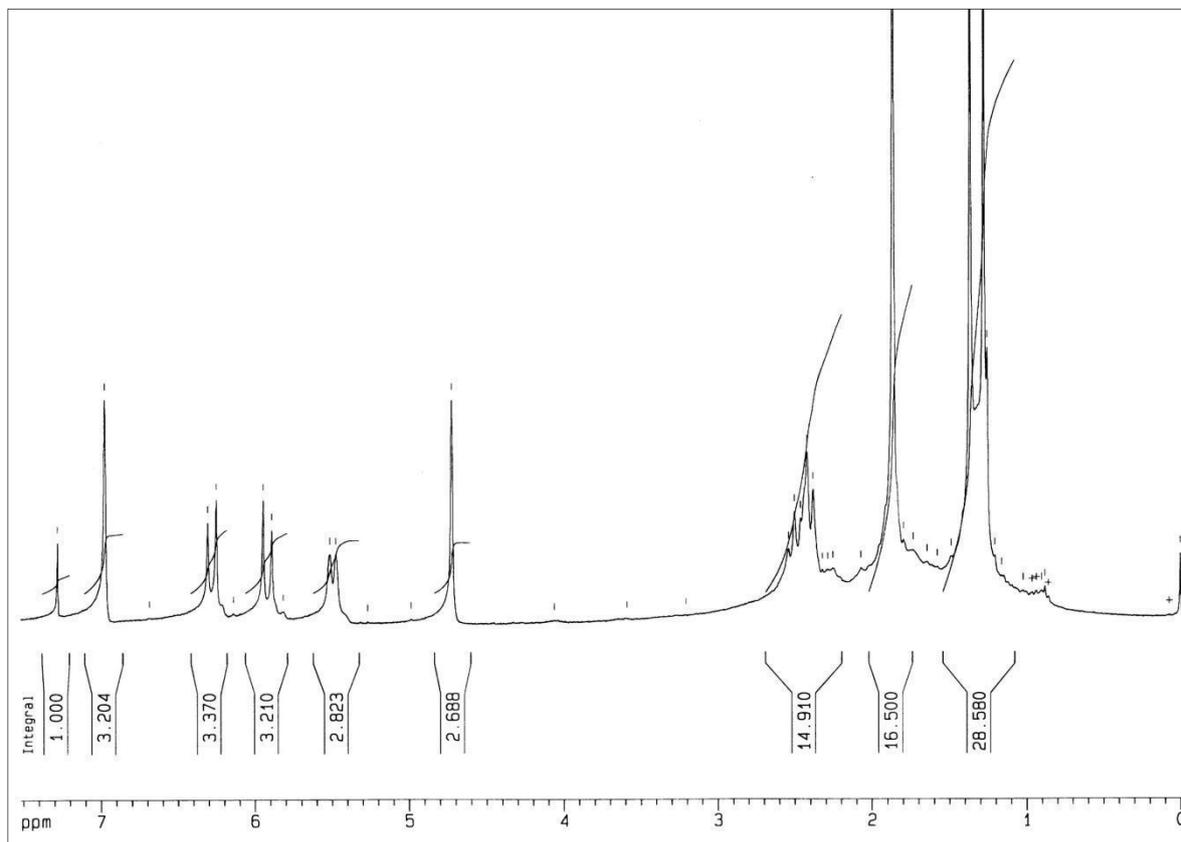
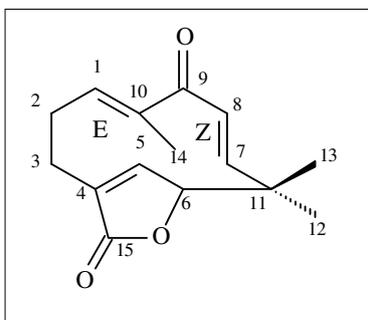


Fig. 52.- Espectro ^1H -RMN de la Sustancia **35**.

Los tres singuletes que integran a tres protones se asignan a un grupo isopropil a δ 1.28 ppm y 1.35 ppm que corresponden a los grupos C-12 y C-13, mientras que el tercero por su valor a δ 1.86 ppm se asignarían a un grupo metilo sobre el carbono de un doble enlace C-14.

El multiplete centrado a δ 2.5 ppm que integra a cuatro protones se asignarían a los hidrógenos de los metilenos en C-2 y C-4.

De los datos anteriores se deduce para esta sustancia la estructura **35**, cuyos datos espectroscópicos son totalmente coincidentes con los descritos en la bibliografía para el **Asteriscunolido C** aislado del *Asteriscus aquaticus*¹⁹, cuya estructura es:



35

Sustancia Ns-33:

Se obtuvo de las fracciones III de la cromatografía general Este compuesto se aisló como un sólido cristalino de color blanco con un punto de fusión de 152-154 °C. En su espectro IR se observan bandas a 1745 cm⁻¹ que podemos atribuir a una γ -lactona y a 1703 cm⁻¹ que correspondería a un grupo carbonilo de una cetona. Su espectro de masas y del ¹³C-RMN indica una fórmula molecular de C₁₅H₂₂O₃.

El grupo γ -lactona α,β -insaturado pudo ser identificado a partir de su espectro de resonancia de carbono-13, que presentaban las señales características a 135.3, 145.1, 87.6 y 173.5 ppm, muy similares a las observadas en el asteriscunolido C. En el espectro de ¹H-RMN (Fig. 53) se observa un grupo dimetilgeminal a δ 1.11 y 1.17 ppm. Comparando el espectro de ¹H RMN de este compuesto podemos observar que las señales como singuletes a δ 4.46 y 7.07 son muy similares a los observados para los protones H – 5 y H – 6 en los compuestos anteriores, pero sin embargo han desaparecido las señales de los protones vinílicos sobre los dobles enlaces C-1 - C-10 y C-7 – C-8 observándose una serie de señales correspondientes a

grupos $-\text{CH}_2-$. Este hecho podría indicar que los dobles enlaces observados en los compuestos anteriores se hubiesen hidrogenado.

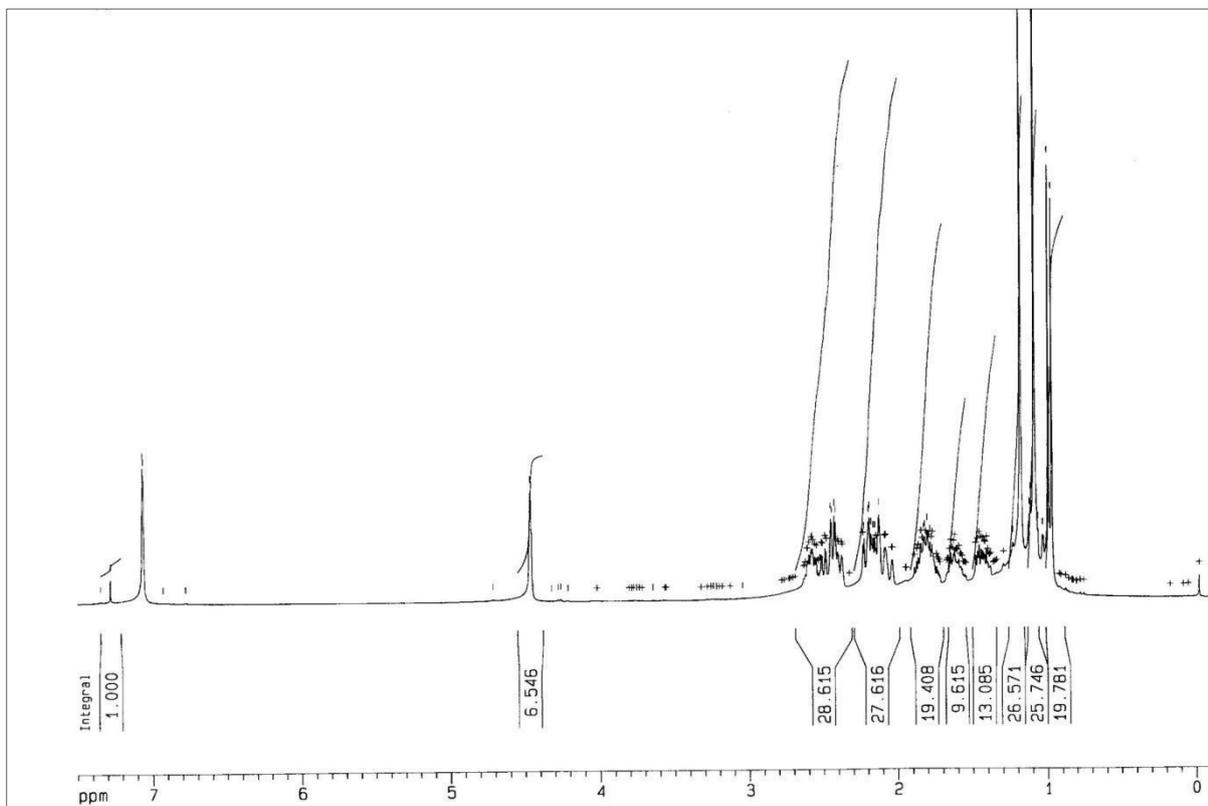
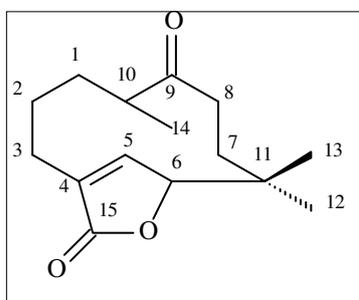


Fig.53.- Espectro de ^1H -RMN de la sustancia **33**

Consultada la bibliografía, los datos observados para este compuesto son coincidentes con los encontrados para el **Tetrahydroasteriscunolido, (9-Oxo-6,7,9.10-tetrahydrohumulen-1,12-olida)** ^{112,113}.



33

Sustancia Ns-34:

Este compuesto fue aislado a partir de la fracción VIII de la cromatografía de la columna general por sucesivas cromatografía dando como resultado unos cristales incoloros que presentan un punto de fusión entre 177-179 °C. El estudio de sus datos espectroscópicos nos permite deducir de su espectro de IR la presencia de bandas a 1759 y 1689 cm^{-1} que se podría atribuir a un agrupamiento γ -lactona y a un grupo carbonilo de una cetona respectivamente. Su espectro de masa presenta un ión molecular a m/z 250 que se corresponde con una fórmula molecular de $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{O}_3$.

En el espectro de ^1H -RMN (Fig. 54) de este compuesto se observa como una clara diferencia con respecto a los anteriores, la desaparición de las señales correspondientes a los protones vinílicos que han sido reemplazados por una serie de señales que pasamos a analizar. Dos singuletes que se pueden asignar a dos grupos metilos a δ 0.93 y 1.13 ppm y un doblete a δ 1.05 ($J = 7$ Hz) que integra a tres protones que se asignan a un gem-dimetilo. Un doblete centrado a δ 4.20 ppm., se puede asignar a un protón geminal a un oxígeno lactónico. En la zona entre 1.3 y 3.0 ppm se observan una serie de señales como complejos multipletes, que junto con los datos del ^{13}C -RMN que indican una ausencia de carbonos olefinicos, así como un desplazamiento químico de 213.76 ppm., observado para el grupo cetónico, nos sugieren la posibilidad de un esqueleto carbonado bicíclico formando un anillo de siete u ocho miembros.

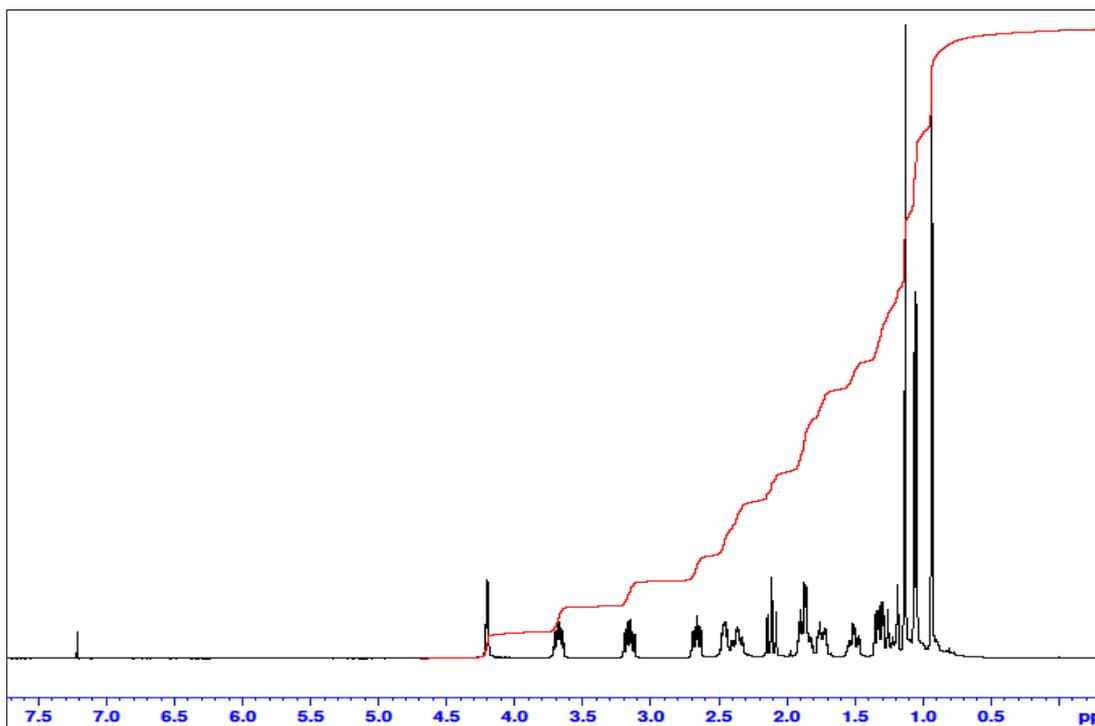
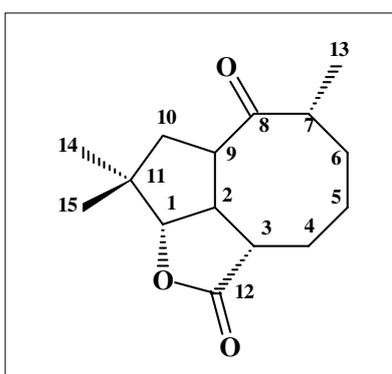


Fig. 54.- Espectro de ^1H -RMN de la sustancia **34**

Experimentos HMBC y HSQC así como NOESY llevados a cabo con dicha sustancia nos permiten suponer que se trata de una lactona sesquiterpénica con un esqueleto carbonado bicyclico para el cual se propone la estructura **34**, cuyos datos espectroscópicos son coincidentes con los del **Asteriscanolido**, aislado del ***Asteriscus aquaticus***¹¹⁹.



34

Sustancia Ns-37:

Esta sustancia fue aislada de la fracción II de la cromatografía general. Los datos espectroscópicos y físicos de esta sustancia coinciden con los de **Estigmasterol** obtenido anteriormente en el estudio de de *T. ptarmiciflorum* como **sustancia Tpt-16** (pag. 138).

Sustancia Ns-36:

Esta sustancia fue aislada de la fracción II de la cromatografía general. Los datos espectroscópicos y físicos de esta sustancia coinciden con los de **Vainillina** obtenido anteriormente en el estudio de de *T. ptarmiciflorum* como **sustancia Tpt-15** (pag. 135).

Sustancia Ns-38:

Se aisló esta sustancia a partir de la fracción VIII de la cromatografía general como un aceite incoloro. En su espectro IR se observan bandas características del grupo OH (3458 cm^{-1}), γ -lactona (1765 cm^{-1}) así como un grupo carbonilo cetónico (1709 cm^{-1}). Se espectro de masas presenta el ión molecular a m/z 264, que con el espectro de masas de alta resolución permite establecer una fórmula molecular de $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{O}_4$.

El estudio de su espectro de ^1H RMN (Fig.55) permite deducir que se trata de una lactona sesquiterpénica tipo humulano con unas características muy similares a los del compuesto Ns-37, diferenciándose en la aparición de unas señales en la zona correspondiente a los protones vinílicos, a δ 5.92 ppm como un doble doblete ($J = 7.0; 10.4; 17.3\text{ Hz}$) que y 5.82 ppm como un doblete ($J = 0.8$ y 10.2 Hz) integrando cada una de ellas un protón y que junto con la desaparición de las señales correspondientes entre 1,5 y 3.0 ppm nos permiten asignarlos a los protones H-5 y H-6. El resto de las señales son

tres singuletes a δ 1.02, 1.25 y 1.44 ppm que integran a tres protones y que corresponderían a tres grupos metilos, dos sobre el carbono C-11 y uno sobre el carbono C-7; dos multipletes a δ 2.38 y 2.25 ppm que corresponden a los protones sobre el carbono C-4; dos dobles dobles a δ 3.42 y 3.05 ppm se asignan a los protones H –2 y H –3 respectivamente; un doblete a δ 4.25 ppm característico del protón de cierre de la lactona; un doblete a δ 3.26 ppm que se asigna al protón sobre el carbono C-9; dos dobles a δ 1.49 y 2.47 que se asignan al metileno sobre el carbono C-10 y finalmente tres singuletes a δ 1.02, 1.25 y 1.44, de los cuales los dos primeros corresponden a los grupos metilos sobre el carbono C-11, mientras que el tercero esta más desplazado por ser geminal al grupo OH.

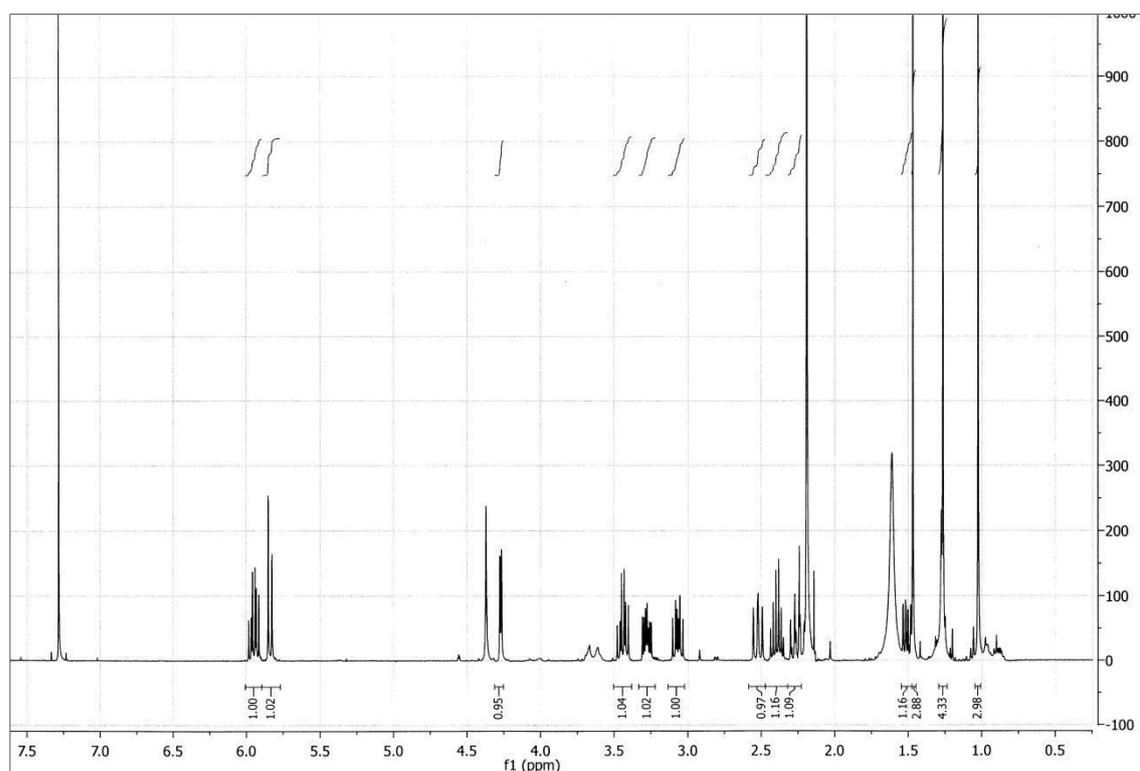


Fig.55.- Espectro de ¹H-RMN de la sustancia **38**

La asignación de las diferente señales se lleva cabo mediante la realización de experimentos HSQC y HMBC, combinados con experimentos

COSY y NOESY, así como del estudio de los desplazamientos observados en el espectro de ^{13}C -RMN.

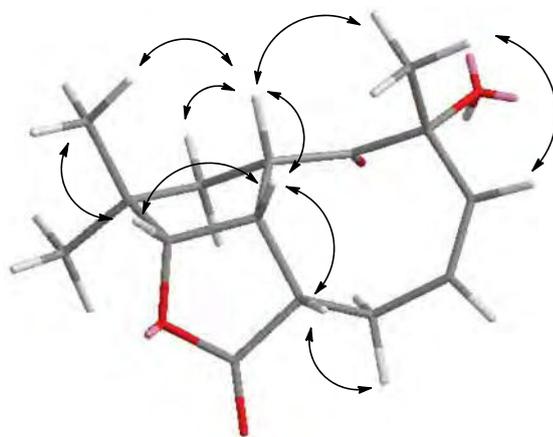


Fig 55a. Correlaciones NOESY de la sustancia Ns-38

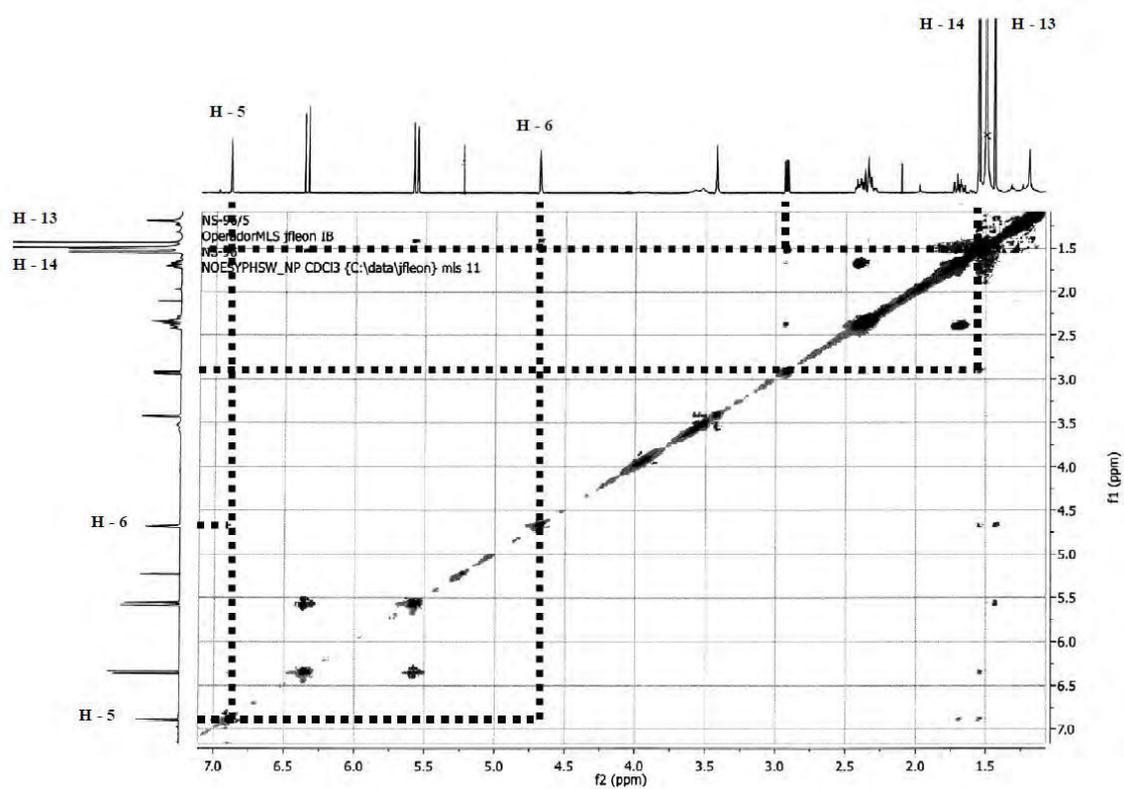
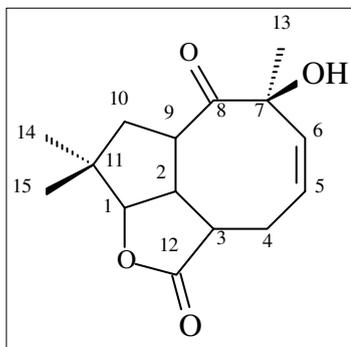


Fig 55b. Correlaciones NOESY de la sustancia Ns-38

Por todo ello, se propone para esta sustancia la estructura **38**, para la que proponemos el nombre de **Asteriscanolidenol**, la cual no hemos encontrado descrita en la bibliografía consultada.



38

Sustancia Ns-39:

A partir de la fracción IV de la cromatografía general se aislaron unos cristales incoloros de punto de fusión 146-148 °C. En el espectro IR de dicha sustancia se observan las bandas asignables a un agrupamiento γ -lactona a 1756 cm^{-1} y un grupo carbonilo cetónico a 1640 cm^{-1} . El espectro de masas presenta el ión molecular a m/z 262, lo cual es concordante con una fórmula molecular de $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{O}_4$.

Como se puede observar en su espectro de ^1H -RMN este compuesto sigue un patrón muy similar a los compuestos anteriores diferenciándose fundamentalmente en que la señal correspondiente al protón H – 1 aparece como un doblete a δ 3.01 lo cual nos indica que ha perdido su carácter vinílico y que por su posición podría ser geminal a un oxígeno. El resto de las señales que se observan son un doblete a δ 6.98 que asignamos al protón H – 5, los dos dobles dobles vinílicos de los protones H – 7 y H – 8 sobre el doble enlace $\text{C}_7 - \text{C}_8$, un singulete a δ 5.66 que correspondería al protón de cierre de la lactona; dos multipletes a δ 1.75 y 2.43 que se asignan a los protones de los metilenos en C_2 y C_3 y finalmente los grupos metilos, dos de ellos a δ 1.63 y el otro a 1.52.

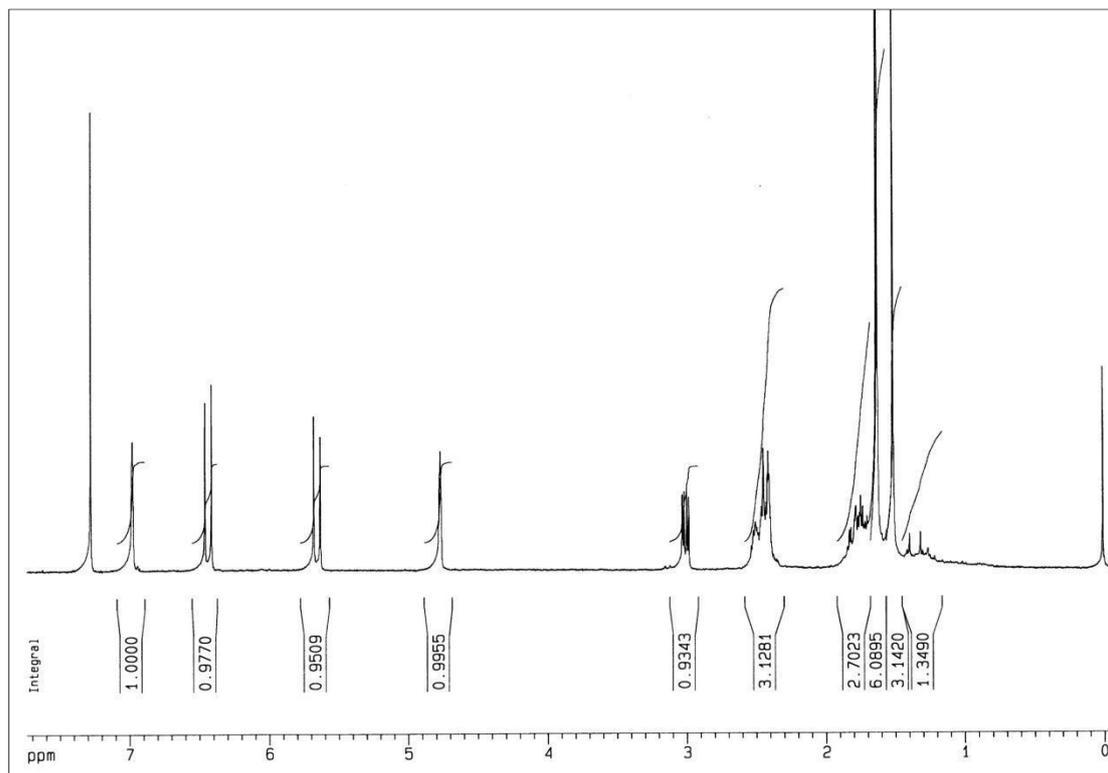
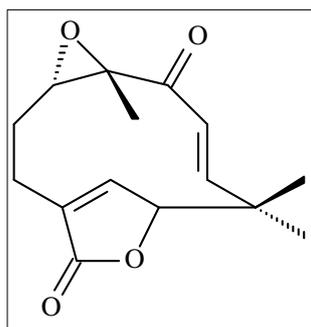


Fig.56.- Espectro de ^1H -RMN de la sustancia **39**

Consultada la bibliografía no hemos encontrado descrita esta sustancia **39**, a la cual asignamos la estructura de **1,10-epoxiasteriscunolido**.



39

La posición del grupo epoxi así como las orientaciones de los sustituyentes en la estructura propuesta se determina a partir de los desplazamientos observados en el ^1H -RMN y ^{13}C -RMN así como mediante la realización de los experimentos de NOESY, COSY, HMBC y HSQC.

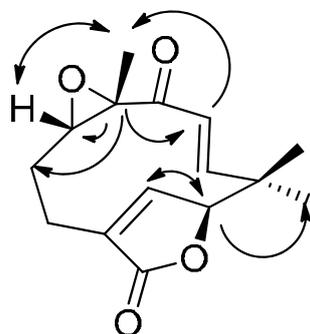


Fig. 56a. Correlaciones NOESY (doble flecha) de la sustancia Ns-39

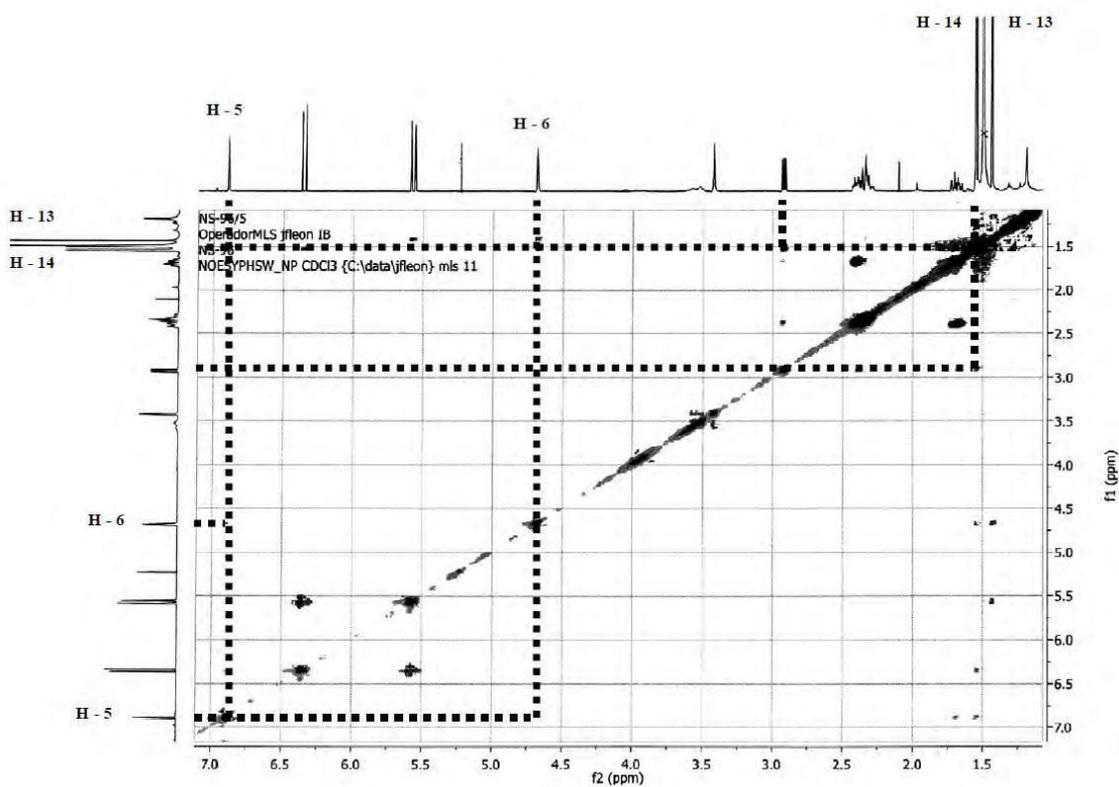


Fig. 56b. Espectro NOESY de la sustancia Ns-39

Sustancia Ns-40:

Este compuesto se obtuvo a partir de la fracción IV de la cromatografía general como un sólido con un punto de fusión de 111-133 °C. Su espectro IR

presenta las bandas del agrupamiento γ -lactona (1780 cm^{-1}), grupo carbonilo cetónico (1707 cm^{-1}). Su espectro de masas de alta resolución nos indica una fórmula molecular de $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{O}_4$.

Su espectro de ^1H -RMN es muy similar al de los compuestos astericanolido A y C, donde se observan las señales de los protones vinílicos sobre el doble enlace entre los carbonos C-7 y C-8 como dos dobletes a δ 6.11 (H-7) y 6.48 (H-8) que por su posición así como la del protón vinílico H-1 como un singulete a δ 5.17 ppm nos indica una estereoquímica Z,Z para ambos dobles enlaces. Sin embargo, la desaparición del protón vínico H-5 observado en los compuestos anteriores y la aparición de un singulete a δ 3.67 ppm nos indicaría que el doble enlace sobre el anillo lactónico entre los carbonos C-4 y C-5 ha sido reemplazado por un epóxido que produciría el desplazamiento de dicho protón. El resto de las señales entre 1.3 y 3 ppm correspondería a los grupos metilenos en C-1 así como el protón de cierre de la lactona a δ 4.17 ppm y las señales de los grupos metilos como singuletes a δ 1.19 y 1.23 ppm sobre los carbonos C-12 y C-13 y un metilo sobre un doble enlace a δ 1.87 ppm.

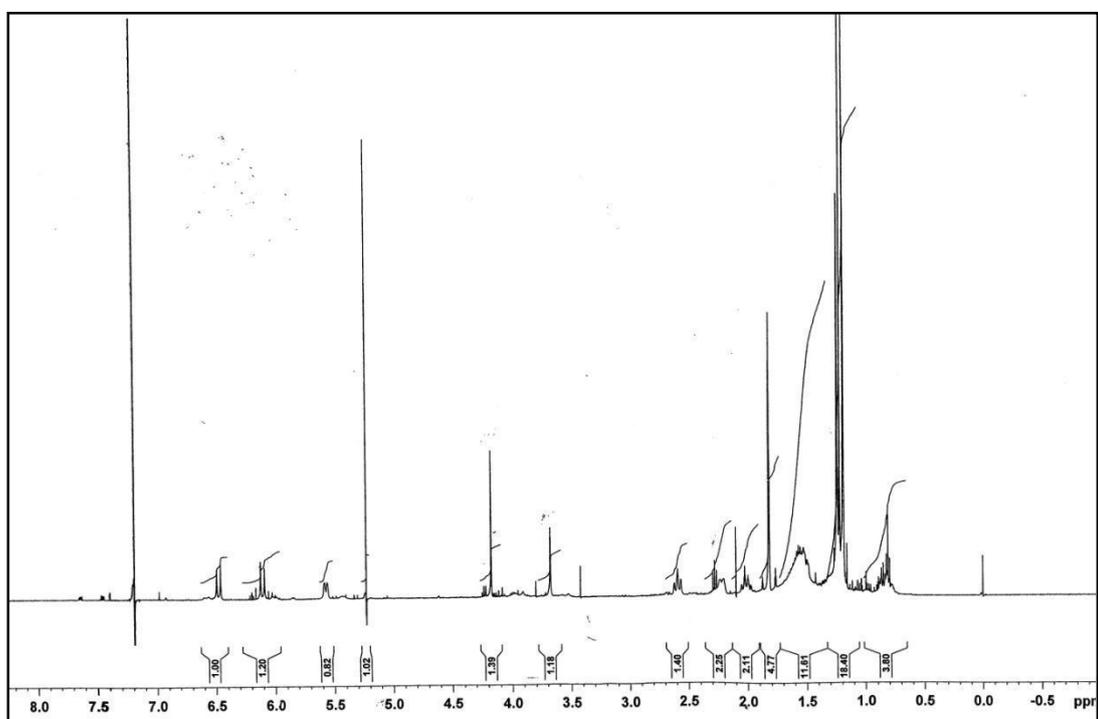


Fig.57.- Espectro de ^1H -RMN de la sustancia 40

La posición del grupo epóxido se pudo confirmar a partir de los desplazamientos observados en el espectro de ^{13}C -RMN y mediante la realización de los experimentos HMBC, HSQC, NOESY y COSY respectivamente.

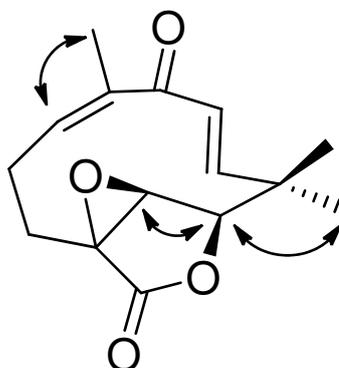


Fig. 57a. Correlaciones NOESY de la sustancia Ns-39

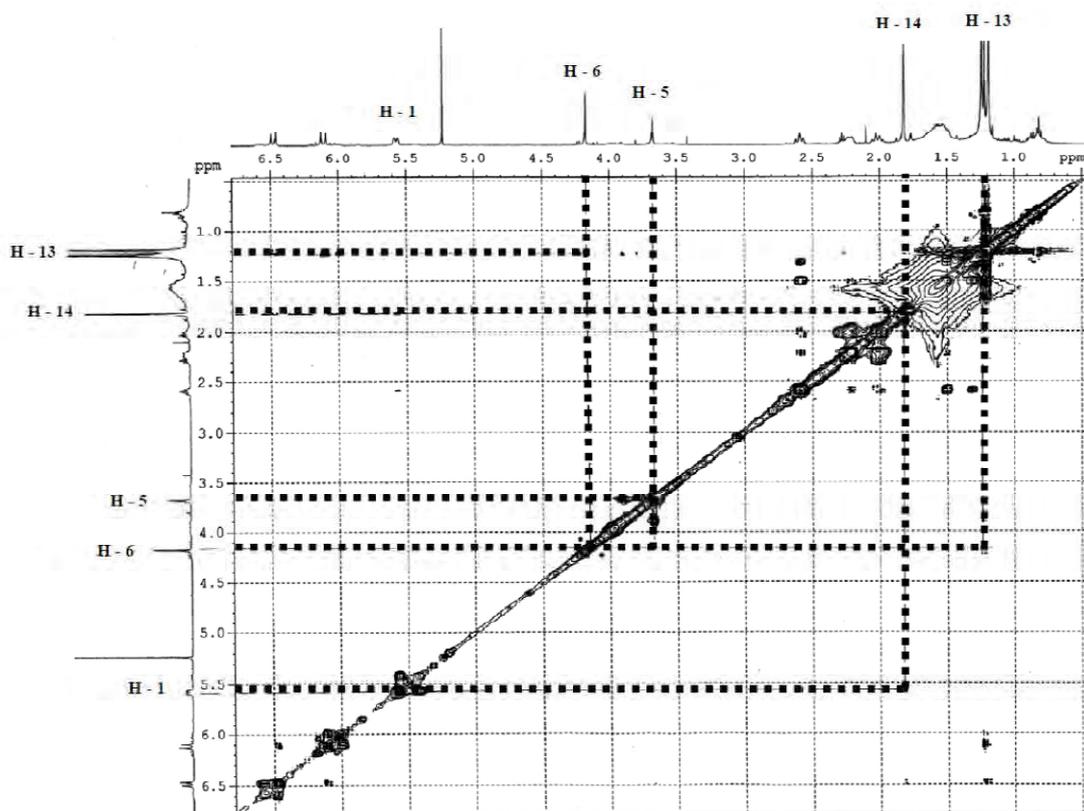
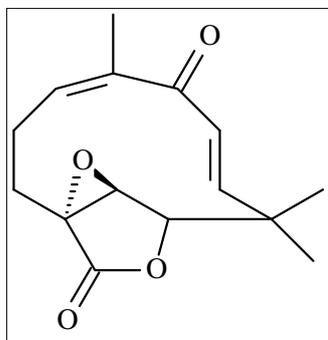


Fig. 57b. Espectro NOESY de la sustancia Ns-39

A partir de estos datos proponemos para nuestra sustancia la estructura **40**, la cual no hemos encontrado descrita en la bibliografía y a la cual hemos denominado ***4,5-epoxiasteriscunolido A***.



40

9.4.- ESTUDIO QUÍMICO DE *ASTERISCUS GRAVEOLENS ssp. stenophyllus*
(Link) Greuter. PARTE EXPERIMENTAL

Seguido el proceso que se describe en las Técnicas Generales, tras el proceso de secado y trituración, se realizó la extracción con etanol en Soxhlet hasta agotamiento. De 4,567 Kg de planta seca de ***Asteriscus graveolens ssp. stenophyllus*** que se recolectó en Marzo del 2002 en Temisas (Agüimes-Gran Canaria), se concentró por eliminación del disolvente a presión reducida, obteniendo 419.75 g de extracto seco.

Se utilizaron como eluyentes de la columna diferentes mezclas de Hex-AcOEt, incrementándose la concentración de acetato de etilo conforme avanzaba la cromatografía, tal y como se recoge en el organigrama de la fracciones de la tabla.

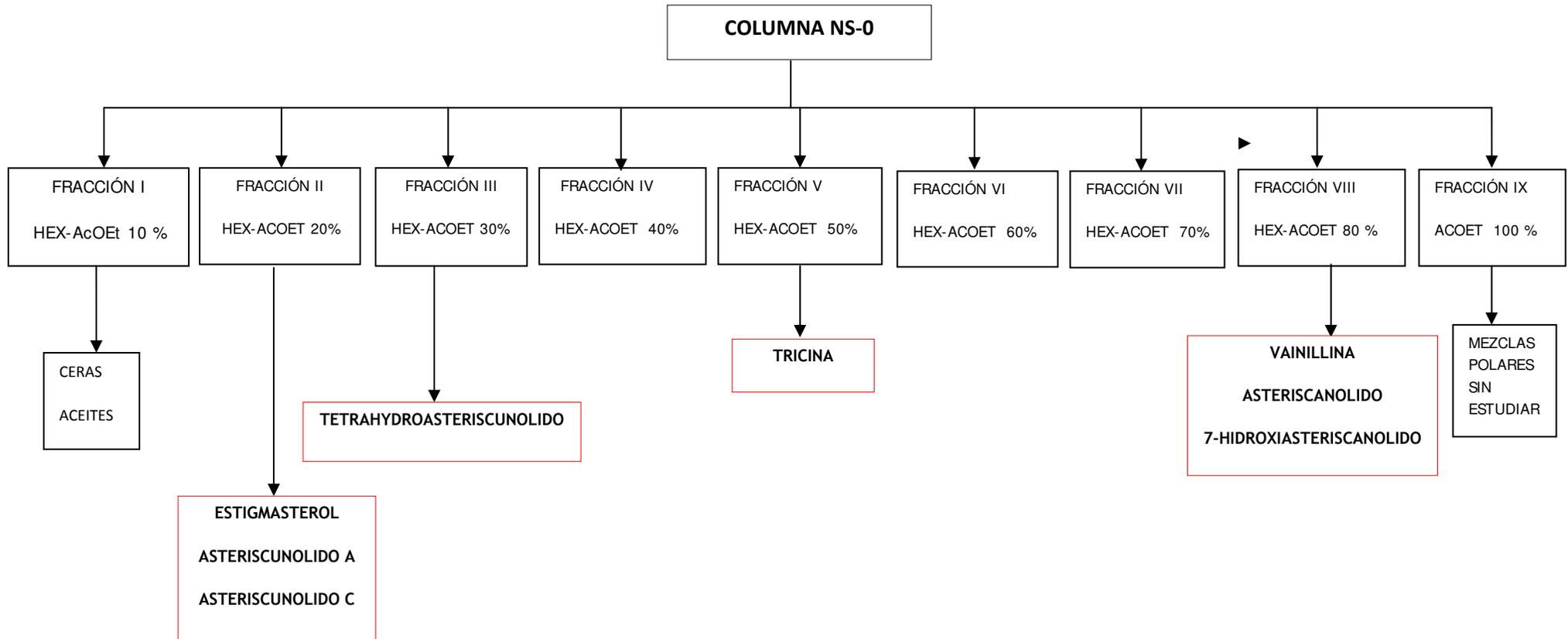
ORGANIGRAMA DE FRACCIONES

FRACCIONES	ELUYENTES	SUSTANCIAS
FRACCIÓN I: 1-20	HEXANO 100 %	
FRACCIÓN II:21-23	HEXANO - ACETATO DE ETILO 10 %	Ns-16
FRACCIÓN III:24-40	HEXANO – ACETATO DE ETILO 20 %	Ns-32
FRACCIÓN IV:41-59	HEXANO – ACETATO DE ETILO 30 %	Ns-33, Ns-35, Ns-38 Ns-39, Ns-40
FRACCIÓN V:60-69	HEXANO – ACETATO DE ETILO 40 %	
FRACCIÓN VI:69-92	HEXANO – ACETATO DE ETILO 50 %	Ns-31
FRACCIÓN VII:93-97	HEXANO – ACETATO DE ETILO 60 %	
FRACCIÓN VIII:98-105	HEXANO - ACETATO DE ETILO 80 %	Ns-36, Ns-34, Ns-37
FRACCION IX:105...	ACETATO DE ETILO 100 %	

ASTERISCUS GRAVEOLENS SSP. STENOPHYLLUS

(Parte aérea)

ORGANIGRAMA DE FRACCIONES



FRACCIÓN II:

De las fracciones 8-10 (514 mg) con Hex-AcOEt(9:1), que se reunieron y tras su análisis en capa fina, se llevaron a cabo sucesivas cromatografías que permitieron obtener **37** (3,8mg).

FRACCIÓN III:

De las fracciones 31-40 se cromatografiaron (7,05 g) con Hex-AcOEt (8:2) de las que se obtuvo por precipitación la sustancia **32** (4,6 mg).

FRACCIÓN IV:

De las fracciones 41-50 (11,32 g) empleando Hex-AcOEt(7:3):

De la tercera fracción por posterior cromatografía preparativa, se aisló **33** (3,2 mg)

De la quinta fracción (776 mg) con Hex-AcOEt (8:2) por agrupamientos de fracciones, y de las cuales la tercera (0,62 mg) fue cromatografiada empleando Hex-AcOEt (8:2), se aisló **35** (4,9 mg). Por sucesivas recromatografías, se aislaron las sustancias **38** (7,3 mg) ,**39** (9,1 mg) precipitando como un sólido amorfo **y 40** (10,3 mg).

FRACCIÓN VI:

De la fracción 95 de la columna general se aisló por precipitación una sustancia cristalina, **31** (15 mg)

FRACCIÓN VIII:

De las fracciones 98-105 (5,8 7g) con Hex-AcOEt (1:1)se obtuvieron:

- De la fracción 31-38 (5,88 g) por cromatografía con Hex-AcOEt (1:1) se aisló **36** (3,2 mg).
- La fracción 70-72 (5,54 g) se volvió cromatografiar con Hex-AcOEt (3:2) precipitando como cristales la sustancia **34** (2,9 mg)
- De la fracción 93-97 (4,93 mg) por posterior cromatografía con Hex-AcOEt (4,85 g) se aisló la sustancia **37** (4,3 mg)

Los datos físicos y espectroscópicos de todas estas sustancias, así como las reacciones de formación de derivados y los datos de éstos, los exponemos a continuación.

FLAVONOIDES

- **Datos físicos Sustancia Ns-31:**

Tricina

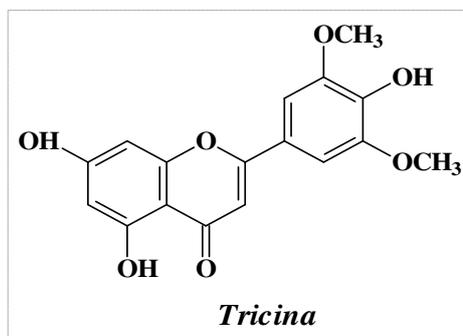
Sólido cristalino

Punto de fusión: 257-259°C (AcOEt/ n-Hex)

IR $\nu_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3} \text{ cm}^{-1}$: 3222, 3087, 2920, 1648, 1606, 1443, 1329, 1164, 1113, 1024, 831.

EIMS (m/z): 330 [M^+] (100), 301 (2.81), 259 (2.83), 208 (0.58), 165 (12.86), 139 (22.78), 136 (12.11), 128 (2.53), 107 (9.98), 95 (35.54).

EIMS (alta resolución): 330.0769 ($C_{17}H_{14}O_7$)



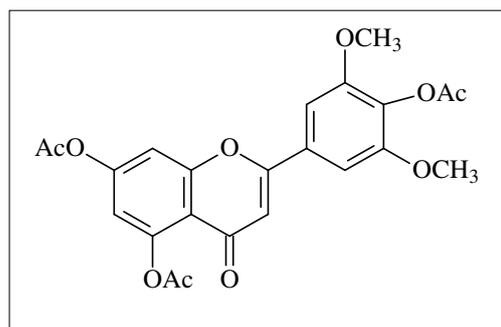
$^1\text{H-RMN}(\text{CDCl}_3)$ - ^{13}C - RMN

H	δ (ppm)	Multiplicidad	Señal	J	$\delta(\text{C})$
H - 1	--	--	--	--	--
H - 2	--	--	--	--	164,1
H - 3	--	--	--	--	105,4
H - 4	--	--	--	--	183,6
H - 5	--	--	--	--	159,5
H - 6	7,00	bs	1 H	---	100,9
H - 7	--	--	--	--	165,6
H - 8	6,77	d	1 H	2	95,9
H - 9	--	--	--	--	165,6
H - 10	--	--	--	--	105,9
H - 1'	--	--	--	--	122,3
H - 2'	6,88	d	1 H	2	106,2

H – 3´					150,3
H – 4´					143,1
H – 5´					150,3
H – 6´					106,2
5 – OH	7,43	S	2 H	---	--
7 – OH	13,77	Bs	1 H	---	--
4´ - OH	8,71	Bs	1 H	---	--
- OCH ₃	7,20	Bs	1 H	---	57,5
-OCH ₃	3,87	Bs	6 H	---	57,5

Acetilación: se realizó la acetilación de **31** (12 mg), obteniendo el derivado acetilado **31a** (9,3 mg).

- **Datos físicos Sustancia Ns-31a:**
Triacetato de la Tricina



Sólido cristalino

Punto de fusión: 214-217°C

Fórmula Molecular: C₂₃H₂₀O₁₀.

IR $\nu^{\text{CHCl}_3}_{\text{max}} \text{ cm}^{-1}$: 3095, 2941, 2851, 1768, 1614, 1597, 1460, 1375, 1350, 1113, 1024, 831 cm^{-1} .

TOF MS ES⁺: 479.0947 [M + Na]⁺ (100.00) C₂₃H₂₀O₁₀Na; Calc: 479.0954

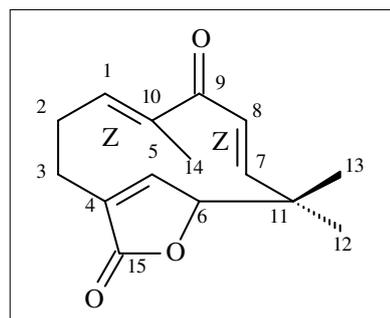
¹H-RMN(CDCl₃):

Protón	δ (ppm)	Multiplicidad	Señal	J
H – 3	6,62	bs	1 H	---
H – 6	6,86	d	1 H	2.2
H – 8	7,39	d	1 H	2.2
H – 2´	7,07	s	2 H	---
H – 6´				

5 - Ac	2,36	s	3 H	---
7 - Ac	2,37	s	3 H	---
4' - Ac	2,45	s	3 H	---
2 - OCH ₃	3,91	bs	6 H	---

LACTONAS SESQUITERPENICAS

- **Datos físicos Sustancia 32:**
Asteriscunolido A
(8-oxo- α -humula-6Z,9Z-dien-1,12-olide)



Sólido cristalino

Punto de fusión: 156-58 °C

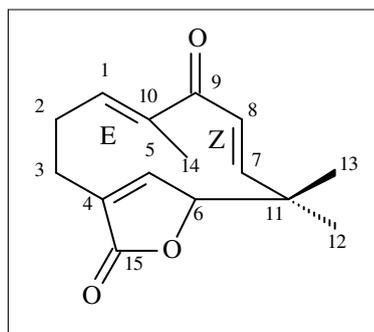
IR $\nu_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3}$ cm^{-1} : 3024, 3005, 2976, 2916, 1743, 1672, 1632, 1381, 1323, 1148, 1072, 1012, 939, 877.

EIMS (m/z): 246 [M^+] (2.07), 203 (0.70), 201 (0.65), 185 (0.72), 173 (9.13), 150 (100), 135 (85.54), 107 (19.53), 91 (11.64)

¹H-RMN (CDCl₃):

H	δ (ppm)	Multiplicidad	Señal	J
H - 1	6.02	bdd	1 H	6.8;10.6
H - 2	2.16	dd	1 H	10.2;11.4
H - 2'	2.33	dt	1 H	10.7;11.2
H - 3,3'	2.67	brdd	1 H	2.7;11.7
H - 5	6.96	brs	1 H	---
H - 6	4.70	brs	1 H	---
H - 7	5.28	d	1 H	13.9
H - 8	6.16	d	1 H	13.9
H - 12	1.41	bs	3 H	---
H - 13	1.20	bs	3 H	---
H - 14	1.95	bs	3 H	---

• **Datos físicos Sustancia 35:**
Asteriscunolido C



Sólido cristalino

Punto de fusión: 176-179 °C.

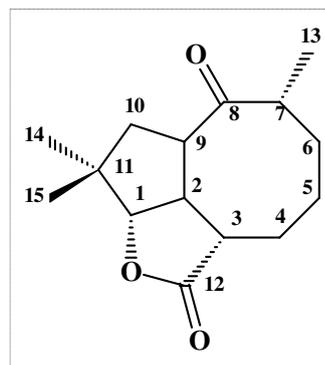
IR $\nu^{\text{CHCl}_3}_{\text{max}} \text{ cm}^{-1}$: 3080, 3018, 2970, 2929, 2877, 1759, 1651, 1435, 1319, 1244, 1180, 1053, 1004, 897.

EIMS (m/z): 246 [M^+] (5.62), 203 (2.11), 201 (0.21), 185 (1.06), 150 (100), 135 (53,35), 121 (12.89), 107 (37.51), 95 (14.62).

$^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3):

Protón	δ (ppm)	Multiplicidad	Señal	J	$\delta(\text{C})$
H - 1	5.49	brd	1 H	11.8	128.6
H - 2, 2'	2.3-2.6	m	2 H	---	26.5
H - 3	--	--	--	--	33.8
H - 4, 4'	2.3-2.6	m	2 H	---	135.5
H - 5	6.98	brs	1 H	---	149.7
H - 6	4.73	brs	1 H	12.1	85.6
H - 7	5.92	d	1 H	16.2	129.5
H - 8	6.28	d	1 H	16.6	156.4
H - 9	--	--	--	--	202.6
H - 10	--	--	--	--	138.6
H - 11	--	--	--	--	40.7
H - 12	1.35	bs	3 H	--	22.8
H - 13	1.28	bs	3 H	--	25.3
H - 14	1.86	bs	3 H	---	17.3
H - 15	--	--	--	--	173.7

• **Datos físicos Sustancia 33:**
Tetrahydroasteriscunolido
(8-Oxo-6,7,9.10-tetrahydrohumulen-1,12-olida)



Sólido cristalino

Punto de fusión: 110-113°C. (AcOEt / n-Hex)

IR $\nu^{\text{CHCl}_3}_{\text{max}} \text{ cm}^{-1}$: 2953, 2916, 1758, 1704, 1683, 1651, 1539, 1462, 1169, 1026, 983, .

EIMS (m/z): 250 [M^+] (100), 235 [$M-\text{Me}^+$] (1.13), 222 (3.36), 207 (1.69), 165 (8.53), 152 (36.37), 139 (23.87), 123 (17.70), 107 (8.77), 97 (44.53), 95 (24.44), 69 (14.82).

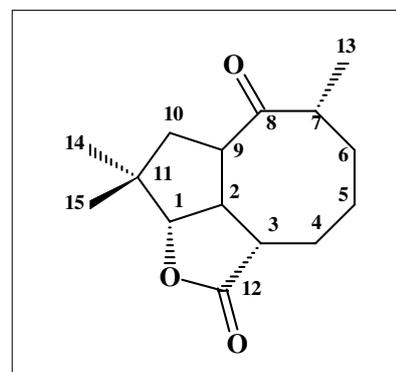
$^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3) - $^{13}\text{C-RMN}$.

H	δ (ppm)	Multiplicidad	Señal	J	$\delta(\text{C})$
H - 1	4,46	bs	1 H	--	87,6
H - 2	7,07	bs	1 H	--	145,1
3	--	--	--	--	135,3
H - 4 α H - 4 β	2,04-2,21	m	2 H	---	25,6
H - 5 α H - 5 β	1,72-1,89	m	2 H	---	21,6
H - 6 α H - 6 β	1.39-1,47	m	2 H	---	31,3
H - 7	2,53-2,60	m	1 H	---	46,2
8	--	--	--	--	213,5
H - 9 α H - 9 β	2,31-2,50	m	2H	---	37,2
H - 10 α H - 10 β	1,72-1,87	m	2 H	---	26,8
11	--	--	--	--	39,1
12	--	--	--	--	173,5

H - 13	0,97	d	3 H	7	17,6
H - 14	1,17	bs	3 H	----	23,8
H - 15	1,11	bs	3 H	---	30,4

• **Datos físicos Ns-34:**

Asteriscanolido



Sólido cristalino

Punto de fusión: 176-179°C.

Fórmula Molecular: C₁₅H₂₂O₃.

IR $\nu^{\text{CHCl}_3}_{\text{max}}$ cm⁻¹: 2953, 2916, 2877, 1758, 1707, 1689, 1651, 1539, 1462, 1169, 1026, 993, 958.

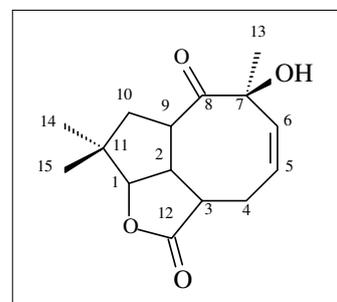
EIMS (m/z): 250 [M⁺] (100), 235 (1.20), 222 (4.72), 208 (0.58), 165 (12.86), 139 (22.78), 136 (12.11), 128 (2.53), 107 (9.98), 95 (35.54)

¹H-RMN-¹³C – RMN.

Protón	δ (ppm)	Multiplicidad	Señal	J	δ (C)
H - 1	4,20	dd	1 H	1.1 ; 5.4	90.91
H - 2	3,67	ddd	1 H	1,5;5,4;9,6	45.70
H - 3	2,2-2,6	ddd	1 H	2,8; 4,6; 9,6	43.15
H - 4 α	1,90	m	1 H	---	22.44
H - 4 β	1,30	m	1 H	---	
H - 5 α	1,50	m	1 H	---	22.93
H - 5 β	1,87	m	1 H	---	21.6
H - 6 α	1,74	m	1 H	---	27.97
H - 6 β	2,36	m	1 H	---	
H - 7	2,45	m	1 H	---	45.67

H - 8	--	--	--	---	213.76
H - 9	3,15	ddd	1 H	6,7;12,0;18.6	50.15
H - 10 α	2,10	t	1 H	13.0	38.41
H - 10 β	1,33	dd	1 H	1,0; 6,7	
H - 11	--	--	--	---	40.75
H - 12	--	--	--	---	177.93
H - 13	1,05	d	3 H	6,7	13.22
H - 14	1,13	bs	3 H	----	24.54
H - 15	0,93	bs	3 H	---	22.92

- **Datos físicos Ns-38:**
Astersicanolidenol.



Sólido cristalino

Punto de fusión: 177-179°C.

Fórmula Molecular: C₁₅H₂₀O₄.

IR $\nu^{\text{CHCl}_3}_{\text{max}}$ **cm**⁻¹: 3458, 3035, 2960, 2031, 2874, 1765, 1709, 1462, 1369, 1263, 1199, 1157, 1063, 995.

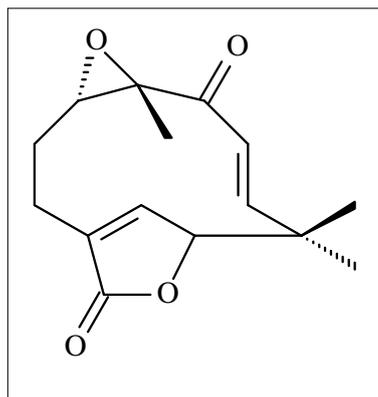
EIMS (m/z): 264 [M⁺] (6.97), 247 [M-OH⁺] (10.07), 221 (21.04), 203 (19.40), 178 (18.24), 161 (11.93), 147 (19.79), 133 (25.49), 121 (13.36), 107 (30.19), 95 (100.00), 79 (30.88).

TOF MS ES⁺: 287.1261 (100.00) [M+Na]⁺. Calcd. 287.1259, fórmula C₁₅H₂₀O₄Na

¹H-RMN- (CDCl₃)- ¹³C – RMN:

Protón	δ (ppm)	Multiplicidad	Señal	J (Hz)	δ(C)
H – 1	4,25	d	1 H	4.3	91.29
H – 2	3.42	ddd	1 H	3.9; 7.5; 11.4	44.78
H – 3	3.05	ddd	1 H	7.7; 11.8; 15.6	43.60
H – 4 α	2.38	m	1 H	---	23.38
H – 4 β	2.25	m	1 H		
H – 5	5.92	ddd	1 H	7.0; 10.4; 17.3	132.88
H – 6	5,82	dd	1 H	0.8; 10.2	134.22
H - 7	--	--	--	--	206.99
H - 8	--	--	--	--	214.14
H – 9	3.26	ddd	1 H	4.4; 8.4; 12.7	44.79
H - 10 α	2.47	dd	1 H	11.6; 13.2	39.23
H - 10 β	1.49	dd	1 H	7.5; 13.5	
H - 11	--	--	--	--	41.79
H – 12	--	--	--	--	176.19
H - 13	1.25	brs	3 H	---	28.08
H – 14	1,44	brs	3 H	---	32.51
H - 15	1.02	brs	3 H	---	24.61
- OH	4.35	brs	---	---	----

- **Datos físicos Ns-39:**
1,10-epoxi-Asteriscunolido A



Sólido cristalino.

Punto de fusión: 146-148 °C

Fórmula Molecular: C₁₅H₁₈O₄ (M = 262).

IR $\nu^{\text{CHCl}_3}_{\text{max}} \text{ cm}^{-1}$: 3011, 2966, 2935, 2874, 1742, 1661, 1450, 1380, 1328, 1192, 1083, 985 cm^{-1} .

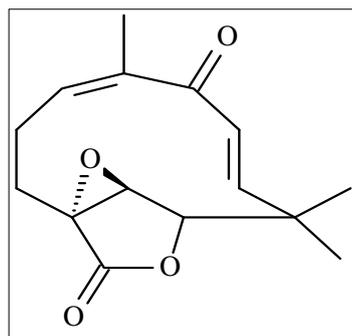
EIMS (m/z): 262 [M⁺] (4.18), 247 [M – Me]⁺ (4.21), 219 (5.30), 201 (3.44), 191 (3.17), 167 (11.41), 166 (100.00), 151 (58.37), 140 (67.59), 109 (22.34), 96 (85.67), 81 (24.27), 67 (37.23).

¹H-RMN(CDCl₃):

Protón	δ (ppm)	Multiplicidad	Señal	J	δ(C)
H – 1	3.01	dd	1 H	4.0; 10	65.76
H – 2,2'	1.75	m	2 H	----	18.32
H – 3,3'	2.43	m	2 H	---	25.77
H - 4	---	---	---	---	133.21
H – 5	6.98	d	1 H	1.0	150.64
H – 6	4.77	brs	1 H	---	89.37
H – 7	5.66	d	1 H	J = 14 Hz	146.80
H – 8	6.44	d	1 H	J = 14 Hz	128.69
H – 9	---	---	---	----	197.38
H – 10	---	---	---	---	62.80
H - 11	---	---	---	---	41.55
H – 12	1,63	s	3 H	---	21.44
H – 13	1,63	s	3 H	---	26.33
H – 14	1.52	s	3 H	---	32.23
H - 15				---	173.34

- **Datos físicos Ns-40:**

4,5-epoxi-Asteriscunolido A



Sólido amorfo.

Fórmula Molecular: C₁₅H₁₈O₄ (M = 262).

IR $\nu^{\text{CHCl}_3}_{\text{max}} \text{ cm}^{-1}$: 2955, 2915, 2849, 1784, 1731, 1659, 1439, 1323, 1275, 1182, 1080, 993 cm^{-1} .

EIMS (m/z): 285.1104 (100.0) [M+Na]⁺ C₁₅H₁₈O₄Na. Calcd. para C₁₅H₁₈O₄ (262, 1205)

¹H-RMN (CDCl₃):

Protón	δ (ppm)	Multiplicidad	Señal	J	δ (C)
H - 1	5,57	bd	1 H	11,8	130.38
H - 2	2,02	m	1 H	---	26.42
H - 2'	2.21	m	1 H	---	26,42
H - 3	1,55	m	1 H	---	33.29
H - 3'	2.28	brt	2 H	14.9	--
					59.65
H - 5	3.67	s	1 H	---	58.95
H - 6	4,17	s	1 H	---	83.42
H - 7	6.11	d	1 H	J = 16,5	152.21
H - 8	6.48	d	1 H	J = 16.4	130.94
H - 9	--	--	--	--	201.95
H - 10	--	--	--	--	130.38
H - 11	--	--	--	--	39.99
H - 12	1,19	s	3 H	--	29.73
H - 13	1,23	s	3 H	--	24.47
H - 14	1,87	bs	3 H	--	22.72
H - 15	--	--	--	--	197.44

**10. CONSIDERACIONES TAXONÓMICAS DEL GÉNERO
*ASTERISCUS***

En las distintas revisiones bibliográficas de la taxonomía del género ***Asteriscus***¹²⁷, observamos que ha sufrido cambios, tanto en su denominación como en las especies que incluye. La contribución de la química de productos naturales a clarificar esta controversia, se fundamenta en el hecho que una relación química entre distintas especies, con toda probabilidad, supondrá una relación biológica entre esas especies. Además, los estudios moleculares serán muy valiosos a la hora de establecer la filogenia o parentescos a distintos niveles taxonómicos.

La alianza *Asteriscus* comprende tres géneros: ***Asteriscus***, ***Ighermia*** y ***Pallenis***, restringido a la Macaronesia y al Mediterráneo. Los límites taxonómicos de los tres géneros han sido controvertidos, aunque análisis cladísticos previos, apoyan la monofilética de cada género. La alianza tiene su centro de diversidad en el Noroeste de África y Macaronesia, según se recoge en la tabla siguiente:

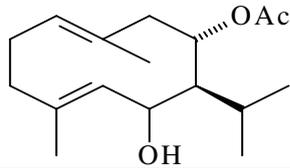
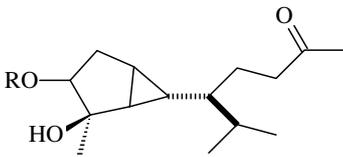
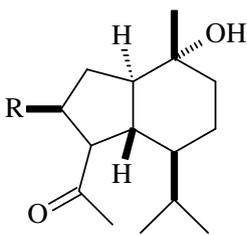
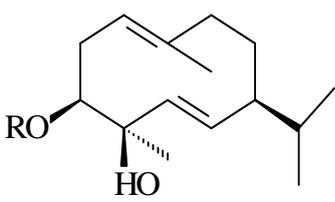
Taxon	Distribución geográfica
<p><i>Asteriscus</i> (L.) Less</p> <p>A. aquaticus (L.) Less</p> <p>daltonii (Webb) Walp. Susp. Daltonii</p> <p>daltonii susp. Vogelii (Webb) Greuter</p> <p>graveolens (Forssk.) Less subsp. graveolens</p> <p>graveolens subsp. odoratus (Schusb.) Greuter</p> <p>graveolens subsp. stenophyllus (Link) Greuter</p> <p>imbricatus (Cav.) DC.</p> <p>intermedius (DC.) Pitard and Proust</p> <p>schultzei (Bolle) Pitard and Proust</p> <p>sericeus (L.f.) DC.</p> <p>smithii (Webb) Walp</p>	<p>Canarias, Madeira, Mediterráneo</p> <p>Cabo Verde</p> <p>Cabo Verde</p> <p>Norte de África, Sáhara</p> <p>Noroeste de África</p> <p>Gran Canaria</p> <p>Costa y Sur de Marruecos</p> <p>Lanzarote</p> <p>Fuerteventura, Lanzarote, Costa y sur de Marruecos</p> <p>Fuerteventura</p> <p>Cabo Verde</p>
<p><i>Ighermia</i> Wiklund</p> <p>I. pinifolia (Marie and Wilczek)</p>	<p>Sur de Marruecos</p>
<p><i>Pallenis</i> (Cass.) Cass.</p> <p>P. hierochuntica (Michon) Greuter</p> <p>marítima (L.) Greuter</p> <p>spinosa (L.) Cass.</p>	<p>Lanzarote, Fuerteventura, África del Norte y Este</p> <p>Oeste del Mediterráneo, costa atlántica de Gran Bretaña y Francia</p> <p>Islas Canarias, Mediterráneo</p>

¹²⁷ Greuter W. (1997). *Flora Mediterranea*. 7. 41-48.

Análisis morfológicos de tipo cladístico de la tribu **Inuleae** sugieren que la alianza *Asteriscus* es monofilética, junto con los géneros *Bupthalmum* y *Xerolekia*. Estudios recientes usando secuencias de ADN de la región ITS, concluyen que *Ighermia* y *Pallenis* son taxones hermanos, no incluyendo *Asteriscus*.

Estudios filogenéticos basados en el estudios de ITS apoyan un grupo monofilético formado por tres géneros de la alianza *Asteriscus*. De cualquier manera, ***Astericus*, *Ighermia* y *Pallenis*** no forman tres grupos monofiléticos distintos. Los géneros previamente sugeridos filogeneticamente relacionados con la alianza (***Bupthalmum* o *Xerolekia***) son hermanos de la alianza de ***Asteriscus***.

A continuación presentamos una revisión bibliográfica de los productos aislados de distintas especies del género *Pallenis*, estudiadas desde el punto de vista químico.

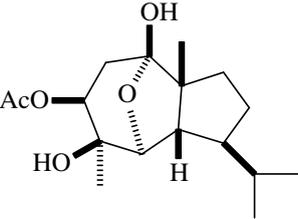
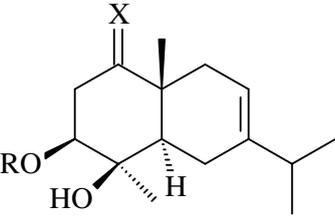
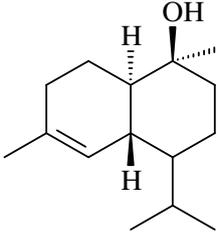
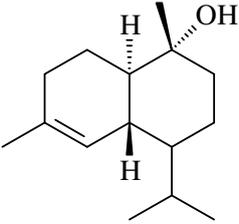
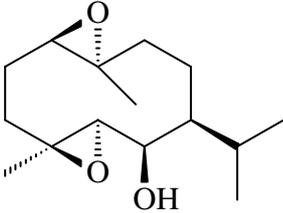
PRODUCTOS GÉNERO <i>PALLENIS</i>			
NOMBRE	ESTRUCTURA	ESPECIE	REF
8-Acetyltovarol		<i>Pallenis spinosa</i>	128
R=OAc 3β-Acetoxy-4β-hidroxi-pallenone R=H 3β, 4β-Dihidroxi-pallenona		<i>Pallenis spinosa</i>	128
R=OAc 3β-Acetoxy-plopanona R=OH 3β-hidroxi-oplopanona R=H oplopanona		<i>Pallenis spinosa</i>	128
R=Ac (3S, 4R, 7S, 1(10)E, 5E) 3-acetoxigermacra-1(10),5-dien-4-ol R=H (3S, 4R, 7S, 1(10)E, 5E)germacra-1(10),5-dien-3,4-diol		<i>Pallenis spinosa</i>	128, 129

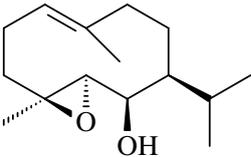
¹²⁸ Appendino, G., Jakupovic, J., Jakupovic, S. (1997). *Phytochemistry*, **46**(6), 1039-1043.

¹²⁹ Appendino, G., Cravotto, G., Gariboldi, P., Claudi, F., Picci, V. (1989). *Phytochemistry*, **28**(3) 849-850.

¹³⁰ Ahmed, A.A., Jakupovic, J. and Bohlmann. (1990). *Phytochemistry*, **49**(10), 3355-3358.

¹³¹ Sanz, J.F., Marco, J.A. (1990). *Phytochemistry*, **30**(8), 2788-2790.

<p>i</p> <p>1α,5α-epoxi-3β- acetoxi-6βH- isodaucane-1β,4β- diol</p>		<p><i>Pallenis spinosa</i></p>	<p>128</p>
<p>R= H, X=BOH,H 3β-Hidroxioplodiol R=Ac, X= BOAc,H 3β, -Acetoxioplodiol- 1-O-Acetato R=Ac, X=BOH,H 3β-Acetoxioplodiol R=Ac, X=O 1β-hidroxioplodiol- 3-O-Acetato</p>		<p><i>Pallenis spinosa</i></p>	<p>128, 130</p>
<p>T- cadinol</p>		<p><i>Pallenis spinosa</i></p>	<p>128</p>
<p>α-cadinol</p>		<p><i>Pallenis spinosa</i></p>	<p>128</p>
<p>1β,10α,4β,5α-di epoxi-7αH- germacran-6β-ol</p>		<p><i>Pallenis spinosa</i></p>	<p>131</p>

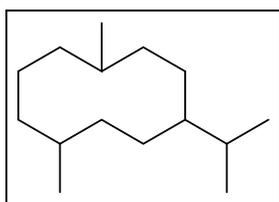
Shiromool		<i>Pallenis spinosa</i>	128
-----------	---	-------------------------	-----

La química del género *Pallenis* (*tribu Inuleae, subtribu Inulinae, en el grupo Inula*) justifica la separación del género *Asteriscus*. La inclusión en el grupo *Inula* puede ser justificado por la presencia de derivados del oplodiol y eudesmanos, comunes en este grupo. De cualquier manera, la propuesta de relacionarlos con el género *Asteriscus* no se mantiene, basándonos en su química y tampoco están relacionados con los géneros Sudafricanos: *Anisopappus*, *Antiphiona* y *Calostephane*, los cuales contiene compuestos diferentes. Mientras el primero y el tercero contienen lactonas sesquiterpénicas, *Antiphiona* tiene solamente derivados del timol.

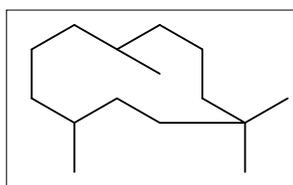
El género *Pallenis* presenta una gran variedad de sesquiterpenos oxigenados. Las diferencias infraespecíficas parecen reflejarse en la abundancia de germacrano-A o compuestos derivados de germacrano-D.

Del estudio de la química de las distintas especies de los géneros *Asteriscus* y *Pallenis*, pueden obtenerse resultados interesantes comparando estructuras del tipo de lactonas sesquiterpénicas presentes en las distintas especies, constituyendo auténticos marcadores taxonómicos, moléculas que tienen gran utilidad para averiguar tribu, subtribu, género y especie.

En las bases de datos químicos y los datos aportados en este trabajo, podemos observar como un grupo de especies presentan un tipo de sesquiterpenos (germacranos), que precisan de un grupo taxonómico distinto, género *Pallenis*,



mientras que las lactonas sesquiterpénicas características, aisladas del género ***Asteriscus***, son del tipo asteriscunolidas (α -*humuleno*), teniendo estas diferencias, consecuencias taxonómicas relevantes.



11. ACTIVIDADES BIOLÓGICAS DE ALGUNOS

PRODUCTOS AISLADOS DE LOS GÉNEROS

TANACETUM Y ASTERISCUS

Nuestro Grupo de Investigación, en colaboración con el grupo dirigido por el Dr. Francisco Estévez Rosas del Departamento de Bioquímica de la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, ha venido desarrollando el estudio de la actividad citotóxica de diversos productos aislados de fuentes naturales.

Metabolitos secundarios aislados, que presentan actividad biológica:

- **Flavonoides.** Derivados de la fenil- γ -pirona; abarcan una amplia variedad de compuestos polifenólicos que aparecen de manera natural en las plantas. Están omnipresentes en los alimentos y bebidas a base de vegetales y consumidos en cantidad significativa en nuestra dieta diaria, con propiedades anti- inflamatorias, antiagregante plaquetario, anticancerígenas, gran capacidad antioxidante. Destacan como los agentes anticancerígenos más prometedores.

El efecto antiproliferativo está mediado por diferentes tipos de parada del ciclo celular. Potencia la acción citotóxica del citosín-arabinósido e inhibe la invasión celular e induce la apoptosis. Este proceso juega un papel muy importante en el propio desarrollo del organismo, en la homeostasis y en la defensa contra patógenos. La mayor parte de las sustancias utilizadas en quimioterapia producen la muerte celular por este tipo de procesos.

Ejercen su actividad antioxidante por inhibición de las actividades enzimáticas, como la actividad lipoxigenasa y ciclooxigenasa, que por quelar iones metálicos y, sobre todo, por colectar radicales libres. Esta actividad se atribuye a los grupos hidroxilos fenólicos unidos a anillos aromáticos, secuestrando radicales libres por donar hidrógeno de los grupos hidroxilo activos para formar radicales libres fenoxilo estabilizados por resonancia, por lo que se llaman antioxidantes donantes de hidrógeno.

- **Lactonas sesquiterpénicas** presentan propiedades anti-inflamatorias, citoprotectoras, antitumorales, antimicrobianas.

Estos compuestos inhiben el crecimiento tumoral por alquilación selectiva de las macromoléculas biológicas implicadas en la regulación del crecimiento, como enzimas, las cuales controlan la división celular, inhibiendo de ese modo varias funciones celulares, las cuales están directamente implicadas en la apoptosis. Estas reacciones están mediadas químicamente por la estructura de un grupo carbonilo α,β -insaturado, como α -metilen- γ -lactona ($O=C-C=CH_2$) y ciclopentenona α,β -insaturada o ésteres conjugados, como agente alquilante en una reacción tipo Michael.

Por esta razón, uno de los objetivos de este trabajo es el de investigar las actividades biológicas de compuestos aislados en nuestro estudio.

PARTE TEÓRICA

Normalmente en la célula hay un equilibrio entre reproducción celular y la apoptosis a fin de mantener la población adecuada al momento en que los tejidos han llegado al estado adulto de desarrollo.

El término “apoptosis” fue propuesto por John Kerr en el año 1972, proveniente del griego que define la caída de las hojas de los árboles en el otoño. Es el proceso de muerte celular cuando el calendario genético de la célula señala el final de la funcionalidad útil.

La salud de los organismos multicelulares depende no sólo de la habilidad de producir células nuevas sino que también de las células individuales puedan autodestruirse cuando surge algún desorden en ellas.

Se ha descubierto que las células de los animales multicelulares están programadas para autodestruirse y la supervivencia celular depende de la capacidad para reprimir este programa de autodestrucción.

La apoptosis ha demostrado tener un rol muy importante en el adulto, por el mantenimiento de la homeostasis de tejidos, y la regulación del número de células, eliminación de células dañadas o anormales y como defensa contra infecciones.

La desregulación de la apoptosis provoca o participa en la patogénesis de enfermedades que abarcan desde el cáncer, autoinmunidad, desordenes neurodegenerativos, etc.

Este proceso se activa gracias a diferentes genes y proteínas que hacen que la célula inicie un proceso de desaparición pasiva, morir lentamente y desaparecer cuando ya no tiene una función vital importante para la célula.

La “muerte celular programada” o apoptosis es un conjunto de reacciones bioquímicas celular que termina con la muerte celular. Este proceso de autodestrucción es ordenado y silencioso permitiendo al organismo su correcta morfogénesis y la eliminación de células.

La célula sufre una serie de procesos morfológicos y bioquímicos que señalamos brevemente a continuación:

- Cambios morfológicos: se altera la membrana celular, con pérdida de estructura de la misma, produciendo la condensación del citoplasma y disminuyendo el volumen de la célula. Fundamentalmente se produce la pérdida de mitocondrias, alteraciones de la membrana nuclear, condensación y fragmentación nuclear, dando lugar a los llamados cuerpos apoptóticos.
- Cambios bioquímicos: aumenta la cantidad de calcio libre, deshidratación celular, desnaturalización de ADN, etc.

En el desarrollo de un tumor, el proceso de apoptosis es fundamental. Este proceso se puede comenzar tanto fuera de la célula (receptores de muerte) como dentro de la célula (estímulos de estrés celular: radiación, fármacos, infección viral, aumento de radicales libres) o daño en el ADN.

Numerosos genes poseen propiedades pro y antiapoptóticas, que pueden ser activados o inhibidos por señales intrínsecas o extrínsecas. Se han descrito 4 etapas en el proceso apoptótico:

- Etapa 1: Activación celular debido a estímulos internos y externos
- Etapa 2: Recepción y transducción de señales
- Etapa 3: Activación caspasa(cisteín-proteasa)
- Etapa 4: fragmentación internucleosómica del ADN

Podemos diferenciar dos vías para desencadenar la apoptosis:

1. Vía intrínseca o mitocondrial¹³²

Distintos estímulos de estrés celular actúan directamente sobre la mitocondria o bien a través de moléculas mediadoras como las ceramidas o el factor proapoptótico Bax.

¹³² Lizarbe Iracheta, MA. (2007). *Rev. R. Acad. Cienc. Exact. Fis. Nat (Esp)*. **101**(2).

Como consecuencia aumenta la permeabilidad mitocondrial, produciendo la liberación de citocromo c, endonucleasa G y de otras proteínas, produciendo una ruptura en la cadena de electrones. Se generan una serie de procesos en este momento que produce la muerte celular donde tienen un papel importante las caspasas (cisteín-proteasas) dirigidas a aspartato, relacionadas con procesos inflamatorios y apoptosis.

2. Vía extrínseca¹³²

La activación bioquímica del programa de muerte celular, entre ellos, las caspasas, es la responsable de los cambios morfológicos, incluyendo daño mitocondrial, ruptura membrana, fragmentación ADN, condensación de la cromatina y formación de cuerpos apoptóticos. En células normales, las caspasas permanecen como proenzimas inactivos. Al entrar en apoptosis, las caspasas se activan (se corta el péptido precursor), dando lugar a fragmentos activos. Son enzimas de la familia de las cisteín-proteasas.

Actualmente hay dos cascadas de activación:

- Cascada generada por los receptores de membrana (Death Receptors)
- Cascada desencadenada por cambios en la integridad de la mitocondria.

Es fundamental el papel que juegan los llamados receptores de muerte. Receptores que una vez activados transmiten la señal a las caspasas, iniciando de esta manera la apoptosis.

Estos receptores pertenecen a una gran familia de receptores del factor necrótico tumoral (TNFR). De esta manera en algunos casos la producción la caspasa-8 es abundante y caspasa-3 a través de la cascada de las caspasas, o en otros casos se produce la activación de la caspasa-8 que origina la liberación de un miembro de la familia Bcl-2, induciendo la liberación de citocromo c al citosol.

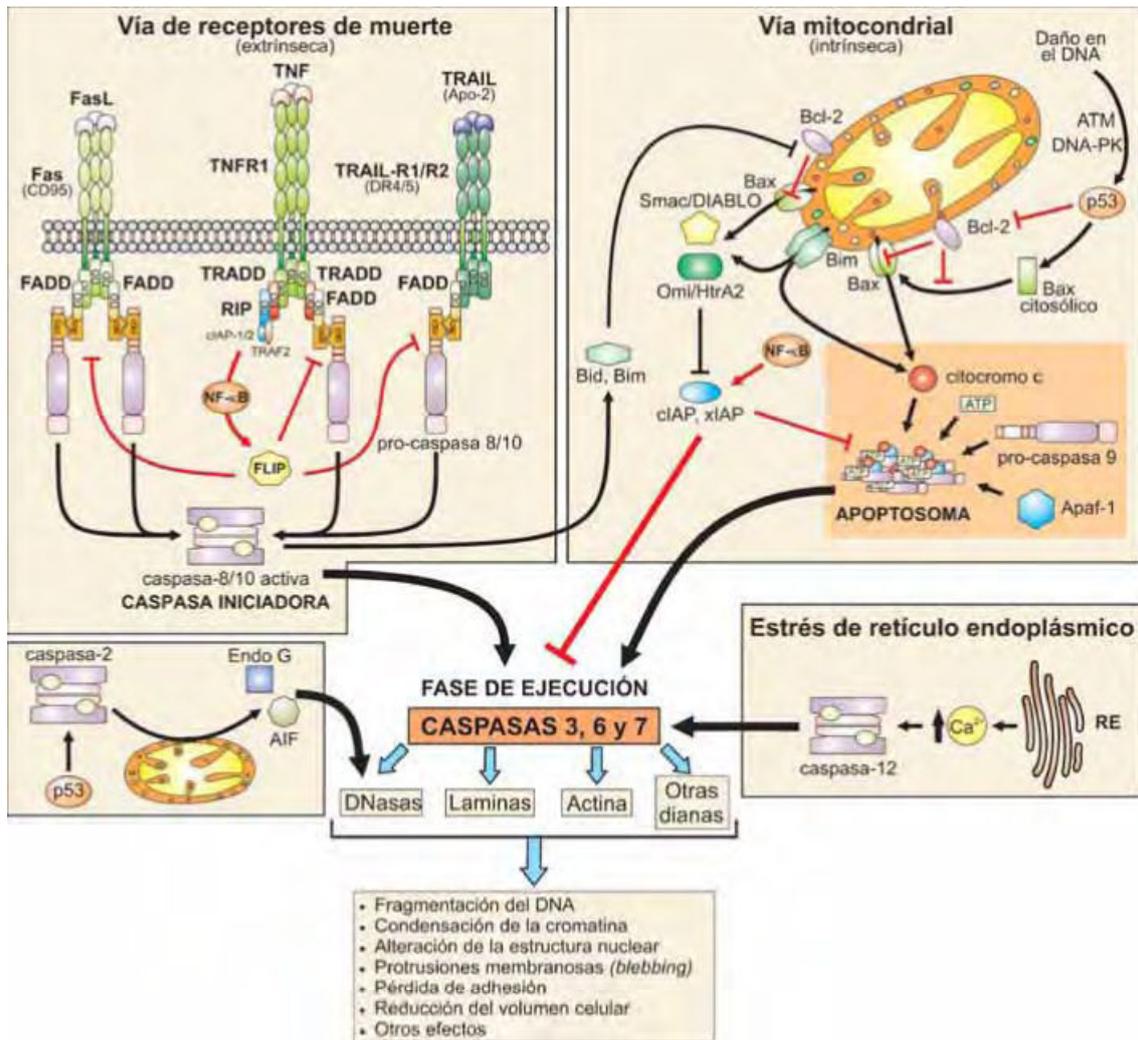


Fig. 58.- Vías de señalización que conducen a la muerte por apoptosis. Dependiendo del tipo de estímulo apoptótico, se pueden activar distintas rutas iniciadoras de la cascada de señales del programa de apoptosis. La vía extrínseca, mediada por los receptores de muerte, se inicia en la membrana plasmática tras la unión de distintos ligandos (por ejemplo, FasL, TNF o TRAIL) a sus respectivos receptores de muerte (Fas, TNFR1 o TRAILR1/ R2, respectivamente). Este hecho provoca la homotrimerización del receptor que, a través de proteínas adaptadoras (como FADD), activa a la pro-caspasa 8. En la vía mitocondrial o intrínseca, familia de proteínas Bcl-2 regula la liberación de calcio, ROS (especies reactivas de oxígeno) y proteínas apoptogénicas (citocromo c, Apaf-1 y AIF) que pueden activar a la pro-caspasa 9. A su vez, la expresión de los distintos miembros de la familia Bcl-2 puede estar regulada por estímulos proapoptóticos, como el daño en el DNA. En este caso, dicho daño induce a través de las quinasas ATM o DNA-PK, la activación de p53 que, a su vez, promueve la transcripción de los genes pro-apoptóticos de esta familia (p.e. Bax) y reprime las de los anti-apoptóticos como el propio Bcl-2. La activación de las pro-caspasas implica la liberación del prodominio y la separación proteolítica de las subunidades grande (morado) y pequeña (rosa), con la posterior asociación de dos subunidades grandes y dos pequeñas dando lugar a la especie activa con dos centros catalíticos (verde). Las caspasas iniciadoras activan a las caspasas ejecutoras, que son las desencadenantes de los diversos procesos celulares que conducen finalmente a la muerte celular por apoptosis. Existen otras vías de activación intrínseca del proceso de apoptosis, como la que produce la activación dependiente de p53 de la caspasa-2 que, a su vez, induce la liberación mitocondrial de la oxidoreductasa AIF y la endonucleasa mitocondrial EndoG, que se dirigen al núcleo y promueven la degradación de nucleosomal de la cromatina. El estrés de retículo endoplásmico es otra de las vías intrínsecas de inducción de apoptosis en la que se altera de la homeostasis de calcio; en esta ruta está implicada la caspasa-12¹³²

ACTIVIDAD CITOTÓXICA DE LACTONAS SESQUITERPÉNICAS:

En primer lugar sometimos a investigación la posible actividad citotóxica frente a líneas celulares tumorales humanas, cuyos resultados mostramos a continuación

ASTERISCUNOLIDO A (AS)¹³³:

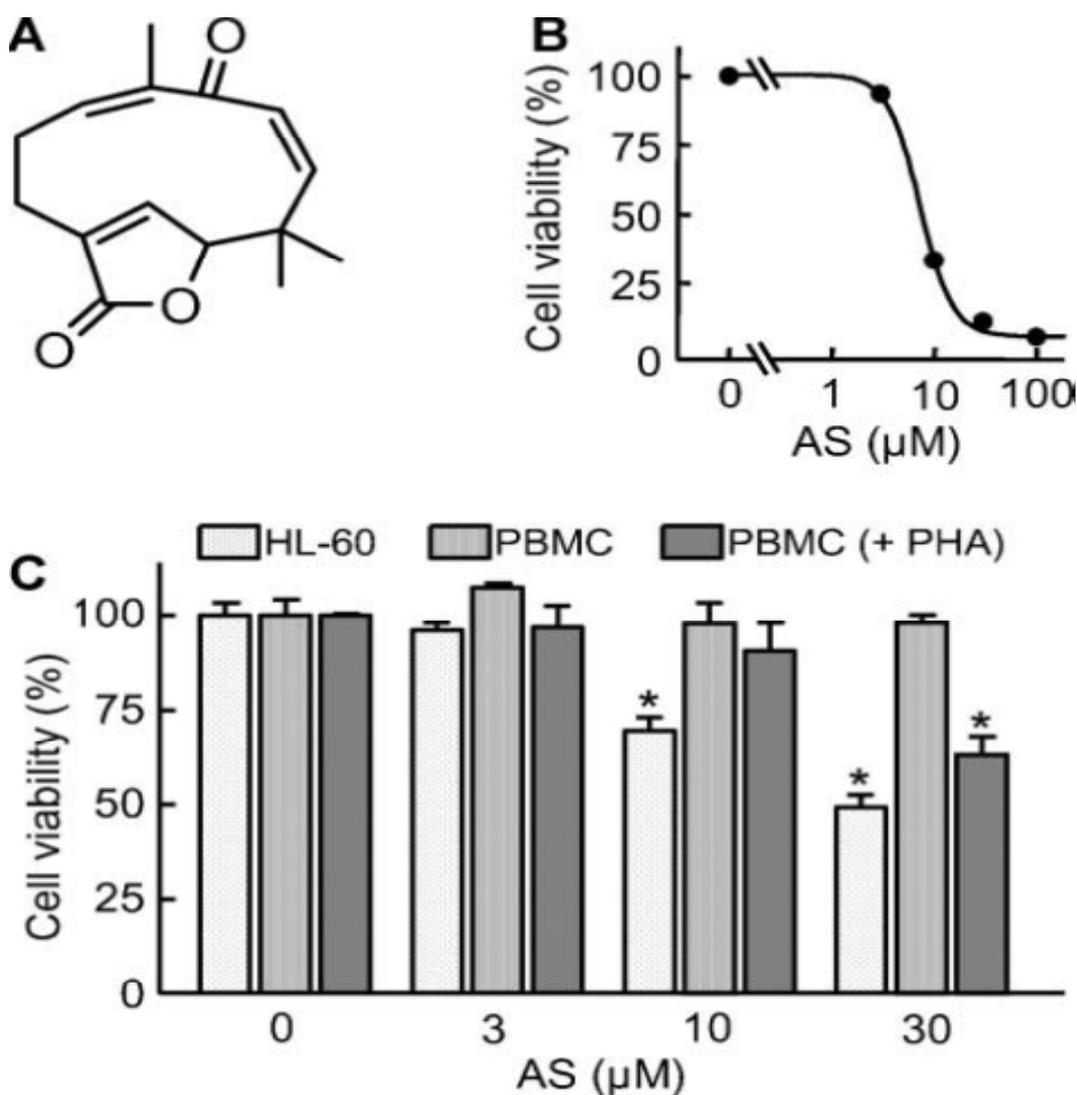


Fig. 59.- (A) Estructura del AS. (B) Efecto of AS sobre la viabilidad de células humanas H-60. (C) Distintos efectos de AS en células HL-60, células mononucleares de sangre periférica (PBMCs). Proliferación de células HL-60, PBMC y fitohemaglutinina (PHA) cultivo en presencia concentraciones of AS en 24 h.

¹³³ Negrín G, Eiroa JL, Morales M, Triana J, Quintana J, Estévez F. (2010). *Molecular Carcinogenesis*. **49**, 488-499.

EFFECTOS DE ASTERISCUNOLIDO A EN EL CRECIMIENTO DE LINEAS CELULAR TUMORALES HUMANAS.

HL-60	U-937	MOLT-3	SK-MEL-1	A549
IC ₅₀ (μ M) 5.2 \pm 1.3	5.4 \pm 0.7	4.9 \pm 1.7	6.8 \pm 2.9	>30

Podemos concluir, que el AS tiene elevada actividad citotóxica y es un potente inductor de la apoptosis celular, induciéndola mediante la activación de las caspasas, sobre-expresión de las proteínas Bcl-2 y Bcl-xL involucradas en la muerte celular caspasas dependientes y activación de la vía MAPK.

Observamos que las líneas de células leucémicas humanas, incluyendo las líneas celulares mieloides (HL-60 y U-937), la línea celular linfoide Molt-3 y la línea celular de melanoma humano SK-MEL-1 fueron altamente sensibles a la actividad antiproliferativa de AS.

El tratamiento de estas células con AS, muestra un resultado dosis-dependiente de la inhibición de la proliferación celular, sin cambios significativos en las cuatro líneas celulares. Destacar el resultado de A549 que fue altamente resistente a este compuesto.

Además, la actividad citotóxica frente a PBMC (células mononucleares de sangre periférica) fue elevada.

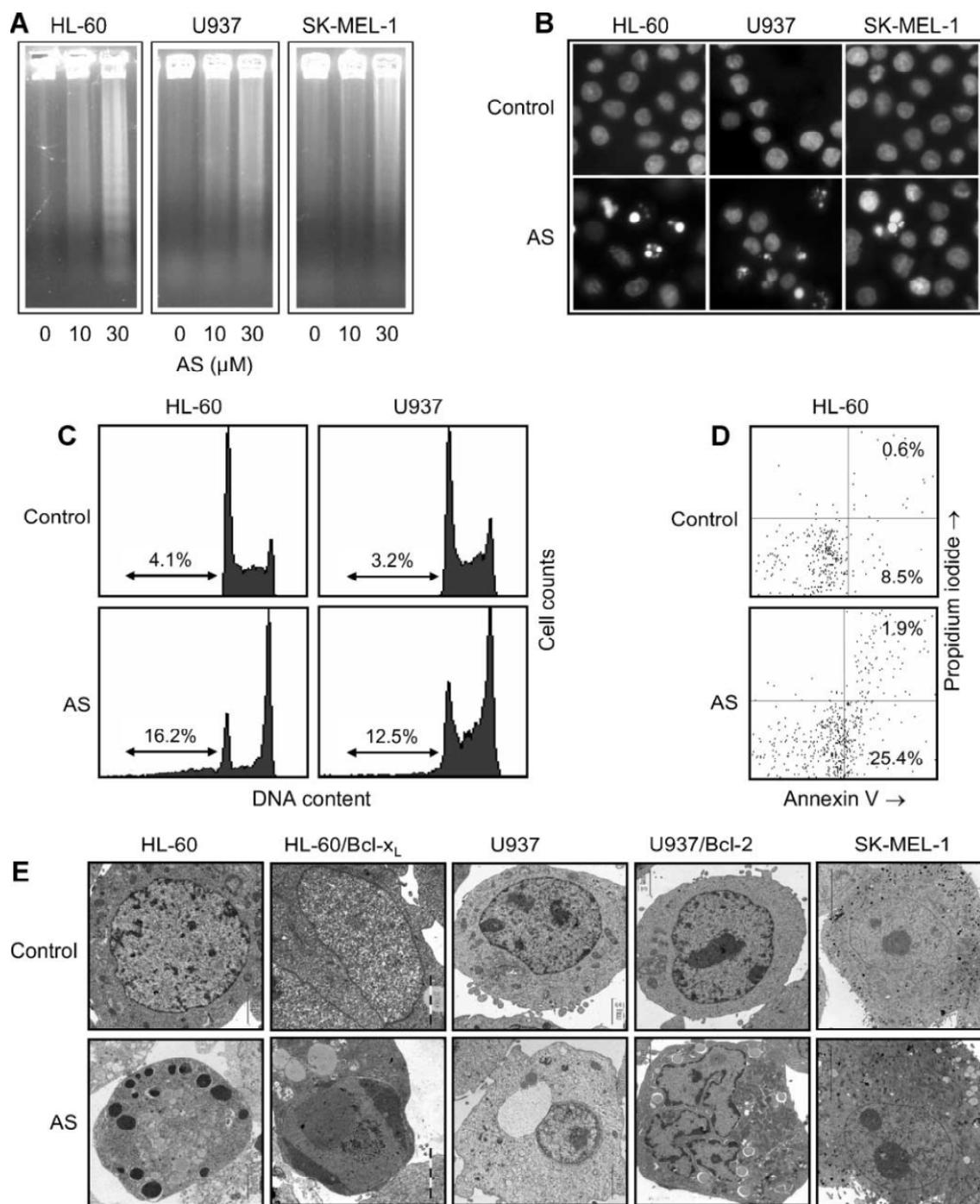
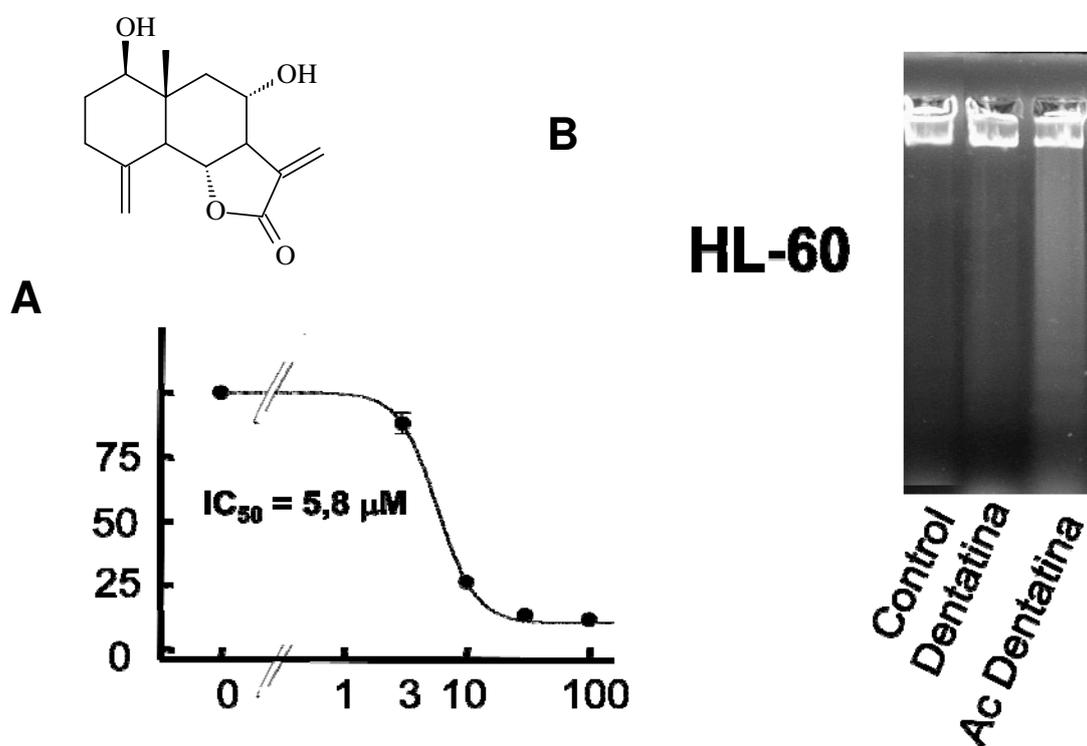


Fig.60.-AS induce apoptosis en células tumorales humanas. (A) Efectos de AS en la fragmentación de DNA en células tumorales humanas. Células tratadas con concentraciones indicadas de AS extraído de ADN, separado en gel de agarosa y visualizado en luz ultravioleta con bromuro de etidio. (B) Fotomicrofotografía de campos celulares teñidos con trihidrocloruro de bisbencimida evaluando la condensación de cromatina (i.e., apoptosis) después de tratamiento con 30 mM de AS. (C) Las células HL-60 and U937 fueron incubadas 30 mM de AS durante 24 h y sometidas a citometría de flujo por unión con yoduro de propidio. Células hipodiploides (células apoptóticas) fueron mostradas en una region mas estrecha. (D) Análisis de citometría de flujo Annexin V-FITC y yoduro de propidio con células HL-60 después 24 h de tratamiento con 30 mM AS. Los datos son representativos después de tres experimentos separados. (E) Las células fueron incubadas con 30 mM AS en 24 h y visualizado por TEM. Muestra su equivalencia a 2 mm.

Dentatina A:

La citotoxicidad de este compuesto podría ser atribuida a su capacidad para reaccionar con grupos -SH de residuos de cisteína en una adición tipo Michael. Las IC_{50} medias de la Dentatina A y su derivado acetilado fueron del orden de μM en las líneas de leucemia humana HL-60 y U937. Estos compuestos indujeron apoptosis dosis y tiempo dependiente, determinada por microscopía fluorescente, por fragmentación de DNA genómico y por citometría de flujo. Además la apoptosis inducida por estos compuestos está mediada por activación de múltiples caspasas.



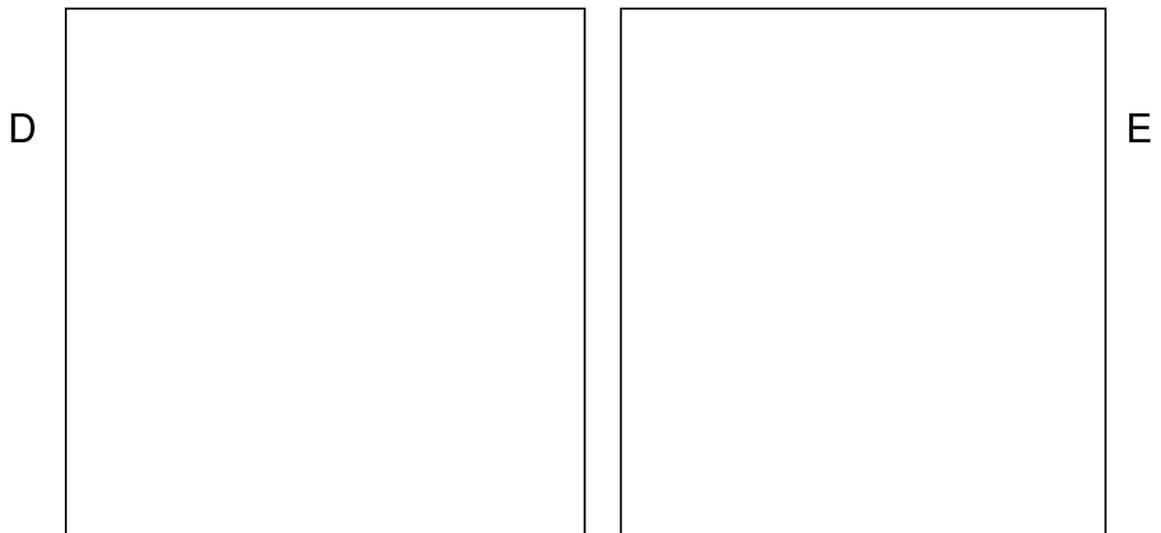


Fig. 61. (A) Efecto del acetato de Dentatina sobre la viabilidad de la línea HL-60, (B) Fragmentación de ADN genómico en células HL-60 en presencia de Dentatina y su acetato, (C) Análisis cinético de la actividad caspasa-9, -8 y -3 en células HL-60 y U937, (D) Hidrólisis de PARP y (E) procesamiento de caspasas.

De estos resultados podemos concluir que la Dentatina A y su acetato son altamente citotóxicos frente a líneas de leucemia humana HL-60 y U-387.

PARTE EXPERIMENTAL

Los procedimientos para el estudio de la actividad citotóxica de las sustancias estudiadas han sido los siguientes:

Cultivo Celular

El crecimiento y viabilidad de cultivos de células leucémicas humanas HL-60, U-937 y SK-MEL-1, empleando el ensayo por colorimetría MTT.

En primer lugar se inicia con el cultivo celular en RPMI 1640 con 10% (v/v) de suero bovino fetal inactivado por calor, penicilina (100 unidades ml^{-1}) y estreptomina (10 $\mu\text{g}/\text{ml}$) en una atmósfera húmeda con un 5% de CO_2 y 37 $^{\circ}\text{C}$ en fase exponencial que se siembra con disoluciones de los productos aislados en diferentes concentraciones, durante un día.

Los compuestos se disolvieron en dimetilsulfóxido (DMSO) y las disoluciones stock se almacenaron a -20°C . Las posteriores diluciones de las muestras de sustancias vegetales se realizaron en medio de cultivo justo antes de su uso. En todos los experimentos, la concentración final de DMSO no excedió el 0,3%(v/v), concentración que no es tóxica para las células.

El número de células fue contando por un hematocitómetro, detectando una viabilidad superior al 95%

Ensayo de inhibición del crecimiento y viabilidad celular

Durante el crecimiento exponencial se ensayan varias concentraciones de productos naturales entre 0,3 – 0,5 μM en un volumen de 100 μl durante 24 horas.

La supervivencia celular fue detectada basándonos en su habilidad de metabolizar bromuro 3-(4,5-dimetiltiazol-2-tiazolil)-2,5-difeniltetrazolo (MTT) en la formación de cristales.

A continuación medimos la viabilidad celular empleando la densidad óptica a 570 nm y determinar la supervivencia celular como fracción de células vivas.

Se determinó la supervivencia celular como:

$$\text{Supervivencia celular (\%)} = \frac{\text{absorbancia células tratadas}}{\text{absorbancia control}} \times 100$$

Los resultados se expresan en términos de **IC₅₀** o concentración inhibidora del 50 %. La descripción de la curva concentración-respuesta (IC₅₀) fue determinada gráficamente para cada experimento, usando el programa informático Prism 2.0 (GraphPad) y la ecuación derivada por De Lean y colaboradores. Si los valores obtenidos son más o menos bajos, nos da idea de la capacidad citotóxica de una sustancia.

Podemos de esta manera valorar la función respiratoria mitocondrial, mediante la reducción de este colorante.

EVALUACIÓN DE LA APOPTOSIS

Técnicas de microscopía fluorescente

Las células se fijaron en paraformaldehído al 3% durante 10 minutos a temperatura ambiente y después se tiñeron con 10 μl/ml de trihidrocloruro de bisbencimida (Hoerchst 33258) durante 30 minutos a 37 °C antes de su análisis.

Las células apoptóticas se identificaron por su cromatina fragmentada. Los núcleos teñidos con la cromatina condensada o los núcleos fragmentados en cuerpos múltiples y densos se consideraron como apoptóticos. Los núcleos con la cromatina no condensada y dispersa se consideraron como no apoptóticos. Se contaron un mínimo de 500 células de cada muestra, y cada experimento se realizó por triplicado.

Análisis por citometría de flujo

Se observan los cambios en el contenido de ADN celular, mediante histogramas de la cuantificación de formación de ADN hipodiploide, obtenidos mediante citometría de flujo utilizando un citómetro Coulter EPICS™

Del cultivo celular convenientemente tratado, obtenemos información de los cambios en el contenido del ADN celular. Se empleó el programa Expo 32 ADC Software™. Las células fueron centrifugadas a 500 xg, lavadas con 1 ml de PBS y resuspendidas en 50µl de PBS. Posteriormente y gota a gota se añadió 1 ml de etanol al 75% enfriado, almacenando las células fijadas durante 1 hora a -20°C. Las muestras fueron de nuevo centrifugadas a 500xg lavadas con PBC y resuspendidas en 1 ml de PBS conteniendo 50µg/ml de yoduro de propidio y 100 µg/ml de RNasa A y posterior incubación durante 1 hora a 37°C en la oscuridad. El porcentaje de células con ADN marcado disminuido, compuesto por células apoptóticas resultantes, tanto debido a fragmentación como a la disminución de la cromatina, realizando un recuento de un mínimo de 10.000 células por experimento. Los restos celulares fueron excluidos del análisis selectivo.

La apoptosis fue determinada por translocación de fosfatidilserina a la superficie usando Annexin V-FITC, kit de detección de apoptosis (BD Pharmingen) de acuerdo con el protocolo del fabricante.

Microscopía de Transmisión Electrónica (TEM)

Análisis Western Blot

Las células (1x10⁶ ml) se trataron en ausencia o presencia de las sustancias aisladas de especies vegetales a la concentración (10-30 µM) indicada durante diferentes periodos de tiempo. Después del tratamiento, las células fueron centrifugadas a 500 g durante 10 min. Fueron resuspendidas en una disolución tampón 20 mM Tris-HCl (pH 7,4), 2 mM EDTA, 137 mM NaCl, 10% glicerol, 1 % Triton X-100, 2mM pirofosfato tetrasódico, 20 mM β-glicerofosfato sódico, 10 mM de fluoruro sódico, 2 mM ortovanadato sódico, inhibidor de proteasas fluoruro de fenilmetil sulfonilo (PMSF, 1 mM), leupeptina, aprotinina y pepstatina (5µg/ mL cada uno) durante 15 min a 4°C. A las células se aplicó ultrasonido en frío y centrifugadas a 11000g durante 10 minutos a 4°C. La concentración de proteínas sobrenadante fue

determinada mediante el método Bradford. Las muestras con contenido igual de proteínas fue calentado en una disolución tampón de dodecilsulfato sódico durante 5 minutos antes de ser fraccionados en membranas PVDF, e incubadas con anticuerpos específicos contra PARP, caspasa-9, caspasa-8, caspasa-7, caspasa-6, caspasa-3, β -actina, p38^{MAPK}, fosfo-p38^{MAPK}, JNK/ SAPK, fosfo-JNK, ERK1/ 2, durante la noche a 4°C. Después de lavar e incubar con un anticuerpo secundario. Los complejos antígeno-anticuerpo se visualizaron por quimioluminiscencia (Millipore) usando protocolo del fabricante.

Análisis de Potencial de Membrana Mitocondrial

Las células fueron tratadas con AS (10 μ M) durante distintos periodos de tiempo e incubados con la sustancia fluorescente yoduro de 5,5',6,6'-tetracloro-1,1',3,3'-tetraetilbecimidazolcarbocianina(JC-1, 10 μ M) durante 10 minutos. En el análisis se utilizó citometría de flujo usando Coulter EPICS (Beckman Coulter, Miami, FL.)

Determinación de Especies Intracelulares Oxígeno Reactivo (ROS)

Las especies reactivas de oxígeno fueron detectadas por citometría de flujo usando diacetato de 2',7'-diclorohidrofluoresceína (H₂-DCF-DA). Las células HL-60 fueron tratadas con y sin 10-30 μ M de AS durante 1-24 h. El reactivo (20 μ M) fue añadido a las células tratadas con AS, incubándolas durante 30 min. Las células fueron lavadas y resuspendidas en 1 mL de una disolución tampón salina (PBS). La citometría de flujo fue llevada tras una hora a citometro Coulter EPICS (Beckman Coulter). En cada estudio, 10000 células fueron contadas. La fluorescencia de DCF fue detectada por la excitación y emisión de longitudes de onda de 485 y 530 nm, respectivamente.



12. TÉCNICAS INSTRUMENTALES

- RECOLECCIÓN DE MATERIAL VEGETAL DE PARTIDA

En la primera fase del trabajo, se procedió a la localización de las distintas especies. Se recogieron las muestras en su hábitat característico en Gran Canaria. Se recogió la parte aérea de la planta para asegurarnos de la obtención de todos los metabolitos sintetizados por el vegetal. Se recolectó cantidad suficiente, de forma que pudiéramos manejar extractos lo más grandes para aislar los productos más interesantes.

- EXTRACCIÓN

El material vegetal recolectado de cada especie fue depositado en ambientes secos, oscuros y con humedad ambiental baja, para conseguir la máxima deshidratación después de un período de varios meses. Este material se trituró en fragmentos pequeños, al que posteriormente se sometió a un proceso de extracción sólido-líquido en un Soxhlet.

El conjunto de metabolitos se extrajo mediante un proceso de reflujo del disolvente en caliente sobre los cartuchos de papel donde se encontraba el material vegetal. Como disolvente extractor se empleó etanol, con el objetivo de arrastrar la mayor cantidad posible de compuestos. El extracto etanólico fue sometido a concentración en un rotavapor con sistema de vacío. Se obtuvo una pasta de color marrón, que fue pesado y al que se sometió a un proceso de separación e identificación de los metabolitos de interés.

- CROMATOGRAFÍA EXTRACTO ETANÓLICO

La siguiente etapa consiste en la separación, aislamiento y purificación, mediante técnicas cromatográficas, de los metabolitos que consideremos de interés.

Inicialmente el extracto etanólico bruto se sometió a una cromatografía en columna inicial en lo que se realizó un percolado del mismo. Se realizó en una

columna de vidrio de 1,5 m de largo y 8 cm de diámetro, rellena de gel de sílice (MERCK, 0,063-0,2 mm) como material adsorbente. A través de esta columna, y por gravedad, se pasaron una serie de disolventes de polaridad progresivamente creciente, inicialmente con n-hexano y terminando con metanol, pasando mezclas sucesivas de n-hexano y acetato de etilo (10 % 20% 30% 40% 50% 60%.....).

Las fracciones obtenidas se analizaron en cromatografía en capa fina (S₁ gel 60 F₂₅₄) y siendo reunidas según su semejanza. Las distintas fracciones fueron sometidas a nuevos procesos de cromatografía, hasta conseguir la separación de los productos de partida. En este proceso se emplearon columnas cromatográficas de vidrio por gravedad o de presión, según la cantidad del material de partida.

Finalmente se obtuvieron productos por recristalización o empleando cromatografía en capa gruesa, cuando no cristalizaba o por su difícil separación.

- IDENTIFICACIÓN

TÉCNICAS CROMATOGRÁFICAS

1.- CROMATOGRAFÍA EN COLUMNA

En las columnas generales para el estudio de cada planta se empleó en la fase estacionaria gel de sílice de tipo 0,02-0,5 mm 60G de Merck. La preparación de las mismas se realizó mezclando el gel con n-hexano, para a continuación

compactarla pasando la fase móvil, n-hexano. Posteriormente se realizó la cabeza de la columna, disolviendo con acetona el extraco de la planta y añadiendo gel de sílice suficiente. Finalmente se eliminó el disolvente en el rotavapor, hasta obtener un residuo seco, que constituye la cabeza de la columna.

Para las columnas intermedias se utilizó el mismo tipo de gel que anteriormente, rellenándose la columna con una mezcla previa de gel y n-hexano, compactándola con n-hexano. La columna se rellenó con la mezcla de gel y fase móvil (n-hexano), compactándola empleando n-hexano.

Para las columnas de media presión se utilizó como fase estacionaria gel de sílice tipo 70-230 mesh, grado 9385 60A de la casa Merck. La preparación de las columnas se efectuó mezclando la gel con la fase móvil, rellenando la columna con esta mezcla y procediendo a compactarla mediante la circulación de la fase móvil.

2.- CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA

Se emplearon placas cromatográficas con soporte de aluminio con fase estacionaria de gel de sílice de la casa Merck 60F₂₅₄ 0,2 mm. En el revelado se procedió a la inmersión de la placa en una disolución de "oleum" H₂SO₄-H₂O-Ac₂O en proporción (1:4:20) y su posterior introducción en estufa a 120°C durante varios minutos, seguido a una exposición de lámpara ultravioleta de 254 nm y 356 nm.

3.- CROMATOGRAFÍA PREPARATIVA

Se utilizaron placas de gel de sílice de 1mm de espesor de la casa Merck 60PF₂₅₄₊₃₆₆, siendo eluidas con distintos disolventes según el caso.

ACETILACIÓN

En la obtención de derivados acetilados, se trató la sustancia disuelta en piridina con anhídrido acético dejándola en reposo durante 24 horas y vertiendo la mezcla resultante sobre agua helada, y posteriormente su extracción con disolvente orgánico adecuado. A continuación se somete la fase orgánica resultante a lavados sucesivos con solución acuosa de ácido clorhídrico al 5 %, solución de hidrógenocarbonato sódico al 5 % y agua. Finalmente se seca la fase orgánica sobre sulfato sódico anhidro, filtración y eliminación del disolvente orgánico a presión reducida.

DISOLVENTES

Los distintos disolventes empleados: n-hexano, acetato de etilo, acetona y metanol (fueron secados y destilados).

MATERIAL VEGETAL

Las especies estudiadas fueron recolectadas en las fechas y lugares indicados, siendo clasificadas por la Dra. Rosa Febles del Jardín Botánico Canario Viera y Clavijo de Las Palmas de Gran Canaria, encontrándose en el herbario de dicho centro muestras de las mismas.

INSTRUMENTACIÓN

1.- Espectroscopía de Resonancia Magnética Nuclear

Los espectros de RMN- ^1H y ^{13}C se obtuvieron a partir de espectrofotómetros Bruker Avance 300, Avance 400 y AMX 500, empleando para las disoluciones de las sustancias cloroformo deuterado, tetrametilsilano (TMS) como referencia interna. Los valores de desplazamiento químico (δ) se expresan en ppm y las constantes de acoplamiento (J) se expresan en Hz. Los experimentos bidimensionales (COSY, HSQC, HMBC, ROESY, NOESY) se realizaron empleando programas convencionales suministrados por la casa Bruker.

2.- Espectroscopía Infrarroja

Los espectros de infrarrojo fueron realizados en dos espectrofotómetros: Bruker IFS 55 y Perkin-Elmer mod. FTIR-8400S. Se utilizaron células de 0,1 mm de cloruro de sodio, preparando las muestras en disolución de cloroformo y aplicación en film, con nujol y en pastillas de bromuro potásico. Los valores de $\nu_{\text{máx.}}$ se expresan en cm^{-1} .

3.- Espectroscopía Ultravioleta.

Los espectros de ultravioleta se realizaron en un espectrofotómetro Shimadzu UV-240, empleando celdas de cuarzo de 5 mm. Como disolvente se utilizó metanol. Los valores de $\lambda_{\text{máx.}}$ se expresan en nm.

4.- Espectrometría de Masas

Los espectros de masas se realizaron por técnicas de ionización por impacto electrónico (EI) o ionización por bombardeo con átomos rápidos (FAB) a 70 eV, en un espectrómetro Fisons VG Micromass modelo VG Autospec. En el caso de los FAB (modo positivo) se utilizó como matriz el alcohol 3-nitrobencílico.

5.- Puntos de Fusión

Los puntos de fusión se determinaron en un equipo Gallenkamp, los valores obtenidos se expresan en grados centígrados.

6.- Rotación Óptica

La actividad óptica se determinó en un polarímetro Perkin Elmer, modelo 343, empleando la línea D del sodio a 25°C y en disolución de cloroformo seco en células de 1 dm. La concentración se expresa en g/ 100 ml de disolución.

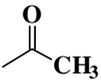
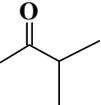
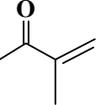
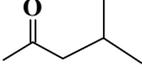
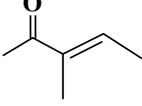
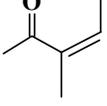
13. ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

Ac₂O	anhídrido acético	IC₅₀	concentración inhibitoria al 50% de individuos analizados
AcOEt	acetato de etilo	IR	espectroscopía infrarroja
AcOH	ácido acético	J	constante de acoplamiento
COSY	experimento RMN (correlación escalar protón-protón)	Liebermann- Burchard	cloroformo, anhídrido acético y ácido sulfúrico
¹³CRMN	resonancia magnética nuclear de carbono	min	minutos
d	doblete	mM	milimoles
dd	doble doblete		
ddd	doblete doblete doblete	MTT	Bromuro de 3-[4,5- dimetiltiazol-2-il]- 2,5- difeniltetrazolio
DMAP	dimetilaminopiridina	NOESY	experimento RMN correlación espacial protón- protón
DMF	dimetilformamida	°C	grados centígrados
DMSO	dimetil sulfóxido	PARP	poli (ADP-ribosa) polimerasa
dt	doble triplete	p. f.	punto de fusión
DTT	ditiotreitól	q	cuarteto
ECA	carcinoma de Ehrlich	ROESY	rotating Overhauser effect spectroscopy (correlación

			especial (protón-protón)
EDC	Hidrocloruro de 1- etil-(e- dimetilaminopropil)- 3-etilcarbodiimida	s	singulete
EDTA	ácido etilendiamino tetraacético	t	triplete
EIMS	espectrometría de masas de impacto electrónico	TBST	tampón TBST: Tris Buffer Salino conteniendo Tris 50 mM-6.05 g/l-, NaCl 140 mM-8.20 g/l conteniendo 0,5% Tween 20
EM	espectrometría de masas	THF	tetrahidrofurano
eV	electrónvoltio	Tris	2-amino-2- hidroximetilpropano- 1,3-diol
g	gramos	UV	espectroscopía ultravioleta
h	horas	δ	desplazamiento químico en partes por millón
HEPES	ácido 4-(2- hidroxietil)-1- piperazine etanosulf ónico	λ_{MAX}	longitud de onda máxima
Hex	hexano	μg	microgramos
HMBC	Experimento de RMN de acoplamiento C- H a larga distancia	μL	microlitros

¹HRMN	resonancia magnética de protón nuclear	μM	micromoles
HSQC	Experimento de RMN de acoplamiento C-H a corta distancia (heteronuclear multiple quantum coherente)	ν	frecuencia

Cadenas laterales comunes en lactonas sesquiterpénicas

<i>Abreviatura</i>	<i>Nombre</i>	<i>Fórmula</i>
Ac	Acetato	
i-But	Isobutirato	
Meacr	Metacrilato	
i-Val	Isovalerato	
Tigl	Tiglato	
Ang	Angelato	

14. CONCLUSIONES

1.- Se hace una revisión bibliográfica del estudio químico de las especies del género **Tanacetum** y de las Especies Canarias.

2.- Se hace un estudio químico de la especie **Tanacetum ptarmiciflorum**, habiéndose aislado e identificado: (6E)-5,9-dihydroxinerolidol; (E,E)-3,7,11-trimetil-1,6,9-dodecatrien-3,5,11-triol; 3,7,11-trimetil-1,5,9-dodecatrien-3,7,11-triol; 11-etoxi-3,7,11-trimetil-1,5,9-dodecatrien-3,7-diol; 11-etoxi-3,7,11-trimetil-1,6,9-dodecatrien-3,5-diol; Tatridina A; 4 α ,5 β -epóxido Tatridina A; Tatridina B; Desacetil- β -ciclopiretosina; Espiciformina; Tamirina; Dentatina; 1 β ,4 α ,6 α -trihidroxi-eudesm-11-en-8 α -12-olida; 1 α ,10 β -epóxidodesacetillaurenobiolido; 1 α ,8 β -dihidroxi-5 α H,10 β -eudesm-3,11(13)-dien-6 α ,12-olida; 1 β ,10 α -epoxiespiciformina; 1 α ,10 β -epoxiespiciformina; (1R,4S,5S,6R,7S,8S,10R)-1,6-dihidroxi-4(15)-epoxieudesma-11(13)-en-8,12-olida; Estigmasterol; Sesamina; Vainillina; 4-hidroxibenzaldehído.

3.- Se hace un estudio químico de la especie **T. ferulaceum var. latipinum** habiéndose aislado: : Escopoletina; Escoparona; Apigenina; 5,7,4'-trihidroxi-3,6-dimetoxiflavona; Tatridina A; 4 α ,5 β -epóxido Tatridina A; Tatridina B; Desacetil- β -ciclopiretosina; Espiciformina; 1 β ,4 α ,6 α -trihidroxi-eudesm-11-en-8 α -12-olida; 1 α ,10 β -epóxidodesacetillaurenobiolido; (E,E)-3,7,11-trimetil-1,6,9-dodecatrien-3,5,11-triol; 1,4-(propil-2,2-dioxi)-8 α -hidroxi-10 β -eudesm-6,12-olida; 1 β ,10 α -epoxiespiciformina; 1 α ,10 β -epoxiespiciformina; 1 α ,8 α -dihidroxi,5 α H,10 α -eudesm-4,11(13)-dien-6,12-olida; 3,7,11-trimetil-1,5,9-dodecatrien-3,7,11-triol; Estigmasterol y Ac.p-hidroxibenzoico.

4.- De las sustancias identificadas en las especies del género **Tanacetum** estudiadas, son nuevas en la bibliografía consultada las siguientes: 1,4-(propil-2,2-dioxi)-8 α -hidroxi-10 β -eudesm-6 α ,12-olida; 1 α ,8 α -dihidroxi-5 α H,10 α -eudesm-3,11(13)-dien-6 α ,12-olida; 1 β -10 α -epoxiespiciformina y 1 α -10 β -epoxiespiciformina (nuevos como productos naturales en la planta); 1 α ,8 α -dihidroxi,5 α H,10 α -eudesm-4,11(13)-dien-6 α ,12-olida;(1R,4S,5S,6R,7S,8S,10R)-1,6-dihidroxi-4(15)-epoxieudesm-11(13)-en-8,12-olida (nuevo como producto natural); 3,7,11-trimetil-1,5,9-dodecatrien-3,7,11-triol; 11-etoxi-3,7,11-

trimetil-1,6,9-dodecatrien-3,5-diol y 11-etoxi-3,7,11-trimetil-1,5,9-dodecatrien-3,7-diol. Estos dos últimos productos, por su grupo etoxi- se pueden considerar como artefactos generados en el proceso de extracción, como se ha indicado en estudios precedentes conteniendo dicho grupo.

5.- Se observa que tanto *Tanacetum ptarmiciflorum* y *T. ferulaceum var. latipinnum* presentan lactonas sesquiterpénicas principalmente de tipo germacrano y eudesmano lo que permite establecer una estrecha relación entre estas especies y las del género *Tanacetum* del ámbito Afro-Mediterráneo.

6.- Se hace una revisión bibliográfica del género *Asteriscus* y de las Especies Canarias.

7.- Se hace un estudio químico de la especie *Asteriscus graveolens ssp. stenophyllus*, habiéndose aislado e identificado las siguientes sustancias: Tricina; Asteriscunolido A; Asteriscunolido C; Tetrahydroasteriscunolido; Estigmasterol; Vainillina; Asteriscanolido; Asteriscanolidenol; 1,10-epoxi-Asteriscunolido A y 4,5-epoxi-Asteriscunolido A

8.- De las sustancias identificadas en *Asteriscus graveolens ssp. stenophyllus*, son nuevas en la bibliografía consultada las siguientes: Asteriscanolidenol; 1,10-epoxi-Asteriscunolido A; 4,5-epoxi-Asteriscunolido A.

9.- De los resultados obtenidos en el estudio de *Asteriscus graveolens ssp. stenophyllus*, se deduce la presencia de lactonas sesquiterpénicas tipo humulano, lo que apoya el mantenimiento de esta especie en el género *Asteriscus*, al igual que el resto de especies del ámbito Mediterráneo.

10.- La realización de ensayos de actividad citotóxica frente a distintos tipos de células tumorales de varias de las sustancias obtenidas y de sus derivados,

mostraron que tenían una actividad importante Asteriscunolido A y la Dentatina.